



ESPAÑA



**A61P 25/28** (2006.01)

A1

**PONS ARIÑO, Ángel**

(I)

## DESCRIPCIÓN

**COMPUESTOS INDUCTORES DE NRF2 E INHIBIDORES DE MAO-B PARA EL  
TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD DE PARKINSON**

5

La presente invención se encuadra principalmente en el sector farmacéutico y se refiere a nuevos compuestos de fórmula I inhibidores de NRF2 y MAO-B. Asimismo, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica de dichos compuestos y a su uso como medicamentos, particularmente para el tratamiento y/o prevención de una enfermedad neurodegenerativa tal y como la enfermedad de Parkinson (EP) que cursa con un declive de la capacidad cognitiva y/o motora, secundarias a la degeneración neuronal.

15 **ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

La búsqueda de nuevos tratamientos para la EP supone uno de los mayores retos de este siglo. La ausencia de tratamientos efectivos capaces de detener el avance de la enfermedad hace de ello una tarea capital para los próximos años. En 2016, las enfermedades neurodegenerativas fueron la quinta causa de muerte, representando 2,1 millones de muertes (3,7%) (Organization, W. H. 2018). Además, se prevé que para 2040, a medida que la población de muchos países desarrollados envejezca, las enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer (EA) y otras causas de demencia, así como las afecciones que afectan principalmente las funciones motoras como la enfermedad de Parkinson (EP) y la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) superarán al cáncer para convertirse en la segunda causa de muerte después de las enfermedades cardiovasculares ("Neurodegenerative disease: Brain windfall." Gammon, K. Nature 2014 515(7526): 299-300). La EP es la segunda enfermedad neurodegenerativa más prevalente y afecta aproximadamente al 2% de la población mayor de 60 años (Tysnes, O. B. and A. Storstein "Epidemiology of Parkinson's disease." J Neural Transm (Vienna) 2017, 124(8): 901-905). Hoy en día, hay alrededor de 6 millones de personas afectadas por la EP y se prevé que este número aumente a 10 millones en 2025.

La EP se caracteriza, por una disminución de los niveles del neurotransmisor dopamina, por la presencia de altos niveles de estrés oxidativo y neuroinflamación crónica.

También es característica la formación de agregados proteicos aberrantes de la proteína  $\alpha$ -synucleína íntimamente relacionada con los mecanismos anteriores (Di Carlo, M., D. Giacomazza, P. Picone, D. Nuzzo y P. L. San Biagio "Are oxidative stress and mitochondrial dysfunction the key players in the neurodegenerative diseases?" Free Radic Res 2012 46(11): 1327-1338). En base a estas observaciones, actualmente se cree que el estrés oxidativo, la disfunción mitocondrial y la neuroinflamación juegan un papel primordial en el desarrollo de la EP.

El factor de transcripción NRF2 participa en el control de diversos procesos como es el caso de reacciones redox, mecanismos inflamatorios y homeostasis de proteínas; procesos estrechamente relacionados con el desarrollo de la EP. NRF2 se describe como el regulador maestro de la respuesta antioxidante en las células (Moi, P., K. Chan, I. Asunis, A. Cao y Y. W. Kan "Isolation of NF-E2-related factor 2 (Nrf2), a NF-E2-like basic leucine zipper transcriptional activator that binds to the tandem NF-E2/AP1 repeat of the beta-globin locus control region." Proc Natl Acad Sci U S A 1994, 91(21): 9926-9930). En condiciones basales, se encuentra secuestrado en el citoplasma por la proteína represora KEAP1, descrita como un sensor biológico de cambios en el estado redox de la célula. La capacidad sensora de la proteína KEAP1 viene dada por la presencia de cisteínas altamente reactivas en su estructura capaces de inducir un cambio conformacional en su estructura provocando la translocación de NRF2 al núcleo. Una vez en el núcleo, NRF2 se une a las secuencias ARE activando la respuesta de fase II, induciendo la expresión de genes que controlan enzimas clave en la respuesta antioxidante y en varias vías metabólicas. NRF2 regula, por ejemplo, enzimas involucradas en la producción del cofactor NADPH como la glucosa 6 fosfato deshidrogenasa (G6PD), clave para el metabolismo de los carbohidratos; varias enzimas involucradas en la síntesis de glutatión (GSH); enzimas clave para la producción de bilirrubina como hemo-oxigenasa-1 (HMOX1) y la NADPH quinona oxidorreductasa 1 (NQO1) relacionada con la detoxificación de quinonas, entre otras (McMahon, M., K. Itoh, M. Yamamoto, S. A. Chanas, C. J. Henderson, L. I. McLellan, C. R. Wolf, C. Cavin and J. D. Hayes "The Cap'n'Collar basic leucine zipper transcription factor Nrf2 (NF-E2 p45-related factor 2) controls both constitutive and inducible expression of intestinal detoxification and glutathione biosynthetic enzymes." Cancer Res 2001, 61(8): 3299-3307; Thimmulappa, R. K., K. H. Mai, S. Srisuma, T. W. Kensler, M. Yamamoto y S. Biswal "Identification of Nrf2-regulated genes induced by the chemopreventive agent sulforaphane by oligonucleotide microarray." Cancer Res 2002,

62(18): 5196-5203; MacLeod, A. K., M. McMahon, S. M. Plummer, L. G. Higgins, T. M. Penning, K. Igarashi and J. D. Hayes "Characterization of the cancer chemopreventive NRF2-dependent gene battery in human keratinocytes: demonstration that the KEAP1-NRF2 pathway, and not the BACH1-NRF2 pathway, controls cytoprotection against electrophiles as well as redox-cycling compounds." *Carcinogenesis* 2009, 30(9): 1571-1580, y Cuadrado, A., A. I. Rojo, G. Wells, J. D. Hayes, S. P. Cousin, W. L. Rumsey, O. C. Attucks, S. Franklin, A. L. Levonen, T. W. Kensler y A. T. Dinkova-Kostova "Therapeutic targeting of the NRF2 and KEAP1 partnership in chronic diseases." *Nat Rev Drug Discov* 2019, 18(4): 295-317).

10

NRF2 también posee un papel esencial en la regulación de la inflamación mediada por estrés oxidativo. En este sentido, los altos niveles de especies reactivas de oxígeno (ERO) observados en la EP conducen al desequilibrio de los sistemas redox que pueden contribuir al desarrollo de un estado pro-inflamatorio que a su vez aumenta la producción de ERO, generando un bucle patológico que agrava la enfermedad (Ma, Q. "Role of nrf2 in oxidative stress and toxicity." *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2013, 53: 401-426; Mittal, M., M. R. Siddiqui, K. Tran, S. P. Reddy and A. B. Malik "Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury." *Antioxidants & redox signaling* 2014, 20(7): 1126-1167). Además, existe inter-regulación entre NRF2 y la vía inflamatoria del factor nuclear- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) (Wardyn, J. D., A. H. Ponsford y C. M. Sanderson "Dissecting molecular cross-talk between Nrf2 and NF- $\kappa$ B response pathways." *Biochem Soc Trans* 2015, 43(4): 621-626).

Por otra parte, teniendo en cuenta las implicaciones clínicas de los depósitos de proteínas aberrantes que aparecen en la EP, la regulación de la homeostasis proteica ejercida por NRF2 es también un punto clave. NRF2 controla numerosos genes implicados en mecanismos de autofagia [4, 6, 23], destacando por ejemplo la regulación transcripcional de la proteína de unión a ubiquitina transportadora de autofagia p62, también conocida como sequestosoma-1 (SQSTM-1). SQSTM-1 es una proteína receptora de carga de autofagia que reconoce cadenas de poliubiquitina en agregados de proteínas para la macroautofagia selectiva (Pajares, M., N. Jiménez-Moreno, J. García-Yagüe Á, M. Escoll, M. L. de Ceballos, F. Van Leuven, A. Rábano, M. Yamamoto, A. I. Rojo y A. Cuadrado "Transcription factor NFE2L2/NRF2 is a regulator of macroautophagy genes." *Autophagy* 2016, 12(10): 1902-1916). En general, NRF2 está implicado en un gran número de vías celulares mediante la regulación de gran cantidad

de genes, por tanto, se considera una potencial diana farmacológica interesante para el desarrollo de nuevos tratamientos para la EP.

Además, existe evidencia que indica que la vía NRF2-ARE está desregulada en la EP. Aunque se observa una localización nuclear del factor de transcripción NRF2 en muestras *post mortem* de paciente de EP, la expresión de las enzimas de fase II se encuentra reducida (Ramsey, C. P., C. A. Glass, M. B. Montgomery, K. A. Lindl, G. P. Ritson, L. A. Chia, R. L. Hamilton, C. T. Chu y K. L. Jordan-Sciutto "Expression of Nrf2 in neurodegenerative diseases." J Neuropathol Exp Neurol 2007, 66(1): 75-85). Por otra parte, en ratones *knock-out* NRF2 se observa un mayor daño cerebral tras la inyección de toxinas como MTPT y 6-hidroxidopamina (6-OHDA), utilizadas para reproducir la EP en estos animales. La activación farmacológica de NRF2 en los modelos control demuestran a su vez un importante efecto neuroprotector (Lastres-Becker, I., A. J. García-Yagüe, R. H. Scannevin, M. J. Casarejos, S. Kügler, A. Rábano and A. Cuadrado "Repurposing the NRF2 Activator Dimethyl Fumarate as Therapy Against Synucleinopathy in Parkinson's Disease." Antioxidants & redox signaling 2016 25(2): 61-77).

Por otra parte, las enzimas monoamino oxidasas (MAO) catalizan la desaminación oxidativa de diferentes aminas y neurotransmisores. Existen dos isoenzimas diferentes bien caracterizadas (MAO-A y MAO-B), ubicadas en la membrana mitocondrial externa en diferentes tejidos, sin embargo, la expresión más alta se encuentra en el cerebro. Estas enzimas son responsables de la regulación de la degradación de neurotransmisores en una reacción enzimática que produce peróxido de hidrógeno. Esto podría conducir a la generación de radicales libres que pueden exacerbar el estado de estrés oxidativo y dar lugar a citotoxicidad en condiciones patológicas. La relación de las enzimas MAO con el metabolismo de los neurotransmisores y sus implicaciones en la producción de estrés oxidativo en diversas áreas cerebrales las sitúa como potenciales dianas para el tratamiento de la EP ya que participan en distintos mecanismos fisiopatológicos como el estrés oxidativo y la neuroinflamación. En este sentido, los niveles de MAO-B aumentan como consecuencia de la gliosis, considerando que esta enzima está presente principalmente en las células gliales (Nagatsu, T. and M. Sawada "Molecular mechanism of the relation of monoamine oxidase B and its inhibitors to Parkinson's disease: possible implications of glial cells." J Neural Transm Suppl 2006, (71): 53-65). Además, los niveles de MAO-B se incrementan con la edad, principal factor

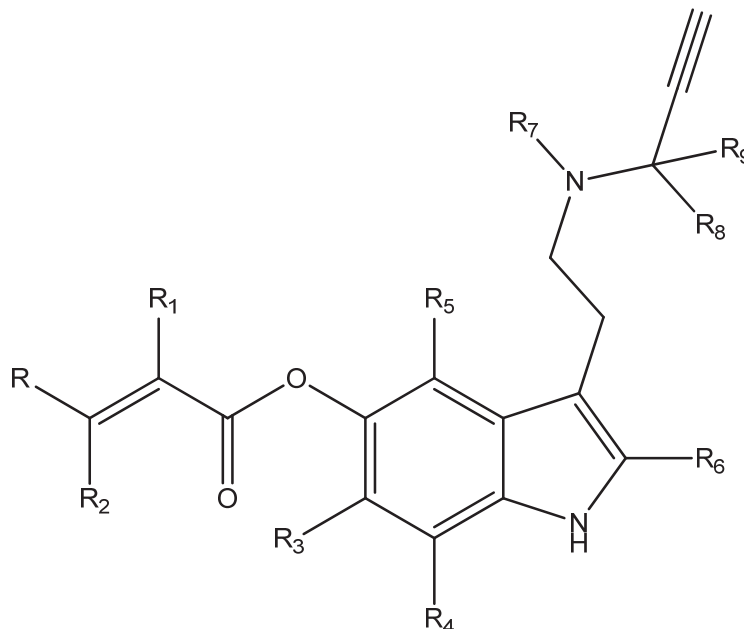
de riesgo para la EP, como se observa en estudios *post mortem* de cerebro humano. Esta actividad aumentada de MAO-B podría estar relacionada con la neurodegeneración como consecuencia de un aumento del estrés oxidativo (Fowler, J. S., N. D. Volkow, G. J. Wang, J. Logan, N. Pappas, C. Shea y R. MacGregor "Age-related increases in brain monoamine oxidase B in living healthy human subjects." Neurobiol Aging 1997, 18(4): 431-435). En el caso concreto de la EP, se ha encontrado que la actividad de MAO-B se encuentra aumentada en áreas especialmente afectadas por la enfermedad como es el caso de la sustancia negra (Youdim, M. B., D. Edmondson and K. F. Tipton "The therapeutic potential of monoamine oxidase inhibitors." Nat Rev Neurosci 2006, 7(4): 295-309; y Mallajosyula, J. K., D. Kaur, S. J. Chinta, S. Rajagopalan, A. Rane, D. G. Nicholls, D. A. Di Monte, H. Macarthur and J. K. Andersen "MAO-B elevation in mouse brain astrocytes results in Parkinson's pathology." PLoS One 2008, 3(2): e1616). En este sentido, existen varios inhibidores de MAO-B actualmente aprobados como fármacos para el tratamiento de la EP, como son rasagilina, selegilina y safinamida (Duarte, P., A. Cuadrado and R. León "Monoamine Oxidase Inhibitors: From Classic to New Clinical Approaches." Handb Exp Pharmacol 2021, 264: 229-259).

En los documentos de patente ES2526979, WO2016059269, WO201606526, WO2016192525, EP3611157, WO2021079010, WO2021012721 se proponen distintas opciones de tratamiento de la EP basadas en uno o varios compuestos químicos y/o productos naturales cuya diana terapéutica es la inducción y/o modulación de la ruta NRF2-ARE como estrategia neuro protectora e inmunomoduladora. Sin embargo, no se han descrito compuestos duales inductores de NRF2 e inhibidores de MAO-B para el tratamiento de la EP. Particularmente, en el documento WO2016059269A1, la inclusión de un resto alquino es imprescindible para que los compuestos objeto de la presente invención integren en la estructura la capacidad inhibidora de la enzima MAO-B, por tanto, esta modificación estructural constituye una modificación esencial para obtener compuestos multidiana capaces de inducir el factor de transcripción Nrf2 en combinación con la actividad inhibidora de la enzima MAO-B.

Por tanto, sería deseable disponer de derivados duales inductores de NRF2 e inhibidores de MAO-B para el tratamiento de EP.

## DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

Un aspecto de la invención se refiere a un compuesto de fórmula (I)



(I)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde:

R representa un grupo alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), fenilo, 2-piridilo, 3-piridilo, 4-piridilo, 3-piridazinilo, 4-piridazinilo, 2-pirimidinilo, 4-pirimidinilo, 5-pirimidinilo, 2-pirazinilo, 3-pirazinilo, 2-pirrolilo, 3-pirrolilo, 2-furilo, 3-furilo, 2-tienilo, 3-tienilo, 2-oxazolilo, 4-oxazolilo, 5-oxazolilo, 2-tiazolilo, 4-tiazolilo, 5-tiazolilo, 3-isoxazolilo, 4-isoxazolilo, 5-isoxazolilo, 3-isotiazolilo, 4-isotiazolilo, 5-isotiazolilo, 2-imidazolilo, 4-imidazolilo, 3-pirazolilo, 4-pirazolilo, 1,2,3-oxadiazol-4-ilo, 1,2,3-oxadiazol-5-ilo, 1,2,4-oxadiazol-3-ilo, 1,2,4-oxadiazol-5-ilo, 1,2,5-oxadiazol-3-ilo, 1,3,4-oxadiazol-2-ilo, 1,2,3-tiadiazol-4-ilo, 1,2,3-tiadiazol-5-ilo, 1,2,4-tiadiazol-3-ilo, 1,2,4-tiadiazol-5-ilo, 1,2,5-tiadiazol-3-ilo, 1,3,4-tiadiazol-2-ilo, 1,2,3-triazol-4-ilo, 1,2,4-triazol-3-ilo o 5-tetrazolilo, donde R está

opcionalmente sustituido por de uno a tres grupos R';

cada grupo R' independientemente representa halógeno; alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), cicloalquilo(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>); alcoxilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>); cicloalcoxilo(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>), -CN o -NO<sub>2</sub>;

cada grupo R<sub>1</sub> a R<sub>5</sub> independientemente representan hidrógeno, alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), cicloalquilo(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>) o fenilo, donde cada R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> independientemente están opcionalmente sustituidos por de uno a tres grupos R'';

cada R'' independientemente representan halógeno, alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), alcoxilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), cicloalquilo(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>), cicloalcoxilo(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>), -CN, -NO<sub>2</sub> o carboxilato(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>);

R<sub>6</sub> representa hidrógeno, alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), cicloalquilo(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>) o fenilo, donde R<sub>6</sub> está opcionalmente sustituido por de uno a tres grupos R<sup>'''</sup>;

cada R<sup>'''</sup> independientemente representan halógeno, alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), alcoxilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), cicloalquilo(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>), cicloalcoxilo(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>), -CN o -NO<sub>2</sub>;

5 R<sub>7</sub> representa hidrógeno o 1-propinilo; donde R<sub>7</sub> está opcionalmente sustituido por de uno a tres grupos R<sup>iv</sup>;

cada R<sup>iv</sup> independientemente representa halógeno, alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), alcoxilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), cicloalquilo(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>), cicloalcoxilo(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>), -CN o -NO<sub>2</sub>;

10 cada R<sub>8</sub> y R<sub>9</sub> independientemente representan hidrógeno, alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), cicloalquilo(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>), propinilo, acetilo o fenilo, y opcionalmente un R<sub>8</sub> y R<sub>9</sub> están unidos formando un grupo =O.

En otra realización la invención se refiere al compuesto de formula (I) definido anteriormente, donde R representa fenilo o alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), donde R está opcionalmente  
15 sustituido por uno o dos grupos R'.

En otra realización la invención se refiere al compuesto de formula (I) definido anteriormente, donde R representa fenilo, donde R está opcionalmente sustituido por uno o dos grupos R'.

20

En otra realización la invención se refiere al compuesto de fórmula (I) definido anteriormente, donde halógeno se selecciona de flúor, cloro y bromo.

En otra realización la invención se refiere al compuesto de formula (I) definido  
25 anteriormente, donde R' representa flúor, cloro, metilo, etilo, propilo, butilo, -CN o -NO<sub>2</sub>, preferiblemente donde R' representa alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), más preferiblemente donde R' presenta metilo, etilo o propilo, y aún más preferiblemente donde R' representa metilo.

En otra realización la invención se refiere al compuesto de formula (I) definido  
30 anteriormente, donde R representa fenilo sustituido por un grupo R', preferiblemente donde R representa fenilo sustituido por un grupo R' en posición 3, preferiblemente donde R representa tolilo.

En otra realización la invención se refiere al compuesto de formula (I) definido  
35 anteriormente, donde R representa fenilo.

En otra realización la invención se refiere al compuesto de formula (I) definido anteriormente, donde R representa 2-piridilo, 3-piridilo, 4-piridilo, 3-piridazinilo, 4-piridazinilo, 2-pirimidinilo, 4-pirimidinilo, 5-pirimidinilo, 2-pirazinilo, 3-pirazinilo, 2-pirrolilo, 3-pirrolilo, 2-furilo, 3-furilo, 2-tienilo, 3-tienilo, 2-oxazolilo, 4-oxazolilo, 5-oxazolilo, 2-tiazolilo, 4-tiazolilo, 5-tiazolilo, 3-isoxazolilo, 4-isoxazolilo, 5-isoxazolilo, 3-isotiazolilo, 4-isotiazolilo, 5-isotiazolilo, 2-imidazolilo, 4-imidazolilo, 3-pirazolilo, 4-pirazolilo, 1,2,3-oxadiazol-4-ilo, 1,2,3-oxadiazol-5-ilo, 1,2,4-oxadiazol-3-ilo, 1,2,4-oxadiazol-5-ilo, 1,2,5-oxadiazol-3-ilo, 1,3,4-oxadiazol-2-ilo, 1,2,3-tiadiazol-4-ilo, 1,2,3-tiadiazol-5-ilo, 1,2,4-tiadiazol-3-ilo, 1,2,4-tiadiazol-5-ilo, 1,2,5-tiadiazol-3-ilo, 1,3,4-tiadiazol-2-ilo, 1,2,3-triazol-4-ilo, 1,2,4-triazol-3-ilo o 5-tetrazolilo, donde R está opcionalmente sustituido por uno o dos grupos R'.

En otra realización la invención se refiere al compuesto de formula (I) definido anteriormente, donde R representa 2-piridilo, 3-piridilo, 4-piridilo, 3-piridazinilo, 4-piridazinilo, 2-pirimidinilo, 4-pirimidinilo, 5-pirimidinilo, 2-pirazinilo, 3-pirazinilo, 2-pirrolilo, 3-pirrolilo, 2-furilo, 3-furilo, 2-tienilo, 3-tienilo, 2-oxazolilo, 4-oxazolilo, 5-oxazolilo, 2-tiazolilo, 4-tiazolilo, 5-tiazolilo, 3-isoxazolilo, 4-isoxazolilo, 5-isoxazolilo, 3-isotiazolilo, 4-isotiazolilo, 5-isotiazolilo, 2-imidazolilo, 4-imidazolilo, 3-pirazolilo, 4-pirazolilo, 1,2,3-oxadiazol-4-ilo, 1,2,3-oxadiazol-5-ilo, 1,2,4-oxadiazol-3-ilo, 1,2,4-oxadiazol-5-ilo, 1,2,5-oxadiazol-3-ilo, 1,3,4-oxadiazol-2-ilo, 1,2,3-tiadiazol-4-ilo, 1,2,3-tiadiazol-5-ilo, 1,2,4-tiadiazol-3-ilo, 1,2,4-tiadiazol-5-ilo, 1,2,5-tiadiazol-3-ilo, 1,3,4-tiadiazol-2-ilo, 1,2,3-triazol-4-ilo, 1,2,4-triazol-3-ilo o 5-tetrazolilo.

En otra realización la invención se refiere al compuesto de formula (I) definido anteriormente, donde cada R<sub>1</sub> a R<sub>9</sub> independientemente son hidrógeno.

En otra realización la invención se refiere al compuesto de formula (I) definido anteriormente, donde cada R<sub>1</sub> a R<sub>6</sub> son hidrógeno, R<sub>7</sub> es 1-propinilo y R<sub>8</sub> y R<sub>9</sub> son hidrógeno.

En otra realización la invención se refiere al compuesto de formula (I) definido anteriormente, donde R<sub>8</sub> y R<sub>9</sub> están unidos formando un grupo =O.

En otra realización la invención se refiere al compuesto de formula (I) definido anteriormente, seleccionado de:

Cinamato de 3-(2-(prop-2-in-1-ilamino)etil)-1H-indol-5-ilo;

Acrilato de 3-(2-(prop-2-in-1-ilamino)etil)-1H-indol-5-il (E)-3-(p-tolilo);

Cinamato de 3-(2-(di(prop-2-in-1-il)amino)etil)-1H-indol-5-ilo;

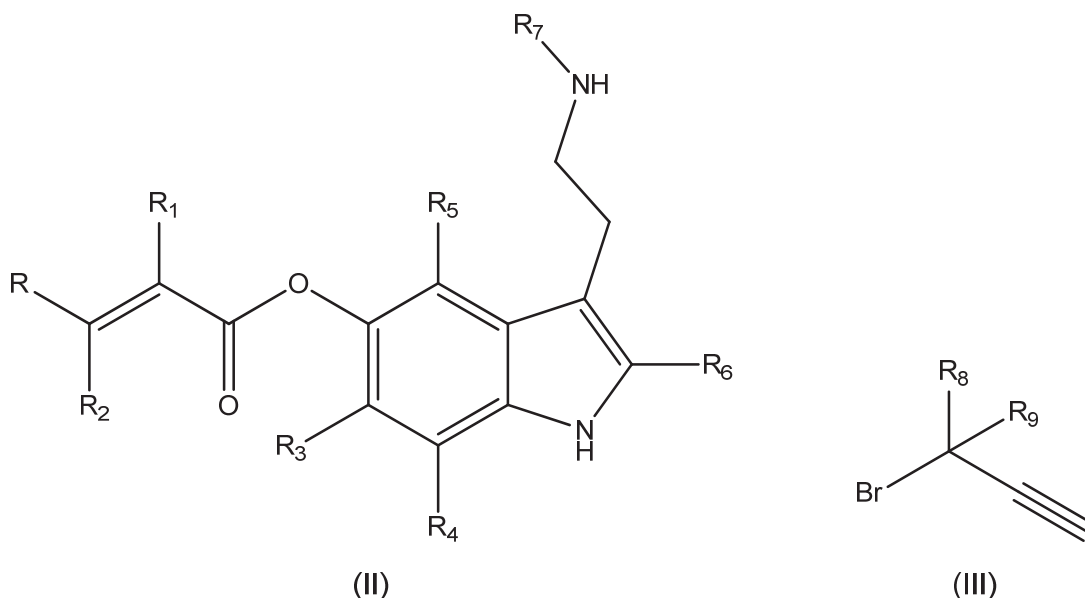
Acrilato de 3-(2-(di(prop-2-in-1-il)amino)etil)-1H-indol-5-il-(E)-3-(p-tolilo);

5 Cinamato de 3-(2-propiolamidoetil)-1H-indol-5-ilo; y

Acrilato de 3-(2-propiolamidoetil)-1H-indol-5-il-(E)-3-(p-tolilo).

Otro aspecto de la invención se refiere a un procedimiento para la obtención de un compuesto de fórmula (I) definido anteriormente, que comprende la siguiente etapa:

10 i) la reacción entre un compuesto de fórmula (II) y el bromuro del derivado de propargilo de fórmula (III):



donde R y R<sub>1</sub> a R<sub>9</sub>, tienen el significado definido para un compuesto de fórmula (I);  
o

15 ii) la reacción entre un compuesto de fórmula (II) y ácido 2-propinoico.

En otra realización la invención se refiere al procedimiento de obtención de un compuesto de fórmula (I) donde la reacción definida anteriormente se lleva a cabo en presencia de un catalizador seleccionado de N-óxido de N-[(dimetilamino)-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridin-1-ilmetilen]-N-metilmetanaminiohexafluorofosfato (HATU), N-óxido de tetrafluoroborato de N-[(1Hbenzotiazol-1-il (dimetilamino)metilen]-N-metilamonio (TBTU), 1-etil-3-(3'-dimetilaminopropil)-carbodiimida (EDC), HCl, 1,1'-carbonildiimidazol (CDI), SOCl<sub>2</sub>, N,N'-diciclohexilcarbodiimida (DCC), N,N'-diisopropilcarbodiimida (DIC) y 2-cloro-4,6-dimetoxi-1,3,5-triazina (CDMT), preferiblemente en presencia del catalizador

N,N'-diciclohexilcarbodiimida (DCC); utilizando un disolvente seleccionado de entre acetonitrilo, diclorometano, 1,2-dicloroetano, cloroformo y sus mezclas; y opcionalmente en presencia de trietilamina como promotor.

5 La invención también se refiere a una sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de fórmula (I), la cual se puede obtener por métodos convencionales como los mencionados previamente.

10 Los compuestos de fórmula (II) y (III) se pueden preparar por métodos convencionales conocidos por un experto en la materia.

Los compuestos de fórmula (I) obtenidos por el procedimiento anterior, si se desea, pueden ser purificados por métodos convencionales, tales como cristalización o cromatografía.

15 Otro aspecto de la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) definido anteriormente o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

20 En el contexto de la presente invención, los siguientes términos tienen el significado detallado a continuación:

El término "seleccionados independientemente" se refiere a que los grupos pueden ser  
25 idénticos o diferentes, o en su caso cuando sea especificado.

El término "alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)" se refiere a un radical de cadena alifática lineal o ramificada que tiene entre 1 y 6, preferiblemente entre 1 y 3 ("alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)"), átomos de carbono y que está unido al resto de la molécula mediante un enlace sencillo. Este término  
30 incluye, por ejemplo y en un sentido no limitativo, metilo, etilo, n-propilo, i-propilo, n-butilo, t-butilo y n-pentilo.

El término "alcoxilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)" se refiere a un grupo -O-alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), donde alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) tiene el significado definido anteriormente. Ejemplos incluyen, entre otros, metoxilo y  
35 etoxilo.

El término "carboxilato(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)" se refiere a un grupo -O-CO- alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), donde alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) tiene el significado definido anteriormente. Ejemplos incluyen, entre otros, formiato, etanoato, propanoato y butanoato.

- 5 El término "cicloalquilo(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>)" se refiere a un anillo alifático mono o policíclico saturado o parcialmente saturado que tiene entre 3 y 6, que está unido al resto de la molécula por medio de un enlace sencillo, incluyendo, por ejemplo, y en un sentido no limitativo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclohexilo y ciclopentilo.
- 10 El término "cicloalcoxilo(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>)" se refiere a un grupo -O-cicloalquilo(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>), donde cicloalquilo(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>) tiene el significado descrito anteriormente.

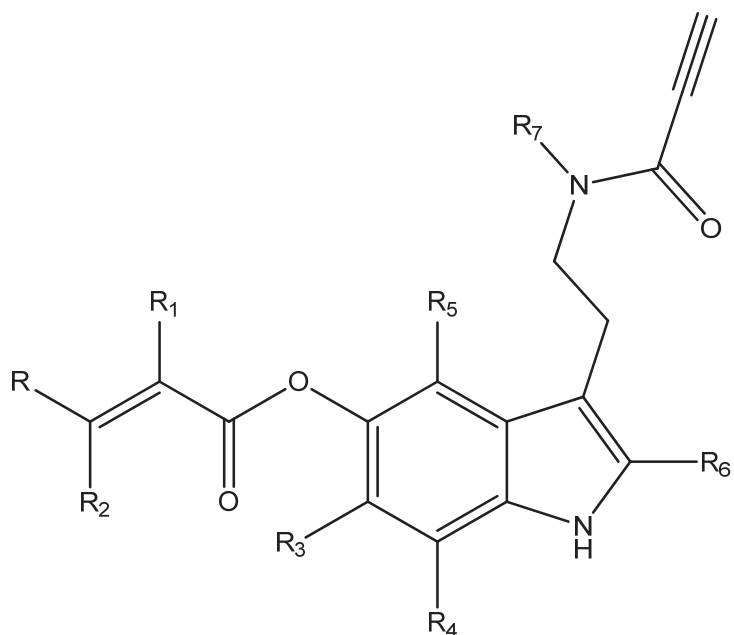
El término "halógeno" se refiere a flúor, cloro, bromo o yodo, preferiblemente flúor, cloro y bromo.

15

Cuando en la definición de los compuestos de fórmula (I) se indica que, opcionalmente, un grupo R<sub>8</sub> junto a un grupo R<sub>9</sub> están unidos formando un grupo =O, se refiere a que los dos grupos forman un grupo carbonilo (-CO-) compartiendo ambos grupos un doble enlace, un átomo de C y otro de O y uniéndose al resto de la molécula por sus dos

20

Así, en otra realización la invención se refiere al compuesto de fórmula (I) definido anteriormente, donde el compuesto de fórmula (I) es un compuesto de fórmula (Ia):



(Ia); y

R y R<sub>1</sub> a R<sub>7</sub> tienen el significado definido anteriormente para un compuesto de fórmula (I).

5

Tal y como entendería un experto en la materia, puede haber un cierto grado de sustitución en los radicales definidos anteriormente. Las referencias del presente documento con respecto a los grupos sustituidos indican que el radical especificado puede estar sustituido en una o más posiciones disponibles con uno o más sustituyentes.

10

El término “farmacéuticamente aceptable” se refiere, preferiblemente, a composiciones y entidades moleculares que son fisiológicamente tolerables y no producen, normalmente, una reacción alérgica o una reacción no favorable similar, tal como trastornos gástricos, mareo y similares, cuando se administra a un ser humano o animal. La expresión “farmacéuticamente aceptable” significa que está aprobado por una agencia reguladora como la agencia europea del medicamento o la agencia reguladora de EEUU, o que está incluido en la Farmacopea Estadounidense u otra farmacopea reconocida de modo general para su uso en animales y, de manera más particular, en seres humanos.

20

El término “sales” tal como aquí se utiliza se refiere a cualquier sal del compuesto de fórmula (I) que, cuando se administra a un sujeto, es capaz de proporcionar (directa o

indirectamente) dicho compuesto de fórmula (I). El término “sujeto” incluye a cualquier animal, por ejemplo, un mamífero, incluyendo a los seres humanos. La preparación de dichas sales puede llevarse a cabo mediante métodos convencionales conocidos por los técnicos en la materia. A modo ilustrativo, una sal de un compuesto de fórmula (I) puede sintetizarse mediante métodos convencionales a partir de un compuesto de fórmula (I) que contiene un resto básico. Generalmente, tales sales se preparan, por ejemplo, haciendo reaccionar las formas de base libre de los compuestos de fórmula (I) con una cantidad estequiométrica del ácido apropiado en agua o en un disolvente orgánico o en una mezcla de agua y un disolvente orgánico. En general, se prefieren medios no acuosos tales como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetonitrilo.

En una realización particular, dichas sales del compuesto de fórmula (I) son sales farmacéuticamente aceptables, es decir, sales que pueden ser administradas a un sujeto y proporcionan un compuesto de fórmula (I) en un compartimento biológico de dicho individuo. Entre dichas sales farmacéuticamente aceptables se incluyen las sales de adición de ácido, por ejemplo, las sales formadas a partir de ácidos orgánicos e inorgánicos, tales como bromhídrico, clorhídrico, fosfórico, nítrico, sulfúrico, acético, adípico, aspártico, bencenosulfónico, benzoico, cítrico, etanosulfónico, fórmico, fumárico, glutámico, láctico, maleico, málico, malónico, mandélico, metansulfónico, 1,5-naftalen-disulfónico, oxálico, piválico, propiónico, *p*-toluensulfónico, succínico, tartárico y similares, así como las sales metálicas, estando seleccionado el metal entre sodio, potasio, litio, calcio, magnesio, zinc, aluminio y similares, o las sales amónicas, o una sal formada a partir de bases orgánicas, como 2-amino-1-butanol, 2-amino-2-etil-1,3-propanodiol, 2-amino-2-metil-1,3-propanodiol, benzatina, bencildimetilamina, cloroprocaína, colina, dibencilmetilamina, dietanolamina, diisopropanolamina, etilendiamina, dimetilestearamina, meglumina, 2-metil-2-amino-1-propanol, un monoamino-glicol, monoetanolamina, monoisopropanolamina, morfolina, N,N-dibenciletilendiamina, N,N-dimetil-2-amino-2-metil-1-propanol, N,N-dimetilanilina, procaína, piridina, quinolina, *t*-butil-dimetilamina, trietanolamina, trietilamina, trihidroximetilaminometano, triisopropanolamina, trimetilamina y similares, y sales con aminoácidos tales como glicina, lisina, arginina, taurina, histidina, alanina, valina, cisteína y similares.

En otra realización particular, algunos grupos sustituyentes pueden añadirse a los compuestos objeto de la invención, para hacerlos susceptibles de formación de sales.

Por ejemplo, los grupos funcionales ácidos pueden formar sales estables con cationes y grupos funcionales básicos que forman sales estables con ácidos. Generalmente, debe existir una diferencia de al menos tres unidades en los valores de  $pK_a$  del compuesto que se usa como fármaco y el contraión. Para compuestos derivados que son bases muy débiles, la elección para formar sales es preferiblemente un ácido fuerte, como el ácido clorhídrico ( $pK_a = -6,1$ ), sulfúrico ( $pK_{a1} = -3,0$ ,  $pK_{a2} = -1,96$ ), o metanosulfónico ( $pK_a = -1,2$ ) para asegurar la protonación del compuesto. Los compuestos que son más básicos pueden formar sales con ácidos débiles, como el ácido fosfórico ( $pK_{a1} = 2,15$ ,  $pK_{a2} = 7,2$ ,  $pK_{a3} = 12,38$ ), tartárico ( $pK_a = 2,93$ ), acético ( $pK_a = 4,76$ ), y benzoico ( $pK_a = 4,2$ ). Para compuestos que sean ácidos muy débiles, se prefieren cationes fuertemente básicos, como sodio ( $pK_a = 14,8$ ), potasio ( $pK_a = 16,0$ ) o calcio ( $pK_a = 12,9$ ), para asegurar la desprotonación del compuesto. Compuestos que son más ácidos pueden formar sales con cationes más débiles, como zinc ( $pK_a = 8,96$ ), colina ( $pK_a = 18,9$ ) y ditanolamina ( $pK_a = 9,65$ ). Grupos funcionales representativos para la formación de sales estables listadas en función del valor relativo de su fuerza ácido/base incluyen, pero no limitan, ácido sulfónico ( $pK_{a1} = -1,2$ ,  $pK_{a2} = -0,7$ ), ácido carboxílico ( $pK_a = -4,7$ ) e imida ( $pK_a = 8,2$ ).

Los compuestos de fórmula (I) pueden existir en diferentes formas físicas, es decir en forma amorfa y formas cristalinas. Asimismo, los compuestos de la presente invención pueden tener la capacidad de cristalizar de más de una forma, una característica que se conoce como polimorfismo. Los polimorfos se pueden diferenciar por varias propiedades físicas bien conocidas por los entendidos en la materia como por ejemplo sus difractogramas de rayos X, puntos de fusión o solubilidad. Todas las formas físicas de los compuestos de fórmula (I), incluyendo todas sus formas polimórficas ("polimorfos"), quedan incluidas dentro del ámbito de la presente invención.

Una forma farmacéuticamente aceptable excluyendo los aditivos farmacéuticos normales tales como diluyentes y portadores, y no incluyendo materiales considerados tóxicos a los niveles normales de dosificación. El nivel de pureza de los compuestos será preferentemente superior al 50%, más preferentemente igual o superior al 70%, aún más preferentemente igual o superior al 90%. En una realización preferida, la pureza del compuesto de fórmula (I), o sus sales, será superior al 95%.

Los compuestos de la presente invención representados por la fórmula (I) descrita anteriormente pueden incluir enantiómeros dependiendo de la presencia de centros quirales o isómeros geométricos, dependiendo de la presencia de enlaces múltiples (por ejemplo, Z, E). Los isómeros geométricos, enantiómeros o diastereoisómeros de los compuestos de fórmula (I) y mezclas de los mismos se encuentran dentro del alcance de la presente invención.

En otra realización particular, los compuestos sujetos a esta invención dan composiciones farmacéuticamente aceptables que comprenden los compuestos de fórmula (I) con un portador farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, composición farmacéutica que incluye uno o más compuestos de fórmula (I), solos o en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales como una mezcla con excipientes farmacéuticamente aceptables.

El término “excipiente farmacéuticamente aceptable” significa uno o más sólidos, o líquidos compatibles, diluyentes o sustancias de encapsulación que sean susceptibles de ser administradas a un sujeto.

Los compuestos objeto de la presente invención poseen capacidad secuestradora de radicales libres, capacidad neuroprotectora, y una predicción positiva de paso de barrera hematoencefálica, por lo que pueden ser potencialmente útiles en la prevención y/o el tratamiento de la EP. Más concretamente, pueden ser útiles en la prevención y/o tratamiento de la EP que cursa con incremento de estrés oxidativo y/o disfunción mitocondrial.

A lo largo de la presente descripción, el término “tratamiento” se refiere a eliminar, reducir o disminuir la causa o efectos de una enfermedad. Para los propósitos de esta invención, tratamiento incluye, aunque sin quedar limitados a los mismos, aliviar, disminuir o eliminar uno o más síntomas de la enfermedad; reducir del grado de enfermedad, estabilizar (es decir, no empeorar) el estado de la enfermedad, retrasar o ralentizar la progresión de la enfermedad, aliviar o mejorar el estado de la enfermedad y remitir (ya sea total o parcial).

Tal como se utiliza en la presente invención, el término “prevención” se refiere a prevenir la aparición de la enfermedad que se presente en un paciente que está predispuesto o

tiene factores de riesgo, pero que todavía no presenta síntomas de la enfermedad. Prevención también incluye prevenir la reaparición de una enfermedad en un sujeto que previamente ha padecido dicha enfermedad.

- 5 Estos nuevos derivados presentan, entre otras, las siguientes características:  
capacidad de inducir la liberación del factor de transcripción NRF2,  
capacidad de inhibición selectiva de la enzima MAO-B  
capacidad secuestradora de radicales libres,  
capacidad neuroprotectora frente a distintos estímulos tóxicos relacionados con el  
10 incremento del estrés oxidativo, y  
potencial capacidad de paso de barrera hematoencefálica por difusión pasiva según un ensayo de permeabilidad de membrana artificial.

- 15 Los compuestos de fórmula (I) de la presente invención presentan actividad inductora del factor NRF2, actividad inhibidora de la enzima MAO-B, capacidad secuestradora de radicales libres, y efecto neuroprotector, por lo que pueden ser utilizados en la prevención o terapia de la EP.

- 20 Para su administración a un sujeto en necesidad de tratamiento, los compuestos de fórmula (I) de la presente invención se administran convenientemente formulados con los excipientes adecuados para su administración por cualquier vía apropiada, por ejemplo, por vía oral, parenteral, subcutánea, intramuscular o rectal, preferentemente por vía oral.

- 25 Por tanto, en otros aspectos, la invención incluye una composición farmacéutica, en adelante composición farmacéutica de la invención, que comprende un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, junto con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

- 30 En una realización particular, la composición farmacéutica de la invención se presenta en una forma farmacéutica de administración por vía oral, bien en forma sólida o líquida. Ejemplos ilustrativos de formas farmacéuticas de administración por vía oral incluyen comprimidos, cápsulas, granulados, soluciones, suspensiones, etc., para lo cual incluirán los excipientes farmacéuticamente aceptables apropiados, tales como  
35 aglutinantes, diluyentes, desintegrantes, lubricantes, humectantes, etc., y pueden ser

preparadas por métodos convencionales. La composición farmacéutica de la invención también puede ser adaptada para su administración parenteral (ej., vía intramuscular, intravenosa, etc.), en forma de, por ejemplo, soluciones, suspensiones o productos liofilizados, estériles, en la forma de dosificación apropiada; en este caso, dichas composiciones farmacéuticas incluirán los excipientes adecuados, tales como tampones, tensioactivos, etc. La composición farmacéutica de la invención también puede ser adaptada para su administración subcutánea en forma de, por ejemplo, soluciones o suspensiones estériles, en la forma de dosificación apropiada; en este caso, dichas composiciones farmacéuticas incluirán los excipientes adecuados, tales como tampones, tensioactivos, etc. Asimismo, la composición farmacéutica de la invención puede ser adaptada para su administración por vía rectal para lo cual incluirá los excipientes adecuados compatibles con los compuestos de fórmula (I) de la invención. Las formulaciones se pueden preparar según métodos convencionales tales como los que se describen en las farmacopeas Española, Europea o de Estados Unidos de América, o en textos de referencia similares, por ejemplo "Tratado de Farmacia Galénica", de C. Faulí i Trillo, 10 Edición, 1993, Luzán 5, S.A. de Ediciones.

Otro aspecto de la invención se refiere a un compuesto de fórmula (I) definido anteriormente, para su uso como medicamento.

Otro aspecto de la presente invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un método de tratamiento de una enfermedad en un sujeto que lo necesite, especialmente en humanos, que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad efectiva de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Se ha demostrado que los compuestos de fórmula (I) de la presente invención son útiles para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas que mejoran con la administración de un inductor de NRF2 y/o inhibidor de MAO-B y/o antioxidante y/o neuroprotector, particularmente para la enfermedad del parkinson (EP).

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (I) definido

anteriormente, para su uso en el tratamiento y/o prevención de una enfermedad neurodegenerativa.

5 En otra realización la invención se refiere a un compuesto de fórmula (I) para el uso definido anteriormente, donde la enfermedad neurodegenerativa se selecciona de enfermedad de Parkinson (EP), enfermedad de Alzheimer y esclerosis lateral amiotrófica (ELA).

10 En otra realización la invención se refiere al compuesto de fórmula (I) para su uso definido anteriormente, donde la enfermedad neurodegenerativa es la enfermedad de Parkinson (EP), y preferiblemente para su uso en el tratamiento y/o prevención de la enfermedad de Parkinson (EP) que cursa con un declive de la capacidad cognitiva y/o motora, secundarias a la degeneración neuronal.

15 Otro aspecto de la presente invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de una enfermedad neurodegenerativa, preferiblemente para el tratamiento y/o prevención de una enfermedad seleccionada de enfermedad de Parkinson (EP), enfermedad de Alzheimer y esclerosis lateral amiotrófica (ELA), más preferiblemente para el tratamiento y/o prevención de la  
20 enfermedad de Parkinson (EP), y aún más preferiblemente para la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de la enfermedad de Parkinson (EP) que cursa con un declive de la capacidad cognitiva y/o motora, secundarias a la degeneración neuronal.

25 Otro aspecto de la presente invención se refiere a un método para el tratamiento y/o prevención de una enfermedad neurodegenerativa, preferiblemente para el tratamiento y/o prevención de una enfermedad seleccionada de enfermedad de Parkinson (EP), enfermedad de Alzheimer y esclerosis lateral amiotrófica (ELA), más preferiblemente  
30 para el tratamiento y/o prevención de la enfermedad de Parkinson (EP), y aún más preferiblemente para el tratamiento y/o prevención de la enfermedad de Parkinson (EP) que cursa con un declive de la capacidad cognitiva y/o motora, secundarias a la degeneración neuronal, en un sujeto que lo necesite, especialmente en humanos, que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad efectiva de un compuesto de fórmula  
35 (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

El compuesto de fórmula (I) de la invención se administrará en una cantidad terapéuticamente efectiva que generalmente dependerá de la eficacia del compuesto de fórmula (I) elegido, de la gravedad de la patología a tratar, etc. No obstante, típicamente se administrará a dosis diarias comprendidas entre 0,1 y 500 mg de compuesto de fórmula (I) por kg de peso corporal, más preferentemente las dosis diarias estarán comprendidas entre 25 y 250 mg/kg peso corporal.

En otra realización la invención se refiere al compuesto de fórmula (I) para el uso descrito anteriormente caracterizado por que se administra en dosis diarias comprendidas entre 0,1 y 500 mg.

En otra realización la invención se refiere al compuesto de fórmula (I) para el uso descrito anteriormente caracterizado por que se administra en dosis diarias comprendidas entre 25 mg y 250 mg.

En otro aspecto, la invención protege el uso de un compuesto de fórmula (I), sus sales farmacéuticamente aceptables, en la elaboración de una composición farmacéutica para la prevención o el tratamiento la EP.

La EP es una enfermedad neurodegenerativa, a menudo de causa desconocida, en la que tiene lugar la degeneración progresiva del sistema nervioso en alguna de sus partes o en su totalidad. Para una descripción detallada ver, por ejemplo, (Jayaram, S. and P. T. Krishnamurthy "Role of microgliosis, oxidative stress and associated neuroinflammation in the pathogenesis of Parkinson's disease: The therapeutic role of Nrf2 activators." *Neurochem Int* 2021, 145: 105014; y Sackner-Bernstein, J. "Estimates of Intracellular Dopamine in Parkinson's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis." *J Parkinsons Dis* 2021, 11(3): 1011-1018).

La administración de los compuestos de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se puede llevar a cabo en solitario o en combinación con fármacos adicionales, tales como fármacos útiles para el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa o de una enfermedad isquémico-cerebral, para proporcionar una terapia combinada; dichos fármacos adicionales pueden formar parte de la misma composición farmacéutica de la invención que comprende el compuesto de fórmula (I) y/o sus sales farmacéuticamente aceptables, o no, en cuyo caso, se administrarán de

forma simultánea o secuencial a la administración de la composición farmacéutica de la invención. Ejemplos ilustrativos, no limitativos, de dichos fármacos adicionales que pueden emplearse para proporcionar una terapia de combinación incluyen agentes tales como la memantina (un bloqueante del receptor de glutamato tipo NMDA aprobado para su uso en las fases avanzadas de la enfermedad de Alzheimer), vitaminas, antiinflamatorios o antidepresivos.

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

## 15 EJEMPLOS

A continuación, se ilustrará la invención mediante unos ensayos realizados por los inventores, que pone de manifiesto la efectividad del producto de la invención.

### 20 1. OBTENCIÓN DE LOS COMPUESTOS DE LA INVENCION

Los compuestos cuya actividad biológica es objeto de la presente invención se sintetizaron siguiendo los siguientes procedimientos en síntesis orgánica:

#### 25 1.1 Procedimiento general A, para la obtención de las aminas pertenecientes a la familia I

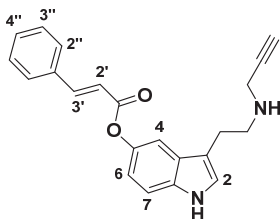
A una disolución del derivado de la amina correspondiente (1,00 eq), en acetonitrilo (MeCN), se añadió bromuro de propargilo (1,00 eq) y trietilamina (Et<sub>3</sub>N, 1,00 eq) en caso de baja velocidad de reacción. La solución resultante se agitó a temperatura ambiente. Una vez completada (TLC), los productos se purificaron mediante cromatografía flash en gel de sílice usando mezclas de diclorometano (DCM)/MeOH como eluyente.

#### 35 1.2 Procedimiento general B, para la obtención de las amidas pertenecientes a la familia I

A una solución de *N,N'*-diciclohexilcarbodiimida (DCC, 1,15 eq) en DCM seco bajo

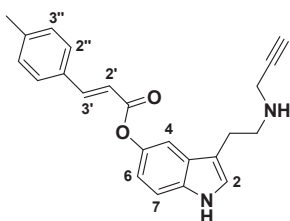
argón, se añadió primero ácido 2-propinoico (1,15 eq) y luego el derivado amina correspondiente (1,00 eq). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente. Una vez completada (TLC), la solución se filtró y el disolvente se eliminó por evaporación a baja presión. Los productos resultantes se purificaron mediante cromatografía flash en gel de sílice usando éter de petróleo/EtOAc como eluyente.

**Ejemplo 1: Preparación del cinamato de 3-(2-(prop-2-in-1-ilamino)etil)-1H-indol-5-ilo (Compuesto 1).**



10 Siguiendo el procedimiento general A, cinamato de 3-(2-aminoetil)-1H-indol-5-ilo (compuesto 11, 95,0 mg, 0,296 mmol) en MeCN (10 ml), bromuro de propargilo (92,9  $\mu$ L, 0,296 mmol) y trietilamina (Et<sub>3</sub>N, 40  $\mu$ L, 0,296 mmol), 72 h, cromatografía flash en gel de sílice (éter de petróleo: EtOAc 0 - 100%: MeOH 0 - 2,5%) para obtener el compuesto 1 como un sólido de color amarillo pálido (10 mg, rendimiento del 31%). IR (KBr)  $\lambda_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$  3434, 3257, 2918, 1626, 1472, 1388, 1299, 1212, 1038, 971. <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, DMSO)  $\delta_{\text{H}}$  8,40 (1H, d,  $J$  = 9,0 Hz, 7-H), 8,24 (1H, s, 2-H), 7,99 – 7,88 (6H, m, 2''-H, 3'-H, NH, NH<sub>2</sub><sup>+</sup>), 7,73 (1H, d,  $J$  = 15,4 Hz, 2'-H), 7,53 – 7,47 (3H, m, 3''-H, 4''-H), 7,27 (1H, d,  $J$  = 2,5 Hz, 4-H), 7,05 (1H, dd,  $J$  = 8,9, 2,6 Hz, 6-H), 4,88 (2H, d,  $J$  = 2,4 Hz, CH<sub>2</sub>CCH), 3,57 (1H, t,  $J$  = 2,4 Hz, CH<sub>2</sub>CCH), 3,24 – 3,16 (2H, m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 3,00 (2H, t,  $J$  = 7,5 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH). <sup>13</sup>C RMN (75 MHz, DMSO)  $\delta_{\text{C}}$  163,9, 154,5, 146,2, 134,8, 131,6, 131,2, 131,1, 129,4, 129,3, 125,4, 118,2, 117,7, 117,4, 114,1, 104,2, 79,8, 78,6, 56,4, 38,6, 23,2. Masa calculada por HPLC-HRMS (ES +) para C<sub>22</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 344,1525; encontrado [(M + H)<sup>+</sup>] 345,1595; [(2 M + H)<sup>+</sup>] 689,3136; pureza 96% (HPLC).

**Ejemplo 2: Preparación del acrilato de 3-(2-(prop-2-in-1-ilamino)etil)-1H-indol-5-il (E)-3-(p-tolilo) (Compuesto 2).**

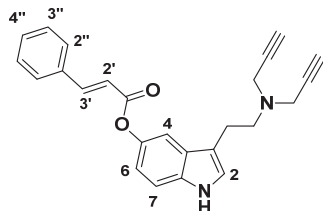


Siguiendo el procedimiento general A, acrilato de 3-(2-aminoetil)-1H-indol-5-il-(E)-3-(p-

tolilo) (107 mg, 0,349 mmol) en MeCN (10 ml), bromuro de propargilo (51,9  $\mu$ L, 0,349 mmol) y Et<sub>3</sub>N (46,3  $\mu$ L, 0,349 mmol) mmol), 72 h, cromatografía flash en gel de sílice (éter de petróleo: EtOAc 0 - 100%: MeOH 0 - 3%) para obtener el compuesto **2** en forma de un sólido amarillo (17 mg, 30% de rendimiento). IR (KBr)  $\lambda_{\text{max}}$ /cm<sup>-1</sup>  $\delta$  3360, 3258, 3082, 2923, 2861, 1671, 1606, 1473, 1452, 1387, 1252, 1217, 1052, 1024, 973, 815. <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, DMSO)  $\delta_{\text{H}}$  8,37 (1H, d, J = 9,0 Hz, 7-H), 8,15 (s, 1H, 2-H), 7,84 (3H, m, 3'-H, 2''-H), 7,69 (1H, d, J = 15,3 Hz, 2'-H), 7,30 (2H, d, J = 8,2 Hz, 3''-H), 7,21 (1H, d, J = 2,5 Hz, 4-H), 6,99 (1H, dd, J = 9,0, 2,6 Hz, 6-H), 4,86 (2H, d, J = 2,4 Hz, CH<sub>2</sub>CCH), 3,58 (1H, s, J = 2,2 Hz, CH<sub>2</sub>CCH), 2,91 (2H, t, J = 6,6 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 2,75 (2H, J = 6,6 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 2,37 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 1,94 (1H, s<sub>br</sub>, 1H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH). <sup>13</sup>C RMN (75 MHz, DMSO)  $\delta_{\text{C}}$  163,9, 154,3, 145,9, 141,0, 132,2, 132,1, 130,9, 129,8, 129,3, 124,4, 120,2, 117,6, 117,1, 113,8, 104,0, 79,8, 78,5, 56,2, 41,7, 29,3, 21,4. Masa calculada por HPLC-HRMS (ES +) para C<sub>23</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 358,1681; encontrado [(M + H)<sup>+</sup>] 359,1845; [(2 M + H)<sup>+</sup>] 717,3441; pureza 96% (HPLC).

15

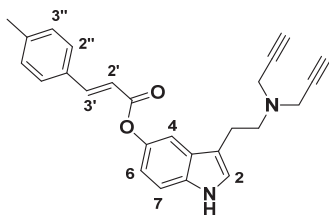
**Ejemplo 3: Preparación del cinamato de 3-(2-(di(prop-2-in-1-il)amino)etil)-1H-indol-5-ilo (Compuesto 3).**



Siguiendo el procedimiento general A, cinamato de 3-(2-aminoetil)-1H-indol-5-ilo (95,0 mg, 0,296 mmol) en MeCN (10 ml), bromuro de propargilo (92,9  $\mu$ L, 0,296 mmol) y trietilamina (Et<sub>3</sub>N, 40  $\mu$ L, 0,296 mmol), 72 h, cromatografía flash en gel de sílice (éter de petróleo: EtOAc 0 - 100%: MeOH 0 - 2,5%) para obtener el compuesto **3** como un aceite de color amarillo pálido (24 mg, rendimiento del 41%). IR (KBr)  $\lambda_{\text{max}}$  (film) / cm<sup>-1</sup> 3276, 2926, 2846, 1709, 1628, 1449, 1240, 1203, 1171, 955, 771. <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, DMSO)  $\delta_{\text{H}}$  10,90 (1H, s<sub>br</sub>, NH), 7,89 – 7,74 (3H, m, 2'-H, 2''-H), 7,50 – 7,42 (3H, m, 3''-H, 4''-H), 7,35 (1H, d, H-7), 7,31 (1H, d, J = 2,3 Hz, 2-H), 7,23 (1H, d, J = 2,3 Hz, 4-H), 6,95 – 6,82 (2H, m, 3'-H, 6-H), 3,45 (4H, d, J = 2,4 Hz, CH<sub>2</sub>CCH), 3,13 (2H, t, J = 2,2 Hz, CH<sub>2</sub>CCH), 2,86 – 2,68 (4H, m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); <sup>13</sup>C RMN (75 MHz, DMSO)  $\delta_{\text{C}}$  165,7, 145,7, 143,2, 134,0, 133,9, 130,7, 128,9, 128,5, 127,3, 124,1, 117,7, 115,2, 112,4, 110,4, 79,3, 75,5, 52,9, 41,5, 22,8. Masa calculada por HPLC-HRMS (ES +) para C<sub>26</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 396,1838; encontrado [(M + H)<sup>+</sup>] 397,1909; [(2 M + H)<sup>+</sup>] 793,3738; pureza 95% (HPLC).

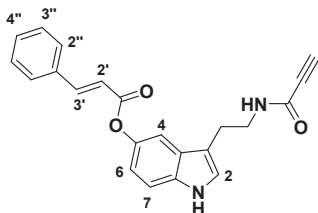
30

**Ejemplo 4: Preparación del acrilato de 3-(2-(di(prop-2-in-1-il)amino)etil)-1H-indol-5-il-(E)-3-(p-tolilo) (Compuesto 4).**



5 Siguiendo el procedimiento general A, acrilato de 3-(2-aminoetil)-1H-indol-5-il-(E)-3-(p-tolilo) (107 mg, 0,349 mmol) en MeCN (10 ml), bromuro de propargilo (51,9  $\mu$ L, 0,349 mmol) y Et<sub>3</sub>N (46,3  $\mu$ L, 0,349 mmol) mmol), 72 h, cromatografía flash en gel de sílice (éter de petróleo: EtOAc 0 - 100%: MeOH 0 - 3%) para obtener el compuesto **4** en forma de un aceite amarillo (26 mg, 39% de rendimiento). IR (KBr)  $\lambda_{\text{max}}$  (film)/cm<sup>-1</sup> 3309, 3255, 3181, 2926, 2852, 2834, 1725, 1641, 1460, 1312, 1168, 1147, 979, 810. <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, DMSO)  $\delta_{\text{H}}$  10,95 (1H, s<sub>br</sub>, NH), 7,86 (1H, d, J = 16,0 Hz, 2'-H), 7,74 (2H, d, J = 8,1 Hz, 2''-H), 7,39 (1H, d, J = 8,7 Hz, 7-H), 7,36 – 7,29 (3H, m, 3''-H, 2-H), 7,27 (1H, d, J = 2,3 Hz, 4-H), 6,97 – 6,80 (2H, m, 3'-H, 6-H), 3,49 (4H, d, J = 2,4 Hz, CH<sub>2</sub>CCH), 3,17 (2H, t, J = 2,3 Hz, CH<sub>2</sub>CCH), 2,92 – 2,72 (4H, m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N), 2,40 (3H, s, Ph-CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C RMN (75 MHz, DMSO)  $\delta_{\text{C}}$  165,8, 145,7, 143,2, 140,7, 133,9, 131,3, 129,6, 128,5, 127,3, 116,6, 115,3, 112,4, 111,6, 110,4, 79,2, 75,5, 53,0, 41,5, 22,8, 21,0. Masa calculada por HPLC-HRMS (ES +) para C<sub>25</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 382,1681; encontrado [(M + H)<sup>+</sup>] 383,1752; pureza 95% (HPLC).

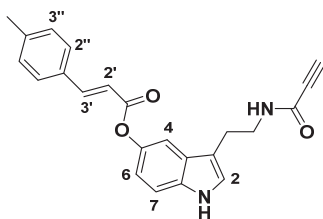
**Ejemplo 5: Preparación del cinamato de 3-(2-propiolamidoetil)-1H-indol-5-ilo (Compuesto 5).**



25 Siguiendo el procedimiento general B, DCC (58,1 mg, 0,281 mmol), ácido 2-propinoico (17,2  $\mu$ L, 0,281 mmol) en DCM seco (8 ml), cinamato de 3-(2-aminoetil)-1H-indol-5-ilo (75,0 mg, 0,244 mmol), 5 h, cromatografía flash en gel de sílice (éter de petróleo: EtOAc 0-100%) para obtener el compuesto **5** en forma de un sólido blanco (77,6 mg, rendimiento del 89%). IR (KBr)  $\lambda_{\text{max}}$  (film) / cm<sup>-1</sup> 3386, 3299, 3224, 3054, 2936, 2107, 1713, 1642, 1547, 1168, 1031, 766, <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, DMSO)  $\delta_{\text{H}}$  10,94 (1H, s<sub>br</sub>, NH),

8,80 (1H, s<sub>br</sub>, NHC(O)CCH), 7,92 – 7,75 (3H, m, 2'-H, 2"-H), 7,53 – 7,41 (3H, m, 3"-H, 4"-H), 7,36 (1H, d, J = 8,7 Hz, 7-H), 7,30 (1H, d, J = 2,2 Hz, 2-H), 7,22 (1H, d, J = 2,4 Hz, 4-H), 6,96 – 6,82 (2H, m, 3'-H, 6-H), 4,07 (1H, s, NHC(O)CCH), 3,43 – 3,27 (2H, m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 2,81 (2H, t, J = 7,4 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH); <sup>13</sup>C RMN (75 MHz, DMSO) δ<sub>c</sub> 165,7, 151,5, 145,7, 143,2, 139,2, 134,0, 130,7, 128,9, 128,5, 127,2, 124,3, 117,7, 115,3, 111,7, 110,3, 78,4, 75,4, 39,8, 24,5. Masa calculada por HPLC-HRMS (ES<sup>+</sup>) para C<sub>22</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 358,1317; encontrado [(M + H)<sup>+</sup>] 359,1389; pureza 100 % (HPLC).

**Ejemplo 6: Preparación del acrilato de 3-(2-propiolamidoetil)-1H-indol-5-il-(E)-3-(p-tolilo) (Compuesto 6).**



Seguendo el procedimiento general B, DCC (55,5 mg, 0,269 mmol), ácido 2-propinoico (17,4 µL, 0,269 mmol) en DCM seco (8 ml), acrilato de 3-(2-aminoetil)-1H-indol-5-il-(E)-3-(p-tolilo) (75,0 mg, 0,234 mmol), 5 h, cromatografía flash en gel de sílice (éter de petróleo: EtOAc 0-100%) para obtener el compuesto **6** como un sólido blanco (67,6 mg, 78% de rendimiento). IR (KBr) λ<sub>max</sub> (film)/cm<sup>-1</sup> 3270, 2925, 2106, 1717, 1642, 1171, 1147, 816. <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, DMSO) δ<sub>H</sub> 10,93 (1H, s<sub>br</sub>, NH), 8,80 (1H, s<sub>br</sub>, NHC(O)CCH), 7,81 (1H, d, J = 16,0 Hz, 2'-H), 7,69 (2H, d, J = 7,8 Hz, 2"-H), 7,35 (1H, d, J = 8,5 Hz, d, 7-H), 7,29 (2H, d, J = 2,3 Hz, 3-H"), 7,26 (1H, s, 2-H), 7,22 (1H, m, H-4), 6,93 – 6,75 (2H, m, 3'-H, 6-H), 4,07 (1H, s, NHC(O)CCH), 3,44 – 3,19 (2H, m, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 2,81 (2H, t, J = 7,4 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH), 2,35 (3H, s, Ph-CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C RMN (75 MHz, DMSO) δ<sub>c</sub> 165,8, 151,5, 145,7, 143,3, 140,7, 134,0, 131,3, 129,6, 128,5, 127,2, 116,5, 115,4, 111,7, 110,3, 78,4, 75,4, 39,6, 24,5, 21,0. Masa calculada por HPLC-HRMS (ES<sup>+</sup>) para C<sub>23</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 373,1507; encontrado [(M + H)<sup>+</sup>] 372,1474; [(2M + H)<sup>+</sup>] 745,3009; pureza 100 % (HPLC).

**2. ACTIVIDADES BIOLÓGICAS ESTUDIADAS EN LOS COMPUESTOS DE LA INVENCIÓN.**

**Ejemplo 7**

Medida de la inducción de la vía NRF2-ARE mediante la medida de la actividad luciferasa en células AREc32

Para el estudio de inducción del factor de transcripción NRF2 se utilizó la línea celular AREc32, línea de células MCF7 transfectada de forma estable con el gen reportero luciferasa controlado por 8 copias de la secuencia ARE. En presencia de electrófilos o estrés oxidativo, el factor NRF2 se transloca al núcleo y se une a las secuencias ARE, activando así la expresión de luciferasa y aumentando sus niveles proteicos de forma proporcional a la activación de la vía. Las células AREc32 se cultivaron en medio DMEM con Glutamax, suplementado con un 10% de suero bovino fetal (SBF), 1% de penicilina-estreptomicina y 0,8% de geneticina (G418) (reactivos de GIBCO, Madrid, España). Las células se cultivaron en frascos de cultivo de 75 cm<sup>2</sup> con 12 mL del medio específico, en un ambiente controlado de 37°C y 5% de CO<sub>2</sub>. Las células se subcultivaron cada 4-6 días al alcanzar un 80% de confluencia. Para los experimentos, las células se cultivaron en placas blancas de 96 pocillos y fondo opaco, a una densidad de 2x10<sup>4</sup> células/pocillo con 100 µL/pocillo. Tras 24 h de cultivo, las células se trataron con los compuestos objeto de la invención a las concentraciones deseadas durante 24 h. En cada placa, se incluyó una variable basal, un control positivo tert-butil hidroquinona (TBHQ) a 10 µM y las variables compuesto. Tras 24 h de incubación con los compuestos objeto de estudio, se midió la actividad luciferasa mediante un ensayo de bioluminiscencia, para lo que se usó el kit “*Luciferase assay system*” (Promega E1500). Para ello, los tratamientos fueron retirados y se añadieron 20 µL de un reactivo de lisis proporcionado por el kit comercial a cada uno de los pocillos. Tras 10 min de incubación, se registró la luminiscencia en un equipo FluoStar optima (BMG labtech) mediante la inyección de un reactivo de medida proporcionado por el kit, el cual contiene el sustrato necesario para la producción de luz por parte de la enzima luciferasa.

La medida de luminiscencia en unidades arbitrarias es directamente proporcional a la actividad de luciferasa en cada uno de los pocillos y ésta a la inducción del factor NRF2 por cada uno de los productos objeto de estudio. Las medidas se realizaron por duplicado y los valores fueron normalizados respecto a la luminiscencia de la condición basal en ausencia de compuesto tomando su valor de expresión de luciferasa como 1. Los resultados se expresan en forma de concentración a la cual se duplica la actividad luciferasa (CD), tomando las condiciones basales como referencia. Para su determinación se llevan a cabo curvas de concentración dosis-respuesta para cada compuesto objeto de la invención. Los resultados de inducción de NRF2 obtenidos para los compuestos objeto de la invención descritos como ejemplos 1 a 6 se muestran en la

**Tabla 1.** Los compuestos fueron en general inductores de potencia moderada en el rango micromolar bajo, exceptuando los ejemplos **5** y **6**, donde su elevado carácter electrófilo puede conducir a una inducción elevada que acaba siendo deletérea para la célula. Los compuestos mostraron valores de inducción en el rango de TBHQ, potente electrófilo e inductor de NRF2. Además, exhibieron una potencia superior a melatonina y rasagilina, compuestos de referencia. De esta forma, las nuevas estructuras incluyeron esta actividad no presente en los compuestos de referencia melatonina y rasagilina, y que se plantea como potencial diana de interés para el tratamiento de las enfermedades descritas.

#### **Tabla 1**

**Inducción del factor de transcripción NRF2 por los compuestos de la invención, y los compuestos de referencia TBHQ, rasagilina y melatonina. Los datos se muestran como la media del valor de la CD  $\pm$  error estándar de al menos tres experimentos por duplicado. NA: no activo**

| Compuesto  | CD Inducción NRF2 ( $\mu$ M) |
|------------|------------------------------|
| TBHQ       | 1,82 $\pm$ 0,092             |
| Rasagilina | NA                           |
| Melatonina | > 30                         |
| <b>1</b>   | 1,80 $\pm$ 0,28              |
| <b>2</b>   | 2,99 $\pm$ 0,26              |
| <b>3</b>   | 5,07 $\pm$ 0,23              |
| <b>4</b>   | 5,76 $\pm$ 0,075             |
| <b>5</b>   | NA                           |
| <b>6</b>   | NA                           |

#### **Ejemplo 8**

Medida de la capacidad de inhibición de enzimas monomino oxidasa A y B (MAO-A y MAO-B) por los compuestos objeto de la invención

La isoenzima MAO-B está implicada en numerosos mecanismos neuroprotectores y de control del estrés oxidativo. Las enzimas MAO son las encargadas de degradar la dopamina y otras aminas biogénicas mediante un proceso de desaminación oxidativa, por lo que su inhibición conduce a un aumento de los niveles de dopamina en la hendidura sináptica. De esta forma, los inhibidores de la MAO se utilizan en la clínica

para el tratamiento de la EP. La degradación de la dopamina por las enzimas MAO da lugar a una gran producción de radicales libres. Por tanto, su inhibición contribuye a disminuir el nivel de estrés oxidativo en la célula. Existen dos isoenzimas, MAO-A y MAO-B, ambas activas en la degradación de la dopamina. En general, los inhibidores de MAO-B se han mostrado más seguros y potencialmente efectivos en el tratamiento la EP.

Los ensayos de inhibición enzimática se realizaron en placas opacas negras de 96 pocillos en un volumen final de 200  $\mu$ L/pocillo. Los compuestos obtenidos se pre-incubaron con las enzimas humanas recombinantes MAO-A o MAO-B (0.36 U/mL o 0.135 U/mL, respectivamente) durante 30 min a 37°C en un volumen de 100  $\mu$ L. Después de la pre-incubación, se añadieron 100  $\mu$ L de una solución de partida para iniciar la reacción enzimática. La solución de partida se preparó en tampón fosfato de sodio 25 mM pH 7.4 conteniendo el sustrato de enzimas MAO tiramina (1 mM), peroxidasa de rábano (HRP) (0,04 U/mL) y Amplex UltraRed (25  $\mu$ M). Al final del primer período, se midió la producción de fluorescencia a 530/590 nm (ex/em) durante 30 min en un lector fluorescente FluoStar Optima. En el ensayo se utilizaron además clorgilina y rasagilina como controles positivos de inhibición selectiva de MAO-A y MAO-B, respectivamente.

Los resultados provienen de diferentes experimentos realizados como curvas de concentración para cada compuesto y los valores de inhibición se ajustaron a las curvas de dosis-respuesta para el cálculo de la IC<sub>50</sub> (concentración a la cual es capaz de inhibir la actividad de la enzima al 50%). Los resultados de inhibición de enzimas MAO-A y MAO-B obtenidos para los compuestos objeto de la invención descritos como ejemplos **1 a 6** se muestran en la **Tabla 2**. Los compuestos obtenidos fueron capaces de inhibir la enzima MAO-B con valores de IC<sub>50</sub> en el rango micromolar medio-bajo. Todos los compuestos evaluados mostraron selectividad para inhibir la isoenzima MAO-B con respecto a la forma A, postulándolos para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson al igual que el compuesto de referencia rasagilina. Melatonina, otro de los compuestos de referencia, no demostró actividad en este ensayo. En comparación con los compuestos de estructura similar descritos en la patente WO2016059269, los compuestos objeto de esta invención incorporan esta nueva actividad de inhibición selectiva de la enzima MAO-B. Dada la implicación de esta enzima en el metabolismo del neurotransmisor dopamina y el consiguiente estrés oxidativo que se produce, su inhibición constituye una diana potencialmente interesante para el tratamiento de la EP.

Además, el uso de inhibidores de esta enzima constituye actualmente el tratamiento sintomático de la enfermedad, por lo que su empleo se encuentra ampliamente validado. Mediante la incorporación de esta actividad a la ya descrita inducción de NRF2, con implicación en muchos de los mecanismos implicados en la EP como son también el

5 estrés oxidativo, control de la proteostasis y neuroinflamación, los nuevos compuestos suponen una alternativa interesante para el desarrollo de nuevas terapias multidiana que sean capaces de lidiar con la compleja red de eventos que tienen lugar en el avance y progresión de la EP.

## 10 **Tabla 2**

**Inhibición de enzimas MAO-A y MAO-B. Valores de IC<sub>50</sub> para la inhibición de MAO-A y MAO-B, calculados para los compuestos 1-6, los controles positivos clorgilina y rasagilina y el compuesto de referencia melatonina. Los datos se expresan como media  $\pm$  error estándar de 3-6 experimentos independientes. NE: no evaluado**

15

| Compuesto  | IC <sub>50</sub> MAO-B ( $\mu$ M) | IC <sub>50</sub> MAO-A ( $\mu$ M) |
|------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| Clorgilina | NE                                | 0,0090 $\pm$ 0,0017               |
| Rasagilina | 0,010 $\pm$ 0,0011                | NE                                |
| Melatonina | > 100                             | > 100                             |
| 1          | 3,00 $\pm$ 0,21                   | 43,8 $\pm$ 6,5                    |
| 2          | 3,03 $\pm$ 0,27                   | 59,1 $\pm$ 6,0                    |
| 3          | 17,0 $\pm$ 1,6                    | 56,58 $\pm$ 6,3                   |
| 4          | 28,1 $\pm$ 0,60                   | > 100                             |
| 5          | 50,0 $\pm$ 2,9                    | > 100                             |
| 6          | 13,9 $\pm$ 1,2                    | 81,9 $\pm$ 5,4                    |

## **Ejemplo 9**

Medida de la capacidad de captación de radicales de oxígeno por los compuestos objeto de la invención

20

Para estudiar la capacidad de captación de radicales libres debido a su estructura de los compuestos objeto de la invención se utilizó el ensayo de ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*). Los compuestos objeto de esta invención han sido diseñados como derivados de melatonina, compuesto natural con un potente efecto

25 secuestrador de radicales libres, además de un efecto antioxidante indirecto por

modulación de distintas rutas (Tan, D. X., R. J. Reiter, L. C. Manchester, M. T. Yan, M. El-Sawi, R. M. Sainz, J. C. Mayo, R. Kohen, M. Allegra y R. Hardeland "Chemical and physical properties and potential mechanisms: melatonin as a broad spectrum antioxidant and free radical scavenger." *Curr Top Med Chem* 2002, 2(2): 181-197). Tanto  
5 la melatonina sus metabolitos derivados son capaces de reducir el nivel de radicales libres mediante el proceso que se conoce como cascada antioxidante de la melatonina (Seegar, H., A. O. Mueck y T. H. Lippert "Effect of melatonin and metabolites on copper-mediated oxidation of low density lipoprotein." *Br J Clin Pharmacol* 1997. 44(3): 283-284; Tan, D. X., L. C. Manchester, R. J. Reiter, B. F. Plummer, J. Limson, S. T. Weintraub  
10 and W. Qi "Melatonin directly scavenges hydrogen peroxide: a potentially new metabolic pathway of melatonin biotransformation." *Free Radic Biol Med* 2000, 29(11): 1177-1185; y Burkhardt, S., R. J. Reiter, D. X. Tan, R. Hardeland, J. Cabrera and M. Karbownik "DNA oxidatively damaged by chromium(III) and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> is protected by the antioxidants melatonin, N(1)-acetyl-N(2)-formyl-5-methoxykynuramine, resveratrol and  
15 uric acid." *Int J Biochem Cell Biol* 2001, 33(8): 775-783). La capacidad antioxidante de sus metabolitos da lugar a una eficiencia mayor con respecto a otros antioxidantes.

El método de estudio de secuestradores de radicales libres mide la capacidad de captación del radical peróxido. Los resultados se expresan en forma de equivalentes de Trolox, utilizado como referencia en este estudio. El procedimiento experimental se  
20 basa en la medida de la extinción de radicales con el tiempo. El protocolo usado se basa en el desarrollado por Ou y col. (Ou, B., M. Hampsch-Woodill and R. L. Prior "Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe." *J Agric Food Chem* 2001, 49(10): 4619-4626) parcialmente modificado por Dávalos y col. (Davalos, A., C. Gomez-Cordoves y  
25 B. Bartolome "Extending applicability of the oxygen radical absorbance capacity (ORAC-fluorescein) assay." *J Agric Food Chem* 2004, 52(1): 48-54). La reacción se llevó a cabo en un tampón fosfato 75 mM (pH 7.4), con un volumen final de 200 µL. Se partió de una disolución de 150 µL de fluoresceína (concentración final 70 nM) con 25 µL del compuesto a estudiar a la concentración deseada por duplicado, en una placa de 96  
30 pocillos negra con fondo transparente para medidas de fluorescencia. Esta solución se pre-incubó durante 15 min a 37°C y, a continuación, se añadieron 25 µL una solución de dicloruro de 2,2-Azobis(amidopropano) (AAPH) (concentración final 12 mM). Se midió la producción de fluorescencia a 485/520 nm (ex/em) durante 90 min en un lector fluorescente FluoStar Optima. En el ensayo se incluyó un blanco sin compuesto a  
35 estudiar y una curva de calibración del compuesto de referencia Trolox (1-8 µM). Todas

las variables se evaluaron por duplicado en al menos 3 ensayos independientes para cada compuesto. Para cada una de las curvas de intensidad de fluorescencia con respecto al tiempo se calculó el área bajo la curva (AUC) del decaimiento de fluorescencia observado. El valor de AUC neto correspondiente a cada uno de los compuestos se calculó substrayendo el valor correspondiente de AUC del blanco. Los resultados en forma de equivalentes de Trolox se calcularon mediante el ajuste lineal de AUC en función de la concentración para cada compuesto y posterior normalización con respecto a los datos del Trolox. Los resultados de captación de radicales de oxígeno mediante el ensayo ORAC para los compuestos objeto de la invención descritos como ejemplos **1** a **6** se muestran en la **Tabla 3**. Los compuestos objeto de la invención, a excepción de los compuestos **1** y **2**, mostraron una capacidad secuestradora de radicales de oxígeno superior a Trolox, antioxidante análogo de vitamina E y utilizado como control en este ensayo. Además, en general los compuestos obtenidos exhibieron una capacidad similar a melatonina, conocido antioxidante y compuesto de referencia. Todos ellos demostraron valores de ORAC superiores a rasagilina. En este sentido, los compuestos objetos de la invención, que son diseñados como derivados de melatonina, fueron capaces de mantener los valores de captación de radicales evaluados mediante este ensayo.

### 20 **Tabla 3**

**Medida de captación de radicales libres por los compuestos de la invención, y el compuesto de referencia melatonina. Los datos se muestran como la media  $\pm$  E.E. de al menos tres experimentos por duplicado.**

| Compuesto         | ORAC (Eq. de Trolox) |
|-------------------|----------------------|
| <b>Rasagilina</b> | 0,04 $\pm$ 0,02      |
| <b>Melatonina</b> | 2,83 $\pm$ 0,18      |
| <b>1</b>          | 0,54 $\pm$ 0,07      |
| <b>2</b>          | 0,13 $\pm$ 0,01      |
| <b>3</b>          | 1,98 $\pm$ 0,15      |
| <b>4</b>          | 1,74 $\pm$ 0,10      |
| <b>5</b>          | 2,27 $\pm$ 0,08      |
| <b>6</b>          | 1,42 $\pm$ 0,13      |

25

**Ejemplo 10**Estudio de la capacidad neuroprotectora de los compuestos objeto de la invención frente a modelos de toxicidad inducida por estrés oxidativo5 Cultivo de células de neuroblastoma SH-SY5Y

Las células se cultivaron en un medio con una mezcla de nutrientes F12K (Sigma) y MEM (GIBCO, Madrid), suplementados con piruvato sódico 1 mM, penicilina/estreptomicina 0.5% v/v, aminoácidos no esenciales (5 mL/L), NaHCO<sub>3</sub> (2 g/L) y SBF al 10%. Las células se cultivaron en frascos de cultivo y se incubaron a 37°C,  
 10 95% de humedad y 5% de atmósfera de CO<sub>2</sub>. Para los experimentos, las células se cultivaron en placas de 96 pocillos a una densidad de 8x10<sup>4</sup> células /pocillo. El porcentaje de SBF se redujo al 1% en las co-incubaciones con los tóxicos.

Medida de la viabilidad celular: 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol (MTT)

15 Como medida de viabilidad celular se utilizó el ensayo basado en la reducción metabólica del bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol (MTT). Este ensayo colorimétrico se basa en la reducción del. La reducción del MTT es realizada por la enzima mitocondrial succinato-deshidrogenasa en células metabólicamente activas, dando lugar una sal de formazán violeta que precipita y permite la medida tras su  
 20 disolución en DMSO. La cantidad de células metabólicamente activas es así proporcional a la cantidad de sales de formazán formadas (Mosmann, T. "Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays." J Immunol Methods 1983, 65(1-2): 55-63). Para determinar la viabilidad celular en células SH-SY5Y, se añaden 10 µl/pocillo de MTT (5 mg/mL) y, tras  
 25 2 h, el medio es retirado sin perder los cristales de formazán que se diluyen en 100 µL de DMSO. Posteriormente, se mide la absorbancia de las muestras a 570 nm en un lector de absorbancia/fluorescencia FluoStar Optima considerando las condiciones basales en ausencia de tóxico y compuestos como 100% de viabilidad.

30 Propiedades neuroprotectoras de los compuestos objeto de esta invención 1-6

La activación de la vía NRF2-ARE por los compuestos ejerce un efecto neuroprotector frente a modelos de estrés oxidativo. Esto está vinculado al control ejercido por este factor de transcripción sobre un amplio grupo de enzimas implicadas en mecanismos antioxidantes. El factor de transcripción NRF2 presenta un perfil multidina por sí mismo,  
 35 con implicación en mecanismos relacionados con el estrés oxidativo, inflamación y

proteostasis, por ello se trata de una diana con potenciales efectos neuroprotectores. En esta línea, estudiamos la capacidad neuroprotectora de los compuestos objeto de esta invención en modelos *in vitro* de citotoxicidad inducida por estrés oxidativo. Se evaluó el efecto neuroprotector de los compuestos en células de neuroblastoma humano de la línea celular SH-SY5Y, concretamente el potencial neuroprotector de estos compuestos frente al estrés oxidativo y toxicidad derivada producidos por 1) la combinación de los tóxicos rotenona y oligomicina A, bloqueantes de la cadena respiratoria de la mitocondria según se describe en (Halliwell, B. "Reactive oxygen species and the central nervous system." J Neurochem 1992, 59(5): 1609-1623), y (2) la toxicidad inducida por el tóxico 6-hidroxidopamina (6-OHDA), que genera directamente estrés oxidativo por su oxidación a su forma de quinona, lo cual a su vez induce el agotamiento de GSH y la producción de ROS. Además, 6-OHDA disminuye la actividad del complejo I de la cadena respiratoria mitocondrial, de forma análoga a la rotenona (Glinka, Y., M. Gassen y M. B. Youdim. "Mechanism of 6-hydroxydopamine neurotoxicity." J Neural Transm Suppl 1997, 50: 55-66).

1) **Ejemplo 10a:** Neuroprotección frente a estrés oxidativo inducido por la combinación de rotenona (30  $\mu$ M) y oligomicina (10  $\mu$ M):

En este modelo, se realizó una pre-incubación de 24 h con los compuestos a una concentración de 0,1  $\mu$ M y una co-incubación de 24 h de estos en presencia rotenona/oligomicina A (30  $\mu$ M/10  $\mu$ M). Transcurridas 24h, la viabilidad celular fue evaluada mediante el ensayo de MTT. Con este protocolo, se obtiene información sobre todas las potenciales actividades biológicas presentes en la estructura objeto de estudio. Al estar presente el fármaco durante las 24 horas previas a la incubación del tóxico, éste es capaz de mostrar su capacidad inductora del factor NRF2 favoreciendo así la supervivencia celular. Además, también está presente a la vez que exponemos las células al estímulo tóxico, la mezcla de rotenona/oligomicina A, que provoca la aparición de una gran cantidad de radicales libres en el interior celular. Estos radicales dañan la célula e inducen la apoptosis celular. Durante esta etapa el compuesto es capaz de mostrar además su capacidad secuestradora de radicales libres. Los porcentajes de supervivencia y protección se resumen en la **Tabla 4**. En relación con la implicación del estrés oxidativo en la aparición y progresión de le EP, la combinación de tóxicos rotenona/oligomicina A es capaz de reproducir algunas de las características de la enfermedad. De esta manera, la protección ofrecida por los compuestos en este modelo

en células de neuroblastoma humano refuerza su potencial terapéutico para la EP. Los compuestos objeto de la invención exhibieron porcentajes de protección superiores en todos los casos a los compuestos de referencia rasagilina y melatonina.

#### 5 **Tabla 4**

**Porcentaje de neuroprotección producido por los compuestos de la invención, rasagilina y melatonina, a la concentración de 0,1  $\mu$ M. Los datos se expresan como la media  $\pm$  error estándar de al menos tres experimentos por duplicado.**

| Compuesto         | Rot/Olig (30/10 $\mu$ M) Pre y co-incubación |              |
|-------------------|----------------------------------------------|--------------|
|                   | % Supervivencia                              | % Protección |
| <b>Basal</b>      | 100,00                                       |              |
| <b>Rote/Olig</b>  | 58,94 $\pm$ 4,73                             |              |
| <b>Rasagilina</b> | 69,98 $\pm$ 6,26                             | 28,9*        |
| <b>Melatonina</b> | 68,47 $\pm$ 3,68                             | 22,3**       |
| <b>1</b>          | 72,56 $\pm$ 5,56                             | 55,3***      |
| <b>2</b>          | 83,44 $\pm$ 6,44                             | 62,9***      |
| <b>3</b>          | 79,84 $\pm$ 6,24                             | 53,3**       |
| <b>4</b>          | 73,96 $\pm$ 5,17                             | 36,4*        |
| <b>5</b>          | 79,07 $\pm$ 7,95                             | 49,3*        |
| <b>6</b>          | 72,51 $\pm$ 3,89                             | 32,1*        |

10

#### 2) **Ejemplo 10b:** Neuroprotección frente a estrés oxidativo inducido por 6-hidroxidopamina:

Los estudios de neuroprotección frente a 6-OHDA han sido diseñados, de igual forma que en el caso anterior, con pre- y co-incubación. Las células de neuroblastoma humano SH-SY5Y fueron pre-incubadas con cada uno de los compuestos a la concentración de 0,1  $\mu$ M durante 24 h, transcurridas las cuales el medio fue sustituido por medio fresco con 6-OHDA a la concentración de 100  $\mu$ M y cada uno de los compuestos (0,1  $\mu$ M) durante 24 h más. Finalmente, la viabilidad celular fue medida mediante el ensayo de MTT. Al igual que en el ejemplo anterior, la presencia de los compuestos 24h antes a la incubación con el tóxico permite la activación de distintas rutas de neuroprotección. El tóxico 6-OHDA también resulta en la producción de gran cantidad de especies reactivas. La co-incubación con los compuestos objeto de esta invención permite que se ejerza su

15

20

efecto secuestrador de radicales libres, además de sus otras propiedades importantes para el efecto final. Los porcentajes de supervivencia y protección se resumen en la **Tabla 5**. El tóxico 6-OHDA se trata de un compuesto empleado con frecuencia en cribados *in vitro* orientados a la EP, dada su selectividad para la destrucción selectiva de neuronas dopaminérgicas, que se observa en la enfermedad. Este compuesto emplea el transportador de dopamina para afectar selectivamente a estas neuronas. En el modelo empleado en este trabajo, las células de neuroblastoma SH-SY5Y presentan dicho transportador y por ello son susceptibles a la muerte provocada por la toxina. Los compuestos objeto de la invención mostraron en general elevados porcentajes de neuroprotección, siendo capaces de revertir el efecto tóxico de la 6-OHDA, con excepción de los compuestos **1** y **2**.

**Tabla 5**

**Porcentaje de neuroprotección producido por los compuestos de la invención, rasagilina y melatonina, a la concentración de 0,1  $\mu$ M. Los datos se expresan como la media  $\pm$  error estándar de al menos tres experimentos por duplicado. NA: no activo**

| Compuesto         | 6-OHDA (100 $\mu$ M) Pre y co-incubación |              |
|-------------------|------------------------------------------|--------------|
|                   | % Supervivencia                          | % Protección |
| <b>Basal</b>      | 100                                      |              |
| <b>6-OHDA</b>     | 68,41 $\pm$ 4,95                         |              |
| <b>Rasagilina</b> | 92,36 $\pm$ 5,40                         | 77,0***      |
| <b>Melatonina</b> | 96,97 $\pm$ 4,75                         | 88,8**       |
| <b>1</b>          | 48,38 $\pm$ 3,48                         | NA           |
| <b>2</b>          | 48,54 $\pm$ 4,66                         | NA           |
| <b>3</b>          | 90,33 $\pm$ 4,16                         | 71,7**       |
| <b>4</b>          | 81,42 $\pm$ 4,60                         | 41,5*        |
| <b>5</b>          | 94,69 $\pm$ 5,81                         | 75,5**       |
| <b>6</b>          | 80,10 $\pm$ 4,75                         | 37,6*        |

20

### **Ejemplo 11**

#### Toxicidad celular de los compuestos objeto de esta invención

Con objeto de estudiar su perfil de seguridad más a fondo, también se evaluó su efecto sobre las células usadas para los experimentos de inducción de NRF2 y neuroprotección, las líneas celulares AREc32 y SH-SY5Y, respectivamente. Los métodos de mantenimiento y cultivo de estas líneas celulares han sido descritos anteriormente. Para los experimentos de toxicidad, las células AREc32 y SH-SY5Y fueron cultivadas en placas de 96 pocillos a la densidad de  $2 \times 10^4$  y  $6 \times 10^4$  células/pocillo. Tras 24 h, el medio de mantenimiento se retiró y se sustituyó por 100  $\mu$ L de la correspondiente disolución de los compuestos objeto de la invención en medio de cultivo a las concentraciones deseadas. Los compuestos fueron estudiados por duplicado y las condiciones basales en ausencia de compuesto se consideraron como 100% de viabilidad. Tras 24 h de incubación con los tratamientos, la supervivencia fue evaluada mediante el ensayo de MTT.

Los resultados obtenidos se muestran en la **Tabla 6** expresados en forma de dosis letal 50 ( $DL_{50}$ ), o concentración necesaria para reducir un 50% la viabilidad de las condiciones basales.

**Tabla 6**

**$DL_{50}$  de los compuestos de la invención, medida como reducción de la viabilidad celular en la línea de neuroblastoma SH-SY5Y y la línea AREc32 de células MCF7 transfectadas de forma estable con el plásmido ARE-LUC. Los datos se expresan como la media  $\pm$  error estándar de al menos 3 experimentos por duplicado.**

| Compuesto  | SH-SY5Y<br>$DL_{50}$ ( $\mu$ M) | AREc32<br>$DL_{50}$ ( $\mu$ M) |
|------------|---------------------------------|--------------------------------|
| Rasagilina | > 10                            | > 30                           |
| Melatonina | > 100                           | > 30                           |
| 1          | $16,4 \pm 2,32$                 | $7,83 \pm 1,2$                 |
| 2          | $11,6 \pm 0,90$                 | $11,1 \pm 2,0$                 |
| 3          | $66,5 \pm 9,8$                  | > 30                           |
| 4          | $48,3 \pm 6,6$                  | > 30                           |
| 5          | $9,06 \pm 0,31$                 | < 1                            |
| 6          | $6,87 \pm 1,3$                  | < 1                            |

**Ejemplo 12**Medida de la permeabilidad para el paso de barrera hematoencefálica mediante el ensayo de PAMPA

- 5 La predicción de la capacidad de los compuestos para cruzar la barrera hematoencefálica por difusión pasiva se evaluó utilizando un ensayo de permeabilidad de membrana artificial paralela (PAMPA), de manera similar a la descrita anteriormente (Di, L., E. H. Kerns, K. Fan, O. J. McConnell y G. T. Carter "High throughput artificial membrane permeability assay for blood-brain barrier." Eur J Med Chem 2003, 38(3):
- 10 223-232). La permeabilidad efectiva de los compuestos se midió por duplicado a una concentración inicial de 100  $\mu\text{M}$ . Los compuestos objeto de esta invención se disolvieron en tampón salino tamponado con fosfato (PBS) 10 mM (pH 7,4) hasta la concentración deseada en el pocillo donante (membrana de PDVF de placa transparente estéril Multiscreen IP, tamaño de poro 0,45  $\mu\text{m}$ ). La placa aceptora de 96 pocillos (Multiscreen,
- 15 Millipore Corp.) se llenó con 180  $\mu\text{L}$  de PBS (VA). La membrana del filtro de la placa de 96 pocillos del donante se cargó con 4  $\mu\text{L}$  de lípido de cerebro porcino (PBL) (Avanti Polar Lipids, Inc) disuelto en dodecano (20 mg/mL), y tras 5 min, se añadieron 180  $\mu\text{L}$  de cada solución de compuesto para determinar su capacidad para atravesar la barrera cerebral (VD). La placa de filtro donante se colocó cuidadosamente sobre la placa
- 20 aceptora para formar un "sándwich", que se incubó durante 4 h a temperatura ambiente. Después de la incubación, se retiró cuidadosamente la placa donante y se registró el espectro de absorción para cada compuesto, tanto en la placa aceptora como en la placa donadora. La concentración de los compuestos en el pocillo donante y aceptor y la concentración de equilibrio se calcularon a partir de la curva estándar y se expresaron
- 25 como la permeabilidad ( $P_e$ ) de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\log P_e = \log \left\{ C \times -\ln \left( 1 - \frac{[\text{Compuesto}]_{\text{aceptor}}}{[\text{Compuesto}]_{\text{equilibrio}}} \right) \right\}$$

$$\text{donde } C = \left( \frac{V_D \times V_A}{(V_D + V_A) \times \text{Área} \times \text{Tiempo}} \right)$$

- Los resultados se expresan como media  $\pm$  error estándar de tres experimentos diferentes por duplicado. Valores de  $P_e$  ( $10^{-6} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ ) superiores a 4 se predicen como
- 30 positivos para el paso de barrera hematoencefálica (CNS +), un valor ampliamente aceptado que marca el límite de la difusión pasiva (Di, L., E. H. Kerns, K. Fan, O. J. McConnell y G. T. Carter "High throughput artificial membrane permeability assay for

blood-brain barrier." Eur J Med Chem 2003, 38(3): 223-232). Valores entre 2 y 4 se describen como dudosos y valores inferiores a 2 implican una predicción de baja permeabilidad para atravesar la barrera hematoencefálica (Crivori, P., G. Cruciani, P. A. Carrupt y B. Testa "Predicting blood-brain barrier permeation from three-dimensional molecular structure." J Med Chem 2000, 43(11): 2204-2216). Los compuestos de la invención mostraron en general una predicción positiva para el paso de barrera hematoencefálica por difusión pasiva evaluado mediante el ensayo de PAMPA (tabla 7). En este sentido, se trata de una propiedad capital para el potencial tratamiento de enfermedades neurodegenerativas como la EP.

10

**Tabla 7**

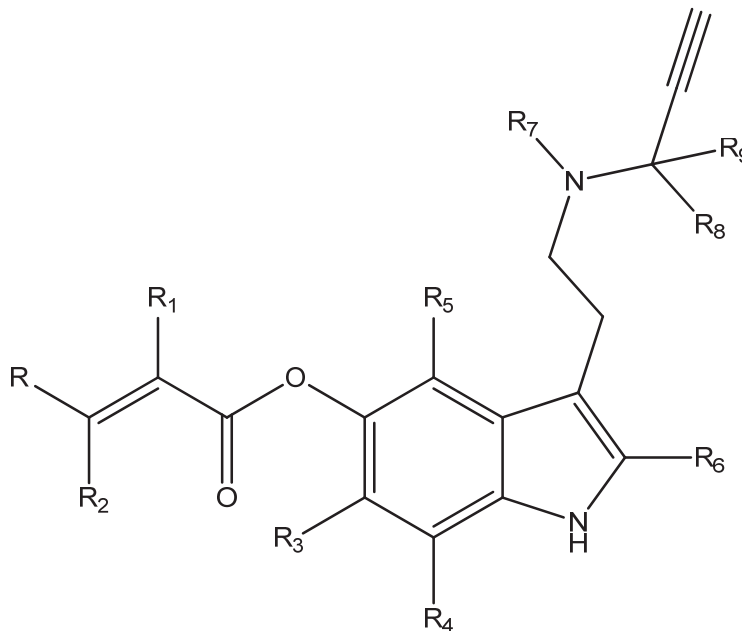
**Permeabilidad ( $P_e$ ) para el paso de barrera hematoencefálica por difusión pasiva para los compuestos de la invención evaluada mediante el ensayo de PAMPA. Los datos se expresan como la media  $\pm$  error estándar de al menos 3 experimentos por duplicado.**

15

| Compuesto | PAMPA<br>$P_e (10^{-6} \cdot \text{cm} \cdot \text{s}^{-1})$ |
|-----------|--------------------------------------------------------------|
| 1         | <b>CNS +</b><br>$P_e = 5,08 \pm 1,7$                         |
| 2         | <b>CNS –</b><br>$P_e = 1,88 \pm 0,48$                        |
| 3         | <b>CNS +</b><br>$P_e = 4,15 \pm 1,8$                         |
| 4         | <b>CNS +</b><br>$P_e = 4,46 \pm 1,9$                         |
| 5         | <b>CNS +/-</b><br>$P_e = 3,12 \pm 1,2$                       |
| 6         | <b>CNS +/-</b><br>$P_e = 2,04 \pm 3,2$                       |

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I)



(I)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde:

R representa un grupo alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), fenilo, 2-piridilo, 3-piridilo, 4-piridilo, 3-piridazinilo, 4-piridazinilo, 2-pirimidinilo, 4-pirimidinilo, 5-pirimidinilo, 2-pirazinilo, 3-pirazinilo, 2-pirrolilo, 3-pirrolilo, 2-furilo, 3-furilo, 2-tienilo, 3-tienilo, 2-oxazolilo, 4-oxazolilo, 5-oxazolilo, 2-tiazolilo, 4-tiazolilo, 5-tiazolilo, 3-isoxazolilo, 4-isoxazolilo, 5-isoxazolilo, 3-isotiazolilo, 4-isotiazolilo, 5-isotiazolilo, 2-imidazolilo, 4-imidazolilo, 3-pirazolilo, 4-pirazolilo, 1,2,3-oxadiazol-4-ilo, 1,2,3-oxadiazol-5-ilo, 1,2,4-oxadiazol-3-ilo, 1,2,4-oxadiazol-5-ilo, 1,2,5-oxadiazol-3-ilo, 1,3,4-oxadiazol-2-ilo, 1,2,3-tiadiazol-4-ilo, 1,2,3-tiadiazol-5-ilo, 1,2,4-tiadiazol-3-ilo, 1,2,4-tiadiazol-5-ilo, 1,2,5-tiadiazol-3-ilo, 1,3,4-tiadiazol-2-ilo, 1,2,3-triazol-4-ilo, 1,2,4-triazol-3-ilo o 5-tetrazolilo, donde R está opcionalmente sustituido por de uno a tres grupos R'; cada grupo R' independientemente representa halógeno; alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), cicloalquilo(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>); alcoxilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>); cicloalcoxilo(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>), -CN o -NO<sub>2</sub>; cada grupo R<sub>1</sub> a R<sub>5</sub> independientemente representan hidrógeno, alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), cicloalquilo(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>) o fenilo, donde cada R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> independientemente están opcionalmente sustituidos por de uno a tres grupos R''; cada R'' independientemente representan halógeno, alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), alcoxilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), cicloalquilo(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>), cicloalcoxilo(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>), -CN, -NO<sub>2</sub> o carboxilato(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>);

R<sub>6</sub> representa hidrógeno, alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), cicloalquilo(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>) o fenilo, donde R<sub>6</sub> está opcionalmente sustituido por de uno a tres grupos R''';

cada R''' independientemente representan halógeno, alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), alcoxilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), cicloalquilo(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>), cicloalcoxilo(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>), -CN o -NO<sub>2</sub>;

5 R<sub>7</sub> representa hidrógeno o 1-propinilo; donde R<sub>7</sub> está opcionalmente sustituido por de uno a tres grupos R<sup>iv</sup>;

cada R<sup>iv</sup> independientemente representa halógeno, alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), alcoxilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), cicloalquilo(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>), cicloalcoxilo(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>), -CN o -NO<sub>2</sub>;

10 cada R<sub>8</sub> y R<sub>9</sub> independientemente representan hidrógeno, alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), cicloalquilo(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>), propinilo, acetilo o fenilo, y opcionalmente un R<sub>8</sub> y R<sub>9</sub> están unidos formando un grupo =O.

2. El compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1, donde R representa fenilo opcionalmente sustituido por un grupo R'.

15

3. El compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, donde R' representa alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>).

4. El compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, donde:  
20 R representa fenilo; o  
R representa fenilo sustituido por un grupo R', y R' es alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>).

5. El compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde R<sub>1</sub> es hidrógeno.

25

6. El compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde R<sub>2</sub> es hidrógeno.

7. El compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde  
30 R<sub>3</sub> es hidrógeno.

8. El compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde R<sub>4</sub> es hidrógeno.

35 9. El compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, donde

R<sub>5</sub> es hidrógeno.

10. El compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, donde R<sub>6</sub> es hidrógeno.

5

11. El compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, donde R<sub>7</sub> es hidrógeno o 1-propinilo.

12. El compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, donde R<sub>8</sub> es hidrógeno.

10

13. El compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, donde R<sub>9</sub> es hidrógeno.

15

14. El compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, donde R<sub>8</sub> y R<sub>9</sub> están unidos formando un grupo =O.

15. El compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1, seleccionado de:

Cinamato de 3-(2-(prop-2-in-1-ilamino)etil)-1H-indol-5-ilo;

20

Acrilato de 3-(2-(prop-2-in-1-ilamino)etil)-1H-indol-5-il (E)-3-(p-tolilo);

Cinamato de 3-(2-(di(prop-2-in-1-il)amino)etil)-1H-indol-5-ilo;

Acrilato de 3-(2-(di(prop-2-in-1-il)amino)etil)-1H-indol-5-il-(E)-3-(p-tolilo);

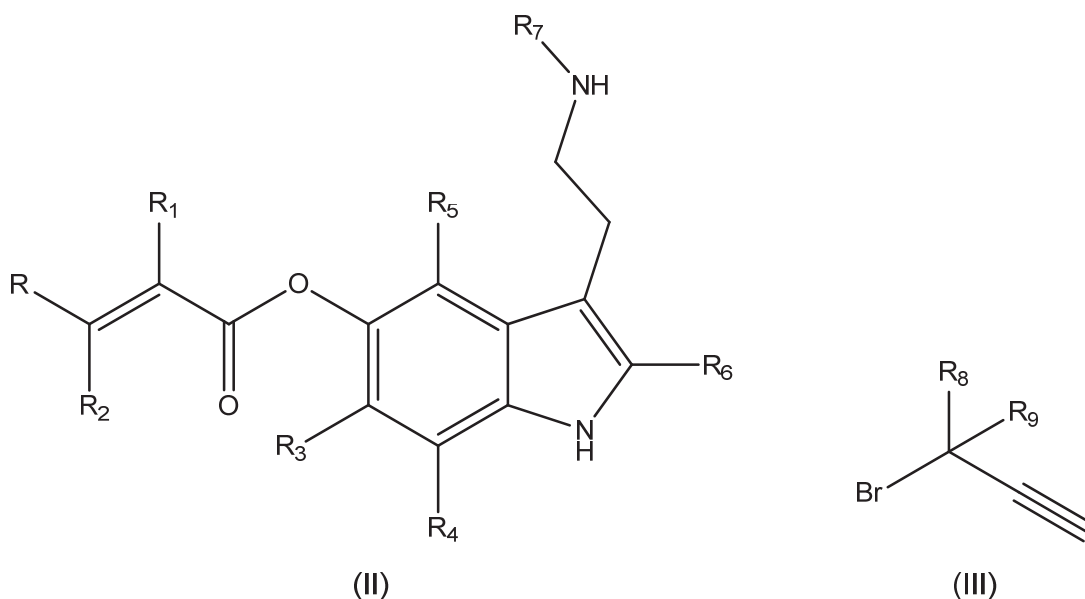
Cinamato de 3-(2-propiolamidoetil)-1H-indol-5-ilo; y

Acrilato de 3-(2-propiolamidoetil)-1H-indol-5-il-(E)-3-(p-tolilo).

25

16. Un procedimiento para la obtención de un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, que comprende la siguiente etapa:

i) la reacción entre un compuesto de fórmula (II) y el bromuro del derivado de propargilo de fórmula (III):



donde R y R<sub>1</sub> a R<sub>9</sub>, tienen el significado definido para un compuesto de fórmula (I);  
o

ii) la reacción entre un compuesto de fórmula (II) y ácido 2-propinoico.

5

17. El procedimiento según la reivindicación 16, donde:

la reacción se lleva a cabo en presencia del catalizador N,N'-diciclohexilcarbodiimida (DCC);

utilizando un disolvente seleccionado de entre acetonitrilo, diclorometano, 1,2-

10

dicloroetano, cloroformo y sus mezclas; y

en presencia de trietilamina como promotor.

18. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

15

19. Un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15 o una composición farmacéutica del mismo según la reivindicación 18, para su uso como medicamento.

20

20. El compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15 o una composición farmacéutica del mismo según la reivindicación 18, para su uso en el tratamiento y/o prevención de enfermedades neurodegenerativas.

21. El compuesto de fórmula (I) para el uso según reivindicación 20, donde la enfermedad neurodegenerativa es la enfermedad de Parkinson (EP).
- 5 22. El compuesto de fórmula (I) para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 21 a 22, caracterizado por que se administra en dosis diarias comprendidas entre 0,1 y 500 mg.
- 10 23. El compuesto de fórmula (I) para el uso según la reivindicación 22, caracterizado por que se administra en dosis diarias comprendidas entre 25 mg y 250 mg.



- ②① N.º solicitud: 202230025  
②② Fecha de presentación de la solicitud: 14.01.2022  
③② Fecha de prioridad:

## INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤① Int. cl.: Ver Hoja Adicional

### DOCUMENTOS RELEVANTES

| Categoría                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | ⑤⑥ Documentos citados                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Reivindicaciones afectadas |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|
| A                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | WO 2016059269 A1 (FUNDACION PARA LA INVESTIGACION BIOMEDICA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE LA PRINCESA et al.) 21/04/2016, reivindicaciones 1-18, ejemplos 1-20.                                                                                                                                                                                              | 1-23                       |
| A                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | IZASKUN BUENDIA et al. "New melatonin-cinnamate hybrids as multi-target drugs for neurodegenerative diseases: Nrf2-induction, antioxidant effect and neuroprotection". Future Medicinal Chemistry, 20151001 Future Science Ltd, GB. , 01/10/2015, Vol. 7, Páginas 1961 - 1969, ISSN 1756-8919, <DOI: doi:10.4155/fmc.15.99>. Ver resumen, páginas 1962-1966. | 1-23                       |
| <p>Categoría de los documentos citados<br/>X: de particular relevancia<br/>Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría<br/>A: refleja el estado de la técnica</p> <p>O: referido a divulgación no escrita<br/>P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud<br/>E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud</p> |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                            |
| <p><b>El presente informe ha sido realizado</b><br/><input checked="" type="checkbox"/> para todas las reivindicaciones<br/><input type="checkbox"/> para las reivindicaciones nº:</p>                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                            |
| Fecha de realización del informe<br>03.10.2022                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | Examinador<br>N. Martín Laso                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | Página<br>1/2              |

## CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

**C07D209/16** (2006.01)**A61K31/403** (2006.01)**A61P25/28** (2006.01)

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

C07D, 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, TXT-DB, NPL, XPESP, BIOSIS, CAS