

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 975 235**

51 Int. Cl.:

<b>A61K 31/4166</b>	(2006.01)	<b>C07D 403/10</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/4168</b>	(2006.01)	<b>A61P 9/00</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/4439</b>	(2006.01)	<b>A61P 25/00</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/46</b>	(2006.01)	<b>A61P 25/02</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/506</b>	(2006.01)	<b>A61P 25/28</b>	(2006.01)
<b>C07D 233/70</b>	(2006.01)	<b>A61P 27/02</b>	(2006.01)
<b>C07D 233/76</b>	(2006.01)	<b>A61P 43/00</b>	(2006.01)
<b>C07D 233/88</b>	(2006.01)		
<b>C07D 401/04</b>	(2006.01)		
<b>C07D 401/10</b>	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.02.2014** **E 19199279 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.04.2024** **EP 3653609**

54 Título: **Hidantoínas que modulan el procesamiento de APP mediado por BACE**

30 Prioridad:

**12.02.2013 US 201361763830 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**04.07.2024**

73 Titular/es:

**BUCK INSTITUTE FOR RESEARCH ON AGING  
(100.0%)  
8001 Redwood Boulevard  
Novato, CA 94945, US**

72 Inventor/es:

**JOHN, VARGHESE y  
BREDESEN, DALE E.**

74 Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

ES 2 975 235 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Hidantoínas que modulan el procesamiento de APP mediado por BACE

## 5 Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

Esta solicitud reivindica el beneficio y la prioridad de USSN 61/763.830, presentada el 12 de febrero de 2013.

## DECLARACIÓN DE APOYO GUBERNAMENTAL

10

[No aplicable]

## Antecedentes

15 El péptido beta amiloide (A $\beta$ ) es un componente primario de las fibrillas y placas beta amiloides, de las que se considera que desempeñan un papel en un número creciente de patologías. Los ejemplos de tales patologías incluyen, pero sin limitación, enfermedad de Alzheimer, síndrome de Down, enfermedad de Parkinson, pérdida de memoria (incluyendo pérdida de memoria asociada con la enfermedad de Alzheimer y enfermedad de Parkinson), síntomas de déficit de atención (incluyendo síntomas de déficit de atención asociados con la enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson y síndrome de Down), demencia (incluyendo demencia presenil, demencia senil, demencia asociada con la enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson y síndrome de Down), parálisis supranuclear progresiva, degeneración basal cortical, neurodegeneración, deterioro olfativo (incluyendo deterioro olfativo asociado con la enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson y síndrome de Down), angiopatía  $\beta$ -amiloide (incluyendo angiopatía amiloide cerebral), hemorragia cerebral hereditaria, deterioro cognitivo leve ("DCL"), glaucoma, amiloidosis, diabetes de tipo II, hemodiálisis (microglobulinas  $\beta$ 2 y complicaciones derivadas de las mismas), enfermedades neurodegenerativas tales como tembladera de las ovejas, encefalitis espongiforme bovina, enfermedad de Creutzfeldt Jakob, lesión cerebral traumática y similares.

30 Los péptidos A $\beta$  son péptidos cortos que se producen mediante proteólisis de la proteína transmembrana llamada proteína precursora amiloide ("APP" (por sus siglas en inglés)). Los péptidos A $\beta$  se obtienen a partir de la escisión de APP por la actividad de la  $\beta$ -secretasa en una posición cerca del extremo N de A $\beta$ , y por la actividad de la gamma secretasa en una posición cerca del extremo C de A $\beta$ . (La APP también se escinde por la actividad de la  $\alpha$ -secretasa, lo que da como resultado el fragmento secretado no amiloidogénico conocido como APP $\alpha$  soluble). La enzima de escisión de APP del sitio beta ("BACE-1") se considera la principal proteasa de aspartilo responsable de la producción de A $\beta$  por la actividad de la  $\beta$ -secretasa. Se ha demostrado que la inhibición de BACE-1 inhibe la producción de A $\beta$ .

40 Se estima que la enfermedad de Alzheimer (EA) afecta a más de 20 millones de personas en todo el mundo y se cree que es la causa más común de demencia. A medida que la población mundial envejece, el número de personas con enfermedad de Alzheimer (EA, actualmente aproximadamente 5,4 millones en los Estados Unidos), continuará aumentando. La enfermedad de Alzheimer es una enfermedad neurodegenerativa asociada con la demencia progresiva y la pérdida de memoria. Dos características clave de la EA son acumulación de depósitos extracelulares que contienen péptido A $\beta$  agregado y pérdida sináptica neuronal en la EA en regiones cerebrales específicas. Aunque la patogénesis de la EA es compleja, la evidencia genética y bioquímica convincente sugiere que la sobreproducción de A $\beta$  o la falta de eliminación de este péptido es el primer acontecimiento en la cascada amiloide que conduce a la EA principalmente a través del depósito de amiloide, que se supone que participa en la formación de ovillos neurofibrilares, la disfunción neuronal y la activación de la microglías, que caracterizan los tejidos cerebrales afectados por la EA.

50 La acumulación de A $\beta$  se considera el primer acontecimiento en una cascada compleja que conduce a la neurodegeneración, según se desprende de la evidencia genética y bioquímica convincente. La hipótesis de la cascada amiloide (Hardy y Allsop (1991) *Trends Pharmacol. Sci.*, 12: 383-388; Selkoe (1996) *J. Biol. Chem.*, 271: 18295-18298; Hardy (1997) *Trends Neurosci.*, 20: 154-159; Hardy y Selkoe (2002) *Science*, 297: 353-356) afirma que la sobreproducción de A $\beta$ , o la incapacidad de eliminar este péptido, conduce a la EA, principalmente a través del depósito de amiloide, que se supone que participa en la formación de ovillos neurofibrilares, la disfunción neuronal y la activación de la microglías, que son características de los tejidos cerebrales afectados por la EA (Busciglio et al. (1995) *Neuron*, 14: 879-888; Gotz et al. (1995) *EMBO J.*, 14: 1304-1313; Lewis et al. (2001) *Science*, 293: 1487-1491; Hardy et al. (1985) *Nat Neurosci.*, 1: 355-358).

60 Teniendo en cuenta el papel causal de A $\beta$  en la etiología de la EA, se han sugerido novedosas estrategias terapéuticas que reducen los niveles de A $\beta$  o evitan la formación de las especies neurotóxicas de A $\beta$  como un método para prevenir o retrasar la progresión de la enfermedad. De hecho, el enfoque principal durante la última década ha sido inhibir la producción y agregación de A $\beta$  cerebral, aumentar el aclaramiento de A $\beta$  parenquimatoso e interferir con la muerte celular inducida por A $\beta$ .

65 La escisión secuencial de APP por las proteasas unidas a membrana  $\beta$ -secretasa y  $\gamma$ -secretasa da como resultado la formación de A $\beta$ . Una ruta proteolítica competitiva hacia la ruta de la  $\beta$ -secretasa, la ruta  $\alpha$ -secretasa, da como

resultado la escisión de la APP dentro del dominio A $\beta$ , lo que impide la generación de A $\beta$  (Selkoe (2001) *Physiol. Rev.*, 81: 741-766; Hussain *et al.* (1999) *Mol. Cell. Neurosci.*, 14: 419-427; Sinha *et al.* (1999) *Nature*, 402: 537-540; Vassar *et al.* (1999) *Science*, 286: 735-741). La enzima de escisión de APP del sitio  $\beta$  1 (BACE1) se identificó como la actividad principal de  $\beta$ -secretasa que media en la primera escisión de APP en la ruta  $\beta$ -amiloidogénica (*id.*).

BACE1 es una proteína de 501 aminoácidos que tiene homología con las proteasas aspárticas eucariotas, especialmente de la familia de las pepsinas (Yan *et al.* (1999) *Nature*, 402: 533-537). Al igual que otras proteasas aspárticas, BACE1 se sintetiza como un zimógeno con un prodominio que se escinde por furina para liberar la proteína madura. BACE1 es una proteína transmembrana de tipo I con un sitio activo luminal que escinde APP para liberar un ectodominio (sAPP $\beta$ ) en el espacio extracelular. El fragmento del extremo C restante (CTF) experimenta una escisión adicional por la  $\gamma$ -secretasa, lo que conduce a la liberación de A $\beta$  y el dominio del extremo C intracelular de APP (AICD).

Se ha propuesto que las presenilinas son el componente enzimático principal de la  $\gamma$ -secretasa, cuya escisión imprecisa de APP produce un espectro de péptidos A $\beta$  que varían en longitud en unos pocos aminoácidos en el extremo C. La mayoría de A $\beta$  normalmente termina en el aminoácido 40 (A $\beta$ 40), pero se ha demostrado que la variante de 42 aminoácidos (A $\beta$ 42) es más susceptible a la agregación, y se ha planteado la hipótesis de que nuclea la formación de placa senil. La modulación de la  $\gamma$ -secretasa también puede conducir a un aumento en la variante de 38 aminoácidos (A $\beta$ 38). La ruta competitiva de la  $\alpha$ -secretasa es el resultado de escisiones secuenciales por  $\alpha$ -secretasa y  $\gamma$ -secretasa. Se han propuesto tres metaloproteasas de la familia de desintegrina y metaloproteasa (ADAM 9, 10 y 17) como candidatas para la actividad de  $\alpha$ -secretasa, que escinde APP en la posición 16 en la secuencia A $\beta$ . Usando experimentos de sobreexpresión, se ha demostrado que ADAM-10 es la  $\alpha$ -secretasa probable para la escisión de APP (Vassar (2002) *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 54: 1589-1602; Buxbaum *et al.* (1998) *J. Biol. Chem.*, 273: 27765-27767; Koike *et al.* (1999) *Biochem. J.*, 343(Pt 2): 371-375). Esta escisión también libera un ectodominio (sAPP $\alpha$ ), que muestra funciones neuroprotectoras (Lammich *et al.* (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96: 3922-3927). La escisión posterior del CTF de 83 aminoácidos (C83) libera p3, que no es amiloidogénico, y AICD (Furukawa *et al.* (1996) *J. Neurochem.*, 67: 1882-1896). Las funciones de estos fragmentos no están completamente aclaradas, aunque la hipótesis de AICD es mediar en la señalización intracelular.

La investigación que aclara las rutas metabólicas que regulan la producción de A $\beta$  a partir de la proteína precursora amiloide (APP) indica que las secretasas que producen A $\beta$  son buenas dianas terapéuticas, ya que la inhibición de la  $\beta$ -secretasa o  $\gamma$ -secretasa limita la producción de A $\beta$ . El hecho de que la  $\beta$ -secretasa inicia el procesamiento de APP y, por lo tanto, sirve como la etapa limitante de la velocidad en la producción de A $\beta$ , su inhibición ha atraído esfuerzos de muchos grupos de investigación. Los ejemplos de la bibliografía de patentes están creciendo e incluyen, por ejemplo, los documentos WO2006009653, WO2007005404, WO2007005366, WO2007038271, WO2007016012, US2005/0282826, US2007072925, WO2007149033, WO2007145568, WO2007145569, WO2007145570, WO2007145571, WO2007114771, US20070299087, WO2005/016876, WO2005/014540, WO2005/058311, WO2006/065277, WO2006/014762, WO2006/014944, WO2006/138195, WO2006/138264, WO2006/138192, WO2006/138217, WO2007/050721, WO2007/053506, WO2007/146225, WO2006/138230, WO2006/138265, WO2006/138266, WO2007/053506, WO2007/146225, WO2008/073365, WO2008/073370, WO2008/103351, US2009/041201, US2009/041202 y WO2010/047372.

Una limitación de las estrategias inhibitoras de la proteasa es la inhibición de la escisión de todos los sustratos de una proteasa dirigida determinada, tal como BACE o el complejo de  $\gamma$ -secretasa. En el caso de la  $\gamma$ -secretasa, los sustratos distintos de APP, tales como Notch, generan preocupación por los posibles efectos secundarios de la inhibición de  $\gamma$ -secretasa y el reciente fracaso del inhibidor de  $\gamma$ -secretasa. Los problemas asociados con el uso de semagacestat, sirven para reforzar tales preocupaciones.

La BACE es una enzima clave implicada en el procesamiento de APP que conduce a la producción de A $\beta$ 42 y la patología de la enfermedad de Alzheimer (EA). BACE-1 (también llamada BACE) se ha convertido en un área de investigación popular desde su descubrimiento, y quizás ha superado a la  $\gamma$ -secretasa como la diana más prometedora para la investigación farmacéutica. Un problema con la  $\gamma$ -secretasa como diana es su escisión conocida de Notch, que cumple funciones importantes en el desarrollo neuronal. Los ratones inactivados con presenilina demostraron somitogénesis anómala y un desarrollo esquelético axial con longitud corporal acortada, así como hemorragias cerebrales (Shen *et al.* (1997) *Cell*, 89: 629-639; Wong *et al.* (1997) *Nature*, 387: 288-292). Por el contrario, varios grupos informaron que los ratones con bloqueo de BACE1 son sanos y no muestran signos de efectos adversos (Luo *et al.* (2001) *Nat. Neurosci.*, 4: 231-232; Roberds *et al.* (2001) *Hum. Mol. Genet.*, 10: 1317-1324), mientras que un grupo apreció sutiles déficits neuroquímicos y cambios conductuales en ratones fértiles y viables (Harrison *et al.* (2003) *Mol. Cell Neurosci.*, 24: 646-655). Aunque los estudios recientes han demostrado que los ratones con inactivación de BACE1 exhiben hipomielinización de los nervios periféricos (Willem *et al.* (2006) *Science*, 314: 664-666), las consecuencias de la inhibición de BACE1 en animales adultos, donde la mielinización ya ha tenido lugar, no están claras. Recientemente se ha informado que BACE1 escinde múltiples sustratos, incluyendo ST6Gal I, PSGL-1, subunidades de los canales de sodio dependientes de voltaje, proteínas similares a APP (APLP), proteína relacionada con el receptor de LDL (LRP) y, más recientemente, neurregulina 1 tipo III (NRG1) (Willem *et al.* (2006) *Science*, 314: 664-666; Hu *et al.* (2006) *Nat. Neurosci.*, 9: 1520-1525). Por lo tanto, las consecuencias de inhibir directamente BACE1 aún no se entienden completamente.

El modelado molecular (Sauder *et al.* (2000) *J. Mol. Biol.*, 300: 241-248) y la posterior cristalografía de rayos X (Hong *et al.* (2000) *Science*, 290: 150-153; Maillard *et al.* (2007) *J. Med. Chem.*, 50: 776-781) del sitio activo BACE-1 en complejo con un inhibidor del estado de transición proporcionó información crucial sobre las interacciones BACE-1-sustrato. Estructuralmente, el sitio activo de BACE-1 es más abierto y menos hidrófobo que otras aspartil proteasas, lo que dificulta el desarrollo de candidatos eficaces de inhibidores de BACE *in vivo*. Si bien existe un gran esfuerzo de descubrimiento de fármacos centrado en el desarrollo de inhibidores directos de BACE, ninguno hasta ahora ha avanzado significativamente en las pruebas clínicas.

Algunos inhibidores de BACE tales como LY2811376 y CTS21166 ingresaron a las pruebas clínicas, pero no avanzaron más allá de la Fase 1 debido a razones de seguridad. El descubrimiento de otros sustratos fisiológicos de BACE plantea una gran preocupación en el desarrollo clínico de los inhibidores de BACE o los moduladores de BACE y podría ser un obstáculo significativo en el avance de estos inhibidores como terapia para la enfermedad.

## Sumario

La presente invención se define en las reivindicaciones adjuntas. Las realizaciones que no están dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas no forman parte de la invención. Cualquier referencia en la descripción a métodos de tratamiento se refiere a los compuestos, composiciones farmacéuticas y medicamentos de la presente invención para su uso en un método para el tratamiento del organismo humano (o animal) mediante terapia. En determinadas realizaciones, se proporcionan en el presente documento compuestos de hidantoína que son efectivos para inhibir la actividad BACE contra APP. Sin pretender quedar ligado a una teoría particular, se cree que la actividad de las hidantoínas identificadas en el presente documento parece estar asociada con la unión a BACE y/o a APP, particularmente cuando estos restos forman un complejo de BACE/APP. Por consiguiente, se cree que los compuestos descritos en el presente documento representan una nueva clase de compuestos designados en el presente documento como inhibidores de BACE de unión a APP (ABBI) y proporcionan un nuevo mecanismo para modular el procesamiento de APP. Las hidantoínas descritas en el presente documento parecen mostrar una mejor permeabilidad cerebral e inhibición funcional de BACE.

La presente invención proporciona una selección de compuestos como se expone en las reivindicaciones y sus usos en terapia. Además, únicamente con fines informativos, también se divulgan en el presente documento ejemplos de otros compuestos que no se considera que estén dentro del alcance de las reivindicaciones.

## Definiciones

A menos que se indique lo contrario, la referencia a un compuesto (por ejemplo, a una hidantoína como se describe en el presente documento) debe interpretarse en términos generales que incluye sales farmacéuticamente aceptables, tautómeros, formas sólidas alternativas, complejos no covalentes y combinaciones de los mismos, de una entidad química de la estructura representada o nombre químico.

Generalmente, la referencia a un determinado elemento, tal como hidrógeno o H, pretende incluir todos los isótopos de ese elemento. Por ejemplo, si un grupo R se define para incluir hidrógeno o H, también incluye deuterio y tritio. Por consiguiente, los compuestos marcados isotópicamente están dentro del alcance de esta invención.

Una sal farmacéuticamente aceptable es cualquier sal del compuesto precursor que sea adecuada para la administración a un animal o ser humano. Una sal farmacéuticamente aceptable también se refiere a cualquier sal que pueda formarse *in vivo* como resultado de la administración de un ácido, otra sal. Una sal comprende una o más formas iónicas del compuesto, tal como un ácido o base conjugado, asociado con uno o más contraiones correspondientes. Las sales se pueden formar o incorporar uno o más grupos ácidos desprotonados (por ejemplo, ácidos carboxílicos), uno o más grupos básicos protonados (por ejemplo, aminas) o ambos (por ejemplo, zwitteriones).

Un profármaco es un compuesto que se convierte en un compuesto terapéuticamente activo después de la administración. Por ejemplo, la conversión puede producirse por hidrólisis de un grupo éster, tal como un éster alquílico C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> del grupo de ácido carboxílico de los presentes compuestos, o algún otro grupo biológicamente lábil. La preparación de profármacos se conoce bien en la técnica. Por ejemplo, "Prodrugs and Drug Delivery Systems", que es un capítulo en Richard B. Silverman, *Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action*, 2ª Ed., Elsevier Academic Press: Ámsterdam, 2004, págs. 496-557, proporciona más detalles sobre el tema.

Los tautómeros son isómeros que están en equilibrio entre sí. Por ejemplo, los tautómeros pueden estar relacionados por transferencia de un protón, un átomo de hidrógeno o un ion hidruro.

A menos que se describa explícitamente la estereoquímica, se pretende que una estructura incluya todos los estereoisómeros posibles, tanto puros como en cualquier mezcla posible.

Las formas sólidas alternativas son formas sólidas diferentes a las que pueden resultar de la práctica de los procedimientos descritos en el presente documento. Por ejemplo, las formas sólidas alternativas pueden ser

polimorfos, diferentes tipos de formas sólidas amorfas, vidrios y similares. En diversas realizaciones, se contemplan formas sólidas alternativas de cualquiera de los compuestos descritos en el presente documento.

En general, "sustituido" se refiere a un grupo orgánico como se define a continuación (por ejemplo, un grupo alquilo) en el que uno o más enlaces a un átomo de hidrógeno contenido en el mismo se reemplazan por un enlace a átomos distintos de hidrógeno o de carbono. Los grupos sustituidos también incluyen grupos en los que uno o más enlaces a uno o más átomos de carbono o hidrógeno se sustituyen por uno o más enlaces, incluyendo dobles o triples enlaces, a un heteroátomo. Por lo tanto, un grupo sustituido puede sustituirse por uno o más sustituyentes, a menos que se especifique lo contrario. En algunas realizaciones, un grupo sustituido está sustituido por 1, 2, 3, 4, 5 o 6 sustituyentes. Los ejemplos de grupos de sustituyentes incluyen: halógenos (es decir, F, Cl, Br y I); hidroxilos; grupos alcoxi, alquenoxi, alquinoxí, ariloxi, aralquiloxi, heterociclioxi y heterocicliilalcoxi; carbonilos (oxo); carboxilos; ésteres; uretanos; oximas; hidroxilaminas; alcoxiaminas; aralcoxiaminas; tioles; sulfuros; sulfóxidos; sulfonas; sulfonilos; sulfonamidas; aminas; N-óxidos; hidrazinas; hidrazidas; hidrazonas; azidas; amidas; ureas; amidinas; guanidinas; enaminas; imidas; isocianatos; isotiocianatos; cianatos; tiocianatos; iminas; grupos nitro; nitrilos (es decir, CN) y similares.

El término "alquilo" se refiere e incluye cualquiera y todos los grupos que se conocen como alquilo normal, alquilo de cadena ramificada, cicloalquilo y también cicloalquil-alquilo. Los grupos alquilo ilustrativos incluyen, pero sin limitación, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, t-butilo, octilo y decilo. El término "cicloalquilo" se refiere a grupos hidrocarbilo saturados cíclicos, incluidos los cíclicos. Los ejemplos incluyen, pero sin limitación, ciclopentilo, ciclohexilo, díciclopentilo, norbornilo, octahidronaftilo y espiro[3.4]octilo. En determinadas realizaciones, los grupos alquilo contienen 1-12 átomos de carbono (alquilo C<sub>1-12</sub>), o 1-9 átomos de carbono (alquilo C<sub>1-9</sub>), o 1-6 átomos de carbono (alquilo C<sub>1-6</sub>), o 1-5 átomos de carbono (alquilo C<sub>1-5</sub>), o átomos de carbono (alquilo C<sub>1-4</sub>), o 1-3 átomos de carbono (alquilo C<sub>1-3</sub>), o 1-2 átomos de carbono (alquilo C<sub>1-2</sub>).

A modo de ejemplo, la expresión "grupo alquilo C<sub>1-6</sub>" se refiere a un grupo alquilo de cadena lineal o ramificada que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, y puede ilustrarse por un grupo metilo, un grupo etilo, un grupo n-propilo, un grupo isopropilo, un grupo n-butilo, un grupo isobutilo, un grupo *terc*-butilo, un grupo sec-butilo, un grupo n-pentilo, un grupo *terc*-amilo, un grupo 3-metilbutilo, un grupo neopentilo y un grupo n-hexilo.

Como se usa en el presente documento, el término "alcoxi" significa un grupo alquilo unido a través de un único átomo de oxígeno terminal. Un grupo "alcoxi" puede representarse como --O-alquilo, donde alquilo es como se ha definido anteriormente. El término "ariloxi" se usa de manera similar, y puede representarse como --O-arilo, con arilo como se define a continuación. El término "hidroxi" se refiere a --OH.

De manera similar, el término "alquiltio", como se usa en el presente documento, significa un grupo alquilo unido a través de un único átomo de azufre terminal. Un grupo "alquiltio" puede representarse como --S-alquilo, donde alquilo es como se ha definido anteriormente. El término "ariltio" se usa de manera similar, y puede representarse como --S-arilo, con arilo como se define a continuación. El término "mercaptop" se refiere a --SH.

Los grupos arilo son hidrocarburos aromáticos cíclicos que no contienen heteroátomos. Los grupos arilo incluyen sistemas anulares monocíclicos, bicíclicos y policíclicos. Por lo tanto, los grupos arilo incluyen, pero sin limitación, grupos fenilo, azuleno, heptaleno, bifenileno, indaceno, fluoreno, fenantreno, trifenileno, pireneno, naftaceno, criseno, bifenilo, antraceno, indenilo, indanilo, pentaleno y naftilo. En algunas realizaciones, los grupos arilo contienen 6-14 carbonos, y en otros de 6 a 12 o incluso 6-10 átomos de carbono en las porciones anulares de los grupos. Aunque la expresión "grupos arilo" incluye grupos que contienen anillos condensados, tales como sistemas anulares aromáticos-alifáticos condensados (por ejemplo, indanilo, tetrahidronaftilo y similares), no incluye grupos arilo que tienen otros grupos, tales como grupos alquilo o halo, unidos a uno de los miembros del anillo. Por el contrario, los grupos tales como tolilo, se denominan grupos arilo sustituidos. Los grupos arilo sustituidos representativos pueden estar monosustituidos o sustituidos más de una vez. Por ejemplo, los grupos arilo monosustituidos incluyen, pero sin limitación, grupos fenilo o naftilo sustituidos en 2, 3, 4, 5 o 6, que pueden estar sustituidos con sustituyentes tales como los enumerados anteriormente.

La expresión "grupo heteroarilo" se refiere a un grupo heterocíclico aromático monocíclico o de anillo condensado que contiene uno o más heteroátomos seleccionados de O, S y N. Si el grupo heterocíclico aromático tiene un anillo condensado, puede incluir un grupo monocíclico parcialmente hidrogenado. Los ejemplos de dicho grupo heteroarilo incluyen un grupo pirazolilo, un grupo tiazolilo, un grupo isotiazolilo, un grupo tiadiazolilo, un grupo imidazolilo, un grupo furilo, un grupo tienilo, un grupo oxazolilo, un grupo isoxazolilo, un grupo pirrolilo, un grupo imidazolilo, un grupo (1,2,3) y (1,2,4)-triazolilo, un grupo tetrazolilo, un grupo piranilo, un grupo piridilo, un grupo pirimidinilo, un grupo pirazinilo, un grupo piridazinilo, un grupo quinolilo, un grupo isoquinolilo, un grupo benzofuranilo, un grupo isobenzofuranilo, un grupo indolilo, un grupo isoindolilo, un grupo indazolilo, un grupo benzoimidazolilo, un grupo benzotriazolilo, un grupo benzoxazolilo, un grupo benzotiazolilo, un grupo benzo[b]tiofenilo, un grupo tieno[2,3-b]tiofenilo, un grupo (1,2) y (1,3)-benzoxatilo, un grupo cromenilo, un grupo 2-oxocromenilo, un grupo benzotiadiazolilo, un grupo quinolizinilo, un grupo ftalazinilo, un grupo naftiridinilo, un grupo quinoxalinilo, un grupo quinazolinilo, un grupo cinnolinilo y un grupo carbazolilo.

Un "derivado" de un compuesto significa un compuesto modificado químicamente en donde la modificación química tiene lugar en uno o más grupos funcionales del compuesto. Sin embargo, se espera que el derivado conserve o mejore la actividad farmacológica del compuesto del que procede.

- 5 Como se usa en el presente documento, "administrar" se refiere a la administración local y sistémica, por ejemplo, incluyendo administración enteral, parenteral, pulmonar y tópica/transdérmica. Las vías de administración para los agentes (por ejemplo, las hidantoínas descritas en el presente documento, o uno o más tautómeros o estereoisómeros de las mismas, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de dicha una o más hidantoínas, dicho uno o más estereoisómeros o dicho uno o más tautómeros de las mismas) que encuentran uso en los métodos descritos en el
- 10 presente documento incluyen, por ejemplo, administración oral (*per os* (p.o.)), administración nasal o por inhalación, administración como un supositorio, contacto tópico, suministro transdérmico (por ejemplo, a través de un parche transdérmico), administración intratecal (IT), administración intravenosa ("iv"), administración intraperitoneal ("ip"), administración intramuscular ("im"), administración intralesional o administración subcutánea ("sc"), o el implante de un dispositivo de liberación lenta, por ejemplo, una minibomba osmótica, una formulación de depósito, etc., a un sujeto.
- 15 La administración puede ser por cualquier vía, incluyendo parenteral y transmucosa (por ejemplo, oral, nasal, vaginal, rectal o transdérmica). La administración parenteral incluye, por ejemplo, intravenosa, intramuscular, intraarterial, intradérmica, subcutánea, intraperitoneal, intraventricular, ionofórica e intracraneal. Otros modos de suministro incluyen, pero sin limitación, el uso de formulaciones liposómicas, infusión intravenosa, parches transdérmicos, etc.
- 20 Las expresiones "administración sistémica" y "administrado sistémicamente" se refieren a un método para administrar el uno o más agentes descritos en el presente documento o la composición a un mamífero para que el uno o más agentes o la composición se suministren a sitios en el cuerpo, incluyendo el sitio diana de la acción farmacéutica, a través del sistema circulatorio. La administración sistémica incluye, pero sin limitación, administración oral, intranasal, rectal y parenteral (por ejemplo, que no sea a través del tracto alimentario, tal como intramuscular, intravenosa,
- 25 intraarterial, transdérmica y subcutánea).

La expresión "coadministrar" o "administración concurrente" o "administrar junto con" cuando se usa, por ejemplo, con respecto al uno o más agentes activos descritos en el presente documento, por ejemplo, las hidantoínas descritas en el presente documento, o uno o más tautómeros o estereoisómeros de las mismas, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de dicha una o más hidantoínas, dicho uno o más estereoisómeros, o dicho uno o más tautómeros de las mismas y un segundo agente activo (por ejemplo, un potenciador de la cognición), se refiere a la administración del uno o más agentes y el segundo agente activo de manera que ambos puedan alcanzar simultáneamente un efecto fisiológico. Los dos agentes, sin embargo, no necesitan administrarse juntos. En determinadas realizaciones, la administración de un agente puede preceder a la del otro. El efecto fisiológico

30 simultáneo no requiere necesariamente la presencia de ambos agentes en la circulación al mismo tiempo. Sin embargo, en determinadas realizaciones, la administración conjunta típicamente da como resultado que ambos agentes estén presentes simultáneamente en el cuerpo (por ejemplo, en el plasma) en una fracción significativa (por ejemplo, un 20 % o más, preferentemente un 30 % o un 40 % o más, más preferentemente un 50 % o un 60 % o más, mucho más preferentemente un 70 % o un 80 % o un 90 % o más) de su concentración sérica máxima para cualquier dosis dada.

35 40

La expresión "cantidad eficaz" o "cantidad farmacéuticamente eficaz" se refiere a la cantidad y/o la dosificación y/o la pauta posológica de uno o más agentes necesarios para lograr el resultado deseado, por ejemplo, una cantidad suficiente para mitigar en un mamífero uno o más síntomas asociados con el deterioro cognitivo leve (DCL), o una

45 cantidad suficiente para disminuir la gravedad o retrasar la progresión de una enfermedad caracterizada por depósitos de amiloide en el cerebro en un mamífero (por ejemplo, terapéuticamente cantidades eficaces), una cantidad suficiente para reducir el riesgo o retrasar la aparición, y/o reducir la gravedad final de una enfermedad caracterizada por depósitos de amiloide en el cerebro en un mamífero (por ejemplo, cantidades profilácticamente eficaces).

50 La expresión "hacer que se administre" se refiere a las acciones tomadas por un profesional médico (por ejemplo, un médico), o una persona que controla la atención médica de un sujeto, que controla y/o permite la administración del uno o más agentes en cuestión al sujeto. Hacer que se administre puede implicar el diagnóstico y/o la determinación de un régimen terapéutico o profiláctico apropiado, y/o la prescripción del uno o más agentes particulares para un sujeto. Dicha prescripción puede incluir, por ejemplo, redactar un formulario de prescripción, anotar un historial médico

55 y similares.

Como se usan en el presente documento, los términos "tratar" y "tratamiento" se refieren a retrasar el inicio de, retardar o revertir el progreso de, reducir la gravedad de o aliviar o prevenir la enfermedad o afección a la que se aplica el término o uno o más síntomas de dicha enfermedad o afección.

60

El término "mitigar" se refiere a la reducción o eliminación de uno o más síntomas de esa patología o enfermedad, y/o una reducción en la tasa o retraso de la aparición o gravedad de uno o más síntomas de esa patología o enfermedad, y/o la prevención de esa patología o enfermedad. En determinadas realizaciones, la reducción o eliminación de uno o más síntomas de patología o enfermedad puede incluir, pero sin limitación, la reducción o eliminación de uno o más marcadores que son característicos de la patología o enfermedad (por ejemplo, de Tau total (tTau), fosfo-Tau (pTau), APPneo, Aβ40 soluble, relación de pTau/Aβ42 y relación de tTau/Aβ42, y/o el aumento en el CSF de los niveles de

65

uno o más componentes seleccionados del grupo que consiste en la relación de A $\beta$ 42/A $\beta$ 40, la relación de A $\beta$ 42/A $\beta$ 38, sAPP $\alpha$ , la relación de sAPP $\alpha$ /sAPP $\beta$ , la relación de sAPP $\alpha$ /A $\beta$ 40, la relación de sAPP $\alpha$ /A $\beta$ 42, *etc.*) y/o la reducción, estabilización o reversión de uno o más criterios de diagnóstico (por ejemplo, clasificación de demencia clínica (CDR, por sus siglas en inglés)).

5 Como se usa en el presente documento, la expresión "que consiste esencialmente en" se refiere a los géneros o especies de agentes farmacéuticos activos citados en un método o composición y, además, puede incluir otros agentes que, por sí solos, no tienen una actividad sustancial para la indicación o el fin citado. En algunas realizaciones, la expresión "que consiste esencialmente en" excluye expresamente la inclusión de uno o más agentes adicionales que  
10 tengan actividad neurofarmacológica distinta del uno o más agentes mencionados (por ejemplo, distintos de los ASBI tales como galangina y rutina). En algunas realizaciones, la expresión "que consiste esencialmente en" excluye expresamente la inclusión de uno o más agentes activos adicionales distintos del uno o más agentes activos descritos en el presente documento (por ejemplo, distintos de los ASBI tales como galangina y rutina). En algunas realizaciones, la expresión "que consiste esencialmente en" excluye expresamente la inclusión de uno o más inhibidores de la  
15 acetilcolinesterasa.

Los términos "sujeto", "individuo" y "paciente" se refieren indistintamente a un mamífero, preferentemente un ser humano o un primate no humano, pero también a mamíferos domesticados (por ejemplo, caninos o felinos), mamíferos de laboratorio (por ejemplo, un ratón, rata, conejo, hámster, cobaya) y mamíferos agrícolas (por ejemplo, un equino, bovino, porcino, ovino). En diversas realizaciones, el sujeto puede ser un ser humano (por ejemplo, un hombre adulto, una mujer adulta, un hombre adolescente, una mujer adolescente, un niño, una niña) bajo el cuidado de un médico u otro trabajador de la salud en un hospital, centro de atención psiquiátrica, como paciente ambulatorio u otro contexto clínico. En determinadas realizaciones, el sujeto puede no estar bajo el cuidado o prescripción de un médico u otro trabajador sanitario.

25 Como se usa en el presente documento, el término "formulación" o "formulación de fármaco" o "forma farmacéutica" o "formulación farmacéutica" se refiere a una composición que contiene al menos un agente terapéutico o medicamento para suministrar a un sujeto. En determinadas realizaciones, la forma farmacéutica comprende una "formulación" o "formulación de fármaco" determinada y puede administrarse a un paciente en forma de pastilla para chupar, píldora, comprimido, cápsula, supositorio, membrana, tira, líquido, parche, película, gel, aerosol u otra forma.  
30

La expresión "membrana mucosa" se refiere generalmente a cualquiera de las membranas biológicas recubiertas de moco del cuerpo. En determinadas realizaciones, el uno o más agentes activos descritos en el presente documento se pueden administrar a través de cualquier membrana mucosa que se encuentre en el cuerpo, incluyendo, pero sin limitación, la mucosa bucal, perlingual, nasal, sublingual, pulmonar, rectal y vaginal. Es de interés la absorción a través de las membranas mucosas de la cavidad oral y del intestino. Por lo tanto, en el presente documento se contempla la absorción peroral, bucal, sublingual, gingival y palatina.  
35

El término suministro "transmucosa" de un fármaco y similares pretende abarcar todas las formas de suministro a través de una membrana mucosa.  
40

Como se usa en el presente documento, el término "bioadhesión" se refiere al proceso de adhesión de la una o más formas farmacéuticas a una superficie biológica, por ejemplo, las membranas mucosas.

45 "Suministro de fármaco controlado" se refiere a la liberación o administración de un fármaco a partir de una forma farmacéutica determinada de forma controlada para lograr el perfil farmacocinético deseado *in vivo*. Un aspecto del suministro de fármaco "controlado" es la capacidad de manipular la formulación y/o forma farmacéutica para establecer la cinética deseada de liberación del fármaco.

50 "Suministro de fármaco sostenido" se refiere a la liberación o administración de un fármaco desde una fuente (por ejemplo, una formulación de fármaco) de manera sostenida durante un período de tiempo prolongado pero específico, que puede extenderse desde varios minutos hasta unas pocas horas, días, semanas o meses. En diversas realizaciones, el término "sostenido" se usará para referirse al suministro de niveles constantes y/o sustancialmente constantes de fármaco durante un período de tiempo que varía desde unos pocos minutos hasta un día, con un perfil caracterizado por la ausencia de una fase de liberación inmediata, tal como la que se obtiene mediante la administración IV.  
55

Como se usa en el presente documento, el término " $T_{\text{máx}}$ " significa el punto temporal de la concentración plasmática máxima observada.  
60

Como se usa en el presente documento, el término " $C_{\text{máx}}$ " significa la concentración plasmática máxima observada.

Como se usa en el presente documento, el término " $t_{1/2}$  plasmática" significa la "semivida plasmática" observada y representa el tiempo necesario para que la concentración plasmática del fármaco alcance el 50 % de su valor máximo ( $C_{\text{máx}}$ ). Esto facilita la determinación de la duración media de los efectos farmacológicos. Además, facilita comparaciones directas y significativas de la duración de diferentes artículos de prueba después del suministro por la  
65

misma o diferentes vías.

La expresión "relación de direccionamiento terapéutico óptimo" u "OTTR" representa el tiempo promedio que el fármaco está presente en niveles terapéuticos, definido como el tiempo en el que la concentración plasmática del fármaco se mantiene por encima del 50 % de la  $C_{\text{máx}}$  normalizada por la semivida de eliminación del fármaco multiplicada por la relación entre la  $C_{\text{máx}}$  obtenida en la forma farmacéutica de interés y la  $C_{\text{máx}}$  después de la administración IV de dosis equivalentes y se calcula mediante la fórmula:

OTTR =  $(C^{\text{IV}}_{\text{máx}}/C_{\text{máx}}) \times (\text{Dosis}/\text{Dosis}^{\text{IV}})$  (Tiempo por encima del 50 % de  $C_{\text{máx}}$ )/(Semivida de eliminación terminal<sup>IV</sup> del fármaco).

La expresión "sustancialmente puro" significa suficientemente homogéneo para parecer libre de impurezas fácilmente detectables según lo determinado por métodos de análisis estándar, tales como cromatografía de capa fina (TLC), electroforesis en gel y cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), usados por los expertos en la técnica para evaluar dicha pureza, o suficientemente puro como para que una purificación adicional no altere de manera detectable las propiedades físicas o químicas del compuesto. Los expertos en la técnica conocen métodos para la purificación de los compuestos para producir compuestos químicamente puros sustancialmente. Sin embargo, un compuesto químicamente puro sustancialmente puede ser una mezcla de estereoisómeros o isómeros. En tales casos, una purificación adicional podría aumentar la actividad específica del compuesto.

La expresión "sustancialmente puro" cuando se usa con respecto a enantiómeros indica que un enantiómero particular (por ejemplo, un enantiómero S o un enantiómero R) está sustancialmente libre de su estereoisómero. En diversas realizaciones, sustancialmente puro indica que un enantiómero particular es al menos un 70 %, o al menos un 80 %, o al menos un 90 %, o al menos un 95 %, o al menos un 98 %, o al menos un 99 % del compuesto purificado. Los expertos en la técnica conocen bien los métodos para producir enantiómeros sustancialmente puros. Por ejemplo, un estereoisómero individual, por ejemplo, un enantiómero, sustancialmente libre de su estereoisómero puede obtenerse mediante resolución de la mezcla racémica usando un método tal como la formación de diastereómeros usando agentes de resolución ópticamente activos (Stereochemistry of Carbon Compounds, (1962) de E. L. Eliel, McGraw Hill; Lochmuller (1975) *J. Chromatogr.*, 113(3): 283-302). Las mezclas racémicas de compuestos quirales se pueden separar y aislar mediante cualquier método adecuado, incluyendo, pero sin limitación: (1) formación de sales diastereoméricas iónicas con compuestos quirales y separación mediante cristalización fraccionada u otros métodos, (2) formación de compuestos diastereoméricos con reactivos de derivatización quiral, separación de los diastereoisómeros y conversión en los estereoisómeros puros, y (3) separación de los estereoisómeros sustancialmente puros o enriquecidos directamente en condiciones quirales. Otro enfoque para la separación de los enantiómeros es usar una columna quiral Diacel y la elución usando una fase móvil orgánica tal como la que realiza Chiral Technologies ([www.chiraltech.com](http://www.chiraltech.com)) mediante pago por servicio.

### Breve descripción de los dibujos

La figura 1 ilustra diversas hidantoínas.

La figura 2 ilustra diversas hidantoínas.

La figura 3 ilustra modelos de interacción propuesta de la hidantoína con la región FLAP de BACE1. El panel inferior ilustra la interacción del sustituyente 3,4 del anillo B con la FLAP, Trp76 interrumpe el enlace Trp-76 → Tyr-71H, lo que hace que Tyr-71 se voltee hacia la izquierda e interactúe con el anillo A que contiene difluoro.

La figura 4 ilustra la unión del inhibidor de BACE de unión a APP (ABBI) FAH-3 a eAPP<sub>575-624</sub> según lo medido mediante cribado por resonancia de plasmón superficial (SPR). La afinidad de unión de los compuestos por el ectodominio de APP se determinó mediante SPR. Se ha desarrollado una técnica para medir la afinidad de compuestos por fragmentos del ectodominio de APP. Para los experimentos de unión del compuesto 3 se usó un sustrato TRX-eAPP<sub>575-624</sub>. La eAPP se entrelazó con los chips CM5 Biacore (GE Healthcare). Se usó el compuesto 3 en diversas concentraciones en el flujo a través del chip y la señal de resonancia del plasmón se determinó usando un Biacore T100.

La figura 5 ilustra la inhibición de la producción de A $\beta$  por FAH-3.

La figura 6A ilustra la selectividad de ABBI para la inhibición de la escisión de APP-BACE en comparación con la escisión de PSGL-BACE mostrada en la figura 6B.

### Descripción detallada

En diversas realizaciones, se identifican hidantoínas que parecen inhibir el procesamiento de APP mediado por  $\beta$ -secretasa mediante un mecanismo novedoso. En particular, sin pretender quedar ligado a una teoría particular, se cree que estas moléculas interactúan con BACE y/o con APP y/o con un complejo de BACE/APP y de ese modo inhiben la escisión de BACE del sustrato de APP MBP-C125, dando como resultado la inhibición de la producción de C99 y el sustrato peptídico del sitio  $\beta$  (P5-P5'). Además, las diversas hidantoínas identificadas en el presente



documento inhiben A $\beta$ 42 en células de neuroblastoma SHSY5Y. Además, se demuestra que la actividad de las hidantoínas identificadas en el presente documento parece estar asociada con la unión a BACE y/o a APP, particularmente cuando estos restos forman un complejo de BACE/APP. Por consiguiente, se cree que los compuestos descritos en el presente documento representan una nueva clase de compuestos designados en el presente documento como inhibidores de BACE de unión a APP (ABBI) y proporcionan un nuevo mecanismo para modular el procesamiento de APP. Las hidantoínas descritas en el presente documento parecen mostrar una mejor permeabilidad cerebral e inhibición funcional de BACE.

Los ABBI son específicos para APP y/o BACE y/o el complejo de APP/BACE y se cree que muestran menos efectos secundarios no deseados porque los ABBI típicamente no están activos sobre otros sustratos para la enzima u otros complejos enzimáticos. Con respecto a los inhibidores de la  $\gamma$ -secretasa, los sustratos distintos de APP, tales como Notch, generan preocupación por los posibles efectos secundarios de la inhibición de  $\gamma$ -secretasa y el reciente fracaso del inhibidor de  $\gamma$ -secretasa, Semagacestat, sirve para reforzar dichas preocupaciones. De manera similar, en el caso de BACE, por ejemplo, la inhibición de sustratos distintos de APP, tales como PSGL1 o LRP, podría producir efectos secundarios adversos. Por lo tanto, un inhibidor de BACE deseable sería uno que se uniera/interactuaría no con BACE sino más bien con APP, o con el complejo de APP/BACE que conduce a la inhibición del complejo de BACE específico de APP (ABBI).

Dichos ABBI podrían interactuar potencialmente con el complejo de APP-BACE, por ejemplo, en la membrana, y evitarían su transición al complejo "activo" en los endosomas tempranos, donde a pH <5, BACE está completamente activo. Se ha demostrado que algunos anticuerpos de unión al sitio  $\beta$  bloquean la escisión de APP por parte de BACE y también funcionan en modelos animales de EA, sin embargo, para un desarrollo farmacéutico eficaz, típicamente se prefieren moléculas orgánicas pequeñas a biomoléculas relativamente grandes, tales como los anticuerpos.

Los datos que se informan en el presente documento sobre la identificación de los primeros ABBI demuestran que tal enfoque es factible. Sin pretender quedar ligado a una teoría particular, los ABBI parecen inhibir la actividad de BACE al interactuar con APP, particularmente cuando están en un complejo de APP/BACE, inhibiendo así la escisión de BACE de la proteína precursora amiloide (APP), pero no la escisión proteolítica de otros sustratos. Se cree que tales terapias representan una nueva clase de terapias para la enfermedad de Alzheimer (u otras enfermedades amiloidogénicas).

El sitio activo de BACE1 está cubierto por flaps. Una sola flap de 14 residuos de longitud forma una estructura de horquilla  $\alpha$  que es perpendicular a una hendidura que alberga el sitio activo y cubre la parte central de ese sitio activo. Durante el ciclo catalítico, las flaps se abren para permitir la entrada del sustrato (APP) a la hendidura catalítica y también para liberar productos hidrolíticos. Inicialmente, las hidantoínas descritas en el presente documento se produjeron introduciendo un anillo dihalo (por ejemplo, difluoro) en la aminohidantoína del Compuesto 0 (que se muestra en la figura 1) para producir el compuesto 1 (que también se muestra en la figura 1). Sin pretender quedar ligado a una teoría particular, se cree que el anillo dihalo introduce una interacción FLAP (por ejemplo, una interacción con FLAP elimina Tyr-71 (a través del apilamiento de  $\pi$ ) y Trp-76 (a través de la interacción con OCF2)) y restringe el movimiento de FLAP limitando la entrada de APP en el sitio activo y/o la salida de productos de escisión (véase, por ejemplo, la figura 3). Esto proporciona una nueva familia de inhibidores de BACE de penetración cerebral (ABCI, por sus siglas en inglés) pequeños (PM <400).

Se produjeron el Compuesto 2 y otras hidantoínas (véanse, por ejemplo, los compuestos 1-5). La evaluación farmacocinética de estas hidantoínas se determinó en ensayos de captación cerebral usando ratones NTg (véase, por ejemplo, la Tabla 1). También se determinó que el Compuesto 1 redujo A $\beta$ 42 en los mismos animales a 5 mpk, mientras que el Compuesto 3 redujo A $\beta$  a 1 mpk.

Tabla 1. Propiedades biológicas de hidantoínas ilustrativas en comparación con BACE IV (inhibidor de  $\beta$ -secretasa IV de Calbiochem (n.º de cat. 565788)).

Compuesto	Cl <sub>50</sub> de BACE ( $\mu$ M)	Unión de APP Kd ( $\mu$ M)	Relación cerebro/plasma a la C <sub>máx</sub>	PM
FAH-1	3	5 (unión moderada)	~3:1	301,3
FAH-2	2	8 (unión moderada)	~1:1	367,3
FAH-3	0,52	0,3 (unión fuerte)	~1:2	381,3
FAH-4	2,1		~3:1	367,3
FAH-5	5,0			329,3
FAH-17	0,15	<1 $\mu$ M (unión fuerte)	0,5:1	363,3
*Inhibidor de BACE IV	0,05	>50 (básicamente sin unión)	<0,1:1	578

\*Inhibidor de  $\beta$ -secretasa IV de Calbiochem (n.º de cat. 565788)

También se demostró que los compuestos interactuaban con eAPP (véase, por ejemplo, la figura 4) usando un ensayo BiaCore. Las hidantoínas contempladas en el presente documento muestran así perfiles farmacocinéticos deseables y tienen la actividad deseada como lo demuestra la interacción con APP y/o complejos de BACE/APP y la reducción de A $\beta$ 42.

La escisión secuencial de APP por las proteasas unidas a membrana  $\beta$ -secretasa y  $\gamma$ -secretasa da como resultado la formación de A $\beta$ . La enzima de escisión de APP del sitio  $\beta$  1 (BACE1) se identificó como la actividad principal de  $\beta$ -secretasa que media en la primera escisión de APP en la ruta  $\beta$ -amiloidogénica. En vista de la capacidad de los compuestos ABBI descritos en el presente documento para bloquear específicamente la actividad de BACE1 en APP, se cree (y los datos presentados en el presente documento lo muestran) que estos compuestos ABBI pueden reducir los niveles de A $\beta$  o prevenir la formación de especies neurotóxicas de A $\beta$ . Por consiguiente, se cree que estos compuestos previenen o retardan la progresión de la enfermedad y/o previenen o retardan la progresión de manifestaciones preclínicas de la ruta de la enfermedad amiloidogénica.

Por consiguiente, se cree que estos agentes (por ejemplo, las hidantoínas descritas en el presente documento, o uno o más tautómeros o estereoisómeros de las mismas, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de dicha una o más hidantoínas, dicho uno o más estereoisómeros, o dicho uno o más tautómeros de las mismas) se pueden usar para prevenir o retrasar la aparición de una disfunción cognitiva previa al Alzheimer, y/o para mejorar uno o más síntomas de una disfunción cognitiva previa al Alzheimer, y/o para prevenir o retrasar la progresión de una afección o disfunción cognitiva previa al Alzheimer, y/o para promover el procesamiento de la proteína precursora amiloide (APP) por la ruta no amiloidogénica. En determinadas realizaciones, estos agentes se pueden usar en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer (por ejemplo, para disminuir la gravedad de la enfermedad y/o mejorar uno o más síntomas de la enfermedad y/o ralentizar la progresión de la enfermedad).

#### **Métodos terapéuticos y profilácticos.**

En diversas realizaciones, se proporcionan métodos terapéuticos y/o profilácticos que utilizan el uno o más agentes activos (por ejemplo, las hidantoínas descritas en el presente documento, o uno o más tautómeros o estereoisómeros de las mismas, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de dicha una o más hidantoínas, dicho uno o más estereoisómeros, o dicho uno o más tautómeros de las mismas). Típicamente, los métodos implican administrar uno o más agentes activos a un sujeto (por ejemplo, a un ser humano que lo necesite) en una cantidad suficiente para lograr el resultado terapéutico o profiláctico deseado.

#### **Profilaxis**

En determinadas realizaciones, el uno o más agentes activos (por ejemplo, las hidantoínas descritas en el presente documento, o uno o más tautómeros o estereoisómeros de las mismas, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de dicha una o más hidantoínas, dicho uno o más estereoisómeros, o dicho uno o más tautómeros de las mismas) se utilizan en diversos contextos profilácticos. Por lo tanto, por ejemplo, en determinadas realizaciones, el uno o más agentes activos se pueden usar para prevenir o retrasar la aparición de una disfunción cognitiva previa al Alzheimer, y/o para mejorar uno o más síntomas de una afección y/o disfunción cognitiva previa al Alzheimer, y/o para prevenir o retrasar la progresión de una afección y/o disfunción cognitiva previa al Alzheimer a la enfermedad de Alzheimer.

Por consiguiente, en determinadas realizaciones, los métodos profilácticos descritos en el presente documento se contemplan para sujetos identificados como "en riesgo" y/o que tienen evidencia de cambios patológicos tempranos de la enfermedad de Alzheimer (EA), pero que no cumplen con los criterios clínicos de DCL o demencia. Sin pretender quedar ligado a una teoría particular, se cree que incluso esta etapa "preclínica" de la enfermedad representa un continuo de individuos completamente asintomáticos con evidencia de biomarcadores sugestivos de uno o más procesos fisiopatológicos de EA (abreviado como AD-P, véase, por ejemplo, Sperling *et al.* (2011) *Alzheimer's & Dementia*, 1-13) en riesgo de progresión a demencia por EA en individuos con biomarcadores positivos que ya están demostrando una disminución muy sutil pero que aún no cumplen con los criterios estandarizados para el DCL (véase, por ejemplo, Albert *et al.* (2011) *Alzheimer's and Dementia*, 1-10 (doi:10.1016/j.jalz.2011.03.008).

Este último grupo de individuos podría clasificarse como "no normal, sin DCL", pero podría denominarse "presintomático" o "preclínico" o "asintomático" o "premanifestado". En diversas realizaciones, este continuo de EA presintomática también puede abarcar, pero no necesariamente sin limitación, (1) individuos que portan uno o más alelos de apolipoproteína E (APOE)  $\epsilon$ 4 que se sabe o se cree que tienen un mayor riesgo de desarrollar demencia por EA, en el momento en que tienen biomarcadores positivos para AD-P, y (2) portadores de mutaciones autosómicas dominantes, que se encuentran en la etapa presintomática de biomarcadores positivos de su enfermedad y que casi con certeza manifestarán síntomas clínicos y progresarán a demencia.

Se ha propuesto un modelo de biomarcadores en el que los biomarcadores de AD-P más ampliamente validados se vuelven anómalos y también alcanzan un límite de manera ordenada (véase, por ejemplo, Jack *et al.* (2010) *Lancet*

*Neurol.*, 9: 119-128). Este modelo de biomarcador es paralelo a la secuencia fisiopatológica propuesta de (pre-EA/EA), y es relevante para rastrear las etapas preclínicas (asintomáticas) de la EA (véase, por ejemplo, la figura 3 en Sperling *et al.* (2011) *Alzheimer's & Dementia*, 1-13). Los biomarcadores de amiloidosis cerebral incluyen, pero sin limitación, reducciones de A $\beta$ <sub>42</sub> en el LCR y aumento de la retención del trazador amiloide en las imágenes de tomografía por emisión de positrones (PET). La tau elevada en el LCR no es específica de la EA y se cree que es un biomarcador de lesión neuronal. La disminución de la captación de fluorodesoxiglucosa 18F (FDG) en la PET con un patrón temporoparietal de hipometabolismo es un biomarcador de disfunción sináptica relacionada con la EA. La atrofia cerebral en la resonancia magnética (RMN) estructural en un patrón característico que implica los lóbulos temporales mediales, las cortezas paralímbica y temporoparietal, es un biomarcador de la neurodegeneración relacionada con la EA. Otros marcadores incluyen, pero sin limitación, RMN volumétrica, FDG-PET o biomarcadores plasmáticos (véanse, por ejemplo, Vemuri *et al.* (2009) *Neurology*, 73: 294-301; Yaffe *et al.* (2011) *JAMA* 305: 261-266).

En determinadas realizaciones, los sujetos adecuados para los métodos profilácticos contemplados en el presente documento incluyen, pero sin limitación, sujetos caracterizados por tener amiloidosis cerebral asintomática. En diversas realizaciones, estos individuos tienen evidencia de biomarcadores de acumulación de A $\beta$  con retención elevada del trazador en imágenes de amiloide PET y/o A $\beta$ <sub>42</sub> bajo en el ensayo de LCR, pero típicamente no hay evidencia detectable de alteraciones cerebrales adicionales que sugieran neurodegeneración o sintomatología cognitiva y/o conductual sutil.

Cabe señalar que los biomarcadores de imágenes de A $\beta$  en LCR y PET actualmente disponibles proporcionan principalmente evidencia de acumulación de amiloide y depósito de formas fibrilares de amiloide. Los datos sugieren que las formas solubles u oligoméricas de A $\beta$  probablemente estén en equilibrio con las placas, que pueden servir como reservorios. En determinadas realizaciones, se contempla que existe una etapa de preplaca identificable en la que sólo están presentes formas solubles de A $\beta$ . En determinadas realizaciones, se contempla que las formas oligoméricas de amiloide pueden ser críticas en la cascada patológica y proporcionar marcadores útiles. Además, pueden presentarse cambios sinápticos tempranos antes de que haya evidencia de acumulación de amiloide.

En determinadas realizaciones, los sujetos adecuados para los métodos profilácticos contemplados en el presente documento incluyen, pero sin limitación, sujetos caracterizados como amiloide positivos con evidencia de disfunción sináptica y/o neurodegeneración temprana. En diversas realizaciones, estos sujetos tienen evidencia de positividad de amiloide y presencia de uno o más marcadores de lesión neuronal relacionada con la EA "cadena abajo". Los marcadores ilustrativos, pero no limitantes, de lesión neuronal incluyen, pero sin limitación, (1) tau o fosfo-tau elevados en el LCR, (2) hipometabolismo en un patrón similar a la EA (es decir, corteza cingulada posterior, precúnea y/o temporoparietal) en FDG-PET, y (3) adelgazamiento cortical/pérdida de sustancia gris en una distribución anatómica específica (es decir, corteza parietal lateral y medial, cingulada posterior y temporal lateral) y/o atrofia del hipocampo en la RMN volumétrica. Otros marcadores incluyen, pero sin limitación, medidas de RMNf de la conectividad de red predeterminada. En determinadas realizaciones, la disfunción sináptica temprana, según lo evaluado mediante técnicas de imágenes funcionales tales como FDG-PET y RMNf, puede ser detectable antes de la pérdida volumétrica. Sin pretender quedar ligado a una teoría particular, se cree que los individuos amiloide positivos con evidencia de neurodegeneración temprana pueden estar más avanzados en la trayectoria (es decir, en etapas posteriores de la EA preclínica (asintomática)).

En determinadas realizaciones, los sujetos adecuados para los métodos profilácticos contemplados en el presente documento incluyen, pero sin limitación, sujetos caracterizados como amiloide positivos con evidencia de neurodegeneración y deterioro cognitivo sutil. Sin pretender quedar ligado a una teoría particular, se cree que aquellos individuos con evidencia de biomarcadores de acumulación de amiloide, neurodegeneración temprana y evidencia de deterioro cognitivo sutil se encuentran en la última etapa de la EA preclínica (asintomática) y se están acercando a la zona límite con los criterios clínicos de deterioro cognitivo leve (DCL). Estos individuos pueden demostrar evidencia de deterioro desde su propio valor inicial (particularmente si se toman en consideración los indicadores de la reserva cognitiva), incluso si todavía se desempeñan dentro del intervalo "normal" en las medidas cognitivas estándar. Sin pretender quedar ligado a una teoría particular, se cree que medidas cognitivas más sensibles, particularmente con medidas desafiantes de memoria episódica, pueden detectar un deterioro cognitivo muy sutil en individuos amiloide positivos. En determinadas realizaciones, los criterios incluyen, pero sin limitación, autoqueja de deterioro de la memoria u otros cambios neuroconductuales sutiles.

Como se ha indicado anteriormente, los sujetos/pacientes susceptibles de los métodos profilácticos descritos en el presente documento incluyen individuos con riesgo de enfermedad (por ejemplo, una patología caracterizada por la formación de placa amiloide tal como DCL) pero que no muestran síntomas, así como sujetos que actualmente muestran determinados síntomas o marcadores. Se sabe que el riesgo de DCL y posterior enfermedad de Alzheimer generalmente aumenta con la edad. Por consiguiente, en sujetos asintomáticos sin otros factores de riesgo conocidos, en determinadas realizaciones, se contempla la aplicación profiláctica para sujetos mayores de 50 años, o sujetos mayores de 55 años, o sujetos mayores de 60 años, o sujetos mayores de 65 años, edad, o sujetos mayores de 70 años, o sujetos mayores de 75 años, o sujetos mayores de 80 años, en particular para prevenir o retrasar la aparición o la gravedad final del deterioro cognitivo leve (DCL), y/o para ralentizar o prevenir la progresión del DCL a la enfermedad de Alzheimer (EA) en etapa temprana.

En determinadas realizaciones, los métodos descritos en el presente documento son especialmente útiles para individuos que tienen un riesgo genético conocido de enfermedad de Alzheimer (u otras patologías amiloidogénicas), tanto si son asintomáticos como si presentan síntomas de la enfermedad. Dichos individuos incluyen aquellos que tienen parientes que han experimentado DCL o EA (por ejemplo, un padre, un abuelo, un hermano) y aquellos cuyo riesgo está determinado mediante el análisis de marcadores genéticos o bioquímicos. Los marcadores genéticos de riesgo hacia la enfermedad de Alzheimer incluyen, por ejemplo, mutaciones en el gen APP, particularmente mutaciones en la posición 717 y en las posiciones 670 y 671 denominadas mutaciones de Hardy y sueca, respectivamente (véase Hardy (1997) *Trends. Neurosci.*, 20: 154-159). Otros marcadores de riesgo incluyen mutaciones en los genes de presenilina (PS1 y PS2), antecedentes familiares de EA, tener la mutación de la enfermedad de Alzheimer familiar (EAF), el alelo APOE  $\epsilon 4$ , hipercolesterolemia o aterosclerosis. Se revisan genes de susceptibilidad adicionales para determinar el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer, por ejemplo, en Sleegers, *et al.* (2010) *Trends Genet.* 26(2): 84-93.

En algunas realizaciones, el sujeto es asintomático pero tiene factores de riesgo familiares y/o genéticos para desarrollar DCL o enfermedad de Alzheimer. En pacientes asintomáticos, el tratamiento puede comenzar a cualquier edad (por ejemplo, aproximadamente a los 20, aproximadamente 30, aproximadamente 40, aproximadamente 50 años). Normalmente, sin embargo, no es necesario comenzar el tratamiento hasta que el paciente alcanza al menos aproximadamente 40, o al menos aproximadamente 50, o al menos aproximadamente 55, o al menos aproximadamente 60, o al menos aproximadamente 65, o al menos aproximadamente 70 años de edad.

En algunas realizaciones, el sujeto presenta síntomas, por ejemplo, de deterioro cognitivo leve (DCL) o enfermedad de Alzheimer (EA). Los individuos que actualmente padecen la enfermedad de Alzheimer pueden reconocerse por la demencia característica, así como por la presencia de los factores de riesgo descritos anteriormente. Además, se encuentran disponibles varias pruebas de diagnóstico para identificar a las personas que tienen EA. Estas incluyen la medición de los niveles de Tau, fosfo-tau (pTau), A $\beta$ 42 en el LCR y el fragmento APP escindido en el extremo C (APPneo). El aumento de Tau total (tTau), fosfo-Tau (pTau), APPneo, A $\beta$ 40 soluble, la relación de pTau/A $\beta$ 42 y la relación de tTau/A $\beta$ 42, y la disminución de los niveles de A $\beta$ 42, la relación de A $\beta$ 42/A $\beta$ 40, la relación de A $\beta$ 42/A $\beta$ 38, los niveles de sAPP $\alpha$ , la relación de sAPP $\alpha$ /sAPP $\beta$ , la relación de sAPP $\alpha$ /A $\beta$ 40 y la relación de sAPP $\alpha$ /A $\beta$ 42 significan la presencia de EA. En algunas realizaciones, al sujeto o paciente se le diagnostica DCL. Los niveles elevados de proteína de cadena neural (NTP) en orina y/o los niveles elevados de  $\alpha 2$ -macroglobulina ( $\alpha 2$ M) y/o factor H del complemento (CFH) en plasma también son biomarcadores de DCL y/o EA (véase, por ejemplo, Anoop *et al.* (2010) *Int. J. Alzheimer's Dis.* 2010:606802).

En determinadas realizaciones, los sujetos susceptibles de tratamiento pueden tener un deterioro de la memoria asociado a la edad (DMAE) o un deterioro cognitivo leve (DCL). Los métodos descritos en el presente documento son particularmente adecuados para la profilaxis y/o el tratamiento del DCL. En tales casos, los métodos pueden retrasar o prevenir la aparición de DCL, y/o reducir uno o más síntomas característicos de DCL y/o retrasar o prevenir la progresión de DCL a enfermedad de Alzheimer en etapa temprana, media o tardía o reducir la gravedad final de la enfermedad.

### **Deterioro cognitivo leve (DCL)**

El deterioro cognitivo leve (DCL, también conocido como demencia incipiente o deterioro aislado de la memoria) es un diagnóstico que se da a personas que tienen deterioros cognitivos superiores a los esperados para su edad y educación, pero que típicamente no interfieren significativamente con sus actividades diarias (véase, por ejemplo, Petersen *et al.* (1999) *Arch. Neurol.* 56(3): 303-308). En muchos casos se considera una etapa límite o de transición entre el envejecimiento normal y la demencia. Aunque el DCL puede presentarse con una diversidad de síntomas, cuando la pérdida de memoria es el síntoma predominante se denomina "DCL amnésico" y con frecuencia se considera un factor de riesgo para la enfermedad de Alzheimer (véase, por ejemplo, Grundman *et al.* (2004) *Arch. Neurol.* 61(1): 59-66; y en Internet en [en.wikipedia.org/wiki/Mild\\_cognitive\\_impairment](http://en.wikipedia.org/wiki/Mild_cognitive_impairment) - cite\_note-Grundman-1). Cuando los individuos tienen deterioros en otros dominios además de la memoria, a menudo se clasifica como DCL no amnésico de dominio único o múltiple y se cree que estos individuos tienen más probabilidades de convertirse en otras demencias (por ejemplo, demencia con cuerpos de Lewy). Existe evidencia que sugiere que, si bien los pacientes con DCL amnésico pueden no cumplir con los criterios neuropatológicos para la enfermedad de Alzheimer, los pacientes pueden estar en una etapa de transición en la evolución de la enfermedad de Alzheimer; los pacientes en esta etapa de transición hipotética demostraron amiloide difuso en la neocorteza y frecuentes ovillos neurofibrilares en el lóbulo temporal medial (véase, por ejemplo, Petersen *et al.* (2006) *Arch. Neurol.* 63(5): 665-72).

El diagnóstico de DCL típicamente implica una evaluación clínica integral que incluye observación clínica, neuroimagen, análisis de sangre y pruebas neuropsicológicas. En determinadas realizaciones, los criterios de diagnóstico para DCL incluyen, pero sin limitación, los descritos por Albert *et al.* (2011) *Alzheimer's & Dementia*. 1-10. Como se describe en el mismo, los criterios de diagnóstico incluyen (1) criterios clínicos básicos que podrían usar los proveedores de atención médica sin acceso a técnicas de imagen avanzadas o análisis del líquido cefalorraquídeo, y (2) criterios de investigación que podrían usarse en entornos de investigación clínica, incluidos los ensayos clínicos. El segundo conjunto de criterios incorpora el uso de biomarcadores basados en imágenes y mediciones del líquido cefalorraquídeo. El conjunto final de criterios para el deterioro cognitivo leve debido a la EA tiene cuatro niveles de

certeza, dependiendo de la presencia y la naturaleza de los hallazgos de los biomarcadores.

En determinadas realizaciones, la evaluación/diagnóstico clínico de DCL implica: (1) Preocupación por reflejar un cambio en la cognición informado por el paciente, el informante o el médico (es decir, evidencia histórica u observada de deterioro en el tiempo); (2) Evidencia objetiva de deterioro en uno o más dominios cognitivos, incluyendo típicamente la memoria (es decir, pruebas formales o de cabecera para establecer el nivel de función cognitiva en múltiples dominios); (3) Preservación de la independencia en las capacidades funcionales; (4) No demente; y en determinadas realizaciones, (5) Una etiología de DCL consistente con procesos fisiopatológicos de la EA. Siempre que sea posible, se descartan las causas típicamente vasculares, traumáticas y médicas del deterioro cognitivo. En determinadas realizaciones, cuando es posible, se identifica evidencia de deterioro longitudinal de la cognición. El diagnóstico se ve reforzado por un historial consistente con factores genéticos de la EA, cuando sea relevante.

Con respecto al deterioro en uno o más dominios cognitivos, debe haber evidencia de preocupación por un cambio en la cognición, en comparación con el nivel anterior de la persona. Debería haber evidencia de un rendimiento inferior en uno o más dominios cognitivos que sea mayor de lo que se esperaría para la edad y el nivel educativo del paciente. Si se dispone de evaluaciones repetidas, entonces una disminución en el rendimiento debería ser evidente con el tiempo. Este cambio puede tener lugar en una diversidad de dominios cognitivos, incluyendo la memoria, la función ejecutiva, la atención, el lenguaje y las habilidades visoespaciales. Un deterioro de la memoria episódica (es decir, la capacidad de aprender y retener nueva información) se observa con mayor frecuencia en pacientes con DCL que posteriormente progresan hasta un diagnóstico de demencia por EA.

Con respecto a la preservación de la independencia en las capacidades funcionales, se observa que las personas con DCL comúnmente tienen problemas leves para realizar tareas funcionales complejas que solían usar para realizar compras. Es posible que requieran más tiempo, sean menos eficientes y cometan más errores al realizar dichas actividades que en el pasado. No obstante, generalmente mantienen su independencia de función en la vida diaria, con mínima ayuda o asistencia.

Con respecto a la demencia, los cambios cognitivos deben ser lo suficientemente leves como para que no haya evidencia de un deterioro significativo en el funcionamiento social u ocupacional. Si un individuo ha sido evaluado solo una vez, el cambio se inferirá del historial y/o evidencia de que el rendimiento cognitivo está deteriorado más allá de lo que se hubiera esperado para ese individuo.

Las pruebas cognitivas son óptimas para evaluar objetivamente el grado de deterioro cognitivo de un individuo. Las puntuaciones en las pruebas cognitivas para personas con DCL típicamente están entre 1 y 1,5 desviaciones estándar por debajo de la media de sus pares de edad y educación en datos normativos culturalmente apropiados (es decir, para el uno o más dominios deteriorados, cuando estén disponibles).

La memoria episódica (es decir, la capacidad de aprender y retener nueva información) se observa con mayor frecuencia en pacientes con DCL que posteriormente progresan hasta un diagnóstico de demencia por EA. Existe una diversidad de pruebas de memoria episódica que son útiles para identificar a aquellos pacientes con DCL que tienen una alta probabilidad de progresar a demencia por EA en unos pocos años. Estas pruebas típicamente evalúan el recuerdo inmediato y diferido, de modo que es posible determinar la retención durante una demora. Muchas de las pruebas, aunque no todas, que han demostrado ser útiles a este respecto son pruebas de aprendizaje de listas de palabras con múltiples pruebas. Estas pruebas revelan el ritmo de aprendizaje a lo largo del tiempo, así como la cantidad máxima adquirida en el transcurso de las pruebas de aprendizaje. También son útiles para demostrar que el individuo, de hecho, está prestando atención a la tarea en el recuerdo inmediato, lo que a continuación puede usarse como punto de referencia para evaluar la cantidad relativa de material retenido en el recuerdo diferido. Los ejemplos de tales pruebas incluyen (pero sin limitación: la prueba de recordatorio selectivo libre y con claves, la prueba de aprendizaje verbal auditivo de Rey y la prueba de aprendizaje verbal de California. Otras medidas de memoria episódica incluyen, pero sin limitación: recuerdo inmediato y diferido de un párrafo tal como la Memoria Lógica I y II de la Escala de memoria de Wechsler revisada (u otras versiones) y el recuerdo inmediato y diferido de materiales no verbales, tales como las subpruebas de reproducción visual de la Escala de memoria de Wechsler revisada I y II.

Debido a que otros dominios cognitivos pueden verse afectados entre personas con DCL, es deseable examinar los dominios además de la memoria. Estos incluyen, pero sin limitación, las funciones ejecutivas (por ejemplo, cambio de tarea, razonamiento, resolución de problemas, planificación), el lenguaje (por ejemplo, denominación, fluidez, habla expresiva y comprensión), habilidades visoespaciales y control de la atención (por ejemplo, atención simple y dividida). Hay muchas medidas neuropsicológicas clínicas disponibles para evaluar estos dominios cognitivos, incluyendo (pero sin limitación, la Prueba del trazo (función ejecutiva), la Prueba de denominación de Boston, la fluidez de letras y categorías (lenguaje), la copia de figuras (habilidades espaciales) y la prueba de amplitud de dígitos (atención).

Como se ha indicado anteriormente, los factores genéticos pueden incorporarse al diagnóstico del DCL. Si se sabe que está presente una forma autosómica dominante de EA (es decir, mutación en APP, PS1, PS2), entonces lo más probable es que el desarrollo del DCL sea el precursor de la demencia por EA. La gran mayoría de estos casos desarrollan EA de inicio temprano (es decir, inicio antes de los 65 años).

Además, existen influencias genéticas en el desarrollo de la demencia por EA de aparición tardía. Por ejemplo, la presencia de uno o dos alelos  $\epsilon 4$  en el gen de la apolipoproteína E (APOE) es una variante genética ampliamente aceptada como un riesgo creciente de demencia por EA de aparición tardía. La evidencia sugiere que un individuo que cumple con los criterios clínicos, cognitivos y etiológicos para DCL, y también es APOE  $\epsilon 4$  positivo, tiene más probabilidades de progresar a demencia por EA en unos pocos años que un individuo sin esta característica genética. Se cree que genes adicionales desempeñan un papel importante, pero menor, que APOE y también confieren cambios en el riesgo de progresión a demencia por EA (véase, por ejemplo, Bertram *et al.* (2010) *Neuron*, 21: 270-281).

En determinadas realizaciones, los sujetos adecuados para los métodos profilácticos descritos en el presente documento incluyen, pero sin limitación, sujetos identificados con uno o más de los criterios clínicos básicos descritos anteriormente y/o sujetos identificados con uno o más "criterios de investigación" para DCL, por ejemplo, como se describe a continuación.

Los "criterios de investigación" para la identificación/pronóstico del DCL incluyen, pero sin limitación, biomarcadores que aumentan la probabilidad de que el síndrome del DCL se deba a los procesos fisiopatológicos de la EA. Sin pretender quedar ligado a una teoría particular, se cree que la aplicación conjunta de criterios clínicos y biomarcadores puede dar como resultado diversos niveles de certeza de que el síndrome de DCL se debe a procesos fisiopatológicos de la EA. En determinadas realizaciones, se contemplan dos categorías de biomarcadores que han sido los más estudiados y aplicados a los resultados clínicos. Estos incluyen "A $\beta$ " (que incluye A $\beta_{42}$  en el LCR y/o imágenes de amiloide PET) y "biomarcadores de lesión neuronal" (que incluyen, pero sin limitación, tau/p-tau en el LCR, atrofia del hipocampo o lóbulo temporal medial en RMN, e hipometabolismo temporoparietal/precúneo o hipoperfusión en PET o SPECT).

Sin pretender quedar ligado a una teoría particular, se cree que la evidencia tanto de A $\beta$  como de lesión neuronal (ya sea un aumento en tau/p-tau o biomarcadores de imágenes en un patrón topográfico característico de la EA), en conjunto confiere la mayor probabilidad de que el proceso fisiopatológico de la EA esté presente. Por el contrario, si estos biomarcadores son negativos, esto puede proporcionar información sobre la probabilidad de un diagnóstico alternativo. Se reconoce que los hallazgos de los biomarcadores pueden ser contradictorios y, por consiguiente, cualquier combinación de biomarcadores es indicativa (un indicador) usada en el contexto de un diagnóstico diferencial y no determinante en sí misma. Se reconoce que diferentes grados de gravedad de una anomalía pueden conferir diferentes probabilidades o pronósticos, que son difíciles de cuantificar con precisión para una aplicación amplia.

Para aquellos posibles sujetos con DCL cuyo síndrome clínico y cognitivo de DCL es consistente con la EA como etiología, la adición del análisis de biomarcadores afecta a los niveles de certeza en el diagnóstico. En el ejemplo más típico en el que se ha establecido el síndrome clínico y cognitivo del DCL, incluyendo evidencia de un trastorno de memoria episódica y una presunta etiología degenerativa, la causa más probable es el proceso neurodegenerativo de la EA. Sin embargo, el resultado final todavía tiene grados variables de certeza. La probabilidad de progresión hacia la demencia por EA variará según la gravedad del deterioro cognitivo y la naturaleza de la evidencia que sugiere que la fisiopatología de la EA es la causa subyacente. Sin desear quedar ligado a una teoría particular, se cree que los biomarcadores positivos que reflejan una lesión neuronal aumentan la probabilidad de que se produzca una progresión a demencia en unos pocos años, y que los hallazgos positivos que reflejan tanto la acumulación de A $\beta$  como la lesión neuronal confieren en conjunto la mayor probabilidad de que el diagnóstico sea DCL debido a la EA.

Un biomarcador A $\beta$  positivo y un biomarcador positivo de lesión neuronal proporcionan una indicación de que el síndrome de DCL se debe a procesos de la EA y que el sujeto es muy adecuado para los métodos descritos en el presente documento.

Un biomarcador A $\beta$  positivo en una situación en la que los biomarcadores de lesión neuronal no se han ensayado o no se pueden ensayar o un biomarcador positivo de lesión neuronal en una situación en la que los biomarcadores A $\beta$  no se han ensayado o no se pueden ensayar indican una probabilidad intermedia de que el síndrome de DCL se deba a la EA. Se cree que dichos sujetos son muy adecuados para los métodos descritos en el presente documento.

Los biomarcadores negativos tanto para A $\beta$  como para lesión neuronal sugieren que el síndrome de DCL no se debe a la EA. En tales casos, es posible que los sujetos no sean adecuados para los métodos descritos en el presente documento.

Existe evidencia de que las imágenes por resonancia magnética pueden observar el deterioro, incluida la pérdida progresiva de sustancia gris en el cerebro, desde un deterioro cognitivo leve hasta la enfermedad de Alzheimer por completo (véase, por ejemplo, Whitwell *et al.* (2008) *Neurology* 70(7): 512-520). Se usa una técnica conocida como imágenes PiB PET para mostrar claramente los sitios y las formas de los depósitos de beta amiloide en sujetos vivos usando un marcador C11 que se une selectivamente a dichos depósitos (véase, por ejemplo, Jack *et al.* (2008) *Brain* 131(Pt 3): 665-680).

En determinadas realizaciones, el DCL típicamente se diagnostica cuando hay 1) evidencia de deterioro de la memoria; 2) preservación de las capacidades cognitivas y funcionales generales; y 3) ausencia de demencia diagnosticada.

En determinadas realizaciones, el DCL y las etapas de la enfermedad de Alzheimer se pueden identificar/categorizar, en parte mediante las puntuaciones de la clasificación clínica de demencia (CDR). La CDR es una escala de cinco puntos que se usa para caracterizar seis dominios de rendimiento cognitivo y funcional aplicables a la enfermedad de Alzheimer y demencias relacionadas: Memoria, orientación, juicio y resolución de problemas, actividades fuera de casa, actividades domésticas y aficiones y cuidado personal. La información para realizar cada clasificación se puede obtener a través de una entrevista semiestructurada del paciente y un informante fiable o fuente colateral (por ejemplo, un familiar).

La tabla de CDR proporciona anclajes descriptivos que guían al médico a realizar clasificaciones apropiadas basadas en los datos de la entrevista y el criterio clínico. Además de las clasificaciones para cada dominio, puede calcularse una puntuación de CDR general mediante el uso de un algoritmo. Esta puntuación es útil para caracterizar y rastrear el nivel de deterioro/demencia de un paciente: 0 = Normal; 0,5 = Demencia muy leve; 1 = Demencia leve; 2 = Demencia moderada; y 3 = Demencia grave. En la Tabla 2 se muestra una tabla de CDR ilustrativa.

Tabla 2. Tabla ilustrativa de la clasificación clínica de demencia (CDR).

<b>Deterioro: CDR:</b>	<b>Ninguno 0</b>	<b>Dudoso 0,5</b>	<b>Leve 1</b>	<b>Moderado 2</b>	<b>Grave 3</b>
Memoria	Sin pérdida de memoria o leves olvidos inconstantes	Olvidos leves constantes; recolección parcial de eventos; olvidos "benignos"	Pérdida moderada de memoria; más marcada para eventos recientes; el defecto interfiere con las actividades diarias	Pérdida grave de memoria; sólo retiene materias con mucho aprendizaje; materias nuevas se pierden con rapidez	Pérdida grave de memoria; sólo retiene fragmentos
Orientación	Completamente orientado	Completamente orientado pero con leve dificultad para las relaciones temporales	Dificultad moderada con las relaciones temporales; orientado en el lugar del examen; puede tener algo de desorientación geográfica en otro lugar	Dificultad grave con las relaciones temporales; habitualmente desorientado en el tiempo, a menudo en el lugar.	Orientado sólo en persona
Juicio y resolución de problemas	Resuelve los problemas diarios y se encarga bien de los negocios y finanzas; razonamiento bueno con relación al comportamiento previo	Leve dificultad para resolver problemas, similitudes y diferencias	Dificultad moderada para hacer frente a problemas, similitudes y diferencias; razonamiento social habitual mantenido	Grandes dificultades para hacer frente a problemas, similitudes y diferencias; juicio social habitual limitado	Incapaz de razonar o resolver problemas
Actividades fuera de casa	Función independiente a su nivel habitual en el trabajo, compras, voluntariado y agrupaciones sociales	Leve dificultad en estas actividades	Incapaz de ser independiente en estas actividades, aunque aún puede participar en alguna; parece normal a primera vista	Incapaz de ser independiente fuera de casa Parece estar lo suficientemente bien como para realizar funciones fuera de casa	Parece demasiado enfermo/a como para realizar funciones fuera de su casa.
Hogar y pasatiempos	Vida en casa, aficiones e intereses intelectuales bien conservados	Vida en casa, aficiones e intereses intelectuales algo limitados	Dificultad leve pero clara de su actividad doméstica; abandono de las tareas más difíciles; abandono de las aficiones e intereses más complicados	Sólo realiza tareas simples; intereses muy restringidos y mal mantenidos	Sin función significativa en casa

(continuación)

Deterioro: CDR:	Ninguno 0	Dudoso 0,5	Leve 1	Moderado 2	Grave 3
Cuidado personal	Completamente capaz de cuidarse por sí mismo/a		Necesita recordatorios	Requiere ayuda para vestirse, asearse y encargarse de sus efectos personales	Requiere mucha ayuda para su cuidado personal; incontinencia frecuente

Una clasificación de CDR de ~0,5 o ~0,5 a 1,0 a menudo se considera DCL clínicamente relevante. Las clasificaciones de CDR más altas pueden ser indicativas de progresión hacia la enfermedad de Alzheimer.

5 En determinadas realizaciones, la administración de uno o más agentes descritos en el presente documento (por ejemplo, las hidantoínas descritas en el presente documento, o uno o más tautómeros o estereoisómeros de las mismas, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de dicha una o más hidantoínas, dicho uno o más estereoisómeros, o dicho uno o más tautómeros de las mismas) se considera eficaz cuando hay una reducción en el

10 LCR de los niveles de uno o más componentes seleccionados del grupo que consiste en Tau, fosfo-Tau (pTau), APPneo, Aβ40 soluble, Aβ42 soluble y/o la relación de Aβ42/Aβ40, y/o cuando hay una reducción de la carga de placa en el cerebro del sujeto, y/o cuando hay una reducción en la tasa de formación de placa en el cerebro del sujeto, y/o cuando hay una mejora en las capacidades cognitivas del sujeto, y/o cuando hay una mejora percibida en la calidad de vida por parte del sujeto, y/o cuando hay una reducción significativa en la clasificación clínica de demencia (CDR),

15 y/o cuando la tasa de aumento en la clasificación clínica de demencia se desacelera o se detiene y/o la progresión del DCL a la EA de etapa temprana cuando se desacelera o se detiene.

En algunas realizaciones, se puede determinar un diagnóstico de DCL considerando los resultados de varias pruebas clínicas. Por ejemplo, Grundman, *et al.* (2004) *Arch Neurol* 61: 59-66, informan que se puede establecer un diagnóstico de DCL con eficiencia clínica usando una prueba de memoria simple (recuerdo de párrafos) para establecer un déficit de memoria objetivo, una medida de cognición general (Mini-examen del estado mental (MMSE, por sus siglas en inglés), que se analiza con mayor detalle a continuación) para excluir un deterioro cognitivo más amplio más allá de la memoria, y una entrevista clínica estructurada (CDR) con pacientes y cuidadores para verificar la queja de memoria y la pérdida de memoria del paciente y para garantizar que el paciente no esté demente. Los pacientes con DCL realizan,

20 en promedio, menos de 1 desviación estándar (D.E.) por debajo de lo normal en las medidas cognitivas no relacionadas con la memoria incluidas en la batería. Las pruebas de aprendizaje, atención, velocidad de percepción, fluidez de categorías y función ejecutiva pueden verse alteradas en pacientes con DCL, pero son mucho menos prominentes que el déficit de memoria.

### 30 Enfermedad de Alzheimer (EA).

En determinadas realizaciones, el uno o más agentes activos (por ejemplo, las hidantoínas descritas en el presente documento, o uno o más tautómeros o estereoisómeros de las mismas, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de dicha una o más hidantoínas, dicho uno o más estereoisómeros, o dicho uno o más tautómeros de las

35 mismas) se contemplan para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer. En tales casos, los métodos descritos en el presente documento son útiles para prevenir o ralentizar la aparición de la enfermedad de Alzheimer (EA), para reducir la gravedad de la EA cuando el sujeto ha hecho la transición al diagnóstico clínico de EA y/o para mitigar uno o más síntomas de la enfermedad de Alzheimer.

40 En particular, cuando la enfermedad de Alzheimer se encuentra en una etapa temprana, los métodos pueden reducir o eliminar uno o más síntomas característicos de la EA y/o retrasar o prevenir la progresión del DCL a la enfermedad de Alzheimer en etapa temprana o tardía.

Los individuos que actualmente padecen la enfermedad de Alzheimer pueden reconocerse por la demencia característica, así como por la presencia de los factores de riesgo descritos anteriormente. Además, se encuentran disponibles varias pruebas de diagnóstico para identificar a las personas que tienen EA. Los individuos que actualmente padecen la enfermedad de Alzheimer pueden reconocerse por la demencia característica, así como por la presencia de los factores de riesgo descritos anteriormente. Además, se encuentran disponibles varias pruebas de diagnóstico para identificar a las personas que tienen EA. Estas incluyen la medición de los niveles de Tau, fosfo-tau (pTau), sAPPα, sAPPβ, Aβ40, Aβ42 en el LCR y/o el fragmento APP escindido en el extremo C (APPneo). El aumento de Tau, pTau, sAPPβ y/o APPneo, y/o la disminución de los niveles de sAPPα, Aβ40 soluble y/o Aβ42 soluble, particularmente en el contexto de un diagnóstico diferencial, pueden significar la presencia de EA.

50

En determinadas realizaciones, los sujetos susceptibles de tratamiento pueden tener la enfermedad de Alzheimer. Los individuos que padecen la enfermedad de Alzheimer también pueden ser diagnosticados según los criterios de la Asociación de la enfermedad de Alzheimer y trastornos relacionados (ADRDA, por sus siglas en inglés). Los criterios del Alzheimer de NINCDS-ADRDA fueron propuestos en 1984 por el National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke y la Alzheimer's Disease and Related Disorders Association (ahora conocida

55



como Alzheimer's Association) y se encuentran entre los más usados en el diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer (EA). McKhann, *et al.* (1984) *Neurology* 34(7): 939-44. De acuerdo con estos criterios, la presencia de deterioro cognitivo y una sospecha de síndrome de demencia deben confirmarse mediante pruebas neuropsicológicas para un diagnóstico clínico de EA posible o probable. Sin embargo, generalmente se usa la confirmación histopatológica (examen microscópico del tejido cerebral) para un diagnóstico decisivo. Los criterios del Alzheimer de NINCDS-ADRDA especifican ocho dominios cognitivos que pueden verse afectados en la EA: memoria, lenguaje, habilidades de percepción, atención, habilidades constructivas, orientación, resolución de problemas y habilidades funcionales. Estos criterios han mostrado buena fiabilidad y validez.

Se pueden realizar evaluaciones de referencia de la función del paciente usando medidas psicométricas clásicas, tales como el Mini-examen del estado mental (MMSE) (Folstein *et al.* (1975) *J. Psychiatric Research* 12 (3): 189-198), y la Escala de evaluación de la enfermedad de Alzheimer (ADAS, por sus siglas en inglés), que es una escala integral para evaluar el estado y la función de pacientes con enfermedad de Alzheimer (véase, por ejemplo, Rosen, *et al.* (1984) *Am. J. Psychiatry*, 141: 1356-1364). Estas escalas psicométricas proporcionan una medida de la progresión de la enfermedad de Alzheimer. También se pueden usar escalas de vida cualitativas adecuadas para controlar el tratamiento. El grado de progresión de la enfermedad se puede determinar usando un Mini-examen del estado mental (MMSE) (véase, por ejemplo, Folstein, *et al.* citado anteriormente). Cualquier puntuación superior o igual a 25 puntos (sobre 30) es efectivamente normal (intacta). Por debajo de esto, las puntuaciones pueden indicar enfermedad de Alzheimer grave ( $\leq 9$  puntos), moderada (10-20 puntos) o leve (21-24 puntos).

La enfermedad de Alzheimer se puede dividir en varias etapas, incluyendo: 1) Deterioro cognitivo moderado (enfermedad de Alzheimer leve o en etapa temprana), 2) deterioro cognitivo moderadamente grave (enfermedad de Alzheimer moderada o en etapa intermedia), 3) deterioro cognitivo grave (enfermedad de Alzheimer moderadamente grave o en etapa intermedia), o y 4) deterioro cognitivo muy grave (enfermedad de Alzheimer grave o en etapa tardía) como se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3. Etapas ilustrativas de la enfermedad de Alzheimer.

<b>Deterioro cognitivo moderado (EA leve o en etapa temprana)</b>	
	<p>En esta etapa, una entrevista médica cuidadosa detecta deficiencias claras en las siguientes áreas:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Disminución del conocimiento de los acontecimientos recientes.</li> <li>Capacidad deteriorada para realizar cálculos mentales desafiantes. Por ejemplo, contar hacia atrás desde 100 de 7 en 7.</li> <li>Disminución de la capacidad para realizar tareas complejas, tales como marketing, planificación de cenas para invitados o pago de facturas y gestión de finanzas.</li> <li>Memoria reducida de la historia personal.</li> <li>El individuo afectado puede parecer deprimido y retraído, especialmente en situaciones social o mentalmente desafiantes.</li> </ul>
<b>Deterioro cognitivo moderadamente grave (enfermedad de Alzheimer moderada o en etapa intermedia)</b>	
	<p>Surgen importantes lagunas en la memoria y déficits en la función cognitiva. Se vuelve esencial alguna ayuda con las actividades diarias. En esta etapa, las personas pueden:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>No poder recordar durante una entrevista médica detalles tan importantes como su dirección actual, su número de teléfono o el nombre de la universidad o escuela secundaria en la que se graduó.</li> <li>Confundirse acerca de dónde están o acerca de la fecha, día de la semana o estación.</li> <li>Tener problemas con la aritmética mental menos desafiante; por ejemplo, contar hacia atrás desde 40 de 4 en 4 o desde 20 de 2 en 2.</li> <li>Necesitar ayuda para elegir la ropa adecuada para la estación o la ocasión.</li> <li>Generalmente conservar conocimientos sustanciales sobre sí mismos y conocen su propio nombre y el de su cónyuge o hijos.</li> <li>Generalmente no requerir ayuda para comer o ir al baño.</li> </ul>

(continuación)

<b>Deterioro cognitivo grave (enfermedad de Alzheimer moderadamente grave o en etapa intermedia)</b>	
	<p>Las dificultades de memoria continúan empeorando, pueden surgir cambios significativos de personalidad y las personas afectadas necesitan mucha ayuda con las actividades diarias. En esta etapa, las personas pueden:</p> <p>Perder la mayor parte de la conciencia de las experiencias y acontecimientos recientes, así como de su entorno.</p> <p>Recordar imperfectamente su historia personal, aunque generalmente recuerdan su propio nombre.</p> <p>Olvidar ocasionalmente el nombre de su cónyuge o de su cuidador principal, pero generalmente pueden distinguir rostros familiares de desconocidos.</p> <p>Necesitar ayuda para vestirse adecuadamente; sin supervisión, puede cometer errores tales como ponerse el pijama sobre la ropa de día o los zapatos con el pie equivocado.</p> <p>Experimentar una interrupción de su ciclo normal de sueño/vigilia.</p> <p>Necesitar ayuda para manejar los detalles del uso del baño (tirar de la cadena del inodoro, limpiar y desechar el papel adecuadamente).</p> <p>Tener episodios crecientes de incontinencia urinaria o fecal.</p> <p>Experimentar cambios significativos de personalidad y síntomas de comportamiento, incluyendo desconfianza y delirios (por ejemplo, creer que su cuidador es un impostor); alucinaciones (ver u oír cosas que en realidad no existen); o conductas compulsivas y repetitivas, tales como retorcerse las manos o triturar pañuelos.</p> <p>Tender a deambular y perderse.</p>
<b>Deterioro cognitivo muy grave (enfermedad de Alzheimer grave o en etapa tardía)</b>	
	<p>Esta es la etapa final de la enfermedad, cuando los individuos pierden la capacidad de responder a su entorno, la capacidad de hablar y, en última instancia, la capacidad de controlar el movimiento.</p> <p>Con frecuencia los individuos pierden su capacidad de hablar reconocible, aunque ocasionalmente pueden pronunciar palabras o frases.</p> <p>Las personas necesitan ayuda para comer e ir al baño y hay incontinencia generalizada.</p> <p>Los individuos pierden la capacidad de caminar sin ayuda, a continuación la capacidad de sentarse sin apoyo, la capacidad de sonreír y la capacidad de mantener la cabeza erguida. Los reflejos se vuelven anormales y los músculos se vuelven rígidos. La deglución se ve afectada.</p>

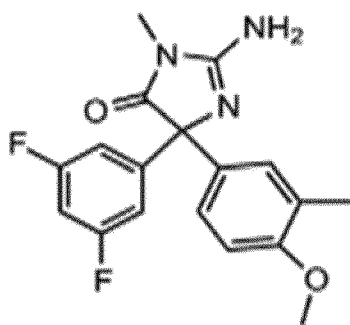
En diversas realizaciones, la administración de uno o más agentes descritos en el presente documento a sujetos diagnosticados con la enfermedad de Alzheimer se considera eficaz cuando hay una reducción en el LCR de los niveles de uno o más componentes seleccionados del grupo que consiste en Tau, fosfo-Tau (pTau), APPneo, A $\beta$ 40 soluble, A $\beta$ 42 soluble y/o la relación de A $\beta$ 42/A $\beta$ 40, y/o cuando hay una reducción de la carga de placa en el cerebro del sujeto, y/o cuando hay una reducción en la tasa de formación de placa en el cerebro del sujeto, y/o cuando hay una mejora en las capacidades cognitivas del sujeto, y/o cuando hay una mejora percibida en la calidad de vida por parte del sujeto, y/o cuando hay una reducción significativa en la clasificación clínica de demencia (CDR) del sujeto, y/o cuando la tasa de aumento en la clasificación clínica de demencia se desacelera o se detiene y/o la progresión de la EA cuando se desacelera o se detiene (por ejemplo, cuando la transición de una etapa a otra como se enumera en la Tabla 3 se desacelera o se detiene).

En determinadas realizaciones, los sujetos susceptibles de los presentes métodos generalmente no padecen una enfermedad o trastorno neurológico distinto de la enfermedad de Alzheimer. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, el sujeto no tiene ni está en riesgo de desarrollar una enfermedad o trastorno neurológico, tal como enfermedad de Parkinson y/o esquizofrenia y/o psicosis.

#### **Agente o agentes activos.**

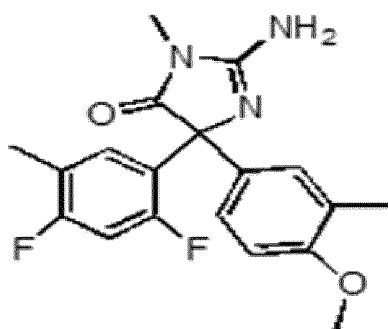
Los métodos descritos en el presente documento se basan, en parte, en el descubrimiento de que la administración de uno o más agentes activos (por ejemplo, las hidantoínas descritas en el presente documento, o uno o más tautómeros o estereoisómeros de las mismas, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de dicha una o más hidantoínas, dicho uno o más estereoisómeros, o dicho uno o más tautómeros de las mismas) encuentran uso en el tratamiento y/o profilaxis de enfermedades caracterizadas por depósitos de amiloide en el cerebro, por ejemplo, deterioro cognitivo leve, enfermedad de Alzheimer, degeneración macular y similares.

En determinadas realizaciones, el compuesto es un compuesto de acuerdo con la Fórmula XVII:



**XVII** (FAH-6).

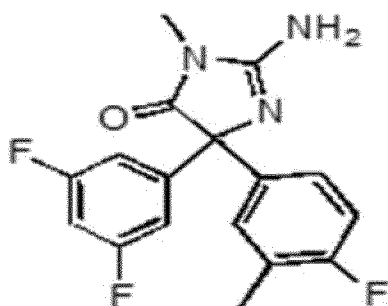
En determinadas realizaciones, el compuesto es un compuesto de acuerdo con la Fórmula XVIII:



**XVIII** (FAH-9).

5

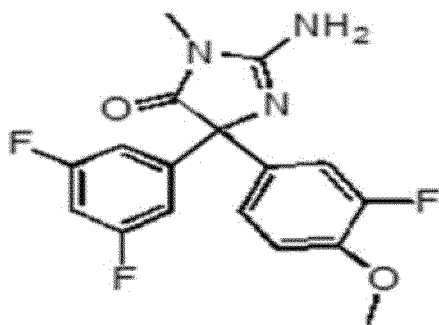
En determinadas realizaciones, el compuesto es un compuesto de acuerdo con la Fórmula XIX:



**XIX** (FAH-10).

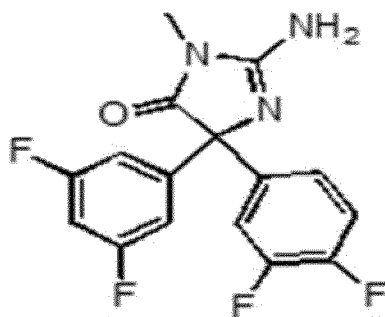
10

En determinadas realizaciones, el compuesto es un compuesto de acuerdo con la Fórmula XXI:



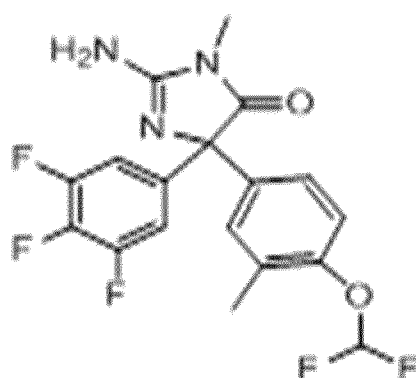
**XXI** (FAH-12).

15 En determinadas realizaciones, el compuesto es un compuesto de acuerdo con la Fórmula XXIII:



**XXIII** (FAH-14).

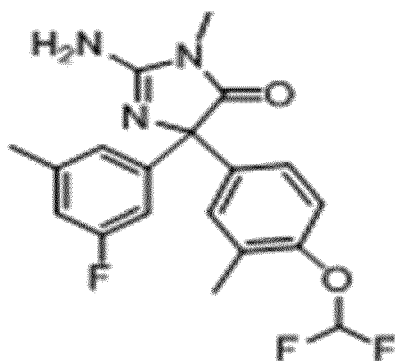
En determinadas realizaciones, el compuesto es un compuesto de acuerdo con la Fórmula XXVI:



**XXVI** (FAH-19).

5

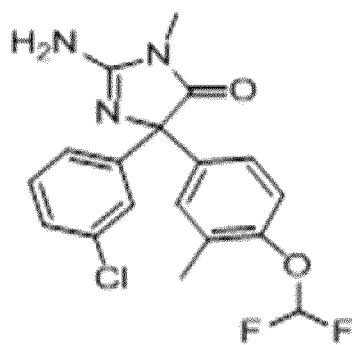
En determinadas realizaciones, el compuesto es un compuesto de acuerdo con la Fórmula XXVII:



**XXVII** (FAH-22).

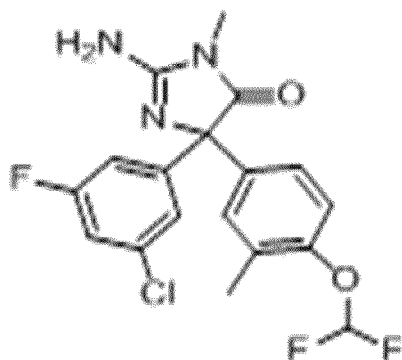
10

En determinadas realizaciones, el compuesto es un compuesto de acuerdo con la Fórmula XXVIII:



**XXVIII** (FAH-23).

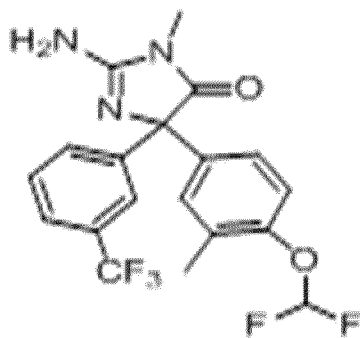
En determinadas realizaciones, el compuesto es un compuesto de acuerdo con la Fórmula XXIX:



**XXIX (FAH-25)**

5

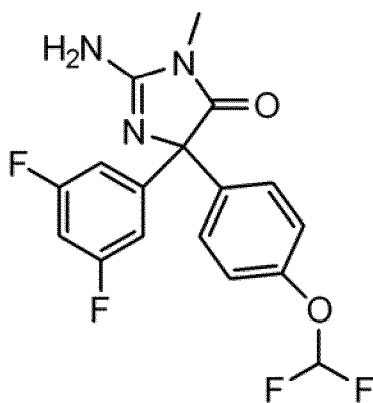
En determinadas realizaciones, el compuesto es un compuesto de acuerdo con la Fórmula XXXI:



**XXXI (FAH-28).**

10

En determinadas realizaciones, el compuesto es un compuesto de acuerdo con la Fórmula XXXII:



**XXXII (FAH-2)**

15

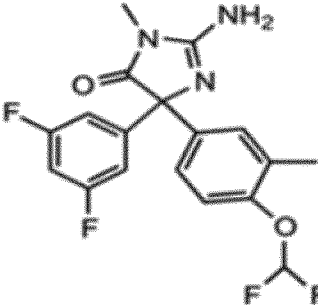
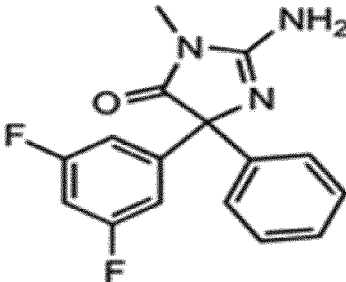
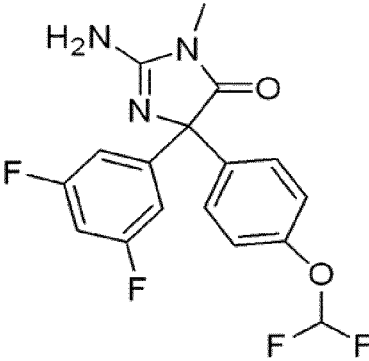
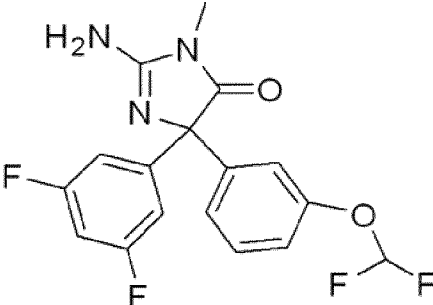
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un tautómero del mismo, una sal farmacéuticamente aceptable de un tautómero del mismo, un enantiómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable de un enantiómero del mismo.

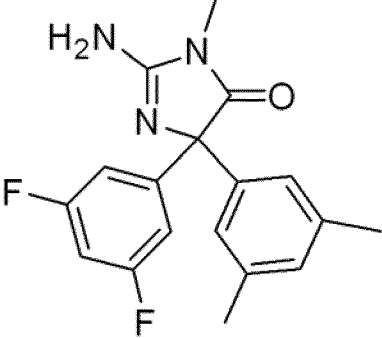
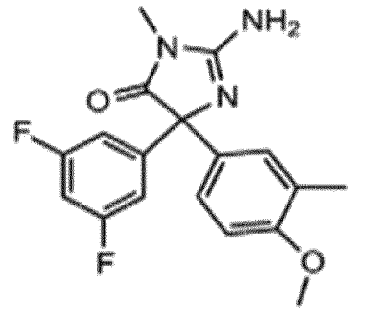
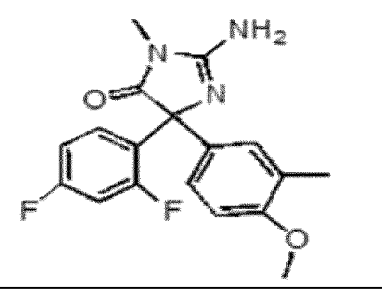
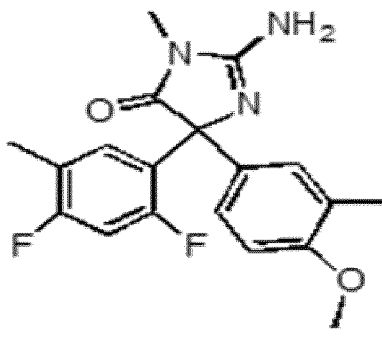
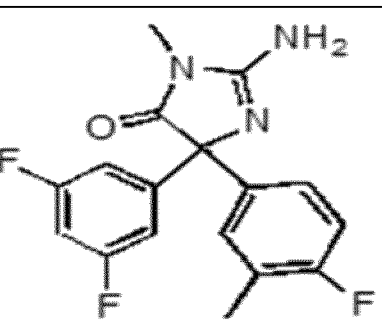
En determinadas realizaciones, cualquiera de los compuestos anteriores es un enantiómero S sustancialmente puro.  
En determinadas realizaciones, cualquiera de los compuestos anteriores es un enantiómero R sustancialmente puro.

20

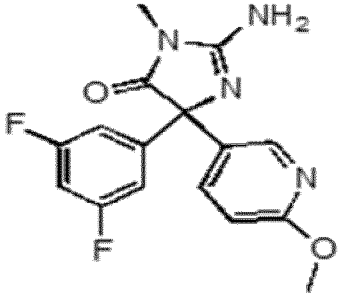
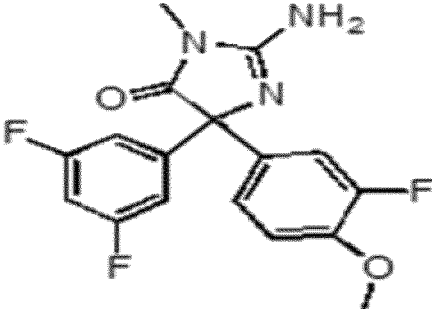
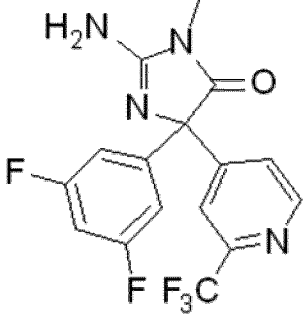
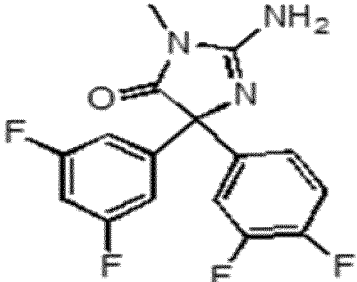
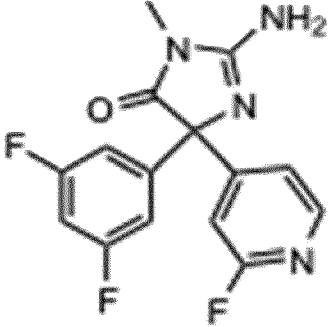
Diversos compuestos contemplados en el presente documento incluyen los compuestos que se muestran en la Tabla 4, concretamente, FAH-2, FAH-4, FAH-5, FAH-6, FAH-9, FAH-10, FAH-12, FAH-14, FAH-19, FAH-22, FAH-23, FAH-25, FAH-28, presentándose los demás únicamente con fines ilustrativos.

Tabla 4. Compuestos ilustrativos

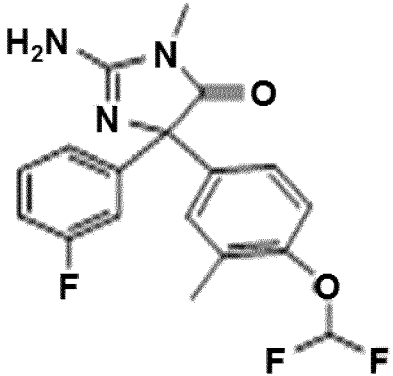
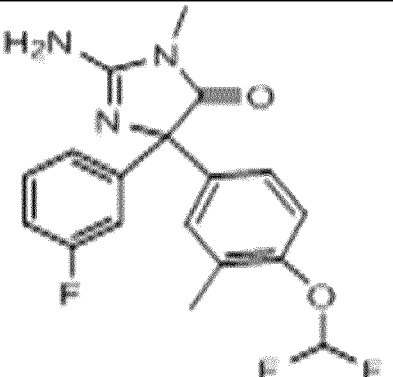
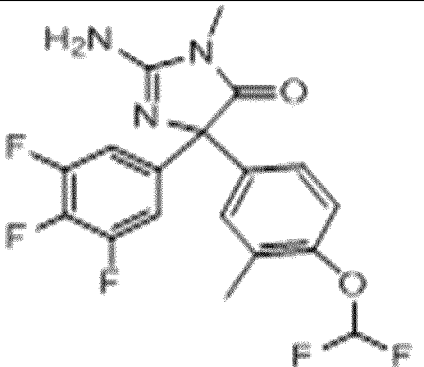
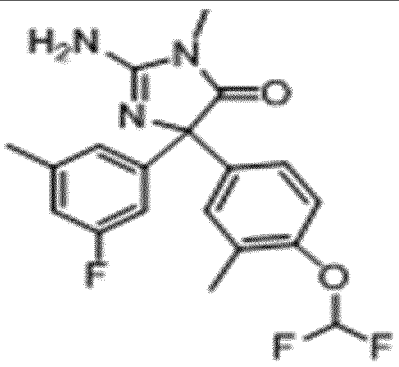
FAH n.º	Estructura	PM
FAH-3		381,3
FAH-1		301,3
FAH-2		367,3
FAH-4		367,3

FAH n.º	(continuación) Estructura	PM
FAH-5		329,3
FAH-6		345,3
FAH-8		345,3
FAH-9		359,3
FAH-10		333,3

(continuación)

FAH n.º	Estructura	PM
FAH-11		332,31
FAH-12		349,3
FAH-13		371,3
FAH-14		337,3
FAH-15		320,27



FAH n.º	(continuación) Estructura	PM
FAH-17		363,33
HCl FAH-17		399,8
FAH-19		399,32
FAH-22		377,36

(continuación)		
FAH n.º	Estructura	PM
FAH-23		379,79
FAH-25		397,78
FAH-27		359,37
FAH-28		413,34

Con respecto a estos compuestos, también se contemplan sales farmacéuticamente aceptables, tautómeros, sales farmacéuticamente aceptables de un tautómero, enantiómeros de los mismos, y sales farmacéuticamente aceptables de un enantiómero de los mismos. Además, se contemplan enantiómeros S sustancialmente puros o enantiómeros R sustancialmente puros de estos compuestos.

En las figuras 1 y 2 también se muestran diversas hidantoínas ilustrativas. En determinadas realizaciones, se contemplan sales farmacéuticamente aceptables, tautómeros, sales farmacéuticamente aceptables de un tautómero, enantiómeros de las mismas, y una sal farmacéuticamente aceptable de un enantiómero.

Con respecto a determinadas moléculas en la figura 1, sin pretender quedar ligado a una teoría particular, se cree que el anillo B con metilo y OCHF<sub>2</sub> muestra una mayor potencia con una sustitución en 3,4. Se cree que este tipo de patrón

de sustitución interactúa con el Trp-76 de la flap de BACE, interrumpiendo la interacción del Tyr-71 de la flap con el Trp-76 y volteando el Tyr-71 hacia la izquierda, permitiéndole interactuar con los grupos difluoro del anillo A (véase también la figura 3).

- 5 En determinadas realizaciones, el compuesto es un enantiómero "S" sustancialmente puro. En determinadas realizaciones, el compuesto es un enantiómero "R" sustancialmente puro. En determinadas realizaciones, el compuesto se une a APP y/o a la enzima BACE y/o a un complejo de APP/BACE.

- 10 Los expertos en la técnica conocen métodos para preparar hidantoínas tales como los que se describen en el presente documento. Generalmente, en un enfoque, la hidantoína relevante (por ejemplo, una difluorohidantoína) se prepararía a partir de 3,4 difluoro benzaldehído transformado en diona y condensado con urea para producir la hidantoína como se describe en el Ejemplo 1.

- 15 Los protocolos ilustrativos para la síntesis de FAH-1, FAH-2, FAH-3, FAH-4, FAH-5, FAH-17, sal HCl de FAH-17, FAH-22, FAH-23, FAH-27 y FAH-28 (véase la Tabla 4) se proporcionan en los Ejemplos 1-11. La síntesis de compuestos adicionales descritos en el presente documento son variaciones sencillas de los esquemas de síntesis proporcionados en el presente documento.

- 20 Los diversos agentes activos y esquemas de síntesis pretenden ser ilustrativos y no limitativos. Usando las enseñanzas proporcionadas en el presente documento, muchos otros (por ejemplo, las hidantoínas o uno o más tautómeros o estereoisómeros de las mismas, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de dicha una o más hidantoínas, dicho uno o más estereoisómeros, o dicho uno o más tautómeros de las mismas, se pueden sintetizar e identificar por un experto en la técnica.

- 25 En la Tabla 5 se muestra la actividad ilustrativa de determinados inhibidores de BACE selectivos de APP descritos anteriormente.

Tabla 5. Actividad ilustrativa de determinados inhibidores de BACE selectivos de APP descritos en el presente documento.

Compuesto	cLogP	Cribado primario	Cribado secundario					
		Cl <sub>50</sub> de BACE1 (μM)	sAPP alfa	sAPP beta	sAPP(α/β)	Aβ1-42	Cl <sub>50</sub> de NRG1-BACD1	APP Kd
FAH-3	3,34	0,53	↑>10 %	↓<20 %	↑≈10 %	>1 μM	ND	≈0,3 μM
FAH-17	3,2	0,15	↑>20 %	↓<50 %	↑>100 %	>1 μM	>1 μM	<1 μM
FAH-22		0,71	↑>10 %	↓<20 %	↑≈50 %	ND	ND	
FAH-23		0,32	↑>20 %	↓<20 %	↑>50 %	ND	ND	
FAH-27		0,13	↑>30 %	↓<30 %	↑>100 %	ND	ND	
FAH-28		0,38	↑>20 %	↓<20 %	↑>50 %	ND	ND	

### 30 **Formulaciones farmacéuticas.**

- 35 En determinadas realizaciones, uno o más agentes activos descritos en el presente documento (por ejemplo, las hidantoínas descritas en el presente documento, o uno o más tautómeros o estereoisómeros de las mismas, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de dicha una o más hidantoínas, dicho uno o más estereoisómeros, o dicho uno o más tautómeros de las mismas) se administran a un mamífero que lo necesite, por ejemplo, a un mamífero en riesgo de padecer o que padece una patología caracterizada por un procesamiento anómalo de proteínas precursoras amiloides, un mamífero en riesgo de progresión de DCL a enfermedad de Alzheimer, etc. En determinadas realizaciones, el uno o más agentes activos se administran para prevenir o retrasar la aparición de una afección y/o
- 40 disfunción cognitiva previa al Alzheimer, y/o para mejorar uno o más síntomas de una disfunción cognitiva previa al Alzheimer, y/o para prevenir o retrasar la progresión de una afección o disfunción cognitiva previa al Alzheimer a la enfermedad de Alzheimer, y/o para promover el procesamiento de la proteína precursora amiloide (APP) por una ruta no amiloidogénica.

- 45 En determinadas realizaciones, uno o más agentes activos descritos en el presente documento (por ejemplo, las hidantoínas descritas en el presente documento, o uno o más tautómeros o estereoisómeros de las mismas, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de dicha una o más hidantoínas, dicho uno o más estereoisómeros, o dicho uno o más tautómeros de las mismas) se administran a un mamífero que lo necesite, por ejemplo, a un mamífero en riesgo de padecer o que padece una patología caracterizada por un procesamiento anómalo de proteínas precursoras amiloides en afecciones distintas de la enfermedad de Alzheimer de DCL. Las afecciones ilustrativas incluyen, pero sin limitación, síntomas de tipo EA de pacientes con síndrome de Down, glaucoma, degeneración macular (por ejemplo, degeneración macular relacionada con la edad (DMAE), deterioro del olfato, en el tratamiento de la diabetes tipo II, incluida la diabetes asociada con amiloidogénesis, enfermedades neurodegenerativas tales como tembladera de las ovejas, encefalopatías espongiiformes bovinas (por ejemplo, EEB), lesión cerebral traumática ("LCT"),

enfermedad de Creutzfeld-Jakob y similares, diabetes tipo II. Se contemplan otras afecciones caracterizadas por la formación/deposición de amiloide. Dichas afecciones incluyen, pero sin limitación, enfermedad de Huntington, carcinoma medular de tiroides, arritmias cardíacas, amiloidosis auricular aislada, aterosclerosis, artritis reumatoide, amiloide medial aórtica, prolactinomas, polineuropatía amiloide familiar, amiloidosis sistémica no neuropática hereditaria, amiloidosis relacionada con diálisis, amiloidosis de tipo finlandés, distrofia corneal en celosía, angiopatía amiloide cerebral (por ejemplo, de tipo islandés), amiloidosis AL sistémica, miositis por cuerpos de inclusión esporádica, demencia cerebrovascular y similares.

El uno o más agentes activos (por ejemplo, las hidantoínas descritas en el presente documento) se pueden administrar en forma "nativa" o, si se desea, en forma de sales, ésteres, amidas, derivados y similares, siempre que la sal, éster, amida o derivado sean farmacológicamente adecuados, es decir, eficaces en los presentes métodos. Las sales, ésteres, amidas y otros derivados de los agentes activos se pueden preparar usando procedimientos estándar conocidos por los expertos en la técnica de la química orgánica sintética y descritos, por ejemplo, por March (1992) *Advanced Organic Chemistry; Reactions, Mechanisms and Structure*, 4ª Ed. N.Y. Wiley-Interscience, y como se ha descrito anteriormente.

Por ejemplo, se puede preparar una sal farmacéuticamente aceptable para cualquiera del uno o más agentes descritos en el presente documento que tenga una funcionalidad capaz de formar una sal. Una sal farmacéuticamente aceptable es cualquier sal que conserve la actividad del compuesto precursor y no imparta ningún efecto perjudicial o adverso sobre el sujeto al que se administra y en el contexto en el que se administra.

En diversas realizaciones, las sales farmacéuticamente aceptables pueden obtenerse a partir de bases orgánicas o inorgánicas. La sal puede ser un ión mono o polivalente. De particular interés son los iones inorgánicos, litio, sodio, potasio, calcio y magnesio. Las sales orgánicas se pueden preparar con aminas, particularmente sales de amonio tales como mono-, di- y trialkilaminas o etanolaminas. También se pueden formar sales con cafeína, trometamina y moléculas similares.

Los expertos en la técnica conocen bien los métodos para formular agentes farmacéuticamente activos tales como sales, ésteres, amidas y similares. Por ejemplo, se pueden preparar sales a partir de la base libre usando una metodología convencional que típicamente implica la reacción con un ácido adecuado. Generalmente, la forma básica del fármaco se disuelve en un disolvente orgánico polar tal como metanol o etanol y se le añade el ácido. La sal resultante precipita o bien puede sacarse de la solución mediante la adición de un disolvente menos polar. Los ácidos adecuados para preparar sales de adición de ácidos incluyen, pero sin limitación, tanto ácidos orgánicos, por ejemplo, ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido málico, ácido malónico, ácido succínico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido salicílico y similares, así como ácidos inorgánicos, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares. Una sal de adición de ácidos puede reconvertirse en la base libre mediante tratamiento con una base adecuada. Determinadas sales de adición de ácidos particularmente preferidas de los principios activos de la presente invención incluyen sales de haluro, tales como las que pueden prepararse usando ácidos clorhídrico o bromhídrico. Por el contrario, la preparación de sales básicas de los principios activos de esta invención se prepara de manera similar usando una base farmacéuticamente aceptable tal como hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, hidróxido de amonio, hidróxido de calcio, trimetilamina o similares. Las sales básicas particularmente preferidas incluyen sales de metales alcalinos, por ejemplo, la sal de sodio y sales de cobre.

Para la preparación de formas salinas de fármacos básicos, la pKa del contraión es preferentemente al menos aproximadamente 2 unidades de pH menor que la pKa del fármaco. De manera similar, para la preparación de formas salinas de fármacos ácidos, la pKa del contraión es preferentemente al menos aproximadamente 2 unidades de pH mayor que la pKa del fármaco. Esto permite que el contraión lleve el pH de la solución a un nivel inferior al pH<sub>máx</sub> para alcanzar la meseta salina, en la que la solubilidad de la sal prevalece sobre la solubilidad del ácido o base libre. La regla generalizada de diferencia en unidades pKa del grupo ionizable en el principio farmacéutico activo (API) y en el ácido o base tiene como objetivo hacer que la transferencia de protones sea energéticamente favorable. Cuando la pKa del API y el contraión no son significativamente diferentes, puede formarse un complejo sólido, pero puede desproporcionarse rápidamente (es decir, descomponerse en las entidades individuales de fármaco y contraión) en un ambiente acuoso.

Preferentemente, el contraión es un contraión farmacéuticamente aceptable. Las formas de sales aniónicas adecuadas incluyen, pero sin limitación, acetato, benzoato, bencilato, bitartrato, bromuro, carbonato, cloruro, citrato, edetato, edisilato, estolato, fumarato, gluceptato, gluconato, bromhidrato, clorhidrato, yoduro, lactato, lactobionato, malato, maleato, mandelato, mesilato, bromuro de metilo, sulfato de metilo, mucato, napsilato, nitrato, pamoato (embonato), fosfato y difosfato, salicilato y disalicilato, estearato, succinato, sulfato, tartrato, tosilato, trietoduro, valerato y similares, mientras que las formas salinas catiónicas adecuadas incluyen, pero sin limitación, aluminio, benzatina, calcio, etilendiamina, lisina, magnesio, meglumina, potasio, procaína, sodio, trometamina, cinc y similares.

La preparación de ésteres típicamente implica la funcionalización de grupos hidroxilo y/o carboxilo que están presentes dentro de la estructura molecular del principio activo. En determinadas realizaciones, los ésteres son típicamente

derivados sustituidos con acilo de grupos alcohol libres, es decir, restos que proceden de ácidos carboxílicos de fórmula  $\text{RCOOH}$ , donde R es alquilo y preferentemente es alquilo inferior. Los ésteres pueden reconvertirse en ácidos libres, si se desea, mediante el uso de procedimientos convencionales de hidrogenólisis o hidrólisis.

5 Las amidas también pueden prepararse usando técnicas conocidas por los expertos en la técnica o descritas en la bibliografía pertinente. Por ejemplo, pueden prepararse amidas a partir de ésteres, usando reactivos de amina adecuados, o pueden prepararse a partir de un anhídrido o un cloruro de ácido mediante reacción con amoníaco o una alquilamina inferior.

10 En diversas realizaciones, los agentes activos identificados en el presente documento (por ejemplo, las hidantoínas descritas en el presente documento, o uno o más tautómeros o estereoisómeros de las mismas, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de dicha una o más hidantoínas, dicho uno o más estereoisómeros, o dicho uno o más tautómeros de las mismas) son útiles para administración parenteral, administración tópica, administración oral, administración nasal (o de otro modo inhalada), administración rectal o administración local, tal como por aerosol o transdérmica, para el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de una o más de las patologías/indicaciones descritas en el presente documento (por ejemplo, patologías caracterizadas por un exceso de formación y/o depósito de placa amiloide o procesamiento de amiloide o preamiloide no deseado).

20 En diversas realizaciones, los agentes activos descritos en el presente documento también se pueden combinar con un portador (excipiente) farmacéuticamente aceptable para formar una composición farmacológica. Los portadores farmacéuticamente aceptables pueden contener uno o más compuestos fisiológicamente aceptables que actúan, por ejemplo, para estabilizar la composición o para aumentar o disminuir la absorción del uno o más agentes activos. Los compuestos fisiológicamente aceptables pueden incluir, por ejemplo, carbohidratos, tales como glucosa, sacarosa o dextranos, antioxidantes, tales como ácido ascórbico o glutatión, agentes quelantes, proteínas de bajo peso molecular, potenciadores de la protección y la absorción tales como lípidos, composiciones que reducen el aclaramiento o hidrólisis de los agentes activos, o excipientes u otros estabilizadores y/o tampones.

25 Otros compuestos fisiológicamente aceptables, particularmente de uso en la preparación de comprimidos, cápsulas, cápsulas de gel y similares incluyen, pero sin limitación, aglutinantes, diluyentes/cargas, disgregantes, lubricantes, agentes de suspensión y similares.

30 En determinadas realizaciones, para fabricar una forma farmacéutica oral (por ejemplo, un comprimido), un excipiente (por ejemplo, lactosa, sacarosa, almidón, manitol, *etc.*), un disgregante opcional (por ejemplo, carbonato de calcio, carboximetilcelulosa de calcio, almidón glicolato de sodio, crospovidona, *etc.*), un aglutinante (por ejemplo, alfa-almidón, goma arábiga, celulosa microcristalina, carboximetilcelulosa, polivinilpirrolidona, hidroxipropilcelulosa, ciclodextrina, *etc.*) y un lubricante opcional (por ejemplo, talco, estearato de magnesio, polietilenglicol 6000, *etc.*), por ejemplo, se añaden al componente o componentes activos (por ejemplo, las hidantoínas descritas en el presente documento, o uno o más tautómeros o estereoisómeros de las mismas, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de dicha una o más hidantoínas, dicho uno o más estereoisómeros, o dicho uno o más tautómeros de las mismas) y la composición resultante se comprime. Cuando sea necesario, el producto comprimido se recubre, por ejemplo, usando métodos conocidos para enmascarar el sabor o para disolución entérica o liberación sostenida. Los materiales de recubrimiento adecuados incluyen, pero sin limitación, etilcelulosa, hidroximetilcelulosa, POLYOX® etilenglicol, acetato ftalato de celulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa y Eudragit (Rohm & Haas, Alemania; copolímero metacrílico-acrílico).

45 Otros compuestos fisiológicamente aceptables incluyen agentes humectantes, agentes emulsionantes, agentes dispersantes o conservantes que son particularmente útiles para prevenir el crecimiento o la acción de microorganismos. Diversos conservantes se conocen bien e incluyen, por ejemplo, fenol y ácido ascórbico. Un experto en la técnica apreciaría que la elección de uno o por portadores farmacéuticamente aceptables, incluyendo un compuesto fisiológicamente aceptable, depende, por ejemplo, de la vía de administración del uno o más agentes activos y de las características fisicoquímicas particulares del uno o más agentes activos.

50 En determinadas realizaciones, los excipientes son estériles y generalmente están exentos de materias no deseadas. Estas composiciones pueden esterilizarse mediante técnicas de esterilización convencionales ya conocidas. Para diversas formas farmacéuticas orales, excipientes tales como comprimidos y cápsulas, no se requiere esterilidad. Normalmente basta con aplicar la norma de la USP/NF.

60 Las composiciones farmacéuticas se pueden administrar en una diversidad de formas farmacéuticas unitarias en función del método de administración. Las formas farmacéuticas unitarias adecuadas incluyen, pero sin limitación, polvos, comprimidos, píldoras, cápsulas, pastillas para chupar, supositorios, parches, aerosoles nasales, inyectables, formulaciones implantables de liberación sostenida, películas mucoadherentes, barnices tópicos, complejos lipídicos, *etc.*

65 Las composiciones farmacéuticas que comprenden los agentes activos descritos en el presente documento (por ejemplo, las hidantoínas descritas en el presente documento, o uno o más tautómeros o estereoisómeros de las mismas, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de dicha una o más hidantoínas, dicho uno o más

estereoisómeros, o dicho uno o más tautómeros de las mismas) se pueden fabricar por medio de procesos convencionales de mezcla, disolución, granulación, preparación de grageas, levigación, emulsión, encapsulación, atrapamiento o liofilización. Las composiciones farmacéuticas se pueden formular de una manera convencional usando uno o más portadores, diluyentes, excipientes o auxiliares fisiológicamente aceptables que facilitan el procesamiento del uno o más agentes activos en preparaciones que se pueden usar farmacéuticamente. La formulación adecuada depende de la vía de administración elegida.

En determinadas realizaciones, los agentes activos descritos en el presente documento se formulan para administración oral. Para la administración oral, se pueden formular fácilmente formulaciones adecuadas combinando el uno o más agentes activos con portadores farmacéuticamente aceptables adecuados para la administración oral bien conocidos en la técnica. Dichos portadores permiten que el uno o más agentes activos descritos en el presente documento se formulen en forma de comprimidos, píldoras, grageas, comprimidos oblongos, pastillas para chupar, cápsulas de gel, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, pastas, suspensiones y similares, para la ingestión oral por un paciente a tratar. Para formulaciones sólidas orales tales como, por ejemplo, polvos, cápsulas y comprimidos, los excipientes adecuados pueden incluir cargas tales como azúcares (por ejemplo, lactosa, sacarosa, manitol y sorbitol), preparaciones de celulosa (por ejemplo, almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz, almidón de patata, gelatina, goma de tragacanto, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio), polímeros sintéticos (por ejemplo, polivinilpirrolidona (PVP)), agentes granulantes; y agentes aglutinantes. Si se desea, pueden añadirse agentes disgregantes, tales como polivinilpirrolidona reticulada, agar o ácido algínico o una sal de los mismos, tal como alginato de sodio. Si se desea, las formas farmacéuticas sólidas pueden estar recubiertas de azúcar o con recubrimiento entérico usando técnicas estándar. La preparación de partículas con recubrimiento entérico se describe, por ejemplo, en las Pat. de EE.UU. N.º 4.786.505 y 4.853.230.

Para la administración por inhalación, el uno o más agentes activos se suministran convenientemente en forma de aerosol desde paquetes presurizados o un nebulizador, con el uso de un propulsor adecuado, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado. En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosificación se puede determinar proporcionando una válvula para suministrar una cantidad medida. Pueden formularse cápsulas y cartuchos de, por ejemplo, gelatina para su uso en un inhalador o insuflador que contienen una mezcla de polvo del compuesto y una base de polvo adecuada tal como lactosa o almidón.

En diversas realizaciones, el uno o más agentes activos se pueden formular en composiciones rectales o vaginales tales como supositorios o enemas de retención, que contienen, por ejemplo, bases para supositorio convencionales, tales como manteca de cacao u otros glicéridos. Los métodos para formular agentes activos para suministro rectal o vaginal se conocen bien por los expertos en la técnica (véase, por ejemplo, Allen (2007) *Suppositories*, Pharmaceutical Press) y típicamente implican combinar los agentes activos con una base adecuada (por ejemplo, materiales hidrófilos (PEG), lipófilos tales como manteca de cacao o Witepsol W45, materiales anfífilos tales como Suppocire AP y glicérido poliglicolizado, y similares). La base se selecciona y se compone para obtener un perfil de fusión/suministro deseado.

Para la administración tópica, el uno o más agentes activos descritos en el presente documento (por ejemplo, las hidantoínas descritas en el presente documento, o uno o más tautómeros o estereoisómeros de las mismas, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de dicha una o más hidantoínas, dicho uno o más estereoisómeros, o dicho uno o más tautómeros de las mismas) se pueden formular en forma de soluciones, geles, ungüentos, cremas, suspensiones y similares como se conoce bien en la técnica.

En determinadas realizaciones, los agentes activos descritos en el presente documento se formulan para administración sistémica (por ejemplo, como inyectable) de acuerdo con métodos estándar bien conocidos por los expertos en la técnica. Las formulaciones sistémicas incluyen, pero sin limitación, las diseñadas para administración mediante inyección, por ejemplo, inyección subcutánea, intravenosa, intramuscular, intratecal o intraperitoneal, así como las diseñadas para administración transdérmica, transmucosa oral o pulmonar. Para inyección, los agentes activos descritos en el presente documento se pueden formular en soluciones acuosas, preferentemente en tampones fisiológicamente compatibles tales como solución de Hanks, solución de Ringer o tampón de solución salina fisiológica y/o en determinadas formulaciones de emulsión. La una o más soluciones pueden contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilizantes y/o dispersantes. En determinadas realizaciones, el uno o más agentes activos se pueden proporcionar en forma de polvo para su constitución con un vehículo adecuado, por ejemplo, agua esterilizada apirógena, antes de su uso. Para la administración transmucosa y/o para el paso de la barrera hematoencefálica, se pueden usar en la formulación penetrantes apropiados para la barrera a permear. Dichos penetrantes son generalmente conocidos en la técnica. Las formulaciones inyectables y las formulaciones inhalables generalmente se proporcionan como una formulación estéril o sustancialmente estéril.

Además de las formulaciones descritas previamente, el uno o más agentes activos también pueden formularse como preparaciones de depósito. Dichas formulaciones de larga duración pueden administrarse mediante implante (por ejemplo, subcutáneo o intramuscular) o mediante inyección intramuscular. Por lo tanto, por ejemplo, el uno o más agentes activos pueden formularse con materiales poliméricos o hidrófobos adecuados (por ejemplo, como una emulsión en un aceite aceptable) o resinas de intercambio iónico, o como derivados moderadamente solubles, por

ejemplo, como una sal moderadamente soluble.

En determinadas realizaciones, el uno o más agentes activos descritos en el presente documento también se pueden suministrar a través de la piel usando sistemas de suministro de fármacos transdérmicos convencionales, es decir, "parches" transdérmicos en donde el uno o más agentes activos típicamente están contenidos dentro de una estructura laminada que sirve como dispositivo de suministro de fármacos que se fijará a la piel. En tal estructura, la composición farmacológica típicamente está contenida en una capa, o "reservorio", subyacente a una capa de soporte superior. Se apreciará que el término "reservorio" en este contexto se refiere a una cantidad de "uno o más principios activos" que, en última instancia, están disponibles para su suministro a la superficie de la piel. Por lo tanto, por ejemplo, el "reservorio" puede incluir el uno o más principios activos en un adhesivo sobre una capa de soporte del parche, o en cualquiera de una diversidad de formulaciones de matriz diferentes conocidas por los expertos en la técnica. El parche puede contener un único reservorio o puede contener múltiples reservorios.

En una realización ilustrativa, el reservorio comprende una matriz polimérica de un material adhesivo de contacto farmacéuticamente aceptable que sirve para fijar el sistema a la piel durante el suministro del fármaco. Los ejemplos de materiales adhesivos de contacto con la piel adecuados incluyen, pero sin limitación, polietilenos, polisiloxanos, poliisobutilenos, poliácridatos, poliuretanos y similares. Como alternativa, el reservorio que contiene el fármaco y el adhesivo de contacto con la piel están presentes como capas separadas y distintas, con el adhesivo subyacente al reservorio que, en este caso, puede ser una matriz polimérica como se ha descrito anteriormente, o puede ser un reservorio de líquido o hidrogel, o puede adoptar alguna otra forma. La capa de soporte en estos laminados, que sirve como superficie superior del dispositivo, funciona preferentemente como un elemento estructural primario del "parche" y proporciona al dispositivo gran parte de su flexibilidad. El material seleccionado para la capa de soporte sustancialmente es preferentemente impermeable al uno o más agentes activos y a cualquier otro material que esté presente.

Como alternativa, se pueden emplear otros sistemas de suministro farmacéutico. Por ejemplo, los liposomas, emulsiones y microemulsiones/nanoemulsiones son ejemplos bien conocidos de vehículos de suministro que pueden usarse para proteger y suministrar compuestos farmacéuticamente activos. También se pueden emplear determinados disolventes orgánicos tales como dimetilsulfóxido, aunque normalmente a costa de una mayor toxicidad.

En determinadas realizaciones, el uno o más agentes activos descritos en el presente documento (por ejemplo, las hidantoínas descritas en el presente documento, o uno o más tautómeros o estereoisómeros de las mismas, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de dicha una o más hidantoínas, dicho uno o más estereoisómeros, o dicho uno o más tautómeros de las mismas) se formulan en una nanoemulsión. Las nanoemulsiones incluyen, pero sin limitación, nanoemulsiones de aceite en agua (Ac./Ag.) y nanoemulsiones de agua en aceite (Ag./Ac.). Las nanoemulsiones se pueden definir como emulsiones con diámetros de gota medios que varían de aproximadamente 20 a aproximadamente 1000 nm. Normalmente, el tamaño de gota promedio está entre aproximadamente 20 nm o 50 nm y aproximadamente 500 nm. Los términos emulsión submicrométrica (SME, por sus siglas en inglés) y miniemulsión se usan como sinónimos.

Las nanoemulsiones de aceite en agua (Ac./Ag.) ilustrativas incluyen, pero sin limitación: Micelas de tensioactivos: micelas compuestas por moléculas pequeñas de tensioactivos o detergentes (por ejemplo, SDS/PBS/2-propanol); Micelas de polímero: Micelas compuestas por tensioactivos de polímero, copolímero o copolímero en bloque (por ejemplo, Pluronic L64/PBS/2-propanol); Micelas mezcladas: Micelas en las que hay más de un componente tensioactivo o en las que una de las fases líquidas (generalmente un compuesto de alcohol o ácido graso) participa en la formación de la micela (por ejemplo, ácido octanoico/PBS/EtOH); Micelas integrales: Micelas mezcladas en las que el uno o más agentes activos sirven como tensioactivo auxiliar, formando parte integral de la micela; y emulsiones Pickering (fase sólida): Emulsiones en las que el uno o más agentes activos están asociados con el exterior de una nanopartícula sólida (por ejemplo, nanopartículas de poliestireno/PBS/sin fase oleosa).

Las nanoemulsiones de agua en aceite (Ag./Ac.) ilustrativas incluyen, pero sin limitación: Micelas de tensioactivos: micelas compuestas por moléculas pequeñas de tensioactivos o detergentes (por ejemplo, sulfosuccinato de dioctilo/PBS/2-propanol, miristato de isopropilo/PBS/2-propanol, etc.); Micelas de polímero: Micelas compuestas por tensioactivos de polímero, copolímero o copolímero en bloque (por ejemplo, PLURONIC® L121/PBS/2-propanol); Micelas mezcladas: Micelas en las que hay más de un componente tensioactivo o en las que una de las fases líquidas (generalmente un compuesto de alcohol o ácido graso) participa en la formación de la micela (por ejemplo, diglicérido cáprico/caprílico/PBS/EtOH); Micelas integrales: Micelas mezcladas en las que el uno o más agentes activos sirven como tensioactivo auxiliar, formando parte integral de la micela (por ejemplo, agente activo/PBS/polipropilenglicol); y emulsiones Pickering (fase sólida): Emulsiones en las que el uno o más agentes activos están asociados con el exterior de una nanopartícula sólida (por ejemplo, nanopartículas de quitosano/sin fase acuosa/aceite mineral).

Como se ha indicado anteriormente, en determinadas realizaciones, las nanoemulsiones comprenden uno o más tensioactivos o detergentes. En algunas realizaciones, el tensioactivo es un detergente no aniónico (por ejemplo, un tensioactivo de polisorbato, un éter de polioxietileno, etc.). Los tensioactivos que encuentran uso en la presente invención incluyen, pero sin limitación, tensioactivos tales como las familias de compuestos TWEEN®, TRITON® y TYLOXAPOL®.

En determinadas realizaciones, las emulsiones comprenden además uno o más compuestos catiónicos que contienen halógeno, incluyendo, pero sin limitación, cloruro de cetilpiridinio. En aún otras realizaciones, las composiciones comprenden además uno o más compuestos que aumentan la interacción ("potenciadores de la interacción") de la composición con microorganismos (por ejemplo, agentes quelantes como ácido etilendiaminotetraacético o ácido etilenbis(oxietilnonitrilo)tetraacético en un tampón).

En algunas realizaciones, la nanoemulsión comprende además un agente emulsionante para ayudar en la formación de la emulsión. Los agentes emulsionantes incluyen compuestos que se agregan en la interfaz de aceite/agua para formar una especie de membrana continua que evita el contacto directo entre dos gotas adyacentes. Determinadas realizaciones de la presente invención presentan composiciones en emulsión de aceite en agua que pueden diluirse fácilmente con agua hasta una concentración deseada sin perjudicar sus propiedades antipatógenas.

Además de gotas de aceite discretas dispersas en una fase acuosa, determinadas emulsiones de aceite en agua también pueden contener otras estructuras lipídicas, tales como pequeñas vesículas lipídicas (por ejemplo, esferas lipídicas que a menudo consisten en varias bicapas lipídicas sustancialmente concéntricas separadas entre sí por capas de fase acuosa), micelas (por ejemplo, moléculas anfifílicas en pequeños grupos de 50-200 moléculas dispuestas de manera que los grupos de cabezas polares miran hacia afuera, hacia la fase acuosa y las colas apolares están secuestradas hacia dentro, lejos de la fase acuosa), o fases laminares (dispersiones lipídicas en las que cada partícula consiste en bicapas anfifílicas paralelas separadas por finas películas de agua).

Estas estructuras lipídicas se forman como resultado de fuerzas hidrófobas que alejan del agua los residuos apolares (por ejemplo, cadenas de hidrocarburos largas). Las preparaciones de lípidos anteriores se pueden describir generalmente como preparaciones de lípidos tensioactivos (SLP, por sus siglas en inglés). Los SLP son mínimamente tóxicos para las membranas mucosas y se cree que se metabolizan dentro del intestino delgado (véase, por ejemplo, Hamouda *et al.*, (1998) *J. Infect. Disease* 180: 1939).

En determinadas realizaciones, la emulsión comprende una fase oleosa discontinua distribuida en una fase acuosa, un primer componente que comprende un alcohol y/o glicerol, y un segundo componente que comprende un tensioactivo o un compuesto que contiene halógeno. La fase acuosa puede comprender cualquier tipo de fase acuosa incluyendo, pero sin limitación, agua (por ejemplo, agua dionizada, agua destilada, agua del grifo) y soluciones (por ejemplo, solución salina tamponada con fosfato u otros sistemas de tampón). La fase oleosa puede comprender cualquier tipo de aceite incluyendo, pero sin limitación, aceites vegetales (por ejemplo, aceite de soja, aceite de aguacate, aceite de linaza, aceite de coco, aceite de semilla de algodón, aceite de escualeno, aceite de oliva, aceite de canola, aceite de maíz, aceite de colza, aceite de cártamo y aceite de girasol), aceites animales (por ejemplo, aceite de pescado), aceite aromatizante, vitaminas insolubles en agua, aceite mineral y aceite de motor. En determinadas realizaciones, la fase oleosa comprende el 30-90 % en vol. de la emulsión de aceite en agua (por ejemplo, constituye el 30-90 % del volumen total de la emulsión final), más preferentemente el 50-80 %. No es necesario que las formulaciones se limiten a tensioactivos particulares, sin embargo, en determinadas realizaciones, el tensioactivo es un tensioactivo de polisorbato (por ejemplo, TWEEN 20®, TWEEN 40®, TWEEN 60® y TWEEN 80®), un feoxipolietoxietanol (por ejemplo, TRITON® X-100, X-301, X-165, X-102 y X-200, y TYLOXAPOL®), o dodecilsulfato de sodio, y similares.

En determinadas realizaciones, un componente que contiene halógeno está presente, la naturaleza del compuesto que contiene halógeno, en algunas realizaciones, el compuesto que contiene halógeno comprende una sal de cloruro (por ejemplo, NaCl, KCl, etc.), un haluro de cetilpiridinio, un haluro de cetiltrimetilamonio, un haluro de cetildimetiletilamonio, un haluro de cetildimetilbencilamonio, un haluro de cetiltributylfosfonio, haluros de dodeciltrimetilamonio, haluros de tetradeciltrimetilamonio, cloruro de cetilpiridinio, cloruro de cetiltrimetilamonio, cloruro de cetilbencildimetilamonio, bromuro de cetilpiridinio, bromuro de cetiltrimetilamonio, bromuro de cetildimetiletilamonio, bromuro de cetiltributylfosfonio, bromuro de dodeciltrimetilamonio, bromuro de tetradeciltrimetilamonio y similares.

En determinadas realizaciones, la emulsión comprende un compuesto de amonio cuaternario. Los compuestos de amonio cuaternario incluyen, pero sin limitación, sacarinato de N-alquildimetil bencil amonio, 1,3,5-triazin-1,3,5-(2H,4H,6H)-trietanol; 1-decanaminio, N-decil-N,N-dimetil-, cloruro (o) cloruro de didecil dimetil amonio; cloruro de 2-(2-(p-(diisobutil)cresosxi)etoxi)etil dimetil bencil amonio; cloruro de 2-(2-(p-(diisobutil)fenoxi)etoxi)etil dimetil bencil amonio; cloruro de alquil 1 o 3 bencil-1-(2-hidroxi)etil-2-imidazolinio; cloruro de alquil bis(2-hidroxi)etil)bencil amonio; cloruro de alquil dimetil bencil amonio; cloruro de alquil dimetil 3,4-diclorobencil amonio (100 % de C12); cloruro de alquil dimetil 3,4-diclorobencil amonio (50 % de C14, 40 % de C12, 10 % de C16); cloruro de alquil dimetil 3,4-diclorobencil amonio (55 % de C14, 23 % de C12, 20 % de C16); cloruro de alquil dimetil bencil amonio; cloruro de alquil dimetil bencil amonio (100 % de C14); cloruro de alquil dimetil bencil amonio (100 % de C16); cloruro de alquil dimetil bencil amonio (41 % de C14, 28 % de C12); cloruro de alquil dimetil bencil amonio (47 % de C12, 18 % de C14); cloruro de alquil dimetil bencil amonio (55 % de C16, 20 % de C14); cloruro de alquil dimetil bencil amonio (58 % de C14, 28 % de C16); cloruro de alquil dimetil bencil amonio (60 % de C14, 25 % de C12); cloruro de alquil dimetil bencil amonio (61 % de C11, 23 % de C14); cloruro de alquil dimetil bencil amonio (61 % de C12, 23 % de C14); cloruro de alquil dimetil bencil amonio (65 % de C12, 25 % de C14); cloruro de alquil dimetil bencil amonio (67 % de



C12, 24 % de C14); cloruro de alquil dimetil bencil amonio (67 % de C12, 25 % de C14); cloruro de alquil dimetil bencil amonio (90 % de C14, 5 % de C12); cloruro de alquil dimetil bencil amonio (93 % de C14, 4 % de C12); cloruro de alquil dimetil bencil amonio (95 % de C16, 5 % de C18); cloruro de alquil dimetil bencil amonio (y) cloruro de didecil dimetil amonio; cloruro de alquil dimetil bencil amonio (como en los ácidos grasos); cloruro de alquil dimetil bencil amonio (C12-C16); cloruro de alquil dimetil bencil amonio (C12-C18); cloruro de alquil dimetil bencil y dialquil dimetil amonio; cloruro de alquil dimetil dimetilbencil amonio; bromuro de alquil dimetil etil amonio (90 % de C14, 5 % de C16, 5 % de C12); bromuro de alquil dimetil etil amonio (grupos alquilo y alquenilo mixtos como en los ácidos grasos del aceite de soja); cloruro de alquil dimetil etilbencil amonio; cloruro de alquil dimetil etilbencil amonio (60 % de C14); cloruro de alquil dimetil isopropilbencil amonio (50 % de C12, 30 % de C14, 17 % de C16, 3 % de C18); cloruro de alquil trimetil amonio (58 % de C18, 40 % de C16, 1 % de C14, 1 % de C12); cloruro de alquil trimetil amonio (90 % de C18, 10 % de C16); cloruro de alquildimetil(etilbencil) amonio (C12-18); cloruros de di-alquil (C8-10) dimetil amonio; cloruro de dialquil dimetil amonio; cloruro de dialquil dimetil amonio; cloruro de dialquil dimetil amonio; cloruro de dialquil metil bencil amonio; cloruro de didecil dimetil amonio; cloruro de diisodecil dimetil amonio; cloruro de dioctil dimetil amonio; cloruro de dodecil bis(2-hidroxietil) octil hidrógeno amonio; cloruro de dodecil dimetil bencil amonio; cloruro de dodecil dimetil dodecilcarbamoil metil dimetil bencil amonio; cloruro de heptadecil hidroxietilimidazolinio; hexahidro-1,3,5-tris(2-hidroxietil)-s-triazina; cloruro de miristalconio (y) Quat RNIUM 14; polímero de cloruro de N,N-dimetil-2-hidroxipropilamonio; cloruro de n-alquil dimetil bencil amonio; cloruro de n-alquil dimetil etilbencil amonio; cloruro de n-tetradecil dimetil bencil amonio monohidrato; cloruro de octil decil dimetil amonio; cloruro de octil dodecil dimetil amonio; cloruro de octifenoxietoxietil dimetil bencil amonio; oxidietilenbis (cloruro de alquil dimetil amonio); compuestos de amonio cuaternario, dicoco alquildimetilo, cloruro; cloruro de trimetoxisilil propil dimetil octadecil amonio; trimetoxisilil quats, cloruro de trimetil dodecilbencil amonio; cloruro de n-dodecil dimetil etilbencil amonio; cloruro de n-hexadecil dimetil bencil amonio; cloruro de n-tetradecil dimetil bencil amonio; cloruro de n-tetradecil dimetil etilbencil amonio; y cloruro de n-octadecil dimetil bencil amonio.

Las formulaciones de nanoemulsiones y los métodos para prepararlas se conocen bien por los expertos en la técnica y se describen, por ejemplo, en las Patentes de EE.UU. N.º: 7.476.393, 7.468.402, 7.314.624, 6.998.426, 6.902.737, 6.689.371, 6.541.018, 6.464.990, 6.461.625, 6.419.946, 6.413.527, 6.375.960, 6.335.022, 6.274.150, 6.120.778, 6.039.936, 5.925.341, 5.753.241, 5.698.219, y 5.152.923 y en Fanun *et al.* (2009) Microemulsions: Properties and Applications (Surfactant Science), CRC Press, Boca Raton, FL.

En determinadas realizaciones, uno o más agentes activos descritos en el presente documento se pueden proporcionar como un "concentrado", por ejemplo, en un recipiente de almacenamiento (por ejemplo, en un volumen premedido) listo para dilución, o en una cápsula soluble lista para la adición a un volumen de agua, alcohol, peróxido de hidrógeno u otro diluyente.

#### **Formulaciones de liberación prolongada (liberación sostenida).**

En determinadas realizaciones, se contemplan formulaciones de "liberación prolongada" del uno o más agentes activos descritos en el presente documento (por ejemplo, las hidantoínas descritas en el presente documento, o uno o más tautómeros o estereoisómeros de las mismas, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de dicha una o más hidantoínas, dicho uno o más estereoisómeros, o dicho uno o más tautómeros de las mismas). En diversas realizaciones, tales formulaciones de liberación prolongada están diseñadas para evitar los niveles plasmáticos máximos elevados de las formas farmacéuticas intravenosas y orales de liberación inmediata convencionales.

Las formulaciones de liberación sostenida ilustrativas incluyen, por ejemplo, matrices semipermeables de polímeros sólidos que contienen el agente terapéutico. Se han establecido diversos usos de materiales de liberación sostenida y se conocen bien por los expertos en la técnica. Las cápsulas de liberación sostenida pueden liberar, dependiendo de su naturaleza química, los compuestos durante algunas semanas hasta más de 100 días. Dependiendo de la naturaleza química y la estabilidad biológica del reactivo terapéutico, se pueden emplear estrategias adicionales para la estabilización.

En determinadas realizaciones, dichas formulaciones de "liberación prolongada" utilizan la mucosa y pueden controlar independientemente la desintegración (o erosión) del comprimido y/o la disolución y liberación del fármaco del comprimido en el tiempo para proporcionar un perfil de suministro más seguro. En determinadas realizaciones, las formulaciones orales del uno o más agentes activos descritos en el presente documento (por ejemplo, las hidantoínas descritas en el presente documento, o uno o más tautómeros o estereoisómeros de las mismas, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de dicha una o más hidantoínas, dicho uno o más estereoisómeros, o dicho uno o más tautómeros de las mismas) proporcionan dosis individuales y repetitivas que incluyen una cantidad definida del agente activo que se suministra durante un período de tiempo definido.

Una formulación de liberación sostenida ilustrativa es una composición sustancialmente homogénea que comprende de aproximadamente el 0,01 % a aproximadamente el 99 % p/p, o de aproximadamente el 0,1 % a aproximadamente el 95 %, o aproximadamente el 0,1 %, o aproximadamente el 1 %, o aproximadamente el 2 %, o aproximadamente el 5 %, o aproximadamente el 10 %, o aproximadamente el 15 %, o de aproximadamente el 20 % a aproximadamente el 80 %, o a aproximadamente el 90 %, o a aproximadamente el 95 %, o a aproximadamente el 97 %, o a aproximadamente el 98 %, o a aproximadamente el 99 % del uno o más principios activos (por ejemplo, las hidantoínas

descritas en el presente documento, o uno o más tautómeros o estereoisómeros de las mismas, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de dicha una o más hidantoínas, dicho uno o más estereoisómeros, o dicho uno o más tautómeros de las mismas) y uno o más mucoadhesivos (también denominados en el presente documento "bioadhesivos") que proporcionan adherencia a la mucosa objetivo del sujeto (paciente) y que pueden comprender además uno o más de los siguientes: uno o más aglutinantes que proporcionan unión de los excipientes en un solo comprimido; uno o más excipientes formadores de hidrogel; uno o más agentes de carga; uno o más lubricantes; uno o más deslizantes; uno o más solubilizantes; uno o más tensioactivos; uno o más saporíferos; uno o más disgregantes; uno o más excipientes tamponantes; uno o más recubrimientos; uno o más modificadores de liberación controlada; y uno o más excipientes y factores que modifican y controlan el tiempo y la cinética de disolución o desintegración del fármaco o que protegen el fármaco activo de la degradación.

En diversas realizaciones, una forma farmacéutica de liberación sostenida para suministro transmucosa oral puede ser sólida o no sólida. En una realización ilustrativa, la forma farmacéutica es un sólido que se convierte en un hidrogel tras el contacto con la saliva.

Los excipientes adecuados incluyen, pero sin limitación, sustancias añadidas a las formulaciones que se requieren para producir un producto comercial y pueden incluir, pero sin limitación: agentes de carga, aglutinantes, tensioactivos, bioadhesivos, lubricantes, disgregantes, estabilizantes, solubilizantes, deslizantes y aditivos o factores que afectan al tiempo de disolución o desintegración. Los excipientes adecuados no se limitan a los anteriores, y se pueden encontrar otros portadores farmacéuticamente aceptables no tóxicos adecuados para su uso en formulaciones orales en Remington's Pharmaceutical Sciences, 17ª Edición, 1985.

En determinadas realizaciones, las formulaciones de liberación prolongada del uno o más agentes activos descritos en el presente documento para el suministro de fármacos transmucosa oral incluyen al menos un agente bioadhesivo (mucoadhesivo) o una mezcla de varios bioadhesivos para promover la adhesión a la mucosa oral durante el suministro del fármaco. Además, los agentes bioadhesivos también pueden ser eficaces para controlar el tiempo de erosión de la forma farmacéutica y/o la cinética de disolución del fármaco a lo largo del tiempo cuando se humedece la forma farmacéutica. Dichos sistemas de suministro de fármacos mucoadhesivos son muy beneficiosos, ya que pueden prolongar el tiempo de residencia del fármaco en el sitio de absorción y aumentar la biodisponibilidad del fármaco. Los polímeros mucoadhesivos que forman hidrogeles son típicamente hidrófilos e hinchables, y contienen numerosos grupos formadores de enlaces de hidrógeno, como hidroxilo, carboxilo o amina, que favorecen la adhesión. Cuando se usan en forma seca, atraen agua de la superficie de la mucosa y se hinchan, lo que lleva a una interacción polímero/muco a través de enlaces de hidrógeno, interacción electrostática, hidrofoba o de van der Waals.

Los materiales mucoadhesivos o bioadhesivos ilustrativos adecuados incluyen, pero sin limitación, polímeros, lípidos, fosfolípidos naturales, sintéticos o biológicos y similares. Los ejemplos de polímeros naturales y/o sintéticos incluyen derivados celulósicos (tales como metilcelulosa, carboximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxietilmetilcelulosa, etc.), gomas naturales (tales como goma guar, goma xantana, goma garrofin, goma karaya, goma veegum, etc.), poliacrilatos (tales como CARBOPOL®, policarbófilo, etc.), alginatos, polímeros que contienen tioles, POLYOX® etilenos, polietilenglicoles (PEG) de todos los pesos moleculares (preferentemente entre 1.000 y 40.000 Da, de cualquier química, lineales o ramificados), dextranos de todos los pesos moleculares (preferentemente entre 1000 y 40.000 Da de cualquier fuente), copolímeros en bloque, tales como los preparados mediante combinaciones de ácido láctico y glicólico (PLA, PGA, PLGA de diversas viscosidades, pesos moleculares y relaciones de ácido láctico-glicólico), copolímeros en bloque de polietilenglicol-polipropilenglicol de cualquier número y combinación de unidades repetidas (tales como copolímeros en bloque PLURONICS®, TEKTRONIX® o GENAPOL®), combinación de los copolímeros anteriores ya sean unidades unidas física o químicamente (por ejemplo, mezclas de copolímeros PEG-PLA o PEG-PLGA). Preferentemente, el excipiente bioadhesivo se selecciona del grupo de polietilenglicoles, POLYOX® etilenos, polímeros de ácido poliacrílico, tales como CARBOPOL® (tales como CARBOPOL® 71G, 934P, 971P, 974P y similares) y policarbófilos (tales como NOVEON® AA-1, NOVEON® CA-1, NOVEON® CA-2 y similares), celulosa y sus derivados, y mucho más preferentemente es polietilenglicol, carbopol y/o un derivado celulósico o una combinación de los mismos.

En determinadas realizaciones, el excipiente mucoadhesivo/bioadhesivo típicamente está presente a razón del 1-50 % p/p, preferentemente del 1-40 % p/p o mucho más preferentemente entre el 5-30 % p/p. Una formulación particular puede contener uno o más bioadhesivos diferentes en cualquier combinación.

En determinadas realizaciones, las formulaciones para el suministro de fármacos transmucosa oral también incluyen un aglutinante o una mezcla de dos o más aglutinantes que facilitan la unión de los excipientes en una sola forma farmacéutica. Los aglutinantes ilustrativos incluyen aglutinantes seleccionados del grupo que consiste en derivados celulósicos (tales como metilcelulosa, carboximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxietilmetilcelulosa, etc.), poliacrilatos (tales como CARBOPOL®, policarbófilo, etc.), POVIDONE® (todas las calidades), POLYOX® de cualquier peso molecular o calidad, irradiado o no, almidón, polivinilpirrolidona (PVP), AVICEL® y similares. En determinadas realizaciones, el aglutinante típicamente está presente a razón del 0,5-60 % p/p, preferentemente del 1-30 % p/p y mucho más preferentemente del 1,5-15 % p/p.

En determinadas realizaciones, las formulaciones también incluyen al menos un excipiente formador de hidrogel. Los

excipientes formadores de hidrogel ilustrativos incluyen, pero sin limitación, los seleccionados del grupo que consiste en polietilenglicoles y otros polímeros que tienen una cadena principal de etilenglicol, ya sean homopolímeros o heteropolímeros reticulados, copolímeros en bloque que usan unidades de etilenglicol, tales como homopolímeros de POLYOX® etileno (tal como POLYOX® N10/PM = 100.000 POLYOX®-80/PM = 200.000; POLYOX® 1105/PM = 900.000; POLYOX®-301/PM = 4.000.000; POLYOX®-303/PM = 7.000.000, POLYOX® WSR-N-60K, todos los cuales son nombres comerciales de Union Carbide), hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) de todos los pesos moleculares y grados (tales como METOLOSE® 90SH50000, METOLOSE® 90SH30000, todos los cuales son nombres comerciales de Shin-Etsu Chemical company), poloxámeros (tales como LUTROL® F-68, LUTROL® F-127, F-105, *etc.*, todos nombres comerciales de BASF Chemicals), GENAPOL®, polietilenglicoles (PEG, tales como PEG-1500, PEG-3500, PEG-4000, PEG-6000, PEG-8000, PEG-12000, PEG-20.000, *etc.*), gomas naturales (goma xantana, goma garrofin, *etc.*) y derivados de celulosa (HC, HMC, HMPC, HPC, CP, CMC), polímeros a base de ácido poliacrílico libres o reticulados y combinaciones de los mismos, polímeros biodegradables tales como ácidos polilácticos, ácidos poliglicólicos y cualquier combinación de los mismos, ya sea una mezcla física o reticulados. En determinadas realizaciones, los componentes del hidrogel pueden estar reticulados. El uno o más excipientes formadores de hidrogel están típicamente presentes a razón del 0,1-70 % p/p, preferentemente del 1-50 % p/p o mucho más preferentemente del 1-30 % p/p.

En determinadas realizaciones, las formulaciones también pueden incluir al menos un modificador de liberación controlada que es una sustancia que tras la hidratación de la forma farmacéutica se adherirá preferentemente a las moléculas del fármaco y, por lo tanto, reducirá la velocidad de su difusión desde la forma farmacéutica oral. Dichos excipientes también pueden reducir la tasa de absorción de agua por la formulación y permitir así una disolución y liberación del fármaco más prolongada del comprimido. En general, el uno o más excipientes seleccionados son lipófilos y son capaces de formar complejos de manera natural con los fármacos hidrófobos o lipófilos. El grado de asociación del modificador de liberación y el fármaco se puede variar alterando la relación de modificador-fármaco en la formulación. Además, dicha interacción puede mejorarse adecuadamente mediante la combinación adecuada del modificador de liberación con el fármaco activo en el proceso de fabricación. Como alternativa, el modificador de liberación controlada puede ser un polímero cargado, ya sea sintético o biopolimérico, que lleva una carga neta, ya sea positiva o negativa, y que es capaz de unirse al activo mediante interacciones electrostáticas modificando así tanto su difusión a través del comprimido como la cinética de su penetración a través de la superficie mucosa. De manera similar a los demás compuestos mencionados anteriormente, dicha interacción es reversible y no implica enlaces químicos permanentes con el activo. En determinadas realizaciones, el modificador de liberación controlada típicamente puede estar presente a razón del 0-80 % p/p, preferentemente del 1-20 % p/p, mucho más preferentemente del 1-10 % p/p.

En diversas realizaciones, las formulaciones de liberación prolongada también pueden incluir otros componentes convencionales necesarios para el desarrollo de formas farmacéuticas orales, que se conocen por los expertos en la técnica. Estos componentes pueden incluir uno o más agentes de carga (tales como lactosa USP, Starch 1500, manitol, sorbitol, malitol u otros azúcares no reductores; celulosa microcristalina (por ejemplo, AVICEL®), fosfato de calcio dibásico deshidratado, sacarosa y mezclas de los mismos), al menos uno o más agentes solubilizantes (tales como ciclodextrinas, ajustadores del pH, sales y tampones, tensioactivos, ácidos grasos, fosfolípidos, metales de ácidos grasos, *etc.*), sales metálicas y tampones orgánicos (tales como acetato, citrato, tartrato, *etc.*) o inorgánicos (fosfato, carbonato, bicarbonato, borato, sulfato, sulfito, bisulfito, metabisulfito, cloruro, *etc.*), sales de metales tales como sodio, potasio, calcio, magnesio, *etc.*), al menos un lubricante (tal como ácido esteárico y cationes divalentes, tales como estearato de magnesio, estearato de calcio, *etc.*, talco, monoestearato de glicerol y similares), uno o más deslizantes (tales como dióxido de silicio coloidal, dióxido de silicio precipitado, sílice pirógena (CABO-SIL® M-5P, marca registrada de Cabot Corporation), stearowet y sterotex, sílices (tales como sílices SILOID® y SILOX®, marcas registradas de Grace Davison Products, Aerosil, marca registrada de Degussa Pharma), ácidos grasos superiores, las sales metálicas de los mismos, aceites vegetales hidrogenados y similares), saporíferos o edulcorantes y colorantes (tales como aspartamo, manitol, lactosa, sacarosa, otros edulcorantes artificiales; óxidos férricos y lacas FD&C), aditivos para ayudar a estabilizar la sustancia farmacológica frente a la degradación química o física (tales como antioxidantes, agentes antihidrolíticos, bloqueadores de agregación, *etc.*). Los antioxidantes pueden incluir BHT, BHA, vitaminas, ácido cítrico, EDTA, bisulfato de sodio, metabisulfato de sodio, tiourea, metionina, tensioactivos, aminoácidos, tales como arginina, glicina, histidina, sales de metionina, ajustadores del pH, agentes quelantes y tampones en forma seca o en solución), uno o más excipientes que pueden afectar a la cinética de desintegración del comprimido y la liberación del fármaco del comprimido y, por lo tanto, la farmacocinética (disgregantes tales como los conocidos por los expertos en la técnica y pueden seleccionarse de un grupo que consiste en almidón, tipo carboximetilcelulosa o polivinilpirrolidona reticulada (tal como povidona, PVP-XL), alginatos, disgregantes a base de celulosa (tales como celulosa purificada, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica reticulada (Ac-Di-Sol) y carboximetilcelulosa), éteres hidroxipropílicos de celulosa de baja sustitución, celulosa microcristalina (tal como AVICEL®), resinas de intercambio iónico (tales como AMBRELITE® IPR 88), gomas (tales como agar, algarrobo, karaya, pectina y tragacanto), gomas guar, goma karaya, quitina y quitosano, smecta, goma gellan, cáscara de isapgula, polacrilina potásica (Tulsion<sup>339</sup>), disgregantes que desprenden gases (tales como ácido cítrico y ácido tartárico junto con bicarbonato de sodio, carbonato de sodio, bicarbonato de potasio o carbonato de calcio), almidón glicolato de sodio (tal como EXPLOTAB® y PRIMOGEL®), almidón DC y similares, al menos un polímero biodegradable de cualquier tipo útil para la liberación prolongada de fármacos. Las composiciones poliméricas de ejemplo incluyen, pero sin limitación, polianhídridos y copolímeros de ácido láctico y ácido glicólico, poli(dl-lactida-co-

glicolida) (PLGA), poli(ácido láctico) (PLA), poli(ácido glicólico) (PGA), polioésteres, proteínas y polisacáridos.

En determinadas realizaciones, el uno o más agentes activos se pueden modificar químicamente para modificar significativamente la farmacocinética en plasma. Esto se puede lograr, por ejemplo, mediante conjugación con polietilenglicol (PEG), incluyendo PEGilación específica de sitio. PEGilación, que puede mejorar el rendimiento del fármaco al optimizar la farmacocinética, disminuir la inmunogenicidad y la frecuencia de dosificación.

También se proporcionan métodos para preparar una formulación del uno o más agentes activos descritos en el presente documento (por ejemplo, las hidantoínas descritas en el presente documento, o uno o más tautómeros o estereoisómeros de las mismas, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de dicha una o más hidantoínas, dicho uno o más estereoisómeros, o dicho uno o más tautómeros de las mismas) para suministro gastrointestinal o transmucosa oral. Un método incluye las etapas de trituración del polvo, mezcla del polvo seco y formación de comprimidos mediante compresión directa. Como alternativa, puede usarse un proceso de granulación húmeda. Un método de este tipo (tal como un proceso de granulación de alto cizallamiento) implica mezclar el principio activo y posiblemente algunos excipientes en un mezclador. El aglutinante puede ser uno de los excipientes añadidos en estado de mezcla seca o disuelto en el fluido usado para la granulación. La solución o suspensión granuladora se añade a los polvos secos en el mezclador y se mezcla hasta lograr las características deseadas. Esto normalmente produce un gránulo que tendrá características adecuadas para producir formas farmacéuticas con un tiempo de disolución, una uniformidad de contenido y otras características físicas adecuadas. Después de la etapa de granulación húmeda, lo más frecuente es que el producto se seque y/o a continuación se muele después del secado para obtener un porcentaje importante del producto dentro de un intervalo de tamaño deseado. En ocasiones, el producto se seca después de dimensionarlo en húmedo usando un dispositivo tal como un granulador oscilante o un molino. A continuación, la granulación seca puede procesarse para obtener un intervalo de tamaño aceptable tamizando primero con un dispositivo de tamiz y a continuación moliendo las partículas de gran tamaño.

Además, la formulación puede fabricarse mediante procesos de granulación alternativos, todos conocidos por los expertos en la técnica, tales como granulación en lecho fluido por pulverización, extrusión y esferonización o granulación con rotor en lecho fluido.

Además, la forma farmacéutica en comprimido del uno o más agentes activos descritos en el presente documento puede prepararse recubriendo el comprimido primario fabricado como se ha descrito anteriormente con recubrimientos adecuados conocidos en la técnica. Tales recubrimientos están destinados a proteger los núcleos activos contra daños (abrasión, rotura, formación de polvo) contra las influencias a las que están expuestos los núcleos durante el transporte y el almacenamiento (humedad atmosférica, fluctuaciones de temperatura) y, naturalmente, estos recubrimientos de película también pueden estar coloreados. El efecto sellador de las películas contra el vapor de agua se expresa mediante la permeabilidad al vapor de agua. El recubrimiento puede realizarse mediante uno de los procesos disponibles, tales como recubrimiento Wurster, recubrimiento en seco, recubrimiento pelicular, recubrimiento con lecho fluido, recubrimiento en paila, etc. Los materiales de recubrimiento típicos incluyen polivinilpirrolidona (PVP), copolímero de polivinilpirrolidona-acetato de vinilo (PVPVA), alcohol de polivinilo (PVA), copolímero de alcohol polivinílico/polietilenglicol (PVA/PEG), acetato ftalato de celulosa, etilcelulosa, goma gellan, maltodextrina, metacrilatos, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC de todas las calidades y pesos moleculares), carragenano, goma laca y similares.

En determinadas realizaciones, el núcleo del comprimido que comprende el uno o más agentes activos descritos en el presente documento se puede recubrir con un material bioadhesivo y/o resistente al pH para permitir que un material, tal como los definidos anteriormente, mejore la bioadhesión del comprimido en la cavidad sublingual.

En determinadas realizaciones, el uno o más agentes activos descritos en el presente documento (por ejemplo, las hidantoínas descritas en el presente documento, o uno o más tautómeros o estereoisómeros de las mismas, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de dicha una o más hidantoínas, dicho uno o más estereoisómeros, o dicho uno o más tautómeros de las mismas) se formulan como complejos de inclusión. Aunque no se limita a los complejos de inclusión de ciclodextrina, cabe señalar que la ciclodextrina es el agente usado con mayor frecuencia para formar complejos de inclusión farmacéuticos. Las ciclodextrinas (CD) son oligómeros cíclicos de glucosa, que típicamente contienen 6, 7 u 8 monómeros de glucosa unidos por enlaces  $\alpha$ -1,4. Estos oligómeros se denominan comúnmente  $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD y  $\gamma$ -CD, respectivamente. Se conocen oligómeros superiores que contienen hasta 12 monómeros de glucosa y se contemplan en las formulaciones descritas en el presente documento. También se contemplan complejos de inclusión de ciclodextrina funcionalizados. Las ciclodextrinas funcionalizadas ilustrativas, pero no limitantes, incluyen, pero sin limitación, sulfonatos, sulfonatos y sulfinatos, o disulfonatos de hidroxibutenil ciclodextrina; sulfonatos, sulfonatos y sulfinatos, o disulfonatos de éteres mixtos de ciclodextrinas donde al menos uno de los sustituyentes éter es hidroxibutenilciclodextrina. Las ciclodextrinas ilustrativas incluyen un éter de polisacárido que comprende al menos un sustituyente 2-hidroxibutenilo, en donde el al menos un sustituyente hidroxibutenilo está sulfonado y sulfinado, o disulfonado, y un éter de alquilpoliglucósido que comprende al menos un sustituyente 2-hidroxibutenilo, en donde el al menos un sustituyente hidroxibutenilo está sulfonado y sulfinado, o disulfonado. En diversas realizaciones, se contemplan complejos de inclusión formados entre hidroxibutenil ciclodextrinas sulfonadas y uno o más del uno o más agentes activos descritos en el presente documento. Los métodos para preparar ciclodextrinas y complejos de inclusión de ciclodextrina se encuentran, por ejemplo, en la Publicación de Patente de EE.UU. N.º: 2004/0054164 y

las referencias citadas en la misma, y en la Publicación de Patente de EE.UU. N.º: 2011/0218173 y las referencias citadas en la misma.

### **Farmacocinética (PK) y atributos de formulación**

Una ventaja de las formulaciones orales (GI o transmucosa) de liberación prolongada (controlada) descritas en el presente documento es que pueden mantener la concentración del fármaco en plasma dentro de una ventana terapéutica específica durante un período más prolongado que con las formulaciones de liberación inmediata, ya sean formas farmacéuticas sólidas o formas farmacéuticas a base de líquido. Los altos niveles plasmáticos máximos observados típicamente para tales formulaciones de liberación inmediata convencionales se verán mitigados por la liberación prolongada del fármaco durante 1 a 12 horas o más. Además, se evitará una disminución rápida de los niveles plasmáticos, ya que el fármaco pasará continuamente desde la cavidad oral al torrente sanguíneo durante el tiempo de disolución del comprimido, proporcionando así una farmacocinética plasmática con una meseta más estable. Además, las formas farmacéuticas descritas en el presente documento pueden mejorar la seguridad del tratamiento al minimizar los efectos secundarios potencialmente perjudiciales debido a la reducción de los picos y valles en la farmacocinética del fármaco en plasma, que comprometen la seguridad del tratamiento.

En diversas realizaciones, las formulaciones transmucosa orales del uno o más agentes activos descritas en el presente documento están diseñadas para evitar los altos niveles plasmáticos máximos de las formas farmacéuticas orales de liberación inmediata intravenosas y convencionales utilizando la mucosa y controlando independientemente tanto la desintegración (o erosión) del comprimido como la disolución y la liberación del fármaco del comprimido en el tiempo para proporcionar un perfil de suministro más seguro. Las formulaciones orales descritas en el presente documento proporcionan dosis individuales y repetitivas que incluyen una cantidad definida del agente activo.

Una ventaja de las formulaciones transmucosa orales bioadhesivas descritas en el presente documento es que exhiben una biodisponibilidad altamente consistente y pueden mantener la concentración del fármaco en plasma dentro de una ventana terapéutica específica con una variabilidad significativamente menor durante un período más prolongado que las formas farmacéuticas disponibles actualmente, ya sean formas farmacéuticas sólidas o formas farmacéuticas IV. Además, se evita una rápida disminución de los niveles plasmáticos ya que el fármaco cruza continuamente desde la cavidad oral o el tubo GI al torrente sanguíneo durante el tiempo de disolución del comprimido o más, proporcionando así a la farmacocinética plasmática una fase de meseta prolongada en comparación con las formas farmacéuticas orales de liberación inmediata convencionales. Además, las formas farmacéuticas descritas en el presente documento pueden mejorar la seguridad del tratamiento al minimizar los efectos secundarios potencialmente perjudiciales debido a la reducción relativa de los picos y valles en la farmacocinética del fármaco en plasma, que comprometen la seguridad del tratamiento y es típico de las formas farmacéuticas actualmente disponibles.

En diversas realizaciones, las formulaciones bioadhesivas descritas en el presente documento se pueden diseñar para manipular y controlar el perfil farmacocinético del uno o más agentes activos descritos en el presente documento. Como tal, las formulaciones se pueden ajustar para lograr tiempos de desintegración "lentos" (y perfiles cinéticos de erosión) y una liberación lenta del fármaco y así permitir perfiles farmacocinéticos muy prolongados que proporcionen una acción farmacocinética sostenida. Aunque dichas formulaciones pueden diseñarse para proporcionar un inicio rápido, su objetivo principal es permitir la PK y el efecto sostenidos del fármaco mientras se mantienen los otros atributos de rendimiento del comprimido, tales como la bioadhesión, la reproducibilidad de la acción, la  $C_{\text{máx}}$  atenuada, etc.

El rendimiento y los atributos de las formulaciones transmucosa bioadhesivas de esta invención son independientes del proceso de fabricación. Se pueden usar varios procesos convencionales, bien establecidos y conocidos en la técnica para fabricar las formulaciones de la presente invención (tales como granulación húmeda y seca, compresión directa, etc.) sin afectar a las propiedades fisicoquímicas de la forma farmacéutica o el rendimiento *in vivo*.

Una relación matemática ilustrativa que demuestra la fase de meseta prolongada de los niveles medidos en plasma sanguíneo del uno o más agentes activos descritos en el presente documento, después de la administración de las formas farmacéuticas de la invención es la expresión "relación de focalización terapéutica óptima" o "OTTR", que representa el tiempo promedio que el fármaco está presente en niveles terapéuticos, definido como el tiempo en el que la concentración plasmática del fármaco se mantiene por encima del 50 % de la  $C_{\text{máx}}$  normalizada por la semivida de eliminación del fármaco multiplicada por la relación entre la  $C_{\text{máx}}$  obtenida en la forma farmacéutica de interés y la  $C_{\text{máx}}$  normalizada después de la administración IV de dosis equivalentes. En determinadas realizaciones, la OTTR se puede calcular mediante la fórmula:

$$\text{OTTR} = (C_{\text{máx}}^{\text{IV}} / C_{\text{máx}}) \times (\text{Dosis} / \text{Dosis}^{\text{IV}}) \times (\text{Tiempo por encima del 50 \% de } C_{\text{máx}}) / (\text{Semivida de eliminación terminal}^{\text{IV}} \text{ del fármaco}).$$

En determinadas realizaciones, la OTTR es aproximadamente 15, o superior a aproximadamente 20, o superior a aproximadamente 25, o superior a aproximadamente 30, o superior a aproximadamente 40, o superior a aproximadamente 50.

**Administración**

En determinadas realizaciones, uno o más agentes activos descritos en el presente documento (por ejemplo, las hidantoínas descritas en el presente documento, o uno o más tautómeros o estereoisómeros de las mismas, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de dicha una o más hidantoínas, dicho uno o más estereoisómeros, o dicho uno o más tautómeros de las mismas) se administran a un mamífero que lo necesite, por ejemplo, a un mamífero en riesgo de padecer o que padece una patología caracterizada por un procesamiento anómalo de proteínas precursoras amiloides, un mamífero en riesgo de progresión de DCL a enfermedad de Alzheimer, etc. En determinadas realizaciones, el uno o más agentes activos se administran para prevenir o retrasar la aparición de una disfunción cognitiva previa al Alzheimer, y/o para mejorar uno o más síntomas de una disfunción cognitiva previa al Alzheimer, y/o para prevenir o retrasar la progresión de una afección o disfunción cognitiva previa al Alzheimer a la enfermedad de Alzheimer, y/o para promover el procesamiento de la proteína precursora amiloide (APP) por una ruta no amiloidogénica. En determinadas realizaciones, se administran uno o más agentes activos para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer en etapa temprana, etapa intermedia o etapa tardía, por ejemplo, para reducir la gravedad de la enfermedad y/o mejorar uno o más síntomas de la enfermedad y/o ralentizar la progresión de la enfermedad.

En diversas realizaciones, el uno o más agentes activos descritos en el presente documento (por ejemplo, las hidantoínas descritas en el presente documento, o uno o más tautómeros o estereoisómeros de las mismas, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de dicha una o más hidantoínas, dicho uno o más estereoisómeros, o dicho uno o más tautómeros de las mismas) se pueden administrar mediante cualquiera de varias rutas. Por lo tanto, por ejemplo, se pueden administrar por vía oral, parenteral, (intravenosa (IV), intramuscular (IM), depo-IM, subcutánea (SQ) y depo-SQ), sublingual, intranasal (inhalación), intratecal, transdérmica (por ejemplo, a través de un parche transdérmico), tópica, ionofórica o rectal. Típicamente, la forma farmacéutica se selecciona para facilitar el suministro al cerebro (por ejemplo, el paso a través de la barrera hematoencefálica). En este contexto, cabe señalar que los compuestos descritos en el presente documento se suministran fácilmente al cerebro. Las formas farmacéuticas conocidas por los expertos en la técnica son adecuadas para el suministro del compuesto.

En diversas realizaciones, el uno o más agentes activos se administran en una cantidad/pauta posológica suficiente para ejercer un efecto profiláctico y/o terapéuticamente útil en ausencia de efectos secundarios no deseados en el sujeto tratado (o con la presencia de niveles y/o tipos de efectos secundarios aceptables). La cantidad/pauta posológica específica variará según el peso, el sexo, la edad y la salud del individuo; la formulación, la naturaleza bioquímica, la bioactividad, la biodisponibilidad y los efectos secundarios del compuesto particular.

En determinadas realizaciones, la cantidad terapéutica o profiláctica eficaz puede determinarse empíricamente ensayando el uno o más agentes en sistemas modelo *in vitro* e *in vivo* conocidos para el trastorno tratado. Una dosis terapéutica o profiláctica eficaz se puede determinar administrando primero una dosis baja y a continuación aumentando gradualmente hasta alcanzar una dosis que logre el efecto deseado con efectos secundarios no deseados mínimos o nulos.

En determinadas realizaciones, cuando se administra por vía oral, una cantidad administrada del uno o más agentes descritos en el presente documento eficaces para prevenir o retrasar la aparición de una disfunción cognitiva previa al Alzheimer, y/o para mejorar uno o más síntomas de una disfunción cognitiva previa al Alzheimer, y/o para prevenir o retrasar la progresión de una afección o disfunción cognitiva previa al Alzheimer a la enfermedad de Alzheimer, y/o para promover el procesamiento de la proteína precursora amiloide (APP) por una ruta no amiloidogénica, y/o para tratar o prevenir la EA, varía de aproximadamente 0,1 mg/día a aproximadamente 500 mg/día o aproximadamente 1.000 mg/día, o de aproximadamente 0,1 mg/día a aproximadamente 200 mg/día, por ejemplo, de aproximadamente 1 mg/día a aproximadamente 100 mg/día, por ejemplo, de aproximadamente 5 mg/día a aproximadamente 50 mg/día. En algunas realizaciones, al sujeto se le administra el compuesto en una dosis de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 0,50 mg/kg, por ejemplo, aproximadamente 0,05 mg/kg, 0,10 mg/kg, 0,20 mg/kg, 0,33 mg/kg, 0,50 mg/kg. Se entiende que si bien un paciente puede comenzar con una dosis, esa dosis puede variarse (aumentarse o disminuirse, según corresponda) con el tiempo a medida que cambie la afección del paciente. Dependiendo de las evaluaciones de resultados, pueden usarse dosis más altas. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, se pueden administrar hasta 1000 mg/día, por ejemplo, 5 mg/día, 10 mg/día, 25 mg/día, 50 mg/día, 100 mg/día, 200 mg/día, 300 mg/día, 400 mg/día, 500 mg/día, 600 mg/día, 700 mg/día, 800 mg/día, 900 mg/día o 1000 mg/día.

En diversas realizaciones, el uno o más agentes activos descritos en el presente documento se pueden administrar por vía parenteral, por ejemplo, mediante IV, IM, depo-IM, SC o depo-SC. En determinadas realizaciones, cuando se administra por vía parenteral, se puede suministrar una cantidad terapéuticamente eficaz de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 100 mg/día, preferentemente de aproximadamente 5 a aproximadamente 50 mg al día. Cuando se usa una formulación de depósito para inyección una vez al mes o una vez cada dos semanas, la dosis en determinadas realizaciones puede ser de aproximadamente 0,5 mg/día a aproximadamente 50 mg/día, o una dosis mensual de aproximadamente 15 mg a aproximadamente 1.500 mg. En parte debido al olvido de los pacientes con enfermedad de Alzheimer, se prefiere que la forma farmacéutica parenteral sea una formulación de depósito.

En diversas realizaciones, el uno o más agentes activos descritos en el presente documento se pueden administrar por vía sublingual. En algunas realizaciones, cuando se administran por vía sublingual, los compuestos y/o análogos

de los mismos se pueden administrar de una a cuatro veces al día en las cantidades descritas anteriormente para la administración IM.

5 En diversas realizaciones, el uno o más agentes activos descritos en el presente documento se pueden administrar por vía intranasal. Cuando se administran por esta vía, las formas farmacéuticas apropiadas son un aerosol nasal o un polvo seco, como se conoce por los expertos en la técnica. En determinadas realizaciones, la dosis del compuesto y/o análogo del mismo para administración intranasal es la cantidad descrita anteriormente para administración IM.

10 En diversas realizaciones, el uno o más agentes activos descritos en el presente documento se pueden administrar por vía intratecal. Cuando se administra por esta vía, la forma farmacéutica apropiada puede ser una forma farmacéutica parenteral como se conoce por los expertos en la técnica. En determinadas realizaciones, la dosis del compuesto y/o análogo del mismo para administración intratecal es la cantidad descrita anteriormente para administración IM.

15 En determinadas realizaciones, el uno o más agentes activos descritos en el presente documento se pueden administrar por vía tópica. Cuando se administra por esta vía, la forma farmacéutica adecuada es una crema, ungüento o parche. Cuando se administra por vía tópica, la dosificación es de aproximadamente 1,0 mg/día a aproximadamente 200 mg/día. Debido a que la cantidad que puede suministrar un parche es limitada, pueden usarse dos o más parches. El número y tamaño del parche no es importante siempre que se suministre una cantidad terapéuticamente eficaz de compuesto, como se conoce por los expertos en la técnica. El compuesto se puede administrar por vía rectal mediante supositorios como se conoce por los expertos en la técnica. En determinadas realizaciones, cuando se administra mediante supositorio, la cantidad terapéuticamente eficaz es de aproximadamente 1,0 mg a aproximadamente 500 mg.

25 En diversas realizaciones, el uno o más agentes activos descritos en el presente documento se pueden administrar mediante implantes como se conoce por los expertos en la técnica. Cuando se administra el compuesto mediante implante, la cantidad terapéuticamente eficaz es la cantidad descrita anteriormente para la administración de depósito.

30 En diversas realizaciones, el uno o más agentes activos descritos en el presente documento del mismo se pueden incluir en recipientes de dosis múltiples o individuales. El uno o más agentes incluidos se pueden proporcionar en kits, por ejemplo, incluyendo componentes que pueden ensamblarse para su uso. Por ejemplo, puede proporcionarse un agente activo en forma liofilizada y un diluyente adecuado como componentes separados para su combinación antes de su uso. Un kit puede incluir un agente activo y un segundo agente terapéutico para administración conjunta. El agente activo y el segundo agente terapéutico pueden proporcionarse como componentes separados. Un kit puede incluir una pluralidad de recipientes, conteniendo cada recipiente una o más dosis unitarias de los compuestos. Los recipientes están preferentemente adaptados al modo de administración deseado, incluyendo, pero sin limitación, comprimidos, cápsulas de gel, cápsulas de liberación sostenida y similares para administración oral; productos de depósito, jeringas precargadas, ampollas, viales y similares para administración parenteral; y parches, almohadillas medicadas, cremas y similares para administración tópica, por ejemplo, como se describe en el presente documento.

40 En diversas realizaciones, las formas farmacéuticas se pueden administrar al sujeto 1, 2, 3 o 4 veces al día. En determinadas realizaciones, se prefiere que el compuesto se administre tres o menos veces, más preferentemente una o dos veces al día. En determinadas realizaciones, se prefiere que el uno o más agentes se administren en una forma farmacéutica oral.

45 Debería resultar evidente para un experto en la técnica que la dosis exacta y la frecuencia de administración dependerán de la afección particular que se esté tratando, la gravedad de la afección que se está tratando, la edad, el peso, el estado físico general del paciente particular y otra medicación que el individuo puede estar tomando, como se conoce bien por los médicos administradores expertos en esta técnica.

50 Si bien las composiciones y métodos se describen en el presente documento con respecto al uso en seres humanos, también son adecuados para uso en animales, por ejemplo, uso veterinario. Por lo tanto, determinados organismos (sujetos) contemplados en el presente documento incluyen, pero sin limitación, seres humanos., primates no humanos, cánidos, equinos, felinos, porcinos, ungulados, lagomorfos y similares.

55 Las formulaciones y métodos de administración anteriores pretenden ser ilustrativos y no limitantes. Se apreciará que, usando las enseñanzas proporcionadas en el presente documento, se pueden idear fácilmente otras formulaciones y modos de administración adecuados.

## 60 **Terapias combinadas**

65 En determinadas realizaciones, el uno o más agentes activos descritos en el presente documento (por ejemplo, las hidantoínas descritas en el presente documento, o uno o más tautómeros o estereoisómeros de las mismas, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de dicha una o más hidantoínas, dicho uno o más estereoisómeros, o dicho uno o más tautómeros de las mismas) se puede usar junto con otros agentes terapéuticos o enfoques usados para tratar o prevenir enfermedades caracterizadas por depósitos de amiloide en el cerebro, incluyendo DCL y/o EA. Por

consiguiente, en determinadas realizaciones, una composición farmacéutica que comprende al menos un agente activo descrito en el presente documento (por ejemplo, una hidantoína descrita en el presente documento, o un tautómero o estereoisómero de la misma, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de dicha hidantoína, dicho estereoisómero o dicho tautómero de la misma) junto con al menos un agente terapéutico adicional, y se contempla un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable. En determinadas realizaciones se contempla un método terapéutico o profiláctico que comprende administrar al menos el agente activo descrito en el presente documento junto con al menos un agente terapéutico adicional.

En determinadas realizaciones, ejemplos no limitantes de agentes terapéuticos adicionales incluyen, pero sin limitación, disulfiram y/o análogos del mismo, honokiol y/o análogos del mismo, tropisetron y/o análogos del mismo, nimetazepam y/o análogos del mismo (véanse, por ejemplo, USSN 13/213.960 (Publicación de Patente de EE.UU. N.º: US-2012-0071468-A1), y PCT/US2011/048472 (Publicación PCT N.º: WO 2012/024616)), ésteres de tropinol y/o ésteres relacionados y/o análogos de los mismos (véase, por ejemplo, USSN 61/514.381), inhibidores de la cinasa TrkA (por ejemplo, ADDN-1351) y/o análogos de los mismos (véase, por ejemplo, USSN 61/525.076), agonistas del receptor de D2 y antagonistas del receptor alfa 1-adrenérgico, e inhibidores de BACE específicos de APP (ASBI) como se describe y/o se reivindica en USSN 61/728.688, presentada el martes, 20 de noviembre de 2012.

Los ejemplos no limitantes de agentes terapéuticos adicionales incluyen fármacos seleccionados del grupo que consiste en: (a) fármacos útiles para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer y/o fármacos útiles para tratar uno o más síntomas de la enfermedad de Alzheimer, (b) fármacos útiles para inhibir la síntesis de A $\beta$ , y (c) fármacos útiles para tratar enfermedades neurodegenerativas. Los ejemplos adicionales no limitantes de agentes terapéuticos adicionales para su uso junto con los compuestos (por ejemplo, hidantoínas) descritos en el presente documento incluyen fármacos útiles para el tratamiento, prevención, retraso de la aparición, mejora de cualquier patología asociada con A $\beta$  y/o un síntoma de la misma. Los ejemplos no limitantes de patologías asociadas con A $\beta$  incluyen: enfermedad de Alzheimer, síndrome de Down, enfermedad de Parkinson, pérdida de memoria, pérdida de memoria asociada a la enfermedad de Alzheimer, pérdida de memoria asociada a la enfermedad de Parkinson, síntomas de déficit de atención, síntomas de déficit de atención asociados con la enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson y/o síndrome de Down, demencia, accidente cerebrovascular, microglisis e inflamación cerebral, demencia pre-senil, demencia senil, demencia asociada con la enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson y/o síndrome de Down, parálisis supranuclear progresiva, degeneración basal cortical, neurodegeneración, deterioro del olfato, deterioro olfativo asociado a la enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson y/o síndrome de Down, angiopatía  $\beta$ -amiloide, angiopatía amiloidea cerebral, hemorragia cerebral hereditaria, deterioro cognitivo leve ("DCL"), glaucoma, amiloidosis, diabetes de tipo II, complicaciones de la hemodiálisis (de  $\beta$ 2 microglobulinas y complicaciones que surgen de las mismas en pacientes de hemodiálisis), tembladera de las ovejas, encefalitis espongiiforme bovina, lesión cerebral traumática ("LCT") y enfermedad de Creutzfeld-Jakob, que comprende administrar a dicho paciente al menos un compuesto de hidantoína descrito en el presente documento, o un tautómero o isómero del mismo; o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o dicho tautómero, en una cantidad eficaz para inhibir dicha patología o patologías.

En determinadas realizaciones, dichos agentes terapéuticos adicionales incluyen, pero sin limitación, inhibidores de la acetilcolinesterasa (incluyendo, sin limitación, por ejemplo, enantiómero de (-)-fenserina, tacrina, ipidacrina, galantamina, donepezilo, icopezilo, zanapezilo, rivastigmina, huperzina A, fenserina, fisostigmina, neostigmina, piridostigmina, ambenonio, demarcario, edrofonio, ladostigilo y ungeremina); antagonistas del receptor NMDA (incluyendo, sin limitaciones, por ejemplo, memantina); agonistas de receptores muscarínicos (incluyendo, sin limitación, por ejemplo, talsaclidina, AF-102B, AF-267B (NGX-267)); agonistas de los receptores nicotínicos (incluyendo, sin limitación, por ejemplo, ispronidina (AZD-3480)); inhibidores de beta-secretasa (incluyendo, sin limitaciones, por ejemplo, tiazolidinedionas, incluyendo rosiglitazona y pioglitazona); inhibidores de gamma-secretasa (incluyendo, sin limitación, por ejemplo, semagacestat (LY-450139), MK-0752, E-2012, BMS-708163, PF-3084014, begacestat (GSI-953) y NIC5-15); inhibidores de la agregación de A $\beta$  (incluyendo, sin limitación, por ejemplo, clioquinol (PBT1), PBT2, trampiprosato (homotaurina), escilo-inositol (también conocido como escilo-ciclohexanexol, AZD-103 y ELND-005), inmunoterapia pasiva con fragmentos de A $\beta$  (incluyendo, sin limitaciones, por ejemplo, bapineuzemab) y epigallocatequina-3-galato (EGCg)); agentes antiinflamatorios tales como inhibidores de la ciclooxigenasa II; antioxidantes tales como vitamina E y ginkgólidos; enfoques inmunológicos, tales como, por ejemplo, inmunización con péptido A $\beta$  o administración de anticuerpos anti péptido A $\beta$ ; estatinas; y agentes neurotróficos directos o indirectos tales como Cerebrolysin™, AIT-082 (Emilieu, 2000, *Arch. Neurol.* 57:454), netrina (Luorenco (2009) *Cell Death Differ.*, 16: 655-663), miméticos de netrina, NGF, miméticos de NGF, BDNF y otros agentes neurotróficos del futuro, agentes que promueven la neurogénesis, por ejemplo, terapia con células madre. Se describen agentes farmacológicos adicionales útiles en el tratamiento o prevención de enfermedades caracterizadas por depósitos de amiloide en el cerebro, incluyendo DCL y/o EA, por ejemplo, en Mangialasche, *et al.* (2010) *Lancet Neurol.*, 9:702-716.

En determinadas realizaciones, los ejemplos adicionales no limitantes de agentes terapéuticos adicionales para su uso junto con compuestos descritos en el presente documento incluyen: antagonistas muscarínicos (por ejemplo, agonistas de m<sub>1</sub> (tales como acetilcolina, oxotremorina, carbacol o McN343), o antagonistas de m<sub>2</sub>, inhibidores de la colinesterasa (por ejemplo, inhibidores de acetil- y/o butirilcolinesterasa tales como donepezilo (Aricept®), galantamina (Razadyne®) y rivastigmina (Exelon®); antagonistas del receptor de N-metil-D-aspartato (por ejemplo, NAMENDA® (memantina HCl); combinaciones de inhibidores de colinesterasa y antagonistas de los receptores de N-



metil-D-aspartato; moduladores de gamma secretasa; inhibidores de la gamma secretasa; agentes antiinflamatorios no esteroideos; agentes antiinflamatorios que pueden reducir la neuroinflamación; anticuerpos anti amiloide (tal como bapineuzemab, Wyeth/Elan); vitamina E; agonistas del receptor nicotínico de acetilcolina; agonistas inversos del receptor CB1 o antagonistas del receptor CB1; antibióticos; secretagogos de la hormona de crecimiento; antagonistas de histamina H<sub>3</sub>; agonistas de AMPA; inhibidores de PDE4; agonistas inversos de GABA<sub>A</sub>; inhibidores de la agregación amiloide; inhibidores de la glucógeno sintasa cinasa beta; promotores de la actividad alfa secretasa; inhibidores de PDE-10; inhibidores de tau cinasa (por ejemplo, inhibidores de GSK3beta, inhibidores de cdk5 o inhibidores de ERK); Inhibidores de la agregación de tau (por ejemplo, REMBER®; inhibidores de RAGE (por ejemplo, TTP 488 (PF-4494700)); vacuna anti Aβ; ligandos de APP; agentes que regulan positivamente la insulina, agentes reductores del colesterol tales como los inhibidores de la HMG-CoA reductasa (por ejemplo, estatinas tales como Atorvastatina, Fluvastatina, Lovastatina, Mevastatina, Pitavastatina, Pravastatina, Rosuvastatina, Simvastatina) y/o inhibidores de la absorción de colesterol (tales como Ezetimibe), o combinaciones de inhibidores de la HMG-CoA reductasa e inhibidores de la absorción de colesterol (tales como, por ejemplo, VYTORIN®); fibratos (tales como, por ejemplo, clofibrato, Clofibrato, Etofibrato y Clofibrato de aluminio); combinaciones de fibratos y agentes reductores del colesterol y/o inhibidores de la absorción de colesterol; agonistas del receptor nicotínico; niacina; combinaciones de inhibidores de la absorción de niacina y colesterol y/o agentes reductores del colesterol (por ejemplo, SIMCOR® (niacina/simvastatina, disponible en Abbott Laboratories, Inc.); agonistas de LXR; imitadores de LRP; antagonistas del receptor H<sub>3</sub>; inhibidores de histona desacetilasa; inhibidores de hsp90; agonistas de 5-HT4 (por ejemplo, PRX-03140 (Epix Pharmaceuticals)); antagonistas de receptores de 5-HT6; moduladores o antagonistas del receptor mGluR1; moduladores o antagonistas del receptor mGluR5; antagonistas de mGluR2/3; antagonistas del receptor de prostaglandina EP2; inhibidores de PAI-1; agentes que pueden inducir el flujo de salida de Abeta, tales como gelsolina; compuesto atenuador de proteínas metálicas (por ejemplo, PBT2); y moduladores GPR3; y antihistamínicos tales como Dimebolin (por ejemplo, DIMEBON®, Pfizer).

Por consiguiente, determinadas realizaciones proporcionan una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de una o más hidantoínas descritas en el presente documento y un agente terapéutico adicional, y/o un método de tratamiento o profilaxis que comprende la administración de una o más hidantoínas descritas en el presente documento junto con un agente terapéutico adicional donde el agente terapéutico en la formulación y/o el método es disulfiram y/o análogos del mismo (véanse, por ejemplo, USSN 13/213.960 (Publicación de Patente de EE.UU. N.º: US-2012-0071468-A1), y PCT/US2011/048472 (Publicación PCT N.º: WO 2012/024616)).

Determinadas realizaciones proporcionan una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de una o más hidantoínas descritas en el presente documento y un agente terapéutico adicional, y/o un método de tratamiento o profilaxis que comprende la administración de una o más hidantoínas descritas en el presente documento junto con un agente terapéutico adicional donde el agente terapéutico en la formulación y/o el método es honokiol y/o análogos del mismo (véanse, por ejemplo, USSN 13/213.960 (Publicación de Patente de EE.UU. N.º: US-2012-0071468-A1), y PCT/US2011/048472 (Publicación PCT N.º: WO 2012/024616)).

Determinadas realizaciones proporcionan una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de una o más hidantoínas descritas en el presente documento y un agente terapéutico adicional, y/o un método de tratamiento o profilaxis que comprende la administración de una o más hidantoínas descritas en el presente documento junto con un agente terapéutico adicional donde el agente terapéutico en la formulación y/o el método es tropisetron y/o análogos del mismo (véanse, por ejemplo, USSN 13/213.960 (Publicación de Patente de EE.UU. N.º: US-2012-0071468-A1), y PCT/US2011/048472 (Publicación PCT N.º: WO 2012/024616)).

Determinadas realizaciones proporcionan una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de una o más hidantoínas descritas en el presente documento y un agente terapéutico adicional, y/o un método de tratamiento o profilaxis que comprende la administración de una o más hidantoínas descritas en el presente documento junto con un agente terapéutico adicional donde el agente terapéutico en la formulación y/o el método es tropisetron.

Determinadas realizaciones proporcionan una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de una o más hidantoínas descritas en el presente documento y un agente terapéutico adicional, y/o un método de tratamiento o profilaxis que comprende la administración de una o más hidantoínas descritas en el presente documento junto con un agente terapéutico adicional donde el agente terapéutico en la formulación y/o el método es nimetazepam y/o análogos del mismo (véanse, por ejemplo, USSN 13/213.960 (Publicación de Patente de EE.UU. N.º: US-2012-0071468-A1), y PCT/US2011/048472 (Publicación PCT N.º: WO 2012/024616)).

Determinadas realizaciones proporcionan una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de una o más hidantoínas descritas en el presente documento y un agente terapéutico adicional, y/o un método de tratamiento o profilaxis que comprende la administración de una o más hidantoínas descritas en el presente documento junto con un agente terapéutico adicional donde el agente terapéutico en la formulación y/o el método es un éster de tropinol o éster relacionado (véase, por ejemplo, USSN 61/514.381).

Determinadas realizaciones proporcionan una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de una o más hidantoínas descritas en el presente documento y un agente terapéutico adicional, y/o un método de tratamiento o profilaxis que comprende la administración de una o más hidantoínas descritas en el presente documento junto con

un agente terapéutico adicional donde el agente terapéutico en la formulación y/o el método es un inhibidor de TrkA cinasa (por ejemplo, ADDN-1351) y/o análogos de la misma (véase, por ejemplo, USSN 61/525.076).

Determinadas realizaciones proporcionan una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de una o más hidantoínas descritas en el presente documento y un agente terapéutico adicional, y/o un método de tratamiento o profilaxis que comprende la administración de una o más hidantoínas descritas en el presente documento junto con un agente terapéutico adicional donde el agente terapéutico en la formulación y/o el método es un agonista del receptor de D2 y/o un antagonista del receptor alfa-adrenérgico.

Determinadas realizaciones proporcionan una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de una o más hidantoínas descritas en el presente documento y un agente terapéutico adicional, y/o un método de tratamiento o profilaxis que comprende la administración de una o más hidantoínas descritas en el presente documento junto con un agente terapéutico adicional donde el agente terapéutico en la formulación y/o el método es un ASBI como se describe y/o se reivindica en USSN 61/728.688, presentada el martes, 20 de noviembre de 2012.

Determinadas realizaciones proporcionan una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de una o más hidantoínas descritas en el presente documento y un agente terapéutico adicional, y/o un método de tratamiento o profilaxis que comprende la administración de una o más hidantoínas descritas en el presente documento junto con un agente terapéutico adicional donde el agente terapéutico en la formulación y/o el método es uno o más inhibidores de colinesterasa (por ejemplo, inhibidores de acetil- y/o butirilcolinesterasa).

Determinadas realizaciones proporcionan una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de una o más hidantoínas descritas en el presente documento y un agente terapéutico adicional, y/o un método de tratamiento o profilaxis que comprende la administración de una o más hidantoínas descritas en el presente documento junto con un agente terapéutico adicional donde el agente terapéutico en la formulación y/o el método es uno o más antagonistas muscarínicos (por ejemplo, agonistas de  $m_1$  o antagonistas de  $m_2$ ).

Determinadas realizaciones proporcionan una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de una o más hidantoínas descritas en el presente documento y un agente terapéutico adicional, y/o un método de tratamiento o profilaxis que comprende la administración de una o más hidantoínas descritas en el presente documento junto con un agente terapéutico adicional donde el agente terapéutico en la formulación y/o el método es uno o más compuestos seleccionados entre el grupo que consiste en inhibidores de la colinesterasa (tales como, por ejemplo, clorhidrato de (.+-.)-2,3-dihidro-5,6-dimetoxi-2-[[1-(fenilmetil)-4-piperidinil]metil-1]-1H-inden-1-ona, es decir, clorhidrato de donepezilo, disponible como la marca ARICEPT® de clorhidrato de donepezilo), inhibidores del receptor de *N*-metil-D-aspartato (tales como, por ejemplo, Namenda® (memantina HCl)); anticuerpos anti amiloide (tal como bapineuzumab, inhibidores de la gamma-secretasa, moduladores de la gamma secretasa e inhibidores de la beta secretasa distintos de las hidantoínas descritas en el presente documento).

#### **Indicaciones adicionales.**

##### **Uso de hidantoína en la degeneración macular relacionada con la edad y el glaucoma.**

Si bien en diversas realizaciones, se contempla el uso de inhibidores de BACE de unión a APP (ABBI), por ejemplo, las diversas hidantoínas descritas en el presente documento, para prevenir o retrasar la aparición de una afección y/o disfunción cognitiva previa al Alzheimer, y/o mejorar uno o más síntomas de una afección y/o disfunción cognitiva previa al Alzheimer, o prevenir o retrasar la progresión de una afección o disfunción cognitiva previa al Alzheimer a la enfermedad de Alzheimer, y/o para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, también se contemplan otros usos de los ABBI. En particular, en determinadas realizaciones, el uso de ABBI se contempla para el tratamiento y/o la profilaxis de la degeneración macular relacionada con la edad y/o el glaucoma.

Sin pretender quedar ligado a una teoría particular, se cree que la deposición extracelular anómala de proteínas puede contribuir a la patogénesis y la progresión de la degeneración macular relacionada con la edad (DMAE), que también es el caso de la enfermedad de Alzheimer y la aterosclerosis. En ambas afecciones, los depósitos de proteínas contienen muchos constituyentes compartidos, tales como apoE, complemento y péptidos A $\beta$ . Por ejemplo, en la DMAE humana, la deposición del péptido A $\beta$  se asocia con drusas, donde se acumula y se localiza conjuntamente con componentes del complemento activados (Anderson *et al.* (2004) *Exp. Eye. Res.*, 78:243-256; Dentchev *et al.* (2003) *Mol. Vis.*, 9: 184-190; Johnson *et al.* (2002) *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 11830-11835). Luibl *et al.* (2006) *J. Clin. Invest.*, 116: 378-385, mostraron la presencia de oligómeros amiloides potencialmente tóxicos en las drusas, depósitos basales sub-RPE y RPE de ojos de donantes humanos usando un anticuerpo que reconoce específicamente la forma oligomérica de A $\beta$ . Estos oligómeros de A $\beta$  no se detectaron en ojos de donantes de control de la misma edad y sin drusas. Isas *et al.* (2010) *Invest. Ophthalmol Vis. Sci.*, 51: 1304-1310, también detectaron fibrillas de A $\beta$  solubles y maduras en las drusas. En conjunto, estos hallazgos implican al A $\beta$  en la patogénesis de la DMAE. Además, se ha detectado el péptido A $\beta$  en depósitos basales sub-RPE y lesiones neovasculares en un modelo murino de DMAE (Ding *et al.* (2008) *Vision Res.*, 48: 339-345; Malek *et al.* (2005) *Proc Natl Acad Sci USA*, 102: 11900-11905). En este modelo, ratones de reemplazo dirigidos a APOE4 humanos de edad avanzada (ratones APOE4) alimentados con una dieta alta en grasas y enriquecida con colesterol (HFC) (ratones APOE4-HFC) exhiben características morfológicas

observadas tanto en la DMAE seca como en la húmeda. Estas características incluyen depósitos espesos y difusos sub-RPE, depósitos focales similares a drusas que contienen lípidos y proteínas, engrosamiento de la membrana de Bruch, regiones irregulares de atrofia del RPE opuestas a áreas de degeneración de fotorreceptores y CNV (Malek *et al.* (2005) *Proc Natl Acad Sci USA*, 102: 11900-11905). Se cree que, en el modelo de DMAE de ratón APOE4-HFC, la acumulación de A $\beta$  provoca daño a nivel del RPE/coroides y previamente se ha demostrado que la administración sistémica de anticuerpos específicos anti A $\beta$ 40 puede atenuar parcialmente la disminución de la función visual exhibida en este modelo (Ding *et al.* (2008) *Vision Res.*, 48: 339-345). También se ha demostrado que la inmunoterapia anti A $\beta$  dirigida simultáneamente a A $\beta$ 40 y A $\beta$ 42 bloquea los cambios histopatológicos y protege completamente la función visual en ratones APOE4-HFC (Ding *et al.* (2011) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 108(28): E279-E287).

Sin pretender quedar ligado a una teoría particular, se cree que el procesamiento de APP con respecto a A $\beta$  en el ojo se produce por las actividades de BACE y  $\gamma$ -secretasa en la retina y las capas de células epiteliales pigmentadas de la retina (RPE, por sus siglas en inglés) y que sAPP $\alpha$  y A $\beta$  se secretan en el humor vítreo (véase,

por ejemplo, (Prakasam *et al.* (2008) *J. Alzh. Dis.*, 20: 1243-1253). A $\beta$  se transporta adicionalmente al humor acuoso, donde se mide fácilmente.

En vista de estos hallazgos, se cree que los ABBI, por ejemplo, las hidantoínas descritas en el presente documento, pueden encontrar uso en el tratamiento o profilaxis de la degeneración macular relacionada con la edad (DMAE) y/o el glaucoma. Por consiguiente, se cree que se pueden administrar ABBI a un sujeto para ralentizar o prevenir la aparición de DMAE (y/o glaucoma), y/o para reducir uno o más síntomas de DMAE, y/o para ralentizar, detener o revertir la progresión de la enfermedad. En diversas realizaciones, uno o más ABBI (por ejemplo, uno o más del uno o más agentes activos descritos en el presente documento) se administran a un sujeto (por ejemplo, un ser humano, un mamífero no humano) para estos fines. Como se ha descrito anteriormente, en diversas realizaciones, el ABBI se administra mediante una vía seleccionada del grupo que consiste en suministro oral, suministro isofóretico, suministro transdérmico, suministro parenteral, administración en aerosol, administración a través de inhalación, administración intravenosa y administración rectal.

En determinadas realizaciones, la administración es directamente al ojo. Por lo tanto, por ejemplo, en determinadas realizaciones, el uno o más agentes se pueden administrar al ojo en forma de gotas para los ojos, mediante inyección intraocular y similares.

Típicamente, los ABBI se administran en una cantidad eficaz para el tratamiento y/o profilaxis de la DMAE o el glaucoma, donde la cantidad eficaz variará según la modalidad de administración. En determinadas realizaciones, la cantidad eficaz es una cantidad suficiente para mitigar en un mamífero uno o más síntomas asociados con la degeneración macular relacionada con la edad (DMAE). En determinadas realizaciones, la cantidad eficaz es una cantidad, una cantidad suficiente para reducir el riesgo o retrasar la aparición y/o reducir la gravedad final de una enfermedad de DMAE (o glaucoma) caracterizada por la reducción de A $\beta$  en el humor vítreo y/o acuoso y/o los depósitos de amiloide en la retina y/o la capa de células del RPE.

#### **Sistemas de ensayo para evaluar el procesamiento de APP**

Sin pretender quedar ligado a una teoría particular, se cree que el uno o más agentes activos descritos en el presente documento (por ejemplo, los ABBI, tales como las hidantoínas descritas en el presente documento) promueven el procesamiento de APP por la ruta no amiloidogénica y/o reducen o inhiben el procesamiento de APP por la ruta amiloidogénica. En la ruta no amiloidogénica, la APP se escinde primero mediante la  $\alpha$ -secretasa dentro de la secuencia A $\beta$ , liberando el ectodominio APPs $\alpha$  ("sAPP $\alpha$ "). Por el contrario, la ruta amiloidogénica se inicia cuando la  $\beta$ -secretasa escinde la APP en el extremo amino de A $\beta$ , liberando así el ectodominio de APPs $\beta$  ("sAPP $\beta$ "). El procesamiento de APP mediante las rutas no amiloidogénica y amiloidogénica se conoce en la técnica y se revisa, por ejemplo, por Xu (2009) *J Alzheimers Dis.*, 16(2): 211-224, y De Strooper, *et al.* (2010) *Nat Rev Neurol* 6(2): 99-107.

Un método para evaluar la eficacia del uno o más agentes activos es determinar una reducción o eliminación en el nivel de procesamiento de APP por la ruta amiloidogénica, por ejemplo, una reducción o eliminación en el nivel de procesamiento de APP por escisión de  $\beta$ -secretasa en respuesta a la administración del uno o más agentes de interés. Los ensayos para determinar el grado de escisión de APP en el sitio de escisión de la  $\beta$ -secretasa se conocen bien en la técnica. Se describen ensayos ilustrativos, por ejemplo, en las Pat. de EE.UU. N.º 5.744.346 y 5.942.400. Los kits para determinar la presencia y los niveles en una muestra biológica de sAPP $\alpha$  y sAPP $\beta$ , así como APPneo y A $\beta$  están disponibles comercialmente, por ejemplo, en PerkinElmer.

#### **Ensayo de ABBI.**

La actividad del inhibidor de BACE de unión a APP (ABBI) de cualquiera de los compuestos descritos en el presente documento se puede verificar fácilmente usando, por ejemplo, los ensayos descritos en el presente documento. Básicamente, en determinadas realizaciones, se utilizan un par de ensayos para identificar compuestos ABBI que inhiben la escisión de BACE del sustrato de APP MBP-C125, lo que da como resultado la inhibición de la producción de C99 y el sustrato peptídico del sitio  $\beta$  (P5-P5') y también interactúa con APP, por ejemplo, según lo medido mediante

análisis de resonancia de plasmón superficial (SPR).

En una realización ilustrativa, se puede usar una proteína de fusión MBP-C125 APP695wt como uno de los sustratos y el segundo sustrato puede ser el sustrato de fluorescencia P5-P5' disponible comercialmente. Cada uno de estos sustratos se incuban con BACE recombinante (R&D (n.º de cat. 931-AS-050) en, por ejemplo, un formato de placa de 96 pocillos. Para el sustrato MBP-C125, el producto C-99 de la escisión de BACE se puede medir usando un ensayo AlphaLisa como lectura. Para el sustrato P5-5', se puede usar como lectura la pérdida de fluorescencia tras la escisión de BACE. Para el ensayo SPR, se realizaría el análisis de unión de las hidantoínas a fragmentos del ectodominio de APP (eAPP) que se preparan de forma recombinante (Libeu *et al.* (2012) *PLoS ONE* 7(6): e40027). Un ABBI inhibiría la escisión de BACE del MBP-C125 y/o el sustrato de fluorescencia y también se uniría al ectodominio de APP, tal como el fragmento APP<sub>230-624</sub>.

### **Otros ensayos acelulares**

Se describen ensayos ilustrativos que se pueden usar para demostrar la actividad inhibidora del uno o más agentes activos, por ejemplo, en los documentos WO 2000/017369, WO 2000/0003819 y las Pat. de EE.UU. N.º 5.942.400 y 5.744.346. Dichos ensayos se pueden realizar en incubaciones acelulares o en incubaciones celulares usando células que expresan una alfa-secretasa y/o beta-secretasa y un sustrato de APP que tiene sitios de escisión de alfa-secretasa y beta-secretasa.

En una realización ilustrativa, el uno o más agentes de interés se ponen en contacto con un sustrato de APP que contiene sitios de escisión de alfa-secretasa y beta-secretasa de APP, por ejemplo, una APP completa o variante, un fragmento de APP o un sustrato de APP recombinante o sintético que contiene la secuencia de aminoácidos: KM-DA o NL-DA (APP-SW), se incuban en presencia de una enzima alfa-secretasa y/o beta-secretasa, un fragmento de la misma, o una variante de polipéptido sintético o recombinante que tiene actividad alfa-secretasa o beta-secretasa y eficaz para escindir los sitios de escisión de la alfa-secretasa o beta-secretasa de APP, en condiciones de incubación adecuadas para la actividad de escisión de la enzima. El uno o más agentes que tienen la actividad deseada reducen o previenen la escisión del sustrato de APP. Los sustratos adecuados incluyen opcionalmente derivados que pueden ser proteínas de fusión o péptidos que contienen el péptido sustrato y una modificación útil para facilitar la purificación o detección del péptido o sus productos de escisión de alfa-secretasa y/o beta-secretasa. Las modificaciones útiles incluyen la inserción de un epítipo antigénico conocido para la unión de anticuerpos; la unión de un marcador o resto detectable, la unión de un sustrato de unión y similares.

Las condiciones de incubación adecuadas para un ensayo *in vitro* celular incluyen, por ejemplo: de aproximadamente 200 nanomolar a 10 micromolar de sustrato, de aproximadamente 10 a 200 pM de enzima comolar y de aproximadamente 0,1 nanomolar a 10 micromolar del uno o más agentes, en una solución acuosa, a un pH aproximado de 4-7, a aproximadamente 37 °C, durante un período de tiempo de aproximadamente 10 minutos a 3 horas. Estas condiciones de incubación son sólo ilustrativas y pueden variarse según sea necesario para los componentes de ensayo particulares y/o el sistema de medición deseado. La optimización de las condiciones de incubación para los componentes de ensayo particulares debe tener en cuenta la enzima alfa-secretasa y/o beta-secretasa específica usada y su pH óptimo, cualquier enzima y/o marcador adicional que pueda usarse en el ensayo, y similares. Esta optimización es rutinaria y no requerirá experimentación excesiva.

Otro ensayo ilustrativo utiliza un péptido de fusión que tiene una proteína de unión a maltosa (MBP) fusionada a los 125 aminoácidos en el extremo C de APP-SW. La porción de MBP se captura en un sustrato de ensayo mediante un anticuerpo de captura anti MBP. La incubación de la proteína de fusión capturada en presencia de alfa-secretasa y/o beta-secretasa da como resultado la escisión del sustrato en los sitios de escisión de alfa-secretasa y/o beta-secretasa, respectivamente. Este sistema se puede usar para cribar la actividad inhibidora del uno o más agentes de interés. El análisis de la actividad de escisión puede realizarse, por ejemplo, mediante inmunoensayo de productos de escisión. Uno de estos inmunoensayos detecta un epítipo único expuesto en el extremo carboxi de la proteína de fusión escindida, por ejemplo, usando el anticuerpo SW192. Este ensayo se describe, por ejemplo, en la Pat. de EE.UU. N.º 5.942.400.

### **Ensayos celulares**

Se pueden usar numerosos ensayos a base de células para evaluar la actividad del uno o más agentes de interés sobre la actividad de alfa-secretasa relativa con respecto a la actividad de beta-secretasa y/o el procesamiento de APP para liberar oligómeros de Aβ amiloidogénicos frente a no amiloidogénicos. El contacto de un sustrato de APP con una enzima alfa-secretasa y/o beta-secretasa dentro de la célula y en presencia o ausencia del uno o más agentes puede usarse para demostrar la actividad promotora de la alfa-secretasa y/o inhibidora de la beta-secretasa del uno o más agentes. Preferentemente, el ensayo en presencia del uno o más agentes proporciona al menos aproximadamente un 30 %, mucho más preferentemente al menos aproximadamente un 50 % de inhibición de la actividad enzimática, en comparación con un control no inhibido.

En una realización, se usan células que expresan de manera natural alfa-secretasa y/o beta-secretasa. Como alternativa, las células se modifican para expresar una enzima alfa-secretasa y/o beta-secretasa recombinantes o

variantes sintéticas, como se ha analizado anteriormente. El sustrato de APP puede añadirse al medio de cultivo y preferentemente se expresa en las células. Se pueden usar células que expresan de manera natural APP, formas variantes o mutantes de APP, o células transformadas para expresar una isoforma de APP, APP mutante o variante, APP recombinante o sintética, fragmento de APP o péptido de APP sintético o proteína de fusión que contiene los

Las líneas celulares humanas que normalmente procesan A $\beta$  de APP proporcionan un medio útil para ensayar las actividades inhibitoras del uno o más agentes. La producción y liberación de A $\beta$  y/u otros productos de escisión en el medio de cultivo se pueden medir, por ejemplo, mediante inmunoensayo, tal como transferencia de Western o inmunoensayo ligado a enzimas (EIA), tal como mediante ELISA.

Las células que expresan un sustrato de APP y una alfa-secretasa y/o beta-secretasa activa se pueden incubar en presencia de los agentes para demostrar la actividad enzimática relativa de la alfa-secretasa y/o beta-secretasa en comparación con un control. La actividad relativa de la alfa-secretasa con respecto a la beta-secretasa se puede medir mediante análisis de uno o más productos de escisión del sustrato de APP. Por ejemplo, se esperaría que la inhibición de la actividad beta-secretasa contra el sustrato APP disminuyera la liberación de productos de escisión de APP específicos inducidos por beta-secretasa tales como A $\beta$  (por ejemplo, A $\beta$ 40 o A $\beta$ 42), sAPP $\beta$  y APPneo. Se esperaría que la promoción o mejora de la actividad de alfa-secretasa contra el sustrato de APP aumentara la liberación de productos de escisión de APP inducidos por alfa-secretasa específicos tales como sAPP $\alpha$  y el péptido p3.

Aunque tanto las células neurales como las no neurales procesan y liberan A $\beta$ , los niveles de actividad de beta-secretasa endógena son bajos y, a menudo, difíciles de detectar mediante EIA. Por lo tanto, se prefiere el uso de tipos de células que se sabe que tienen actividad de beta-secretasa mejorada, procesamiento mejorado de APP a A $\beta$  y/o producción mejorada de A $\beta$ . Por ejemplo, la transfección de células con la forma mutante sueca de APP (APP-SW); con la forma mutante de Indiana (APP-IN); o con APP-SW-IN proporciona células que tienen actividad de beta-secretasa mejorada y producen cantidades de A $\beta$  que pueden medirse fácilmente.

En tales ensayos, por ejemplo, las células que expresan APP, alfa-secretasa y/o beta-secretasa se incuban en un medio de cultivo en condiciones adecuadas para la actividad enzimática de alfa-secretasa y/o beta-secretasa en su sitio de escisión en el sustrato de APP. Tras la exposición de las células al uno o más agentes, la cantidad de A $\beta$  liberada en el medio y/o la cantidad de fragmentos CTF99 de APP en los lisados celulares se reduce en comparación con el control. Los productos de escisión de APP se pueden analizar, por ejemplo, mediante reacciones inmunitarias con anticuerpos específicos, como se ha analizado anteriormente.

En determinadas realizaciones, las células preferidas para el análisis de la actividad de alfa-secretasa y/o beta-secretasa incluyen células neuronales humanas primarias, células neuronales animales transgénicas primarias donde el transgén es APP, y otras células tales como las de una línea celular 293 estable que expresa APP, por ejemplo, APP-SW.

### **Ensayos *in vivo*: Modelos animales**

Se pueden usar diversos modelos animales para analizar la actividad del uno o más de interés sobre la actividad relativa de alfa-secretasa y/o beta-secretasa y/o el procesamiento de APP para liberar A $\beta$ . Por ejemplo, se pueden usar animales transgénicos que expresan sustrato de APP, enzima alfa-secretasa y/o beta-secretasa para demostrar la actividad inhibitora del uno o más agentes. Se han descrito determinados modelos animales transgénicos, por ejemplo, en las Pat. de EE.UU. N.º 5.877.399; 5.612.486; 5.387.742; 5.720.936; 5.850.003; 5.877.015. y 5.811.633, y en Ganes *et al.* (1995) *Nature* 373: 523. Se prefieren animales que exhiban características asociadas con la fisiopatología de la EA. La administración del uno o más agentes a los ratones transgénicos descritos en el presente documento proporciona un método alternativo para demostrar la actividad inhibitora del uno o más agentes. También se prefiere la administración del agente o agentes en un portador farmacéuticamente eficaz y mediante una vía administrativa que llegue al tejido diana en una cantidad terapéutica adecuada.

La inhibición de la escisión de APP mediada por beta-secretasa en el sitio de escisión de la beta-secretasa y de la liberación de A $\beta$  se puede analizar en estos animales midiendo fragmentos de escisión en los fluidos corporales del animal tales como fluido o tejidos cerebrales. De forma análoga, la promoción o mejora de la escisión de APP mediada por alfa-secretasa en el sitio de escisión de la alfa-secretasa y de la liberación de sAPP $\alpha$  se puede analizar en estos animales midiendo fragmentos de escisión en los fluidos corporales del animal tales como fluido o tejidos cerebrales. En determinadas realizaciones, se prefiere el análisis de tejidos cerebrales para detectar depósitos o placas de A $\beta$ .

Al poner en contacto un sustrato de APP con una enzima alfa-secretasa y/o beta-secretasa en presencia del uno o más agentes en condiciones suficientes para permitir la escisión mediada enzimáticamente de APP y/o la liberación de A $\beta$  del sustrato, el uno o más agentes deseables son eficaces para reducir la escisión de APP mediada por beta-secretasa en el sitio de escisión de la beta-secretasa y/o son eficaces para reducir las cantidades liberadas de A $\beta$ . El uno o más agentes también son preferentemente eficaces para mejorar la escisión de APP mediada por alfa-secretasa en el sitio de escisión de la alfa-secretasa y para aumentar las cantidades liberadas de sAPP $\alpha$ . Cuando dicho contacto

es la administración del uno o más agentes a un modelo animal, por ejemplo, como se ha descrito anteriormente, el uno o más agentes son eficaces para reducir la deposición de A $\beta$  en los tejidos cerebrales del animal, y para reducir la cantidad y/o el tamaño de las placas de beta amiloide. Cuando dicha administración es a un sujeto humano, el uno o más agentes son eficaces para inhibir o ralentizar la progresión de la enfermedad caracterizada por cantidades

5 aumentadas de A $\beta$ , para ralentizar la progresión de la EA, y/o para prevenir la aparición o el desarrollo de la EA en un paciente con riesgo de padecer la enfermedad.

#### **Métodos para monitorizar la eficacia clínica**

10 En diversas realizaciones, la eficacia del tratamiento se puede determinar comparando una medida inicial de un parámetro de la enfermedad antes de la administración del uno o más agentes (por ejemplo, las hidantoínas descritas en el presente documento, o uno o más tautómeros o estereoisómeros de las mismas, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de dicha una o más hidantoínas, dicho uno o más estereoisómeros, o dicho uno o más

15 tautómeros de las mismas) y se comienza con el mismo parámetro uno o más puntos temporales después de que se haya administrado el uno o más agentes o análogo. Un parámetro ilustrativo que se puede medir es un biomarcador (por ejemplo, un oligómero peptídico) del procesamiento de APP. Dichos biomarcadores incluyen, pero sin limitación, niveles aumentados de sAPP $\alpha$ , p3 (A $\beta$ 17-42 o A $\beta$ 17-40), sAPP $\beta$ , A $\beta$ 40 soluble y/o A $\beta$ 42 soluble en la sangre, plasma, suero, orina, mucosas o líquido cefalorraquídeo (LCR). La detección de niveles aumentados de sAPP $\alpha$  y/o p3, y niveles disminuidos de sAPP $\beta$  y/o APPneo es un indicador de que el tratamiento es eficaz. Por el contrario, la detección de

20 niveles disminuidos de sAPP $\alpha$  y/o p3, y/o niveles aumentados de sAPP $\beta$ , APPneo, Tau o fosfo-Tau (pTau) es un indicador de que el tratamiento no es eficaz.

Otro parámetro para determinar la eficacia del tratamiento es el nivel de depósitos de placa amiloide en el cerebro. Las placas amiloides se pueden determinar usando cualquier método conocido en la técnica, por ejemplo, como se

25 determina mediante TC, PET, PIB-PET y/o RMN. La administración del uno o más agentes (por ejemplo, las hidantoínas descritas en el presente documento, o uno o más tautómeros o estereoisómeros de las mismas, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de dicha una o más hidantoínas, dicho uno o más estereoisómeros, o dicho uno o más tautómeros de las mismas) puede dar como resultado una reducción en la tasa de formación de placa, e incluso una retracción o reducción de los depósitos de placa en el cerebro. La eficacia del tratamiento también se

30 puede determinar observando una estabilización y/o mejora de las capacidades cognitivas del sujeto. Las capacidades cognitivas se pueden evaluar usando cualquier método aceptado en la técnica, incluyendo, por ejemplo, la clasificación clínica de demencia (CDR), el mini-examen del estado mental (MMSE) o la prueba de Folstein, criterios de evaluación enumerados en el DSM-IV (Manual Diagnóstico y Estadístico de Trastornos Mentales, Cuarta Edición) o DSM-V, y similares.

35 La eficacia clínica se puede monitorizar usando cualquier método conocido en la técnica. Los biomarcadores medibles para monitorizar la eficacia incluyen, pero sin limitación, monitorizar los niveles en sangre, plasma, suero, orina, mucosas o líquido cefalorraquídeo (LCR) de sAPP $\alpha$ , sAPP $\beta$ , A $\beta$ 42, A $\beta$ 40, APPneo y p3 (por ejemplo, A $\beta$ 17-42 o A $\beta$ 17-40). La detección de niveles aumentados de sAPP $\alpha$  y/o p3, y niveles disminuidos de sAPP $\beta$  y/o APPneo son

40 indicadores de que el régimen de tratamiento o prevención es eficaz. Por el contrario, la detección de niveles disminuidos de sAPP $\alpha$  y/o p3, y niveles aumentados de sAPP $\beta$  y/o APPneo son indicadores de que el régimen de tratamiento o prevención no es eficaz. Otros biomarcadores incluyen Tau y fosfo-Tau (pTau). La detección de niveles reducidos de Tau y pTau son indicadores de que el régimen de tratamiento o prevención es eficaz.

45 La eficacia también se puede determinar midiendo la carga de placa amiloide en el cerebro. El régimen de tratamiento o prevención se considera eficaz cuando la carga de placa amiloide en el cerebro no aumenta o disminuye. Por el contrario, el régimen de tratamiento o prevención se considera ineficaz cuando aumenta la carga de placa amiloide en el cerebro. La carga de placa amiloide se puede determinar usando cualquier método conocido en la técnica, por ejemplo, incluyendo TC, PET, PIB-PET y/o RMN.

50 La eficacia también se puede determinar midiendo las capacidades cognitivas del sujeto. Las capacidades cognitivas se pueden medir usando cualquier método conocido en la técnica. Las pruebas ilustrativas incluyen asignar una puntuación de la clasificación clínica de demencia (CDR) o aplicar el mini-examen del estado mental (MMSE) (Folstein, *et al.*, *Journal of Psychiatric Research* 12 (3): 189-98). Los sujetos que mantienen la misma puntuación o que logran

55 una puntuación mejorada, por ejemplo, al aplicar la CDR o el MMSE, indican que el régimen de tratamiento o prevención es eficaz. Por el contrario, los sujetos que reciben una puntuación que indica capacidades cognitivas disminuidas, por ejemplo, al aplicar la CDR o MMSE, indican que el régimen de tratamiento o prevención no ha sido eficaz.

60 En determinadas realizaciones, los métodos de monitorización pueden implicar determinar un valor inicial de un biomarcador o parámetro medible (por ejemplo, carga de placa amiloide o capacidades cognitivas) en un sujeto antes de administrar una dosis del uno o más agentes, y compararlo con un valor para el mismo biomarcador o parámetro medible después del tratamiento.

65 En otros métodos, se determina un valor de control (por ejemplo, una media y una desviación estándar) del biomarcador o parámetro medible para una población de control. En determinadas realizaciones, los individuos de la

población de control no han recibido tratamiento previo y no tienen EA, DCL, ni tienen riesgo de desarrollar EA o DCL. En tales casos, si el valor del biomarcador o parámetro clínico medible se acerca al valor de control, entonces el tratamiento se considera eficaz. En otras realizaciones, los individuos de la población de control no han recibido tratamiento previo y han sido diagnosticados con EA o DCL. En tales casos, si el valor del biomarcador o parámetro clínico medible se acerca al valor de control, entonces el tratamiento se considera ineficaz.

En otros métodos, a un sujeto que actualmente no está recibiendo tratamiento pero que se ha sometido a un ciclo de tratamiento previo se le controlan uno o más de los biomarcadores o parámetros clínicos para determinar si se requiere reanudar el tratamiento. El valor medido de uno o más de los biomarcadores o parámetros clínicos en el sujeto se puede comparar con un valor previamente alcanzado en el sujeto después de un ciclo de tratamiento previo. Como alternativa, el valor medido en el sujeto se puede comparar con un valor de control (media más desviación estándar/ANOVA) determinado en una población de sujetos después de someterse a un curso de tratamiento. Como alternativa, el valor medido en el sujeto se puede comparar con un valor de control en poblaciones de sujetos tratados profilácticamente que permanecen libres de síntomas de enfermedad, o poblaciones de sujetos tratados terapéuticamente que muestran una mejora de las características de la enfermedad. En tales casos, si el valor del biomarcador o parámetro clínico medible se acerca al valor de control, entonces el tratamiento se considera eficaz y no es necesario reanudarlo. En todos estos casos, una diferencia significativa con respecto al nivel de control (por ejemplo, más de una desviación estándar) es un indicador de que se debe reanudar el tratamiento en el sujeto.

En determinadas realizaciones, la muestra de tejido para análisis suele ser sangre, plasma, suero, orina, mucosa o líquido cefalorraquídeo del sujeto.

#### **Kits.**

En diversas realizaciones, el uno o más agentes activos (por ejemplo, hidantoínas) descritos en el presente documento de las mismas se pueden incluir en recipientes de dosis múltiples o individuales. El uno o más agentes incluidos se pueden proporcionar en kits, por ejemplo, incluyendo componentes que pueden ensamblarse para su uso. Por ejemplo, puede proporcionarse un agente activo en forma liofilizada y un diluyente adecuado como componentes separados para su combinación antes de su uso. Un kit puede incluir un agente activo y un segundo agente terapéutico para administración conjunta. El agente activo y el segundo agente terapéutico pueden proporcionarse como componentes separados. Un kit puede incluir una pluralidad de recipientes, conteniendo cada recipiente una o más dosis unitarias de los compuestos. Los recipientes están preferentemente adaptados al modo de administración deseado, incluyendo, pero sin limitación, comprimidos, cápsulas de gel, cápsulas de liberación sostenida y similares para administración oral; productos de depósito, jeringas precargadas, ampollas, viales y similares para administración parenteral; y parches, almohadillas medicadas, cremas y similares para administración tópica, por ejemplo, como se describe en el presente documento.

En determinadas realizaciones, se proporciona un kit donde el kit comprende uno o más compuestos de hidantoína descritos en el presente documento, o un tautómero o estereoisómero de los mismos, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto, dicho estereoisómero o dicho tautómero, preferentemente proporcionado como una composición farmacéutica y en un recipiente o recipientes adecuados y/o con un envase adecuado; opcionalmente uno o más agentes activos adicionales, que, si están presentes, se proporcionan preferentemente como una composición farmacéutica y en un recipiente o recipientes adecuados y/o con un envase adecuado; y opcionalmente instrucciones de uso, por ejemplo, instrucciones escritas sobre cómo administrar el compuesto o las composiciones.

En otra realización, se proporciona un kit que comprende un único recipiente o múltiples recipientes: (a) una composición farmacéuticamente aceptable que comprende uno o más compuestos de la reivindicación 1 y/o cualquiera de los compuestos 1-10 mostrados en las figuras 1 y 2, o un tautómero o estereoisómero de los mismos, o sal o solvato farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto, dicho estereoisómero o dicho tautómero, opcionalmente una composición farmacéuticamente aceptable que comprende uno o más agentes terapéuticos adicionales; y opcionalmente instrucciones de uso. El kit puede comprender opcionalmente un etiquetado (por ejemplo, materiales de instrucción) apropiado para el uso o usos previstos.

Como ocurre con cualquier producto farmacéutico, el uno o más materiales de envasado y/o el uno o más recipientes están diseñados para proteger la estabilidad del producto durante el almacenamiento y envío. Además, los kits pueden incluir instrucciones de uso u otro material informativo que pueda asesorar al usuario tal como, por ejemplo, un médico, técnico o paciente, con respecto a cómo administrar adecuadamente la una o más composiciones como tratamiento profiláctico, terapéutico o de mejora de la enfermedad de interés. En algunas realizaciones, las instrucciones pueden indicar o sugerir una pauta posológica que incluye, pero sin limitación, dosis reales y procedimientos de seguimiento.

En algunas realizaciones, las instrucciones pueden incluir material informativo que indique que la administración de las composiciones puede provocar reacciones adversas que incluyen, pero sin limitación, reacciones alérgicas tales como, por ejemplo, anafilaxia. El material informativo puede indicar que las reacciones alérgicas pueden manifestarse sólo como erupciones pruriginosas leves o pueden ser graves e incluir eritrodermia, vasculitis, anafilaxia, síndrome de Steven-Johnson y similares. En determinadas realizaciones, el uno o más materiales informativos pueden indicar que

la anafilaxia puede ser fatal y puede producirse cuando se introduce cualquier proteína extraña en el cuerpo. En determinadas realizaciones, el material informativo puede indicar que estas reacciones alérgicas pueden manifestarse como urticaria o erupción cutánea y convertirse en reacciones sistémicas letales y pueden producirse poco después de la exposición, tal como, por ejemplo, al cabo de 10 minutos. El material informativo puede indicar además que una

reacción alérgica puede hacer que un sujeto experimente parestesia, hipotensión, edema laríngeo, cambios del estado mental, angioedema facial o faríngeo, obstrucción de las vías respiratorias, broncoespasmo, urticaria y prurito, enfermedad del suero, artritis, nefritis alérgica, glomerulonefritis, artritis temporal, eosinofilia o una combinación de las mismas.

Aunque los materiales de instrucciones típicamente comprenden materiales escritos o impresos, no se limitan a ellos. Se contempla en el presente documento cualquier medio capaz de almacenar dichas instrucciones y comunicarl

En algunas realizaciones, los kits pueden comprender uno o más materiales de envasado tales como, por ejemplo, una caja, frasco, tubo, vial, recipiente, pulverizador, insuflador, bolsa intravenosa (I.V.), sobre y similares; y al menos una forma farmacéutica unitaria de un agente que comprende uno o más agentes activos descritos en el presente documento y un material de envasado. En algunas realizaciones, los kits también incluyen instrucciones para usar la composición como tratamiento profiláctico, terapéutico o de mejora para la enfermedad en cuestión.

En algunas realizaciones, los artículos de fabricación pueden comprender uno o más materiales de envasado tales como, por ejemplo, una caja, frasco, tubo, vial, recipiente, pulverizador, insuflador, bolsa intravenosa (I.V.), sobre y similares; y una primera composición que comprende al menos una forma farmacéutica unitaria de un agente que comprende una o más hidantoínas descritas en el presente documento, o uno o más tautómeros o estereoisómeros de las mismas, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de dicha una o más hidantoínas, dicho uno o más estereoisómeros, o dicho uno o más tautómeros de las mismas dentro del material de envasado, junto con una segunda composición que comprende un segundo agente tal como, por ejemplo, un agente usado en el tratamiento y/o profilaxis de la enfermedad de Alzheimer (por ejemplo, como se describe en el presente documento), o metabolitos, análogos, homólogos, congéneres, derivados, sales y combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, los artículos de fabricación también pueden incluir instrucciones para usar la composición como tratamiento profiláctico, terapéutico o de mejora para la enfermedad en cuestión.

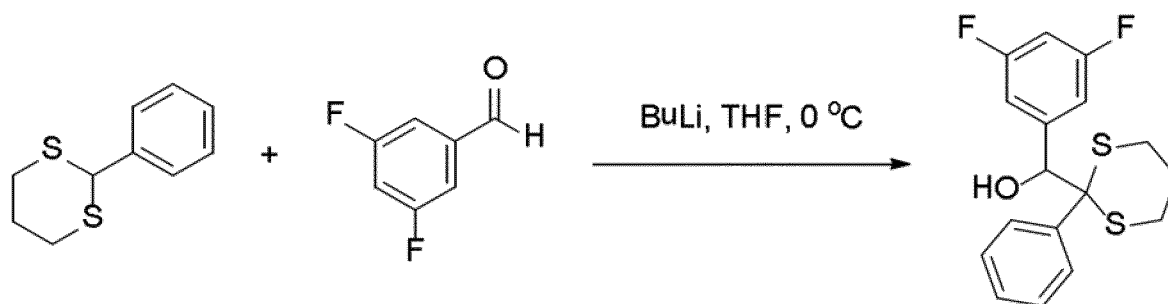
## Ejemplos

Los siguientes ejemplos se ofrecen para ilustrar, pero no para limitar, la invención reivindicada.

### Ejemplo 1

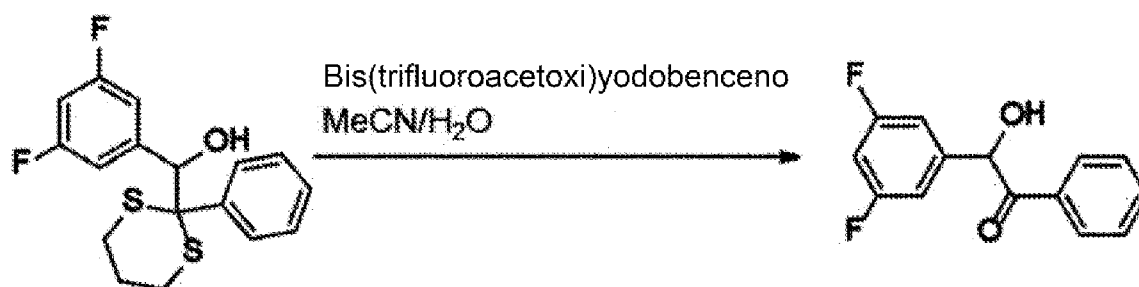
#### Síntesis del Compuesto 1 5-(3,5-difluorofenil)-5-fenilimidazolidin-2,4-diona (Hidantoína 1)

##### Etap

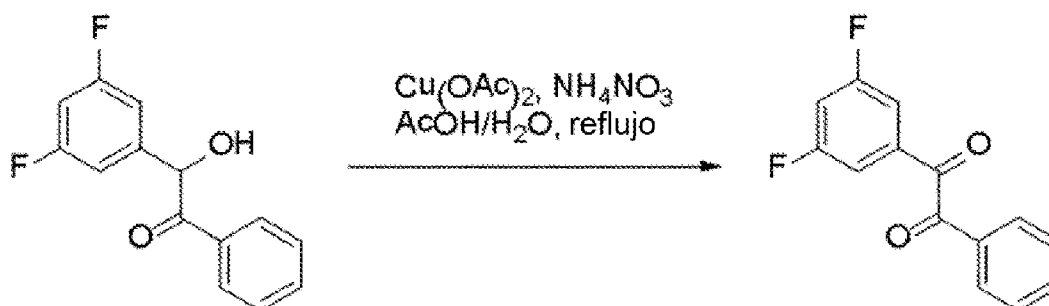


Se disolvió 2-fenil-1,3-ditiano (1,791 g, 9,12 mmol) en 20 ml de THF seco y se enfrió a 0 °C. Se añadió gota a gota BuLi (6,84 ml, 10,94 mmol) en una atmósfera de nitrógeno y la mezcla se agitó durante 30 min a 0 °C. Se añadió una solución de 3,5-difluorobenzaldehído (1,00 ml, 9,12 mmol) en THF (10 ml) y la mezcla se agitó durante 30 minutos, a continuación se calentó a temperatura ambiente durante 1 hora y se inactivó con una solución saturada de cloruro de amonio. La fase orgánica se lavó con salmuera y se secó con sulfato de sodio. El disolvente se eliminó al vacío para dar (3,5-difluorofenil)(2-fenil-1,3-ditian-2-il)metanol en bruto (3,15 g, 9,31 mmol, 104 % de rendimiento) en forma de un aceite espeso de color amarillo. El residuo se llevó a la siguiente etapa.

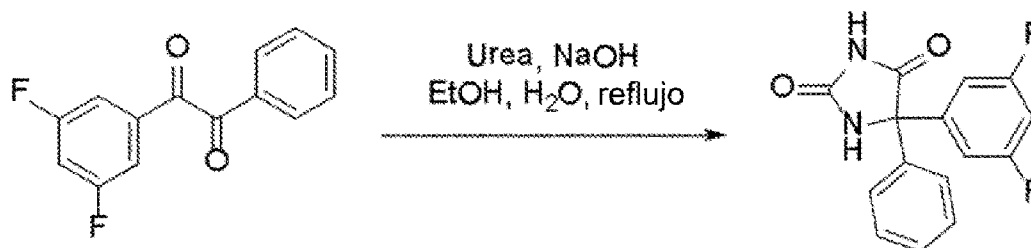


**Etapla 2: Síntesis de 2-(3,5-difluorofenil)-2-hidroxi-1-feniletanona**

Se disolvió (3,5-difluorofenil)(2-fenil-1,3-ditlan-2-il)metanol (3,15 g, 9,31 mmol) en 15 ml de acetonitrilo y 2,5 ml de agua. Se añadió lentamente bis(trifluoroacetoxi)yodobenceno (5,00 g, 11,63 mmol) en 10 ml de acetonitrilo a temperatura ambiente a la solución agitada vigorosamente. Después de 30 minutos, el análisis por TLC (EtOAc al 25 %/hexano) indicó una reacción completa. Se añadió EtOAc (150 ml) y la mezcla se aclaró con una solución saturada de bicarbonato de sodio (50 ml) y salmuera (50 ml). Las fracciones orgánicas se secaron, y el disolvente se eliminó al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (EtOAc al 12,5 %/hexano) para dar 2-(3,5-difluorofenil)-2-hidroxi-1-feniletanona (1,10 g, 4,43 mmol, 48 %) en forma de un sólido de color amarillo pálido. La RMN de protones fue consistente con la estructura propuesta.

**Etapla 3: Síntesis de 1-(3,5-difluorofenil)-2-feniletano-1,2-diona**

Se disolvió 2-(3,5-difluorofenil)-2-hidroxi-1-feniletanona (1,10 g, 4,43 mmol) en ácido acético al 80 % junto con diacetoxicobre hidrato (44 mg, 0,22 mmol) y nitrato de amonio (0,30 g, 3,75 mmol). La mezcla se calentó a reflujo durante 2,5 horas y a continuación se enfrió. La mezcla de reacción se vertió en acetato de etilo (50 ml) y se lavó con salmuera (2 x 25 ml), se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se evaporó. El material en bruto se purificó por cromatografía en columna (EtOAc al 5 %/hexano) para dar 1-(3,5-difluorofenil)-2-feniletano-1,2-diona (1,10 g, 4,43 mmol, cuant.) en forma de un sólido de color amarillo brillante. La RMN de protones fue consistente con la estructura propuesta.

**Etapla 4: Síntesis de 5-(3,5-difluorofenil)-5-fenilimidazolidin-2,4-diona**

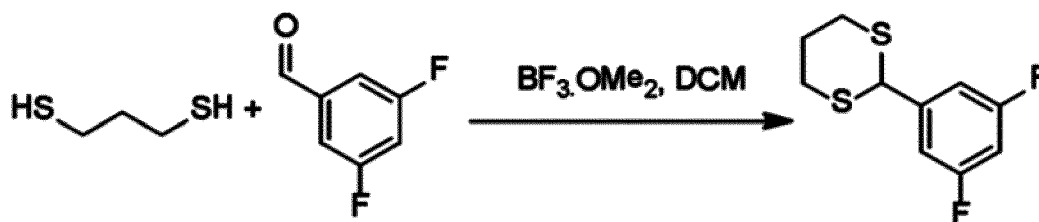
A una solución de 1-(3,5-difluorofenil)-2-feniletano-1,2-diona (0,99 g, 4,02 mmol), urea (0,435 g, 7,24 mmol) en etanol (20 ml) y agua (5 ml) se le añadió NaOH sólido (0,29 g, 7,24 mmol). La mezcla de reacción se calentó a reflujo hasta que el análisis por TLC (EtOAc al 50 %/hexano) indicó una reacción completa. La mezcla de reacción se diluyó con agua (30 ml) y se acidificó cuidadosamente con HCl 2 M a pH 5. La mezcla de reacción se extrajo con acetato de etilo (100 ml) y se lavó con agua (50 ml) y salmuera (50 ml). El extracto orgánico se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se evaporó para dar un residuo que se trituró con mezclas de acetona y hexano para proporcionar 5-(3,5-difluorofenil)-5-fenilimidazolidin-2,4-diona (0,220 g) en forma de un sólido que se hidrató mucho con agua según se determinó por espectroscopía de RMN. El sólido, después del calentamiento (120 °C) al vacío durante una noche, proporcionó el producto deseado (0,20 g, 0,69 mmol, 17 %) en forma de un polvo de color blanco. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) δ

ppm 11,31 (s a, 1H), 9,44 (s, 1H), 7,37 (m, 6H), 7,10 (d,  $J = 6,77$  Hz, 2H);  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{d}_6$ -DMSO)  $\delta$  ppm 173,89, 163,52, 163,39, 161,06, 160,93, 155,78, 143,79, 143,70, 143,61, 139,16, 128,82, 128,44, 126,26, 110,12, 110,04, 109,93, 109,85, 104,11, 103,86, 103,60, 69,43 (nota: Se observó acoplamiento C-F en varios casos, dando lugar a señales de dobletes y tripletes; LC (220 nm):  $T_r = 4,09$  min, pureza por LC: 95,8 %,  $m/z$  (M-1): 300,3.

## Ejemplo 2

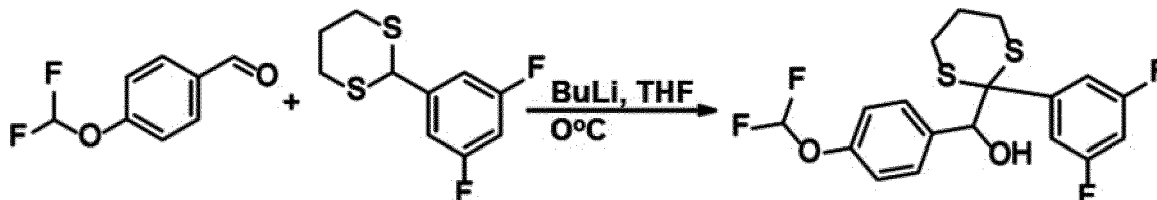
### Síntesis de FAH-2: 2-amino-4-(4-(difluorometoxi)fenil)-4-(3,5-difluorofenil)-1-metil-1H-imidazol-5(4H)-ona

#### Etapas 1: Síntesis de 2-(3,5-difluorofenil)-1,3-ditiano



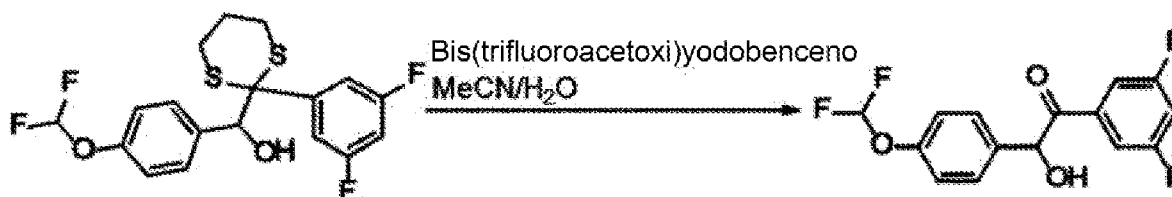
Se añadió gota a gota  $\text{BF}_3 \cdot \text{OME}_2$  (0,70 ml, 7,62 mmol) a una solución de 1,3-propanoditio (0,90 ml, 8,94 mmol) y 3,5-difluorobenzaldehído (1,00 ml, 8,94 mmol) en DCM (50 ml) a  $0^\circ\text{C}$ . La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, donde el análisis por TLC (EtOAc al 5 %/hexano) indicó una reacción completa. A continuación, la mezcla de reacción se diluyó con DCM (50 ml), se filtró a través de Celite (y el lecho de Celite se lavó con más cantidad de DCM (3 x 20 ml) y el filtrado se lavó con salmuera (50 ml),  $\text{NaHCO}_3$  saturado (3 x 50 ml), una solución al 10 % de KOH (50 ml), agua (50 ml) y salmuera (50 ml) y finalmente se secó sobre sulfato de sodio. El extracto orgánico se filtró y se evaporó para proporcionar 2-(3,5-difluorofenil)-1,3-ditiano (2,14 g, 9,21 mmol, 103 %) en forma de agujas cristalinas de color blanco. La RMN de protones fue consistente con la estructura propuesta.

#### Etapas 2: Síntesis de (4-(difluorometoxi)fenil)(2-(3,5-difluorofenil)-1,3-ditiano-2-il)metanol



Se disolvió 2-(3,5-difluorofenil)-1,3-ditiano (2,14 g, 9,21 mmol) en 20 ml de THF seco y se enfrió a  $0^\circ\text{C}$ . Se añadió gota a gota BuLi (8,50 ml, 10,20 mmol) en una atmósfera de nitrógeno y la mezcla se agitó durante 15 min a  $0^\circ\text{C}$ . Se añadió una solución de 4-(difluorometoxi)benzaldehído (1,30 ml, 9,33 mmol) en THF (10 ml) y la mezcla se agitó durante 10 minutos, a continuación se calentó a temperatura ambiente durante 10 minutos y se inactivó con una solución saturada de cloruro de amonio. La fase orgánica se lavó con salmuera y se secó con sulfato de sodio. El disolvente se eliminó al vacío para dar un residuo que se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (EtOAc al 10 %/hexano) para proporcionar (4-(difluorometoxi)fenil)(2-(3,5-difluorofenil)-1,3-ditiano-2-il)metanol (1,90 g, 4,70 mmol, 51 %) en forma de un aceite espeso de color amarillo. La RMN de protones fue consistente con la estructura propuesta.

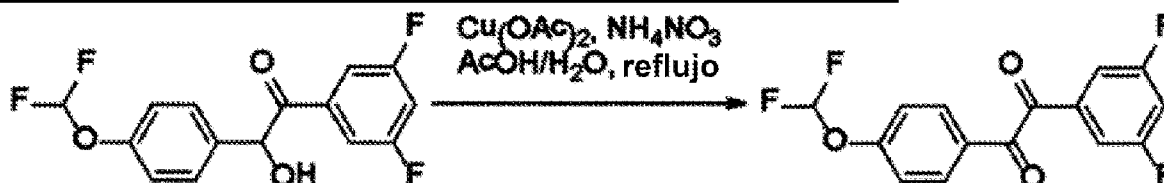
#### Etapas 3: Síntesis de 2-(4-(difluorometoxi)fenil)-1-(3,5-difluorofenil)-2-hidroxietanona



Se disolvió (4-(difluorometoxi)fenil)(2-(3,5-difluorofenil)-1,3-ditiano-2-il)metanol (1,90 g, 4,70 mmol) en 15 ml de acetonitrilo y 2,5 ml de agua. Se añadió lentamente bis(trifluoroacetoxi)yodobenceno (2,53 g, 5,87 mmol) en 10 ml de acetonitrilo a temperatura ambiente a la solución agitada vigorosamente. Después de 30 minutos, el análisis por TLC

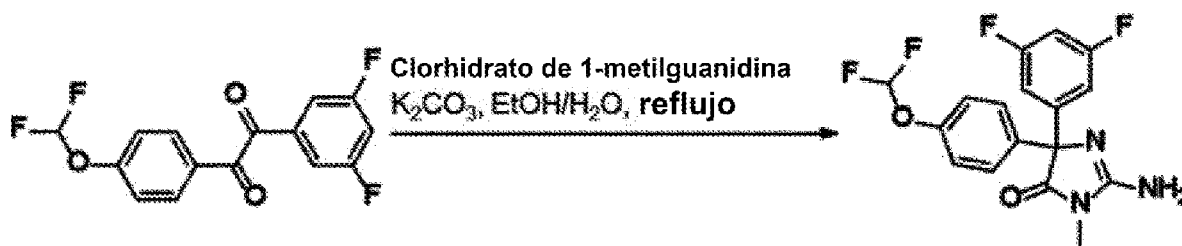
(EtOAc al 25 %/hexano) indicó una reacción completa. Se añadió EtOAc (150 ml) y la mezcla se aclaró con una solución saturada de bicarbonato de sodio (50 ml) y salmuera (50 ml). Las fracciones orgánicas se secaron, y el disolvente se eliminó al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (EtOAc al 12,5 %/hexano) para dar 2-(4-(difluorometoxi)fenil)-1-(3,5-difluorofenil)-2-hidroxietanona (0,460 g, 1,46 mmol, 31 %) en forma de un sólido de color amarillo pálido. La RMN de protones fue consistente con la estructura propuesta.

#### **Etapas 4: Síntesis de 1-(4-(difluorometoxi)fenil)-2-(3,5-difluorofenil)etano-1,2-diona**



Se disolvió 2-(4-(difluorometoxi)fenil)-1-(3,5-difluorofenil)-2-hidroxietanona (0,46 g, 1,46 mmol) en ácido acético al 80 % junto con diacetoxicobre hidrato (26 mg, 0,13 mmol) y nitrato de amonio (0,18 g, 2,25 mmol). La mezcla se calentó a reflujo durante 90 minutos y a continuación se enfrió. La mezcla de reacción se vertió en acetato de etilo (50 ml) y se lavó con salmuera (2 x 25 ml), se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se evaporó. El material en bruto se pasó a través de un tapón de gel de sílice, se evaporó y se destiló azeotrópicamente con tolueno (3 x 20 ml) para eliminar el exceso de ácido acético para dar 1-(4-(difluorometoxi)fenil)-2-(3,5-difluorofenil)etano-1,2-diona en bruto (0,456 g, 1,46 mmol, 100 %) en forma de un sólido de color amarillo brillante. El sólido en bruto se llevó a la siguiente etapa.

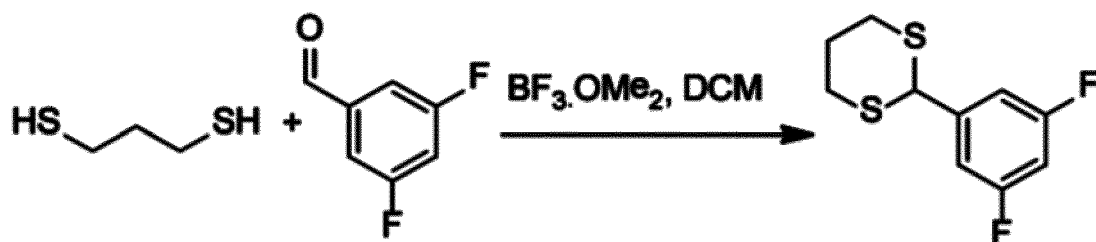
#### **Etapas 5: Síntesis de 2-amino-4-(4-(difluorometoxi)fenil)-4-(3,5-difluorofenil)-1-metil-1H-imidazol-5(4H)-ona**



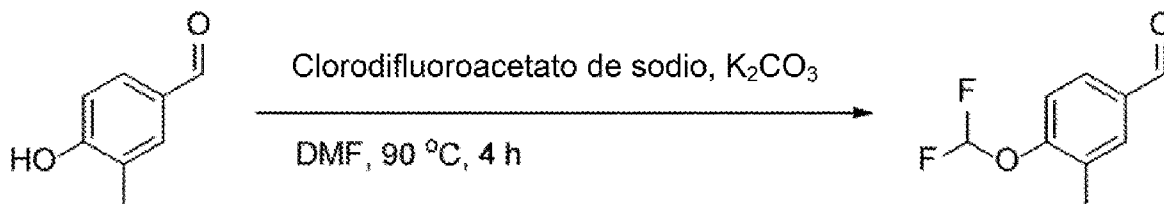
A 1-(4-(difluorometoxi)fenil)-2-(3,5-difluorofenil)etano-1,2-diona (0,456 g, 1,46 mmol) en etanol (20 ml) y agua (5 ml) se le añadieron clorhidrato de 1-metilguanidina (0,16 g, 1,46 mmol) y carbonato de potasio (0,61 g, 4,38 mmol). La mezcla se dejó a reflujo durante 3 horas y a continuación se enfrió a temperatura ambiente. Los volátiles se eliminaron al vacío y el residuo se recogió en agua y se extrajo en cloroformo (50 ml). Las fracciones orgánicas se secaron con sulfato de sodio y el disolvente se eliminó al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía en columna (EtOAc) para proporcionar 2-amino-4-(4-(difluorometoxi)fenil)-4-(3,5-difluorofenil)-1-metil-1H-imidazol-5(4H)-ona (0,172 g, 0,47 mmol) en forma de un vidrio que estaba muy contaminado con acetato de etilo según se determinó por análisis de RMN. El vidrio se recogió en etanol seco (3 ml) y se estratificó con hexano (1 ml) para obtener una solución turbia. La solución se evaporó por rotación para dar un aceite que solidificó después de un período de reposo. Este se secó durante una noche y el peso obtenido fue de 0,150 g. El sólido contenía residuos de disolvente de etanol y hexano según se determinó por análisis de RMN. Por lo tanto, los sólidos se disolvieron de nuevo en iso-propanol, se evaporaron por rotación y se secaron a alto vacío a 90 °C durante una noche para proporcionar 2-amino-4-(4-(difluorometoxi)fenil)-4-(3,5-difluorofenil)-1-metil-1H-imidazol-5(4H)-ona (0,130 g, 0,35 mmol, 24 %) en forma de un sólido de color blanquecino. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 7,47 (d, J = 8,79 Hz, 2H), 7,10-7,00 (m, 4H), 6,70 (tt, J = 8,73, 2,32 Hz, 1H), 6,53 (t, J<sub>HF</sub> = 73,76 Hz, 1H), 5,45 (s a, 1H), 3,11 (s, 3H); <sup>13</sup>C RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 178,619, 164,122, 163,996, 161,650, 161,524, 155,704, 150,742, 150,714, 150,687, 145,164, 145,081, 144,991, 137,735, 128,390, 119,444, 118,328, 115,743, 113,158, 110,329, 110,255, 110,138, 110,065, 103,421, 103,169, 102,917, 77,203, 25,966 (nota: Se observó acoplamiento C-F en varios casos, dando lugar a señales de dobletes y tripletes); LC (260 nm): T<sub>r</sub> = 3,899 min, pureza por LC: 96,3 %, m/z (M-1): 366.

#### **Ejemplo 3**

#### **Síntesis de FAH-3: 2-amino-4-(4-(difluorometoxi)fenil)-4-(3,5-difluorofenil)-1-metil-1H-imidazol-5(4H)-ona**

**Etapa 1: Síntesis de 2-(3,5-difluorofenil)-1,3-ditiano**

Se añadió gota a gota  $\text{BF}_3 \cdot \text{OMe}_2$  (1,40 ml, 15,25 mmol) a una solución de 1,3-propanoditio (1,81 ml, 17,87 mmol) y 3,5-difluorobenzaldehído (2,00 ml, 17,87 mmol) en DCM (50 ml) a 0 °C. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, donde el análisis por TLC (EtOAc al 5 %/hexano) indicó una reacción completa. A continuación, la mezcla de reacción se diluyó con más cantidad de DCM (50 ml), se filtró a través de Celite, y el lecho de Celite se lavó con más cantidad de DCM (3 x 20 ml). El filtrado se lavó con  $\text{NaHCO}_3$  saturado (3 x 50 ml), una solución al 10 % de KOH (2 x 50 ml), agua (2 x 50 ml) y salmuera (50 ml) y finalmente se secó sobre sulfato de sodio. El extracto orgánico se filtró y se evaporó para proporcionar 2-(3,5-difluorofenil)-1,3-ditiano (4,12 g, 17,73 mmol, 99 %) en forma de un sólido de color blanco. La RMN de protones fue consistente con la estructura propuesta.

**Etapa 2: Síntesis de 4-(difluorometoxi)-3-metilbenzaldehído****Intento 1:**

Una solución de clorodifluoroacetato de sodio (3,23 g, 21,15 mmol) y 4-hidroxi-3-metilbenzaldehído (1,44 g, 10,58 mmol), carbonato de potasio (2,19 g, 15,87 mmol) en una mezcla de DMF (8 ml) y agua (2 ml) se calentó a 100 °C durante 2 horas. La mezcla de reacción se enfrió y se añadió HCl conc. (1,5 ml) seguido de agua (2,1 ml). La mezcla de reacción se diluyó con agua (20 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 25 ml). El extracto orgánico se lavó con una solución acuosa al 10 % (m/v) de LiCl (3 x 25 ml), se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se evaporó para dar un residuo que se sometió a cromatografía ultrarrápida (EtOAc al 15 %/hexano) para dar 4-(difluorometoxi)-3-metilbenzaldehído (0,244 g, 1,31 mmol, 12 %) en forma de un aceite de color pardo y se recuperó 4-hidroxi-3-metilbenzaldehído (1,164 g, 8,55 mmol, 81 %) en forma de un sólido de color pardo.

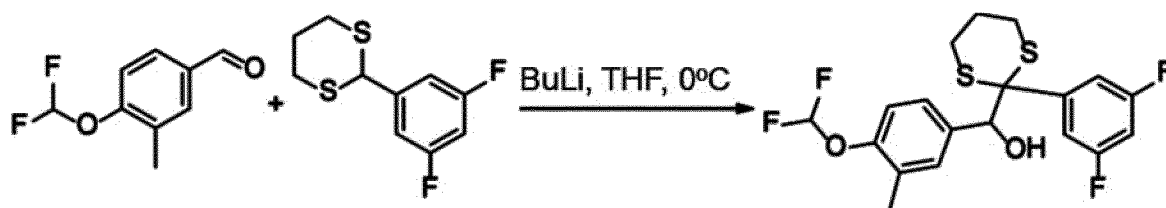
El experimento se repitió de nuevo, excepto por la ausencia de agua. Brevemente, el procedimiento experimental se da a continuación:

**Intento 2:**

Se añadió una solución de clorodifluoroacetato de sodio (2,60 g, 17,04 mmol) y 4-hidroxi-3-metilbenzaldehído (1,16 g, 8,52 mmol) en DMF (15 ml) durante 3 horas a una solución de DMF (15 ml) que contenía carbonato de potasio (1,77 g, 12,78 mmol) a 95 °C. La reacción se dejó madurar durante 15 minutos más y a continuación se enfrió. La mezcla de reacción se diluyó con agua (50 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 ml). El extracto orgánico se lavó con una solución acuosa al 10 % (m/v) de LiCl (3 x 25 ml), se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se evaporó para dar un residuo que se sometió a cromatografía ultrarrápida (EtOAc al 15 %/hexano) para dar 4-(difluorometoxi)-3-metilbenzaldehído (0,21GLM-053\_1(2), 1,00 g, 5,37 mmol, 63 %) en forma de un aceite de color amarillo. Este aceite se combinó con el del experimento anterior y se pasó a través de una columna de pipeta Pasteur eluyendo con EtOAc al 10 %/hexano para dar un aceite que solidificó después de un período de reposo (1,315 g, 7,06 mmol, 67 % en las dos reacciones). La RMN de protones fue consistente con la estructura propuesta.

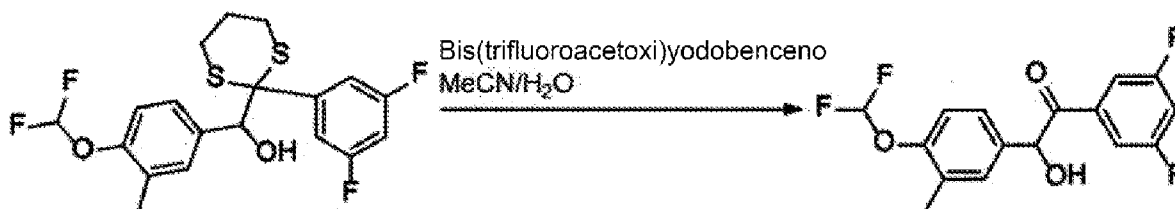
Finalmente, repitiendo el experimento usando las condiciones del intento 2, se aislaron 1,4 g más del producto deseado.

**Etapa 3: Síntesis de 4-(difluorometoxi)-3-metilfenil(2-(3,5-difluorofenil)-1,3-ditiano-2-il)metanol**



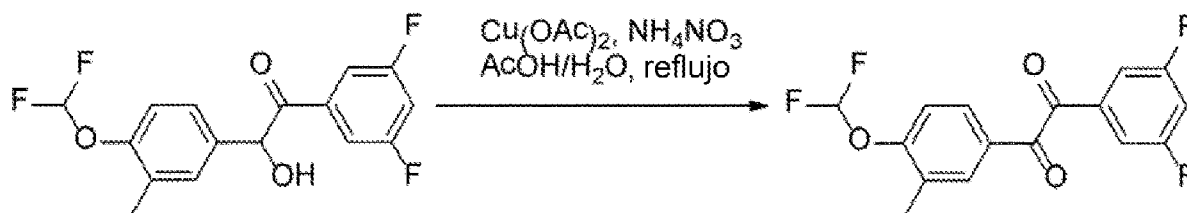
Se disolvió 2-(3,5-difluorofenil)-1,3-ditiano (3,12 g, 13,43 mmol) en 30 ml de THF seco y se enfrió a -10 °C. Se añadió gota a gota BuLi (1,6 M, 12,0 ml, 19,20 mmol) en una atmósfera de nitrógeno y la mezcla se agitó durante 15 min a -10 °C para proporcionar una solución de color rojo sangre. Se añadió gota a gota una solución de 4-(difluorometoxi)-3-metilbenzaldehído (2,50 g, 13,43 mmol) en THF (10 ml) y la mezcla se agitó durante 15 minutos, a continuación se calentó a temperatura ambiente durante 10 minutos y se inactivó con una solución saturada de cloruro de amonio. La fase orgánica se lavó con salmuera y se secó con sulfato de sodio. El disolvente se eliminó y el residuo se sometió a cromatografía ultrarrápida (EtOAc al 10 %/hexano) para dar (4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)(2-(3,5-difluorofenil)-1,3-ditian-2-il)metanol (3,07 g, 7,22 mmol, 55 %) en forma de un aceite espeso que solidificó después de un período de reposo. La RMN fue consistente con la estructura propuesta.

#### **Etap 4: Síntesis de 2-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)-1-(3,5-difluorofenil)-2-hidroxi-etanona**



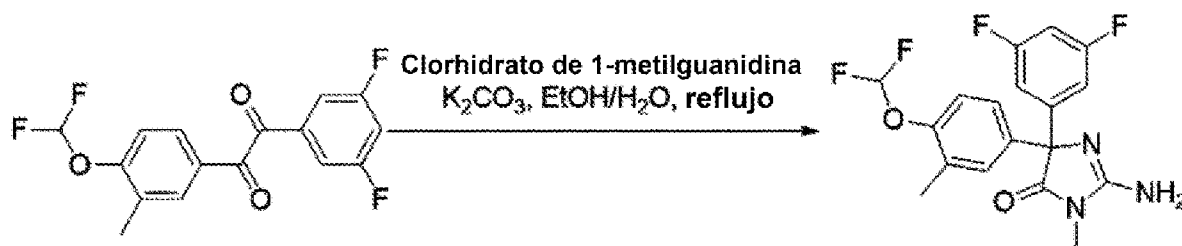
Se disolvió (4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)(2-(3,5-difluorofenil)-1,3-ditian-2-il)metanol (3,07 g, 7,34 mmol) en acetonitrilo (15 ml) y agua (2,5 ml). Se añadió lentamente bis(trifluoroacetoxi)yodobenceno (3,94 g, 9,17 mmol) en acetonitrilo (10 ml) a temperatura ambiente a la solución agitada vigorosamente. Después de 20 minutos, el análisis por TLC (EtOAc al 20 %/hexano) indicó una reacción completa. Se añadió EtOAc (150 ml) y la mezcla se aclaró con una solución saturada de bicarbonato de sodio (50 ml) y salmuera (50 ml). Las fracciones orgánicas se secaron, y el disolvente se eliminó al vacío. El producto en bruto se purificó dos veces por cromatografía en columna ultrarrápida (EtOAc al 10 %/hexano) para dar 2-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)-1-(3,5-difluorofenil)-2-hidroxi-etanona (0,853 g, 2,60 mmol, 35 %) en forma de un aceite de color amarillo pálido. La RMN de protones fue consistente con la estructura propuesta.

#### **Etap 5: Síntesis de 1-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)-2-(3,5-difluorofenil)etano-1,2-diona**



Se disolvió 2-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)-1-(3,5-difluorofenil)-2-hidroxi-etanona (0,853 g, 2,60 mmol) en ácido acético al 80 % junto con diacetoxicobre hidrato (52 mg, 0,26 mmol) y nitrato de amonio (0,156 g, 1,95 mmol). La mezcla se calentó a reflujo durante 90 minutos y a continuación se enfrió. La mezcla de reacción se vertió en acetato de etilo (50 ml) y se lavó con salmuera (2 x 25 ml), se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se evaporó. El residuo se destiló azeotrópicamente con tolueno para eliminar el ácido acético y el residuo (0,737 g, 2,26 mmol, 87 %) se usó directamente en la siguiente etapa.

#### **Etap 6: Síntesis de 2-amino-4-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)-4-(3,5-difluorofenil)-1-metil-1H-imidazol-5(4H)-ona**

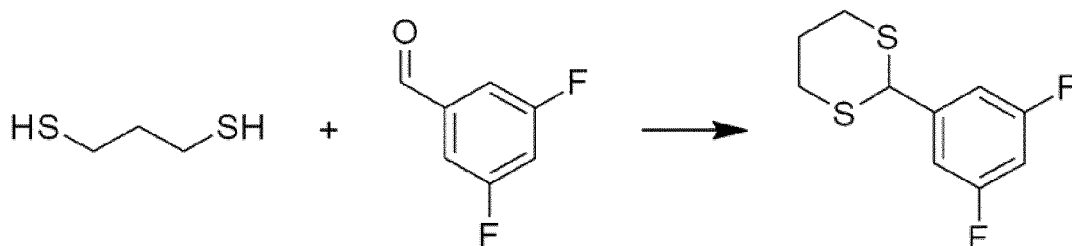


A una mezcla de 1-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)-2-(3,5-difluorofenil)etano-1,2-diona (737 mg, 2,26 mmol) en etanol (15 ml) y dioxano (15 ml) se le añadió clorhidrato de 1-metilguanidina (990 mg, 9,04 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos. Se añadió carbonato de sodio (958 mg, 9,04 mmol) en agua (5 ml) y la mezcla se sumergió en un baño de aceite a 85 °C y se agitó durante 3 horas. El análisis por TLC (EtOAc) indicó una reacción completa. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró. La purificación por cromatografía ultrarrápida (EtOAc) proporcionó 2-amino-4-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)-4-(3,5-difluorofenil)-1-metil-1H-imidazol-5(4H)-ona (0,52 g, 1,36 mmol, 60 %) en forma de un sólido de color amarillo. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 7,34-7,24 (m, 2H), 7,08-6,97 (m, 3H), 6,74-6,66 (m, 1H), 6,47 (t, *J*<sub>H-F</sub> = 74,03 Hz, 1H), 5,45 (s a, 2H), 3,11 (s, 3H), 2,25 (s, 3H); LC (260 nm): T<sub>r</sub> = 3,919 min, pureza por LC: 96,1 %, m/z (M+1): 382, LC (220 nm): T<sub>r</sub> = 3,922 min, pureza por LC: 96,8 %.

#### Ejemplo 4

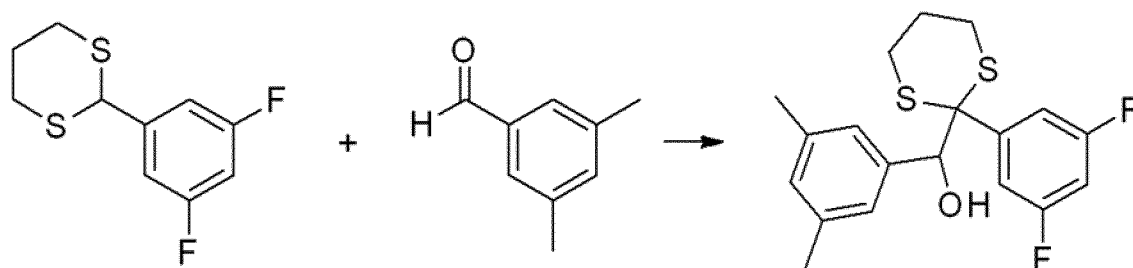
#### Síntesis de FAH-5: 2-amino-4-(3,5-difluorofenil)-4-(3,5-dimetilfenil)-1-metil-1H-imidazol-5(4H)-ona

#### Síntesis de 2-(3,5-difluorofenil)-1,3-ditiano



Se añadió gota a gota BF<sub>3</sub>·OMe<sub>2</sub> (2,50 ml, 27,5 mmol) a una solución de 1,3-propanoditio (3,70 ml, 36,6 mmol) y 3,5-difluorobenzaldehído (4,10 ml, 36,6 mmol) en DCM (75 ml) a 0 °C. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, donde el análisis por TLC (EtOAc al 5 %/hexano) indicó una reacción completa. A continuación, la mezcla de reacción se diluyó con más cantidad de DCM (50 ml), se filtró a través de Celite, y el lecho de Celite se lavó con más cantidad de DCM (3 x 50 ml). El filtrado se lavó con NaHCO<sub>3</sub> saturado (3 x 100 ml), una solución al 10 % de KOH (2 x 100 ml), agua (100 ml) y salmuera (100 ml) y finalmente se secó sobre sulfato de sodio. El extracto orgánico se filtró a través de una capa de sílice y el lecho de sílice se lavó con mezclas de acetato de etilo al 10 %/hexano (3 x 20 ml). El extracto orgánico se evaporó para proporcionar 2-(3,5-difluorofenil)-1,3-ditiano (8,44 g, 36,3 mmol, 99 %) en forma de un sólido de color blanco cristalino. La RMN fue consistente con la estructura propuesta.

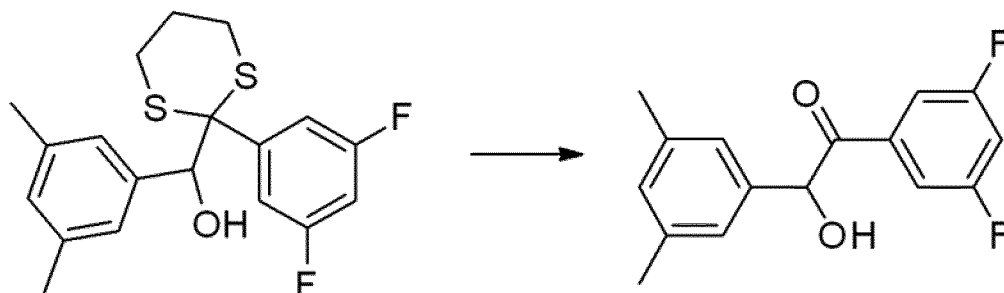
#### Síntesis de (2-(3,5-difluorofenil)-1,3-ditiano-2-il)(3,5-dimetilfenil)metanol



Se disolvió 2-(3,5-difluorofenil)-1,3-ditiano (8,00 g, 34,4 mmol) en 100 ml de THF seco y se enfrió a -10 °C. Se añadió gota a gota BuLi (1,6 M, 34 ml, 54,4 mmol) en una atmósfera de nitrógeno y la mezcla se agitó durante 15 min a -10 °C para proporcionar una solución de color pardo. Se añadió gota a gota una solución de 3,5-dimetilbenzaldehído (4,84 g,

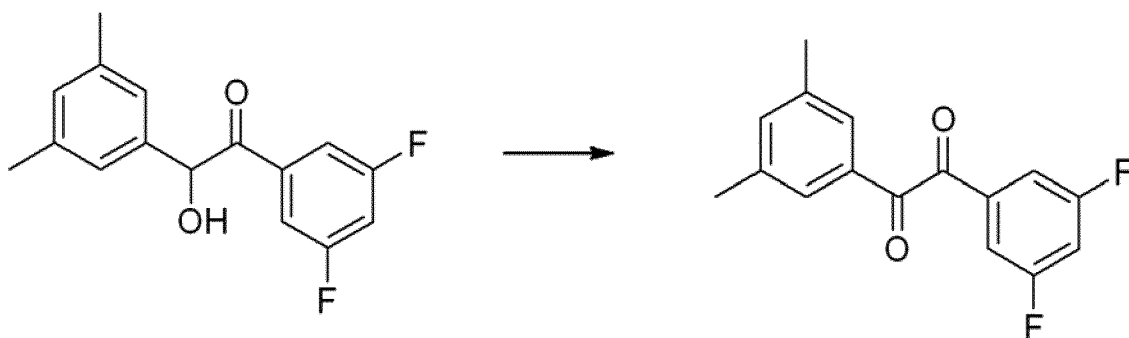
36,1 mmol) en THF (10 ml) y la mezcla de reacción se agitó durante 15 minutos, a continuación se calentó a temperatura ambiente durante 30 minutos y se inactivó con una solución saturada de cloruro de amonio. La fase orgánica se lavó con salmuera y se secó con sulfato de sodio. El disolvente se eliminó y el residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (EtOAc al 10 %/hexano) para dar (2-(3,5-difluorofenil)-1,3-ditian-2-il)(3,5-dimetilfenil)metanol (6,60 g, 18,01 mmol, 52 %) en forma de un aceite espeso que solidificó después de un período de reposo. La RMN fue consistente con la estructura propuesta.

#### Síntesis de 1-(3,5-difluorofenil)-2-(3,5-dimetilfenil)-2-hidroxietanona



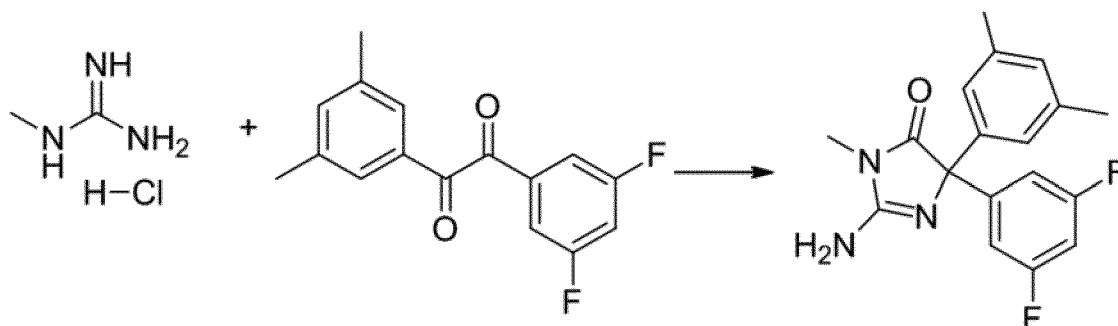
Se disolvió (2-(3,5-difluorofenil)-1,3-ditian-2-il)(3,5-dimetilfenil)metanol (6,60 g, 18,01 mmol) en una solución de acetonitrilo (75 ml) y agua (15 ml). Se añadió en varias porciones bis(trifluoroacetoxi)yodobenceno (9,68 g, 22,51 mmol) a la solución agitada vigorosamente a temperatura ambiente. Después de 60 minutos, el análisis por TLC (EtOAc al 20 %/hexano) pareció indicar una reacción completa. Se añadió acetato de etilo (150 ml) y la mezcla se aclaró con una solución saturada de bicarbonato de sodio (2 x 50 ml) y salmuera (50 ml). Las fracciones orgánicas se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se evaporaron. El residuo se purificó dos veces por cromatografía en columna ultrarrápida (EtOAc al 10 %/hexano) para dar 1-(3,5-difluorofenil)-2-(3,5-dimetilfenil)-2-hidroxietanona (2,10 g, 7,60 mmol, 42 %, aprox. 90 % de pureza por RMN) en forma de un sólido de color amarillo pálido contaminado con material de partida (aprox. 10 %);  $F_r$  (EtOAc al 10 %/hexano): 0,20, que fue idéntico tanto para el material de partida como para el producto. Sin embargo, la RMN fue coherente con la estructura propuesta del producto, que era el componente principal.

#### Síntesis de 1-(3,5-difluorofenil)-2-(3,5-dimetilfenil)etano-1,2-diona



Se disolvió 1-(3,5-difluorofenil)-2-(3,5-dimetilfenil)-2-hidroxietanona (2,10 g, 7,60 mmol) en ácido acético al 80 % (10 ml) junto con diacetoxicobre hidrato (0,15 g, 0,76 mmol) y nitrato de amonio (0,46 g, 5,70 mmol). La mezcla se calentó a reflujo durante 90 minutos y a continuación se enfrió. La mezcla de reacción de color verde se vertió en acetato de etilo (50 ml), se lavó con salmuera (2 x 25 ml), se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se evaporó. El residuo se sometió a cromatografía ultrarrápida (EtOAc al 20 %/hexano) para proporcionar 1-(3,5-difluorofenil)-2-(3,5-dimetilfenil)etano-1,2-diona (1,13 g, 4,12 mmol, 54 %) en forma de un sólido de color amarillo. La RMN fue consistente con la estructura propuesta.

#### Síntesis de 2-amino-4-(3,5-difluorofenil)-4-(3,5-dimetilfenil)-1-metil-1H-imidazol-5(4H)-ona (FAH5)

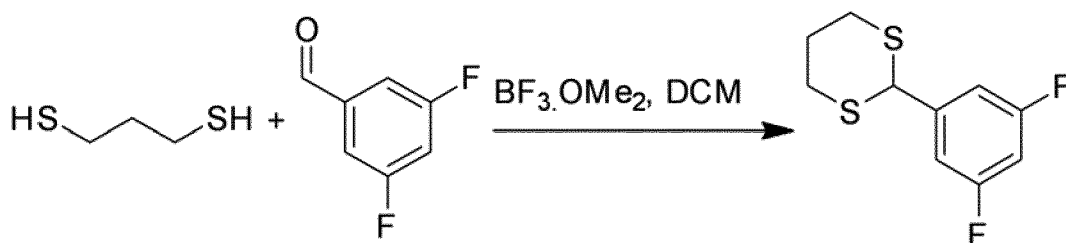


A una mezcla de 1-(3,5-difluorofenil)-2-(3,5-dimetilfenil)etano-1,2-diona (500 mg, 1,82 mmol) en etanol (15 ml) y dioxano (15 ml) se le añadió clorhidrato de 1-metilguanidina (799 mg, 7,29 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos. Se añadió carbonato de sodio (773 mg, 7,29 mmol) en agua (5 ml) y la mezcla se sumergió en un baño de aceite a 85 °C y se agitó durante 4 horas. El análisis por TLC (EtOAc) indicó una reacción completa. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró. El residuo se purificó dos veces por cromatografía en columna (EtOAc, EtOAc al 50 %/hexano) y finalmente por PTLC (cloroformo) para proporcionar 2-amino-4-(3,5-difluorofenil)-4-(3,5-dimetilfenil)-1-metil-1H-imidazol-5(4H)-ona (0,20 g, 0,61 mmol, 33 %) en forma de un sólido de color blanco después del secado a alto vacío a 60 °C durante 36 horas. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, *CDCl*<sub>3</sub>) δ ppm 7,07 (d, *J* = 6,83 Hz, 2H), 7,02 (s a, 2H), 6,91 (s a, 1H), 6,69 (t, *J* = 8,48 Hz, 1H), 5,22 (s, 2H), 3,10 (s, 3H), 2,27 (s, 6H); <sup>13</sup>C RMN (100 MHz, *CDCl*<sub>3</sub>) δ ppm 164,1, 163,9, 161,6, 161,5, 155,3, 145,4, 140,4, 138,2, 129,7, 124,5, 110,5, 110,4, 110,3, 110,2, 103,0, 77,2, 25,9, 21,41, (nota: debido a la presencia de átomos de flúor, se aprecian acoplamientos *J*<sup>2</sup><sub>C-F</sub>-*J*<sup>4</sup><sub>C-F</sub> que dan lugar a tripletes y dobletes mal resueltos); LC (230 nm) *T*<sub>r</sub> (min) = 3,97, pureza por LC = 95,29 %; *m/z*: [*M*+*H*]<sup>+</sup> encontrado = 330,1, [*M*+*H*]<sup>+</sup> esperado = 330,1 (C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>F<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O).

### Ejemplo 5

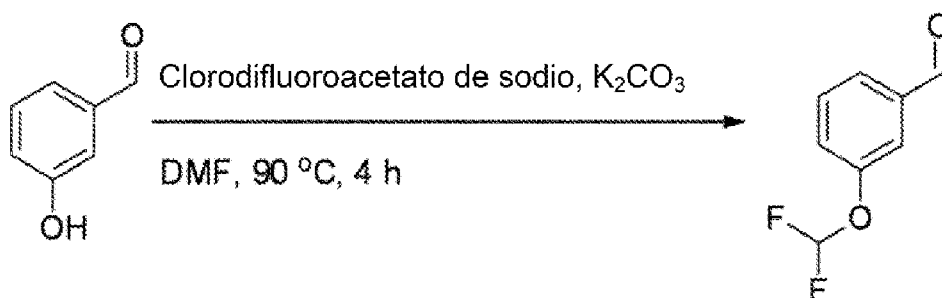
#### Síntesis de FAH-4 (ITH002329)

#### Síntesis de 2-(3,5-difluorofenil)-1,3-ditiano



Se añadió gota a gota BF<sub>3</sub>·OMe<sub>2</sub> (1,40 ml, 15,25 mmol) a una solución de 1,3-propanoditio (1,81 ml, 17,87 mmol) y 3,5-difluorobenzaldehído (2,00 ml, 17,87 mmol) en DCM (50 ml) a 0 °C. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, donde el análisis por TLC (EtOAc al 5 %/hexano) indicó una reacción completa. A continuación, la mezcla de reacción se diluyó con más cantidad de DCM (50 ml), se filtró a través de Celite, y el lecho de Celite se lavó con más cantidad de DCM (3 x 20 ml). El filtrado se lavó con NaHCO<sub>3</sub> saturado (3 x 50 ml), una solución al 10 % de KOH (2 x 50 ml), agua (2 x 50 ml) y salmuera (50 ml) y finalmente se secó sobre sulfato de sodio. El extracto orgánico se filtró y se evaporó para proporcionar 2-(3,5-difluorofenil)-1,3-ditiano (4,12 g, 17,73 mmol, 99 %) en forma de un sólido de color blanco.

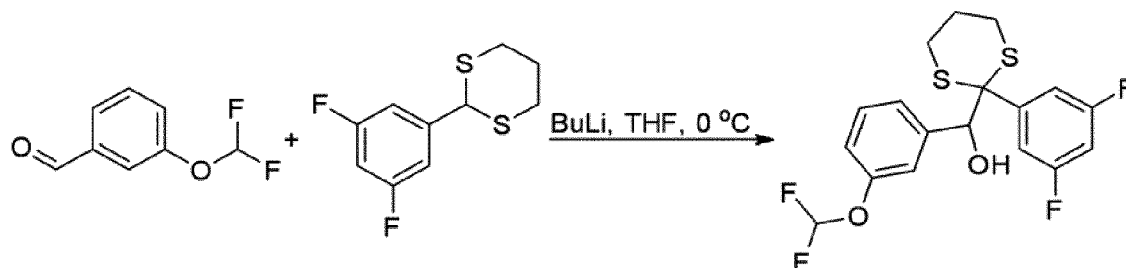
#### Síntesis de 3-(difluorometoxi)benzaldehído





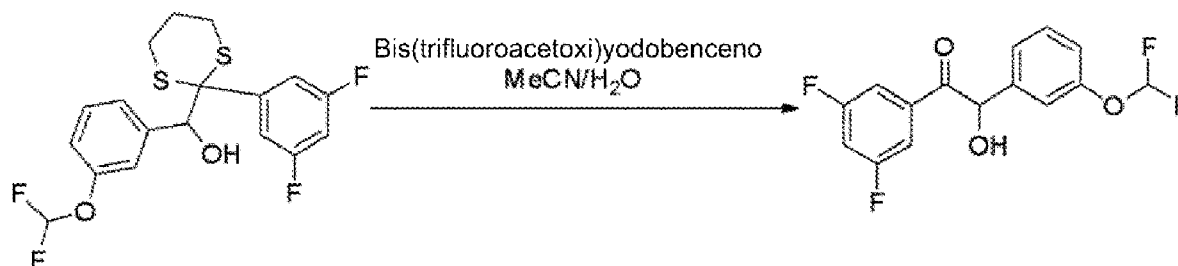
Se añadió una solución de clorodifluoroacetato de sodio (12,48 g, 82 mmol) y 3-hidroxibenzaldehído (5,00 g, 40,9 mmol) en DMF (75 ml) durante 3 horas a una solución de DMF (25 ml) que contenía carbonato de potasio (8,49 g, 61,4 mmol) a 95 °C. La reacción se dejó madurar durante 2 horas más y a continuación se enfrió. La mezcla de reacción se diluyó con agua (100 ml) y se extrajo con acetato de etilo (4 x 50 ml). El extracto orgánico se lavó con una solución acuosa al 10 % (m/v) de LiCl (3 x 25 ml), se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se evaporó para dar un residuo que se sometió a cromatografía ultrarrápida (EtOAc al 15 %/hexano) para dar 3-(difluorometoxi)benzaldehído (2,50 g, 14,52 mmol, 36 %) en forma de un aceite de color amarillo. La RMN fue consistente con la estructura propuesta.

#### Síntesis de (3-(difluorometoxi)fenil)(2-(3,5-difluorofenil)-1,3-ditian-2-il)metanol



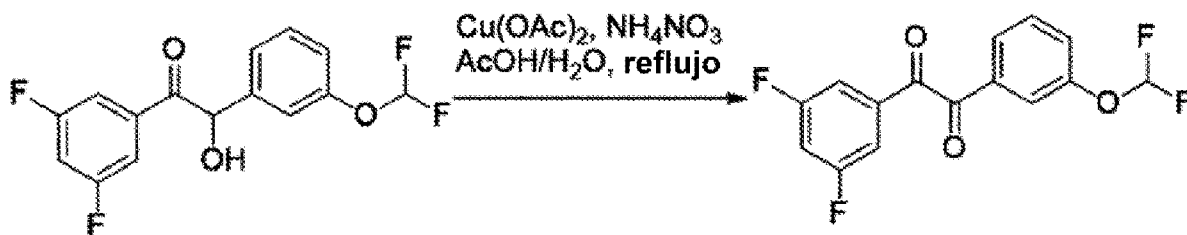
Se disolvió 2-(3,5-difluorofenil)-1,3-ditiano (3,37 g, 14,52 mmol) en 30 ml de THF seco y se enfrió a -10 °C. Se añadió gota a gota BuLi (1,6 M, 12,0 ml, 19,20 mmol) en una atmósfera de nitrógeno y la mezcla se agitó durante 15 min a -10 °C para proporcionar una solución de color rojo sangre. Se añadió gota a gota una solución de 3-(difluorometoxi)benzaldehído (2,50 g, 14,52 mmol) en THF (10 ml) y la mezcla se agitó durante 15 minutos, a continuación se calentó a temperatura ambiente durante 10 minutos y se inactivó con una solución saturada de cloruro de amonio. La fase orgánica se lavó con salmuera y se secó con sulfato de sodio. El disolvente se eliminó y el residuo se sometió a cromatografía ultrarrápida (EtOAc al 10 %/hexano) para dar (3-(difluorometoxi)fenil)(2-(3,5-difluorofenil)-1,3-ditian-2-il)metanol (3,33 g, 8,23 mmol, 57 %) en forma de un aceite espeso que solidificó después de un período de reposo. La RMN fue consistente con la estructura propuesta.

#### Síntesis de 2-(3-(difluorometoxi)fenil)-1-(3,5-difluorofenil)-2-hidroxietanona



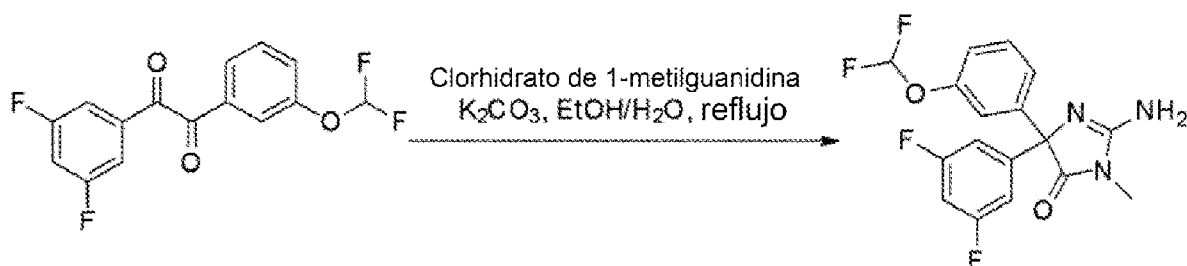
Se disolvió (3-(difluorometoxi)fenil)(2-(3,5-difluorofenil)-1,3-ditian-2-il)metanol (3,33 g, 8,23 mmol) en 15 ml de acetonitrilo y 2,5 ml de agua. Se añadió lentamente bis(trifluoroacetoxi)yodobenceno (4,43 g, 10,29 mmol) en 10 ml de acetonitrilo a la solución agitada vigorosamente a temperatura ambiente. Después de 30 minutos, el análisis por TLC (EtOAc al 20 %/hexano) indicó una reacción completa. Se añadió EtOAc (150 ml) y la mezcla se aclaró con una solución saturada de bicarbonato de sodio (50 ml) y salmuera (50 ml). Las fracciones orgánicas se secaron, y el disolvente se eliminó al vacío. El producto en bruto se purificó dos veces por cromatografía en columna ultrarrápida (EtOAc al 10 %/hexano) para dar 2-(3-(difluorometoxi)fenil)-1-(3,5-difluorofenil)-2-hidroxietanona (1,01 g, 3,21 mmol, 39 %) en forma de un aceite de color amarillo pálido. La RMN fue consistente con la estructura propuesta.

#### Síntesis de 1-(3-(difluorometoxi)fenil)-2-(3,5-difluorofenil)etano-1,2-diona



Se disolvió 2-(3-(difluorometoxi)fenil)-1-(3,5 -difluorofenil)-2-hidroxietanona (1,00 g, 3,18 mmol) en ácido acético al 80 % (10 ml) junto con diacetoxicobre hidrato (0,13 g, 0,64 mmol) y nitrato de amonio (0,19 g, 2,39 mmol). La mezcla se calentó a reflujo durante 90 minutos y a continuación se enfrió. La mezcla de reacción de color cobre se vertió en acetato de etilo (50 ml), se lavó con salmuera (2 x 25 ml), se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se evaporó. El residuo se sometió a cromatografía ultrarrápida (EtOAc al 20 %/hexano) para proporcionar 1-(3-(difluorometoxi)fenil)-2-(3,5-difluorofenil)etano-1,2-diona (0,46 g, 1,48 mmol, 47 %) en forma de un aceite de color amarillo. La elución adicional de la columna proporcionó material de partida (0,40 g, 1,27 mmol, 40 % de recuperación) en forma de un aceite. El producto deseado se usó como se recibió.

#### Síntesis de 2-amino-4-(3-(difluorometoxi)fenil)-4-(3,5-difluorofenil)-1-metil-1H-imidazol-5(4H)-ona

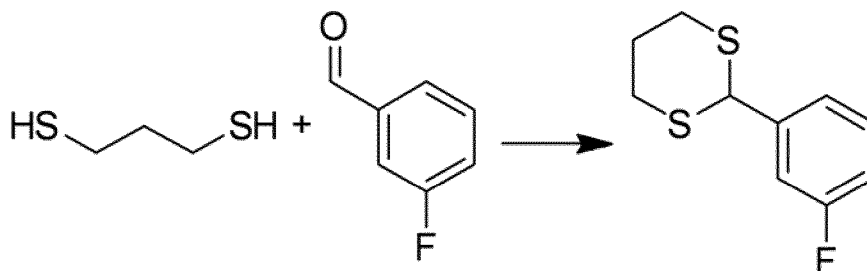


A una mezcla de 1-(3-(difluorometoxi)fenil)-2-(3,5-difluorofenil)etano-1,2-diona (463 mg, 1,48 mmol) en etanol (15 ml) y dioxano (15 ml) se le añadió clorhidrato de 1-metilguanidina (650 mg, 5,93 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos. Se añadió carbonato de sodio (629 mg, 5,93 mmol) en agua (5 ml) y la mezcla se sumergió en un baño de aceite a 85 °C y se agitó durante 3 horas. El análisis por TLC (EtOAc) indicó una reacción completa. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró. El residuo se purificó dos veces por PTLC (EtOAc) para proporcionar 2-amino-4-(3-(difluorometoxi)fenil)-4-(3,5-difluorofenil)-1-metil-1H-imidazol-5(4H)-ona (0,22 g, 0,60 mmol, 40 %) en forma de un sólido de color amarillo después del secado a alto vacío a 60 °C durante 48 horas. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 7,38-7,29 (m, 2H), 7,24 (m ancho, 1H), 7,10-7,00 (m, 3H), 6,71 (m, 1H), 6,49 (t, *J*<sub>H-F</sub> = 74,03 Hz, 1H), 5,61 (s a, 2H), 3,10 (s, 3H); <sup>13</sup>C RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 178,30, 164,13, 164,00, 161,66, 161,53, 156,03, 151,27, 151,24, 151,21, 145,00, 144,92, 144,83, 142,88, 129,90, 123,81, 118,73, 118,42, 118,17, 115,84, 113,25, 110,30, 110,22, 110,11, 110,03, 103,47, 103,22, 102,97, 74,92, 25,95 (nota: debido a la presencia de átomos de flúor, se aprecian acoplamientos *J*<sup>2</sup><sub>C-F</sub> - *J*<sup>4</sup><sub>C-F</sub> que dan lugar a tripletes y dobletes); LC (220 nm): *T*<sub>r</sub> = 3,85 min, pureza por LC: 95,6 %, *m/z* [*M*]<sup>+</sup> = 367,9.

#### Ejemplo 6

##### FAH-17: 2-amino-4-(4-(difluorometoxi)fenil)-4-(3-fluorofenil)-1-metil-1H-imidazol-5(4H)-ona

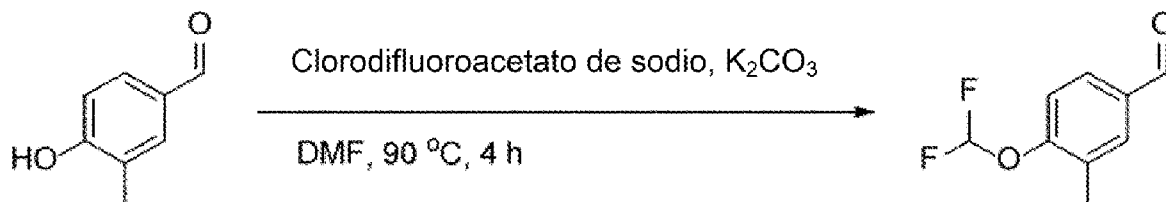
##### Etapas 1: Síntesis de 2-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)-1,3-ditiano



Se añadió gota a gota BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub> (4,30 ml, 34,8 mmol) a una solución de 1,3-propanoditio (4,07 ml, 40,3 mmol) y 3-fluorobenzaldehído (5,00 g, 40,3 mmol) en DCM (201 ml) a 0 °C. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, donde el análisis por TLC (EtOAc al 5 %/hexano) indicó una reacción completa. A continuación, la mezcla de

reacción se diluyó con DCM (50 ml), se filtró a través de Celite (y el lecho de Celite se lavó con más cantidad de DCM (3 x 50 ml)) y el filtrado se lavó con salmuera (100 ml),  $\text{NaHCO}_3$  saturado (3 x 100 ml), una solución al 10 % de KOH (100 ml), agua (100 ml) y salmuera (100 ml) y finalmente se secó sobre sulfato de sodio. El extracto orgánico se filtró y se evaporó. El producto se purificó usando acetato de etilo al 5 %:hexano para proporcionar 2-(3-fluorofenil)-1,3-ditiano (8,71 g, 39,0 mmol, 97 %) en forma de un aceite poco transparente. El aceite se usó directamente en la siguiente etapa. La RMN fue consistente con la estructura propuesta.

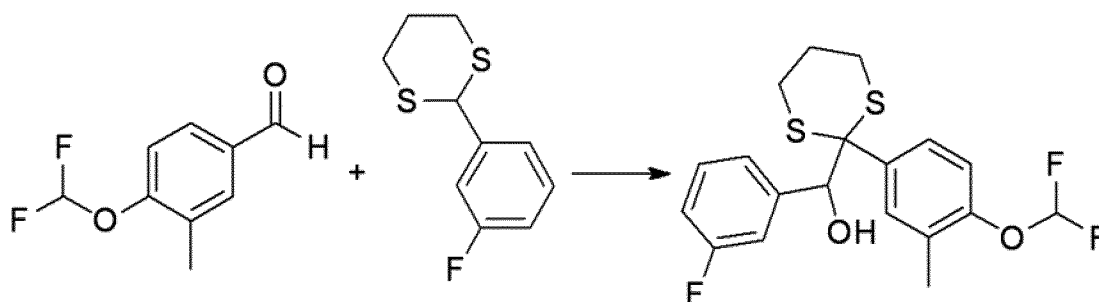
#### Etapa 2: Síntesis de 4-(difluorometoxi)-3-metilbenzaldehído



Se añadió una solución de clorodifluoroacetato de sodio (2,60 g, 17,04 mmol) y 4-hidroxi-3-metilbenzaldehído (1,16 g, 8,52 mmol) en DMF (15 ml) durante 3 horas a una solución de DMF (15 ml) que contenía carbonato de potasio (1,77 g, 12,78 mmol) a 95 °C. La reacción se dejó madurar durante 15 minutos más y a continuación se enfrió. La mezcla de reacción se diluyó con agua (50 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 ml). El extracto orgánico se lavó con una solución acuosa al 10 % (m/v) de LiCl (3 x 25 ml), se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se evaporó para dar un residuo que se sometió a cromatografía ultrarrápida (EtOAc al 15 %/hexano) para dar 4-(difluorometoxi)-3-metilbenzaldehído (021GLM-053\_1(2), 1,00 g, 5,37 mmol, 63 %) en forma de un aceite de color amarillo. Este aceite se combinó con el del experimento anterior y se pasó a través de una columna de pipeta Pasteur eluyendo con EtOAc al 10 %/hexano para dar un aceite que solidificó después de un período de reposo (1,315 g, 7,06 mmol, 67 % en las dos reacciones). La RMN de protones fue consistente con la estructura propuesta.

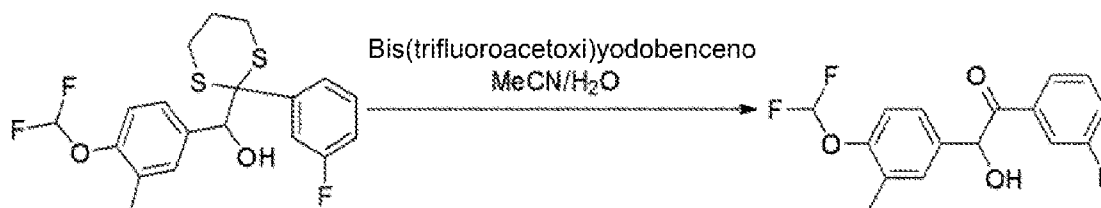
Finalmente, repitiendo el experimento usando las condiciones del intento 2, se aislaron 1,4 g más del producto deseado.

#### Etapa 3: Síntesis de (2-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)-1,3-ditiano-2-il)(3-fluorofenil)metanol



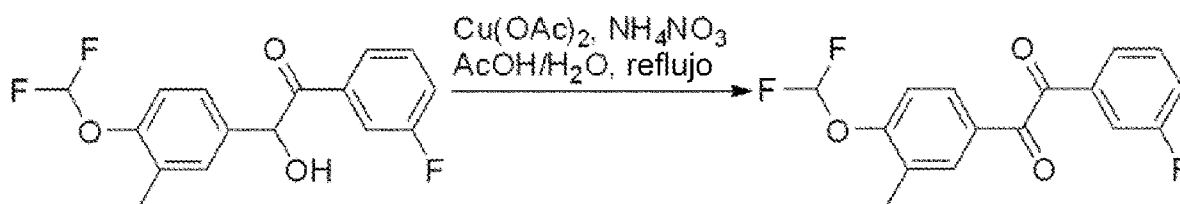
Se disolvió 2-(3-fluorofenil)-1,3-ditiano (4,00 g, 18,66 mmol) en THF seco (93,5 ml) y se enfrió a -10 °C. Se añadió gota a gota  $n\text{BuLi}$  (1,6 M, 14,00 ml, 22,40 mmol) en una atmósfera de nitrógeno y la mezcla se agitó durante 30 min a -10 °C para proporcionar una solución de color rojo oscuro. Se añadió gota a gota una solución de 4-(difluorometoxi)-3-metilbenzaldehído (3,47 g, 18,66 mmol) en THF (93,5 ml) y la mezcla a -10 °C y se agitó durante 15 minutos, a continuación se calentó a temperatura ambiente durante 1 h y se inactivó con una solución saturada de cloruro de amonio (7,5 ml) seguida de dilución con EtOAc (50 ml). La fase orgánica se lavó con agua (2 x 20 ml) y salmuera (1 x 20 ml) y se secó con sulfato de sodio. Después de la filtración y la concentración, el producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (EtOAc al 15 %/Hex) para dar 4-(difluorometoxi)-3-metilfenil(2-(3-fluorofenil)-1,3-ditiano-2-il)metanol (6,00 g, 14,96 mmol, 80 %) en forma de un aceite.

#### Etapa 4: Síntesis de 2-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)-1-(3-fluorofenil)-2-hidroxietanona



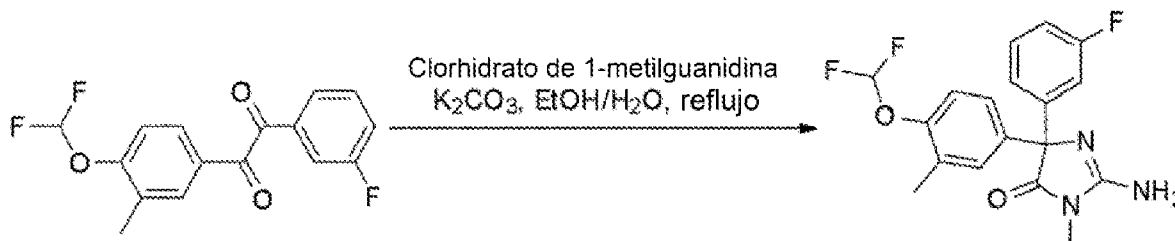
Se disolvió 4-(difluorometoxi)-3-metilfenil(2-(3-difluorofenil)-1,3-ditran-2-il)metanol (3,07 g, 7,34 mmol) en acetonitrilo (15 ml) y agua (2,5 ml). Se añadió lentamente bis(trifluoroacetoxi)yodobenceno (3,94 g, 9,17 mmol) en acetonitrilo (10 ml) a temperatura ambiente a la solución agitada vigorosamente. Después de 20 minutos, el análisis por TLC (EtOAc al 20 %/hexano) indicó una reacción completa. Se añadió EtOAc (150 ml) y la mezcla se aclaró con una solución saturada de bicarbonato de sodio (50 ml) y salmuera (50 ml). Las fracciones orgánicas se secaron, y el disolvente se eliminó al vacío. El producto en bruto se purificó dos veces por cromatografía en columna ultrarrápida (EtOAc al 10 %/hexano) para dar 2-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)-1-(3-fluorofenil)-2-hidroxietanona (0,853 g, 2,60 mmol, 35 %) en forma de un aceite de color amarillo pálido. La RMN de protones fue consistente con la estructura propuesta.

#### **Etapas 5: Síntesis de 1-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)-2-(3-fluorofenil)etano-1,2-diona**



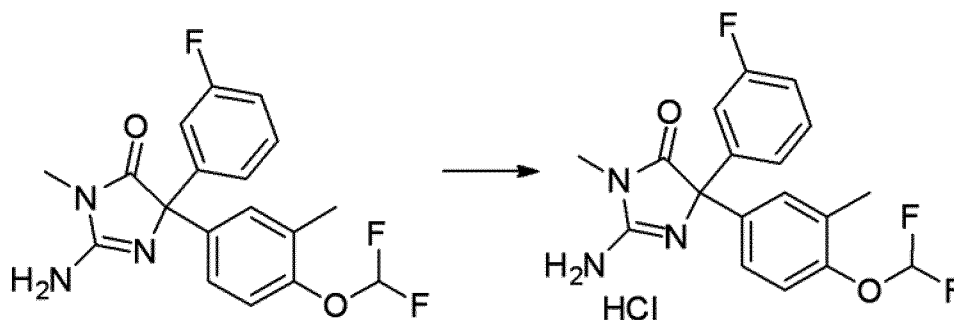
Se sintetizó 1-(2,4-difluorofenil)-2-(4-metoxi-3-fluorofenil)etano-1,2-diona de acuerdo con el procedimiento representativo usando 1-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)-2-(3-fluorofenil)-2-hidroxietanona (0,500 g, 1,612 mmol) y dio 1-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)-2-(3-fluorofenil)etano-1,2-diona (0,3881 g, 78 %) en forma de un sólido de color amarillo. La RMN fue consistente con la estructura propuesta.

#### **Etapas 6: Síntesis de 2-amino-4-(4-(difluorometoxi)fenil)-4-(3-fluorofenil)-1-metil-1H-imidazol-5(4H)-ona**



Se añadió carbonato de potasio (0,516 g, 4,87 mmol) en agua (4,6 ml) en una mezcla de 1-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)-2-(3-fluorofenil)etano-1,2-diona (0,375 g, 1,217 mmol), clorhidrato de 1-metilguanidina (0,533 g, 4,87 mmol), dioxano (19 ml) y alcohol etílico (25 ml). La mezcla de reacción se agitó a 85 °C durante 4 h. Los volátiles se eliminaron al vacío, y el residuo se recogió en cloroformo (100 ml) y se lavó con agua (2 x 25 ml). Los extractos orgánicos se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>. La evaporación y la purificación por cromatografía ultrarrápida (EtOAc al 60 %/Hex a EtOAc al 100 %) seguido de recristalización en CHCl<sub>3</sub>/hexanos dieron 2-amino-4-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)-4-(3-fluorofenil)-1-metil-1H-imidazol-5(4H)-ona (216 mg, 47 %) en forma de un sólido de color blanquecino. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,37-7,13 (m, 5H), 6,96 (m, 2H), 6,46 (t, J = 74,1 Hz, 1H), 5,73 (s, 2H), 3,09 (s, 3H), 2,23 (s, 3H); <sup>13</sup>C RMN (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 178,87, 163,90, 161,46, 155,70, 149,21, 143,36, 138,01, 130,04, 130,02-129,79 (m), 125,73, 122,70 (d, J = 2,9 Hz), 118,75, 116,17, 114,45 (dd, J = 38,7, 22,0 Hz), 113,60, 75,07, 25,87, 16,35. (nota: debido a la presencia de átomos de flúor, se aprecian acoplamiento J<sup>2</sup><sub>C-F</sub>-J<sup>4</sup><sub>C-F</sub> que dan lugar a tripletes y dobletes mal resueltos); LC (260 nm) T<sub>r</sub> (min) = 3,923, pureza por LC = 96 %; m/z: [M+H]<sup>+</sup> encontrado = 364,2, [M+H]<sup>+</sup> esperado = 364,3 (C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O).

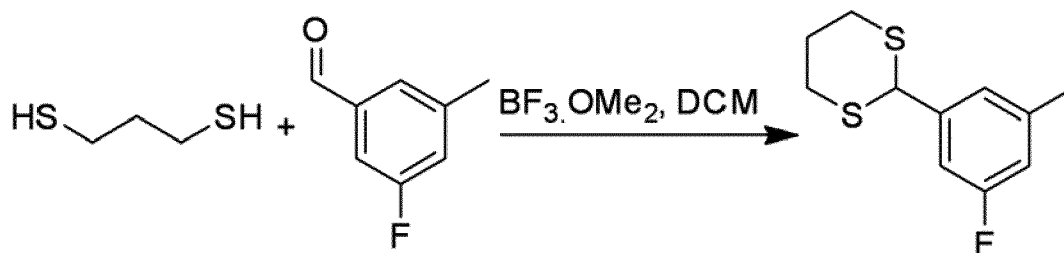
#### **Ejemplo 7 (sal HCl de FAH-17)**



Se disolvió 2-amino-4-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)-4-(3-fluorofenil)-1-metil-1H-imidazol-5(4H)-ona (0,50 g, 1,38 mmol) en DCM anhidro (66 ml) seguido de la adición de HCl (1 M en éter dietílico, 2,2 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 min y el disolvente se evaporó al vacío para producir clorhidrato de 2-amino-4-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)-4-(3-fluorofenil)-1-metil-1H-imidazol-5(4H)-ona (0,50 g, 1,20 mmol, 87 %) en forma de un sólido de color blanco.  $^1\text{H}$  RMN ( $d_6$ -DMSO): 11,78 (s a, 1H), 9,73 (s a, 1H), 7,53-7,06 (m, 8H), 3,19 (s, 3H), 2,23 (s, 3H);  $^{13}\text{C}$  RMN ( $d_6$ -DMSO): 176,62, 176,99, 172,57, 163,63, 161,20, 157,95, 150,07, 150,04, 140,36, 140,30, 134,40, 129,86, 126,60, 123,70, 119,52, 119,00, 116,96, 116,47, 116,26, 114,64, 114,41, 70,30, 27,43, 16,40 (nota: debido a la presencia de átomos de flúor, se aprecian acoplamientos  $J^2_{\text{C-F}}-J^4_{\text{C-F}}$  que dan lugar a tripletes y dobletes mal resueltos); LC (220 nm):  $T_r$  = 3,84 min, 96,5 % de pureza; MS: Para  $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_2$ ,  $[\text{M}+\text{H}]^+$  esperado = 364,3, obtenido 364,1

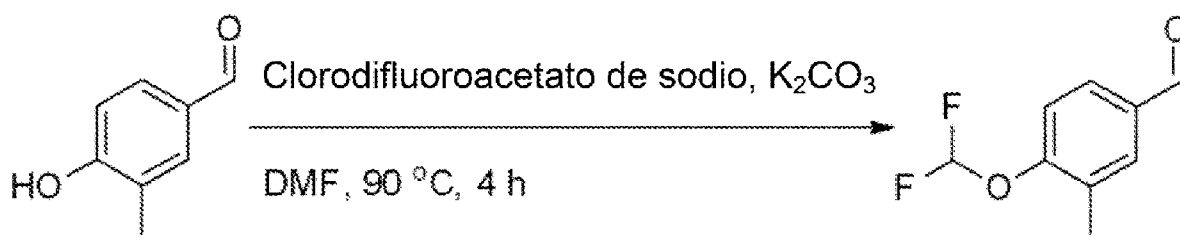
#### Ejemplo 8 Síntesis de FAH-22

##### Síntesis de 2-(3-fluoro-5-metilfenil)-1,3-ditiano



Se añadió gota a gota  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  (2,61 ml, 21,16 mmol) a una solución de 1,3-propanoditio (2,48 ml, 24,47 mmol) y 3-fluoro-5-metilbenzaldehído (3,38 g, 24,47 mmol) en DCM (122 ml) a 0 °C. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, donde el análisis por TLC (EtOAc al 5 %/hexano) indicó una reacción completa. A continuación, la mezcla de reacción se diluyó con DCM (100 ml), se filtró a través de Celite (y el lecho de Celite se lavó con más cantidad de DCM (3 x 100 ml)) y el filtrado se lavó con salmuera (100 ml),  $\text{NaHCO}_3$  saturado (3 x 100 ml), una solución al 10 % de KOH (100 ml), agua (100 ml) y salmuera (100 ml) y finalmente se secó sobre sulfato de sodio. El extracto orgánico se filtró y se evaporó para proporcionar 2-(3-fluoro-5-metilfenil)-1,3-ditiano (4,69 g, 77 %) en forma de un sólido de color rosa claro. El producto se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. La RMN fue consistente con la estructura propuesta.

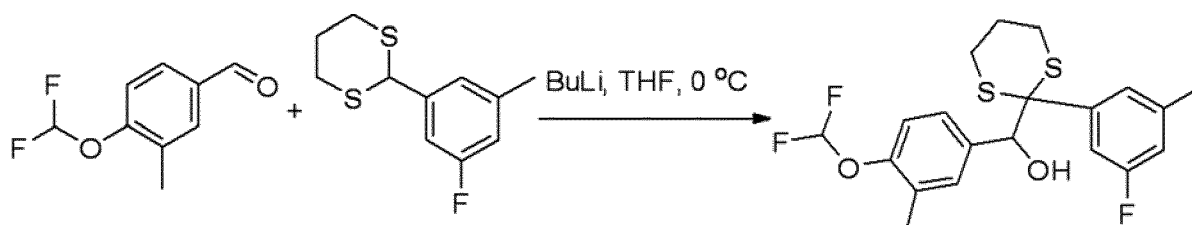
##### Síntesis de 4-(difluorometoxi)-3-metilbenzaldehído



Se añadió una solución de clorodifluoroacetato de sodio (2,60 g, 17,04 mmol) y 4-hidroxi-3-metilbenzaldehído (1,16 g, 8,52 mmol) en DMF (15 ml) durante 3 horas a una solución de DMF (15 ml) que contenía carbonato de potasio (1,77 g, 12,78 mmol) a 95 °C. La reacción se dejó madurar durante 15 minutos más y a continuación se enfrió. La mezcla de reacción se diluyó con agua (50 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 ml). El extracto orgánico se lavó con una solución acuosa al 10 % (m/v) de LiCl (3 x 25 ml), se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se evaporó para dar un

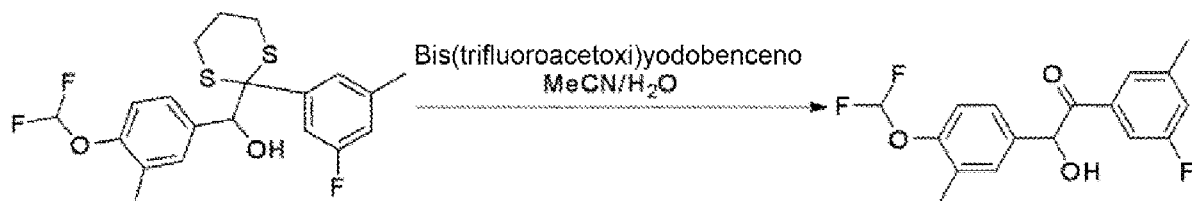
residuo que se sometió a cromatografía ultrarrápida (EtOAc al 15 %/hexano) para dar 4-(difluorometoxi)-3-metilbenzaldehído (021GLM-053\_1(2), 1,00 g, 5,37 mmol, 63 %) en forma de un aceite de color amarillo. Este aceite se combinó con el del experimento anterior y se pasó a través de una columna de pipeta Pasteur eluyendo con EtOAc al 10 %/hexano para dar un aceite que solidificó después de un período de reposo (1,315 g, 7,06 mmol, 67 % en las dos reacciones). La RMN de protones fue consistente con la estructura propuesta. Se aislaron 1,4 g del producto deseado.

#### **Síntesis de (4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)(2-(3-fluoro-5-metilfenil)-1,3-ditian-2-il)metanol**



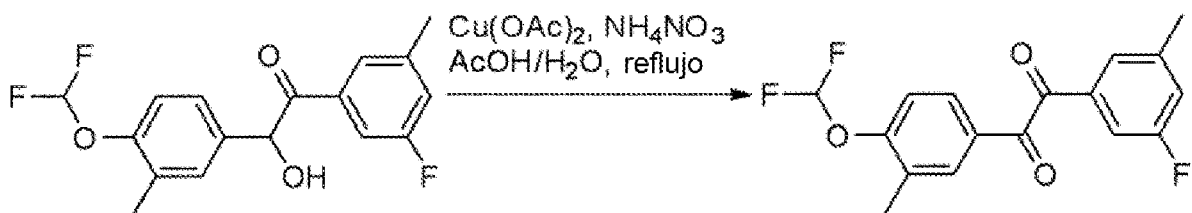
Se preparó (4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)(2-(3-fluoro-5-metilfenil)-1,3-ditian-2-il)metanol de acuerdo con el procedimiento representativo usando 2-(3-fluoro-5-metilfenil)-1,3-ditiano (0,932 g, 4,08 mmol) y 4-(difluorometoxi)-3-metilbenzaldehído (0,760 g, 4,08 mmol) que dio (4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)(2-(3-fluoro-5-metilfenil)-1,3-ditian-2-il)metanol (0,413 g, 24 %) en forma de un aceite de color amarillo. La RMN fue consistente con la estructura propuesta.

#### **Síntesis de 2-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)-1-(3-fluoro-5-metilfenil)-2-hidroxietanona**



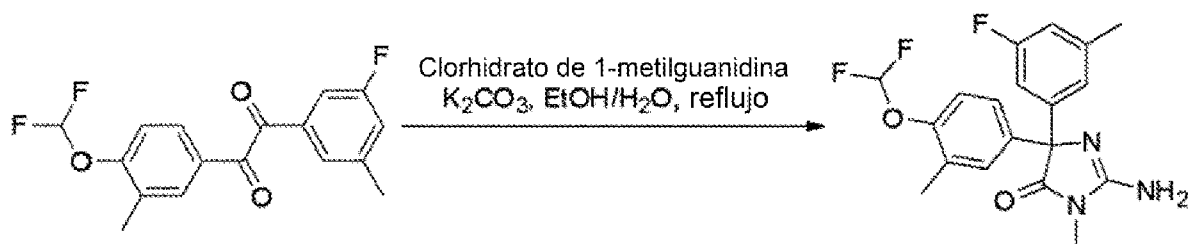
Se sintetizó 2-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)-1-(3-fluoro-5-metilfenil)-2-hidroxietanona de acuerdo con el procedimiento representativo usando (4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)(2-(3-fluoro-5-metilfenil)-1,3-ditian-2-il)metanol (0,400 g, 0,965 mmol) y dio 2-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)-1-(3-fluoro-5-metilfenil)-2-hidroxietanona (162 mg, 47 %) en forma de un sólido de color amarillo. La RMN fue consistente con la estructura propuesta. Nota: También se recuperó (4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)(2-(3-fluoro-5-metilfenil)-1,3-ditian-2-il)metanona (104 mg, 22 %).

#### **Síntesis de 1-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)-2-(3-fluoro-5-metilfenil)etano-1,2-diona**



Se sintetizó 1-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)-2-(3-fluoro-5-metilfenil)etano-1,2-diona de acuerdo con el procedimiento representativo usando 2-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)-1-(3-fluoro-5-metilfenil)-2-hidroxietanona (0,150 g, 0,463 mmol) y dio 1-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)-2-(3-fluoro-5-metilfenil)etano-1,2-diona (0,1134 g, 74 %) en forma de un sólido de color amarillo. La RMN fue consistente con la estructura propuesta.

#### **Síntesis de 2-amino-4-(4-(difluorometoxi)-3-metil fenil)-4-(3-fluoro-5-metilfenil)-1-metil-1H-imidazol-5(4H)-ona**

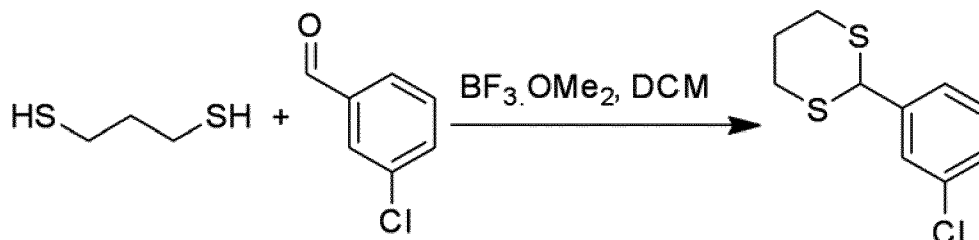


Se añadió carbonato de potasio (0,149 g, 1,407 mmol) en agua (2,3 ml) en una mezcla de 1-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)-2-(3-fluorofenil)etano-1,2-diona (0,1134 g, 0,352 mmol), clorhidrato de 1-metilguanidina (0,154 g, 1,407 mmol), dioxano (5,46 ml) y alcohol etílico (7,10 ml). La mezcla de reacción se agitó a 85 °C durante 1,5 h. Los volátiles se eliminaron al vacío, y el residuo se recogió en cloroformo (50 ml) y se lavó con agua (2 x 15 ml). Los extractos orgánicos se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>. La evaporación y la purificación cinco veces por cromatografía ultrarrápida (metanol al 1 % en acetato de etilo) dieron 2-amino-4-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)-4-(3-fluoro-5-metilfenil)-1-metil-1H-imidazol-5(4H)-ona (85 mg, 75 %) en forma de un sólido de color blanquecino. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,30 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 7,28-7,20 (m, 1H), 7,02 (s, 1H), 6,95 (m, 2H), 6,77 (d, J = 9,3 Hz, 1H), 6,45 (t, J = 74,1 Hz, 1H), 5,26 (s, 2H), 3,07 (s, 3H), 2,28 (s, 3H), 2,23 (s, 3H). <sup>13</sup>C RMN (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 178,52, 163,88, 161,44, 155,75, 149,22 (t, J = 2,5 Hz), 141,88 (dd, J = 288,6, 7,8 Hz), 138,02, 130,05 (d, J = 9,4 Hz), 125,75, 123,30 (d, J = 2,5 Hz), 118,75 (d, J = 7,5 Hz), 116,21, 115,32 (d, J = 21,0 Hz), 113,63, 111,33 (d, J = 23,3 Hz), 74,72, 25,83, 21,46 (d, J = 1,8 Hz), 16,33. (nota: debido a la presencia de átomos de flúor, se aprecian acoplamientos J<sup>2</sup>C-F-J<sup>4</sup>C-F que dan lugar a tripletes y dobletes mal resueltos); LC (220 nm) T<sub>r</sub> (min) = 4,007, pureza por LC = 98 %; m/z: [M+H]<sup>+</sup> encontrado = 378,2, [M+H]<sup>+</sup> esperado = 378,4 (C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>).

### Ejemplo 9

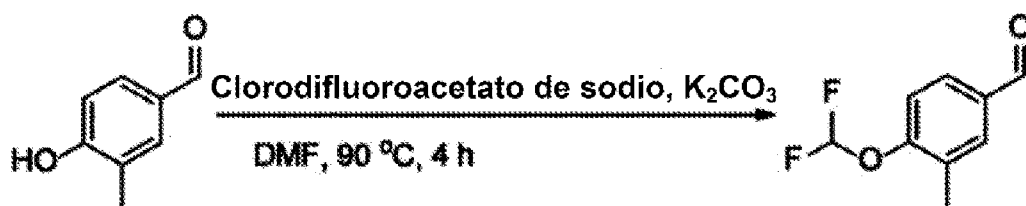
#### Síntesis de FAH-23: 2-amino-4-(4-(difluorometoxi)fenil)-4-(3-clorofenil)-1-metil-1H-imidazol-5(4H)-ona

##### Etapas 1: Síntesis de 2-(3-clorofenil)-1,3-ditiano



Se añadió gota a gota BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub> (2,28 ml, 18,46 mmol) a una solución de 1,3-propanoditio (2,16 ml, 21,34 mmol) y 3-clorobenzaldehído (3,00 g, 21,34 mmol) en DCM (107 ml) a 0 °C. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, donde el análisis por TLC (EtOAc al 5 %/hexano) indicó una reacción completa. A continuación, la mezcla de reacción se diluyó con DCM (50 ml), se filtró a través de Celite (y el lecho de Celite se lavó con más cantidad de DCM (3 x 10 ml)) y el filtrado se lavó con salmuera (100 ml), NaHCO<sub>3</sub> saturado (3 x 100 ml), una solución al 10 % de KOH (100 ml), agua (100 ml) y salmuera (100 ml) y finalmente se secó sobre sulfato de sodio. El extracto orgánico se filtró y se evaporó para proporcionar 2-(3-clorofenil)-1,3-ditiano (4,62 g, 92 %) en forma de un sólido incoloro. El producto se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

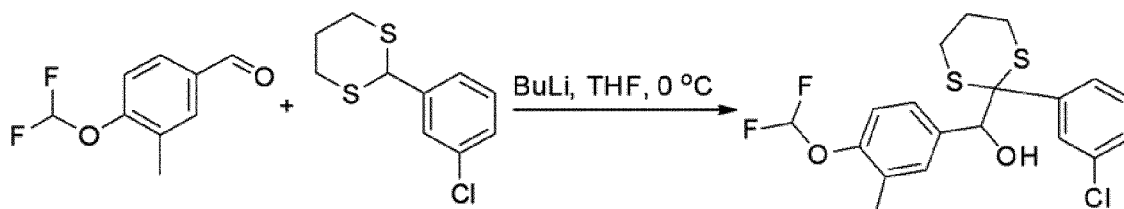
##### Etapas 2: Síntesis de 4-(difluorometoxi)-3-metilbenzaldehído



Se añadió una solución de clorodifluoroacetato de sodio (2,60 g, 17,04 mmol) y 4-hidroxi-3-metilbenzaldehído (1,16 g, 8,52 mmol) en DMF (15 ml) durante 3 horas a una solución de DMF (15 ml) que contenía carbonato de potasio (1,77 g, 12,78 mmol) a 95 °C. La reacción se dejó madurar durante 15 minutos más y a continuación se enfrió. La mezcla de reacción se diluyó con agua (50 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 ml). El extracto orgánico se lavó con una

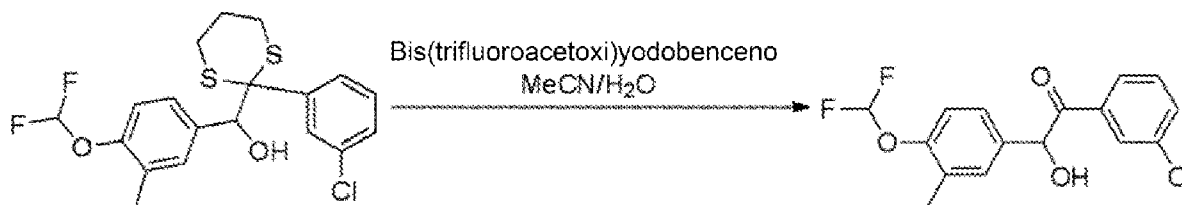
solución acuosa al 10 % (m/v) de LiCl (3 x 25 ml), se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se evaporó para dar un residuo que se sometió a cromatografía ultrarrápida (EtOAc al 15 %/hexano) para dar 4-(difluorometoxi)-3-metilbenzaldehído (021GLM-053\_1(2), 1,00 g, 5,37 mmol, 63 %) en forma de un aceite de color amarillo. Este aceite se combinó con el del experimento anterior y se pasó a través de una columna de pipeta Pasteur eluyendo con EtOAc al 10 %/hexano para dar un aceite que solidificó después de un período de reposo (1,315 g, 7,06 mmol, 67 % en las dos reacciones). La RMN de protones fue consistente con la estructura propuesta. Se aislaron 1,4 g del producto deseado.

### Etapa 3: Síntesis de (4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)(2-(3-clorofenil)-1,3-ditian-2-il)metanol



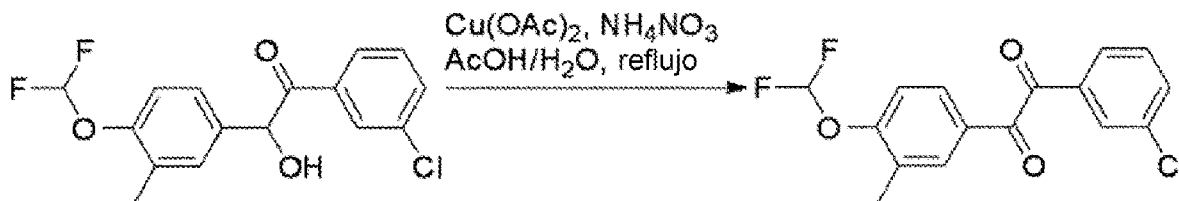
Se disolvió 2-(3-clorofenil)-1,3-ditiano (0,92 g, 3,98 mmol) en THF seco (20 ml) y se enfrió a -29 °C. Se añadió gota a gota nBuLi (1,6 M, 2,99 ml, 4,78 mmol) en una atmósfera de nitrógeno y la mezcla se agitó durante 30 min a -29 °C para proporcionar una solución de color rojo oscuro. Se añadió gota a gota una solución de 4-(difluorometoxi)-3-metilbenzaldehído (0,74 g, 3,98 mmol) en THF (19,8 ml) y la mezcla a -29 °C y se agitó durante 15 minutos, a continuación se calentó a temperatura ambiente durante 1 h y se inactivó con una solución saturada de cloruro de amonio (7,5 ml) seguida de dilución con EtOAc (50 ml). La fase orgánica se lavó con agua (2 x 20 ml) y salmuera (1 x 20 ml) y se secó con sulfato de sodio. Después de la filtración y la concentración, el producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (EtOAc al 15 %/Hexano) para dar (2-(3-clorofenil)-1,3-ditian-2-il)(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)metanol (0,81 g, 1,94 mmol, 49 %) en forma de un aceite. La RMN fue consistente con la estructura propuesta.

### Etapa 4: Síntesis de 2-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)-1-(3-clorofenil)-2-hidroxietanona



Se disolvió (4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)(2-(3-clorofenil)-1,3-ditian-2-il)metanol (3,07 g, 7,34 mmol) en acetonitrilo (15 ml) y agua (2,5 ml). Se añadió lentamente bis(trifluoroacetoxi)yodobenceno (3,94 g, 9,17 mmol) en acetonitrilo (10 ml) a temperatura ambiente a la solución agitada vigorosamente. Después de 20 minutos, el análisis por TLC (EtOAc al 20 %/hexano) indicó una reacción completa. Se añadió EtOAc (150 ml) y la mezcla se aclaró con una solución saturada de bicarbonato de sodio (50 ml) y salmuera (50 ml). Las fracciones orgánicas se secaron, y el disolvente se eliminó al vacío. El producto en bruto se purificó dos veces por cromatografía en columna ultrarrápida (EtOAc al 10 %/hexano) para dar 2-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)-1-(3-clorofenil)-2-hidroxietanona (0,803 g, 2,4 mmol, 32 %) en forma de un aceite de color amarillo pálido. La RMN de protones fue consistente con la estructura propuesta.

### Etapa 5: Síntesis de 1-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)-2-(3-clorofenil)etano-1,2-diona

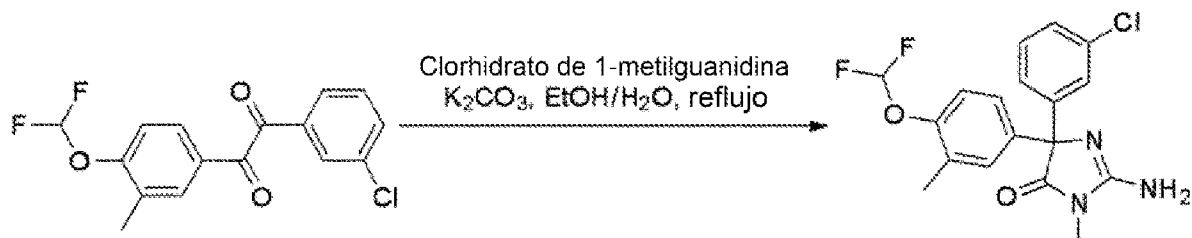


Se disolvió (2-(3-clorofenil)-1,3-ditian-2-il)(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)metanol (0,80 g, 1,92 mmol) en diclorometano (24,29 ml) y *tert*-butanol (5,14 ml, 53,7 mmol) en una atmósfera de nitrógeno. Se añadió peryodinano de Dess-Martin (2,04 g, 4,80 mmol) y la reacción se agitó durante una noche a temperatura ambiente. Se añadió tiosulfato de sodio (5 ml, 1 M) y las capas se separaron. La fase orgánica se lavó con hidrogenocarbonato de sodio y



el disolvente se evaporó. La purificación en una placa prep. en acetato de etilo al 25 %-hexano dio 1-(3-clorofenil)-2-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)etano-1,2-diona (0,41 g, 1,27 mmol, 66 %) en forma de un sólido de color amarillo que se usó directamente en la siguiente etapa.

#### 5 Etapa 6: Síntesis de 2-amino-4-(4-(difluorometoxi)fenil)-4-(3-clorofenil)-1-metil-1H-imidazol-5(4H)-ona

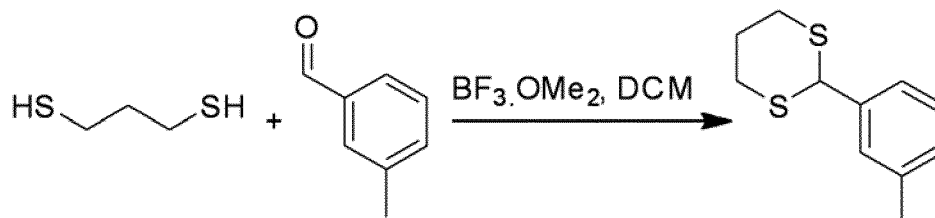


Se añadió carbonato de potasio (0,522 g, 4,93 mmol) en agua (7,85 ml) en una mezcla de 1-(3-clorofenil)-2-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)etano-1,2-diona (0,40 g, 1,23 mmol), clorhidrato de 1-metilguanidina (0,54 g, 4,93 mmol), dioxano (19,13 ml) y alcohol etílico (24,87 ml). La mezcla de reacción se agitó a 85 °C durante 1,5 h. Los volátiles se eliminaron al vacío, y el residuo se recogió en cloroformo (50 ml) y se lavó con agua (2 x 15 ml). Los extractos orgánicos se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>. La evaporación y la purificación tres veces por PTLC (MeOH al 1 % en EtOAc) y cromatografía en columna (acetato de etilo al 50-90 %: hexano) dieron 2-amino-4-(3-clorofenil)-4-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)-1-metil-1H-imidazol-5(4H)-ona (0,20 g, 0,52 mmol, 43 %) en forma de un sólido de color blanquecino. <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>): 7,48 (s, 1H), 7,30-7,20 (m, 5H), 7,0 (s, 1H), 6,48 (t, 1H, J = 74,1 Hz), 4,50 (s a, 2H), 3,12 (s, 3H), 2,26 (s, 3H); <sup>13</sup>C RMN (CDCl<sub>3</sub>): 178,45, 155,74, 149,25, 143,22, 137,90, 134,32, 130,05, 127,12, 125,74, 125,36, 118,78, 116,17, 113,60, 74,73, 25,89, 16,35 (nota: debido a la presencia de átomos de flúor, se aprecian acoplamiento J<sup>2</sup><sub>C-F</sub> que dan lugar a tripletes y dobletes mal resueltos); LC (220 nm): T<sub>r</sub> = 3,95 min, 96,6 % de pureza; MS: Para C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>ClF<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>, [M+H]<sup>+</sup> esperado = 380,8, obtenido 380,1

#### Ejemplo 10

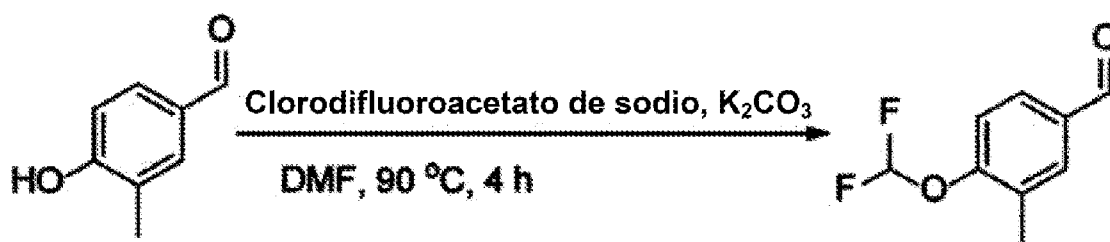
#### 25 Síntesis del compuesto FAH-27: 2-amino-4-(4-(difluorometoxi)fenil)-4-(3-metilfenil)-1-metil-1H-imidazol-5(4H)-ona

##### Etapa 1: Síntesis de 2-(3-metilfenil)-1,3-ditiano



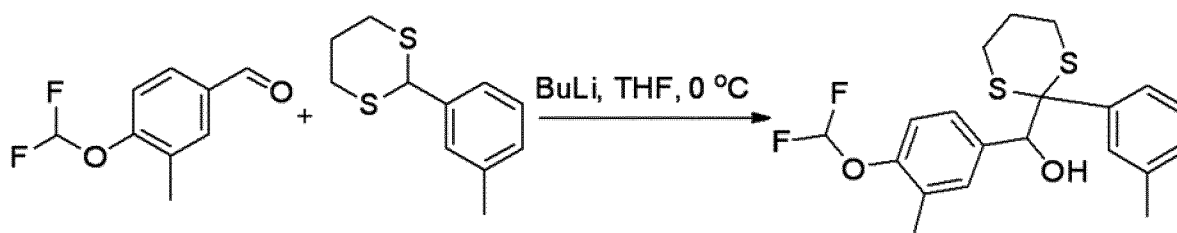
Se añadió gota a gota BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub> (2,67 ml, 21,60 mmol) a una solución de 1,3-propanoditiol (2,53 ml, 24,97 mmol) y 3-metilbenzaldehído (3,00 g, 24,97 mmol) en DCM (125 ml) a 0 °C. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, donde el análisis por TLC (EtOAc al 5 %/hexano) indicó una reacción completa. A continuación, la mezcla de reacción se diluyó con DCM (50 ml), se filtró a través de Celite (y el lecho de Celite se lavó con más cantidad de DCM (3 x 10 ml)) y el filtrado se lavó con salmuera (100 ml), NaHCO<sub>3</sub> saturado (3 x 100 ml), una solución al 10 % de KOH (100 ml), agua (100 ml) y salmuera (100 ml) y finalmente se secó sobre sulfato de sodio. El extracto orgánico se filtró y se evaporó para proporcionar 2-(m-tolil)-1,3-ditiano (4,66 g, 85 %) en forma de un sólido de color pardo claro. El producto se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. La RMN de protones fue consistente con la estructura propuesta.

##### Etapa 2: Síntesis de 4-(difluorometoxi)-3-metilbenzaldehído



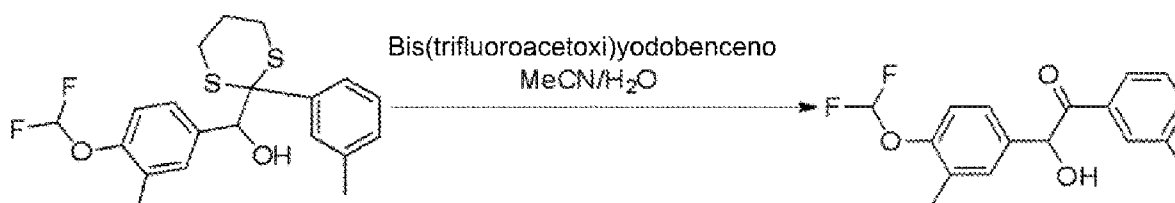
Se añadió una solución de clorodifluoroacetato de sodio (2,60 g, 17,04 mmol) y 4-hidroxi-3-metilbenzaldeído (1,16 g, 8,52 mmol) en DMF (15 ml) durante 3 horas a una solución de DMF (15 ml) que contenía carbonato de potasio (1,77 g, 12,78 mmol) a 95 °C. La reacción se dejó madurar durante 15 minutos más y a continuación se enfrió. La mezcla de reacción se diluyó con agua (50 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 ml). El extracto orgánico se lavó con una solución acuosa al 10 % (m/v) de LiCl (3 x 25 ml), se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se evaporó para dar un residuo que se sometió a cromatografía ultrarrápida (EtOAc al 15 %/hexano) para dar 4-(difluorometoxi)-3-metilbenzaldeído (021GLM-053\_1(2), 1,00 g, 5,37 mmol, 63 %) en forma de un aceite de color amarillo. Este aceite se combinó con el del experimento anterior y se pasó a través de una columna de pipeta Pasteur eluyendo con EtOAc al 10 %/hexano para dar un aceite que solidificó después de un período de reposo (1,315 g, 7,06 mmol, 67 % en las dos reacciones). La RMN de protones fue consistente con la estructura propuesta. Se aislaron 1,4 g del producto deseado.

#### **Etapas 3: Síntesis de (4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)(2-(3-metilfenil)-1,3-ditiano-2-il)metanol**



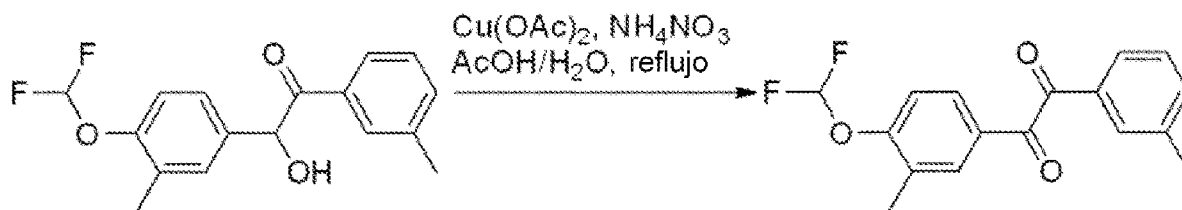
Se disolvió 2-(m-tolil)-1,3-ditiano (2,00 g, 9,51 mmol) en THF seco (47,5 ml) y se enfrió a -29 °C. Se añadió gota a gota nBuLi (1,6 M, 7,13 ml, 11,41 mmol) en una atmósfera de nitrógeno y la mezcla se agitó durante 30 min a -10 °C para proporcionar una solución de color rojo oscuro. Se añadió gota a gota una solución de 4-(difluorometoxi)-3-metilbenzaldeído (1,77 g, 9,51 mmol) en THF (47,5 ml) y la mezcla a -29 °C y se agitó durante 15 minutos, a continuación se calentó a temperatura ambiente durante 1 h y se inactivó con una solución saturada de cloruro de amonio (7,5 ml) seguida de dilución con EtOAc (50 ml). La fase orgánica se lavó con agua (2 x 20 ml) y salmuera (1 x 20 ml) y se secó con sulfato de sodio. Después de la filtración y la concentración, el producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (EtOAc al 15 %/Hex) para dar 4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)(2-(m-tolil)-1,3-ditiano-2-il)metanol (2,73 g, 6,88 mmol, 72 %) en forma de un aceite. La RMN fue consistente con la estructura propuesta.

#### **Etapas 4: Síntesis de 2-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)-1-(3-metilfenil)-2-hidroxietanona**



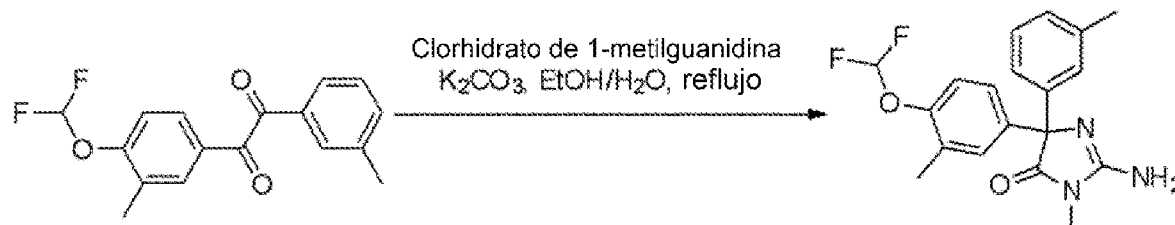
Se disolvió 4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)(2-(m-tolil)-1,3-ditiano-2-il)metanol (2,70 g, 6,81 mmol) en diclorometano (86 ml) y *tert*-butanol (18,28 ml, 191 mmol) en una atmósfera de nitrógeno. Se añadió peryodinato de Dess-Martin (7,22 g, 17,02 mmol) y la reacción se agitó durante una noche a temperatura ambiente. Se añadió tiosulfato de sodio (5 ml, 1 M) y las capas se separaron. La fase orgánica se lavó con hidrogenocarbonato de sodio y el disolvente se evaporó. La purificación por cromatografía en columna en acetato de etilo al 5 %/hexano dio 1-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)-2-(m-tolil)etano-1,2-diona (1,44 g, 4,75 mmol, 70 %) en forma de un sólido de color amarillo.

#### **Etapas 5: Síntesis de 1-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)-2-(3-metilfenil)etano-1,2-diona**



Se disolvió 4-(difluorometoxi)-3-metilfenil(2-(m-tolil)-1,3-ditian-2-il)metanol (2,70 g, 6,81 mmol) en diclorometano (86 ml) y *tert*-butanol (18,28 ml, 191 mmol) en una atmósfera de nitrógeno. Se añadió peryodinano de Dess-Martin (7,22 g, 17,02 mmol) y la reacción se agitó durante una noche a temperatura ambiente. Se añadió tiosulfato de sodio (5 ml, 1 M) y las capas se separaron. La fase orgánica se lavó con hidrogenocarbonato de sodio y el disolvente se evaporó. La purificación por cromatografía en columna en acetato de etilo al 5 %/hexano dio 1-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)-2-(m-tolil)etano-1,2-diona (1,44 g, 4,75 mmol, 70 %) en forma de un sólido de color amarillo y se usó directamente en la siguiente etapa.

#### **Etapas 6: Síntesis de 2-amino-4-(4-(difluorometoxi)fenil)-4-(3-metilfenil)-1-metil-1H-imidazol-5(4H)-ona**

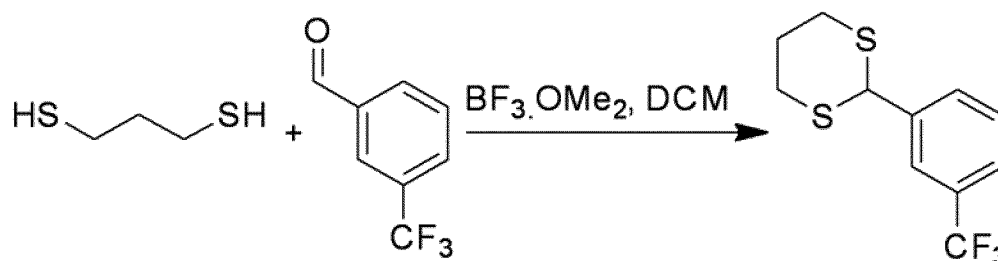


Se añadió carbonato de potasio (1,81 g, 17,09 mmol) en agua (27,23 ml) en una mezcla de 1-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)-2-(m-tolil)etano-1,2-diona (1,30 g, 4,27 mmol), clorhidrato de 1-metilguanidina (1,87 g, 17,09 mmol), dioxano (66,3 ml) y alcohol etílico (86 ml). La mezcla de reacción se agitó a 85 °C durante 1,5 h. Los volátiles se eliminaron al vacío, y el residuo se recogió en cloroformo (50 ml) y se lavó con agua (2 x 15 ml). Los extractos orgánicos se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>. La evaporación y la purificación tres veces por PTLC (MeOH al 1 % en EtOAc) y una vez por cromatografía en columna (acetato de etilo al 50-90 %: hexano) dieron 2-amino-4-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)-1-metil-4-(m-tolil)-1H-imidazol-5(4H)-ona (0,39 g, 1,07 mmol, 25 %) en forma de un sólido de color blanquecino. <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>): 7,34 (s, 1H), 7,24-7,10 (m, 5H), 6,95 (d, 1H, J = 8 Hz), 6,47 (t, 1H, J = 74,1 Hz), 6,05 (s, 2H), 3,04 (s, 3H), 2,30 (s, 3H), 2,23 (s, 3H); <sup>13</sup>C RMN (CDCl<sub>3</sub>): 178,55, 155,97, 149,14, 149,12, 149,09, 141,16, 138,14, 130,20, 128,35, 127,56, 125,94, 124,16, 118,83, 118,61, 116,25, 113,67, 74,74, 25,70, 21,52, 16,32 (nota: debido a la presencia de átomos de flúor, se aprecian acoplamientos J<sup>2</sup>C-F-J<sup>4</sup>C-F que dan lugar a tripletes y dobletes mal resueltos); LC (220 nm): T<sub>r</sub> = 3,85 min, 97,3 % de pureza; MS: Para C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>F<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>, [M+H]<sup>+</sup> esperado = 360,4, obtenido 360,2

#### **Ejemplo 11**

#### **Síntesis de FAH-28: 2-amino-4-(4-(difluorometoxi)fenil)-4-(3-(trifluorometil)fenil)-1-metil-1H-imidazol-5(4H)-ona**

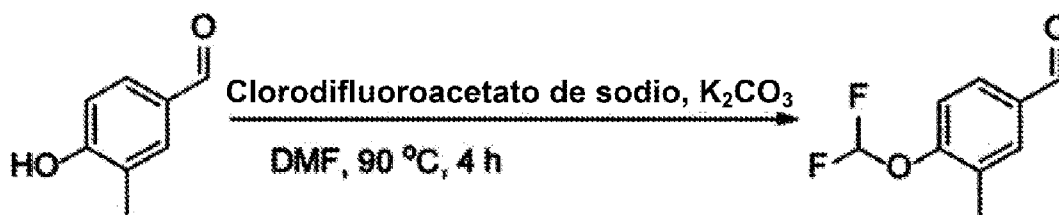
#### **Etapas 1: Síntesis de 2-(3-(trifluorometil)fenil)-1,3-ditiano**



Se añadió gota a gota BF<sub>3</sub>.OEt<sub>2</sub> (1,84 ml, 14,90 mmol) a una solución de 1,3-propanoditio (1,74 ml, 17,23 mmol) y 3-(trifluorometil)benzaldehído (3,00 g, 17,23 mmol) en DCM (86 ml) a 0 °C. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, donde el análisis por TLC (EtOAc al 5 %/hexano) indicó una reacción completa. A continuación, la mezcla de reacción se diluyó con DCM (50 ml), se filtró a través de Celite (y el lecho de Celite se lavó con más cantidad de DCM (3 x 10 ml)) y el filtrado se lavó con salmuera (100 ml), NaHCO<sub>3</sub> saturado (3 x 100 ml), una solución al 10 % de KOH (100 ml), agua (100 ml) y salmuera (100 ml) y finalmente se secó sobre sulfato de sodio. El extracto orgánico se filtró y se evaporó para proporcionar 2-(3-(trifluorometil)fenil)-1,3-ditiano (4,62 g, 17,30 mmol, 100 %) en forma de

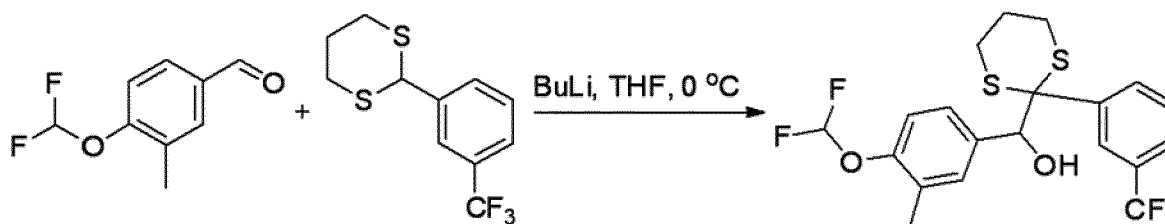
un sólido incoloro. El producto se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

#### Etapa 2: Síntesis de 4-(difluorometoxi)-3-metilbenzaldehído



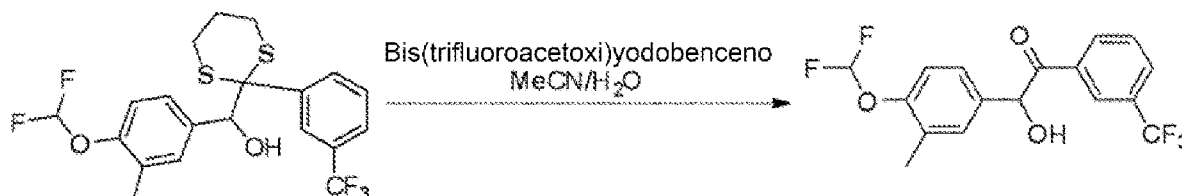
Se añadió una solución de clorodifluoroacetato de sodio (2,60 g, 17,04 mmol) y 4-hidroxi-3-metilbenzaldehído (1,16 g, 8,52 mmol) en DMF (15 ml) durante 3 horas a una solución de DMF (15 ml) que contenía carbonato de potasio (1,77 g, 12,78 mmol) a 95 °C. La reacción se dejó madurar durante 15 minutos más y a continuación se enfrió. La mezcla de reacción se diluyó con agua (50 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 ml). El extracto orgánico se lavó con una solución acuosa al 10 % (m/v) de LiCl (3 x 25 ml), se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se evaporó para dar un residuo que se sometió a cromatografía ultrarrápida (EtOAc al 15 %/hexano) para dar 4-(difluorometoxi)-3-metilbenzaldehído (021GLM-053\_1(2), 1,00 g, 5,37 mmol, 63 %) en forma de un aceite de color amarillo. Este aceite se combinó con el del experimento anterior y se pasó a través de una columna de pipeta Pasteur eluyendo con EtOAc al 10 %/hexano para dar un aceite que solidificó después de un período de reposo (1,315 g, 7,06 mmol, 67 % en las dos reacciones). La RMN de protones fue consistente con la estructura propuesta. Se aislaron 1,4 g del producto deseado.

#### Etapa 3: Síntesis de (4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)(2-(3-(trifluorometil)fenil)-1,3-ditian-2-il)metanol



Se disolvió 2-(3-(trifluorometil)fenil)-1,3-ditiano (2,00 g, 7,57 mmol) (021 STM-080) en THF seco (38 ml) y se enfrió a -29 °C. Se añadió gota a gota nBuLi (1,6 M, 5,67 ml, 9,08 mmol) en una atmósfera de nitrógeno y la mezcla se agitó durante 30 min a -29 °C para proporcionar una solución de color rojo oscuro. Se añadió gota a gota una solución de 4-(difluorometoxi)-3-metilbenzaldehído (1,41 g, 7,57 mmol) en THF (38 ml) y la mezcla a -29 °C y se agitó durante 15 minutos, a continuación se calentó a temperatura ambiente durante 1 h y se inactivó con una solución saturada de cloruro de amonio (7,5 ml) seguida de dilución con EtOAc (50 ml). La fase orgánica se lavó con agua (2 x 20 ml) y salmuera (1 x 20 ml) y se secó con sulfato de sodio. Después de la filtración y la concentración, el producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (EtOAc al 5-15 %/Hex) para dar (4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)(2-(3-(trifluorometil)fenil)-1,3-ditiano-2-il)metanol (2,29 g, 4,55 mmol, 60 %) en forma de un aceite de color dorado.

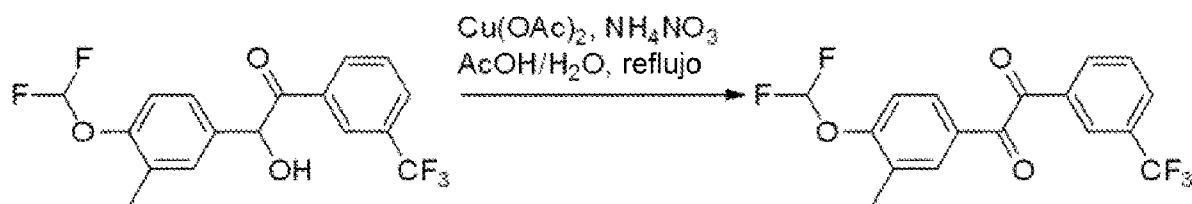
#### Etapa 4: Síntesis de 2-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)-1-(3-(trifluorometil)fenil)-2-hidroxietanona



Se disolvió (4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)(2-(3-(trifluorometil)fenil)-1,3-ditiano-2-il)metanol (3,07 g, 7,34 mmol) en acetonitrilo (15 ml) y agua (2,5 ml). Se añadió lentamente bis(trifluoroacetoxi)yodobenceno (3,94 g, 9,17 mmol) en acetonitrilo (10 ml) a temperatura ambiente a la solución agitada vigorosamente. Después de 20 minutos, el análisis por TLC (EtOAc al 20 %/hexano) indicó una reacción completa. Se añadió EtOAc (150 ml) y la mezcla se aclaró con una solución saturada de bicarbonato de sodio (50 ml) y salmuera (50 ml). Las fracciones orgánicas se secaron, y el disolvente se eliminó al vacío. El producto en bruto se purificó dos veces por cromatografía en columna ultrarrápida (EtOAc al 10 %/hexano) para dar 2-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)-1-(3-(trifluorometil)fenil)-2-hidroxietanona (0,803 g, 2,4 mmol, 32 %) en forma de un aceite de color amarillo pálido. La RMN de protones fue consistente con la estructura

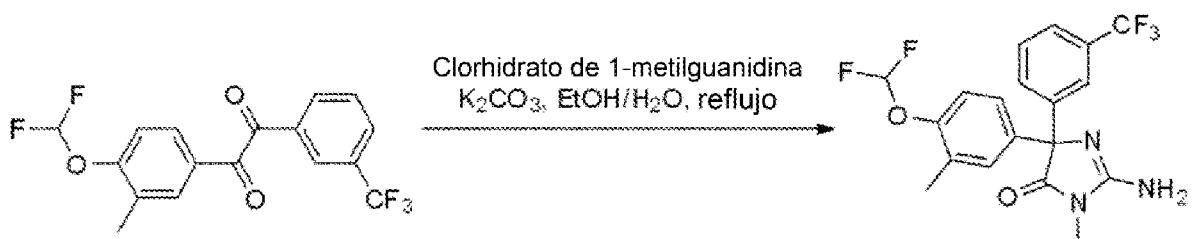
propuesta.

#### **Etapas 5: Síntesis de 1-(4-(difluorometoxi)-3-(trifluorometil)fenil)-2-(3-(trifluorometil)fenil)etano-1,2-diona**



Se disolvió (4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)(2-(3-(trifluorometil)fenil)-1,3-ditran-2-il)metanol (2,20 g, 4,88 mmol) en diclorometano (61,8 ml) y *tert*-butanol (13,08 ml, 137 mmol) en una atmósfera de nitrógeno. Se añadió peryodinano de Dess-Martin (5,18 g, 12,21 mmol) y la reacción se agitó durante una noche a temperatura ambiente. Se añadió tiosulfato de sodio (5 ml, 1 M) y las capas se separaron. La fase orgánica se lavó con hidrogenocarbonato de sodio y el disolvente se evaporó. La purificación por cromatografía en columna en acetato de etilo al 5 %/hexano dio 1-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)-2-(3-(trifluorometil)fenil)etano-1,2-diona (1,20 g, 3,35 mmol, 69 %) en forma de un sólido de color amarillo que se usó directamente en la siguiente etapa.

#### **Etapas 6: Síntesis de 2-amino-4-(4-(difluorometoxi)fenil)-4-(3-(trifluorometil)fenil)-1-metil-1H-imidazol-5(4H)-ona**



Se añadió carbonato de potasio (1,36 g, 12,84 mmol) en agua (20,46 ml) en una mezcla de 1-(4-(difluorometoxi)-3-metilfenil)-2-(3-(trifluorometil)fenil)etano-1,2-diona (1,15 g, 3,21 mmol), clorhidrato de 1-metilguanidina (1,41 g, 12,84 mmol), dioxano (49,8 ml) y alcohol etílico (64,8 ml). La mezcla de reacción se agitó a 85 °C durante 1,5 h. Los volátiles se eliminaron al vacío, y el residuo se recogió en cloroformo (50 ml) y se lavó con agua (2 x 15 ml). Los extractos orgánicos se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>. La evaporación y la purificación tres veces por PTLC (MeOH al 1 % en EtOAc) y una vez por cromatografía en columna (acetato de etilo al 50-90 %: hexano) dieron 2-amino-4-(3,5-difluorofenil)-4-(6-metoxipiridin-3-il)-1-metil-1H-imidazol-5(4H)-ona (0,18 g, 0,44 mmol, 14 %) en forma de un sólido de color blanquecino. <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>): 7,80 (s, 1H), 7,70 (d, 1H, J = 8 Hz), 7,55 (d, 1H, J = 8 Hz), 7,45-7,41 (m, 1H), 7,32 (s, 1H), 7,28-7,24 (m, 1H), 7,0 (d, 1H, J = 8 Hz), 6,48 (t, 1H, J = 74,1 Hz), 5,64 (s a, 2H), 3,10 (s, 3H), 2,26 (s, 3H); <sup>13</sup>C RMN (CDCl<sub>3</sub>): 178,78, 156,18, 156,09, 156,07, 149,23, 142,39, 138,11, 130,71, 130,13, 128,99, 125,72, 122,72, 118,73, 116,15, 113,57, 75,05, 25,84, 16,33 (nota: debido a la presencia de átomos de flúor, se aprecian acoplamientos J<sup>2</sup>C-F-J<sup>4</sup>C-F que dan lugar a tripletes y dobletes mal resueltos); LC (220 nm): T<sub>r</sub> = 4,04 min, 96,6 % de pureza; MS: Para C<sub>19</sub>H<sub>16</sub>F<sub>5</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>, [M+H]<sup>+</sup> esperado = 414,3, obtenido 414,1

#### **Ejemplo 12**

##### **Análisis por SPR**

Las superficies de las dos celdas de flujo FC1 y FC2 de un chip de dextrano carboximetilado (CM-5) se lavaron secuencialmente con NaOH 50 mM, HCl 1 mM, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> al 0,05 % y fosfato de sodio 20 mM a pH 7,4, cloruro de sodio 125 mM en paralelo usando un caudal de 30 µl/min durante 1 minuto usando un Biacore T-100 (GE Healthcare). La proteína de fusión se inmovilizó mediante acoplamiento de amina usando fosfato de sodio 20 mM, cloruro de sodio 125 mM a pH 7,4 sobre FC2. Esta proteína de fusión TRX-eAPP<sub>575-624</sub> contiene una fusión de tioredoxina (TRX) y los residuos 575-624 del ectodominio APP (20 kDa). La proteína de fusión se produce como se describe en Libeu *et al.* (JAD 2011). La proteína se concentró a 2 mg/ml en fosfato 20 mM a pH 6,5, cloruro de sodio 125 mM y a continuación se disolvió hasta una concentración de 50 µg por ml en acetato de sodio 20 mM a pH 5,0. FC1 sirvió como celda de referencia después de una inmovilización simulada con tampón solo. Para todas las células, el caudal fue de 10 µl por minuto. El chip se bloqueó con etanolamina 1 M (pH 8,5). Los valores finales de RU se determinaron para los inhibidores de BACE que se unían a TRX-eAPP<sub>575-624</sub> haciendo fluir concentraciones variables del inhibidor en DMSO a 50 µM. Los compuestos se diluyeron de soluciones 10 mM en DMSO a 50 µM en DMSO al 1 %, fosfato de sodio 20 mM a pH 7,4, cloruro de sodio 125 mM, Tween al 0,05 % y a continuación se diluyeron en serie en 1,5 durante 10 etapas. Se registraron trazas de unión para cada dilución con una fase de unión de 60 segundos y una fase de disociación de 240 segundos. Cada ciclo se realizó a 20 °C con un caudal constante de 20 µl/min. Se aplicaron 240 segundos más

de flujo de tampón a 60 µl por minuto a través de las células como fase de regeneración para facilitar la disociación completa del compuesto de la proteína. Los sensogramas se obtuvieron restando las señales de referencia y de tampón usando el software de evaluación Biacore T100. Las curvas de unión se modelaron con PRISM (Graphpad Inc).

### **Ejemplo 13**

#### **Métodos experimentales para la medición de Aβ42 en células SH-SY5Y**

##### **Ensayo de prueba *in vitro* de Abeta:**

Se sembraron células de neuroblastoma SH-SY5Y a razón de 50.000 células/pocillo en una placa de 96 pocillos durante 24 h. A continuación, su medio se cambió por medio nuevo complementado con la concentración deseada del compuesto de hidantoína (por ejemplo, compuesto 3). Después de 24 h, se añadieron 20 µl del medio a 2 µl del inhibidor de proteasa completo con EDTA 1 µM y se mantuvieron a 4 °C hasta el análisis mediante el ensayo ELISA a continuación.

##### **Ensayos ELISA:**

También se usaron kits ELISA de Invitrogen para cuantificar Aβ1-42 (KHB3544) por duplicado. Para el ELISA ultrasensible Aβ 1-42, las muestras se diluyeron 1:2 (50 µl de LCR más 50 µl de tampón diluyente estándar proporcionado por el kit). Los ensayos se realizaron de acuerdo con las instrucciones del fabricante. En resumen, los patrones y las muestras se añadieron a una placa previamente recubierta con un anticuerpo de captura monoclonal específico para el extremo amino de Hu Aβ. Las muestras se incubaron conjuntamente con un anticuerpo (Ab) de detección de conejo específico para el extremo carboxi de la especie Aβ que se ensayó durante 3 h a temperatura ambiente durante una noche a 4° (Aβ 1-42) con balanceo suave. Después del lavado, se detectó el Ab de conejo unido usando un Ab secundario anti-conejo marcado con peroxidasa de rábano picante. Después de lavar de nuevo, se detectó colorimétricamente Ab de HRP-anti-conejo unido (Spectramax 190, Molecular Devices) mediante la adición de una solución de sustrato. Se añadió inhibidor de proteasa de clorhidrato de fluoruro de 4-(2-aminoetil)bencenosulfonilo (AEBSF) 1 mM (101500, Calbiochem) a los patrones y muestras.

### **Ejemplo 14**

#### **Prueba de captación cerebral (PK)**

En general, la exposición de las hidantoínas al SNC se realizó de la siguiente manera: Los estudios consistieron en la extracción de plasma y cerebros heparinizados después del tratamiento con hidantoínas, después de la administración subcutánea (sc) de las moléculas a razón de 10 mg/kg. Los niveles plasmáticos y cerebrales de los compuestos se determinaron mediante metodología cuantitativa LC/MS/MS, realizada en Integrated Analytical Solutions (en Internet en [ianalytical.net](http://ianalytical.net)). Las muestras de plasma se precipitaron con un cóctel de acetonitrilo:metanol (1:1) que contenía un patrón interno. Las muestras de cerebro se homogeneizaron directamente en acetato de etilo o se extrajeron de homogenados de guanidina 5 M mediante el método líquido-líquido. El sobrenadante resultante se evaporó a sequedad y se sometió al análisis LC/MS/MS. Para cada compuesto se usaron 3 ratones para el análisis. A continuación, se calcularon las relaciones de cerebro-plasma y los niveles cerebrales.

### **Ejemplo 15**

#### **Selectividad de ABBI: Inhibición de APP-BACE frente a escisión de PSLG1-BACE o NRG1-BACE**

##### **Ensayo de P5-P5':**

Para determinar la  $Cl_{50}$  de APP-BACE1 se usó el sustrato BACE1 de Sigma (7-metoxicumarin-4-acetil-[Asn670, Lue671]-amiloide b/A4, proteína precursora 770, fragmento 667-676-sal trifluoroacetato de (2,4 dinitrofenil) Lys-Arg-Arg), y se siguió el protocolo del fabricante. Brevemente, se incubaron 0,01 unidades de BACE1 durante 1 h a temperatura ambiente con un inhibidor de BACE, a continuación a cada pocillo se le añadió el sustrato y se leyó la fluorescencia inmediatamente y cada 30 min durante 2 h. La actividad se determinó dividiendo la fluorescencia en un [inhibidor de BACE] específico por la fluorescencia en un [inhibidor de BACE] = 0 µM, el % de actividad se representó frente al logaritmo de [inhibidor de BACE] para determinar APP-BACE1 usando GraphPad Prism 5 (figura 6A)

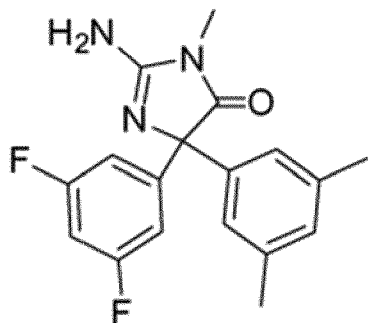
##### **Ensayos PSGL1 y NRG1:**

Brevemente, para determinar la  $Cl_{50}$  de PSGL-1-BACE1, se sembraron células HEK 293 en placas de 24 pocillos y se cotransfectaron de manera transitoria con construcciones PSGL1/lacZ o NRG1/lacZ usando Lipofectamine 2000; y se siguió el protocolo del fabricante. Dos horas después de añadir el complejo de ADN-lípido a las células, se añadió un inhibidor de BACE a cada pocillo, a continuación las células se incubaron durante una noche a 37 °C y con CO<sub>2</sub> al

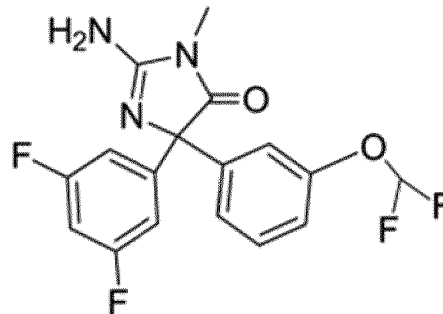
- 5 5 %. El medio cultivado se recogió para determinar NRG1 o PSGL1, y las células se lisaron para medir los niveles de lacZ. El protocolo estándar del kit Sigma SEAP se realizó en el medio cultivado para detectar niveles de PSGL1 o NRG1. Se siguieron las instrucciones del kit Promega para determinar la concentración de lacZ. La relación de PSGL1/lacZ frente al [inhibidor de BACE] se representó para determinar la  $CI_{50}$  de BACE1 en cada uno de los sustratos usando GraphPad Prism 5 (figura 6B). ABB1 FAH17 muestra una selectividad >200 veces para APP sobre PSGL1. Pruebas similares muestran que FAH17 es >10 veces selectivo para APP sobre NRG1.

REIVINDICACIONES

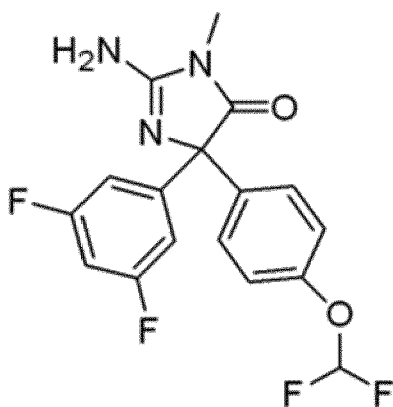
1. Un compuesto seleccionado del grupo que consiste en



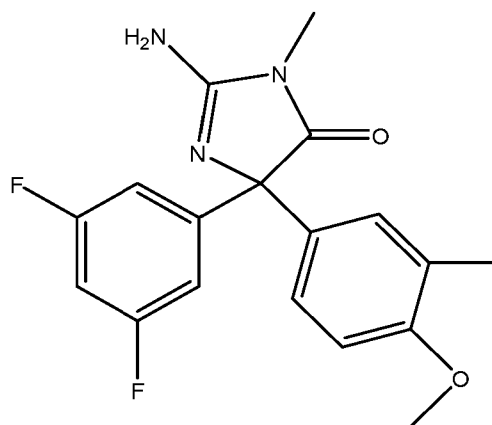
(FAH-5),



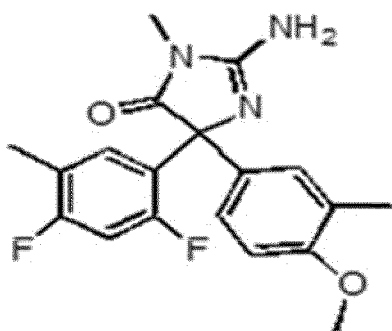
(FAH-4),



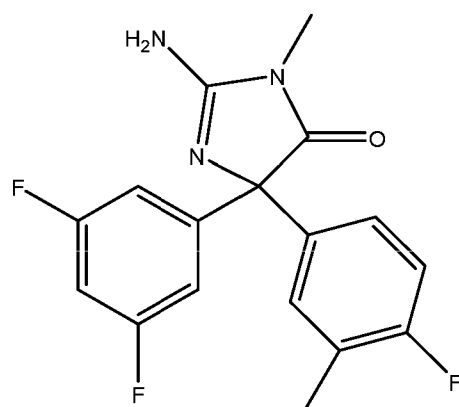
(FAH-2),



(FAH-6),

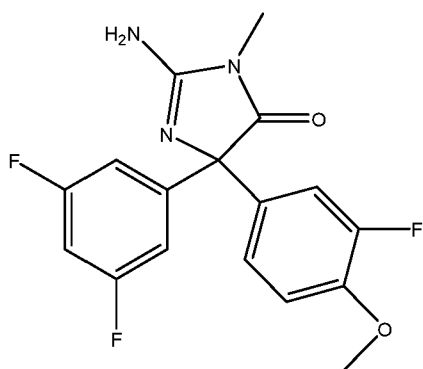


(FAH-9),

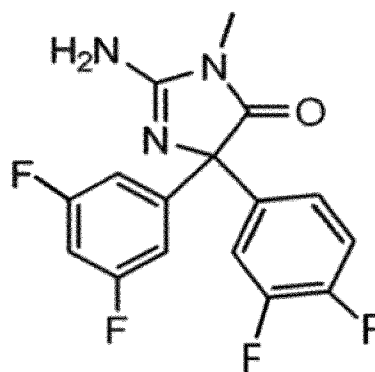


(FAH-10),

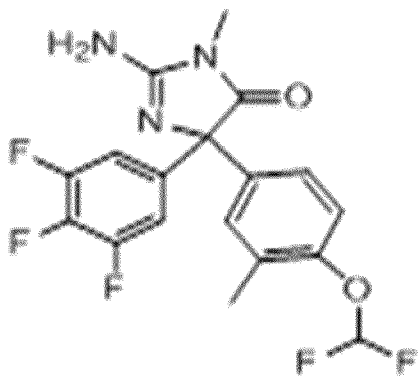




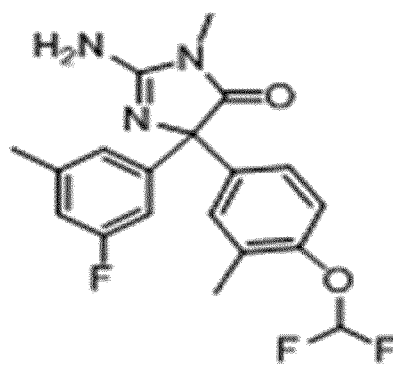
(FAH-12),



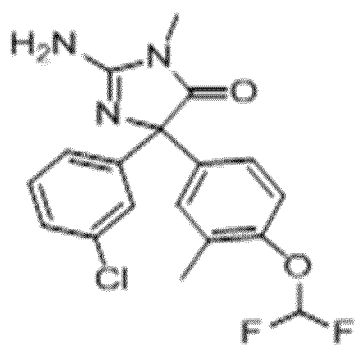
(FAH-14),



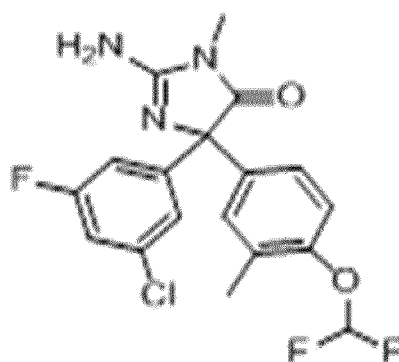
(FAH-19),



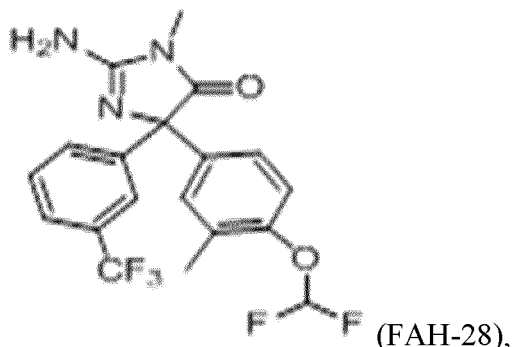
(FAH-22),



(FAH-23),



(FAH-25),<sub>y</sub>



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un tautómero del mismo, una sal farmacéuticamente aceptable de un tautómero del mismo, un enantiómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable de un enantiómero del mismo.

2. El compuesto de la reivindicación 1, en donde dicho compuesto es capaz de unirse a APP y/o a la enzima BACE y/o a un complejo de APP/BACE; o en donde dicho compuesto es capaz de unirse a APP e inhibir la enzima BACE.

3. Un kit que comprende uno o más recipientes que contienen un compuesto de la reivindicación 1 o la reivindicación 2.

4. Una formulación farmacéutica que comprende un portador farmacéuticamente aceptable y un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.

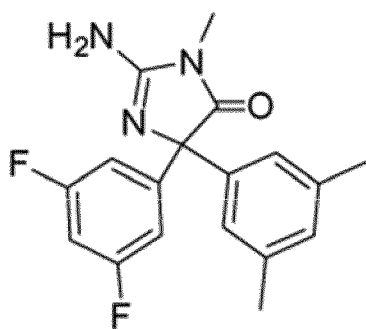
5. La formulación de la reivindicación 4, en donde dicha formulación se compone para la administración a través de una vía seleccionada del grupo que consiste en suministro oral, suministro isoforético, suministro transdérmico, suministro parenteral, administración en aerosol, administración a través de inhalación, administración intravenosa y administración rectal, preferentemente, en donde dicha formulación se compone para administración oral.

6. La formulación de la reivindicación 4 o 5, en donde dicha formulación es estéril y/o dicha formulación es una formulación farmacéutica unitaria.

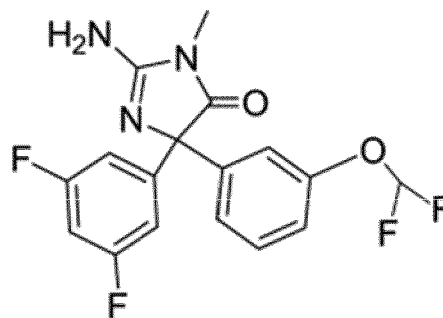
7. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, o la formulación de una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 6 para el uso en terapia.

8. Una hidantoína para su uso en un método para mejorar o tratar uno o más síntomas de una afección y/o disfunción cognitiva previa al Alzheimer, o retrasar la progresión de una afección o disfunción cognitiva previa al Alzheimer a la enfermedad de Alzheimer, comprendiendo dicho método:

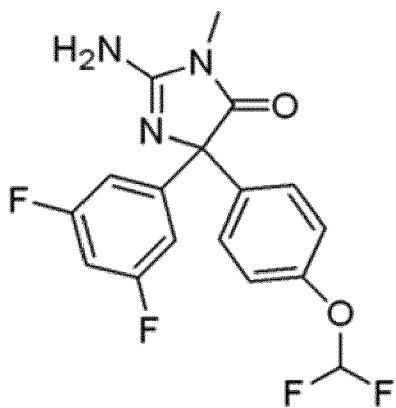
administrar a un sujeto que lo necesita la hidantoína en una cantidad suficiente para prevenir o retrasar la aparición de una disfunción cognitiva previa al Alzheimer, y/o para mejorar uno o más síntomas de una disfunción cognitiva previa al Alzheimer, y/o para prevenir o retrasar la progresión de una disfunción cognitiva previa al Alzheimer a la enfermedad de Alzheimer, en donde la hidantoína es un compuesto que tiene una fórmula seleccionada del grupo que consiste en



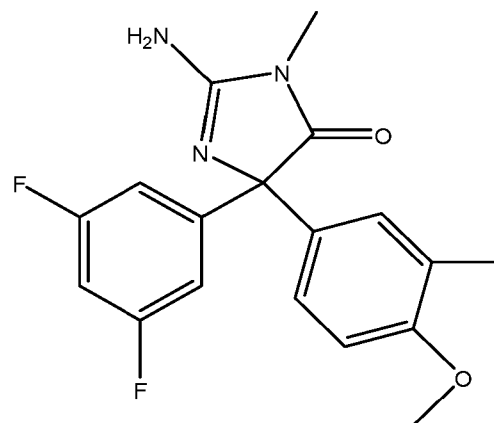
(FAH-5),



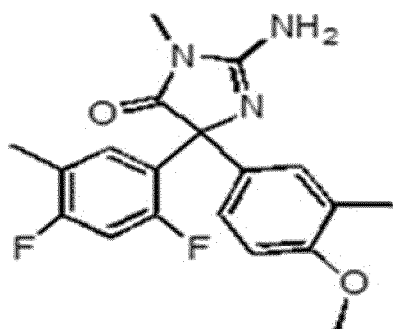
(FAH-4),



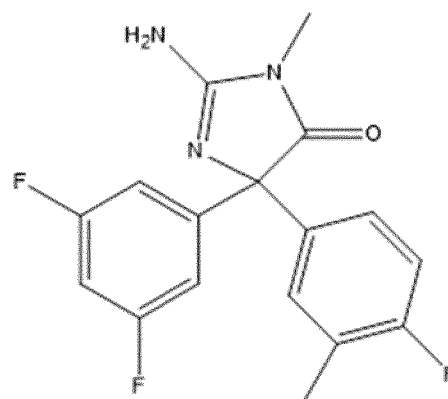
(FAH-2),



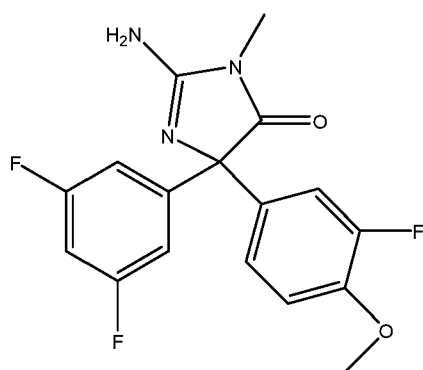
(FAH-6),



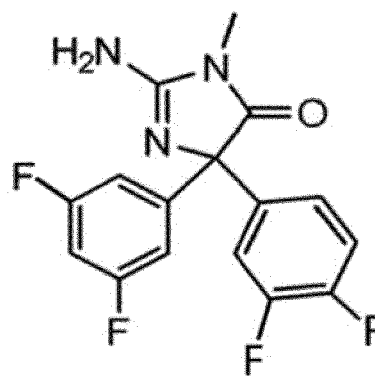
(FAH-9),



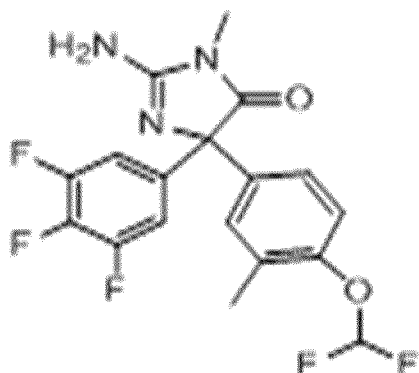
(FAH-10),



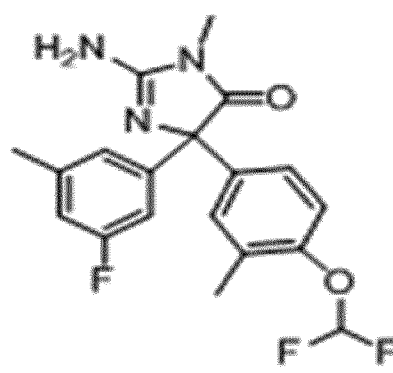
(FAH-12),



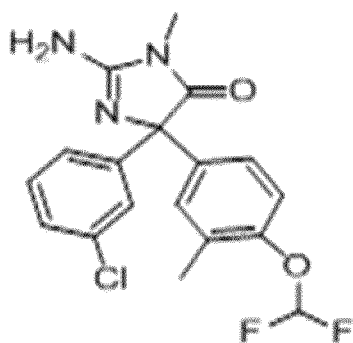
(FAH-14),



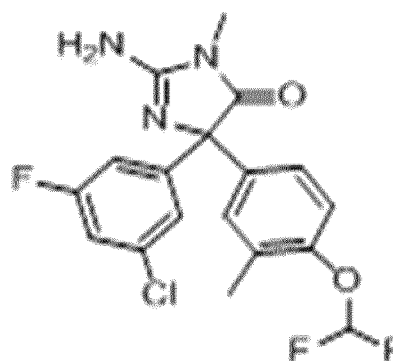
(FAH-19),



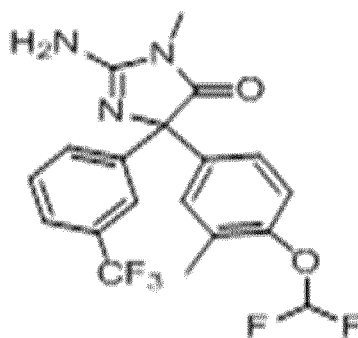
(FAH-22),



(FAH-23),



(FAH-25),<sub>y</sub>



5

(FAH-28), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

9. La hidantoína para el uso de la reivindicación 8, en donde:

- 10 dicha administración produce una reducción en el LCR de los niveles de uno o más componentes seleccionados del grupo que consiste en A $\beta$ 42, sAPP $\beta$ , Tau total (tTau), fosfo-Tau (pTau), APPneo, A $\beta$ 40 soluble, relación de pTau/A $\beta$ 42 y relación de tTau/A $\beta$ 42, y/o el aumento en el CSF de los niveles de uno o más componentes seleccionados del grupo que consiste en la relación de A $\beta$ 42/A $\beta$ 40, la relación de A $\beta$ 42/A $\beta$ 38, sAPP $\alpha$ , la relación de sAPP $\alpha$ /sAPP $\beta$ , la relación de sAPP $\alpha$ /A $\beta$ 40 y la relación de sAPP $\alpha$ /A $\beta$ 42; y/o

15

dicha administración produce una reducción de la carga de placa en el cerebro del sujeto; y/o

dicha administración produce una reducción en la tasa de formación de placa en el cerebro del sujeto; y/o

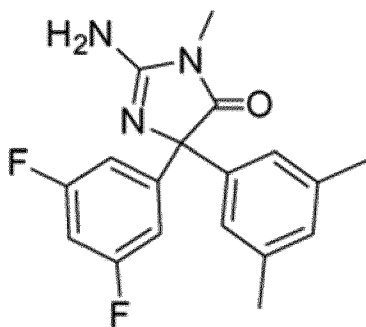
dicha administración produce una mejora en las capacidades cognitivas del sujeto; y/o

dicha administración produce una mejora en, una estabilización o una reducción de la tasa de disminución de la clasificación clínica de demencia (CDR) del sujeto.

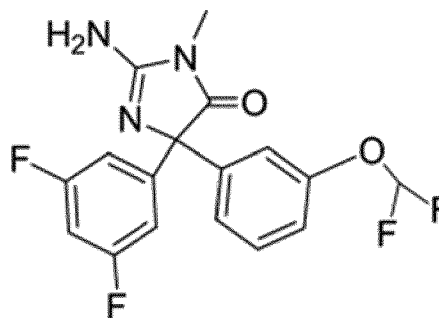
20

10. Una hidantoína para su uso en un método para mejorar o tratar uno o más síntomas de la enfermedad de Alzheimer, y/o invertir la enfermedad de Alzheimer, y/o reducir la tasa de progresión de la enfermedad de Alzheimer, comprendiendo dicho método:

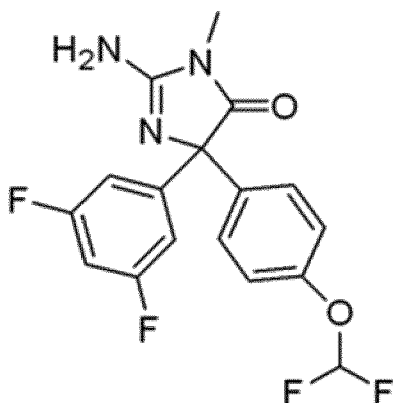
- 5 administrar a un sujeto que lo necesita la hidantoína en una cantidad suficiente para mejorar uno o más síntomas de enfermedad de Alzheimer, y/o para revertir la enfermedad de Alzheimer, y/o para reducir la tasa de progresión de la enfermedad de Alzheimer, en donde la hidantoína es un compuesto que tiene una fórmula seleccionada del grupo que consiste en:



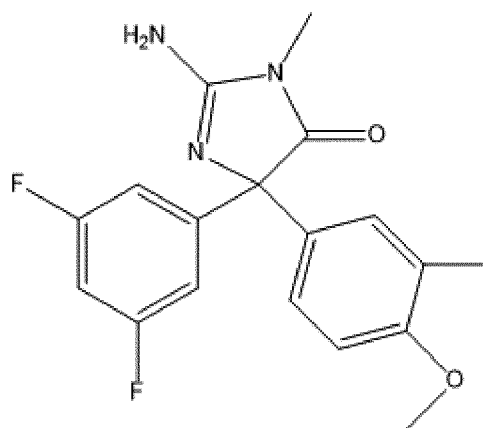
(FAH-5),



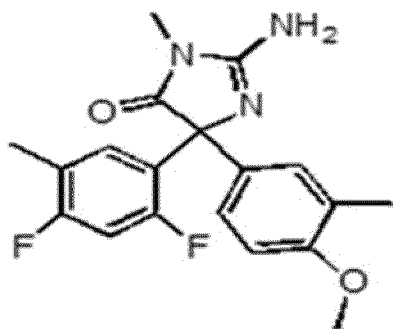
(FAH-4),



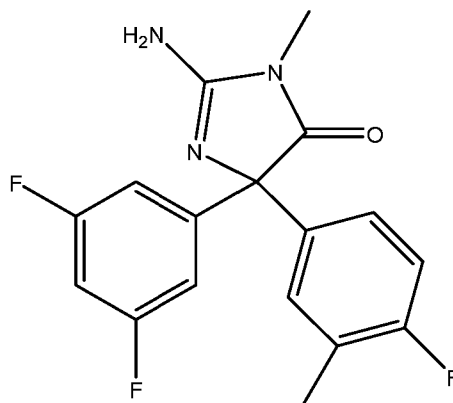
(FAH-2),



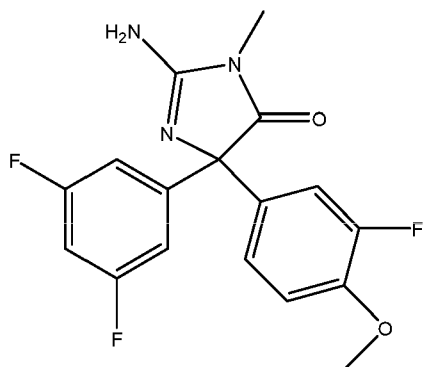
(FAH-6),



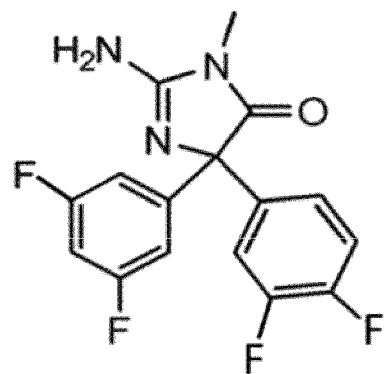
(FAH-9),



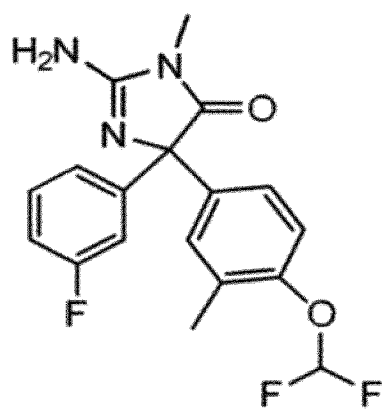
(FAH-10),



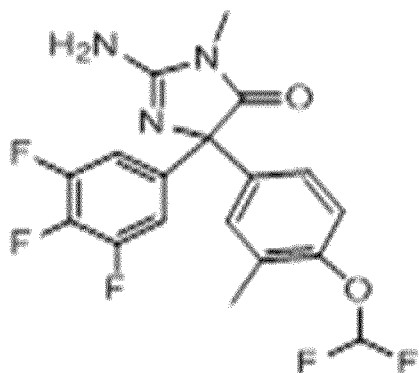
(FAH-12),



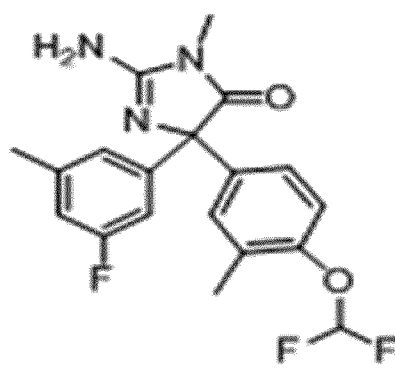
(FAH-14),



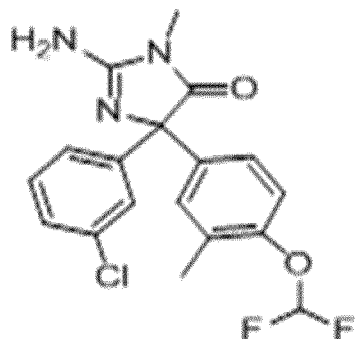
(FAH-17),



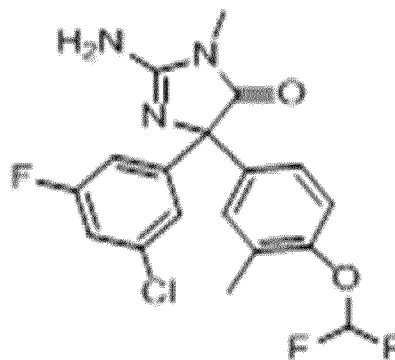
(FAH-19),



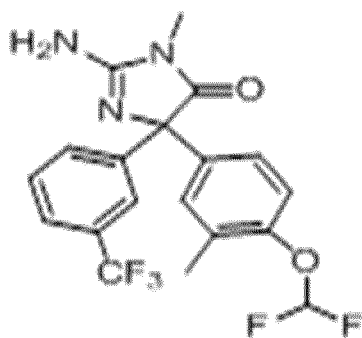
(FAH-22),



(FAH-23),



(FAH-25),<sub>y</sub>



(FAH-28), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

11. La hidantoína para el uso de la reivindicación 10, en donde:

a dicho sujeto se le diagnostica enfermedad de Alzheimer en etapa temprana; o

a dicho sujeto se le diagnostica enfermedad de Alzheimer en etapa intermedia; o

10 a dicho sujeto se le diagnostica enfermedad de Alzheimer en etapa tardía; o

dicho sujeto muestra una clasificación clínica de demencia indicativa de la enfermedad de Alzheimer; y/o

dicho sujeto tiene un riesgo familiar de padecer la enfermedad de Alzheimer; y/o

dicho sujeto tiene una mutación de la enfermedad de Alzheimer familiar (EAF).

15 12. La hidantoína para el uso de la reivindicación 10 u 11, en donde:

dicha administración mejora uno o más síntomas de la enfermedad de Alzheimer; y/o

dicha administración reduce la tasa de progresión de la enfermedad de Alzheimer; y/o

dicha administración da como resultado una reducción en el LCR de los niveles de uno o más componentes seleccionados del grupo que consiste en Aβ42, sAPPβ, Tau total (tTau), fosfo-Tau (pTau), APPneo, Aβ40 soluble,

20 relación de pTau/Aβ42 y relación de tTau/Aβ42, y/o el aumento en el CSF de los niveles de uno o más componentes seleccionados del grupo que consiste en la relación de Aβ42/Aβ40, la relación de Aβ42/Aβ38, sAPPα, la relación de

sAPP $\alpha$ /sAPP $\beta$ , la relación de sAPP $\alpha$ /A $\beta$ 40 y la relación de sAPP $\alpha$ /A $\beta$ 42; y/o dicha administración produce una reducción de la carga de placa en el cerebro del sujeto; y/o

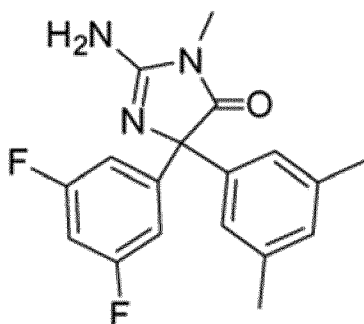
dicha administración produce una reducción en la tasa de formación de placa en el cerebro del sujeto; y/o

dicha administración produce una mejora en las capacidades cognitivas del sujeto; y/o

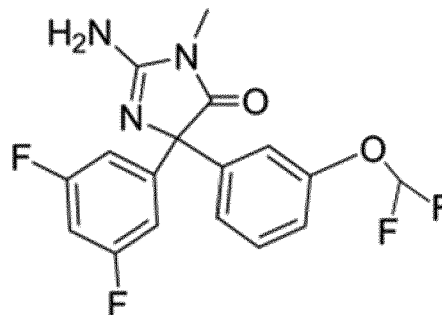
dicha administración produce una mejora en, una estabilización o una reducción de la tasa de disminución de la clasificación clínica de demencia (CDR) del sujeto; y/o dicha administración produce una mejora percibida en la calidad de vida por parte del sujeto; y/o

dicha administración da como resultado una amiloidosis cerebral reducida y/o una neurodegeneración cadena abajo.

13. Una hidantoína para el uso en un método de tratamiento que ralentiza la progresión, detiene o revierte la degeneración macular relacionada con la edad (DMAE) en un mamífero, comprendiendo dicho método administrar a dicho mamífero la hidantoína en una cantidad suficiente para ralentizar la progresión, detener o revertir la degeneración macular relacionada con la edad en dicho mamífero, en donde la hidantoína es un compuesto que tiene una fórmula seleccionada del grupo que consiste en:

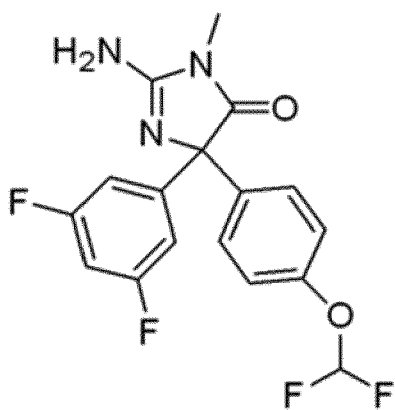


(FAH-5),

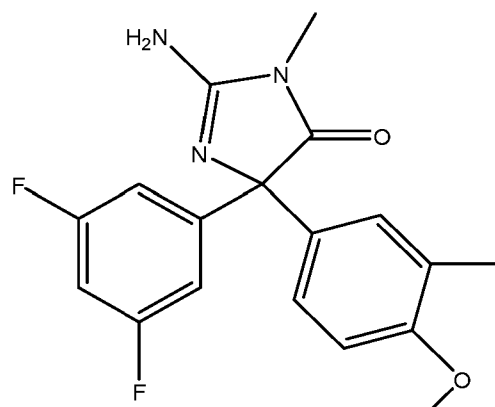


(FAH-4),

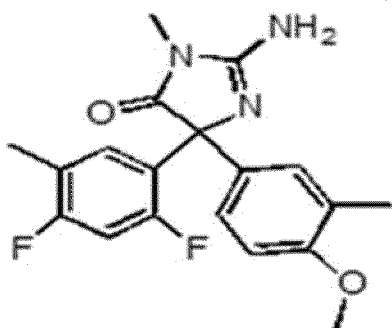




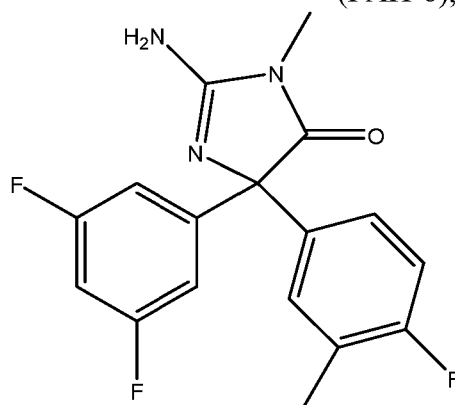
(FAH-2),



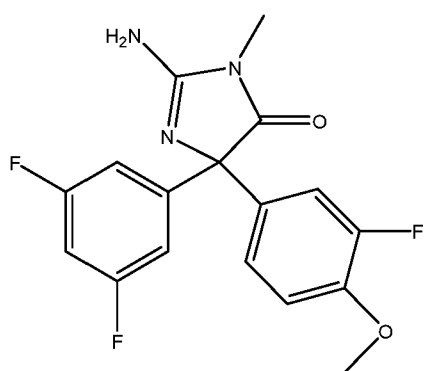
(FAH-6),



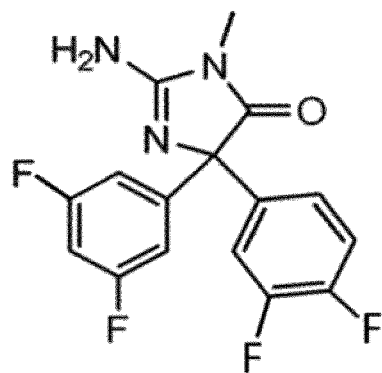
(FAH-9),



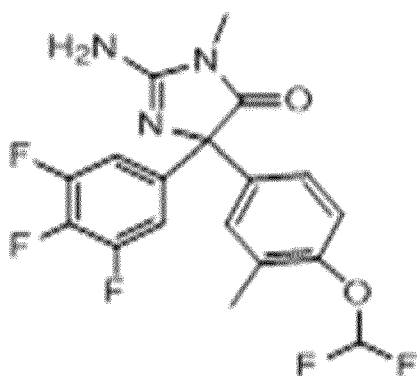
(FAH-10),



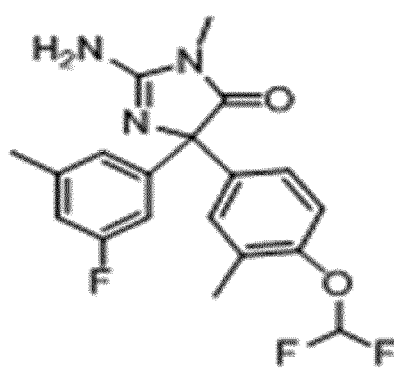
(FAH-12),



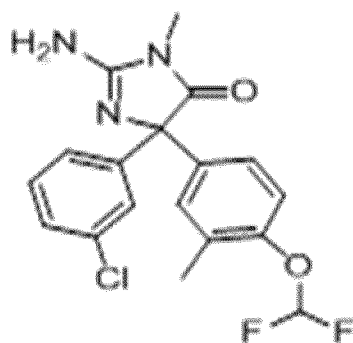
(FAH-14),



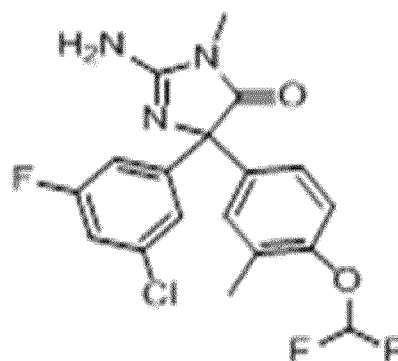
(FAH-19),



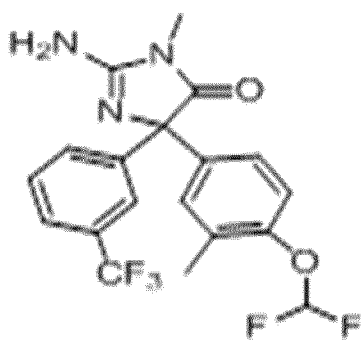
(FAH-22),



(FAH-23),

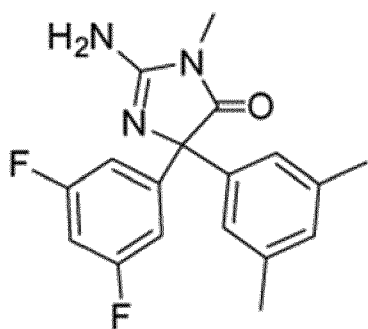


(FAH-25),<sub>y</sub>

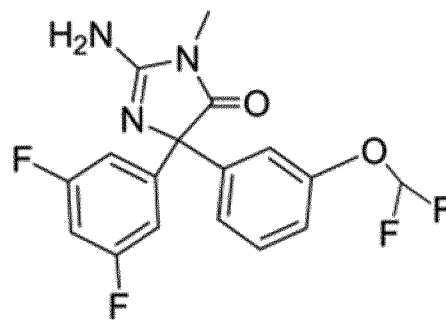


(FAH-28), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

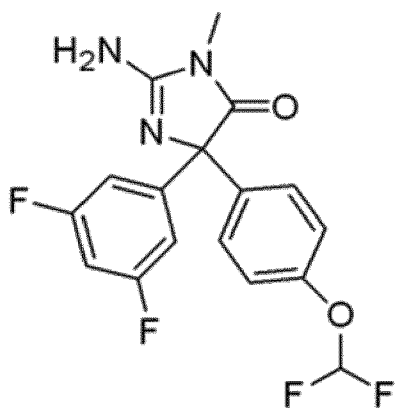
14. Una hidantoína para su uso en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, deterioro cognitivo, síndrome de Down, HCHWA-D, deterioro cognitivo, demencia senil, angiopatía amiloide cerebral o un trastorno neurodegenerativo, en donde la hidantoína es un compuesto que tiene una fórmula seleccionada del grupo que consiste en



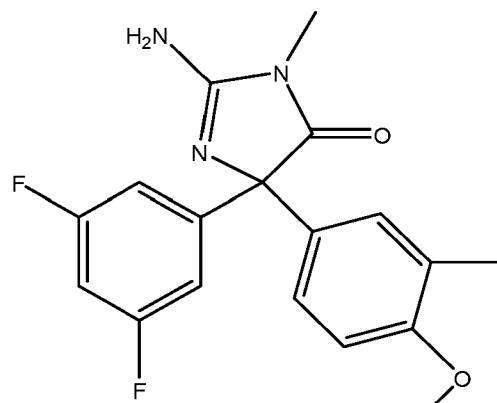
(FAH-5),



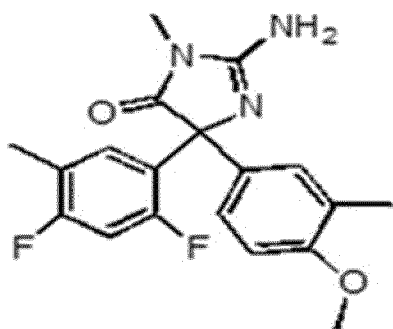
(FAH-4),



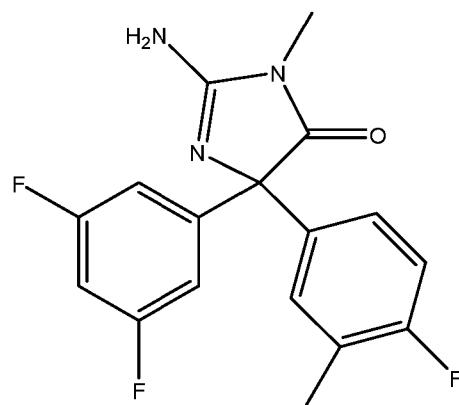
(FAH-2),



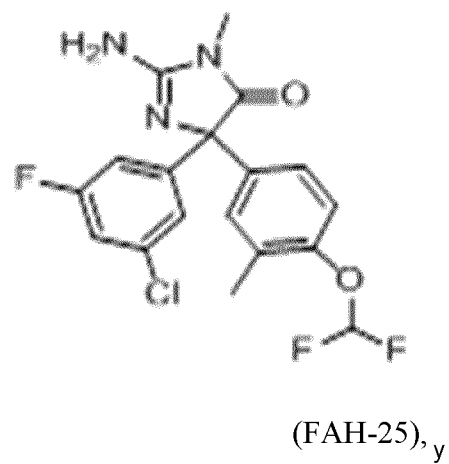
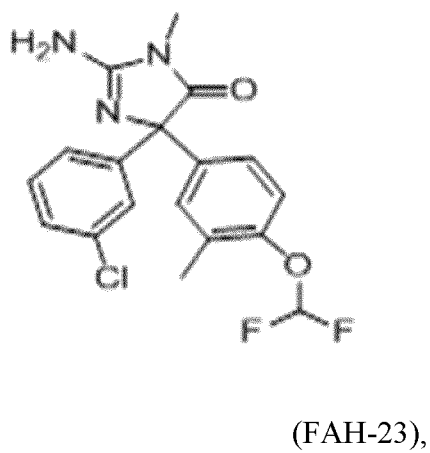
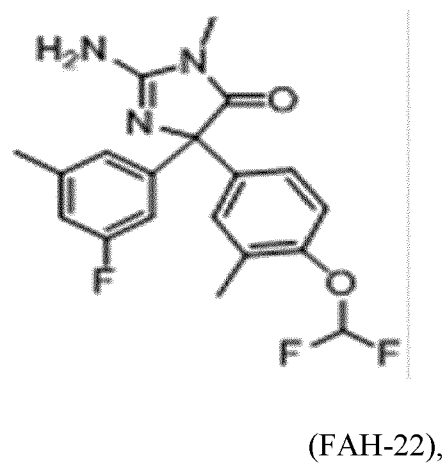
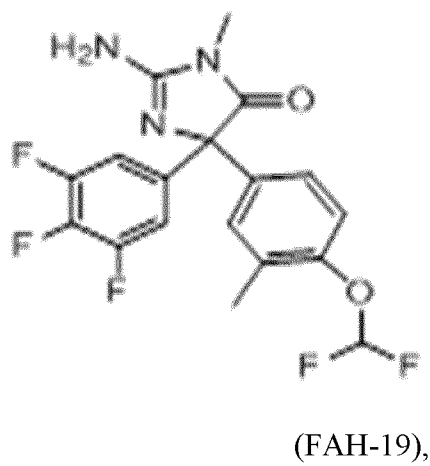
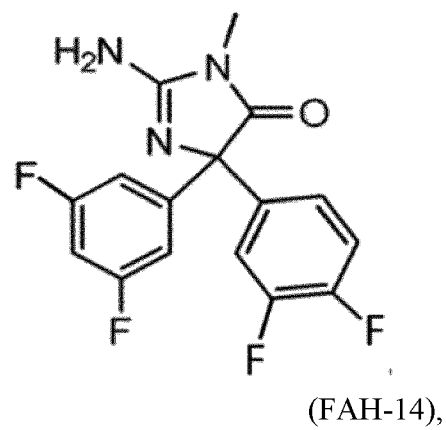
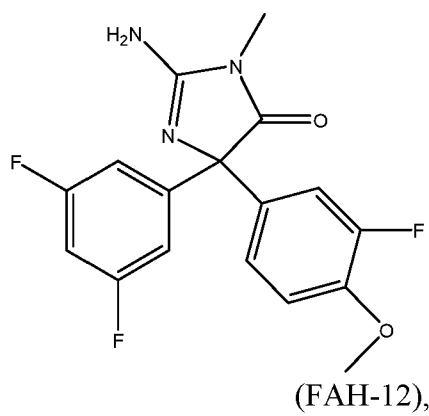
(FAH-6),

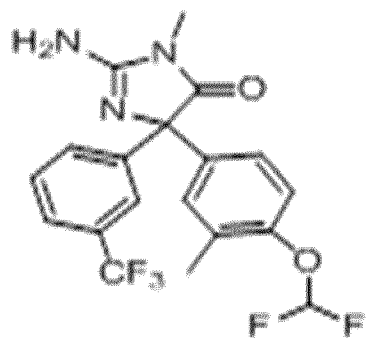


(FAH-9),

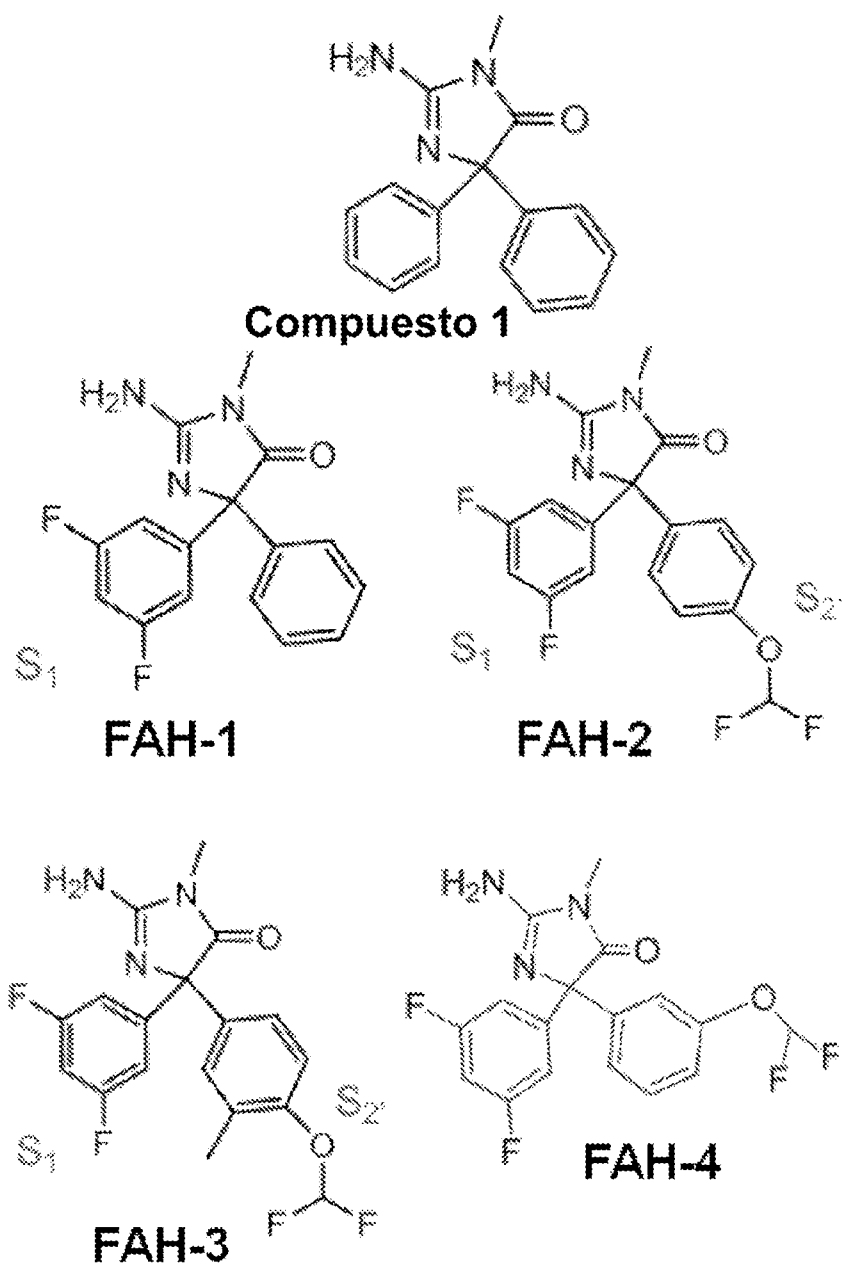


(FAH-10),

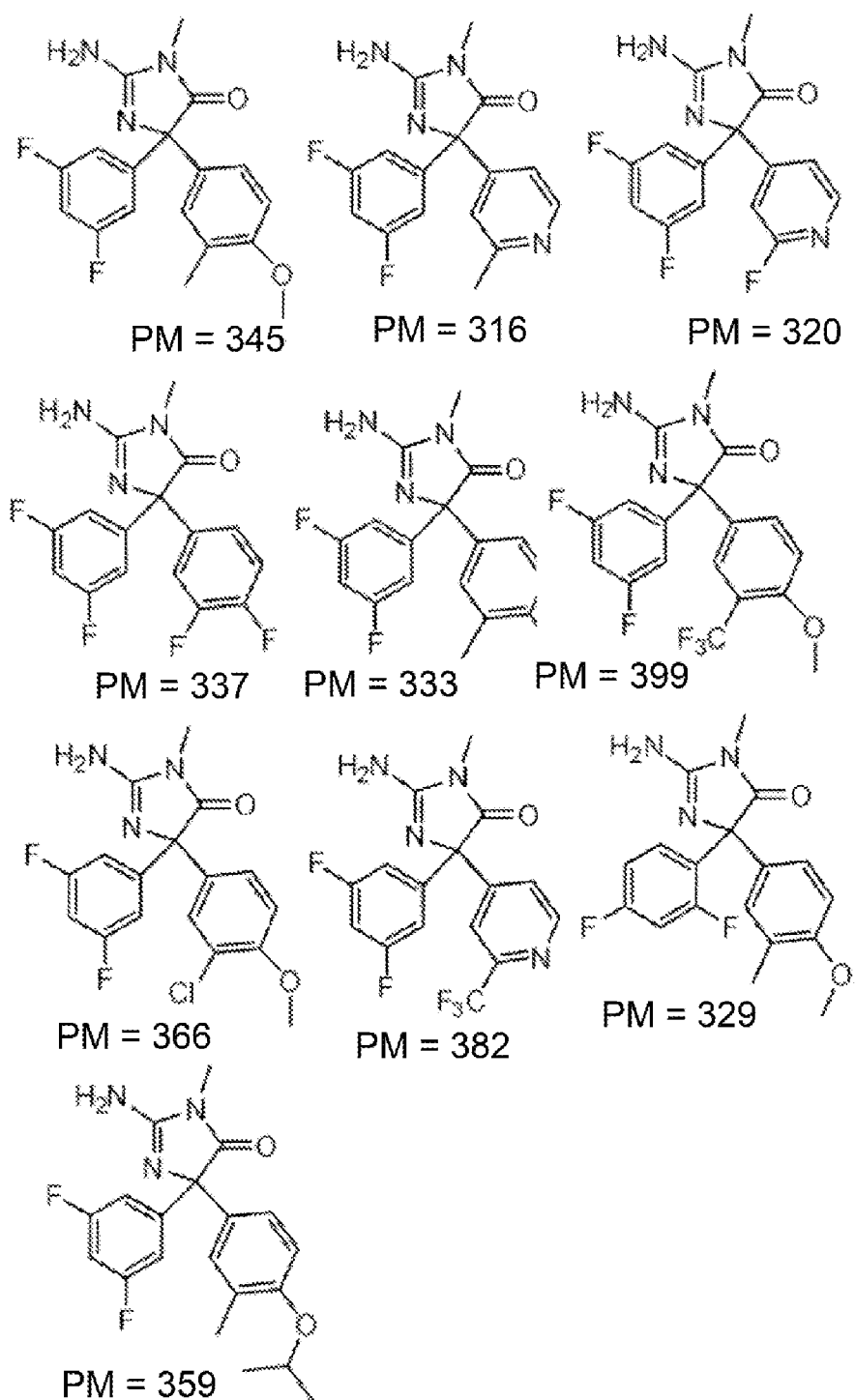




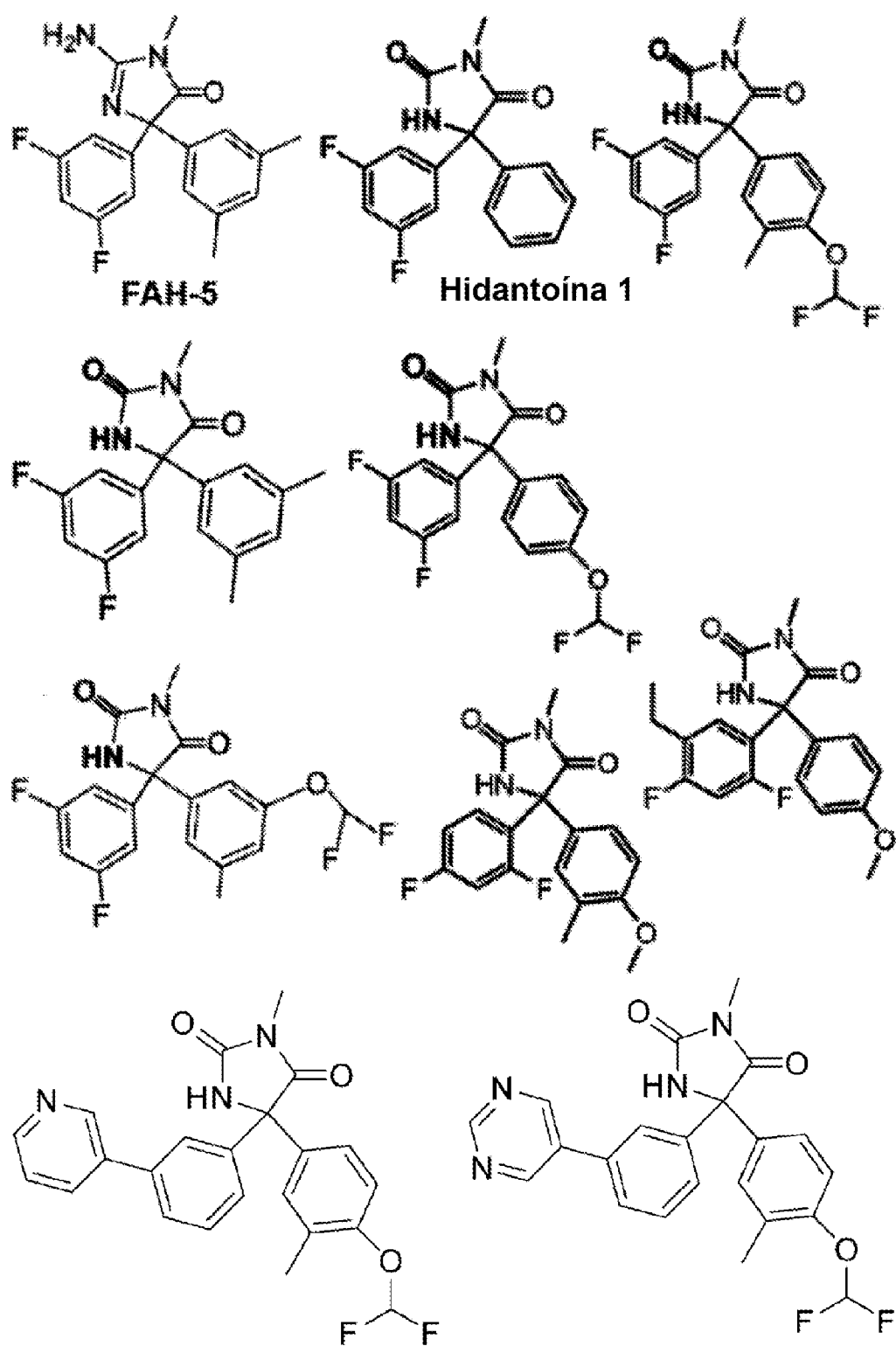
(FAH-28), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.



**Fig. 1**

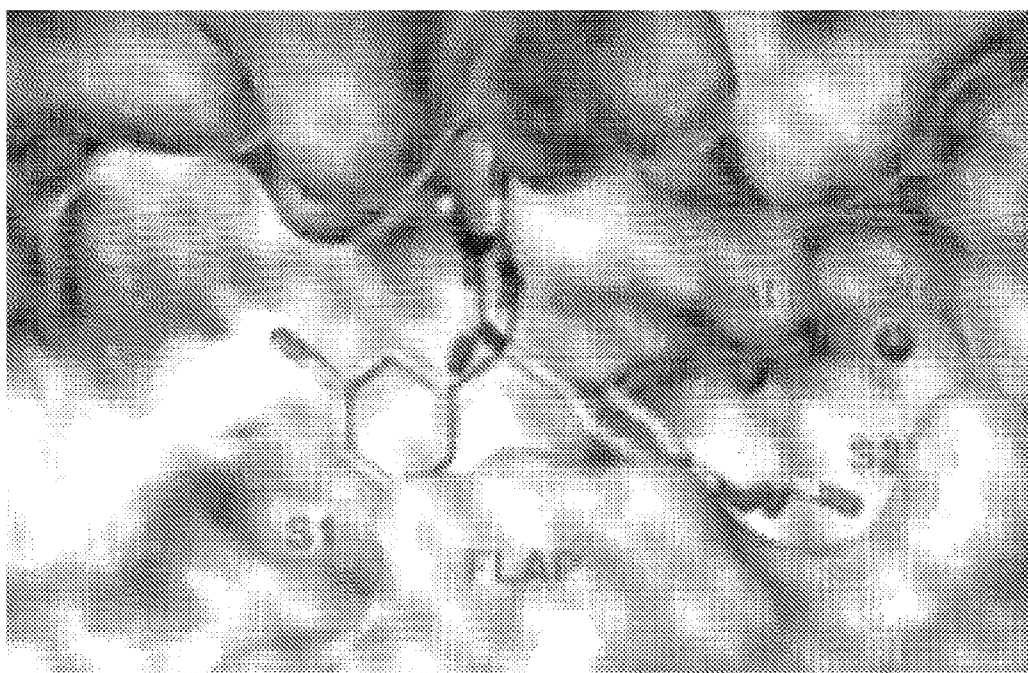


**Fig. 1, continuación**



**Fig. 2**



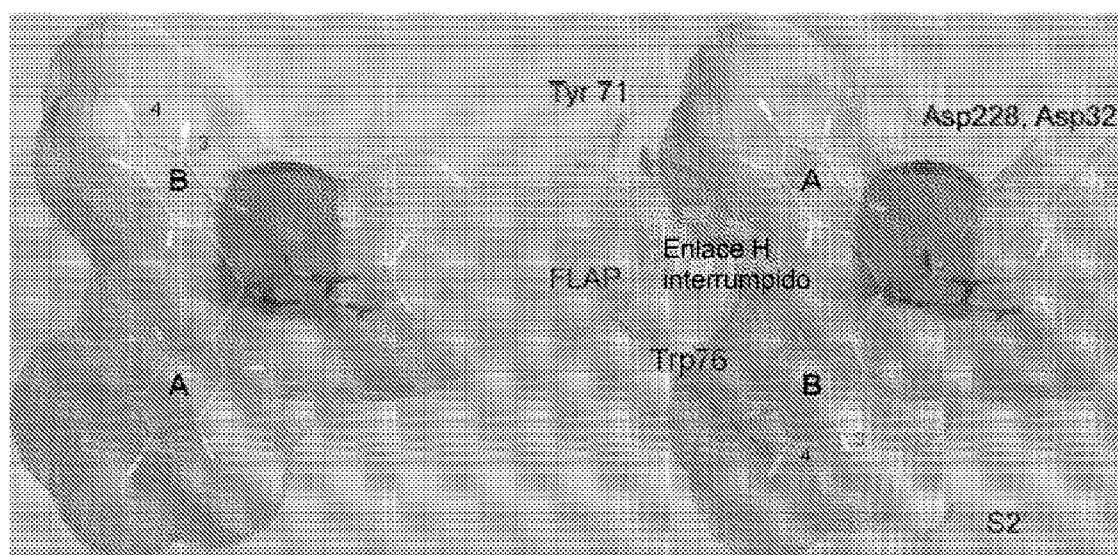
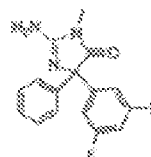


Compuesto 1A

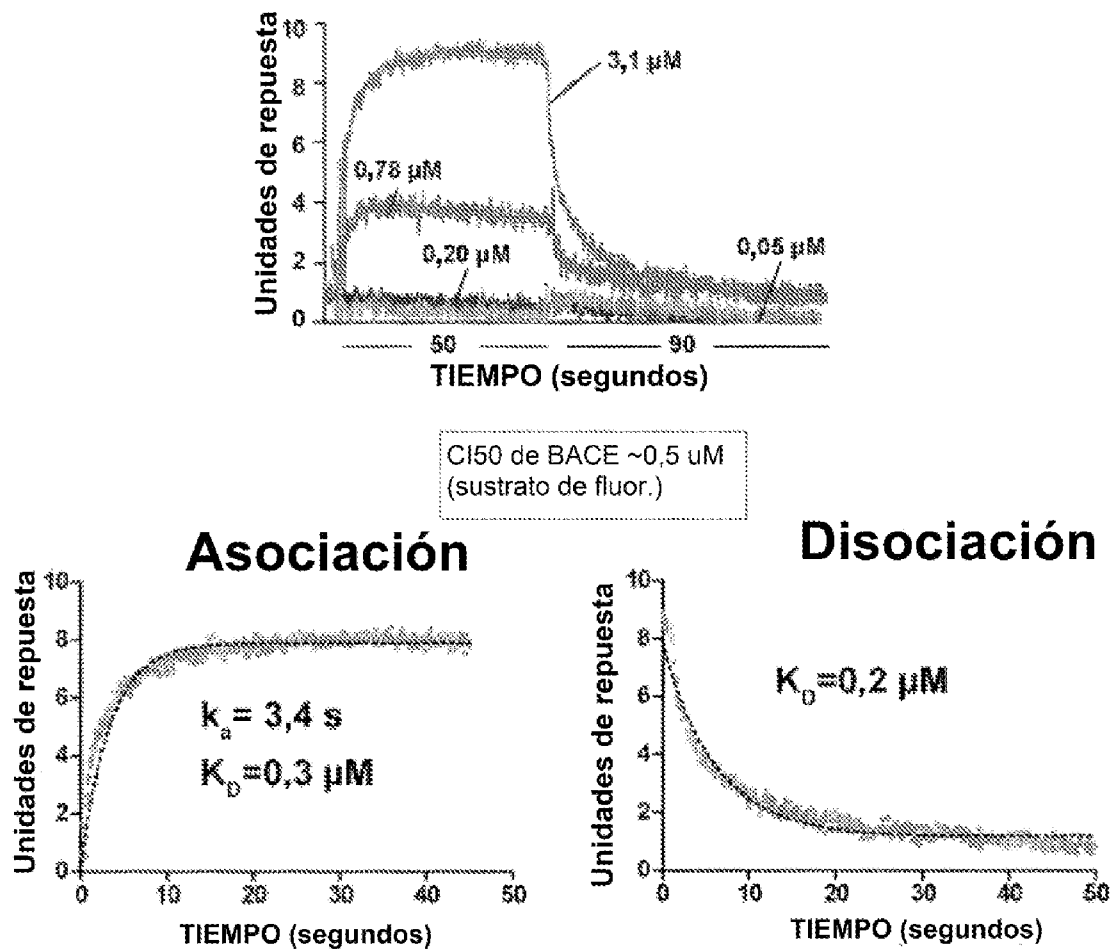


**Modelos de  
isómeros del Compuesto 1**

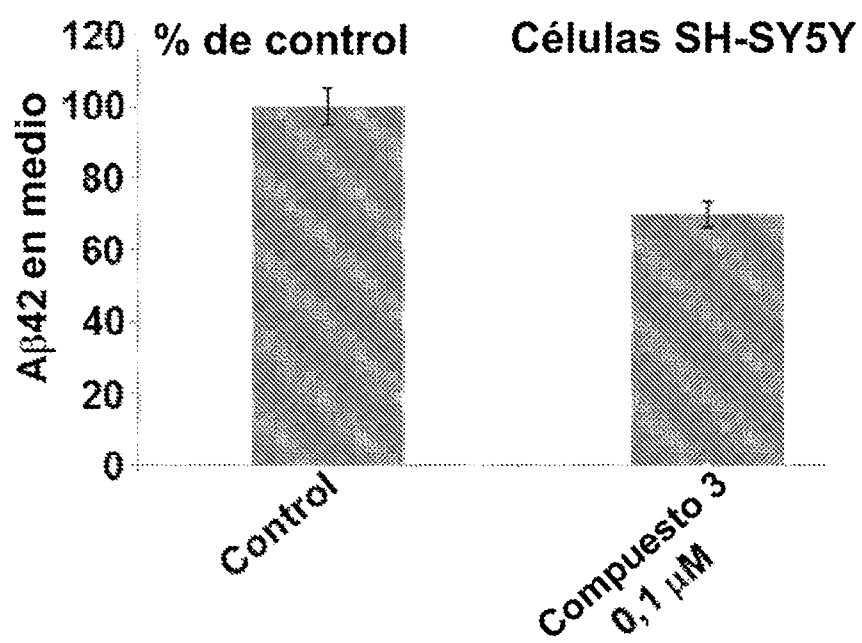
Compuesto 1B



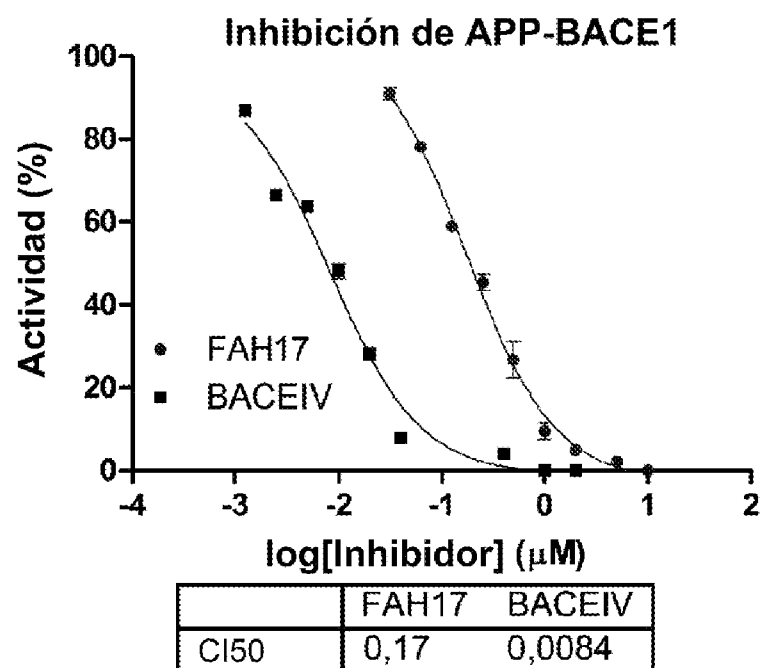
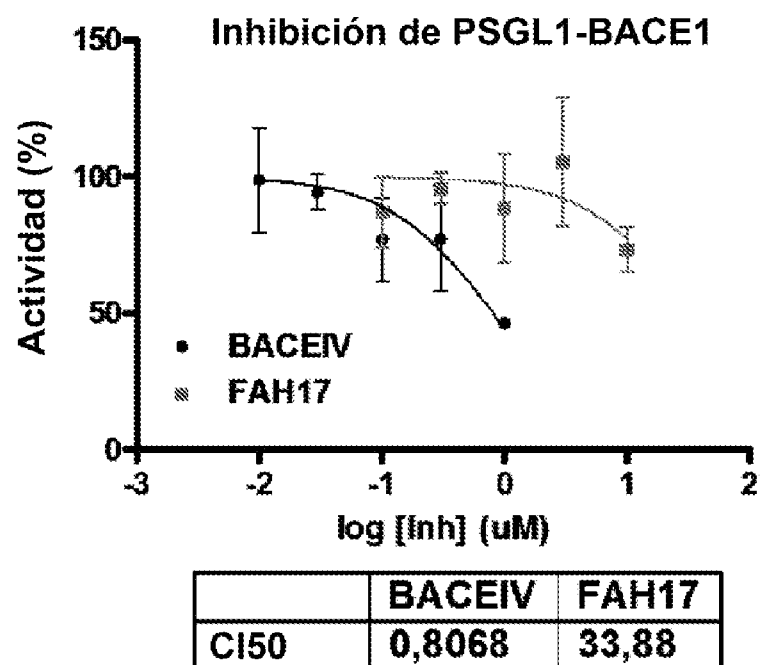
**Fig. 3**



**Fig. 4**



**Fig. 5**

**Fig. 6A****Fig. 6B**