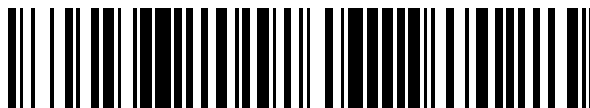


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 524 647**

21 Número de solicitud: 201330844

51 Int. Cl.:

C07D 309/30 (2006.01)

A61K 31/366 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

06.06.2013

43 Fecha de publicación de la solicitud:

10.12.2014

71 Solicitantes:

NEURON BIOPHARMA, S.A. (100.0%)
Parque Tecnológico de Ciencias de la Salud,
Avda. de la Innovación 1
18100 Armilla (Granada) ES

72 Inventor/es:

RAMOS MARTÍN, María del Carmen;
GUZMÁN SÁNCHEZ, Fernando;
SANTANA MARTÍNEZ, Soraya;
SIERRA ÁVILA, Saleta y
BURGOS MUÑOZ, Javier Santos

74 Agente/Representante:

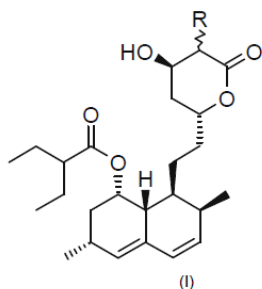
ARIAS SANZ, Juan

54 Título: **Compuestos neuroprotectores, antiinflamatorios y antiepilépticos**

57 Resumen:

Compuestos neuroprotectores, antiinflamatorios y antiepilépticos.

Se describe un compuesto de fórmula (I), donde R se selecciona entre grupo metilo o un grupo etilo:



sus formas hidroxiaácidas, las sales farmacéuticamente aceptables de dichos hidroxiaácidos y prodrogas y solvatos farmacéuticamente aceptables de dichos compuestos y de sus formas hidroxiaácidas y, en particular, dichos compuestos, sus formas hidroxiaácidas, sales, etc. para su uso en la prevención de: enfermedades neurodegenerativas o neurológicas, deterioro cognitivo, enfermedades con alteraciones del metabolismo del APP, inflamación o procesos inflamatorios, o epilepsia, crisis epilépticas y convulsiones.

ES 2 524 647 A1

DESCRIPCIÓN

COMPUESTOS NEUROPROTECTORES, ANTIINFLAMATORIOS Y ANTIEPILEPTICOS

5 CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se relaciona con la prevención y/o el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas o del sistema nervioso y en especial de la enfermedad de Alzheimer y de la epilepsia.

10 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La gran incidencia de las enfermedades neurodegenerativas y/o neurológicas 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. Los fármacos actuales ofrecen pocos
15 beneficios a los pacientes, por lo que es necesario la búsqueda de compuestos neuroprotectores para paliar esta enfermedad.

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 reductasa (HMGCR) (más
20 conocidos como estatinas) como agentes terapéuticos. De hecho, se ha descrito una reducción significativa del riesgo de alzhéimer en pacientes tratados con estatinas (Jick H, Zornberg GL, Jick SS, Seshadri S, Drachman DA. Statins and the risk of dementia. Lancet. 2000. 356: 1627-1631). En el caso de EA en las últimas décadas se han puesto en marcha varios ensayos clínicos de fase II usando principalmente atorvastatina y simvastatina. Sin
25 embargo, hasta el momento dichos estudios no han sido capaces de demostrar la eficacia terapéutica de las estatinas frente a la enfermedad de Alzheimer (Burgos JS, Benavides J, Douillet P, Velasco J, Valdivieso F. How statins could be evaluated successfully in clinical trials for Alzheimer's disease? Am J Alzheimers Dis Other Demen. 2012. 27(3): 151-153).

Es conocido en el estado de la técnica (EP2241561) que modificaciones en la
30 estructura del anillo hexahidronaftalénico de ciertas estatinas resulta en estatinas (NST0037) con una elevada capacidad hipocolesterolémica y neuroprotectora. Previamente se había identificado que una metilación en el anillo de β -hidroxipirano en la simvastatina producía un derivado con capacidad inhibitoria de la HMGCR *in vitro* que se traducía en efecto hipocolesterolémico *in vivo* (US6541511 B1), si bien este documento no refiere a la
35 capacidad neuroprotectora de dicha estatina modificada.

En la actualidad existe la necesidad de desarrollar nuevos compuestos, en particular estatinas, con eficacia terapéutica frente a enfermedades neurodegenerativas, esto es, compuestos con elevada actividad neuroprotectora que, adicionalmente, presenten un buen paso de barrera hematoencefálica.

5 COMPENDIO DE LA INVENCION

La presente invención describe dos nuevos derivados de la estatina NST0037 donde el anillo de β -hidroxipiranona de la molécula ha sido protegido mediante la incorporación de un grupo metilo o un grupo etilo. Estos nuevos derivados son el 2-etilbutanoato de (1S, 3R, 7S, 8S, 8aR)-8-(2-((2R, 4R)-4-hidroxi-5-metil-6-oxotetrahidro-2H-piran-2-il)etil)-3,7-dimetil-1, 2, 3, 7, 8, 8a-hexahidronaftalen-1-ilo (también identificado en ocasiones en esta solicitud de
 10 patente como NST0076) y el 2-etilbutanoato de (1S, 3R, 7S, 8S, 8aR)-8-(2-((2R,4R)-5-etil-4-hidroxi-6-oxotetrahidro-2H-piran-2-il)etil)-3,7-dimetil-1, 2, 3, 7, 8,8a-hexahidronaftalen-1-ilo (también identificado en ocasiones en esta solicitud de patente como NST0078). Estas modificaciones, sorprendentemente y en comparación con lo descrito en la patente
 15 US6541511 B1, no produjeron moléculas con actividad inhibitoria de la HMGCR similar o mejor a la molécula de partida, según ensayos *in vitro* e *in vivo* realizados por los inventores. Sin embargo, y también sorprendentemente, los inventores detectaron una alta capacidad neuroprotectora de las dos moléculas NST0076 y NST0078 de la invención. De hecho, los compuestos de la invención presentan un alto potencial neuroprotector *in vivo*, superior al de
 20 la simvastatina, protegiendo además de la epilepsia, disminuyendo la actividad enzimática de la β -secretasa (BACE), la cual es una diana terapéutica para el tratamiento de la EA, ya que es responsable de la ruta amiloidogénica en el procesamiento de la proteína precursora del amiloide (APP) y disminuyendo la neuroinflamación. Adicionalmente, los inventores decidieron estudiar el paso de barrera hematoencefálica (BHE) de los derivados NST0076 y
 25 NST0078, encontrando sorprendentemente que ambos compuestos presentan niveles en el cerebro muy superiores a los detectados para la simvastatina, lo que se confirmó con ensayos *in vitro* que predecían también un mejor acceso a cerebro

La ausencia de actividad hipolipemiente de los compuestos se ha puesto de manifiesto mediante la determinación de la actividad de los mismos sobre HMGCR en comparación con
 30 una estatina comercial que inhibe la enzima (la simvastatina), y con la monacolina J, que presenta una estructura similar pero que posee una capacidad inhibitoria de la HMGCR muy inferior a la de la simvastatina (Ejemplo 2, Figura 1). Con el objetivo de caracterizar mejor los efectos de los compuestos sobre el metabolismo lipídico y contrastar los resultados encontrados *in vitro*, los inventores decidieron analizar con más detalle la actividad
 35 hipocolesterolémica usando modelos *in vivo* y evaluando el efecto agudo de los compuestos

derivados NST0076 y NST0078 en un modelo de hiperlipidemia familiar en ratón (Ejemplo 2, Figura 2).

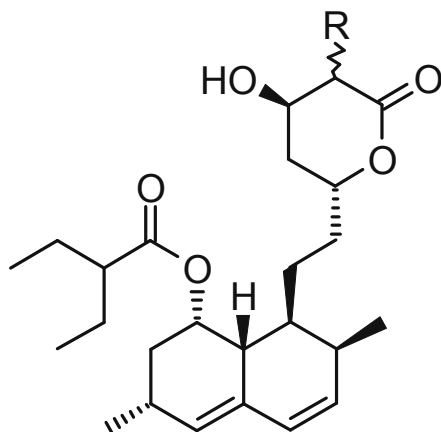
La actividad antiepiléptica y anticonvulsivante de los compuestos se ha demostrado mediante la determinación de la protección de las crisis epilépticas y de las convulsiones en un modelo de epilepsia en ratones (Ejemplo 3, Figura 3). Dicho ejemplo pone de manifiesto el potencial empleo de estos compuestos en la prevención y/o tratamiento de la epilepsia y de las crisis convulsivas o convulsiones. El efecto neuroprotector de NST0076 y NST0078 se ha evaluado frente al daño neuronal en hipocampo causado por la acción de una sustancia excitotóxica (Ejemplo 3, Figuras 4 y 5). Los inventores encontraron que estos compuestos son sorprendentemente mejores neuroprotectores que la simvastatina, protegiendo de la muerte neuronal y de la neuroinflamación inducida. Dicho ejemplo pone de manifiesto el potencial empleo de estos compuestos en la prevención y/o tratamiento de las enfermedades asociadas al síndrome excitotóxico, como las enfermedades neurodegenerativas y/o neurológicas.

También se ha evaluado el efecto de los compuestos sobre la actividad β -secretasa (BACE), observándose que de forma sorprendente los compuestos NST0076 y NST0078, y al contrario de lo que sucede con la simvastatina, presentan un efecto inhibitorio sobre BACE en cerebro de roedores o de pez cebra (Ejemplo 4, Figuras 6 y 7). Dicho ejemplo pone de manifiesto el potencial empleo de este compuesto en la prevención y/o tratamiento de las enfermedades asociadas a alteraciones en el metabolismo de la proteína precursora del β -amiloide (APP), como la EA.

Con el objetivo de definir el paso de barrera hematoencefálica de los compuestos NST0076 y NST0078, se han analizado diferentes parámetros *in silico*, como el paso de barrera teórico condicionado por la lipofilicidad de los compuestos, o mediante ensayos *in vitro*, analizando el porcentaje de paso de BHE y su permeabilidad efectiva (Figura 8) tal como se describe en el Ejemplo 5, en el que se observa que ambos derivados de NST0037 presentan un alto paso teórico de BHE, siendo éste sorprendentemente superior al de la simvastatina. Adicionalmente se comprobó en ratones que el acceso de las moléculas al cerebro era sorprendentemente superior en el caso de los nuevos derivados de NST0037 frente al paso de una estatina de referencia, la simvastatina (Ejemplo 5, Figura 9). Posteriormente se han determinado las concentraciones plasmáticas de estas moléculas frente a la simvastatina (Ejemplo 5, Figura 10), observándose sorprendentemente concentraciones muy superiores y estadísticamente significativas de NST0076 y NST0078 con respecto a simvastatina.

Por tanto, un aspecto de la presente invención se refiere a dos compuestos de fórmula (I), donde R se selecciona entre un grupo metilo [también identificado en

ocasiones en esta solicitud de patente como NST0076] y un grupo etilo [también identificado en ocasiones en esta solicitud de patente como NST0078]:



(I)

a sus formas hidroxíácidas, a las sales farmacéuticamente aceptables de dichos hidroxíácidos y a prodrogas y solvatos farmacéuticamente aceptables del compuesto y de sus formas hidroxíácidas.

Otro aspecto de la presente invención, es una composición farmacéutica que comprende compuestos de fórmula (I) y/o sus formas hidroxíácidas y/o una sal farmacéuticamente aceptable de dichos hidroxíácidos y/o una prodroga o solvato farmacéuticamente aceptable de los compuestos o de sus formas hidroxíácidas, y al menos un adyuvante, portador y/o vehículo farmacéuticamente aceptable.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a compuestos de fórmula (I), a sus formas hidroxíácidas o una sal farmacéuticamente aceptable de dichos hidroxíácidos y/o a una prodroga o solvato farmacéuticamente aceptable de los compuestos o de sus formas hidroxíácidas para su uso como medicamento.

Según otro aspecto, la presente invención se refiere a un derivado etilado y a un derivado metilado del compuesto de fórmula (I), a sus formas hidroxíácidas o a una sal farmacéuticamente aceptable de dichos hidroxíácidos y/o a una prodroga o solvato farmacéuticamente aceptable de los compuestos o de su forma hidroxíácida para su uso como agente neuroprotector, en particular en la prevención y/o el tratamiento de:

- a. enfermedades neurodegenerativas o del sistema nervioso (e.g., enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica (ELA) o esclerosis múltiple, Creutzfeldt-Jacob, ataxia de Friedreich, demencia con cuerpos de Lewy, atrofia muscular espinal, encefalopatías espongiiformes, enfermedad de Devic, síndrome de Guillain-Barré, enfermedad de Canavan, espondilosis, enfermedad de Lafora, síndrome de Down, síndrome de

Korsakov, etc), más concretamente como neuroprotector frente a alteraciones del metabolismo del APP asociados a dichas enfermedades neurodegenerativas crónicas,

- b. deterioro cognitivo,
- 5 c. inflamación o procesos inflamatorios, y
- d. epilepsia, *status epilepticus*, crisis epilépticas y convulsiones

Un aspecto de la presente invención se refiere al uso de compuestos de fórmula (I), de sus formas hidroxiácidas, de una sal farmacéuticamente aceptable de dichos hidroxiácidos y/o de una prodroga o solvato farmacéuticamente aceptable de los compuestos o de sus formas hidroxiácidas en la elaboración de un medicamento. Según una realización particular, los medicamentos son para su uso como agentes neuroprotectores, en particular en la prevención y/o el tratamiento de:

- a. enfermedades neurodegenerativas o del sistema nervioso (e.g., enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral
- 15 amiotrófica (ELA) o esclerosis múltiple, Creutzfeldt-Jacob, ataxia de Friedreich, demencia con cuerpos de Lewy, atrofia muscular espinal, encefalopatías espongiiformes, enfermedad de Devic, síndrome de Guillain-Barré, enfermedad de Canavan, espondilosis, enfermedad de Lafora, síndrome de Down, síndrome de Korsakov, etc.), más concretamente frente a alteraciones del metabolismo del APP
- 20 asociados a dichas enfermedades neurodegenerativas crónicas,
- b. deterioro cognitivo,
- c. Inflamación o procesos inflamatorios, y
- d. epilepsia, *status epilepticus*, crisis epilépticas y convulsiones

En otro aspecto, la invención se relaciona con un método para la prevención y/o tratamiento de enfermedades neurodegenerativas o del sistema nervioso, deterioro cognitivo, epilepsia, crisis epilépticas y convulsiones, o enfermedades asociadas a alteraciones del metabolismo del APP, en un sujeto con necesidad de tratamiento, que comprende la administración a dicho sujeto de una cantidad terapéuticamente eficiente de compuestos de fórmula (I), sus formas hidroxiácidas o una sal farmacéuticamente aceptable de dichos hidroxiácidos y/o una prodroga o solvato farmacéuticamente aceptable de los compuestos o de su formas hidroxiácidas.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Figura 1 es una gráfica de dispersión XY que representa la inhibición de la actividad de la enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A reductasa (HMGCR) ejercida por los compuestos NST0076, NST0078, monacolina J y la simvastatina en sus formas

hidroxiácidas. La figura muestra el porcentaje de la actividad de la enzima HMGCR tras el tratamiento con los compuestos a diferentes concentraciones, representándose las medias $\pm$ SD de un experimento por duplicado. Se muestra una tabla resumen de los resultados de IC₅₀ (concentración a la que se inhibe el 50% de la actividad de la enzima) para los cuatro compuestos.

La Figura 2 es un diagrama de barras que representa el efecto hipocolesterolémico de la simvastatina y de NST0076 y NST0078 tras 12h de la administración i.p. de una suspensión de cada una de las moléculas a 50 mg/kg a ratones transgénicos apoB100 machos (n=4-5/grupo). El colesterol total, el colesterol LDL y el colesterol HDL fueron cuantificados en el plasma de los roedores mediante técnicas enzimáticas y espectrofotométricas. Los resultados son la media $\pm$ SD de la variación de los niveles de colesterol respecto al control. * Diferencia significativa respecto al grupo control (vehículo), de acuerdo al test de Student ($p < 0.05$).

Las Figuras 3, 4 y 5 muestran el grado de protección ejercido por los compuestos en un modelo *in vivo* de daño excitotóxico en ratones.

La Figura 3 es un diagrama de barras donde se representa la media $\pm$ SEM del porcentaje del área bajo la curva de los niveles de epilepsia con respecto al grupo Vehículo+KA, mostrados por los ratones a lo largo de los 120 minutos de observación tras la inoculación de kainato (23 mg/kg) en función del pretratamiento recibido. Los pretratamientos (n=12, Grupo Simvastatina+KA), NST0076 (n=10, Grupo NST0076+KA) y NST0078 (n=10, Grupo NST0078+KA) fueron administrados i.p. a 3.125 mg/kg -24h y -0.5 h antes de inducir el daño con kainato. Los ratones control recibieron volúmenes equivalentes del vehículo (metilcelulosa al 0.5% en solución salina) con la misma pauta (n=10, Grupo Vehículo+KA). *p-valor <0.05 respecto al grupo Vehículo+KA (t-student).

La Figura 4 es un diagrama de barras apiladas donde se representa el porcentaje de animales muertos, el porcentaje de animales con daño en el hipocampo y el porcentaje de animales sin daño en dicha región en función del tratamiento administrado. El experimento constó de cinco grupos experimentales: Grupo Vehículo+PBS+Vehículo (n=9), Grupo Vehículo+KA+Vehículo (n=20), Grupo Simvastatina+KA+Simvastatina (n=12), grupo NST0076+KA+NST0076 (n=10) y Grupo NST0078+KA+NST0078 (n=10). Los ratones fueron pretratados i.p. con dosis de 3.125 mg/kg 0.5 y 24h antes de inducir un daño mediante una inoculación de kainato (23 mg/kg). El grupo de ratones que no fue tratado con kainato recibió PBS en su lugar. Los tres días posteriores a la administración de kainato se continuó tratando a los ratones (1 dosis/día). Los ratones de los grupos vehículo recibieron volúmenes equivalentes de metilcelulosa al 0.5% en solución salina. Al cuarto día los animales supervivientes fueron sacrificados y sus cerebros extraídos y procesados para la

realización de cortes coronales de 5 μ m, que posteriormente se tiñeron con hematoxilina y eosina. Los cerebros fueron analizados registrándose el daño detectado en el hipocampo. Se indica en cada caso el número de veces que es mayor el porcentaje del dato registrado con respecto al grupo Simvastatina+KA+Simvastatina.

5 La Figura 5 es un diagrama de barras donde se representa el grado de extensión de astrogliosis (o score) en las distintas áreas cerebrales afectadas por el kainato en función del tratamiento, expresándose como la media $\pm$ SEM del score registrado en los cerebros de los animales supervivientes. El experimento constó de cinco grupos experimentales: Grupo Vehículo+PBS+Vehículo (n=9), Grupo Vehículo+KA+Vehículo (n=20), Grupo
10 Simvastatina+KA+Simvastatina (n=12), grupo NST0076+KA+NST0076 (n=10) y Grupo NST0078+KA+NST0078 (n=10). Los ratones fueron pre-tratados i.p. con dosis de 3.125 mg/kg 0.5 y 24h antes de inducir un daño mediante una inoculación de kainato (23 mg/kg). El grupo de ratones que no fue tratado con kainato recibió PBS en su lugar. Los tres días posteriores a la administración de kainato se continuó tratando a los ratones (1 dosis/día).
15 Los ratones de los grupos vehículo recibieron volúmenes equivalentes de metilcelulosa al 0.5% en solución salina. Al cuarto día los animales supervivientes fueron sacrificados y sus cerebros extraídos y procesados para la realización de cortes coronales de 5 μ m que fueron teñidos contra la proteína GFAP presente en la astrogliá. Posteriormente, los cerebros fueron analizados registrándose la extensión de la astrogliosis (en el score, el cero indica
20 que no hay astrogliá reactiva y el tres que la astrogliá reactiva es máxima). *p<0.05 respecto al grupo vehículo + KA + vehículo (t-student).

La Figura 6 es un diagrama de barras donde se representa la media $\pm$ SEM de la actividad enzimática de la β -secretasa (BACE) en cerebro de ratón tras 24h de la administración i.p. de 50 mg/kg de una suspensión de simvastatina, NST0076, NST0078 o
25 del volumen equivalente de su vehículo (metilcelulosa al 0.5% en solución salina) a ratones macho FVB. La actividad enzimática fue determinada *in vitro* en homogenados de cerebro mediante el uso de un sustrato fluorogénico, y se ha expresado en unidades arbitrarias de la enzima normalizadas por cantidad de proteína (determinada mediante el método de BCA). *p<0.05 respecto al grupo Control; **p<0.01 respecto al grupo Control; #p<0.05 respecto al
30 grupo Simvastatina; ##p<0.01 respecto al grupo Simvastatina (t-student test).

La Figura 7 es un diagrama de barras donde se representa la media $\pm$ SEM de la actividad enzimática de la β -secretasa (BACE) en cerebro de pez cebra tras 24h de la administración i.p. de 100 mg/kg de una suspensión de simvastatina, NST0076, NST0078 o
del volumen equivalente de su vehículo (metilcelulosa al 0.5% en solución salina) a peces
35 cebra adultos de 24 meses de edad. La actividad enzimática fue determinada *in vitro* en homogenados de cerebro mediante el uso de un sustrato fluorogénico, y se ha expresado en

unidades arbitrarias de la enzima normalizadas por cantidad de proteína (determinada mediante el método de BCA). ** $p < 0.01$ respecto al grupo Control; # $p < 0.05$ respecto al grupo Simvastatina (t-student test).

La Figura 8 es una gráfica de dispersión XY que representa la permeabilidad efectiva expresada como P_e (cm/s) frente al paso de barrera hematoencefálica (BHE) (%) de simvastatina, NST0076 y NST0078 en sus formas hidroxíacidas. Ambos parámetros han sido determinados *in vitro* mediante el método PAMPA (Parallel Artificial Membrane Permeability Assay). Como controles positivo y negativo se emplearon verapamilo y teofilina respectivamente.

La Figura 9 es una gráfica de dispersión XY que representa la concentración de las formas lactona de simvastatina, NST0076 y NST0078 en cerebro tras 1, 2, 4 y 6h de administrar i.p. una suspensión de los compuestos a 50 mg/kg usando metilcelulosa al 0.5% en solución salina como vehículo a ratones FVB machos ($n=4-8$ /grupo/tiempo). Las concentraciones de los compuestos fueron determinadas mediante UPLC-MS. Los resultados son la media $\pm$ SEM de las concentraciones determinadas expresadas por cantidad de cerebro. * Diferencia significativa respecto al grupo Simvastatina, de acuerdo al test de Student ($p < 0.05$). Los valores de C_{max} , t_{max} y AUC_{0-6} (Area Under the Curve) se han calculado a partir de cada grupo de animales.

La Figura 10 es una gráfica de dispersión XY que representa la concentración de las formas lactona de simvastatina, NST0076 y NST0078 en plasma tras 1, 2, 4 y 6h de administrar i.p. una suspensión de los compuestos a 50 mg/kg usando metilcelulosa al 0.5% en suero salino fisiológico como vehículo a ratones FVB machos ($n=4-8$ /grupo/tiempo). Las concentraciones de los compuestos fueron determinadas mediante UPLC-MS. Los resultados son la media $\pm$ SEM de las concentraciones determinadas expresadas en $\mu\text{g/mL}$. * Diferencia significativa respecto al grupo simvastatina, de acuerdo al test de Student ($p < 0.05$). Los valores de C_{max} , t_{max} y AUC_{0-6} (Area Under the Curve) se han calculado a partir de cada grupo de animales.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

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 cualquier sustancia capaz de producir 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, excitotoxicidad, daño de retículo endoplásmico, deposición de subproductos, desorganización del citoesqueleto, inhibición de la cadena de transporte electrónico, pérdida de la arquitectura celular, hiperfosforilación o defosforilación de proteínas, etc, o a la disminución o desaparición de sus efectos secundarios.

5 El término “estatina”, tal como aquí se utiliza, se refiere a un inhibidor de la enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A reductasa (HMGCR), enzima que cataliza el paso limitante de la biosíntesis del colesterol, e incluye cualquier estatina tanto natural como sintética o semisintética. Sin embargo, los compuestos que no son capaces de inhibir la enzima HMGCR no pueden considerarse estatinas, aunque su estructura se aproxime a las
10 estatinas conocidas.

El término “hipocolesterolémico”, tal como aquí se utiliza, se refiere a cualquier sustancia farmacológicamente activa que tenga la propiedad de disminuir los niveles de colesterol en sangre o en otros tejidos.

15 El término “enfermedad del sistema nervioso o neurológica”, tal como aquí se utiliza, incluye enfermedades que pueden afectar al funcionamiento tanto del sistema nervioso central, la medula espinal (mielopatía) o cerebro (encefalopatía), como al sistema nervioso periférico, los nervios, pudiendo presentarse dificultades para el movimiento, el habla, el aprendizaje, la memoria, la deglución o alteraciones en el funcionamiento de los sentidos u estados de ánimo. Dentro del grupo de enfermedades neurológicas se incluyen las
20 enfermedades neurodegenerativas y otras como por ejemplo la epilepsia, meningitis, derrames cerebrales, espina bífida, polineuropatías, patologías vasculares, etc.

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;
25 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) o esclerosis múltiple, Creutzfeldt-Jacob, ataxia de Friedreich, demencia con cuerpos de Lewy, atrofia
30 muscular espinal, encefalopatías espongiiformes, enfermedad de Devic, síndrome de Guillain-Barré, enfermedad de Canavan, espondilosis, enfermedad de Lafora, síndrome de Down, síndrome de Korsakov, 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
35 apoptosis o excitotoxicidad o desorganización del citoesqueleto o inhibición de la cadena de

transporte electrónico o hiperfosforilación o defosforilación de proteínas o muerte neuronal en general.

El término “deterioro cognitivo”, tal como aquí se utiliza, se refiere a la pérdida o alteración de las funciones mentales, tales como memoria, orientación, lenguaje, reconocimiento visual o conducta que interfieren con la actividad e interacción social de la persona afectada de forma persistente en el tiempo.

El término “epilepsia”, tal como aquí se utiliza, se refiere a un síndrome cerebral crónico de causas diversas, caracterizada por crisis recurrentes debidas a unas descargas excesivas hipersincrónicas de impulsos nerviosos por las neuronas cerebrales, asociadas eventualmente con diversas manifestaciones clínicas y paraclínicas. Las crisis pueden ser convulsivas o no convulsivas. La epilepsia puede tener muchas causas; en unos casos puede ser debida a lesiones cerebrales de distintos tipos (e.g., traumatismos craneales, secuelas de meningitis, tumores, etc.); en otros casos no hay ninguna lesión sino una predisposición de origen genético a padecer la crisis; en otros casos, la etiología de la epilepsia puede ser ambiental, por tratamientos farmacológicos, por excitotoxicidad, trauma, procesos de estrés, envejecimiento, problemas del desarrollo, enfermedades neurológicas, crisis psicológicas, problemas en la gestación, problemas en el parto, etc.

El término “epiléptico o convulsivante”, tal como aquí se utiliza, se refiere a cualquier crisis epiléptica o convulsión de cualquier etiología, por ejemplo, genética, ambiental, por tratamientos farmacológicos, por excitotoxicidad, por trauma, por procesos de estrés, por envejecimiento, por problemas del desarrollo, por enfermedades neurológicas, por crisis psicológicas, por problemas en la gestación, por problemas en el parto, etc. Una crisis epiléptica ocurre cuando una actividad anormal eléctrica en el cerebro causa un cambio involuntario de movimiento o función del cuerpo, de sensación, en la capacidad de estar alerta o de comportamiento, y pueden ser parciales o generalizadas (convulsivas o no-convulsivas).

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.

Debido a la naturaleza de los compuestos de la invención NST0076 y NST0078, y teniendo en cuenta que la patente US654151 B1 describe un análogo metílico de la simvastatina, obtenido mediante una modificación estructural en el anillo de β -hidroxipiranona de la molécula y que presenta una extraordinaria capacidad de inhibir la HMGCR, sería de esperar que los nuevos compuestos NST0076 y NST0078 presentaran una elevada capacidad de inhibir la HMGCR. Sorprendentemente, y tal como se muestra en la Figura 1 del Ejemplo 2, los resultados indican que ninguno de los compuestos fue capaz de inhibir la HMGCR de forma eficiente. De hecho, mientras que NST0076 presentó una inhibición de la enzima próxima a la monacolina J y muy inferior a la de simvastatina (unas 28 veces menos), NST0078 no ejerció efecto inhibitor alguno sobre la misma (unas 1.900 veces menos que la simvastatina).

Con el objetivo de estudiar el efecto sobre el metabolismo del colesterol de los compuestos NST0076 y NST0078, los inventores decidieron evaluar su capacidad de reducir los niveles de colesterol y sus fracciones *in vivo*, usando un modelo de hiperlipidemia familiar en roedor. Como muestra la Figura 2 del Ejemplo 2, los compuestos NST0076 y NST0078 no presentan efecto hipocolesterolémico alguno, al contrario que la simvastatina, que disminuyó los niveles de colesterol plasmático, principalmente a nivel de la fracción de LDL.

Seguidamente, y aunque los compuestos no tuviesen propiedades hipocolesterolémicas, los inventores decidieron evaluar el efecto neuroprotector de NST0076 y NST0078 *in vivo*. Para ello utilizaron la administración de una sustancia excitotóxica para inducir daño neuronal, lo que causó crisis convulsivas y epilepsia en los animales. Por este motivo, los inventores decidieron analizar si los compuestos de esta invención presentaban un efecto antiepiléptico y anticonvulsivante frente al daño producido

por una sustancia excitotóxica (Ejemplo 3, Figura 3), determinando además si protegía de la muerte neuronal y de la neuroinflamación causada por una sustancia excitotóxica (Figuras 4 y 5) observándose que sorprendentemente la administración de NST0076 y NST0078, disminuían las crisis convulsivas, la muerte neuronal y la neuroinflamación asociada.

5 Para demostrar si los compuestos tenían efectos sobre el metabolismo del APP, se determinó si NST0076 y NST0078 eran capaces de modificar la actividad BACE *in vivo*. En las Figuras 6 y 7 del Ejemplo 4 se observa como tanto en cerebro de ratón como en cerebro de pez cebra ambos compuestos presentan un mayor potencial que la simvastatina para disminuir la actividad BACE tras 24h de la administración de los mismos, por lo que son
10 susceptibles de ser utilizados en enfermedades con alteraciones del metabolismo del APP como la EA.

Con el objetivo de estudiar el paso de barrera hematoencefálica (BHE) de los compuestos NST0076 y NST0078, se analizaron diferentes parámetros como el paso de BHE teórico, el porcentaje de paso y la permeabilidad efectiva (Figura 8) tal como se
15 describe en el Ejemplo 5. En el ensayo *in vitro* de paso de BHE por difusión pasiva (método PAMPA) los compuestos NST0076 y NST0078 mostraron un alto paso de BHE sorprendentemente superior a la simvastatina (1.5 y 1.7 veces más que la simvastatina respectivamente). Del mismo modo, los valores de LogBB (coeficiente de partición del compuesto entre plasma y tejido cerebral) de NST0076 y NST0078 (0.19 y 0.27
20 respectivamente) fueron superiores a los de la simvastatina (0.17), corroborando los resultados del ensayo anterior. A continuación, los inventores decidieron estudiar el grado de penetración de los compuestos *in vivo*, determinando en cerebro de ratón las concentraciones alcanzadas a las 1, 2, 4 y 6h de administrar los compuestos intraperitonealmente (i.p.) a 50 mg/kg, tal y como se muestra en la Figura 9, Ejemplo 5. Los
25 compuestos NST0076 y NST0078 mostraron un paso de BHE sorprendentemente mayor que la simvastatina, con valores de AUC de 37 y 17 $\mu\text{g h/g}$ respectivamente para NST0076 y NST0078 frente a 12 $\mu\text{g h/g}$ para simvastatina. Adicionalmente, los autores decidieron evaluar las concentraciones de los tres compuestos en plasma, tal y como muestra la Figura 10, Ejemplo 5, observando que los compuestos NST0076 y NST0078 muestran niveles
30 plasmáticos muy superiores a los de la simvastatina en los diferentes puntos temporales, con valores de AUC de 12 y 17 $\mu\text{g h/mL}$ para NST0076 y NST0078 respectivamente y de 0.7 $\mu\text{g h/mL}$ para simvastatina.

La composición farmacéutica proporcionada por esta invención puede contener los compuestos de la invención NST0076 y/o NST0078, y/o sus formas hidroxíácidas y/o una
35 sal farmacéuticamente aceptable de dichos hidroxíácidos y/o una prodroga o solvato

farmacéuticamente aceptable de los compuesto o de sus formas hidroxíácidas junto con uno o más adyuvantes, vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables.

El término “sal, prodroga o solvato” farmacéuticamente aceptable se refiere a cualquier sal, solvato farmacéuticamente aceptable o cualquier otro compuesto que, en su administración al receptor, es capaz de proporcionar (de forma directa o indirecta) un compuesto tal y como se ha descrito en la presente invención. No obstante, las sales farmacéuticamente inaceptables también caen dentro del alcance de la invención, ya que éstas pueden ser útiles para la preparación de sales farmacéuticamente aceptables. La preparación de sales y prodrogas puede ser llevada a cabo mediante métodos conocidos en el estado de la técnica.

Cualquier compuesto que es una prodroga de los compuestos de fórmula (I) o de sus formas hidroxíácidas está dentro del alcance de la invención. El término “prodroga” se utiliza en su significado más amplio y abarca aquellos derivados que son convertidos in vivo a los compuestos de la invención. Tales derivados serían evidentes para un experto medio en la materia e incluyen los siguientes derivados de los presentes compuestos: ésteres, ésteres de aminoácidos, ésteres de fosfatos, ésteres de sales sulfonato de metales, carbamatos y amidas. Los compuestos según la invención pueden estar en forma cristalina, bien como compuestos libres o como solvatos (por ejemplo, hidratos) y se pretende que ambas formas estén dentro del alcance de la presente invención. Los métodos de solvatación en general son conocidos en el estado de la técnica. En una realización particular el solvato es un hidrato.

Las composiciones farmacéuticas que contienen los compuestos NST0076 o NST0078, o una forma hidroxíácida de los mismos o una sal farmacéuticamente aceptable de dichos hidroxíácidos, 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
5 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. Faulí i Trillo, 1ª Edición, 1993, Luzán 5, S.A. de Ediciones.

10 La composición farmacéutica proporcionada por esta invención comprende los compuestos NST0076 y/o NST0078, y/o una forma hidroxilácida de los mismos y/o una sal farmacéuticamente aceptable de dichos hidroxilácidos, en una cantidad terapéuticamente eficiente. En el sentido utilizado en esta descripción, la expresión “cantidad
15 terapéuticamente eficiente” se refiere a la cantidad de compuesto calculada para producir el efecto deseado. La dosis de los compuestos NST0076 y/o NST0078, y/o una forma hidroxilácida de los mismos y/o una sal farmacéuticamente aceptable de dichos hidroxilácidos, a administrar a un sujeto puede variar dentro de un amplio intervalo dependiendo de numerosos factores, entre los que se incluyen las características del
20 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.

25 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 neurológicas, deterioro cognitivo, epilepsia, crisis epilépticas o convulsiones o enfermedades con alteraciones del metabolismo del APP, con el fin de aumentar la eficiencia de la composición farmacéutica proporcionada por esta
30 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
35 administración de la composición farmacéutica proporcionada por esta invención.

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

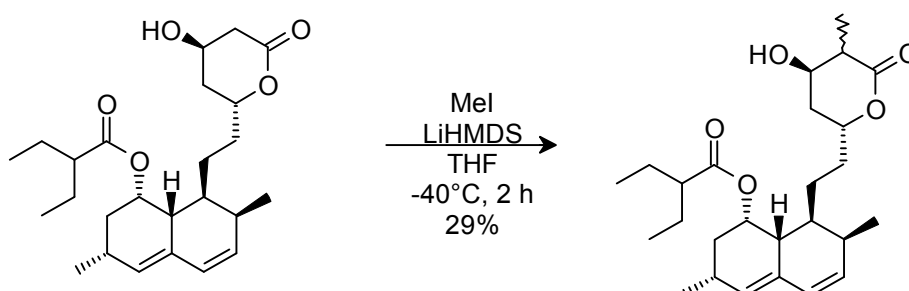
EJEMPLO 1

Síntesis del 2-etilbutanoato de (1S,3R,7S,8S,8aR)-8-(2-((2R,4R)-4-hidroxi-5-metil-6-oxo-tetrahidro-2H-piran-2-il)etil)-3,7-dimetil-1,2,3,7,8,8a-hexahidro-naftalen-1-ilo (NST0076) y 2-etilbutanoato de (1S,3R,7S,8S,8aR)-8-(2-((2R,4R)-5-etil-4-hidroxi-6-oxo-tetrahidro-2H-piran-2-il)etil)-3,7-dimetil-1,2,3,7,8,8a-hexahidronaftalen-1-ilo (NST0078).

Los compuestos de la invención identificados como NST0076 y NST0078 se prepararon mediante la alquilación directa del derivado de la lovastatina 2-etilbutanoato de (1S,3R,7S,8S,8aR)-8-(2-((2R,4R)-4-hidroxi-6-tetrahidro-piran-2-il)etil)-3,7-dimetil-1,2,3,7,8,8a-hexahidronaftalen-1-il identificado como NST0037 en la patente EP2241561 con el correspondiente haluro de alquilo.

Preparación del compuesto NST0076

La alquilación de NST0037 con MeI empleando como base LiHMDS en THF dio lugar al producto deseado con un rendimiento del 29%.



Concretamente la fase experimental se llevó a cabo de la siguiente manera: Una disolución de la sustancia de partida (0.410 g, 0.980 mmol) en THF anhidro (10 mL) se enfría a -40°C y se añade gota a gota una disolución 1 M de LiHMDS·THF (3.00 mL, 3.00 mmol). La mezcla de reacción se agita a esta temperatura durante 30 min y a continuación se le añade MeI (0.090 mL, 1.44 mmol). La disolución naranja resultante se agita a -40°C durante 2 horas. Se añade H_2O (20 mL) y se separan las fases. La fase acuosa se vuelve a extraer con AcOEt (2x10 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavan con una disolución de HCl 10% (10 mL) y una disolución saturada de NaCl (10 mL). La fase orgánica resultante se

seca con Na_2SO_4 anh., se filtra y se concentra. Se obtiene un aceite que se purifica mediante cromatografía de gel de sílice (40% AcOEt/hexano) para dar lugar a un sólido crema que se tritura y lava con hexano (2x1 mL) obteniéndose 0.077 g del producto deseado ($R_f=0.6$ (50% AcOEt/hexano), sólido blanco, 29% rto.).

- 5 ^1H -RMN (CDCl_3 , 250 MHz) 8 ppm: 6.00 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H), 5.92-5.72 (m, 1H), 5.49 (d, $J = 20.0$ Hz, 2H), 4.60-4.37 (m, 1H), 4.00-3.77 (m, 1H), 2.72-1.43 (m, 22H), 1.32 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H), 1.09 (d, $J = 7.4$ Hz, 3H), 1.02-0.81 (m, 6H).

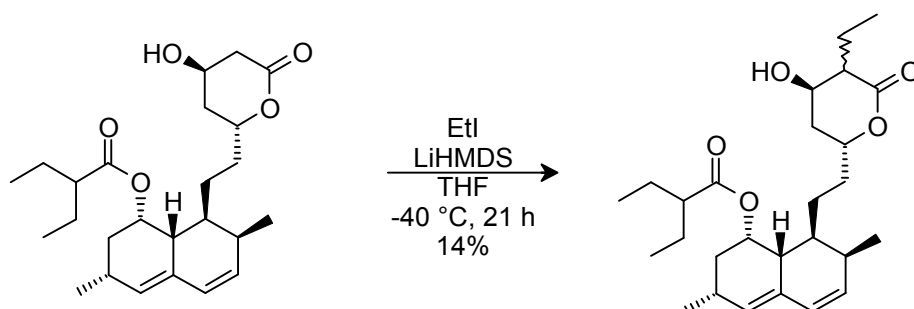
Preparación del compuesto NST0078

10

La alquilación de NST0037 con EtI empleando como base LiHMDS en THF anhidro dio lugar al producto deseado con un rendimiento del 14%.

15

20



25

Concretamente la fase experimental se llevó a cabo de la siguiente manera: Una disolución de la sustancia de partida (1.40 g, 3.35 mmol) en THF anhidro (34 mL) se enfría a -40 °C y se añade gota a gota una disolución 1 M de LiHMDS·THF (10.10 mL, 10.10 mmol). La mezcla de reacción se agita a esta temperatura durante 40 min y a continuación se le añade EtI (0.397 mL, 5.01 mmol). La disolución naranja resultante se agita a -40 °C durante 21 horas. Se añade H_2O (50 mL) y se separan las fases. La fase acuosa se vuelve a extraer con AcOEt (2x30 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavan con una disolución de HCl 10% (50 mL) y una disolución saturada de NaCl (50 mL). La fase orgánica resultante se seca con Na_2SO_4 anhidro, se filtra y se concentra. Se obtiene un aceite que se purifica mediante dos cromatografía de gel de sílice (10-60% AcOEt/hexano) y (70% Et_2O /hexano) para dar lugar a 0.125 g del producto deseado ($R_f=0.6$ (50% AcOEt/hexano), sólido blanco, 14% rto.)

30

^1H -RMN (CDCl_3 , 250 MHz) 8 ppm: 6.00 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H), 5.86-5.73 (m, 1H), 5.49 (d, $J = 20.0$ Hz, 2H), 4.55-4.41 (m, 1H), 4.06-3.94 (m, 1H), 2.54-1.15 (m, 20H), 1.14-1.01 (m, 6H), 0.94-0.80 (m, 10 H).

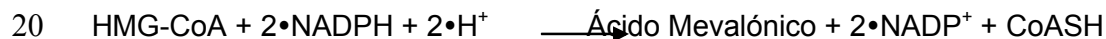
5

EJEMPLO 2

Estudio del efecto hipocolesterolémico de los compuestos NST0076 y NST0078**2.1. Inhibición de la actividad enzimática 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A reductasa (HMGCR) *in vitro* por NST0076 y NST0078 frente a la simvastatina y a la monacolina J**

10 Se estudió el grado de inhibición de la enzima HMGCR *in vitro* producido por NST0076 y NST0078, en su forma hidroxilada. El efecto de estos compuestos se comparó con el de una estatina de referencia, la simvastatina, también en su forma hidroxilada y con la monacolina J.

15 Durante la reacción, la HMGCR utiliza NADPH (Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato) como agente reductor y 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) como sustrato. Se obtiene ácido mevalónico, como producto de reacción, 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 HMGCR en presencia del sustrato. En los ensayos se incluyen: (i), blanco (sin enzima); (ii), control (sin compuesto problema); y (iii), compuestos problema: simvastatina, monacolina J, NST0076 y NST0078 a concentraciones 4, 10, 40, 100, 400, 800, 1 000, 4 000, 10 000, 40 000 y 80 000 nM que se ensayan por duplicado tras su activación en NaOH 0.1N. Brevemente, el ensayo se realiza en placa de 96 pocillos, con tampón de reacción KH_2PO_4 50 mM, KCl 1 M, albúmina de suero bovina (BSA) 2 mg/ml y DTT 5 mM, a pH=7.3 y las concentraciones de los reactivos en la mezcla de reacción son HMG-CoA a 0.2 mM, HMGCR a 3 μU /punto y NADPH a 0.2 mM. La lectura de la placa se realiza en un espectrofotómetro a las condiciones de 340 nm y 37°C. Se calcula el porcentaje de actividad enzimática HMGCR respecto al control, midiendo el descenso de absorbancia a 340 nm a los 20 min del inicio de la reacción, y el valor de la IC_{50} (concentración a la que se inhibe el 50% de la actividad enzimática) mediante el método Trimmed Spearman-Kärber (Versión 1.5).

Sorprendentemente, los resultados, tal y como se muestra en la Figura 1, indican que los compuestos NST0076 y NST0078 no inhiben de forma significativa la enzima HMGCR [IC_{50} = 603 ± 177 nM para NST0076, mientras que NST0078 no fue capaz de inhibir la enzima ($IC_{50} \approx 40$ μ M)], al contrario que la simvastatina que presentó una IC_{50} = 21 ± 3 nM, por lo que NST0076 tiene unas 28 veces menos potencia que la simvastatina, de manera similar a como ocurre con la monacolina J, mientras que NST0078 no muestra apenas capacidad inhibitoria.

2.2. Efecto hipocolesterolémico de NST0076 y NST0078 en un modelo de hipercolesterolemia endógena (familiar)

En base a los resultados del punto anterior, los inventores decidieron evaluar la capacidad hipocolesterolémica de los compuestos *in vivo*.

Para ello se usaron ratones transgénicos macho ApoB100 (Powell-Braxton L, Veniant M, Latvala RD, Hirano KI, Won WB et al. A mouse model of human familial hypercholesterolemia: markedly elevated low density lipoprotein cholesterol levels and severe atherosclerosis on a low-fat chow diet. Nat Med. 1998. 4: 934-938) adultos (n=4-5/grupo), que presentan una deficiencia en la retirada de colesterol de la sangre que produce un aumento anormalmente elevado de colesterol en plasma. Los experimentos fueron llevados a cabo siguiendo estrictamente las normas *Guidance on the Operation of Animals (Scientific Procedures, Act. 1986)*. Los animales tuvieron su respectivo periodo de cuarentena y fueron tratados con la máxima precaución para minimizar posibles contaminaciones durante las inoculaciones y manipulaciones.

Los compuestos NST0076, NST0078 y simvastatina se prepararon a 12.5 mg/mL obteniéndose suspensiones de los mismos. Los ratones fueron inoculados i.p. con 50 mg/kg de los compuestos. Ratones control fueron inoculados con volúmenes equivalentes del vehículo. En condición de ayuno se extrajo sangre antes de tratar a los animales y 12h después de los tratamientos. En ambos casos se obtuvo el plasma que se congeló. Por métodos enzimáticos y espectrofotométricos se cuantificó la concentración plasmática de colesterol total, LDL y HDL. Determinados los niveles del colesterol y de sus fracciones (basales y 12h después de los tratamientos) se calculó la variación de las mismas respecto al basal y los resultados se representaron como porcentaje con respecto al grupo control. En la Figura 2 se muestran las variaciones de las diferentes fracciones de colesterol en los diferentes grupos de tratamiento. Los resultados indican que solamente la simvastatina produce reducciones de colesterol estadísticamente significativas, mediadas fundamentalmente por la reducción de LDL. Por su parte, los compuestos NST0076 y NST0078 no mostraron efecto hipocolesterolémico en este modelo.

EJEMPLO 3

Efecto antiepiléptico y neuroprotector de NST0076 y NST0078 frente a la acción de una sustancia excitotóxica en ratón

5

3.1. Efecto protector de NST0076 y NST0078 frente a la epilepsia causada por la administración aguda de una sustancia excitotóxica en ratón

En base a los resultados anteriores, los inventores decidieron estudiar el efecto neuroprotector de los distintos compuestos en un modelo de muerte neuronal inducido por la administración de una sustancia excitotóxica como el kainato a animales, lo cual induce en algunos casos crisis epilépticas y convulsiones. Además, se ha demostrado que el pretratamiento previo a la administración de kainato con simvastatina previene de la aparición de dichas crisis epilépticas y convulsiones (Ramírez C, Tercero I, Pineda A, Burgos JS. Simvastatin is the statin that most efficiently protects against kainate-induced excitotoxicity and memory impairment. J Alzheimers Dis. 2001. 24: 161-174). Debido a esto, los inventores decidieron averiguar si las moléculas NST0076 y NST0078 presentaban el carácter antiepiléptico observado para la simvastatina, aunque no presentaran un efecto hipocolesterolémico *in vivo* y un efecto inhibitorio de la HMGCR *in vitro*.

Todos los animales incluidos durante el proceso experimental fueron ratones macho de 12 semanas de edad y de la cepa FVB/NRj. Los experimentos fueron llevados a cabo siguiendo estrictamente las normas *Guidance on the Operation of Animals (Scientific Procedures, Act. 1986)*. Los animales tuvieron su respectivo periodo de cuarentena y fueron tratados con la máxima precaución para minimizar posibles contaminaciones durante las inoculaciones y manipulaciones.

Los animales fueron divididos en cinco grupos: Grupo Vehículo (n = 9), Grupo Vehículo + KA (n=10 animales); Grupo Simvastatina + KA (n=12 animales); Grupo NST0076 + KA (n=10 animales); Grupo NST0078 + KA (n=10 animales). Todos los tratamientos fueron preparados en el vehículo metilcelulosa al 0.5% en solución salina. A las 24 y 0.5h antes de la administración del kainato, los ratones de los distintos grupos fueron inoculados por vía intraperitoneal con su respectivo tratamiento a una dosis de 3.125 mg/kg, excepto los grupos control que fueron tratados únicamente con el vehículo. Tras la inoculación intraperitoneal de 100 µL de kainato disuelto en PBS a una dosis de 23 mg/kg, los animales fueron alojados en cubetas de manera individual para su seguimiento. Durante la observación se registró el nivel máximo de epilepsia de los animales según la escala Racine cada diez minutos y durante 120 minutos post-inoculación (m.p.i.). A continuación, se representó el nivel máximo de epilepsia alcanzado por cada uno de los ratones en los diferentes intervalos de tiempo en

los que se dividieron los 120 minutos de observación y se determinó para cada ratón el área bajo la curva (ABC) resultante. Los resultados son la media $\pm$ SEM del porcentaje de ABC con respecto al Grupo Vehículo+KA.

En la Figura 3 se puede observar como el pretratamiento de los ratones con NST0076 y NST0078 produjo una mayor reducción de los niveles de epilepsia que la simvastatina y además con significatividad estadística (*p-valor<0.05; test *t-Student*) mostrando el potencial anti-epiléptico de los compuestos.

3.2. Efecto protector de NST0076 y NST0078 frente a la muerte neuronal causada por la administración aguda de una sustancia excitotóxica en hipocampo de ratón

En base a los resultados de protección mostrados por el NST0076 y NST0078 frente a los síntomas epilépticos y las convulsiones generadas por una sustancia excitotóxica, los inventores decidieron averiguar si dicho efecto protector estaba asociado a la disminución de la muerte neuronal ejercida por el kainato en el hipocampo de los ratones. Los animales fueron divididos en cinco grupos: Grupo Vehículo+PBS+KA (n = 9), Grupo Vehículo+KA+Vehículo (n=20 animales); Grupo Simvastatina+KA+Simvastatina (n=12 animales); Grupo NST0076+KA+NST0076 (n=10 animales); Grupo NST0078+KA+NST0078 (n=10 animales). Todos los tratamientos fueron preparados en el vehículo metilcelulosa al 0.5% en solución salina fisiológica. A las 24 y 0.5h antes de la administración del kainato, los ratones de los distintos grupos fueron inoculados por vía intraperitoneal con su respectivo tratamiento a una dosis de 3.125 mg/kg, excepto los grupos control que fueron tratados únicamente con el vehículo. Se indujo el daño mediante una inyección intraperitoneal de kainato disuelto en PBS a una dosis de 23 mg/kg. El Grupo Vehículo+PBS+Vehículo recibió volúmenes equivalentes de PBS. Se continuó administrando el tratamiento durante los tres días posteriores a la inoculación del kainato (1 dosis/día). En todos los casos un día después del último tratamiento los ratones fueron sacrificados y sus cerebros extraídos, fijados e incluidos en parafina. Se realizaron cortes coronales de cerebro de 5 μ m de grosor que se tiñeron con hematoxilina y eosina (H&E) para el análisis de las neuronas del hipocampo.

Para cada uno de los grupos se determinó el porcentaje de animales que no sobrevivieron a la administración del KA (*animales muertos*), el porcentaje de animales que presentaron neuronas en apoptosis o muertas (*animales dañados*) y el porcentaje de animales que no presentaron ningún tipo de daño (*animales sin daño*). Como puede observarse en la Figura 4, la administración de kainato y tratamiento con vehículo produjo la muerte del 50% de los animales y daño en las neuronas del hipocampo (fundamentalmente en las regiones CA1, CA3 y giro dentado) en el 35% de los ratones, resultando sin daños el 15% de los animales. Por el contrario, ninguno de los ratones tratados con vehículo y PBS

presentaron daño. Por su parte el tratamiento con simvastatina redujo ligeramente el daño asociado al KA (el 25 % de los ratones no sufrieron ningún daño). Sin embargo, sorprendentemente el tratamiento con NST0076 aumentó de manera excepcional el porcentaje de ratones sin daño detectado (50%) y, especialmente el tratamiento con NST0078, que aumentó hasta el 60% el porcentaje de animales sin daño. Estos resultados demuestran el carácter neuroprotector diferencial de las moléculas NST0076 y NST0078 respecto a la simvastatina.

3.3. Efecto protector de NST0076 y NST0078 frente a la inflamación cerebral inducida por una sustancia excitotóxica

En base a los resultados de protección mostrados por los compuestos NST0076 y NST0078 frente a la muerte neuronal generada por el kainato, los inventores decidieron averiguar si dicho efecto protector estaba asociado a la disminución de la astrogliosis reactiva y, por tanto, si tenían un papel sobre la neuroinflamación inducida.

A partir de los cortes coronales de cerebro obtenidos durante el experimento descrito previamente se analizó la astrogliosis mediante inmunohistoquímica de campo claro contra la proteína fibrilar ácida de la glia (GFAP) en los animales supervivientes.

Para cada uno de los grupos se determinó el grado de extensión de la astrogliosis (o *score*) en una escala de intensidad de 0 a 3, en la que el cero indica que no hay astrogliosis reactiva y el tres que la astrogliosis es máxima. Como puede observarse en la Figura 5, la administración de kainato produjo la aparición de astrogliosis reactiva de forma estadísticamente significativa en comparación con los ratones control (en los que no se administró KA) en las regiones cerebrales más sensibles al KA (hipocampo, corteza motora, corteza lateral y región amigdalóide). En dicha figura se observa, además, que el tratamiento con simvastatina a la dosis administrada no disminuyó el grado de astrogliosis inducido por el kainato. Sin embargo, tanto el NST0076 como el NST0078 protegieron de la astrogliosis inducida por el kainato en todas las regiones estudiadas, siendo dicha reducción estadísticamente significativa en el caso del tratamiento con NST0078 tanto en la corteza motora y lateral como en la región amigdalóide. Estos resultados confirman el carácter neuroprotector e indican, además, el carácter antiinflamatorio de las moléculas NST0076 y NST0078.

EJEMPLO 4

Efecto inhibitorio sobre la actividad β -secretasa (BACE) in vivo

4.1. Inhibición de la actividad enzimática β -secretasa (BACE) en cerebro de ratón ejercida por NST0076 y NST0078 frente a simvastatina a las 24h de la administración i.p. de 50 mg/kg

Puesto que se había demostrado el efecto de los compuestos frente a la muerte neuronal, los inventores decidieron evaluar los posibles efectos de las moléculas sobre mecanismos estrechamente relacionados con la EA, y específicamente estudiaron su modulación sobre las alteraciones del metabolismo de la proteína precursora del β -amiloide (APP). Por este motivo, se evaluó el efecto de NST0076 y NST0078 sobre BACE en comparación con la simvastatina en cerebros de ratones salvajes. BACE es una enzima clave en la EA ya que al procesar el APP da lugar a placas de A β en el cerebro, marca histopatológica característica de la enfermedad.

Durante la reacción, la puesta en contacto de un sustrato fluorogénico y específico para BACE con un homogenado de cerebro en el que la enzima está presente permite cuantificar la actividad de la misma mediante la medida de la fluorescencia emitida.

Los compuestos objeto de estudio se prepararon a 12.5 mg/mL en metilcelulosa al 0.5% en suero salino fisiológico, obteniéndose suspensiones homogéneas de los mismos. Ratones FVB hembras de 4 meses de edad fueron tratados i.p. con 50 mg/kg de los compuestos o con volúmenes equivalentes del vehículo (n=6 ratones/grupo). Tras 24h, los animales fueron sacrificados y el cerebro extraído y congelado a -20°C descartando previamente el cerebelo. Tras 24h de congelación los cerebros se homogeneizaron haciendo una dilución 1/100 en acetato sódico 0.1M a pH 4. Las muestras se incubaron 10 minutos en frío para favorecer la lisis y obtener el extracto tras centrifugar 10.000 g durante 10 minutos. A continuación se llevó a cabo la reacción enzimática. En una placa de 96 pocillos de fondo plano se cargaron 50 μ L de las muestras por duplicado, además de un blanco (acetato sódico 0.1 M a pH 4), un control positivo (extracto de células SK-N-MC) y un control que incluía un inhibidor específico de la enzima a 10 μ M, todo ello también por duplicado. Sobre las muestras y controles se añadieron 50 μ L de sustrato de BACE fluorogénico (Mca-RPPGFSAFK) a 20 μ M, siendo la concentración final en el pocillo de 10 μ M y el volumen total de reacción 100 μ L. Tras incubar la placa durante 3h en oscuridad a 37°C se registró la fluorescencia a una longitud de onda de excitación de 320 nm y a una longitud de emisión a 405 nm. Los resultados obtenidos en unidades arbitrarias se normalizaron por cantidad de proteína que se determinó por el método del ácido bicinchonínico (BCA).

En la Figura 6 se puede observar como los compuestos NST0076 y NST0078 fueron capaces de disminuir la actividad enzimática BACE de forma estadísticamente significativa, al contrario que la simvastatina. La inhibición ejercida por NST0078 fue superior incluso a la que mostró el inhibidor específico *in vitro* (85 $\pm$ 4% de actividad BACE respecto al control).

4.2. Inhibición de la actividad enzimática β -secretasa (BACE) en cerebro de pez cebra ejercida por NST0076 y NST0078 frente a simvastatina a las 24h de la administración i.p. de 100 mg/kg

Puesto que los compuestos NST0076 y NST0078 presentaron un efecto inhibitorio sobre BACE en ratones, los inventores decidieron evaluar el efecto en una especie animal diferente, para lo cual llevaron a cabo el ensayo en pez cebra. Para ello evaluaron el efecto de los compuestos NST0076 y NST0078 sobre BACE en cerebro de peces cebra salvajes frente a la simvastatina.

Los compuestos objeto de estudio se prepararon a diferentes concentraciones según el peso de los animales en metilcelulosa al 0.5% en suero salino fisiológico, obteniéndose suspensiones homogéneas de los mismos. Peces cebra hembras de 24 meses de edad fueron tratados i.p. con 100 mg/kg de los compuestos o con volúmenes equivalentes del vehículo (n=8 peces/grupo). Tras 24h, los animales fueron sacrificados y el cerebro extraído y congelado a -20°C. Tras 24h de congelación los cerebros se homogeneizaron en 500 μ L en acetato sódico 0.1M a pH 4. Las muestras se incubaron 10 minutos en frío para favorecer la lisis y obtener el extracto tras centrifugar 10.000 g durante 10 minutos. A continuación se llevó a cabo la reacción enzimática del mismo modo que en el caso de los ratones.

En la Figura 7 se observa que el compuesto NST0078 fue capaz de disminuir la actividad enzimática BACE respecto al control de forma estadísticamente significativa. Sin embargo, este efecto inhibitorio no se observó en los cerebros de peces tratados con la simvastatina. Estos resultados muestran como el compuesto NST0078 mejora el efecto ejercido por la simvastatina sobre la actividad enzimática BACE.

EJEMPLO 5

Predicción del paso de barrera hematoencefálica de NST0076 y NST0078 frente a simvastatina

5.1. Paso de barrera hematoencefálica de NST0076 y NST0078 frente a simvastatina en un ensayo *in vitro*

Se estudió el paso de barrera hematoencefálica (BHE) *in vitro* de los compuestos NST0076 y NST0078, en sus formas hidroxiladas, mediante el ensayo PAMPA (*Parallel Artificial Membrane Permeability Assay*) que mimetiza la BHE por medio de un sistema que incluye una mezcla de lípidos cerebrales muy semejante a la existente en la BHE humana (Di L, Kerns EH, Fan K, McConnell OJ, Carter GT. High throughput artificial membrane permeability assay for blood-brain barrier. Eur J Med Chem. 2003. 38 (3): 223-232). El paso de estos compuestos se comparó con el de la simvastatina hidroxilada.

Se ensayaron los compuestos simvastatina, NST0076 y NST0078 y como control positivo se empleó verapamilo, compuesto de elevada permeabilidad, mientras que como control negativo se empleó teofilina, compuesto que no atraviesa la BHE.

Según los resultados que se obtengan de P_e , el paso de barrera se puede clasificar como:

- $P_e > 4 \times 10^{-6}$ cm/s: elevada permeabilidad de paso de BHE
- $P_e < 2 \times 10^{-6}$ cm/s: baja permeabilidad de paso de BHE
- $P_e 2-4 \times 10^{-6}$ cm/s: permeabilidad de paso de BHE inconcluyente

Los resultados obtenidos indican, tal y como muestra la Figura 8, que sorprendentemente los compuestos NST0076 ($P_e = 6.12 \pm 0.99 \times 10^{-6}$ cm/s y $47 \pm 6\%$ de paso de BHE) y NST0078 ($P_e = 7.28 \pm 2.24 \times 10^{-6}$ cm/s y $53 \pm 11\%$ de paso de BHE) muestran una mayor permeabilidad de la BHE *in vitro* que la simvastatina ($P_e = 4.2 \pm 0.3 \times 10^{-6}$ cm/s y $35 \pm 2\%$ de paso de BHE). Los controles de paso (verapamilo) y de no paso (teofilina), tal y como se muestra en la Figura 8, se comportan adecuadamente.

5.2. Paso teórico de barrera hematoencefálica de NST0076 y NST0078 frente a simvastatina mediante análisis *in silico*.

A partir de los resultados anteriores, los inventores decidieron estudiar el paso de barrera hematoencefálica (BHE) de los compuestos NST0076 y NST0078 usando la aproximación teórica de Rishton (Rishton GM, LaBonte K, Williams AJ, Kassam K, Kolovanov E. Computational approaches to the prediction of blood-brain barrier permeability: A comparative analysis of central nervous system drugs versus secretase inhibitors for Alzheimer's disease. 2006; 9 (3): 303-313).

Se utilizó la ecuación de Rishton para determinar el paso de barrera teórico, ya que esta fórmula tiene en cuenta los parámetros cLogP (coeficiente de partición octanol/agua) y PSA (área molecular de superficie polar) para obtener el valor de logBB, que se define como el coeficiente de partición del compuesto entre plasma y tejido cerebral. El cálculo de dicho parámetro para los compuestos NST0076 y NST0078 fue de 0.19 y 0.27, respectivamente, valores que resultaron sorprendentemente mayores que los de simvastatina (0.17), lo que indica que los tres compuestos atraviesan de forma teórica la barrera (valores entre 0 y 0.5 indicarían paso de barrera), siendo el compuesto NST0078 el que más permeabilidad muestra.

5.3. Paso de barrera hematoencefálica de NST0076 y NST0078 frente a simvastatina *in vivo*

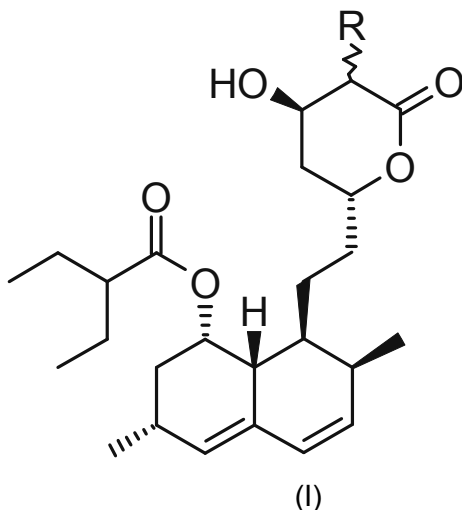
A partir de los resultados anteriores, los inventores decidieron estudiar las concentraciones en cerebro alcanzadas por NST0076 y NST0078 tras su administración a ratones. Los compuestos objeto de estudio se prepararon a 12.5 mg/mL en metilcelulosa al 0.5% en suero salino fisiológico, obteniéndose suspensiones homogéneas de los mismos.

Ratones FVB machos de 4 meses de edad fueron tratados i.p. con 50 mg/kg de los compuestos (n=4-8 ratones/grupo/tiempo). Los animales fueron sacrificados a las 1, 2, 4 y 6h después del tratamiento mediante inyección con Eutanax, extrayéndose sangre y cerebro, previa perfusión con PBS. El plasma obtenido a partir de la sangre y el cerebro completo, fueron congelados a -20°C hasta su análisis. Los compuestos fueron extraídos de los tejidos con acetato de etilo y se resuspendieron en etanol para su posterior cuantificación UPLC-MS. Como estándar interno se empleó la fluvastatina.

En la Figura 9 se presentan las concentraciones alcanzadas en el cerebro por los diferentes compuestos en la forma lactona en los diferentes puntos temporales analizados, presentando NST0076 y NST0078 valores de AUC y Cmax sorprendentemente superiores a los de la simvastatina (y estadísticamente significativos para el compuesto NST0076). Adicionalmente, en las muestras de plasma procedentes de los mismos ratones se evaluaron las concentraciones de las formas lactonas de los compuestos NST0076, NST0078 y simvastatina, observando que los compuestos NST0076 y NST0078 presentan niveles plasmáticos considerablemente superiores a la simvastatina, tal y como se muestra en la Figura 10.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I), donde R se selecciona entre un grupo metilo y un grupo etilo:



2. Una composición farmacéutica que comprende compuestos de fórmula (I) según la reivindicación 1 y/o sus formas hidroxiladas y/o una sal farmacéuticamente aceptable de dichos hidroxilados y/o una prodroga o solvato farmacéuticamente aceptable de los compuestos o de sus formas hidroxiladas, y al menos un adyuvante, portador y/o vehículo farmacéuticamente aceptable.
3. Compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1, sus formas hidroxiladas o una sal farmacéuticamente aceptable de dichos hidroxilados y/o una prodroga o solvato farmacéuticamente aceptable de los compuestos o de sus formas hidroxiladas para su uso como medicamento.
4. Compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1, sus formas hidroxiladas o una sal farmacéuticamente aceptable de dichos hidroxilados y/o una prodroga o solvato farmacéuticamente aceptable de los compuestos o de sus formas hidroxiladas para su uso como medicamento según la reivindicación 3, donde dicho uso es para la prevención y/o el tratamiento de:

- a. enfermedades neurodegenerativas y/o del sistema nervioso,
- b. deterioro cognitivo,
- c. inflamación o procesos inflamatorios, y
- d. epilepsia, crisis epilépticas y convulsiones.

5

5. Compuestos de fórmula (I) según la reivindicación 1, sus formas hidroxiladas o una sal farmacéuticamente aceptable de dichos hidroxilados y/o una prodroga o solvato farmacéuticamente aceptable de los compuestos o de sus formas hidroxiladas para su uso como medicamento según la reivindicación 4, donde las enfermedades neurodegenerativas se seleccionan del grupo que comprende: enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica (ELA) o esclerosis múltiple, Creutzfeldt-Jacob, ataxia de Friedreich, demencia con cuerpos de Lewy, atrofia muscular espinal, encefalopatías espongiiformes, enfermedad de Devic, síndrome de Guillain-Barré, enfermedad de Canavan, espondilosis, enfermedad de Lafora, síndrome de Down y síndrome de Korsakov.

10

15

6. Uso de compuestos de fórmula (I) según la reivindicación 1, de sus formas hidroxiladas, de una sal farmacéuticamente aceptable de dichos hidroxilados y/o de una prodroga o solvato farmacéuticamente aceptable de los compuestos o de sus formas hidroxiladas en la elaboración de un medicamento.

20

7. Uso según la reivindicación 6 donde el medicamento se emplea en la prevención y/o el tratamiento de:

- a. enfermedades neurodegenerativas y/o del sistema nervioso,
- b. deterioro cognitivo,
- c. inflamación o procesos inflamatorios, y
- d. epilepsia, crisis epilépticas y convulsiones

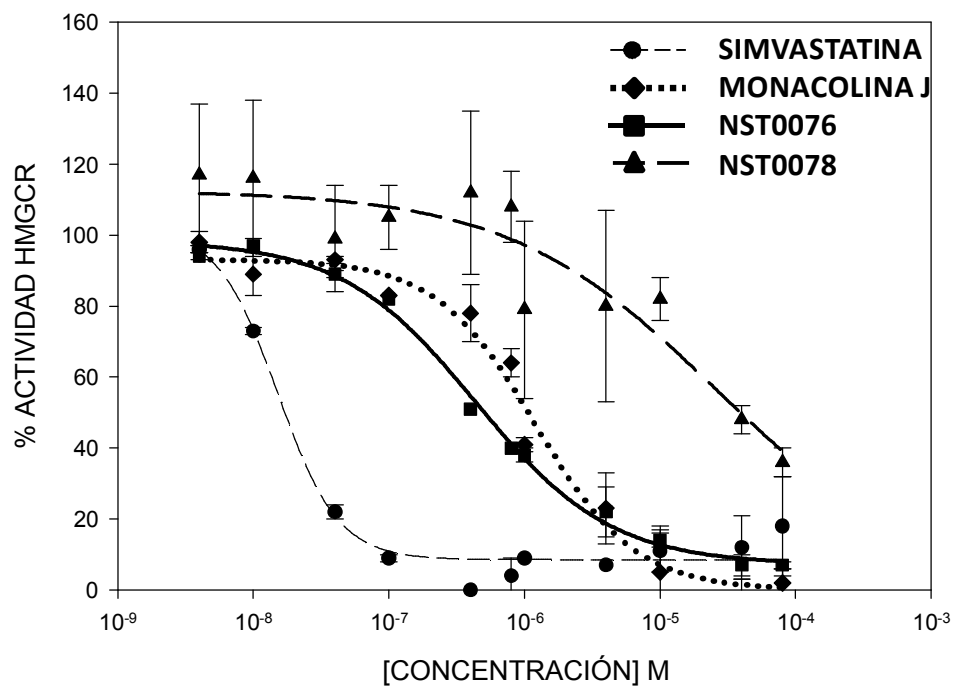
25

8. Uso según la reivindicación 7, donde las enfermedades neurodegenerativas se seleccionan del grupo que comprende: enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica (ELA) o esclerosis múltiple, Creutzfeldt-Jacob, ataxia de Friedreich, demencia con cuerpos de Lewy, atrofia muscular espinal, encefalopatías espongiiformes, enfermedad de Devic, síndrome de Guillain-Barré, enfermedad de Canavan, espondilosis, enfermedad de Lafora, síndrome de Down y síndrome de Korsakov.

30

35

Figura 1



	IC50 (nM)
SIMVASTATINA	21 $\pm$ 3
MONACOLINA J	811 $\pm$ 172
NST0076	603 $\pm$ 177
NST0078	39934 $\pm$ 26155

Figura 2

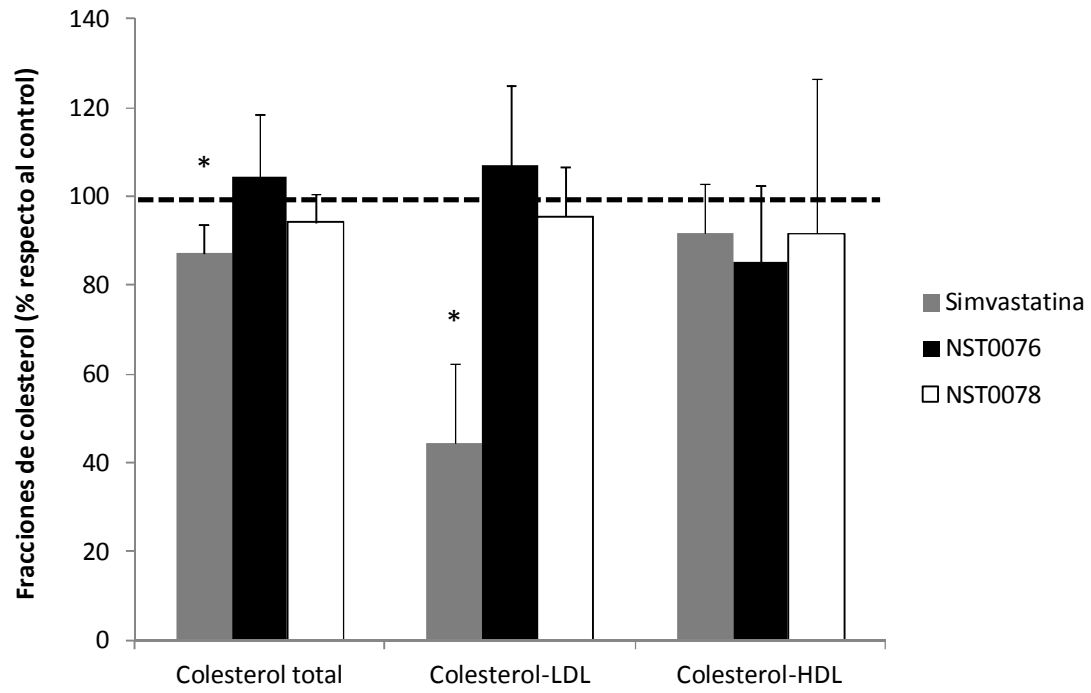


Figura 3

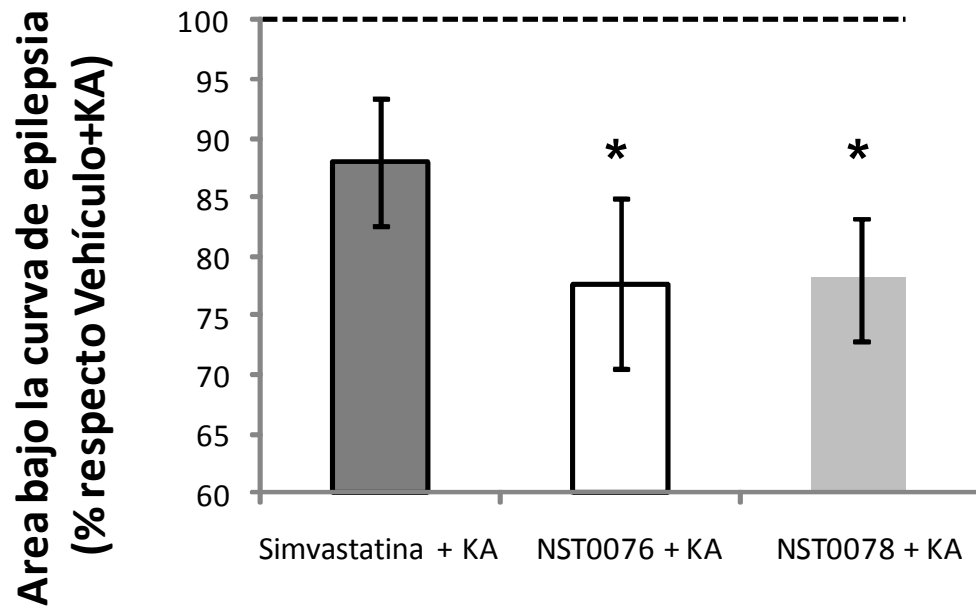


Figura 4

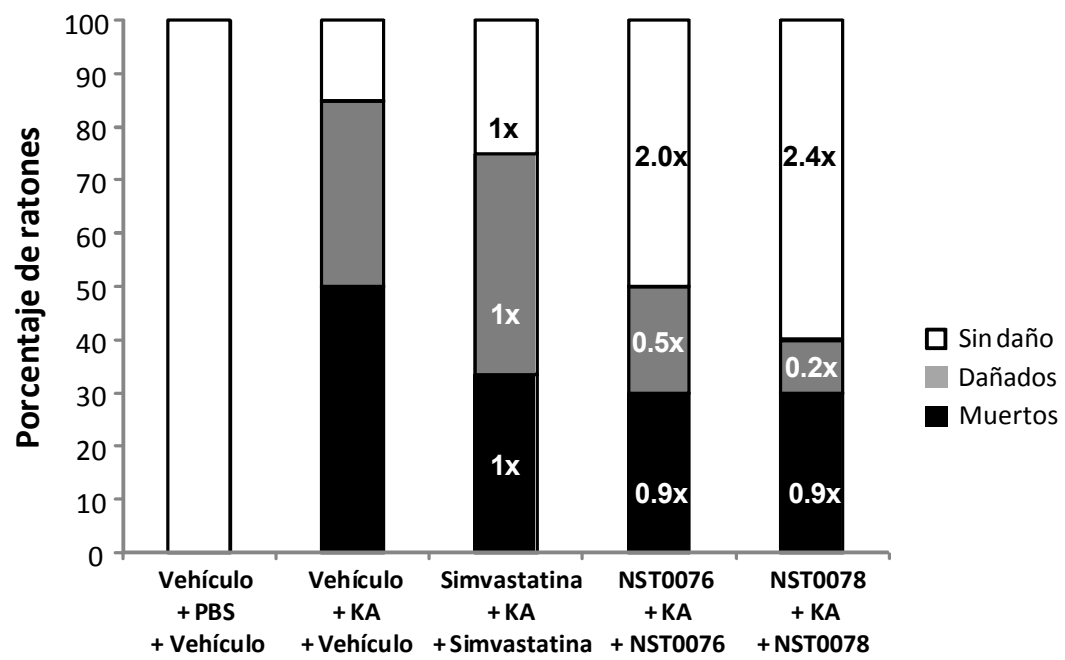


Figura 5

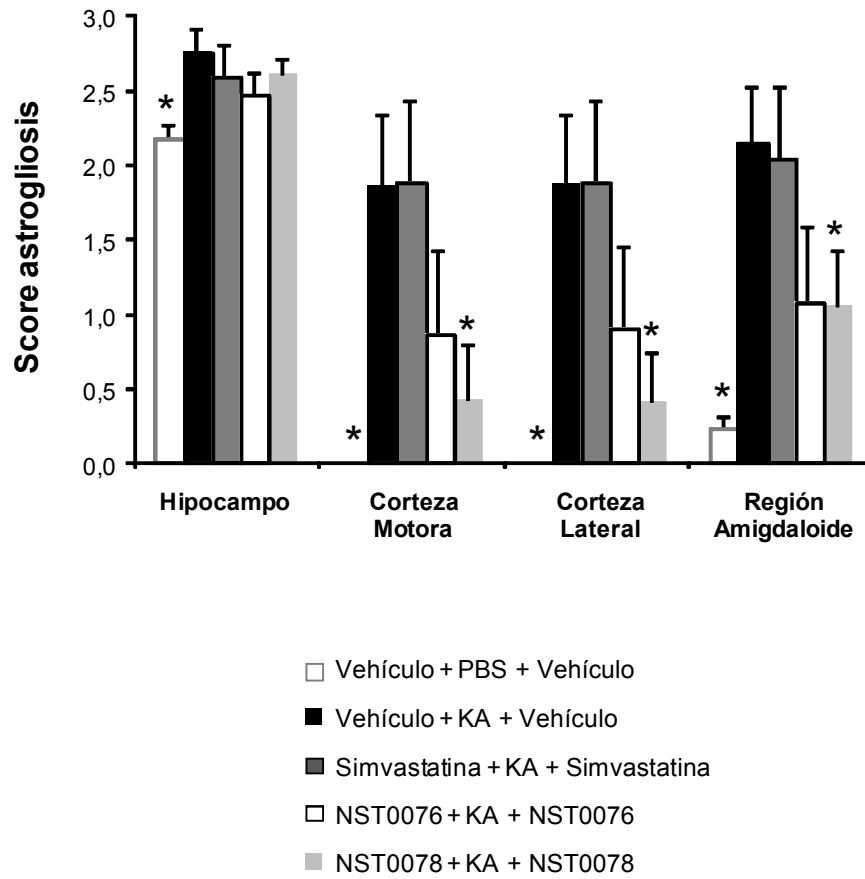


Figura 6

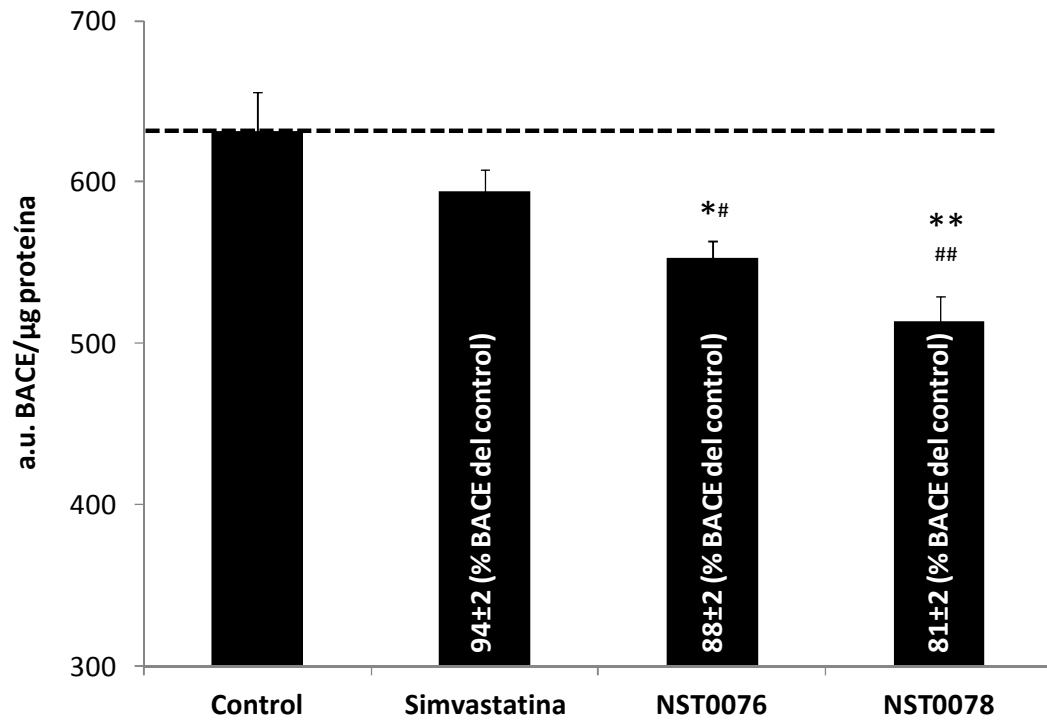


Figura 7

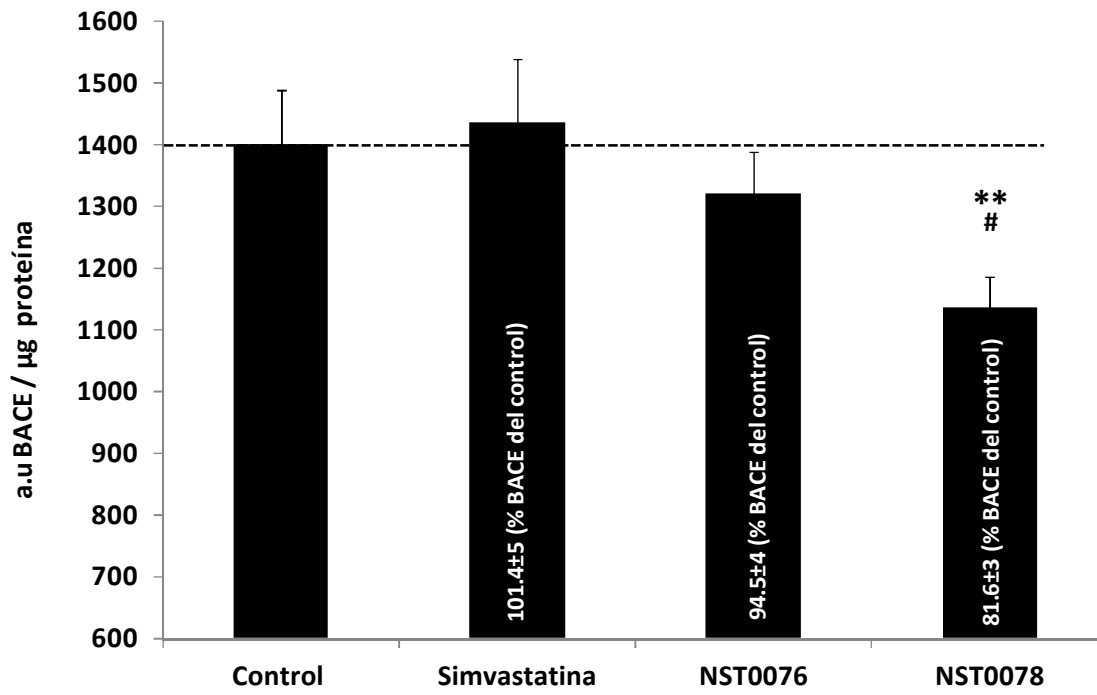


Figura 8

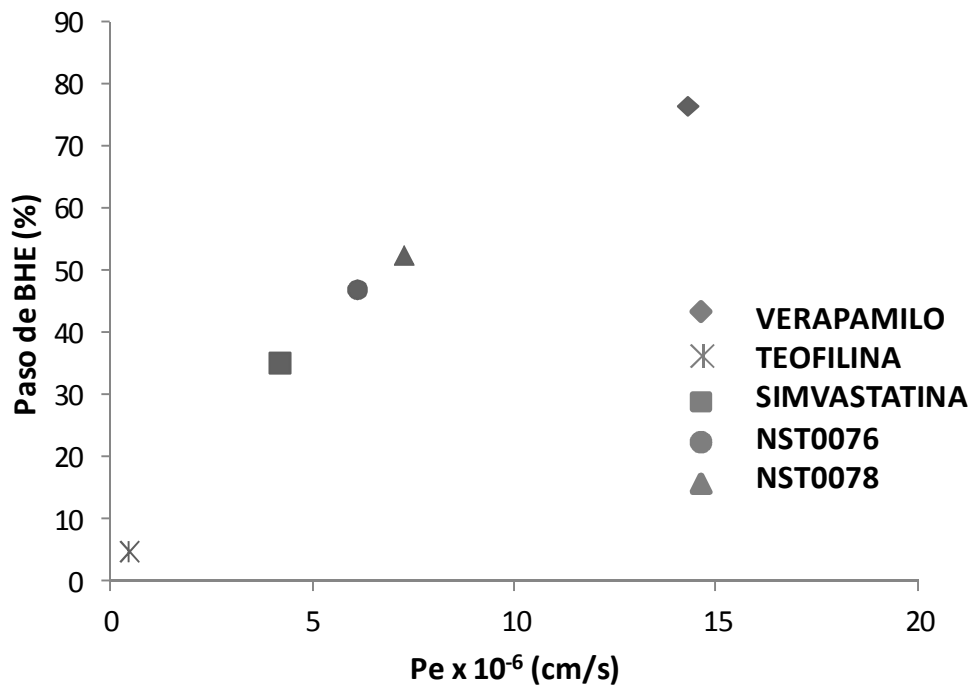
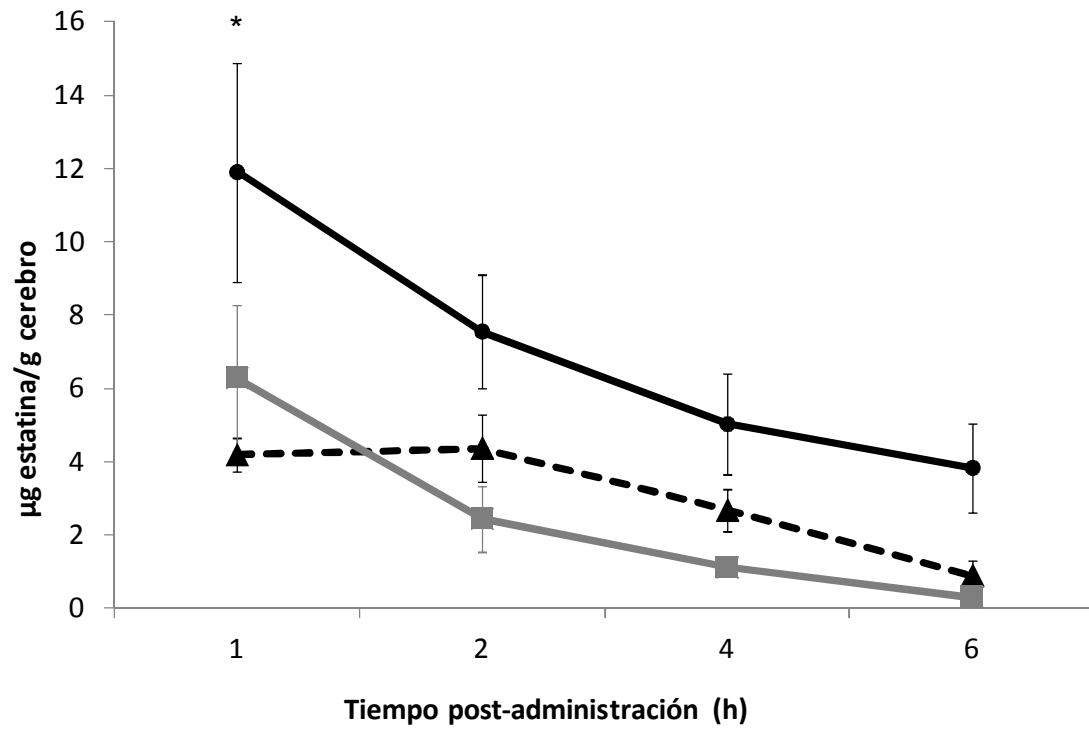
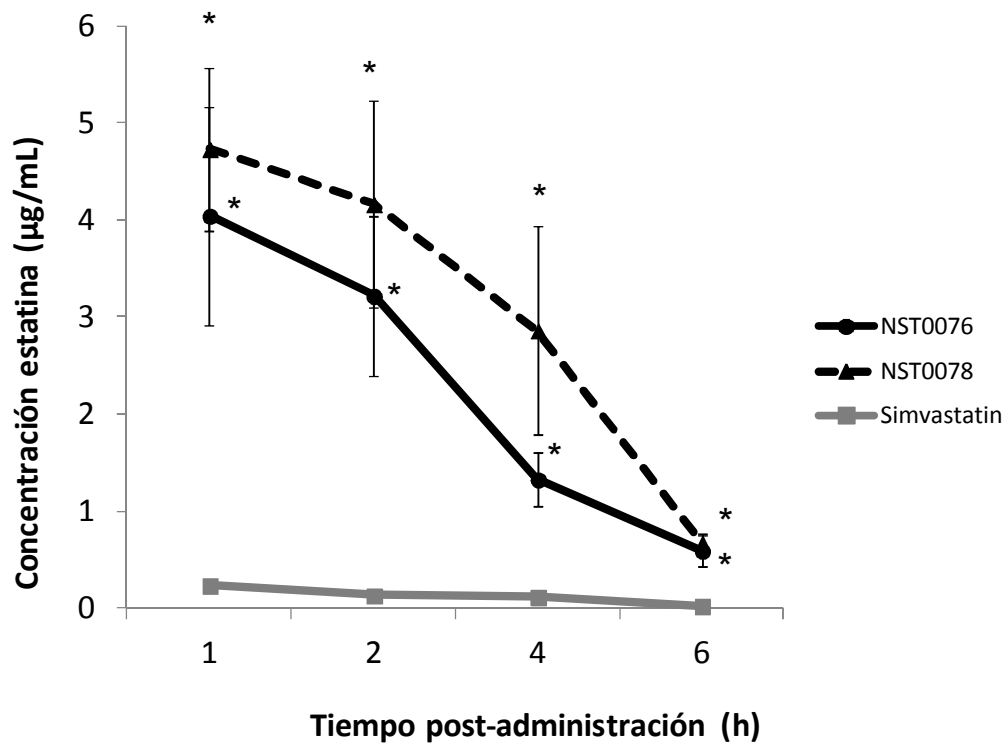


Figura 9



		Cmax (µg/g cerebro)	tmax (h)	AUC ₀₋₆ (µg h/g)
■	Simvastatina	6,3±2,0	1	12,5
●	NST0076	11,9±3,0	1	37,1
▲	NST0078	4,4±0,9	2	17,0

Figura 10



		Cmax ($\mu\text{g/mL}$)	tmax (h)	AUC ₀₋₆ ($\mu\text{g h/mL}$)
	Simvastatina	0,2 $\pm$ 0,1	1	0,7
	NST0076	4,0 $\pm$ 1,1	1	12,1
	NST0078	4,7 $\pm$ 0,8	1	17,4



- ②① N.º solicitud: 201330844
②② Fecha de presentación de la solicitud: 06.06.2013
③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤① Int. Cl.: **C07D309/30** (2006.01)
A61K31/366 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	WO 02100323 A2 (RANBAXY LABORATORIES Y KUMAR) 19.12.2002, reivindicación 1.	1-5
A	EP 2241561 A1 (NEURON BIOPHARMA) 20.10.2010, todo el documento.	1-8
A	WO 9911258 A1 (NOVARTIS) 11.03.1999, reivindicaciones 4,8.	1-3

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
29.10.2013

Examinador
M. P. Fernández Fernández

Página
1/4

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

C07D, A61K

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, CAS, REGISTRY

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 13.11.2013

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-8	SI
	Reivindicaciones	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones 6-8	SI
	Reivindicaciones 1-5	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 se publica.

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	WO 02100323 A2 (RANBAXY LABORATORIES Y KUMAR)	19.12.2002
D02	EP 2241561 A1 (NEURON BIOPHARMA)	20.10.2010

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 solicitud se refiere a los dos compuestos de fórmula (I) de la reivindicación 1 y a la composición farmacéutica que los comprende (reivindicaciones 1-5) y su uso como medicamento para el tratamiento y/o prevención de enfermedades neurodegenerativas (enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, ELA...), del deterioro cognitivo, de procesos inflamatorios y de crisis epilépticas (reivindicaciones 6-8).

El documento D1 (ver reivindicación 1) divulga un compuesto de fórmulas VIIa y VIIc donde R3 es un grupo metilo para el tratamiento de la hipercolesterolemia, comparando ambas fórmulas se deduce que la reivindicación 1 de D1 anula la actividad inventiva de las reivindicaciones 1- 5 de la solicitud, que se refieren a los compuestos, puesto que no puede considerarse inventiva la sustitución del grupo 2-metil-2-butil por 3-pentil ya que no se considera una diferencia químicamente significativa; no se hace referencia en D1 a la posible utilidad del compuesto de fórmula (I) para el tratamiento de las enfermedades neurodegenerativas a las que se refiere la solicitud, luego las reivindicaciones 6-8 son nuevas.

El documento D2 divulga el compuesto de fórmula (I) de la reivindicación 1 de D2 y su uso para el tratamiento de las enfermedades a las que se refiere la solicitud, este compuesto se diferencia de los de la solicitud en la ausencia del grupo alquilo en el anillo de piranona; un técnico en la materia no podría considerar a priori, sin los datos experimentales correspondientes, el efecto farmacológico de la alquilación en alfa del anillo de piranona de la molécula, luego se considera que las reivindicaciones 6-8 de la solicitud tienen actividad inventiva.

En conclusión se considera que las reivindicaciones 1- 5 de la solicitud carecen de actividad inventiva y las reivindicaciones 6-8 son nuevas e inventivas, de acuerdo con lo establecido en los Art. 6.1 y 8.1 de la Ley de Patentes 11/1986.