



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 344 826**

⑫ Número de solicitud: 200900718

⑬ Int. Cl.:

A61K 31/35 (2006.01)

A61P 25/08 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

⑭

PATENTE DE INVENCION

B1

⑮ Fecha de presentación: **06.03.2009**

⑯ Fecha de publicación de la solicitud: **07.09.2010**

Fecha de la concesión: **25.05.2011**

⑰ Fecha de anuncio de la concesión: **06.06.2011**

⑱ Fecha de publicación del folleto de la patente:
06.06.2011

⑲ Titular/es: **NEURON BIOPHARMA, S.A.**
Parque Tecnológico de Ciencias de la Salud
Avda. de la Innovación, 1
18100 Armilla, Granada, ES

⑳ Inventor/es: **Sierra Ávila, Saleta;**
Ramos Martín, María del Carmen;
Rumbero Sánchez, Ángel;
Velasco Álvarez, Javier;
Burgos Muñoz, Javier Santos y
Alfaro Sánchez, Juan María

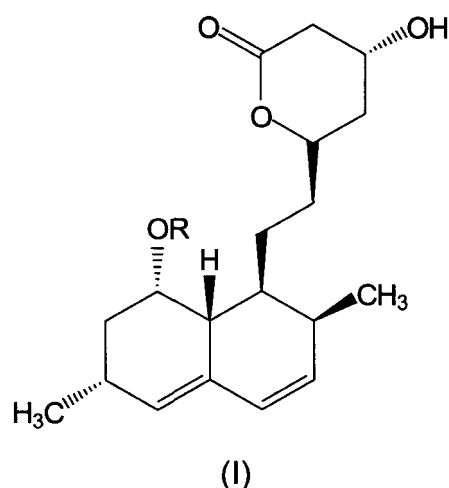
㉑ Agente: **Arias Sanz, Juan**

㉒ Título: **Compuestos neuroprotectores.**

㉓ Resumen:

Compuestos neuroprotectores.

Se describe el empleo de derivados de (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-1,2,3,7,8,8*a*-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-[(2*R*,4*R*)-tetrahidro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-2-Il]etil-1-naftalenil propanoato, opcionalmente mono- o di-metilados en el carbono en posición alfa del ácido propanoico, de fórmula (I), donde R es CH₃CH₂CO-, (CH₃)₂CHCO- o (CH₃)₃CCO-, sus formas hidroxiácidas y las sales farmacéuticamente aceptables de dichos hidroxiácidos, como compuestos neuroprotectores potencialmente útiles para la prevención y/o el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas o de enfermedades asociadas con una oxidación indeseada o de procesos patológicos asociados a la edad.



ES 2 344 826 B1

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

DESCRIPCIÓN

Compuestos neuroprotectores.

5 Campo de la invención

La presente invención se relaciona con la utilización de unos derivados de (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-1,2,3,7,8,8*a*-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-[(2*R*,4*R*)-tetrahydro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-2-il]etil-1-naftalenil propanoato, opcionalmente mono- o di-metilados en el carbono en posición alfa del ácido propanoico, como compuestos neuroprotectores potencialmente útiles para la prevención y/o el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas o de enfermedades asociadas con una oxidación indeseada o de procesos patológicos asociados a la edad.

Antecedentes de la invención

La gran incidencia de las enfermedades neurodegenerativas y de las enfermedades asociadas al envejecimiento es un problema de primer orden en todo el mundo. Por ello es necesaria la búsqueda de compuestos neuroprotectores que eviten o palien dichas enfermedades. De todas ellas, la enfermedad de Alzheimer (EA) es la más prevalente, estimándose que en el año 2040, 81 millones de personas sufrirán esa enfermedad (Blennow *et al.*, Lancet 2006; 368: 387-403). Sólo en España se estima que más de medio millón de personas sufren actualmente EA. Los costes asociados a esta enfermedad son proporcionalmente altos, y se calcula que el coste total derivado del cuidado de los enfermos de Alzheimer es de 81.000 y 22.000 millones de € en Estados Unidos y en el Reino Unido, respectivamente. Actualmente no existen fármacos eficientes que prevengan o impidan esta enfermedad, con lo que la búsqueda y validación de nuevos compuestos neuroprotectores que eviten el daño neuronal es una necesidad.

En la actualidad, se están siguiendo diferentes estrategias para la obtención de nuevos compuestos, una vez que se ha visto que los actuales fármacos ofrecen pocos beneficios a los pacientes, retrasando temporalmente (en el mejor de los casos un año), algunos síntomas de la dolencia, pero no evitando su evolución. Las opciones terapéuticas actuales se basan en la inhibición de la acetilcolinesterasa con fármacos como el donepezilo, la galantamina o la rivastigmina, o en la capacidad de la memantina en antagonizar un receptor de glutamato, el NMDA (ácido N-metil-D-aspartico).

Debido al poco éxito de estos fármacos se han abierto nuevas líneas de investigación, y, entre ellas, destaca en los últimos tiempos la investigación de los inhibidores de la enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A (HMG-CoA) reductasa (más conocidos como estatinas) como agentes terapéuticos. Estos compuestos se utilizan habitualmente para disminuir los altos niveles de colesterol asociados a las lipoproteínas de baja densidad (LDL). Recientemente se han descrito nuevas propiedades de las estatinas, especialmente a nivel de daño cerebral causado por trauma o en demencias, proponiéndose nuevas actividades antioxidantes y antiinflamatorias (Pahan, Cell Mol Life Sci. 2006; 63 [10]:1165-78), y se ha demostrado que ciertas estatinas (e.g., simvastatina) intensifican la capacidad de memoria y aprendizaje en ratones (Ling *et al.*, Ann Neurol. 2006; 60[6]:729-39) o protegen de las crisis convulsivas asociadas a fenómenos epilépticos (Lee *et al.*, Neurosci Lett. 2008; 440: 260-4). Además, las estatinas también han demostrado su eficacia en ensayos clínicos en fase II que sugieren resultados positivos frente al tratamiento del vasoespasmio cerebral (Fandino *et al.*, Neurocirugía. 2007; 18: 16-27), así como frente a la muerte neuronal inducida por daño isquémico en la retina (Honjo *et al.*, Arch. Ophthalmol. 2002; 120: 1707-13). No obstante, actualmente se encuentra en discusión si los efectos neuroprotectores de las diferentes estatinas comerciales (e.g., atorvastatina, lovastatina, simvastatina, etc.) son debidos a un efecto directo sobre el metabolismo lipídico, o si por el contrario es consecuencia de rutas alternativas.

Compendio de la invención

Aunque existe literatura sobre el potencial efecto neuroprotector de las estatinas, los autores de esta invención han encontrado que unos derivados de monacolina J no comerciales, en concreto unos derivados de (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-1,2,3,7,8,8*a*-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-[(2*R*,4*R*)-tetrahydro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-2-il]etil-1-naftalenil propanoato, opcionalmente mono- o di-metilados en el carbono en posición alfa del ácido propanoico, son agentes neuroprotectores, independientemente de su actividad sobre el metabolismo lipídico.

La actividad neuroprotectora de dichos compuestos se ha puesto de manifiesto frente a diferentes agresiones que causan la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y la muerte neuronal por estrés oxidativo independientemente de su actividad sobre el metabolismo lipídico (Ejemplo 1), así como frente a agresiones que provocan la muerte neuronal causada por estrés de retículo endoplásmico (Ejemplo 2), la muerte neuronal causada por apoptosis (Ejemplo 3), y la muerte por apoptosis en el encéfalo del embrión de pez cebra (Ejemplo 4).

Dichos ejemplos ponen de manifiesto el potencial empleo de dichos compuestos en la prevención y/o tratamiento de la muerte neuronal asociada a enfermedades neurodegenerativas (e.g., Alzheimer, Parkinson, esclerosis múltiple, esclerosis lateral amiotrófica, *status epilepticus*, Huntington, etc.) o de enfermedades asociadas con una oxidación indeseada o de procesos patológicos asociados a la edad.

Por tanto, la presente invención se relaciona con el empleo de unos derivados de (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-1,2,3,7,8,8*a*-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-[(2*R*,4*R*)-tetrahidro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-2-il]etil-1-naftalenil propanoato, opcionalmente mono- o di-metilados en el carbono en posición alfa del ácido propanoico, como agentes neuroprotectores, en particular, neuroprotectores frente a (i) enfermedades neurodegenerativas crónicas (e.g., Alzheimer, Parkinson, esclerosis múltiple, esclerosis lateral amiotrófica, *status epilepticus*, Huntington, etc.), más concretamente, neuroprotectores frente a procesos de apoptosis, estrés oxidativo o estrés de retículo endoplásmico asociados a dichas enfermedades neurodegenerativas crónicas, o frente a (ii) enfermedades asociadas con una oxidación indeseada, o frente a (iii) procesos patológicos asociados a la edad.

Los resultados obtenidos en la presente invención pueden ser extrapolados con fines profilácticos o terapéuticos para su aplicación sobre la población de riesgo.

Por tanto, en un aspecto, la invención se relaciona con el empleo de un derivado de (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-1,2,3,7,8,8*a*-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-[(2*R*,4*R*)-tetrahidro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-2-il]etil-1-naftalenil propanoato, opcionalmente mono- o di-metilado en el carbono en posición alfa del ácido propanoico, en la elaboración de una composición farmacéutica para la prevención y/o el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, o de enfermedades asociadas con una oxidación indeseada o de procesos patológicos asociados a la edad. En una realización particular, dicha composición farmacéutica comprende uno de dichos compuestos mientras que, en otra realización particular, dicha composición farmacéutica comprende dos o más de dichos compuestos.

En otro aspecto, la invención se relaciona con un derivado de (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-1,2,3,7,8,8*a*-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-[(2*R*,4*R*)-tetrahidro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-2-il]etil-1-naftalenil propanoato, opcionalmente mono- o di-metilado en el carbono en posición alfa del ácido propanoico, para la prevención y/o el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, o de enfermedades asociadas con una oxidación indeseada o de procesos patológicos asociados a la edad.

En otro aspecto, la invención se relaciona con un método para la prevención y/o tratamiento de las enfermedades neurodegenerativas, o de enfermedades asociadas con una oxidación indeseada, o de procesos patológicos asociados a la edad en un sujeto con necesidad de tratamiento, que comprende la administración a dicho sujeto de una cantidad terapéuticamente eficiente de uno o más de estos compuestos.

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 es un diagrama de barras que representa la inhibición por parte del (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-1,2,3,7,8,8*a*-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-[(2*R*,4*R*)-tetrahidro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-2-il]etil-1-naftalenil propanoato (NST0003), del porcentaje de especies reactivas de oxígeno (ROS) inducidas por estrés oxidativo con xantina/xantina oxidasa (XXO) y normalizada por el porcentaje de lactato deshidrogenasa (LDH) intracelular como medida de viabilidad celular, en comparación con ácido ascórbico (AA) como antioxidante específico. Adicionalmente, en el eje secundario (rombos) se muestra la viabilidad celular respecto a las células control (FOLD LDH).

La expresión * $p < 0,05$, t-Student en las figuras indica que según el test de t-Student los valores marcados con * son estadísticamente significativos.

La Figura 2 es una gráfica de dispersión XY que representa la disminución por parte del (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-1,2,3,7,8,8*a*-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-[(2*R*,4*R*)-tetrahidro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-2-il]etil-1-naftalenil 2,2-dimetilpropanoato (NST0005) del porcentaje de muerte neuronal inducida por estrés oxidativo con xantina/xantina oxidasa (XXO).

La Figura 3 es una representación sigmoide que representa la inhibición de la enzima HMG-CoA reductasa de los diferentes derivados de (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-1,2,3,7,8,8*a*-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-[(2*R*,4*R*)-tetrahidro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-2-il]etil-1-naftalenil propanoato (NSY0003, NST0004 y NST0005) en comparación con atorvastatina, un inhibidor específico de la enzima HMG-CoA reductasa.

La Figura 4 es una gráfica de dispersión XY que representa la disminución por parte del (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-1,2,3,7,8,8*a*-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-[(2*R*,4*R*)-tetrahidro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-2-il]etil-1-naftalenil 2,2-dimetilpropionato (NST0005) del porcentaje de muerte neuronal inducida por estrés de retículo endoplásmico con tunicamicina (Tm).

La Figura 5 es una gráfica de dispersión XY que representa la disminución por parte del (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-1,2,3,7,8,8*a*-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-[(2*R*,4*R*)-tetrahidro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-2-il]etil-1-naftalenil 2-metilpropanoato (NST0004) del porcentaje de muerte neuronal inducida por apoptosis con camptotecina (Campt).

La Figura 6 es un diagrama de barras que representa la inhibición por parte del (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-1,2,3,7,8,8*a*-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-[(2*R*,4*R*)-tetrahidro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-2-il]etil-1-naftalenil 2,2-dimetilpropanoato (NST0005) de la apoptosis inducida con camptotecina (Campt) y determinada por citometría de flujo, en comparación con el inhibidor específico de caspasas Z-VAD-fmk.

La Figura 7 es un diagrama de barras que representa la inhibición por parte del (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-1,2,3,7,8,8*a*-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-[(2*R*,4*R*)-tetrahydro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-2-il]etil-1-naftalenil propanoato (NST0003), (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-1,2,3,7,8,8*a*-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-[(2*R*,4*R*)-tetrahydro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-2-il]etil-1-naftalenil 2-metilpropanoato (NST0004) y (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-1,2,3,7,8,8*a*-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-[(2*R*,4*R*)-tetra-

hidro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-2-il]etil-1-naftalenil 2,2-dimetilpropanoato (NST0005) de la apoptosis inducida con terbutil-hidroperóxido (TBH) en el encéfalo del embrión de pez cebra.

Descripción detallada de la invención

Definiciones

Para facilitar la comprensión de la invención objeto de esta solicitud de patente, a continuación se expone el significado de algunos términos y expresiones utilizados en el contexto de la invención.

El término “neuroprotector”, tal como aquí se utiliza, se refiere a la atenuación o desaparición de los efectos de la degeneración o muerte neuronal mediante cualquier mecanismo conocido o por conocer, por ejemplo, necrosis, apoptosis, autofagia, daño oxidativo, daño de retículo endoplásmico, deposición de subproductos, pérdida de la arquitectura celular, etc., o a la disminución o desaparición de sus efectos secundarios.

El término “enfermedad neurodegenerativa”, tal como aquí se utiliza, incluye enfermedades que resultan de la degeneración o deterioro del tejido nervioso, en particular de las neuronas, que conduce, a lo largo del tiempo, a una disfunción o a una incapacidad; el término degeneración incluye pérdida de la viabilidad celular, pérdida de la función celular y/o pérdida del número de células (neuronas u otras). Ejemplos ilustrativos, no limitativos, de enfermedades neurodegenerativas incluyen enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica (ELA), esclerosis múltiple, etc. En una realización particular, dicha enfermedad neurodegenerativa es una enfermedad relacionada con la muerte neuronal causada por una sustancia que, por ejemplo, causa estrés oxidativo o estrés de retículo endoplásmico o apoptosis o muerte neuronal en general.

El término “enfermedad asociada con una oxidación indeseada”, tal como aquí se utiliza, se refiere a una enfermedad causada por una oxidación indeseada (e.g., excesiva) o en el que dicha oxidación indeseada es un síntoma. Dicha oxidación indeseada puede ser la consecuencia del daño causado por radicales libres a proteínas, DNA y/o lípidos independientemente del radical libre específico implicado o de la diana. La oxidación indeseada implica una generación excesiva de radicales libres que puede causar una disfunción en células, tejidos u órganos y puede constituir, por tanto, un mecanismo potencial de una enfermedad. En una realización particular, dicha oxidación indeseada puede ser causada por la edad (envejecimiento) o por un proceso neurodegenerativo y puede provocar por sí sola o en combinación con otros factores el comienzo de diversas enfermedades. En una realización concreta, dicha oxidación indeseada se relaciona con el daño oxidativo causado por una sustancia que causa estrés oxidativo.

El término “proceso patológico asociado a la edad”, tal como aquí se utiliza, se refiere a cualquier evento o combinación de eventos relacionado/s con el envejecimiento que produzca/n pérdida de viabilidad celular del tejido nervioso o sensibilización celular del tejido nervioso, pérdida de la función celular y/o pérdida del número de células (neuronas u otras), incluyendo disfunción metabólica de las células, procesos de estrés, infecciones por patógenos, alteraciones genéticas, susceptibilidad genética, trauma, isquemia, epilepsia, etc.

El término “sujeto”, tal como aquí se utiliza, se refiere a un miembro de una especie de mamífero, e incluye, pero no se limita a, animales domésticos, primates y humanos; preferentemente, el sujeto es un ser humano, masculino o femenino, de cualquier edad o raza. En una realización particular, dicho sujeto es un mamífero que padece, o es susceptible de padecer, procesos patológicos asociados a la edad, tal como envejecimiento, o una enfermedad neurodegenerativa, tal como una enfermedad neurodegenerativa crónica.

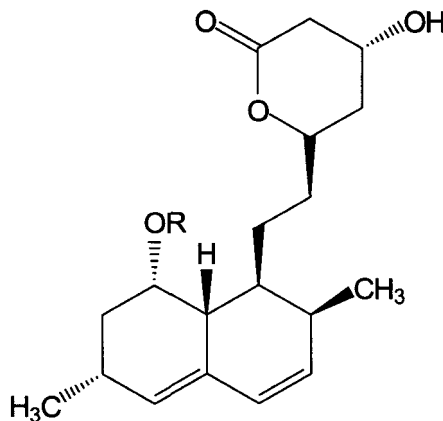
El término “farmacéuticamente aceptable”, tal como aquí se utiliza, se refiere a que el compuesto es tolerable fisiológicamente y no produce, en general, una reacción alérgica o una reacción desfavorable similar, tal como un trastorno gástrico, mareo o similares, cuando se administra a un sujeto; preferiblemente, dicho término “farmacéuticamente aceptable” significa aprobado por una agencia reguladora de un gobierno o recogido en la farmacopea estadounidense o en otra farmacopea reconocida generalmente para uso en animales (e.g., farmacopea europea, etc.).

El término “sal farmacéuticamente aceptable”, tal como aquí se utiliza, incluye “sales metálicas farmacéuticamente aceptables” así como “sales de amina farmacéuticamente aceptables”. El término “sal metálica farmacéuticamente aceptable” contempla sales formadas con iones de sodio, potasio, calcio, magnesio, aluminio, hierro o zinc. El término “sal de amina farmacéuticamente aceptable” contempla sales con amoníaco y bases nitrogenadas orgánicas suficientemente fuertes para formar sales con ácidos carboxílicos. Dichas sales farmacéuticamente aceptables pueden ser obtenidas por métodos convencionales conocidos por los expertos en la materia.

El término “estatina”, tal como aquí se utiliza, se refiere a un inhibidor de la enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A (HMG-CoA) reductasa, enzima que cataliza el paso limitante de la biosíntesis del colesterol, e incluye cualquier estatina tanto natural como sintética o semisintética.

Usos terapéuticos de los derivados de (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-1,2,3,7,8,8*a*-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-[(2*R*,4*R*)-tetrahidro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-2-il]etil-1-naftalenil propanoato, opcionalmente mono- o di-metilados en el carbono en posición alfa del ácido propanoico

En un aspecto, la invención se relaciona con el empleo de un derivado de (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-1,2,3,7,8,8*a*-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-[(2*R*,4*R*)-tetrahidro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-2-il]etil-1-naftalenil propanoato, opcionalmente mono- o di-metilado en el carbono en posición alfa del ácido propanoico, de fórmula (I)



(I)

en la que R es $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CO}-$, $(\text{CH}_3)_2\text{CHCO}-$ o $(\text{CH}_3)_3\text{CCO}-$,

sus formas hidroxiaácidas y las sales farmacéuticamente aceptables de dichos hidroxiaácidos,

en la elaboración de una composición farmacéutica para la prevención y/o el tratamiento de:

- enfermedades neurodegenerativas, o
- enfermedades asociadas con una oxidación indeseada, o
- procesos patológicos asociados a la edad.

En una realización particular, dicho compuesto de fórmula (I) es el compuesto (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-1,2,3,7,8,8*a*-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-[(2*R*,4*R*)-tetrahidro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-2-il]etil-1-naftalenil propanoato [compuesto de fórmula (I) en el que R es $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CO}-$, también identificado en ocasiones en esta descripción como NST0003], su forma hidroxiaácida o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho hidroxiaácido.

En otra realización particular, dicho compuesto de fórmula (I) es el compuesto (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-1,2,3,7,8,8*a*-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-[(2*R*,4*R*)-tetrahidro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-2-il]etil-1-naftalenil 2-metilpropanoato [compuesto de fórmula (I) en el que R es $(\text{CH}_3)_2\text{CHCO}-$, también identificado en ocasiones en esta descripción como NST0004], su forma hidroxiaácida o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho hidroxiaácido.

En otra realización particular, dicho compuesto de fórmula (I) es el compuesto (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-1,2,3,7,8,8*a*-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-[(2*R*,4*R*)-tetrahidro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-2-il]etil-1-naftalenil 2,2-dimetilpropanoato [compuesto de fórmula (I) en el que R es $(\text{CH}_3)_3\text{CCO}-$, también identificado en ocasiones en esta descripción como NST0005], su forma hidroxiaácida o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho hidroxiaácido.

La invención contempla tanto el uso de uno de dichos compuestos de fórmula (I), su forma hidroxiaácida o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho hidroxiaácido, como de una mezcla de dos o más compuestos de fórmula (I), sus formas hidroxiaácidas o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Así, en una realización particular, dicho compuesto de fórmula (I) se selecciona del grupo formado por:

- (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-1,2,3,7,8,8*a*-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-[(2*R*,4*R*)-tetrahidro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-2-il]etil-1-naftalenil propanoato,
- (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-1,2,3,7,8,8*a*-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-[(2*R*,4*R*)-tetrahidro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-2-il]etil-1-naftalenil 2-metilpropanoato,

- (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-1,2,3,7,8,8*a*-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-[(2*R*,4*R*)-tetrahidro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-2-il]etil-1-naftalenil 2,2-dimetilpropanoato,
- sus formas hidroxiladas y las sales farmacéuticamente aceptables de dichos hidroxilados, y
- sus mezclas.

Los compuestos de fórmula (I) son compuestos conocidos y pueden ser obtenidos por métodos convencionales de semisíntesis, tal como se describe en la patente norteamericana US 4866090, o bien mediante biotransformación, mediante un procedimiento que comprende la producción de monacolina J por fermentación a partir de un microorganismo productor de monacolina J y la acilación posterior del grupo hidroxilo presente en la posición C8 de la monacolina J mediante la adición al medio de fermentación de un agente acilante apropiado para obtener el compuesto de fórmula (I) deseado, tal como un ácido de fórmula general



donde R¹ es CH₃CH₂-, (CH₃)₂CH- o (CH₃)₃C-,

o un derivado del mismo seleccionado entre un halogenuro, un éster, una amida, un anhídrido o una sal de dicho ácido carboxílico de fórmula (II). Ejemplos ilustrativos de compuestos de fórmula (II) incluyen los ácidos propanoico, 2-metilpropanoico, y 2,2-dimetilpropanoico.

Numerosos ensayos realizados por los inventores han puesto de manifiesto el efecto neuroprotector de los compuestos de fórmula (I) frente a la acción de una sustancia causante de estrés oxidativo, así como su efecto neuroprotector frente a la acción de una sustancia causante de estrés de retículo endoplásmico, y su efecto neuroprotector frente a la acción de una sustancia causante de apoptosis en neuronas humanas colinérgicas.

El efecto neuroprotector frente a la acción de una sustancia causante de estrés oxidativo, tal como xantina/xantina oxidasa (XXO) se describe en el Ejemplo 1. En dicho ejemplo se observa que el compuesto (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-1,2,3,7,8,8*a*-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-[(2*R*,4*R*)-tetrahidro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-2-il]etil-1-naftalenil propanoato (NST0003), a modo ilustrativo, es capaz de inhibir significativamente la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) sin afectar a la viabilidad celular, lo que demuestra un efecto neuroprotector de los compuestos de fórmula (I). Como control de inhibición de la producción de ROS se utiliza un conocido antioxidante natural, el ácido ascórbico (AA).

Con el objetivo de definir mejor el efecto neuroprotector de los compuestos de fórmula (I), los inventores analizaron con más detalle el proceso neurodegenerativo mediante el análisis de la muerte neuronal causada por un estrés oxidativo, utilizando XXO como sustancia causante de dicho estrés oxidativo que desencadena la muerte celular. Los resultados obtenidos (Figura 2) ilustran que el tratamiento con el compuesto (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-1,2,3,7,8,8*a*-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-[(2*R*,4*R*)-tetrahidro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-2-il]etil-1-naftalenil 2,2-dimetilpropanoato (NST0005), a modo ilustrativo, reduce cuantitativamente y de forma significativa la muerte neuronal causada por estrés oxidativo, lo que pone de manifiesto la capacidad neuroprotectora de dichos compuestos de fórmula (I). Esta acción neuroprotectora es independiente de la capacidad inhibidora de la enzima HMG-CoA reductasa (actividad estatina) tal como muestra la Figura 3, en donde puede apreciarse que la actividad inhibitoria de la enzima HMG-CoA reductasa de los compuestos de fórmula (I) está muy lejos de la actividad inhibitoria de dicha enzima HMG-CoA reductasa de una estatina conocida, la atorvastatina; efectivamente, en dicha Figura 3 puede apreciarse que el compuesto NST0003 inhibe 170 veces menos la enzima HMG-CoA reductasa que la atorvastatina, el compuesto NST0004 inhibe 100 veces menos dicha enzima que la atorvastatina, y el compuesto NST0005 inhibe 4 veces menos la enzima HMG-CoA reductasa que la atorvastatina.

El efecto neuroprotector frente a la acción de una sustancia causante de estrés de retículo endoplásmico (tunicamicina) se describe en el Ejemplo 2. En dicho ejemplo se observa que el compuesto (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-1,2,3,7,8,8*a*-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-[(2*R*,4*R*)-tetrahidro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-2-il]etil-1-naftalenil 2,2-dimetilpropanoato (NST0005), a modo ilustrativo, es capaz de reducir cuantitativamente y de forma significativa la muerte neuronal causada por estrés de retículo endoplásmico, lo que pone de manifiesto la capacidad neuroprotectora de dichos compuestos de fórmula (I).

El efecto neuroprotector frente a la acción de una sustancia causante de apoptosis (camptotecina) se describe en el Ejemplo 3. En dicho ejemplo se observa que el compuesto (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-1,2,3,7,8,8*a*-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-[(2*R*,4*R*)-tetrahidro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-2-il]etil-1-naftalenil 2-metilpropanoato (NST0004), a modo ilustrativo, es capaz de reducir cuantitativamente y de forma significativa la muerte neuronal causada por apoptosis, lo que pone de manifiesto la capacidad neuroprotectora de dichos compuestos de fórmula (I). Asimismo, con el objetivo de definir mejor el efecto neuroprotector de dichos compuestos de fórmula (I), los inventores analizaron con más detalle el proceso neurodegenerativo mediante el análisis por citometría de flujo de la muerte neuronal causada por apoptosis y su inhibición por dichos compuestos de fórmula (I), en comparación con un inhibidor específico de la muerte neuronal por apoptosis, el Z-VAD-fmk. En dicho Ejemplo 3 se observa que el compuesto (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-

1,2,3,7,8,8a-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-[(2*R*,4*R*)-tetrahidro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-2-il]etil-1-naftalenil 2,2-dimetilpropanoato (NST0005), a modo ilustrativo, es capaz de inhibir cuantitativamente y de forma significativa la muerte neuronal causada por apoptosis.

5 Para su administración en la prevención y/o tratamiento de las enfermedades neurodegenerativas, o de enfermedades asociadas con una oxidación indeseada, o de procesos patológicos asociados a la edad, el compuesto de fórmula (I) (sus formas hidroxiladas y sus sales farmacéuticamente aceptables) se formulará en una composición farmacéutica, en una cantidad terapéuticamente efectiva, junto con uno o más vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables.

10 La composición farmacéutica proporcionada por esta invención puede contener uno o más compuestos de fórmula (I), o una forma hidroxilada del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho hidroxilado junto con uno o más vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables. En una realización particular, dicha composición farmacéutica comprende un único compuesto de fórmula (I), o una forma hidroxilada del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho hidroxilado. En otra realización particular, dicha composición farmacéutica comprende
15 dos o más compuestos de fórmula (I), sus formas hidroxiladas o sus sales farmacéuticamente aceptables de dichos hidroxilados. Dicha composición farmacéutica es útil para el tratamiento de las enfermedades neurodegenerativas, o de las enfermedades asociadas con una oxidación indeseada, o de los procesos patológicos asociados a la edad.

Las composiciones farmacéuticas que contienen un compuesto de fórmula (I), o una forma hidroxilada del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho hidroxilado, pueden formularse en cualquier forma farmacéutica de administración adecuada para su administración por la vía de administración elegida, e.g., oral, parenteral (subcutánea, intramuscular, intravenosa, intraperitoneal, etc.), tópica, rectal, etc. A modo ilustrativo, no limitativo, las composiciones farmacéuticas proporcionadas por esta invención pueden formularse en una forma farmacéutica sólida de administración por vía oral (e.g., gránulos, comprimidos, cápsulas, etc.), en una forma farmacéutica líquida de administración por vía oral (e.g., soluciones, suspensiones, emulsiones, etc.), en una forma farmacéutica para su administración por vía parenteral (e.g., soluciones, suspensiones, emulsiones, etc.). Para ello, en cada caso, se elegirán los vehículos y excipientes farmacéuticamente aceptables apropiados para la forma farmacéutica de administración y vía de administración elegida, por ejemplo, aglutinantes, diluyentes, desintegrantes, lubricantes, humectantes, etc., para la formulación de formas farmacéuticas de administración sólidas, y tampones, tensioactivos, etc., para la formulación de formas farmacéuticas de administración líquidas. Dichos vehículos y excipientes deben ser farmacéuticamente aceptables y farmacológicamente tolerables y han de poder ser combinados con otros componentes de la formulación sin ejercer ningún efecto adverso sobre el sujeto tratado. Información sobre dichos vehículos y excipientes, así como sobre dichas formas farmacéuticas de administración de dicho principio activo puede encontrarse en tratados de farmacia galénica. Una revisión de las distintas formas farmacéuticas de administración de fármacos, en general, y de sus procedimientos de preparación puede encontrarse en el libro "Tratado de Farmacia Galénica", de C. Fauli i Trillo, 1ª Edición, 1993, Luzán 5, S.A. de Ediciones.

La composición farmacéutica proporcionada por esta invención comprende, al menos, un compuesto de fórmula (I), o una forma hidroxilada del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho hidroxilado, en una cantidad terapéuticamente eficiente. En el sentido utilizado en esta descripción, la expresión "cantidad terapéuticamente eficiente" se refiere a la cantidad de compuesto calculada para producir el efecto deseado. La dosis de compuesto de fórmula (I), o una forma hidroxilada del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho hidroxilado, a administrar a un sujeto puede variar dentro de un amplio intervalo dependiendo de numerosos factores, entre los que se incluyen las características del compuesto utilizado, e.g., su actividad y vida media biológica, la concentración del compuesto en la composición farmacéutica, la situación clínica del sujeto, la severidad de la patología, la forma farmacéutica de administración elegida, etc. La composición farmacéutica proporcionada por esta invención se puede administrar una o más veces al día con fines preventivos o terapéuticos o, alternativamente, se pueden seguir otras pautas de administración, no necesariamente diaria sino también de forma puntual, semanal, etc.

La composición farmacéutica proporcionada por esta invención, si se desea, puede usarse junto con otros fármacos, por ejemplo, fármacos útiles en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, o enfermedades asociadas con una oxidación indeseada, o de procesos patológicos asociados a la edad, con el fin de aumentar la eficiencia de la composición farmacéutica proporcionada por esta invención, generándose de este modo una terapia de combinación. Dichos fármacos adicionales pueden formar parte de la misma composición farmacéutica o, alternativamente, pueden facilitarse como una composición farmacéutica separada para su administración al mismo tiempo (administración simultánea) que la composición farmacéutica proporcionada por esta invención o en momentos diferentes (administración secuencial) respecto a la administración de la composición farmacéutica proporcionada por esta invención. Ejemplos ilustrativos, no limitativos, de dichos fármacos útiles en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, o enfermedades asociadas con una oxidación indeseada, o de procesos patológicos asociados a la edad, incluyen inhibidores de la acetilcolinesterasa (e.g., donepezilo, galantamina, rivastigmina, etc.), antagonistas del receptor de glutamato NMDA (e.g., memantina, etc.), antioxidantes (e.g. vitaminas, tocoferoles, carotenoides, polifenoles, etc.), extractos naturales (e.g. curcumina, extracto de *Ginkgo biloba*, melatonina, extracto de *Bacopa monniera*, etc.) etc.

En otro aspecto, la invención se relaciona con un compuesto de fórmula (I), o una forma hidroxilada del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho hidroxilado, para el tratamiento y/o prevención de enfermedades neurodegenerativas, o de enfermedades asociadas con una oxidación indeseada, o de procesos patológicos asociados a la edad. Las características del compuesto de fórmula (I), sus formas hidroxiladas y las sales farmacéuticamente aceptables de dicho hidroxilado, así como las de dichas enfermedades ya han sido mencionadas previamente.

En otro aspecto, la invención se relaciona con un método para la prevención y/o tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, o de enfermedades asociadas con una oxidación indeseada, o de procesos patológicos asociados a la edad que comprende administrar a un sujeto en necesidad de tratamiento una cantidad terapéuticamente eficiente de un compuesto de fórmula (I), sus formas hidroxilado o las sales farmacéuticamente aceptables de dicho hidroxilado, o de una composición farmacéutica proporcionada por esta invención que comprende un compuesto de fórmula (I), una forma hidroxilado del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho hidroxilado; las características del compuesto de fórmula (I), sus formas hidroxilado y las sales farmacéuticamente aceptables de dicho hidroxilado, así como las de dichas enfermedades y composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de fórmula (I) ya han sido mencionadas previamente.

Los siguientes Ejemplos sirven para ilustrar la invención y no deben ser considerados en sentido limitativo de la misma.

Los compuestos identificados como NST0003, NST0004 y NST0005 en dichos Ejemplos se han preparado siguiendo la metodología descrita en Hoffman, *et al.* (*J. Med. Chem.*, 1986, 29, 849-852).

Ejemplo 1

Inhibición por NST0003 de la producción de especies reactivas de oxígeno y protección por NST0005 de la muerte neuronal inducida por estrés oxidativo independientemente de la actividad estatina (inhibitoria de la enzima HMG-CoA reductasa)

1.1 Inhibición por NST0003 de la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS)

El ensayo fue realizado sobre células en cultivo de neuroblastoma humano SK-N-MC procedentes de American Type Culture Collection (ATCC) (HTB-10), en todos los casos se siguieron estrictas normas de esterilidad y la manipulación se llevó a cabo en cabinas de seguridad biológica clase II que siguen la norma europea EN 12469. Las células fueron mantenidas en medio de cultivo "Minimun Essential Médium Eagle" (MEM) suplementado con piruvato sódico 1 mM, L-glutamina 2 mM, aminoácidos no esenciales 0,1 mM, gentamicina 0,05 mg/ml y suero fetal bovino 10%.

Se evaluó la inhibición del compuesto NST0003 [(1S,3R,7S,8S,8aR)-1,2,3,7,8,8a-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-[(2R,4R)-tetrahydro-4-hidroxi-6-oxo-2H-piran-2-il]etil-1-naftalenil]propanoato] sobre la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) en las células SK-N-MC. Estas células, en pase no superior a 15, fueron sembradas sobre placas de 96 pocillos tratadas para células adherentes con una concentración celular de 5×10^4 células/pocillo; para cada condición del ensayo se sembraron 3 pocillos de la placa.

Tras 24 h de incubación de las células a 37°C y 5% CO₂ se procedió a los tratamientos celulares con 100 µl de volumen total para las condiciones siguientes (i), control (medio de cultivo); (ii), xantina/xantina oxidasa (XXO) [10 µM -100 mU/mL], usado para producir estrés oxidativo celular; (iii), XXO [10 µM -100 mU/mL] y ácido ascórbico (AA) [100 µM], como control positivo de la inhibición de la producción de ROS; y (iv), XXO [10 µM -100 mU/mL] y NST0003 a diferentes concentraciones [4, 10, 20 y 40 µg/mL].

Las células fueron incubadas (a 37°C y 5% CO₂) con estos tratamientos durante 3 h, pasadas las cuales se lavaron con buffer HKRB (HEPES 20 mM, NaCl 103 mM, KCl 4,77 mM, CaCl₂ 0,5 mM, MgCl₂ 1,2 mM, KH₂PO₄ 1,2 mM, NaHCO₃ 25 mM, glucosa 15 mM; a pH 7,3) tras lo que se añadió la sonda 2',7'-diclorodihidrofluoresceína diacetato (H₂DCFDA) a 30 µM diluida en tampón HKRB y se incubó durante 2 horas más en las mismas condiciones. La lectura de la placa se realizó en un fluorímetro a las condiciones de 485 nm de excitación y 538 nm de emisión.

Para corregir (normalizar) los resultados se utilizó la medida de lactato deshidrogenasa (LDH) intracelular de cada una de las condiciones. Para realizar esta medida las células fueron lisadas por congelación en 100 µl de MEM, realizando previamente un lavado con MEM. Para la perfecta lisis celular, la placa, congelada a -20°C, fue mantenida a esa temperatura al menos durante 4 h. Tras la descongelación a temperatura ambiente se recogió el medio y las células lisadas y se pasaron a una placa de 96 pocillos con fondo V que fue centrifugada durante 10 minutos a 300xg. Al sobrenadante se le hizo el ensayo de LDH mediante "LDH Cytotoxicity Detection Kit" (Roche) siguiendo las especificaciones del fabricante.

De esta forma se calculó la viabilidad celular de cada condición referida al control y este valor sirvió para corregir los datos de la producción de ROS. En la Figura 1 se muestra el porcentaje de ROS corregido referido a la producción por XXO de cada una de las concentraciones ensayadas de NST0003. Se observó inhibición a 10 y 20 µg/ml de NST0003, siendo la máxima del 33% a 10 µg/ml, lo que demuestra un efecto antioxidativo funcional en las células. El AA, como antioxidante conocido, inhibe la producción de ROS en un 80% en las condiciones ensayadas.

Basándose en estos resultados, que ilustran la disminución de la producción de ROS por un compuesto de fórmula (I) [NST0003], los inventores procedieron a estudiar si dichos compuestos de fórmula (I) provocaban una disminución de la muerte neuronal causada por estrés oxidativo, y por tanto, un efecto neuroprotector.

1.2 Protección por NST0005 de la muerte neuronal inducida por estrés oxidativo independientemente de la actividad estatina

Para realizar este ensayo, se analizó la inhibición producida por el compuesto NST0005 [(1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-1,2,3,7,8,8*a*-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-[(2*R*,4*R*)-tetrahydro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-2-il]etil-1-naftalenil 2,2-dimetil-propanoato] de la muerte celular causada por el tratamiento con xantina/xantina oxidasa (XXO) que, como ya se ha mencionado, origina daño oxidativo (produce radicales libres como peróxido de hidrógeno, anión superóxido, radical hidroxilo) lo que desencadena muerte celular. Estas células [SK-N-MC], en pase no superior a 15, fueron sembradas sobre placas de 96 pocillos tratadas para células adherentes con una concentración celular de 5×10^4 células/pocillo; para cada condición del ensayo se sembraron 3 pocillos de la placa.

Tras 24 h de incubación de las células a 37°C y 5% CO₂ se procedió a los tratamientos celulares con 100 µl de volumen total para las condiciones siguientes (i), control (medio de cultivo); (ii), xantina/xantina oxidasa (XXO) [10 µM - 60 mU/mL]; y (iii), XXO [10 µM - 60 mU/mL] y NST0005 a diferentes concentraciones [4, 10, 20 y 40 µg/mL].

Las células fueron incubadas (a 37°C y 5% CO₂) con estos tratamientos durante 22 h, pasadas las cuales se añadió el reactivo WST-1 (Roche). El Test WST-1 se basa en la medida de la actividad metabólica. El daño celular produce la pérdida de la habilidad de las células de obtener la energía necesaria para mantener sus funciones metabólicas y el crecimiento celular, por lo que las células que están metabólicamente activas (vivas) reducen la sal de tetrazolium a formazán mediante el sistema succinato-tetrazolium reductasa (de la cadena respiratoria mitocondrial). El formazán formado puede ser detectado colorimétricamente, ya que absorbe a 440 nm. A las 2 horas de la adición del reactivo se realizó la lectura en un lector de placas a 440 nm.

Los resultados obtenidos se expresan, tal como aparece en la Figura 2, como la reducción del porcentaje de muerte celular para cada tratamiento referido a la muerte producida por la XXO. Se observó protección a 4, 10 y 20 µg/ml de NST0005, siendo la máxima del 50% a 10 µg/ml, por lo que el compuesto NST0005 muestra un efecto protector de la muerte de células humanas de origen neuronal (SK-N-MC) causada por estrés oxidativo.

Basándose en estos resultados los inventores decidieron estudiar si la capacidad neuroprotectora es dependiente de la actividad propia de las estatinas (es decir, inhibición de la enzima HMG-CoA reductasa). Para ello, se estudió el grado de inhibición de la enzima HMG-CoA reductasa por los distintos derivados de (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-1,2,3,7,8,8*a*-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-[(2*R*,4*R*)-tetrahydro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-2-il]etil-1-naftalenil propanoato, opcionalmente mono- o di-metilados en el carbono en posición alfa del ácido propanoico (NST0003, NST0004 y NST0005). El efecto de estos compuestos se comparó con el de una estatina conocida, la atorvastatina, para la que ya está descrito un potente efecto inhibitorio sobre la enzima HMG-CoA reductasa.

Durante la reacción, la HMG-CoA reductasa utiliza NADPH como agente reductor y como sustrato 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA). Como producto de reacción se obtiene el ácido mevalónico, que sirve como sustrato a la reacción siguiente para continuar la síntesis de colesterol. La reacción enzimática objeto de estudio se esquematiza de la siguiente forma:



Este ensayo *in vitro* está basado en la medida espectrofotométrica del descenso de absorbancia a 340 nm, que representa la oxidación del NADPH por la subunidad catalítica de la HMG-CoA reductasa en presencia del sustrato HMG-CoA reductasa. El ensayo se llevó a cabo en placa de 96 pocillos, con un volumen de reacción total de 200 µl. El tampón de reacción (KH₂PO₄ 50 mM, KCl 1 M, albúmina de suero bovino (BSA) 2 mg/ml y DTT 5 mM, a pH=7,3) se preparó en el momento de llevar a cabo la reacción y se mantuvo a 37°C. En los ensayos se incluyeron: (i), blanco (sin enzima) que informa de la estabilidad de NADPH durante la reacción; (ii), control (sin compuesto problema); y (iii), compuestos problema: Atorvastatina, NST0003, NST0004 y NST0005 a diversas concentraciones [0,01; 0,02; 0,04; 0,1; 0,2; 0,4; 1; 2; 4; 10; 20; 40 y 100 µg/mL] y disueltos en dimetilsulfóxido (DMSO).

Se llevaron a cabo cuatro ensayos independientes. Los compuestos problema fueron añadidos al tampón de reacción en la placa y se estandarizó la concentración de DMSO por reacción a 10 µl, habiéndose demostrado previamente la no interferencia del mismo durante la reacción. Las concentraciones de los reactivos implicados en la mezcla de reacción fueron las siguientes HMG-CoA 0,2 mM, HMG-CoA reductasa 3 µU/reacción y NADPH: 0,2 mM. Tras una breve agitación, la lectura de la placa se realizó en un espectrofotómetro a las condiciones de 340 nm, 37°C, detectando el descenso de absorbancia a 340 nm respecto al tiempo. Se calculó el porcentaje de actividad enzimática HMG-CoA reductasa respecto al control. Con los datos obtenidos se calculó la IC₅₀ mediante el método Trimmed Spearman-Kärber (Versión 1.5).

Los resultados obtenidos confirman, como aparece en la Figura 3, el efecto inhibitorio sobre la HMG-CoA reductasa por parte de la atorvastatina (IC₅₀ = 0,09±0,01 µg/ml), mientras que los compuestos NST0003, NST0004 y NST0005 presentaron actividades inhibitorias alejadas de la estatina conocida: IC₅₀ (NST0003)= 15,30±5,05 µg/ml, IC₅₀ (NST0004)= 9,05±4,40 µg/ml, y IC₅₀ (NST0005)= 0,35±0,07 µg/ml, lo que indica una potencia de inhibición de HMG-CoA reductasa de 170, 100 y 4 veces menor, respectivamente, que la de la atorvastatina.

Ejemplo 2

Inhibición por NST0005 de la muerte neuronal inducida por estrés de retículo endoplásmico

Basándose en los resultados previamente obtenidos los inventores decidieron estudiar si los derivados de (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-1,2,3,7,8,8*a*-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-[(2*R*,4*R*)-tetrahydro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-2-il]etil-1-naftalenil propanoato, opcionalmente mono- o di-metilados en el carbono en posición alfa del ácido propanoico (NST0003, NST0004 y NST0005) eran capaces de proteger frente a la muerte celular causada por estrés de retículo endoplásmico.

Para ello se realizó un ensayo sobre células en cultivo de neuroblastoma humano SK-N-MC procedentes de la ATCC (HTB-10); en todos los casos se siguieron estrictas normas de esterilidad y la manipulación se llevó a cabo en cabinas de seguridad biológica clase II que siguen la norma europea EN 12469. Las células fueron mantenidas en medio de cultivo MEM suplementado con piruvato sódico 1 mM, L-glutamina 2 mM, aminoácidos no esenciales 0,1 mM, gentamicina 0,05 mg/ml y suero fetal bovino 10%.

Se analizó la inhibición producida por el compuesto (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-1,2,3,7,8,8*a*-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-[(2*R*,4*R*)-tetrahydro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-2-il]etil-1-naftalenil 2,2-dimetilpropanoato (NST0005) de la muerte celular causada por el tratamiento con tunicamicina (Tm), que origina estrés de retículo endoplásmico por la inhibición de la N-glicosilación de las proteínas, lo que desencadena muerte celular. Estas células, en pase no superior a 15, fueron sembradas sobre placas de 96 pocillos tratadas para células adherentes con una concentración celular de 5×10^4 células/pocillo; para cada condición del ensayo se sembraron 3 pocillos de la placa.

Tras 24 h de incubación de las células a 37°C y 5% CO₂ se procedió a los tratamientos celulares con 100 µl de volumen total para las condiciones siguientes: (i), control (medio de cultivo); (ii), tunicamicina [20 µg/mL] (SIGMA), que produce la muerte del 50 % de las células; y (iii), tunicamicina [20 µg/mL] y NST0005 a diferentes concentraciones [4, 10, 20, 20 y 100 µg/mL].

Las células fueron incubadas (a 37°C y 5% CO₂) con estos tratamientos durante 22 h, pasadas las cuales se añadió el reactivo WST-1 (Roche). El Test WST-1, tal como se ha mencionado previamente, se basa en la medida de la actividad metabólica; las células metabólicamente activas (vivas) reducen la sal de tetrazolium a formazán mediante el sistema succinato-tetrazolium reductasa (de la cadena respiratoria mitocondrial) y el formazán formado puede ser detectado colorimétricamente, ya que absorbe a 440 nm. A las 2 horas de añadido el reactivo se realizó la lectura en un lector de placas a 440 nm.

Los resultados obtenidos se expresan, como aparece en la Figura 4, como la reducción del porcentaje de muerte celular para cada tratamiento referido a la muerte producida por la Tunicamicina (Tm). Se observó protección a 4, 10, 20 y 40 µg/ml de NST0005, siendo la máxima del 38% a 20 µg/ml, por lo que el compuesto NST0005 muestra un efecto protector de la muerte de células humanas de origen neuronal causado por estrés de retículo endoplásmico.

Ejemplo 3

Inhibición por NST0004 y NST0005 de la muerte neuronal inducida por apoptosis

Basándose en los resultados previamente obtenidos los inventores decidieron estudiar si los derivados de (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-1,2,3,7,8,8*a*-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-[(2*R*,4*R*)-tetrahydro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-2-il]etil-1-naftalenil propanoato, opcionalmente mono- o di-metilados en el carbono en posición alfa del ácido propanoico (NST0003, NST0004 y NST0005) eran capaces de proteger frente a la muerte celular causada por apoptosis.

3.1 Determinación de las células metabólicamente activas mediante el Test de WST-1 (Roche) [formación de formazán]

Para ello, se realizó un ensayo sobre células en cultivo de neuroblastoma humano SK-N-MC procedentes de la ATCC (HTB-10); en todos los casos se siguieron estrictas normas de esterilidad y la manipulación se llevó a cabo en cabinas de seguridad biológica clase II que siguen la norma europea EN 12469. Las células fueron mantenidas en medio de cultivo MEM suplementado con piruvato sódico 1 mM, L-glutamina 2 mM, aminoácidos no esenciales 0,1 mM, gentamicina 0,05 mg/ml y suero fetal bovino 10%.

Se analizó la inhibición producida por el compuesto (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-1,2,3,7,8,8*a*-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-[(2*R*,4*R*)-tetrahydro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-2-il]etil-1-naftalenil 2-metilpropanoato (NST0004) de la muerte celular causada por el tratamiento con camptotecina (Campt) que inhibe la enzima topoisomerasa I impidiendo la duplicación del DNA, lo que desencadena muerte celular apoptótica. Estas células, en pase no superior a 15, fueron sembradas sobre placas de 96 pocillos tratadas para células adherentes con una concentración celular de 5×10^4 células/pocillo; para cada condición del ensayo se sembraron 3 pocillos de la placa.

Tras 24 h de incubación de las células a 37°C y 5% CO₂ se procedió a los tratamientos celulares con 100 µl de volumen total para las condiciones siguientes: (i), control (medio de cultivo); (ii), camptotecina [20 nM] (SIGMA), que produce la muerte del 50% de las células; y (iii) camptotecina [20 nM] y NST0004 a diferentes concentraciones [4, 10, 20, 40 y 100 µg/mL].

Las células fueron incubadas (a 37°C y 5% CO₂) con estos tratamientos durante 22 h, pasadas las cuales se añadió el reactivo WST-1 (Roche). El Test WST-1 se basa en la medida de la actividad metabólica. Las células que estén metabólicamente activas (vivas) reducen la sal de tetrazolium a formazán mediante el sistema succinato-tetrazolium reductasa (de la cadena respiratoria mitocondrial) y el formazán formado puede ser detectado colorimétricamente, ya que absorbe a 440 nm. A las 2 horas de añadido el reactivo se realizó la lectura en un lector de placas a 440 nm.

Los resultados obtenidos se expresan, como aparece en la Figura 5, como la reducción del porcentaje de muerte celular para cada tratamiento referido a la muerte producida por la Camptotecina (Campt). Se observó protección a 4, 10 y 40 µg/ml de NST0004, siendo la máxima del 43% a 10 µg/ml, por lo que el compuesto NST0004 muestra un efecto protector de la muerte de células humanas de origen neuronal causada por apoptosis.

Basándose en estos resultados los inventores decidieron estudiar si los compuestos NST0003, NST0004 y NST0005 eran capaces de proteger frente a la muerte celular causada por apoptosis medida por citometría de flujo.

3.2 Determinación de la inhibición de la apoptosis mediante citometría de flujo

Para ello, se analizó la inhibición producida por el compuesto NST0005 de la apoptosis causada por el tratamiento con camptotecina (Campt). Las células SK-N-MC, en fase no superior a 15, fueron sembradas sobre placas de 6 pocillos tratadas para células adherentes con una concentración celular de 8x10⁵ células/pocillo; para cada condición del ensayo se sembraron 2 pocillos de la placa.

Tras 24 h de incubación de las células a 37°C y 5% CO₂ se procedió a los tratamientos celulares con 2 mL de volumen total para las condiciones siguientes: (i), control (medio de cultivo); (ii), camptotecina [50 µM]; (iii) camptotecina [50 µM] y Z-VAD-fmk [50 µM] (Alexis), como control positivo de inhibición; y (iv), camptotecina 50 µM con NST0005 a diferentes concentraciones [4, 10, 40 y 100 µg/mL].

Las células fueron incubadas (a 37°C y 5% CO₂) con estos tratamientos durante 6 h, pasadas las cuales se recogieron junto con su medio de cultivo y se centrifugaron a 300xg durante 5 minutos. Se eliminó el medio, se realizó un lavado con tampón fosfato salino (PBS) y se fijaron durante 2 minutos con 500 µl de etanol al 70% a -20°C. Una vez fijadas se centrifugaron a 400xg durante 5 minutos, se lavaron con PBS y se les añadió yoduro de propidio a 0,05 mg/ml, diluido en tampón de ciclo (Citrato sódico 0,1%, Nonidet P-40 0,3% y RNAsa 0,02 mg/ml) y se incubaron durante 1 hora a 37°C. Pasado este tiempo se analizaron por citometría de flujo, comparando la fluorescencia del yoduro de propidio frente a la cantidad de DNA. El porcentaje de apoptosis se midió sobre la región sub-G1 de cada una de las condiciones.

Los resultados obtenidos se expresan, como aparece en la Figura 6, como el porcentaje de la inhibición de la apoptosis de cada tratamiento referido a la apoptosis producida por camptotecina. Se observó una protección máxima del 17% a una concentración de 4 µg/ml de NST0005, por lo que este compuesto muestra un efecto protector de la apoptosis en células humanas de origen neuronal. El Z-VAD-fmk, inhibidor específico de caspasas, inhibe en un 30% la apoptosis producida.

Ejemplo 4

Inhibición por los compuestos NST0003, NST0004 y NST0005 de la apoptosis en el encéfalo del embrión de pez cebra

Basándose en los resultados previamente obtenidos los inventores decidieron estudiar si los derivados de (1S,3R,7S, 8S,8aR)-1,2,3,7,8,8a-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-[(2R,4R)-tetrahidro-4-hidroxi-6-oxo-2H-piran-2-il]etil-1-naftalenil propanoato, opcionalmente mono- o di-metilados en el carbono en posición alfa del ácido propanoico (NST0003, NST0004 y NST0005) eran capaces de proteger frente a la muerte celular causada por apoptosis en un modelo animal, el pez cebra.

Para ello, se realizó un ensayo sobre larvas de pez cebra (96 horas post-fertilización). Los huevos fertilizados se obtuvieron por parto natural de peces cebra adultos (cepa AB) en el laboratorio de los inventores, llevado a cabo acorde con lo descrito en *The Zebrafish Book* [Westerfield, M. (1995) *The Zebrafish Book. A Guide for the Laboratory Use of Zebrafish (Danio rerio)*. 3th ed., University of Oregon Press, Eugene]. Los huevos fueron recogidos en la 1ª hora posterior al desove, lavados y depositados en una placa petri limpia con agua (medio) de embriones (NaCl 4,9 mM, KCl 0,17 mM, CaCl₂·2H₂O 0,33 mM, MgSO₄·7H₂O 0,33 mM, pH 7,2) preparada siguiendo las directrices descritas en el libro *Zebrafish. Practical approach* [Nüsslein-Volhard, C and Dahm, R (2002) *Zebrafish. Practical approach*. Oxford: Oxford University Press].

ES 2 344 826 B1

Se analizó la inhibición producida por los compuestos NST0003, NST0004 y NST0005 sobre la muerte celular producida por el compuesto terbutil-hidroperóxido (TBH), el cual es un compuesto pro-oxidante que induce neurotoxicidad específica en larvas de pez cebra mediante el mecanismo de apoptosis.

Las larvas (a 96 horas post-fertilización [hpf]) fueron sembradas en placas de 96 pocillos (3 larvas/pocillo), realizando un triplicado (3 pocillos) para condición experimental, obteniendo así un triplicado intra-ensayo. Las larvas fueron tratadas en un volumen total de medio de embriones de 100 μ l por pocillo para las siguientes condiciones: (i) control (medio de embriones); (ii), TBH [0,45 mM], la cual corresponde con la máxima dosis tolerada (MTD), que induce neurotoxicidad en las larvas pero no mortalidad; y (iii) TBH [0,45 mM] y NST0003, NST0004 y NST0005, todos ellos a la concentración de 1 μ g/ml.

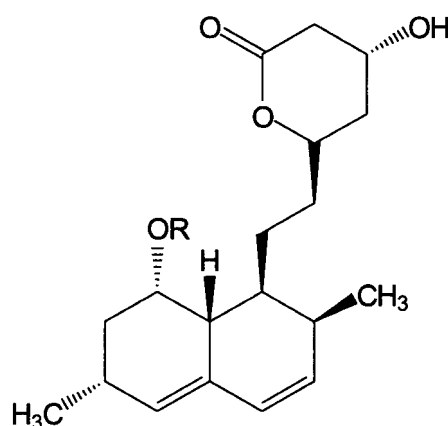
Las larvas fueron incubadas con los tratamientos durante 24 h; pasado este tiempo, fueron procesadas mediante la tinción con naranja de acridina (AO) [3,6-bis(dimetilamino)acridinio hidrocloreto · cloruro de zinc, doble sal (Sigma-Aldrich)] para determinar el porcentaje de apoptosis inducido por el neurotóxico. En el animal completo, AO se acumula en gránulos ácidos que se forman principalmente en células que están sufriendo apoptosis. Se ha demostrado que esta la tinción con AO es capaz de discernir entre células que presentan apoptosis frente a células necróticas (no las tiñe) en embriones vivos de *Drosophila* y además, es una técnica comúnmente usada para identificar células apoptóticas en el pez cebra entero.

Así, las larvas control y las tratadas fueron sumergidas en 1 μ g/ml de AO en agua de embriones a 28,5°C durante 60 minutos. Pasado este tiempo, el AO fue retirado mediante lavados con agua de embriones, haciendo un total de 5 lavados, 10 minutos cada uno. El AO es un compuesto fluorescente que puede ser fácilmente medido y cuantificado con un fluorímetro. Por lo tanto, las larvas fueron anestesiadas con tricafna (éster etílico del ácido 3-aminobenzoico) y homogeneizadas para su posterior lectura en un lector de placas de fluorescencia (excitación: 488 nm; emisión: 530 nm).

Los resultados obtenidos se expresan, como aparece en la Figura 7, como el porcentaje de apoptosis para cada tratamiento referido a la muerte producida por el TBH. Se observó neuroprotección con los 3 compuestos testados a la concentración de 1 μ g/ml: el compuesto NST0003 redujo en un 50,7% $\pm$ 17,1 la apoptosis inducida por la neurotoxina, siendo esta protección estadísticamente significativa ($p < 0,05$); el compuesto NST0004 también fue capaz de disminuir la apoptosis que produjo el TBH, disminuyendo en un 45,3 $\pm$ 18,9% la apoptosis producida por el compuesto inductor de daño (TBH), siendo también esta reducción significativa; y el compuesto NST0005 también redujo en un porcentaje alto la apoptosis, produciendo una inhibición del 34,3 $\pm$ 17,3% la apoptosis inducida por el TBH, aunque a pesar de la alta inhibición, ésta no fue estadísticamente significativa.

REIVINDICACIONES

1. Empleo de un compuesto de fórmula (I)



(I)

en el que R es $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CO}-$, $(\text{CH}_3)_2\text{CHCO}-$ o $(\text{CH}_3)_3\text{CCO}-$,

sus formas hidroxiaácidas y las sales farmacéuticamente aceptables de dichos hidroxiaácidos,

en la elaboración de una composición farmacéutica para la prevención y/o el tratamiento de:

- a) enfermedades neurodegenerativas, o
- b) enfermedades asociadas con una oxidación indeseada, o
- c) procesos patológicos asociados a la edad.

2. Empleo según la reivindicación 1, en el que dicho compuesto de fórmula (I) es (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-1,2,3,7,8,8a-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-[(2*R*,4*R*)-tetrahidro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-2-il]etil-1-naftalenil propanoato, su forma hidroxiaácida o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho hidroxiaácido.

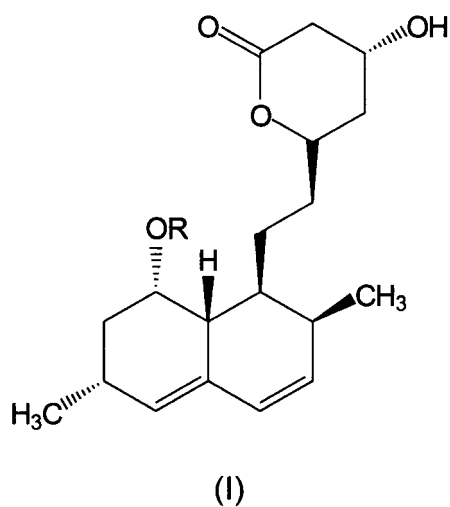
3. Empleo según la reivindicación 1, en el que dicho compuesto de fórmula (I) es (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-1,2,3,7,8,8a-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-[(2*R*,4*R*)-tetrahidro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-2-il]etil-1-naftalenil 2-metilpropanoato, su forma hidroxiaácida o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho hidroxiaácido.

4. Empleo según la reivindicación 1, en el que dicho compuesto de fórmula (I) es (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-1,2,3,7,8,8a-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-[(2*R*,4*R*)-tetrahidro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-2-il]etil-1-naftalenil 2,2-dimetilpropanoato, su forma hidroxiaácida o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho hidroxiaácido.

5. Empleo según la reivindicación 1, en el que dicho compuesto de fórmula (I) se selecciona del grupo formado por:

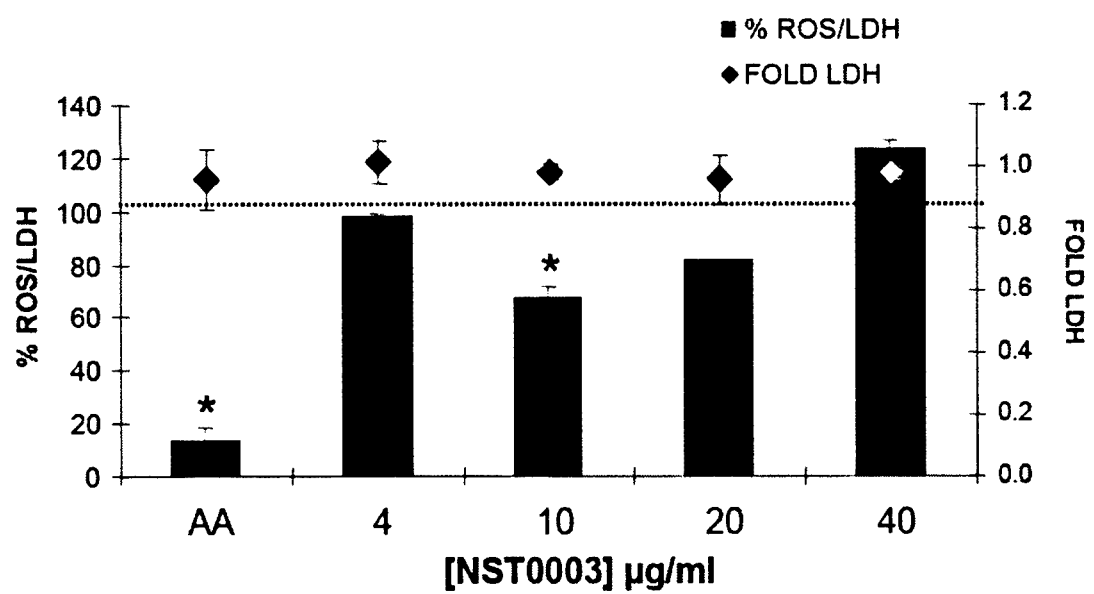
- (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-1,2,3,7,8,8a-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-[(2*R*,4*R*)-tetrahidro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-2-il]etil-1-naftalenil propanoato,
- (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-1,2,3,7,8,8a-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2-[(2*R*,4*R*)-tetrahidro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-2-il]etil-1-naftalenil 2-metilpropanoato,
- (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-1,2,3,7,8,8a-hexahidro-3,7-dimetil-8-p-[(2*R*,4*R*)-tetrahidro-4-hidroxi-6-oxo-2*H*-piran-il]etil-naftalenil 2,2-dimetilpropanoato,
- sus formas hidroxiaácidas y las sales farmacéuticamente aceptables de dichos hidroxiaácidos, y
- sus mezclas.

6. Un compuesto de fórmula (I)



en el que R es CH₃CH₂CO-, (CH₃)₂CHCO- o (CH₃)₃CCO-,
sus formas hidroxilácidas y las sales farmacéuticamente aceptables de dichos hidroxilácidos,
para la prevención y/o el tratamiento de:

- a) enfermedades neurodegenerativas, o
- b) enfermedades asociadas con una oxidación indeseada, o
- c) procesos patológicos asociados a la edad.



XXO

* $p < 0,05$, t-Student

Figura 1

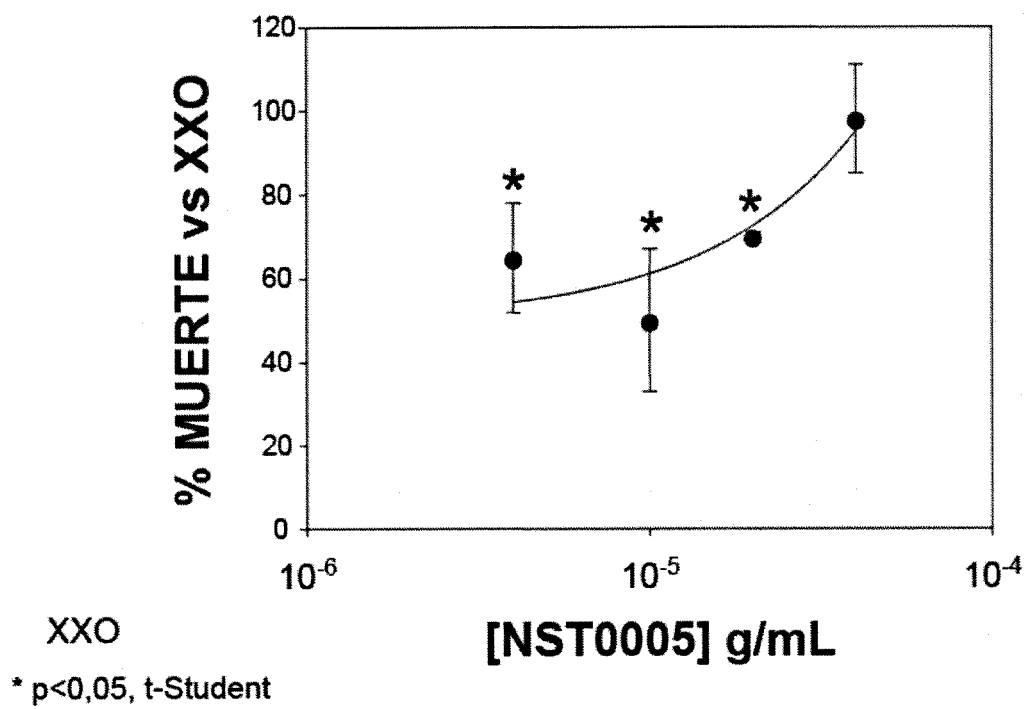


Figura 2

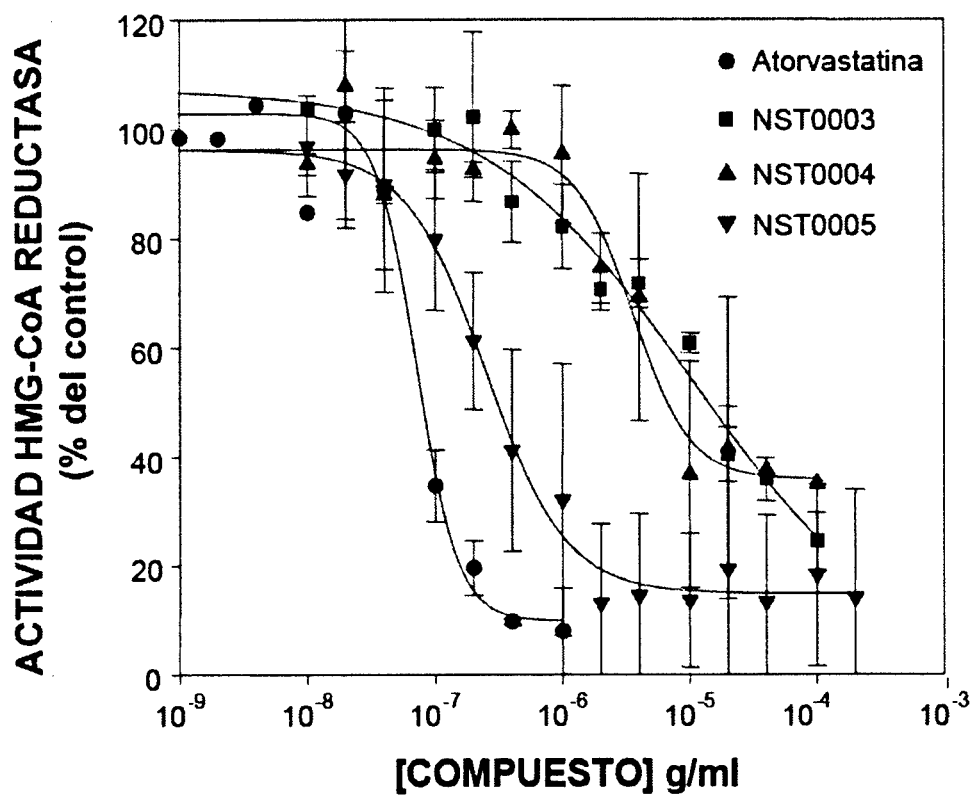


Figura 3

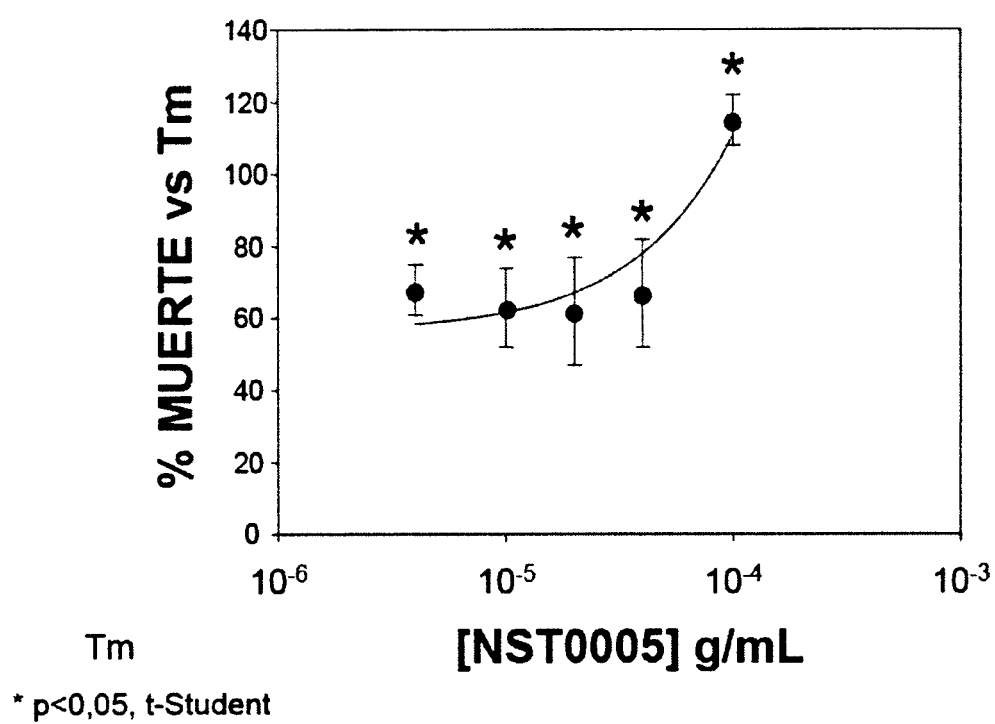


Figura 4

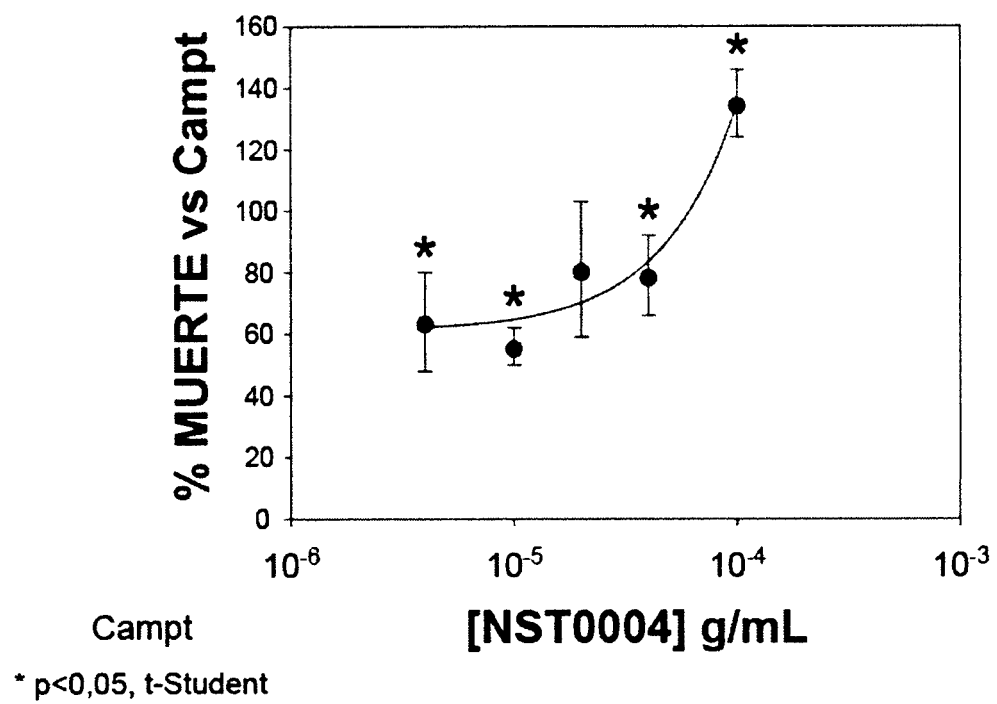


Figura 5

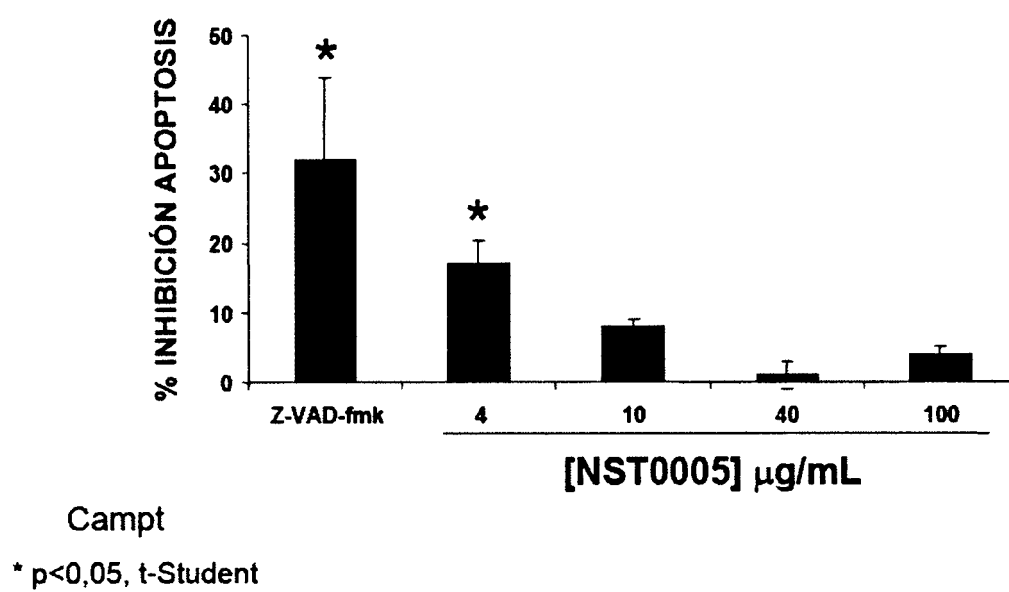


Figura 6

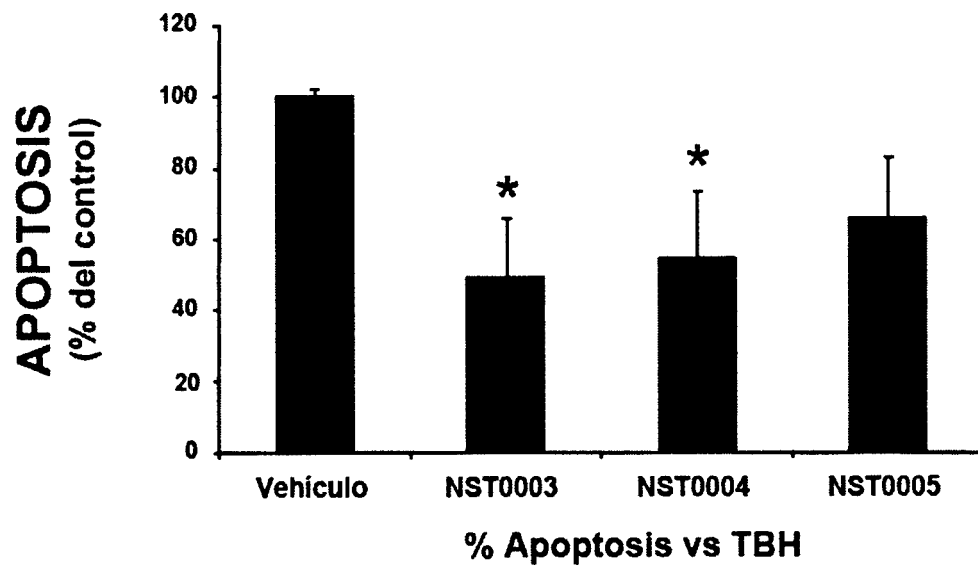


Figura 7



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

⑪ ES 2 344 826

⑫ Nº de solicitud: 200900718

⑬ Fecha de presentación de la solicitud: 06.03.2009

⑭ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑮ Int. Cl.: Ver hoja adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑯ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	Base de datos Registry [recuperado el 27.04.2010]. STN International, Columbus, Ohio (EEUU). Compuesto con CAS Registry Number RN 160522-03-2. Fecha de entrada en Registry 31.01.1995. Compuesto con CAS Registry Number RN 79902-42-4. Fecha de entrada en Registry 16.11.1984. Compuesto con CAS Registry Number RN 79902-39-9. Fecha de entrada en Registry 16.11.1984.	1,2,5 1,3,5 1,4,5
A	LEE, J.-K. y col. Statin inhibits kainic acid-induced seizure and associated inflammation and hippocampal cell death. Neuroscience Letters. Agosto 2008, Vol. 440, Nº 3, páginas 260-264. Todo el documento, en especial, página 260; página 261, figura 1B; página 262, figura 2C y 2D.	1-6
A	VOLLMER, T. y col. Oral Simvastatin treatment in relapsing-remitting multiple sclerosis. The Lancet. 15 Mayo 2004, Vol. 363, páginas 1607-1608. Todo el documento.	1-6
A	CORDLE, A. & LANDRETH, G. 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzyme A Reductase Inhibitors Attenuate Beta-Amyloid-Induced Microglial Inflammatory Responses. The Journal of Neuroscience. 2005, Vol. 25, Nº 2, páginas 299-307. Todo el documento.	1-6
A	WOLOZIN, B. y col. Simvastatin is associated with a reduced incidence of dementia and Parkinson's disease. BMC Medicine. 2007, Vol. 5, Nº 20, páginas 1-11. Todo el documento.	1-6

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 nº:

Fecha de realización del informe

17.05.2010

Examinador

E. Albarrán Gómez

Página

1/5

CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

A61K 31/35 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

A61P 25/08 (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A61K, A61P

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, REGISTRY, HCAPLUS, MEDLINE, EMBASE, BIOSIS

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 17.05.2010

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones	1-6	SÍ
	Reivindicaciones		NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones	1-6	SÍ
	Reivindicaciones		NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de **aplicación industrial**. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión:

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como ha sido publicada.

1. Documentos considerados:

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	Base de datos Registry.	1995
D02	Neuroscience Letters.	Agosto2008
D03	The Lancet.	2004
D04	The Journal of Neuroscience.	2005
D05	BMC Medicine	2007

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

La presente solicitud se refiere a compuestos de fórmula (I), a sus derivados mono y dimetilados en el carbono en posición alfa del ácido propanoico, y al uso de estos compuestos en la elaboración de una composición farmacéutica para la prevención y/o tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, enfermedades asociadas con una oxidación indeseada, procesos patológicos asociados a la edad, epilepsia, crisis convulsivas o convulsiones.

La referencia que constituye el documento D01 describe los siguientes compuestos:

* Compuesto 1,2,3,7,8,8a-hexahidro-3,7-dimetil-8-[2- tetrahidro-4-hidroxi-6-oxo-2H-piran-2-il]etil-1-naftalenil] propanoato con RN 160522-03-2, introducido en la base de datos Registry el 31/01/1995, y que corresponde al compuesto designado en la presente solicitud como NST0003 y recogido específicamente en la reivindicación 2 y 5 de la solicitud.

* El 2-metilpropanoato del compuesto anterior con RN 79902-42-4 , introducido en la base de datos Registry el 16/11/1984 y que corresponde al compuesto designado en la presente solicitud como NST0004 y recogido en la reivindicación 3 y 5 de la solicitud.

* El 2, 2-dimetilpropanoato con RN 79902-39-9 , introducido en la base de datos Registry el 16/11/1984 y que corresponde al compuesto designado en la presente solicitud como NST0004 y recogido en la reivindicación 4 y 5 de la solicitud.

En la introducción del documento D02 se hace una revisión bibliográfica sobre el efecto neuroprotector de diferentes estatinas en varios modelos animales y estudios clínicos, entre ellos esclerosis múltiple y enfermedad de Alzheimer. Los datos experimentales reflejados en la figura 1B de la página 261, reflejan que el pre-tratamiento con atorvastatina atenuaba significativamente el cuadro de convulsiones inducido experimentalmente en ratas. En concordancia con estos estudios in vivo, en la figura 2C y D se observa que lovastatina inhibe la muerte de células neuronales inducida por glutamato. Los autores de estos estudios sugieren el uso potencial de estatinas en el tratamiento de convulsiones y otras enfermedades neurológicas asociadas con el mecanismo de exotoxicidad que implica muerte neuronal inducida por isquemia, traumatismo cerebral, lesiones de la médula espinal, enfermedad de Alzheimer, epilepsia y convulsiones.

El documento D03 divulga un estudio del tratamiento oral con simvastatina de uno de los cuatro tipos de esclerosis múltiple conocida como esclerosis múltiple con recaídas y remisiones. De los resultados de este estudio los autores sugieren que la administración oral de 80 mg de simvastatina al día durante un periodo de 6 meses puede inhibir los componentes inflamatorios de la esclerosis múltiple.

El documento D04 divulga que el efecto neuroprotector de estatinas (simvastatina y lovastatina) en la enfermedad de Alzheimer esta mediado por la actividad antiinflamatoria de estos compuestos.

El documento D05 divulga un estudio que concluye diciendo que simvastatina está asociada a una fuerte reducción de la incidencia de demencia y enfermedad de Parkinson, mientras que la atorvastatina está asociada con una modesta reducción de demencia y enfermedad de Parkinson.

Hoja adicional

En el apartado "Background" de este artículo, haciendo una revisión bibliográfica se expone que existen múltiples estudios con resultados contrapuestos, unos sugieren y otros rechazan que las estatinas puedan reducir la incidencia o progresión de la enfermedad de Alzheimer. Del mismo modo, muchos trabajos han investigado si el tratamiento con estatinas puede ser beneficioso en individuos con demencia o con riesgo de demencia, pero la conclusión continua ambigua debido a resultados contrapuestos.

Los documentos citados D01-D05 muestran sólo el estado de la técnica del campo al que pertenece la invención. Ninguno de ellos divulga o sugiere el uso de los compuestos de la invención en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, procesos patológicos asociados a la edad, epilepsia, crisis convulsivas o convulsiones.

A pesar de la similitud estructural entre los compuestos de la solicitud y las estatinas conocidas como simvastatina y lovastatina, y teniendo en cuenta el contenido del documento D05 que refleja la divergencia entre los resultados de varios estudios, se considera que el experto en la materia no se plantearía el uso de los compuestos de la invención como alternativas evidentes a los compuestos conocidos del estado de la técnica en la prevención y/o tratamiento de la enfermedades reivindicadas.

En consecuencia, se considera que las reivindicaciones 1 a 6 de la presente solicitud tienen novedad e implica actividad inventiva (Art. 6.1 y 8.1 LP 11/1986).