



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 331 905**

(51) Int. Cl.:

A61K 31/662 (2006.01)

A61K 31/10 (2006.01)

A61K 31/33 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Número de solicitud europea: **00922395 .9**

(96) Fecha de presentación : **28.04.2000**

(97) Número de publicación de la solicitud: **1276483**

(97) Fecha de publicación de la solicitud: **22.01.2003**

(54) Título: **Composiciones y procedimientos para tratar la amiloidosis usando derivados sulfonato.**

(30) Prioridad: **28.04.1999 US 131464 P**
24.05.1999 US 135545 P
09.07.1999 US 143123 P

(73) Titular/es: **BELLUS Health (International) Limited**
Parc Scientifique EPFL, PSE Ecublens
1015 Lausanne, CH

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
20.01.2010

(72) Inventor/es: **Gordon, Heather;**
Szarek, Walter;
Weaver, Donald y
Kong, Xianqi

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
20.01.2010

(74) Agente: **Carpintero López, Mario**

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

Composiciones y procedimientos para tratar la amiloidosis usando derivados sulfonato.

5 Esta solicitud reivindica la protección conferida por la prioridad bajo la 35 U.S. C 119(e) a la Solicitud Provisional U.S. nº. 60/131.464 en tramitación con la presente, presentada el 28 de abril de 1999, la Solicitud Provisional U.S. nº. 60/131.464, presentada el 28 de abril de 1999, la Solicitud Provisional U.S. nº. 60/135.545, presentada el 24 de mayo de 1999 y la Solicitud Provisional U.S. nº. 60/143.123, presentada el 9 de julio de 1999. Esta solicitud también está relacionada con la patente U.S. nº. 5972328, expedida el 26 de octubre de 1999.

10

Antecedentes de la invención

15 La amiloidosis se refiere a una afección patológica caracterizada por la presencia de amiloide. "Amiloide" es un término genérico que se refiere a un grupo de depósitos de proteínas extracelulares diversas pero específicas que se ven en varias enfermedades diferentes. Aunque diversos en su presencia, todos los agregados de amiloide tienen propiedades morfológicas comunes, se tiñen con colorantes específicos (por ejemplo, rojo de Congo) y tienen un aspecto birrefringente rojo-verde característico en luz polarizada después de tinción. También comparten rasgos ultraestructurales y espectros comunes de difracción de rayos X e infrarrojo.

20

La amiloidosis se puede clasificar clínicamente en primaria, secundaria, familiar y/o aislada. La amiloidosis primaria aparece de novo sin trastorno precedente alguno. La amiloidosis secundaria es la forma que aparece como una complicación de un trastorno previamente existente. La amiloidosis familiar es una forma heredada genéticamente encontrada en poblaciones geográficas particulares. Las formas aisladas de amiloidosis son las que tienden a implicar un sistema de órganos individual. Los diferentes amiloides se caracterizan también por el tipo de proteína presente en el agregado. Por ejemplo, enfermedades neurodegenerativas tales como la tembladera del cordero, encefalitis espongiforme bovina, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, encefalitis espongiforme transmisible ("TSE") y similares se caracterizan por la aparición y acumulación de una forma resistente a la proteasa de una proteína de príón (denominada AScr o PrP-27) en el sistema nervioso central.

30

Análogamente, la enfermedad de Alzheimer, otro trastorno neurodegenerativo, se caracteriza por angiopatía congénital, placas neuríticas y marañas neurofibrilares, teniendo todos ellos las características de amiloides. En este caso, las placas y el amiloide del vaso sanguíneo se forman por la proteína beta. Otras enfermedades sistémicas tales como diabetes del adulto, complicaciones de hemodiálisis a largo plazo y secuelas de inflamación por inmovilización prolongada o discrasias de células de plasma se caracterizan por la acumulación de amiloides sistémicamente. En cada uno de estos casos, está implicada una proteína amiloidogénica diferente.

Otro efecto perjudicial de la amiloidosis incluye la toxicidad para las células debida a la presencia de niveles superiores a los normales de amiloide *in vivo*. Se ha visto que una vez que las fibrillas de amiloide se reúnen en fibras, por ejemplo, por agregación de amiloide, las fibras son tóxicas para las células del nervio y presentan un riesgo para la viabilidad de esas células. Así, además de los efectos perjudiciales de las placas de amiloide *in vivo*, la presencia del propio amiloide puede ser perjudicial para el organismo.

45 Los solicitantes conocen la patente U.S. nº. 5.643.562 (KISILEVSKY y otros) que describe compuestos y procedimientos terapéuticos para inhibir del depósito de amiloide en un sujeto, cualquiera que sea su estado clínico. El depósito de amiloide se inhibe por administración a un sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto terapéutico que comprende un grupo aniónico y una molécula vehículo, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, tal que se inhibe una interacción entre una proteína amiloidogénica y un elemento constitutivo de membrana de base. Son grupos aniónicos preferidos, sulfonatos y sulfatos. Las moléculas vehículo preferidas incluyen los carbohidratos, polímeros, péptidos, derivados de péptidos, grupos alifáticos, grupos alicíclicos, grupos heterocíclicos, grupos aromáticos y combinaciones de ellos.

50 Los solicitantes conocen también la publicación de Pollack SJ y otros, *Sulfonated dyes attenuate the toxic effects of beta-amploid in a structure-specific fashion*, Neuroscience Letters, IE, Limerick, vol. 197, 1995, págs. 211-214, que revela que algunos glicosaminoglicanos que contienen sulfato atenuan los efectos tóxicos de algunos fragmentos de β -amiloides. El efecto protector parece específico para compuestos cuyos grupos sulfonato pueden interaccionar con la estructura β -plisada de amiloide agregado. Se ha sugerido que por unión de β -amiloides estos compuestos pueden prevenir interacciones tóxicas del péptido con las células.

60

Sumario de la invención

En las reivindicaciones y las subordinadas que se acompañan se presentan, respectivamente, las características esenciales y opcionales de la presente invención.

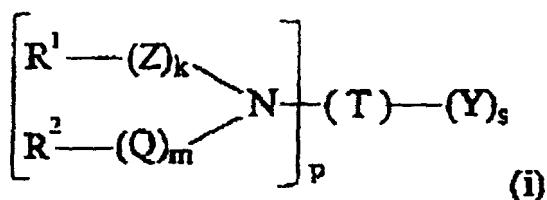
65

La presente invención proporciona composiciones para uso en el tratamiento de la amiloidosis. En particular, se dan a conocer composiciones para inhibir, prevenir y tratar la agregación de amiloide, por ejemplo, en islotes pancreáticos en los que están los agregados amiloidóticos, en una realización, agregados de amiloide asociado a polipéptido de

ES 2 331 905 T3

islotes de amiloide (IAPP). por ejemplo, que tienen como mínimo alguna estructura de β -lámina. Consecuentemente, las composiciones de la invención se usan para inhibir la amiloidosis en trastornos en los que se produce agregación de amiloide.

- 5 Un procedimiento descrito en esta memoria implica administrar *in vivo* o *ex vivo* una cantidad eficaz de un compuesto terapéutico que tiene la fórmula (i):



20 una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptable, tal que se produzca modulación de la agregación de amiloide.

R¹ es

25 un grupo alquilo C₁₋₂₂ lineal o ramificado, un grupo alquenilo C₁₋₂₂ lineal o ramificado, un grupo alquinilo C₁₋₂₂ lineal o ramificado, cada uno de los cuales puede estar sustituido en uno o varios carbonos con halógeno, un grupo hidroxilo, tiol, amino, alcoxi, alquilcarbonilo, alquiltio o nitro; o

30 un grupo alicíclico seleccionado entre ciclopropano, ciclopentano, cicloolefinas y estructuras en anillo condensadas, cada uno de cuyos grupos alicíclicos puede estar sustituido con uno o varios sustituyentes seleccionados entre alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alquiltio C₁₋₆, alquilamino C₁₋₆, alquilcarboxi C₁₋₆, nitro, hidroxilo, -CF₃ y -CN, o

35 un grupo heterocíclico, que es saturado o insaturado, puede incluir estructuras en anillo condensadas y puede estar sustituido en uno o varios átomos constitutivos con un halógeno, un alquilo C₁₋₆, un alquenilo C₁₋₆, un alcoxi C₁₋₆, un alquiltio C₁₋₆, un alquilamino C₁₋₆, un alquilcarboxilo C₁₋₆, un nitro, un hidroxilo, -CF₃ o -CN, o

40 40 un grupo arilo seleccionado entre grupos de un anillo de 5 miembros que pueden incluir de cero a cuatro heteroátomos y grupos de un anillo de seis miembros seleccionados entre benceno, pirazina, piridazina y pirimidina, pudiendo estar sustituido el mencionado grupo arilo en una o varias posiciones del anillo con sustituyentes seleccionados entre halógeno, alquilo C₁₋₆, alquenilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alquiltio C₁₋₆, alquilamino C₁₋₆, alquilcarboxilo C₁₋₆, nitro, hidroxilo, -CF₃ y -CN,

R² es un átomo de hidrógeno o un grupo alifático o arilo sustituido o no sustituido;

45 Z y Q son, cada uno independientemente, un carbonilo (C=O), tiocarbonilo (C=S), sulfonilo (SO₂) o sulfóxido (S=O);

k y m son 0 o 1, con tal que, cuando m es 1, R² no sea un átomo de hidrógeno,

p y s son, cada uno independientemente, 1 o 2;

50 T es un grupo de la fórmula -(CD¹D²)_n-, en la que n es un número entero de 1 a 25, C es carbono y D¹ y D² son, independientemente, átomos de hidrógeno o halógeno; grupos alifáticos, aromáticos o heterocíclicos; alquilamino o arilamino, o alquilogoxi o arilogoxi;

55 o R¹ y R² juntos forman un grupo alquieno, k y m son cero, p y s son, cada uno, 1 y T es un grupo alquieno; y

Y es -A-X, en el que A es SO₃ y X es hidrógeno o un catión. En una realización preferente, los compuestos terapéuticos descritos aquí previenen o inhiben la agregación de amiloide.

60 Los procedimientos descritos en esta memoria implican, en una realización, administrar a un sujeto un compuesto terapéutico que inhibe, reduce o destruye depósitos de amiloide, por ejemplo, depósitos de amiloide asociados a LAPF.

65 En una realización preferente, los compuestos terapéuticos de acuerdo con la presente invención incluyen aquellos en los que, dentro del alcance de las definiciones de la reivindicación 1 anexa, R¹ es un grupo alquilo, alquenilo o arilo, k es uno, Z es un grupo carbonilo, R² es un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo, m es cero, p y s son 1, T es un grupo alquieno e Y es SO₃X, siendo X H⁺ u otro catión tal como cationes de metales alcalinos. En otra realización

un grupo de compuestos terapéuticos incluye aquellos en los que, dentro del alcance de la reivindicación 1 anexa, R¹ y R² son grupos alquilo, alquenilo o arilo, o R¹ y R² se juntan para formar un grupo alquieno, k y m son, cada uno, cero, Z y Q son grupos carbonilo, p y s son, cada uno, 1, T es un grupo alquieno e Y es SO₂X, siendo X H⁺ u otro catión tal como cationes de metales alcalinos.

- 5 En otra realización preferente, los compuestos terapéuticos de acuerdo con la presente memoria incluyen aquellos en los que, dentro del alcance de las definiciones de la reivindicación 1 anexa, R¹ es un grupo alquilo, alquenilo o arilo, k y m son cero, R² es hidrógeno o un grupo alquilo, p y s son, cada uno, 1, T es un grupo alquieno e Y es SO₃X, siendo X H⁺ u otro catión tal como cationes de metales alcalinos. En otra realización, los compuestos terapéuticos 10 incluyen aquellos en los que R¹ y R² son grupos alquilo, alquenilo o arilo, o R¹ y R² se juntan para formar un grupo alquieno, k y m son cero, p y s son, cada uno, 1, T es un grupo alquieno e Y es SO₃X, siendo X H⁺ u otro catión tal como cationes de metales alcalinos.

15 Los compuestos terapéuticos dados a conocer en esta memoria se administran a un sujeto por una vía que es eficaz para la modulación de la agregación de amiloide. Entre las vías de administración adecuadas están incluidas la inyección subcutánea, intravenosa e intraperitoneal. Los compuestos terapéuticos de la invención se ha encontrado que son eficaces cuando se administran oralmente. Consecuentemente, una vía preferente de administración es la administración oral. Los compuestos terapéuticos se pueden administrar con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

20 También se consideran aquí procedimientos para tratar un estado de enfermedad asociado con amiloidosis por administración a un sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto terapéutico que tiene la fórmula descrita *supra*, de manera que se trate un estado de enfermedad asociada con la amiloidosis.

25 La invención proporciona además composiciones farmacéuticas para tratar la amiloidosis. Las composiciones farmacéuticas incluyen un compuesto terapéutico de la invención en una cantidad eficaz para modular la agregación de amiloide y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

30 Las composiciones farmacéuticas envasadas para tratar la amiloidosis incluyen un compuesto terapéutico de la invención e instrucciones para usar la composición farmacéutica para el tratamiento de la amidoloidosis.

Breve descripción de los dibujos

35 Los dibujos 1-9 presentan estructuras de compuestos descritos en la memoria.

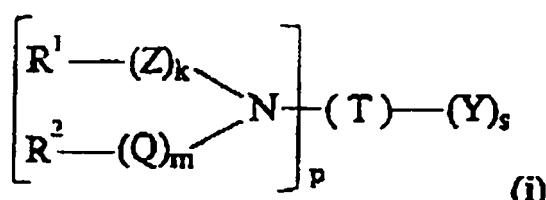
La Figura 10 es el espectro de RMN ¹H del ácido 8-metoxi-5-quinolinasulfónico, la sal sódica (en DMSO-d₆) preparada como en el Ejemplo 9.

40 Las Figuras 11 y 12 son histogramas que muestran la eficacia de los compuestos de la invención XXVII y XVII, respectivamente, en un modelo animal preciso para amiloidosis secundaria, de acuerdo con el Ejemplo 5.

Descripción detallada de la invención

45 La presente descripción corresponde a procedimientos y composiciones útiles para tratar la amiloidosis. Los procedimientos expuestos implican administrar a un sujeto un compuesto terapéutico que modula la agregación de amiloide. La "modulación de la agregación amiloide" se entiende que abarca la prevención o detenimiento de la formación de amiloide, inhibición o ralentización de más agregación de amiloide en un sujeto con amiloidosis progresiva, por ejemplo, que tiene ya agregados de amiloide, y la reducción o inversión de agregados de amiloide en un sujeto con 50 amiloidosis manifiesta. La modulación de la agregación de amiloide se determina relativamente a un sujeto no tratado o relativamente al sujeto tratado antes del tratamiento. "Amiloide" incluye, no limitativamente, amiloide asociado a IAPP, amiloide β -lámina ensamblada de subunidades de IAPP así como otros tipos de enfermedades relacionadas con amiloide tales como la enfermedad de Alzheimer y trastornos sistémicos por amiloide.

55 En una realización, un procedimiento descrito en esta memoria incluye administrar a un sujeto una cantidad eficaz de un compuesto terapéutico que tiene como mínimo un grupo aniónico unido covalentemente a un grupo conector. El compuesto terapéutico tiene la fórmula (i)



ES 2 331 905 T3

o una de sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptable.

R¹ es

5 un grupo alquilo C₁₋₂₂ lineal o ramificado, un grupo alquenilo C₁₋₂₂ lineal o ramificado, un grupo alquinilo C₁₋₂₂ lineal o ramificado, cada uno de los cuales puede estar sustituido en uno o varios carbonos con halógeno, un grupo hidroxilo, tiol, amino, alcoxi, alquilcarbonilo, alquiltio o nitro; o

10 un grupo alicíclico seleccionado entre ciclopropano, ciclopentano, cicloolefinas y estructuras en anillo condensadas, cada uno de cuyos grupos alicíclicos puede estar sustituido con uno o varios sustituyentes seleccionados entre alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alquiltio C₁₋₆, alquilamino C₁₋₆, alquilcarboxi C₁₋₆, nitro, hidroxi, -CF₃ y -CN, o

15 un grupo heterocíclico, que es saturado o insaturado, puede incluir estructuras en anillo condensadas y puede estar sustituido en uno o varios átomos constitutivos con un halógeno, un alquilo C₁₋₆, un alquenilo C₁₋₆, un alcoxi C₁₋₆, un alquiltio C₁₋₆, un alquilamino C₁₋₆, un alquilcarboxilo C₁₋₆, un nitro, un hidroxilo, -CF₃ o -CN, o

20 un grupo arilo seleccionado entre grupos de un anillo de 5 miembros que pueden incluir de cero a cuatro heteroátomos y grupos de un anillo de seis miembros seleccionados entre benceno, pirazina, piridazina y pirimidina, pudiendo estar sustituido el mencionado grupo arilo en una o varias posiciones del anillo con sustituyentes seleccionados entre halógeno, alquilo C₁₋₆, alquenilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alquiltio C₁₋₆, alquilamino C₁₋₆, alquilcarboxilo C₁₋₆, nitro, hidroxilo, -CF₃ y -CN, o

R² es un átomo de hidrógeno o un grupo alifático o arilo sustituido o no sustituido;

25 Z y Q son, cada uno independientemente, un carbonilo(C=O), tiocarbonilo (C=S), sulfonilo (SO₂) o sulfóxido (S=O);

k y m son 0 o 1, con tal que, cuando m es 1, R² no sea un átomo de hidrógeno,

30 p y s son, cada uno independientemente, 1 o 2;

T es un grupo de la fórmula -(CD¹D²)_n-, en la que n es un número entero de 1 a 25, C es carbono y D¹ y D² son, independientemente, átomos de hidrógeno o halógeno; grupos alifáticos, aromáticos o heterocíclicos; alquilamino o arilamino, o alquiloglioxi o ariloglioxi;

35 o R¹ y R² juntos forman un grupo alquieno, k y m son cero, p y s son, cada uno, 1 y T es un grupo alquieno; y

Y es -A-X, en el que A es SO₂ y X es hidrógeno o un catión. En una realización preferente, los compuestos terapéuticos descritos aquí previenen o inhiben el ensamblaje de la proteína de amiloide en fibrillas insolubles que se depositan *in vivo* en varios órganos. Se cree también, sin limitación, que los compuestos previenen que la proteína de amiloide, sea en forma soluble o no soluble, se una o adhiera a una superficie celular y causando daño o toxicidad a la célula.

45 El número de grupos amino o amido y grupos aniónicos (esto es, determinados por "p" y "s"), cada uno independientemente, es de 1 a 2, seleccionado de manera que la biodistribución del compuesto para un sitio diana pretendido no se obstaculiza mientras que se mantenga la actividad del compuesto. Además, p y s se seleccionan de manera que, para el tratamiento de una enfermedad o afección, esté presente un número suficiente de grupos Z, Q, T y/o Y. Por ejemplo, el número de grupos aniónicos no es tan grande que se inhiba el cruce de una barrera anatómica tal como una membrana celular, o la entrada a través de una barrera fisiológica, tal como la barrera hematoencefálica, en situaciones en las que se desean tales propiedades. Los números enteros para p y s son 1 a 2. Con frecuencia, el grupo conector T es de la fórmula -(CD¹D²)_n-, en la que n es un número entero de 1 a 25. C es carbono y D¹ y D² son independientemente átomos de hidrógeno o halógeno; grupos alifáticos, aromáticos o heterocíclicos; alquilamino o arilamino, o alquiloglioxi o ariloglioxi.

55 En una realización, un grupo de compuestos terapéuticos incluye aquellos en los que, dentro del alcance de las definiciones de la reivindicación 1 anexa, R¹ es un grupo alquilo, alquenilo o arilo; k es uno; Z es un grupo carbonilo; R² es un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo; m es cero, p y s son 1; T es un grupo alquieno e Y es SO₃X, sendo X H⁺ u otro catión tal como cationes de metales alcalinos. En otra realización, un grupo de compuestos terapéuticos incluye aquellos en los que, dentro del alcance o las definiciones de la reivindicación 1 anexa, R¹ y R² son grupos alquilo, alquenilo o arilo; o R¹ y R² se juntan para formar un grupo alquieno; k y m son, cada uno, 1; Z y Q son grupos carbonilo; p y s son 1; T es un grupo alquieno e Y es SO₃X, sendo X H⁺ u otro catión tal como cationes de metales alcalinos.

65 En otra realización, un grupo de compuestos terapéuticos incluye aquellos en los que, dentro del alcance de las definiciones de la reivindicación 1 anexa, R¹ es un grupo alquilo, alquenilo o arilo; k y m son cero; R³ hidrógeno o un grupo alquilo; p y s son, cada uno, 1; T es un grupo alquieno e Y es SO₃X, sendo X H⁺ u otro catión tal como cationes de metales alcalinos. En otra realización, un grupo de compuestos terapéuticos incluye aquellos en los que,

ES 2 331 905 T3

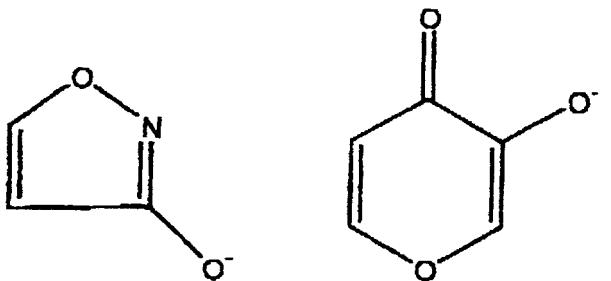
dentro del alcance de las definiciones de la reivindicación 1 anexa, R¹ y R² son grupos alquilo, alquenilo o arilo; o R¹ y R² se juntan para formar un grupo alquieno; k y m son cero, p y s son, cada uno, 1; T es un grupo alquieno e Y es SO₃X, siendo X H⁺ u otro catión tal como cationes de metales alcalinos.

- 5 Sin que ello signifique una restricción por razones teóricas, se cree que en condiciones fisiológicas es preferible que el nitrógeno del compuesto terapéutico se convierta en una sal amónica. Teniendo en cuenta esto, se cree que nitrógenos acetilados son hidrolizados por una enzima y convertidos en grupos amónicos cargados positivamente en condiciones fisiológicas normales. Análogamente, en los casos en que el nitrógeno de amina está dialquilado, se cree que el nitrógeno se convierte en un grupo de amonio por actividad enzimática. Se cree además que estas conversiones permiten mejor que los compuestos terapéuticos de la invención interaccionen con agregados de amiloide y/o precursores de amiloide, por ejemplo, cruce de la barrera de sangre- cerebro, cruce de membranas, solubilización, etc en condiciones fisiológicas *in vivo*.
- 10

A los fines de la presente invención, el grupo aniónico es un grupo sulfonato. Los bioésteres abarcan tanto los equivalentes bioisósteros clásicos como los equivalentes bioisósteros no clásicos. Los bioisósteros clásicos y no clásicos de grupos sulfato y sulfonato son conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, Silverman, R.B., *The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action*, Academic Press, Inc., San Diego, CA, 1992, págs. 19-23). Consecuentemente, un compuesto terapéutico puede comprender como mínimo un grupo aniónico, incluidos sulfonatos, sulfatos, sulfamatos, fosfonatos, fosfatos, carboxilatos y grupos heterocíclicos de las siguientes fórmulas:

20

25



30

35

40

45

50

55

60

65

Un compuesto terapéutico de la invención típicamente comprende además un catión asociado (esto es, X en la fórmula (i)). Los grupos catiónicos incluyen átomos y restos cargados positivamente. Si el grupo catiónico es hidrógeno, H⁺, el compuesto se considera un ácido, por ejemplo, ácido 3-acetilamino-1-propanosulfónico. Si el hidrógeno está reemplazado por un metal o su equivalente, el compuesto es una sal del ácido. Las sales farmacéuticamente aceptables del compuesto terapéutico están dentro del alcance de la invención. Por ejemplo, X puede ser un metal alcalino o alcalinotérreo farmacéuticamente aceptable, un ion asociado policationico o amonio. Una sal farmacéuticamente aceptable preferida es una sal sódica, pero también se contemplan otras sales dentro de la gama de las farmacéuticamente aceptables.

Dentro del compuesto terapéutico, el(s) grupo(s) Y está(n) unido(s) covalentemente a un grupo conector T. El grupo conector T es de la fórmula (CD¹D²)_n-, en la que n es un número entero de 1 a 25, C es carbono y D¹ y D² son, independientemente, átomos de hidrógeno o halógeno; grupos alifáticos, aromáticos o heterocíclicos; alquilamino o arilamino; o alquiloxy o ariloxi.

El término "grupo alifático" incluye grupos orgánicos caracterizados por cadenas lineales o ramificadas que típicamente tienen entre 1 y 22 átomos de carbono. Entre los grupos alifáticos están incluidos grupos alquilo, grupos alquenilo y grupos alquinilo. En estructuras complejas, las cadenas pueden ser lineales o ramificadas o reticuladas. Entre los grupos alquilo están incluidos hidrocarburos saturados que tienen uno o varios átomos de carbono, incluidos grupos alquilo de cadena lineal y grupos alquilo de cadena ramificada. Tales restos de hidrocarburo pueden estar sustituidos en uno o varios carbonos con, por ejemplo, un halógeno, un hidroxilo, un tiol, un amino, un alcoxi, un alquilcarbonilo o un grupo nitro. A no ser que se especifique de otra forma el número de carbonos, el término "alifático inferior", tal como se usa aquí, significa un grupo alifático, según lo definido antes (por ejemplo, alquilo inferior, alquenilo inferior, alquinilo inferior) pero que tiene de uno a seis átomos de carbono. Son representativos de tales grupos alifáticos inferior, por ejemplo, de alquilo inferior, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, 2-cloropropilo, n-butilo, s-butilo, 2-aminobutilo, isobutilo, t-butilo, 3-tiofenilo y similares. Tal como se usa aquí, el término "amino" significa un -NH₂; el término "nitro" significa -NO₂; el término "halógeno" designa -F, -Cl, -Br o -I; el término "tiol" significa un -SH, y el término "hidroxilo" significa -OH. Así, el término "alquilamino", tal como se usa aquí, significa un -NHR en el que R es un grupo alquilo según se ha definido antes. El término "alquiltio" se refiere a un -SR, siendo R un grupo alquilo según se ha definido antes. El término "alquilcarboxilo" significa un -CO₂R en el que R es un grupo alquilo según se ha definido antes. El término "alcoxi", según se usa aquí, significa un -OR, en el que R es un grupo alquilo según se ha definido antes. Entre los ejemplos representativos de grupos alcoxi figuran metoxi, etoxi, propoxi, t-butoxi y similares. Los términos "alquenilo" y "alquinilo" es refieren a grupos alifáticos insaturados análogos a los alquilos, pero que contienen como mínimo un doble enlace o triple enlace, respectivamente.

ES 2 331 905 T3

El término "grupo alicíclico" incluye estructuras de anillo cerrado de tres o más átomos de carbono. Los grupos alicíclicos incluyen las cicloparafinas o naftenos que son hidrocarburos cílicos saturados, las cicloolefinas que son hidrocarburos cílicos insaturados con dos o más dobles enlaces, y los cicloacetilenos que tienen un triple enlace. No incluyen grupos aromáticos. Entre los ejemplos de cicloparafinas están incluidos ciclopropano, ciclohexano y ciclopentano.

5 Entre los ejemplos de cicloolefinas están incluidos ciclopentadieno y ciclooctatetraeno. Los grupos alicíclicos incluyen también estructuras de anillo condensado y grupos alicíclicos sustituidos tales como grupos alicíclicos sustituidos con alquilo,. En el caso de los alicíclicos, tales sustituyentes pueden comprender además un alquilo inferior, un alquenilo inferior, un alcoxi inferior, un alquiltio inferior, un alquilamino inferior, un alquilcarboxilo inferior, un nitrógeno, un hidroxilo, -CF₃, -CN o similares.

10 El término "grupo heterocíclico" incluye estructuras de anillo cerrado en las que uno o más de los átomos de anillo no es(son) de carbono, son, por ejemplo, de nitrógeno u oxígeno. Los grupos heterocíclicos pueden ser saturados o insaturados, y grupos heterocíclicos tales como pirrol y furano pueden tener carácter aromático. Entre ellos están incluidas estructuras saturadas tales como quinolina e isoquinolina. Entre otros ejemplos de grupos heterocíclicos 15 están incluidos piridina y purina. Los grupos heterocíclicos también pueden estar sustituidos en uno o varios átomos constitutivos con, por ejemplo, un halógeno, un alquilo inferior, un alquenilo inferior, un alcoxi inferior, un alquiltio inferior, un alquilamino inferior, un alquilcarboxilo inferior, un nitrógeno, un hidroxilo, -CF₃, -CN o similar.

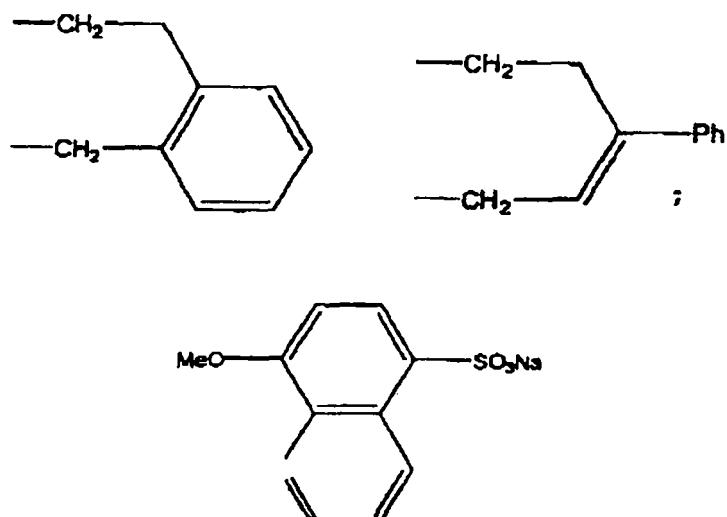
20 El término "grupo aromático" incluye hidrocarburos cílicos insaturados que contienen uno o varios anillos. Los grupos aromáticos incluyen grupos de un solo anillo de 5 o 6 miembros que pueden incluir de cero a cuatro heteroátomos, por ejemplo, benceno, pirrol, furano, tiofeno, imidazol, oxazol, tiazol, pirazol, piridina, pirazina, piridazina y pirimidina, y similares. El anillo aromático puede estar sustituido en una o varias posiciones del anillo con, por ejemplo, un halógeno, un alquilo inferior, un alquenilo inferior, un alcoxi inferior, un alquiltio inferior, un alquilamino inferior, un alquilcarboxilo inferior, un nitrógeno, un hidroxilo, -CF₃, -CN o similar.

25 El compuesto terapéutico de la invención se puede administrar en un vehículo farmacéuticamente aceptable. Tal como se usa aquí, el término "farmacéuticamente aceptable" incluye cualesquier disolventes, medios dispersivos, revestimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardadores de la absorción, y similares, que son compatibles con la actividad del compuesto y que son fisiológicamente aceptables para el sujeto. Un ejemplo de vehículo farmacéuticamente aceptable es solución salina fisiológica tamponada (NaCl 0,15 M). El uso de tales medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas es bien conocido en la técnica. Excepto en la medida en que cualquier medio o agente convencional sea incompatible con el compuesto terapéutico, se contempla su uso en las composiciones adecuadas para la administración terapéutica. En las composiciones se pueden incorporar también compuestos activos suplementarios.

35 El compuesto terapéutico administrado a un sujeto es de la fórmula (I) dada antes.

En una realización, "k" y "m" son, ambos, 0, y R¹ y R², conjuntamente con el nitrógeno al que están unidos forman un heterociclo sustituido o no sustituido, incluyendo los grupos preferidos

40



50 Entre los compuestos terapéuticos preferidos están incluidos ácido 3-(3-hidroxi-1-propilamino)-1-propanosulfónico (LVX), 4-fenil-1-(3'-sulfopropil)-1,2,3,6-tetrahidropiridina (LVXV) y ácido 3-dimetilamino-1-propanosulfónico (LVXVII), y sus sales farmacéuticamente aceptables.

55

ES 2 331 905 T3

En una realización, el grupo de compuestos terapéuticos preferidos incluye aquellos en los que, dentro del alcance de las definiciones de la reivindicación 1 anexa, R¹ es un grupo alquilo, alquieno o arilo; k es uno; Z es un grupo carbonilo; R² es un átomo de hidrógeno o un grupo alquieno; m es cero, p y s son 1; T es un grupo alquieno e Y es SO₃X, siendo X H⁺ u otro catión tal como cationes de metales alcalinos. Entre los ejemplos específicos están incluidos compuestos mono-N-acilados (por ejemplo, R¹ es un grupo alquilo, alquieno o arilo, R² es un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo) tal como ácido 3-acetilamino-1-propanosulfónico (VIII), ácido 2-acrilamido-2-metil-1-propanosulfónico (XXI) y ácido 3-benzoilamino-1-propanosulfónico (X). En otra realización, un grupo de compuestos terapéuticos incluye aquellos en los que, dentro del alcance de las definiciones de la reivindicación 1 anexa, R¹ y R² son grupos alquilo, alquieno o arilo; o R¹ y R² se juntan para formar un grupo alquieno; k y m son, cada uno, 1; 5 Z y Q son, cada uno independientemente, un grupo carbonilo o un grupo sulfonilo, p y s son 1; T es un grupo alquieno e Y es SO₃X, siendo X H⁺ u otro catión tal como cationes de metales alcalinos.. Entre los ejemplos específicos están incluidos compuestos di-N-acilados, (incluidos compuestos heterocíclicos; por ejemplo, R¹ y R² se han juntado 10 formando un grupo alquieno) tal como ácido 3-ftalimido-1-propanosulfónico (XXIII), la sal sódica de N-(3-sulfopropil)sacarina (XXV) y el ácido 4-ftalimido-1-butanopsulfónico (XIX). En una realización ventajosa, T es propileno o 15 butileno.

En una realización, un grupo de compuestos terapéuticos incluye aquellos en los que, dentro del alcance de las definiciones de la reivindicación 1 anexa, R¹ es un grupo alquilo, alquieno o arilo; k y m son cero, R² es hidrógeno o un grupo alquilo, o R¹ y R² se juntan para formar un grupo alquieno o un grupo alquenileno, p y s son, cada uno, 1, T es 20 un grupo alquieno e Y es SO₃X, siendo X H⁺ u otro catión tal como cationes de metales alcalinos. Entre los ejemplos específicos están incluidos compuestos mono-N-acilados o arilados tales como la sal sódica del ácido 3-fenilamino-1-propanosulfónico (XIII), el ácido 3-(4-piridilamino)-1-propanosulfónico (XII), el ácido 3-(bencilamino)-1-propanosulfónico (XV), 2-desoxi-2-(3-sulfopropil)amino-d-glucosa (XX), ácido 1-fenil-2,3-dimetil-4-metilamino-pirazolón-5-N-metilsulfónico (XXVII), ácido 3-[(-3,5-dimetil-1-adamantil)-amino]-1-propanosulfónico (XXIV), ácido 3-(2-hidroxietil)amino-1-propanosulfónico (XXX), ácido 3-(3-hidroxi-1-propil)amino-1-propanosulfónico (XXXII), ácido (-)-3-[(R)-2-hidroxi-1-propil]amino-1-propanosulfónico (XXXIV), ácido 3-[(d,l)-1-hidroxi-2-propil]-1-propanosulfónico (XXXV), ácido 3-(4-hidroxi-1-butil)amino-1-propanosulfónico (XXXVI), ácido 3-(5-hidroxi-1-pemil)amino-1-propanosulfónico (XXXI), ácido 3-(6-hidroxi-1-hexil)amino-1-propanosulfónico (XXXIII), ácido 3-(4-hidroxi-fenil)amino-1-propanosulfónico (XLVI), ácido (+)-3-[(S)-2-hidroxi-1-propil]amino-1-propanosulfónico (XXXVII), ácido 30 (+)-3-[(S)-1-hidroxi-2-propil]amino-1-propanosulfónico (XXXIX), ácido (-)-3-[(R)-1-hidroxi-2-propil]amino-1-propanosulfónico (XL), ácido (+)-3-[(S)-1-hidroxi-2-butil]amino-1-propano-sulfónico (XLIII), ácido (-)-3-[(R)-1-hidroxi-2-butil]amino-1-propanosulfónico (XLIV), ácido 3-[(dl)-5-hidroxi-2-pentil]amino-1-propanosulfónico (XXXVIII), ácido 3-[(dl)-6-hidroxi-2-hexil]amino-1-propanosulfónico (XLI), ácido 3-(1-hidroximetil-1-ciclopentil)amino-1-propanosulfónico (XLII), ácido 3-amilamino-1-propanosulfónico (XLV), ácido 3-hexilamino-1-propanosulfónico (XL-35 VII), ácido 3-heptilamino-1-propanosulfónico (XLVIII), ácido 3-octilamino-1-propanosulfónico (XLIV), ácido 3-nonoilamino-1-propanosulfónico (L), ácido 3-decilamino-1-propanosulfónico (LI), ácido 3-undecilamino-1-propanosulfónico (LII), ácido 3-dodecilamino-1-propanosulfónico (LIII), ácido 3-tridecilamino-1-propanosulfónico (LIV), ácido 3-tetradecilamino-1-propanosulfónico (LV), ácido 3-hexadecilamino-1-propanosulfónico (LVI), ácido 3-octadecilamino-1-propanosulfónico (LVII), hidróxido de dimetil(3-sulfopropil)-tetradecilamonio, sal interna (LVXVIII) y 40 2-(3-sulfobutil)-1,2,3,4-tetrahidro-9H-pirido[3,4]indol, sal sódica (LVXIX). En otra realización, un grupo de compuestos terapéuticos incluye aquellos en los que, dentro del alcance de las definiciones de la reivindicación 1 anexa, R¹ y R² son grupos alquilo, alquenilo o arilo, o R¹ y R² se juntan para formar un grupo alquieno, k y m son cero, p y s son, cada uno, 1, T es un grupo alquieno, Y es SO₃X, siendo X H⁺ u otro catión tal como cationes de metales alcalinos.. Los ejemplos específicos incluyen compuestos di-N-alquilados (incluidos compuestos heterocíclicos, por ejemplo, R¹ y R² son 45 alquieno) tales como ácido 3-dimetilamino-1-propanosulfónico (XI), ácido 4-(1-piperidinil)-1-etanosulfónico (XIV), ácido 3-[1-(1,2,3,6-tetrahidropropil)]-1-propanosulfónico (XVI). ácido 3-[2-(1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinil)]-1-propanosulfónico (XVII), ácido 3-[2-(6,7-dimetoxi-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinil)]-1-propanosulfónico (I), ácido 3-[1-(1,2,3,4-tetrahidroquinolinil)]-propanosulfónico (III), 2-(3-sulfopropil)-1,2,3,4-tetrahidro-9H-pirido[3,4-b]-indol, sal sódica (V), ácido 3-(1-indolinil)-1-propanosulfónico (VII), ácido 3-[2-(6-metoxi-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinil)]-1-propanosulfónico (IX), ácido 3-[2-(isoindolinil-1-propanosulfónico (II), hidróxido de 2-(3-sulfopropil)-(S)-nicotinio, 50 sal interna (IV), ácido 3-(4-bencil-1-piperidinil)-1-propanosulfónico (VI), ácido 3-[2-(1,2,3,4,5,6,7-octahidroisoquinolinil)]-1-propanosulfónico (XVIII) y ácido [2-(1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinil)]-1-butanosulfónico (XXVI).

R¹ puede ser un grupo alquilo inferior, R² un grupo alquilo inferior y T un grupo alquieno inferior. Preferiblemente, 55 R¹ es un grupo metilo, etilo o propilo, R² es un grupo metilo, etilo o propilo y T es un grupo etileno, propileno o butileno.

El grupo conector puede estar sustituido, por ejemplo con uno o varios grupos amino, nitro, halógeno tiol o hidroxi.

Otro aspecto de la invención incluye composiciones farmacéuticas para tratar la amiloidosis. Los compuestos terapéuticos de la invención, según se han descrito aquí antes, se pueden incorporar en una composición farmacéutica en una cantidad eficaz para modular la amiloidosis en un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Los profármacos se convierten *in vivo* en los compuestos terapéuticos de la invención (véase, por ejemplo, R.B. 65 Silverman, 1992, *The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action*, Academic Press, capít. 8). Tales profármacos se pueden usar para alterar la biodistribución (por ejemplo, para que los compuestos que típicamente no cruzarían la barrera de sangre-cerebro crucen la barrera de sangre-cerebro) o la farmacocinética del compuesto terapéutico. Por ejemplo, un sulfonato se puede esterificar, por ejemplo, con un grupo metilo o un grupo fenilo para que resulte un éster

ES 2 331 905 T3

sulfonato. Cuando el éster sulfonato se administra a un sujeto, el éster se escinde, enzimática o no enzimáticamente, por reducción o hidrolíticamente, para revelar el grupo aniónico. Este éster se puede ciclar, por ejemplo, una sulfona cíclica, o dos o más restos aniónicos se pueden esterificar mediante un grupo conector. En una realización preferente, el profármaco es una sulfona cíclica. Un grupo aniónico se puede esterificar con restos (por ejemplo, ésteres de acilo-ximetilo) que se escinden para revelar un compuesto intermedio que posteriormente se descompone para que resulte el compuesto activo. En otra realización, el profármaco es una forma reducida de un sulfonato, por ejemplo un tiol, que se oxida *in vivo* resultando el compuesto terapéutico. Además, se puede esterificar un resto aniónico a un grupo que se transporta activamente *in vivo*, o que es incorporado selectivamente por los órganos diana. El éster se puede seleccionar para que los restos terapéuticos apunten específicamente a órganos diana particulares, como se describe 10 más adelante más detalladamente.

Dentro del compuesto terapéutico, el(los) grupo(s) Y está(n) unido(s) por covalencia al grupo conector T. El grupo conector es de la fórmula -(CD¹D²)_n-, en la que n es un número entero de 1 a 25, C es carbono, y D¹ y D² son, independientemente, átomos de hidrógeno o halógeno; grupos alifáticos, aromáticos o heterocílicos; alquilamino o 15 arilamino; o alquiloxy o ariloxi.

La agregación de amiloide en un sujeto se puede modular administrando a un sujeto un compuesto terapéutico de la invención., esto es, *in vivo*. El término “sujeto” incluye organismos vivos en los que se puede producir amiloidosis. Entre los ejemplos de sujetos están seres humanos, monos, vacas, cabras, perros, gatos, ratones, ratas y sus especies 20 transgénicas. La administración de las composiciones de la presente invención a un sujeto a tratar se puede realizar usando procedimientos conocidos, a dosis y durante períodos de tiempo eficaces para modular la agregación de amiloide en el sujeto. La cantidad eficaz del compuesto terapéutico necesaria para conseguir un efecto terapéutico puede variar de acuerdo con factores tales como la cantidad de amiloide ya depositada en el sitio clínico en el sujeto, la edad, el sexo y el peso del sujeto y la capacidad del compuesto terapéutico de modular la agregación de amiloide en el sujeto. 25 Los regímenes de dosificación se pueden ajustar para lograr la respuesta terapéutica óptima. Por ejemplo, se pueden administrar diariamente varias dosis o la dosis se puede reducir proporcionalmente según lo indiquen las exigencias de la situación terapéutica. Un ejemplo no limitativo de un intervalo de dosificación eficaz para un compuesto terapéutico de la invención (por ejemplo, ácido 3-acetilamino-1-propilsulfónico, la sal sódica) es de entre 5 y 500 mg/kg 30 de peso corporal por dia. En una composición acuosa, las concentraciones preferidas del compuesto activo (esto es, el compuesto terapéutico que puede modular la agregación de amiloide) son de entre 5 y 500 mM, más preferiblemente de entre 10 y 100 mM y, aún más preferiblemente, de entre 20 y 50 mM. Para derivados de homotaurina N-acetilada, las concentraciones acuosas particularmente preferidas son de entre 10 y 20 mM.

Los compuestos terapéuticos de la invención son eficaces cuando se administran oralmente. Consecuentemente, una vía de administración preferente es la administración oral. Alternativamente, el compuesto activo se puede administrar por otras vías adecuadas tales como administración subcutánea, intravenosa, intraperitoneal, etc.(por ejemplo, por inyección). Dependiendo de la vía de administración, el compuesto activo se puede revestir con un material para proteger el compuesto de la acción de los ácidos y otras condiciones naturales que puedan inactivar el compuesto.

40 Los compuestos de la invención se pueden formular para asegurar una distribución apropiada *in vivo*. Por ejemplo, la barrera hematoencefálica (HE) excluye muchos compuestos altamente hidrófilos. Para tener la seguridad de que los compuestos terapéuticos de la invención cruzan la barrera HE, se pueden formular, por ejemplo, en liposomas. Para procedimientos de preparación de liposomas véanse, por ejemplo, las patentes U.S. nº 4.522.811, nº. 5.374.548 45 y nº. 5.399.331. Los liposomas pueden comprender uno o varios restos que se transportan selectivamente en células u órganos específicos (“restos para dianas”), proporcionándose así un suministro de fármaco para la diana (véase, por ejemplo, V.V. Ranade (1989), J. Clin. Pharmacol. 29:685). Entre los restos para dianas están incluidos folato o biotina (véase, por ejemplo, patente U.S. nº. 5.416.016, expedida a Low y otros), manosidas (Umezawa y otros (1988) Biochem. Biophys. Res. Commun. 153:1038); anticuerpos (P.G. Bloeman y otros, (1995) FEBS Lett. 357:140; M. Owais y otros (1995) Antimicrob. Agents Chemother. 39:180); receptor de proteína A tensioactivo.(Briscoe y otros 50 (1995) Am. J. Physiol. 1233:134); gp 120 (Schreier y otros (1994) J. Biol., Chem. 269:9090); véase también K. Keinanen; M.L. Laukkonen (1994) FEBS. Lett. 346:123; J.J. Killion; I.J. Fidler (1994) Immunomethods 4:273. En una realización preferente, los compuestos terapéuticos de la invención se formulan en liposomas; en una realización más preferida, los liposomas incluyen un resto que apunta a dianas.

55 Para administrar el compuesto terapéutico por administración no parenteral, puede ser necesario revestir o coadministrar el compuesto con un material para evitar su inactivación. Por ejemplo, el compuesto terapéutico se puede administrar a un sujeto en un vehículo apropiado, por ejemplo, liposomas, o un diluyente. Entre los diluyentes farmacéuticamente aceptables están solución fisiológica salina y soluciones tampón. Los liposomas incluyen emulsiones de agua-en aceite-en agua así como liposomas convencionales (Strejan y otros (1984) J. Neuroimmunol. 7:27).

El compuesto terapéutico se puede administrar también parenteralmente, intraperitonealmente, intraespinalmente o intracerebralmente. Las dispersiones se pueden preparar en glicerol, polietilenglicoles líquidos y mezclas de ellos, y en aceites. En condiciones ordinarias de almacenamiento y uso, estos preparados pueden contener un conservante para impedir el crecimiento de microorganismos. Las composiciones farmacéuticas adecuadas para uso inyectable incluyen las soluciones acuosas estériles (solubles en agua) o dispersiones y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables estériles. En todos los casos, la composición debe ser estéril y debe ser fluida en cuanto a que pueda impelerla fácilmente la jeringuilla. Debe ser estable en las condiciones de preparación y alma-

cenamiento y se debe proteger frente a la acción contaminante de microorganismos tales como bacterias y hongos. El vehículo puede ser un medio disolvente o dispersivo que contiene, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido, y similares), mezclas adecuadas de ellos y aceites vegetales. Se puede mantener la fluidez apropiada, por ejemplo, usando un revestimiento tal como lecitina, manteniendo el tamaño de partícula requerido en el caso de dispersiones y usando tensioactivos. La prevención de la acción de microorganismos se puede lograr con diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido ascórbico, timerosal y similares. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, cloruro sódico o polialcoholes tales como manitol y sorbitol. Se puede lograr una absorción prolongada de las composiciones inyectables incluyendo en la composición un agente que demore la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio o gelatina.

Las soluciones estériles inyectables se pueden preparar incorporando el compuesto terapéutico en la cantidad requerida en un disolvente apropiado con uno o una combinación de los ingredientes enumerados antes, a lo que sigue, según se requiera, la esterilización. Generalmente, las dispersiones se preparan incorporando el compuesto terapéutico en un vehículo estéril que contiene un medio dispersivo básico y los otros ingredientes requeridos de los enumerados antes. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones estériles inyectables, los procedimientos de preparación preferidos son el secado en vacío y la liofilización, que da un polvo del ingrediente activo (esto es, el compuesto terapéutico) más cualquier ingrediente adicional que se requiera a partir de una solución de él estéril filtrada previamente.

El compuesto terapéutico se puede administrar oralmente, por ejemplo, con un diluyente inerte o un vehículo comestible asimilable. El compuesto terapéutico y otros ingredientes también se pueden incluir en una cápsula de gelatina dura o blanda, como comprimidos, o incorporar directamente en la dieta del sujeto. Para administración terapéutica oral, el compuesto terapéutico se puede incorporar con excipientes y usar en forma de comprimidos ingeribles, comprimidos bucales, trociscos, cápsulas, elixires, suspensiones, jarabes, obleas, y similares. Obviamente, el porcentaje del compuesto terapéutico en las composiciones y preparados puede variar. La cantidad del compuesto terapéutico en tales composiciones terapéuticamente útiles es tal que se obtendrá una dosificación adecuada.

Es especialmente ventajoso formular composiciones parenterales en forma de unidosis para facilidad de administración y uniformidad de dosificación. Forma de unidosis, tal como se usa aquí, se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas para dosificaciones unitarias para los sujetos a tratar, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada del compuesto terapéutico calculada para producir el efecto terapéutico deseado en combinación con el vehículo farmacéutico requerido. Esta especificación de formas de unidosis de la invención está dictada por y depende de (a) las características singulares del compuesto terapéutico y el efecto de la terapia particular a alcanzar y (b) las limitaciones inherentes en la técnica de componer un compuesto terapéutico así para el tratamiento de la agregación de amiloide en sujetos.

Los compuestos activos se administran a una dosificación terapéuticamente eficaz suficiente para modular la agregación de amiloide en un sujeto. Una "dosificación terapéuticamente eficaz" preferiblemente modula la agregación de amiloide en aproximadamente 20% como mínimo, más preferiblemente en aproximadamente 40% como mínimo, y todavía más preferiblemente en aproximadamente 80% como mínimo en relación a sujetos no tratados. La capacidad de un compuesto de modular la agregación de amiloide se puede evaluar en sistemas de modelos que pueden pronosticar eficacia en la modulación de la solubilidad y agregación de amiloide en enfermedades humanas, tales como sistemas de modelos de animales conocidos en la técnica, o por procedimientos *in vitro*, incluidos el ensayo T de tioflavina, dicroísmo circular y microscopía electrónica. Se pueden usar otros procedimientos *in vitro* para determinar la capacidad de un compuesto para unirse a la proteína amiloidogénica soluble y mantenerla soluble, tales como diálisis en equilibrio, ensayos de RMN y solubilización. Los procedimientos en los que se controla o determina la adherencia de una proteína soluble o no soluble (por ejemplo, fibrilar) a la superficie celular incluyen la inmunodetección de la proteína en la superficie celular, microscopía óptica con luz, microscopía electrónica y citometría de flujo.

El compuesto de la invención es útil para tratar la amiloidosis asociada con cualquier enfermedad en la que se presenta agregación de amiloide. Clínicamente, la amiloidosis puede ser primaria, secundaria, familiar o aislada. Los amiloides se han categorizado por el tipo de proteína contenida en el amiloide. Son ejemplos no limitativos de amiloides que se pueden modular, identificados por la proteína del amiloide, los siguientes (con la enfermedad asociada entre paréntesis después de la proteína amiloidogénica): β -amiloide (enfermedad de Alzheimer, síndrome de Down, hemorragia cerebral hereditaria amiloidosis [Holandesa]; amiloide A (reactiva [secundaria], fiebre mediterránea familiar, nefropatía de amiloide familiar con urticaria y sordera [síndrome de Muckle-Wells]; cadena L de amiloidosis κ o cadena L de amiloidosis λ idiopática [primaria], asociada a mieloma, asociada a macroglobulinemia); Ab2M (hemodiálisis crónica); ATTR (polineuropatía de amiloide familiar [Portuguesa, Japonesa, Sueca], cardiomiopatía de amiloide familiar [Danesa], amiloide cardíaco aislado, amiloidosis senil sistémica); A1APP o amilina (diabetes del adulto, insulinoma); factor naturético atrial (amiloide atrial aislado); procalcitonina (carcinoma medular del tiroides); gelsolina (amiloidosis familiar [Finlandesa]); cistatina C (hemorragia cerebral hereditaria con amiloidosis [Islandesa]); AApoA-I (polineuropatía amiloidótica familiar [Iowa]); ApoA-II (senescencia acelerada en ratones); amiloide asociado a fibrinógeno; amiloide asociado a lisozima; y AScr o PrP-27 (tembladera del cordero, enfermedad de Creutzfeldt-Jacob, síndrome de Gerstmann-Straussler-Scheinker, encefalitis espongiforme bovina, y TSE).

ES 2 331 905 T3

La capacidad de un compuesto de modular la agregación de amiloide se puede evaluar en un sistema de modelo animal que puede pronosticar eficacia en la inhibición de la agregación de amiloide en enfermedades humanas. La capacidad de un compuesto de modular la agregación de amiloide se puede evaluar también examinando la capacidad de un compuesto de inhibir la agregación de amiloide *in vitro* o *ex vivo*, por ejemplo, usando un ensayo ELISA. El efecto del compuesto sobre la estructura secundaria del amiloide se puede determinar además por dicroísmo circular (DC), espectroscopía de infrarrojos (IR) y microscopía electrónica.

El DC y la espectroscopía de IR son técnicas particularmente útiles porque la información obtenida es una medida directa de la capacidad de un compuesto de ensayo para mantener las proteínas de amiloide en forma soluble no β -lámina determinando el efecto estructural de un compuesto sobre el plegado de la proteína del amiloide y la formación de fibrillas. Esto se diferencia de procedimientos previamente conocidos que miden el tráfico celular de precursores de proteína de amiloide o las interacciones entre proteínas de amiloide y de la matriz extracelular, proporcionando sólo evidencia indirecta de una actividad potencia inhibidora de amiloide. Debe saberse además que el DC y la espectroscopía de IR también pueden detectar compuestos que causan aumento en, por ejemplo, el plegado de la β -lámina de proteína de amiloide y estabilizan por ello la formación de fibrillas de amiloide. La microscopía electrónica se puede usar para ver directamente la capacidad de un compuesto de mantener la proteína de amiloide en estado no fibrilar soluble.

La agregación de amiloide es un proceso en multietapas. Consecuentemente, un agente útil para tratar la amiloidosis tiene muchos modos potenciales de acción. Un agente que inhibe la agregación de amiloide y el efecto tóxico celular relacionado podría actuar por una o varias de las vías siguientes, que se muestran a modo de ilustración y no limitativo:

1. Inhibición o demora del ensamblaje da la proteína u oligomerización en solución.
2. Inhibición o demora del ensamblajes de amiloide u oligómeros en estructuras de β -lámina solubles y/o agregados.
3. Destrucción/disolución/modificación de fibrillas insolubles de amiloide y/o agregados.
4. Inhibición de la unión de proteína de amiloide soluble o fibrilar a la superficie de la células, que conduce a un proceso de activación celular o toxicidad.

Las categorías 1 y 2 corresponden a la evitación de la formación de agregados de amiloide (mostrando mantenimiento o disminución de agregados de amiloide) y la categoría 3 corresponde a la eliminación o modificación de agregados ya formados (eliminación o reducción de agregados de amiloide existentes). La categoría 4 se centra en la inhibición de la interacción de proteína de amiloide en la superficie celular.

La invención se ilustra más con los ejemplos siguientes que no debe interpretarse que limitan la presente invención.

Ejemplo 1

Se realizó un ensayo de solubilidad usando detección de Bradford para demostrar la actividad de ciertos compuestos terapéuticos en la prevención o inhibición de la formación de fibrillas $A\beta$ de acuerdo con la presente descripción. Todos los péptidos se sintetizaron usando química Fmoc estándar que se realizó junto con el Biotechnologie Centre, Universidad de Toronto, y se purificaron por HPLC. Alternativamente, los péptidos se pueden obtener también a partir de varias fuentes comerciales (por ejemplo, BaChem y Peninsula Laboratories, California).

El ensayo se realizó como sigue: Se prepararon soluciones madre de péptido $A\beta42$ o $A\beta40$ a 5 mg/ml en agua destilada, pH 7; y soluciones madre de cada compuesto a 2 mg/ml en agua destilada, pH 7.

1. Se mezclan 5 μ l (25 μ g) de solución madre de $A\beta$ y 12,5 μ l (25 μ g) de solución madre de los compuestos de ensayo en 1000 μ l de tampón de fosfato 10 mM, pH 7. Esto proporciona una relación molar 1:10 de péptido:compuesto suponiendo un peso molecular general de 400 daltons para los compuestos de ensayo. Se prepararon muestras de péptido y compuesto. Estos contenían $A\beta$ solo usando ambas 25 μ g (5 μ l de solución madre de $A\beta$) y 50 μ g (10 μ l de solución madre de $A\beta$) para que resultara una curva patrón para cada tanda. Los controles de los compuestos de ensayo contenían 25 μ g de material (12,5 μ l de la solución madre). Todas las muestras se mezclaron en 1000 μ l de tampón de fosfato 10 mM, pH 7, a un volumen final de 1017,5 μ l.
2. Se incuban todas las muestras durante la noche a temperatura ambiente sin mezclar.
3. Se gira a 1000 rpm durante 10 min en una microcentrifugadora Eppendorf de mesa.
4. Se toman 800 μ l de material sobrenadante.

ES 2 331 905 T3

5. Se añaden 200 μ l de reactivo de Bradford (comprado a BioRad).
6. Se mezcla bien con vortex.
- 5 7. Se lee a DO 595 nm.

10 Los compuestos se caracterizaron como “moderadamente activos” si quedaba 25-50% de A β -42 en el material sobrenadante, “activos” si quedaba 50-75% de A β 42.

15

Activo	Muy activo
XVII	XXII (Compuesto comparativo) XXIX (Compuesto comparativo)

20 Ejemplo 2

Se realizó un ensayo ELISA de solubilidad para demostrar la actividad de ciertos compuestos terapéuticos en la prevención o inhibición de la formación de fibrillas de A β de acuerdo con la presente invención.

25 El ensayo se realizó como sigue. Se prepararon solución madre de péptido A β 42 en 5 mg/ml en agua destilada, pH 7; y soluciones madre de cada compuesto a 1 mg/ml en agua destilada, pH 7.

- 30 1. Se mezcló una muestra de 10 μ g de péptido con un compuesto en una relación molar de 1:10 de péptido:compuesto en 500 μ l de tampón de fosfato 10 mM. Las muestras de control contenían sólo péptido.
2. La mezcla se incubó durante la noche a temperatura ambiente sin agitación.
3. El material incubado se centrífugo a 14.000 rpm (microcentrifugadora Eppendorf) durante 5 min para separar el péptido soluble.
- 35 4. Se separaron 400 μ l partes alícuotas de material sobrenadante para el ensayo ELISA.

ELISA

- 40 1. Se cultivaron 100 μ l de muestras preparadas en microplacas NUNC de 96 pocillos (cada muestra se ensayó por triplicado).
2. La placa se incubó a 37°C durante 3 horas, luego a 4°C durante la noche.
- 45 3. Los pocillos se lavaron dos veces con 0,05% de Tween 20 en solución salina tamponada con fosfato.
4. Se usaron 250 μ l de polvo de leche desnatada al 3% en. PBS para bloquear la unión no específica a los pocillos (a 37°C durante 1,5 horas).
- 50 5. Los pocillos se lavaron con 0,05% de Tween 20/PBS dos veces.
6. Se añadió a cada pocillo una parte alícuota de 100 μ l de anticuerpo monoclonal anti A β de ratón (dilución final 1:100 en PBS) (comprado de DAKO, que reconoce los restos N-terminales 1-10). El anticuerpo se incubó luego a 37°C durante 2 horas.
- 55 7. Los pocillos se lavaron con 0,05% de Tween 20/PBS seis veces (5 min/cada lavado).
8. La observación se realizó usando 100 μ l de IgG (H+L) antirratón de cabra diluido conjugado con fosfatasa alcalina (comprada de BioRad) que se añadieron a cada pocillo. La placa se incubó a 37°C durante 1 hora.
- 60 9. Los pocillos se lavaron con 0,05% de Tween 20/PBS seis veces (5 min/cada lavado).
10. Se reveló el color de reacción usando 100 μ l de sustrato de fosfatasa alcalina (comprada de BioRad) que se añadió a cada pocillo.
- 65 11. Las cantidades relativas de A β se obtuvieron midiendo la DO de la muestra a 405 nm usando un lector de placas ELISA estándar.

ES 2 331 905 T3

Los compuestos se caracterizaron como “activo” si en el material sobrenadante quedaba 40-50% de A β 42.

5	Activo
10	XXIV
10	XXVIII (Compuesto comparativo)
	XXI

15 Ejemplo 3

Se realizó análisis de dicroísmo circular para demostrar la actividad de ciertos compuestos terapéuticos en la prevención o inhibición de la formación de fibrillas de A β 40 de acuerdo con la presente descripción determinando la presencia o ausencia de la conformación de β -lámina.

20 El ensayo se realiza como sigue:

Instrumento y parámetros

25 Instrumento: Espectriopolarímetro JASCO J-715

Celda/cubeta: Hellma Quartz (QS) con una longitud de paso de 1,0 mm

Temperatura ambiente

30 Intervalo de longitudes de onda: 250 nm-190 nm

Resolución; 0,1 nm

35 Anchura de banda: 1,0 nm

Tiempo de respuesta: 1 s

Velocidad de barrido: 20 nm/min

40 Número de acumulaciones/espectro: 5

Ensayo de preincubación

45 1. Se prepara una solución fresca 40 μ M de A β (1-40) en Tris 0,02 M, pH 7,4

2. Se prepara una solución 1 mM de compuestos de ensayo en Tris 0,02 M, pH 7,4.

50 3. Se combinan volúmenes iguales de las soluciones de A β (1-40) y de compuesto de ensayo.

4. Se incuban las mezclas durante 19 h

5. Se registra el espectro de DC usando los parámetros anteriores.

55 6. Se llevan nuevamente las muestras a la incubadora y se incuban durante 43 h.

7. Se registra el espectro de DC usando los parámetros anteriores.

60 La inhibición de ensamblaje/agregación de A β (1-40) se determina por comparación de la cantidad de la estructura β -lámina (que aparece a $\lambda = 218$ nm) obtenida en la muestra de control y la tratada en cada momento.

	Compuesto	Tiempo de incubación		
		0 h	19 h	43 h
	XVII	- ^{1,2}	+	++
5	III	-	+	++
10	VII	+	++	++
15	IX	+	+++	++
20	VIII	+	++++	+++
25	X	+	++	++
30	XXII (Compuesto comparativo)	- ¹	++++	++
35	LVXIII (Compuesto comparativo)	-	++++	-
40	LVXV	+	++++	++
45	LVXVI (Compuesto comparativo)	+	+++	++
50	XXXVIII	-	+++	++

1. Sin efecto en comparación con A β solo.
2. Clave: inhibición relativa en comparación con A β solo: +: 0-25%; ++: 25-50%; +++: 50-75%; +++; 75-100%.

Ejemplo 4

Se realizó análisis de DC como se ha indicado antes para demostrar la actividad de ciertas composiciones terapéuticas en la prevención o inhibición de la formación de fibrillas de IAPP

Compuesto	Actividad
XLIII	-
XXXVIII	Activo
XLII	Activo

Ejemplo 5

Resultados in vivo de amiloidosis secundaria

La exploración *in vivo* está basada en el modelo de ratón de amiloidosis aguda inducida por FIA-AgNO₃. El ensayo se realiza en un total de 6 días y cada compuesto se administra en la solución de bebida durante un período de 5 días.

Se identifican individualmente ratones hembra de la cepa CBA/J, se pesan y se asignan a un grupo de 5 animales después de un período de aclimatación. La amiloidosis se induce por inyección intravenosa de 100 µg de FIA (factor de intensificación de amiloide) concomitantemente con una inyección subcutánea de 0,5 ml de una solución al 2% de AgNO₃. Los animales del grupo de control negativo se inyectan sólo con solución salina.

24 horas después de la inducción de la amiloidosis, se añade el compuesto a una solución al 1% de sacarosa (vehículo) y se distribuye a los animales en botellas de bebida durante un período de 5 días. Los animales del grupo de control positivo sólo reciben el vehículo. En cada grupo, los animales tienen acceso a las soluciones de bebida ad libitum y el volumen se mide antes y después del uso para calcular el consumo de cada solución. Se recogen muestras de sangre para la determinación *in vitro* de los niveles en suero de plasma de amiloide A.

ES 2 331 905 T3

Los animales se sacrifican el día 6, se pesan, se extraen órganos tales como bazo y se fijan en alcohol ácido. Las muestras de bazo se procesan, se embeben en cera de parafina y se cortan en secciones. Las secciones de bazo de cada animal se tiñen con solución de Rojo de Congo y se evalúa la agregación de fibrillas esplénicas de amiloide A por análisis de imagen. Los resultados se expresan como % de fibrillas AA depositadas en la zona perifolicular esplénica.

5 Se analizan los datos en bruto.

Se compilan el peso corporal medio de los ratones y el consumo medio de la solución de bebida (ml). Se calcula la variación (%) del peso corporal antes de la inducción y al final del ensayo. Se calcula también el nivel de dosificación del compuesto consumido (mg/kg/día).

10 Se calculan usando el software de ordenador GraphPad Prism los valores de P para el ensayo t de Student y los ensayos de Mann-Whitney comparando un grupo con el control positivo.

15 La media de las lecturas del análisis de imagen de bazo importantes para un grupo se expresan como porcentaje de las lecturas medias del análisis de imagen para el grupo de control positivo (%CP).

Compuesto	Concentración, mg/ml	% CP	Actividad
II	6,25	87%	Moderada
	12,5	76%, 68%	
	25,0	69%	
II	3,5	113%	Moderada
	6,25	87%	
VII	12,5	54%, 67%, 56%	Moderada
	25,0	82%, 77%	
	6,25	94%, 91%	
	12,5	83%	Activa
	25,0	71%, 97%	
	IX	74%, 40%	
XVIII	6,25	64%, 38%	Activa
	12,5	74%	
	3,13	86%	Moderada
	6,26	94%	Moderada
XX	6,25	94%	Moderada
	12,5	69%	

50 La eficacia de los compuestos de la invención XXVII y XVII se muestra en las Figuras 11 y 12, que son histogramas que recogen los resultados usando el modelo animal indicado antes.

55 Ejemplo 6

Determinación de la velocidad de formación de fibrillas de amiloide por espectroscopía de tioflavina T

60 La tioflavina T (TT) se une a proteínas de amiloide en la formación de β -láminas, exhibiendo una fluorescencia amarilla de secciones del tejido y fibrillas *in vitro*. La detección de la fluorescencia de TT se puede usar como un ensayo sensible para la formación de fibrillas de amiloide en diferentes condiciones. Este ensayo se ha usado en experimentos para determinar los efectos de compuestos de la invención sobre la formación de fibrillas de amiloide.

65

ES 2 331 905 T3

Procedimiento

Se disolvió IAPP humano en trifluoroetanol al 40% y se liofilizó en partes alícuotas de tamaño conveniente. Se preparó IAPP inmediatamente antes de hacer las mediciones disolviendo en 40% de 1,1,1,3,3-hexafluoro-2-propanol (HFIP) en agua para mantener el péptido en conformación α -helicoidal y soluble. Se preparó una solución madre de TT (2,5 mM), 7,9 mg en 10 ml de Tris-HCl, pH 7,0, y se filtró (0,22 μ m). Las soluciones se mantuvieron en la oscuridad hasta que se usaron. La fluorescencia se examinó a una excitación a 440 nm (rendija de 5 nm) y la emisión a 482 nm (rendija 10 nm) agitando. Se añadieron 25 ml de la solución madre de TT (concentración final 62,5 μ M) y se ajustó a 1 ml en la cubeta. La muestra se agitó durante 5 min antes de tomar una lectura. Las mediciones se hicieron en un tiempo inicial (5 min desde la preparación de la muestra), a intervalos en las siguientes 4-6 horas y después de la incubación durante la noche a temperatura ambiente.

Se encontró que ciertos compuestos mencionados aquí, esto es, ácido 3-(3-hidroxi-1-propil)amino-1-propanosulfónico; ácido DL-2-amino-5-fosfovalérico; 4-fenil-1-(3'-sulfopropil)-1,2,3,6-tetrahidropiridina; ácido ciclohexilsulfámico; O-fosfo-L-serina; ácido 8-metoxiquinolina-5-sulfónico; ácido 3-amino-2-hidroxi-1-propanosulfónico; ácido 3-dimetilamino-3-propanosulfónico y 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina, inhiben o previenen el ensamblaje de fibrillas asociadas a IAPP.

20 Ejemplo 7

Se realizó análisis de dicroísmo circular para confirmar la actividad de ciertos compuestos terapéuticos en la preventión o inhibición de la formación de fibrillas asociadas a IAPP de acuerdo con la presente descripción determinando la presencia o ausencia de la conformación de β -lámina.

25 El ensayo se realizó como sigue:

Instrumento y parámetros

30 Instrumento: Espectropolarímetro JASCO J-715

Celda/cubeta: Hellma Quartz (QS) con una longitud de paso de 1,0 mm

Temperatura ambiente

35 Intervalo de longitudes de onda: 250 nm-190 nm

Resolución; 0,1 nm

40 Anchura de banda: 1,0 nm

Tiempo de respuesta: 1 s

Velocidad de barrido: 20 nm/min

45 Número de tandas de espectro: 5

El ensayo, un procedimiento de coincubación, examina la capacidad de un compuesto o sustancia de inhibir el ensamblaje de fibrillas de amiloide, por ejemplo, para ensayar la presencia de la conformación amiloidótica de β -lámina en presencia de IAPP soluble. Las muestras se tratan en presencia y ausencia (esto es, en agua sola) de agente tampón, lo que se hace para determinar si se ven efectos competitivos con el tampón iónico (usualmente fosfato).

A. Ensayo sólo en agua

55 Se añaden los componentes usados en una relación molar 1:10 de péptido:compuesto; se añaden 10 μ l de la solución madre de 10 mg/ml de IAPP (final 100 μ g de péptido) a la solución acuosa que contiene el compuesto a un volumen final de 400 μ l. Se mide el pH de la solución final de ensayo para asegurarse de que no hay fluctuación y el espectro se acumula usando los parámetros indicados antes.

60

B. Ensayo en tampón de fosfato

65 Se añade la cantidad deseada de compuesto para conseguir una relación molar 1:10 en tapón de fosfato 10 mM, pH 7. Se añaden 10 μ l de solución madre de 10 mg/ml de IAPP (péptido final 100 μ g) a la solución tamponada con fosfato que contiene el compuesto y se lleva a un volumen final de 400 μ l. Se mide el pH de la solución final de ensayo para tener la seguridad de que no hay fluctuación y se acumula el espectro usando los parámetros indicados antes.

ES 2 331 905 T3

En ambos ensayos, se trata en cada grupo de ensayo una muestra de control. Ésta contiene sólo péptido en agua o tampón a un volumen final de 400 μ l. Se obtienen inicialmente (primera tanda) los espectros de control y al final del ensayo (tanda final) para tener la seguridad de que el péptido no ha experimentado agregación extensiva en el transcurso del ensayo. Se usan los espectros de los controles para comparación con las mediciones obtenidas con las muestras tratadas.

Coincubación

- 10 Se prepara solución madre fresca, 1 mg/ml, de IAPP en tampón de fosfato 10 mM, pH 7. Se añade la cantidad deseada de compuesto para conseguir una relación molar 1:10 en tapón de fosfato 10 mM, pH 7. Se incuba durante 3 días a temperatura ambiente. Se ajusta a un volumen final de 400 μ l con tampón de fosfato 10 mM, pH 7. Se mide el pH de la solución final de ensayo para tener la seguridad de que no hay fluctuación y se acumula el espectro usando los parámetros indicados antes.
- 15 Se realiza un control similar a fines comparativos.

Análisis de datos

- 20 Se trazan individualmente los gráficos de los espectros (control y tratado) y se examinan los cambios de las características elípticas a 218 nm. Este mínimo se correlaciona directamente con la cantidad de β -lámina presente en la muestra. Se toma nota de los cambios sea en la dirección positiva o la negativa y se asigna un valor relativo ("activo" o "no activo") al compuesto como medida de la actividad. En un experimento posterior con los compuestos a una relación molar de 1:5 de péptido:compuesto, se toma nota del grado de aleatoriedad, una indicación de capacidad de los compuestos para prevenir la agregación de amiloide. Un número más positivo indica menor formación de β -lámina. Es importante la capacidad de un compuesto de prevenir la formación de β -lámina, dado que las fibrillas de amiloide no agregado serán excretadas en forma soluble. En el control indicado seguidamente, la disminución en el DC (mdegs) puede indicar que parte del péptido se está agregando en estas condiciones.

30

	Compuesto	Actividad	T ₀	24 h	48 h
35	IAPP de control	-	Al azar	$\beta(-2)$	$\beta(-1,5)$
	Ácido 3-(3-hidroxi-1-propil)amino-1-propanosulfónico (LVX)	Activo	Al azar	Al azar	$\beta(-1,7)$
	Ácido DL-2-amino-5-fosfovalérico (LVIII)	Activo	Al azar	Al azar	$\beta(-3,5)$
40	1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina (LVIX)	Activo	Al azar	$\beta(-1,5)$	$\beta(-1,3)$
	Ácido ciclohexilsulfámico (compuesto comparativo)	Activo	Al azar	$\beta(-1,1)$	$\beta(-0,8)$
	O-fosfo-L-serina (LVXII) (Compuesto comparativo)	Activo	Al azar	Al azar	$\beta(-2,0)$
45	Ácido 8-metoxiquinolina-5-sulfónico (LVXIV)	Activo	Al azar	$\beta(-1,3)$	$\beta(-0,8)$
	(Compuesto comparativo)				
50	Ácido 4-fenil-1-(3'-sulfopropil)-1,2,3,6-tetrahidropiridina, sal sódica (LVXV)	Activo	Al azar	Al azar	$\beta(-1,8)$
	Ácido 3-amino-2-hidroxi-1-propanosulfónico (LVXVI)	Activo	-	-	--
55	(Compuesto comparativo)				
	Ácido 3-dimetilamino-1-propanosulfónico (LVXVII)	Activo	Al azar	$\beta(-1,7=$	$\beta(-1,5)$

60 Ejemplo 8

Se describe seguidamente la síntesis de un compuesto de la invención, 4-fenil-1-(3'sulfopropil)-1,2,3,6-tetrahidropiridina

- 65 A una solución de 4-fenilpiridina (15,5 g, 0,1 mol) en acetona (100 ml) se añadió 1,3-propanosulfona (12,2 g, 0,1 mol) a temperatura ambiente. Luego la mezcla se calentó a reflujo durante la noche. La suspensión resultante se enfrió a temperatura ambiente. Se recogió el sólido por filtración y se lavó con acetona. A una solución del sólido (31 g) en metanol (500 ml) se añadió borohidruro sódico (10 g, 260 mmol) en porciones y la mezcla se agitó a temperatura

ES 2 331 905 T3

ambiente durante 2 horas. Se añadió agua destilada (50 ml) para destruir el exceso de borohidruro sódico. La mezcla se diluyó con metanol (200 ml) y se neutralizó con la resina de intercambio iónico Amberlite IR-120 (forma de H⁺, 300 g). Se formó un precipitado blanco. Se eliminaron el precipitado y la resina por filtración y se trajeron con agua destilada (400 mg) a -100°C. Se filtró la mezcla y la resina residual se lavó con agua destilada caliente (2 x 200 ml). Se combinaron los filtrados y lavados y la combinación se concentró a sequedad. El residuo se coevaporó con metanol (3 x 200 ml) y luego se recristalizó en etanol-agua (8:2 v/v) obteniéndose 4-fenil-1-(3'-sulfopropil)-1,2,3,6-tetrahidropiridina como cristales blancos (26 g, 93%). Los espectros de RMN de ¹H y ¹³C estaban de acuerdo con la estructura.

A una solución de 4-fenil-1-(3'-sulfopropil)-1,2,3,6-tetrahidropiridina (5,6 g, 20 mmol) obtenida antes en etanol (180 ml) se añadió hidróxido sódico (1,2 mg, 30 mmol). La suspensión se trató a la temperatura de reflujo durante 30 min. La mezcla se enfrió luego a temperatura ambiente. La primera cosecha del producto (3,9 g, 64%) se recogió por filtración. El filtrado se concentró a sequedad y el residuo se recristalizó en etanol, obteniéndose una segunda cosecha de producto (2,0 g, 32%). RMN ¹H (400 MHz, D₂O): δ 1,85 (quintuplete, 2H, J 8,7, 7,7 Hz, 2H-2'), 2,39-2,45 (m, 4H, 2H-3' y 2H-3), 2,59 (t, 2H, J 5,6 Hz, 2H-2), 2,80 (t, 2H, J 7,7 Hz, 2H-1'), 3,00 (s a, 2H, 2H-6), 6,00 (s a, 1H, H-5), 7,18-7,36 (m, 5H, Ar). RMN ¹³C (100,6 MHz, D₂O): δ 23,90 (C-2'), 29,01 (C-3), 51,69, 51,76 (C-2, C-3'), 54,45 (C-6), 58,12 (C-1'), 123,75 (C-5), 127,31, 130,01, 131,24 (Ar), 136,89 (C-4), 142,47 (AR).

20 Ejemplo 9

Se describe seguidamente la síntesis de un compuesto comparativo, la sal sódica del ácido 8-metoxi-5-quinolinasulfónico

Se añadió 8-metoxi-5-quinolina (3,8 g, sublimada) a ácido clorosulfónico frío (30 ml a 2°C) a lo largo de 30 min. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente (aprox. 20°C) durante 1 hora. La TLC reveló consumo total del material de partida en este momento. La mezcla de reacción se vertió sobre hielo (200 g) y luego se añadió carbonato sódico (70 g). El material sólido se recogió por filtración y luego se disolvió en acetato de etilo (250 ml) que luego se lavó con agua. Luego se separó la capa orgánica y (Na₂CO₃). Se filtró la capa orgánica y el disolvente se eliminó en vacío, obteniéndose el cloruro de 8-metoxi-5-quinolinasulfonilo como un sólido blanco (2,9 g).

El cloruro de 8-metoxi-5-quinolinasulfonilo (773 mg, véase antes) se trató con una solución de hidróxido sódico (120 mg) en agua a 50°C durante 12 horas. La sal sódica resultante (700 mg) se recristalizó en H₂O obteniéndose el compuesto del título como un polvo amarillo (300 mg). En la Figura 10 se muestra el espectro de RMN del cloruro de 8-metoxi-5-quinolinasulfonilo, sal sódica (en DMSO deuterado).

40

45

50

55

60

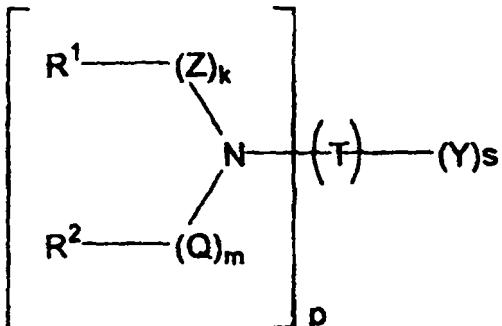
65

ES 2 331 905 T3

REIVINDICACIONES

1. Compuesto terapéutico o sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en el tratamiento o la prevención de la amiloidosis,

5 compuesto terapéutico que tiene la fórmula:



en la que

R¹ es

25 un grupo alquilo C₁₋₂₂ lineal o ramificado, un grupo alquenilo C₁₋₂₂ lineal o ramificado, un grupo alquinilo C₁₋₂₂ lineal o ramificado, cada uno de los cuales puede estar sustituido en uno o varios carbonos con halógeno, un grupo hidroxilo, tiol, amino, alcoxi, alquilcarbonilo, alquiltio o nitró; o

30 un grupo alicíclico seleccionado entre ciclopropano, ciclopentano, cicloolefinas y estructuras en anillo condensadas, cada uno de cuyos grupos alicíclicos puede estar sustituido con uno o varios sustituyentes seleccionados entre alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alquiltio C₁₋₆, alquilamino C₁₋₆, alquilcarboxilo C₁₋₆, nitró, hidroxilo, -CF₃ y -CN, o

35 un grupo heterocíclico, que es saturado o insaturado, puede incluir estructuras en anillo condensadas y puede estar sustituido en uno o varios átomos constitutivos con un halógeno, un alquilo C₁₋₆, un alquenilo C₁₋₆, un alcoxi C₁₋₆, un alquiltio C₁₋₆, un alquilamino C₁₋₆, un alquilcarboxilo C₁₋₆, un nitró, un hidroxilo, -CF₃ o -CN, o

40 un grupo arilo seleccionado entre grupos de un anillo de 5 miembros que pueden incluir de cero a cuatro heteroátomos y grupos de un anillo de seis miembros seleccionados entre benceno, pirazina, piridazina y pirimidina, pudiendo estar sustituido el mencionado grupo arilo en una o varias posiciones del anillo con sustituyentes seleccionados entre halógeno, alquilo C₁₋₆, alquenilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alquiltio C₁₋₆, alquilamino C₁₋₆, alquilcarboxilo C₁₋₆, nitró, hidroxilo, -CF₃ y -CN,

45 R² es un átomo de hidrógeno o un grupo alifático o arilo sustituido o no sustituido;

45 Z y Q son, cada uno independientemente, un carbonilo (C=O), tiocarbonilo (C=S), sulfonilo (SO₂) o sulfóxido (S=O);

50 k y m son 0 o 1, con tal que, cuando m es 1, R² no sea un átomo de hidrógeno,

50 p y s son, cada uno independientemente, 1 o 2;

55 T es un grupo de la fórmula -(CD¹D²)_n-, en la que n es un número entero de 1 a 25, C es carbono y D¹ y D² son, independientemente, átomos de hidrógeno o halógeno; grupos alifáticos, aromáticos o heterocílicos; alquilamino o arilamino, o alquilogoxi o arilogoxi;

o R¹ y R² juntos forman un grupo alquieno, k y m son cero, p y s son, cada uno, 1 y T es un grupo alquieno; y

Y es -A-X, en el que A es SO₃ y X es hidrógeno o un catión.

60

2. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la amiloidosis es amiloidosis primaria, secundaria, familiar o aislada.

65 3. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R¹ es un grupo alquilo, alquenilo o arilo cada uno de los cuales está definido en la reivindicación 1, k y m son cero, p y s son, cada uno, uno y R² es hidrógeno o un grupo alquilo.

4. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, compuesto que se selecciona entre el grupo constituido por sal sódica del ácido 3-fenilamino-1-propanosulfónico, ácido 3-benzoilaminopropanosulfónico, 2-desoxi-2-(3-sulfopropil) amino-D-glucosa, ácido 1-fenil-2,3-dimetil-4-metilamino-pirazolón-5-N-metilsulfónico, ácido 3-[(-3,5-dimetil-1-adamantil)-amino]-1-propanosulfónico, ácido 3-(2-hidroxietil)amino-1-propanosulfónico, ácido 3-(3-hidroxi-1-propil) amino-1-propanosulfónico, ácido (-)-3-[(R)-2-hidroxi-1-propil]amino-1-propanosulfónico, ácido 3-[(d,l)-1-hidroxi-2-propilamino]-1-propanosulfónico, ácido 3-(4-hidroxi-1-butil)amino-1-propanosulfónico, ácido 3-(5-hidroxi-1-pentil) amino-1-propano-sulfónico, ácido 3-(6-hidroxi-1-hexil)amino-1-propanosulfónico, ácido 3-(4-hidroxi-fenil)amino-1-propanosulfónico, ácido (+)-3-[(S)-2-hidroxi-1-propil]amino-1-propanosulfónico, ácido (+)-3-[(S)-1-hidroxi-2-propil]amino-1-propanosulfónico, ácido (-)-3-[(R)-1-hidroxi-2-propil]amino-1-propanosulfónico, ácido (+)-3-[(S)-1-hidroxi-2-butil]amino-1-propanosulfónico, ácido (-)-3-[(R)-1-hidroxi-2-butil]amino-1-propanosulfónico, ácido 3-[(dl)-5-hidroxi-2-pentil]amino-1-propanosulfónico, ácido 3-[(dl)-6-hidroxi-2-hexil]amino-1-propanosulfónico, ácido 3-(1-hidroximetil-1-ciclopentil)amino-1-propanosulfónico, ácido 3-dimetilamino-1-propanosulfónico, ácido 3-amilamino-1-propanosulfónico, ácido 3-hexilamino-1-propanosulfónico, ácido 3-heptilamino-1-propanosulfónico, ácido 3-octilamino-1-propanosulfónico, ácido 3-nomilamino-1-propanosulfónico, ácido 3-decilamino-1-propanosulfónico, ácido 3-undecilamino-1-propanosulfónico, ácido 3-dodecilamino-1-propano-sulfónico, ácido 3-tridecilamino-1-propanosulfónico, ácido 3-tetradecilamino-1-propanosulfónico, ácido 3-hexadecilamino-1-propanosulfónico, ácido 3-octadecilamino-1-propanosulfónico, y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

5. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R¹ es un alquilo, un alquenilo o un grupo arilo, cada uno de los cuales es lo especificado en la reivindicación 1, R² es un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo, k es 1, Z es un grupo carbonilo, p y s son cada uno, uno y m es cero.

6. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 5, compuesto que es un compuesto mono-N-acilado.

7. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 5, compuesto que se selecciona entre el grupo constituido por ácido 3-acetilamino-1-propanosulfónico, ácido 2-acrilamido-2-metil-1-propanosulfónico, ácido 3-benzoilamino-1-propano-sulfónico y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

8. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R¹ es una estructura de anillo condensado.

9. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 8, compuesto que se selecciona entre el grupo constituido por ácido 3-[(-3,5-dimetil-1-adamantil)-amino]-1-propanosulfónico y sus sales farmacéuticamente aceptables.

10. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, compuesto que previene o inhibe la formación de fibrillas de A β .

11. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 10, compuesto que se selecciona entre el grupo constituido por ácido 3-[(-3,5-dimetil-1-adamantil)-amino]-1-propasnosulfónico, ácido 2-acrilamido-2-metil-1-propanosulfónico y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

12. Compuesto de acuerdo con la reivindicaciópn 10, compuesto que se selecciona entre el grupo constituido por ácido 3-acetilamino-1-propanosulfónico, ácido 3-benzoilamino-1-propanosulfónico, ácido 3-[(dl)-5-hidroxi-2-pentil]-amino-1-propanosulfónico y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

13. Compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, siendo la amiloidosis enfermedad de Alzheimer, síndrome de Down o amiloidosis hemorrágica cerebral hereditaria.

14. Compuesto terapéutico, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, de acuerdo con la reivindicación 1, que previene o inhibe la formación de fibrillas A β , compuesto terapéutico que se selecciona entre el grupo constituido por ácido 3-[(-3,5-dimetil-1-adamantil)-amino]-1-propanosulfónico, ácido 2-acrilamido-2-metil-1-propanosulfónico, ácido 3-[2-(1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinil)]-1-propano-sulfónico, ácido 3-[1-(1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinil)]-1-propanosulfónico, ácido 3-(1-indolinil)-1-propanosulfónico, ácido 3-[2-(6-metoxi-1,2,3,4-tetrahidroiso-quinolinil)]-1-propano-sulfónico, ácido 3-acetilamino-1-propanosulfónico, ácido 3-benzoilamino-1-propanosulfónico, ácido (+)-3-[(S)-2-hidroxi-1-propil]amino-1-propanosulfónico y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

15. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 14, siendo la amiloidosis enfermedad de Alzheimer, síndrome de Down o amiloidosis hemorrágica cerebral hereditaria.

16. Compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, compuesto que modula, previene o inhibe la agregación de amiloide.

17. Compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, compuesto que inhibe la agregación adicional de amiloide en un sujeto con amiloidosis progresiva.

18. Compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el estado de enfermedad es agregación de amiloide asociada a la enfermedad de Alzheimer.

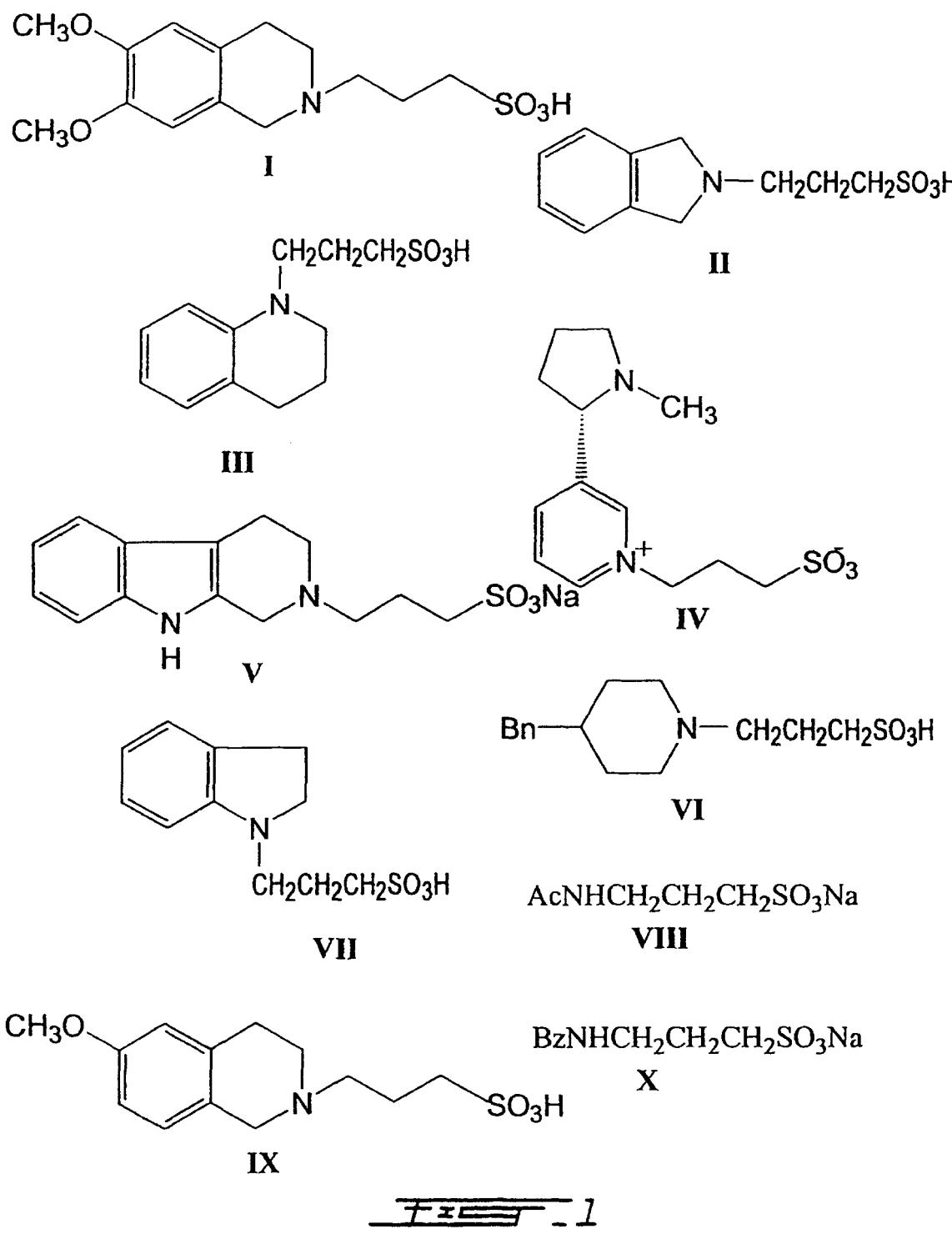
ES 2 331 905 T3

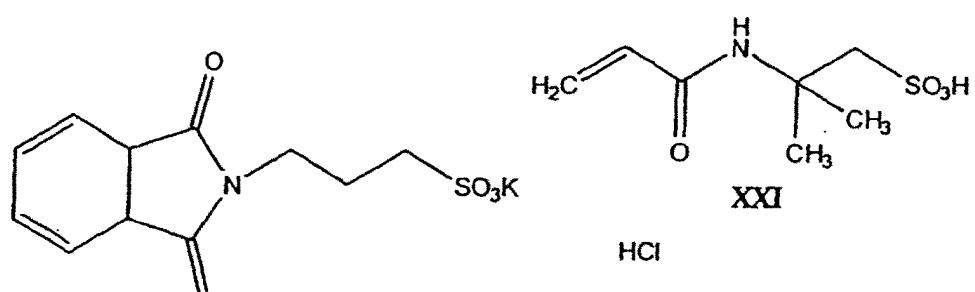
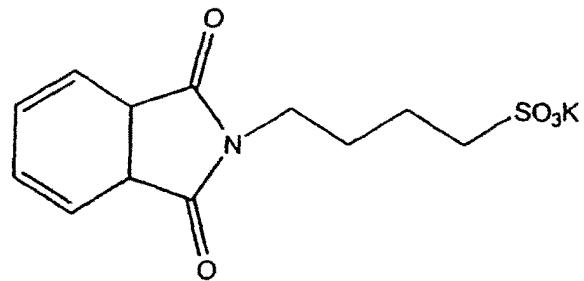
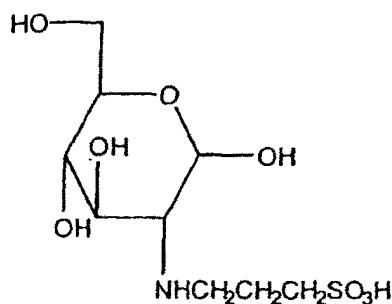
19. Comuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, compuesto que inhibe, reduce o destruye depósitos de amiloide.
20. Comuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, compuesto que modula la lesión de células asociada al amiloide en un sujeto.
 21. Comuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la amiloidosis está asociada con una proteína seleccionada entre el grupo constituido por β -amiloide, amiloide A, la cadena L de amiloide κ , la cadena L de amiloide λ , amiloide A β 2M, ATTR, AIAPP o amilina, factor natriurético auricular, procalcitonina, gelsolina, cistatina C, AApoA-I, AApoA-II, fibrinógeno, lisozima, ASer y PrP-27.
 22. Comuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-12, 14, 16, 17 y 19-212, siendo la amiloidosis se selecciona entre el grupo constituido por enfermedad de Alzheimer, síndrome de Down, hemorragia cerebral, amiloidosis reactiva [secundaria], fiebre mediterránea familiar, nefropatía de amiloide familiar con urticaria y sordera [síndrome de Muckle-Wells], amiloidosis idiopática [primaria] asociada a mieloma, asociada a macroglobulinemia, polineuropatía de amiloide familiar, cardiomiopatía de amiloide familiar, amiloidosis cardíaca aislada, amiloidosis senil sistémica, diabetes del adulto, insulinoma, amiloidosis auricular aislada, carcinoma medular del tiroides, amiloidosis familiar, hemorragia cerebral con amiloidosis, polineuropatía amiloidótica familiar, senescencia acelerada en ratones, amiloidosis asociada a fibrinógeno, amiloidosis asociada a lisozima, tembladera del cordero, enfermedad de Creutzfeldt-Jacob, síndrome de Gerstmann-Straussler-Scheinker, encefalitis espongiforme bovina y encefalitis espongiforme transmisible (TSE).
 23. Comuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, estando la amiloidosis asociada con una proteína seleccionada entre el grupo constituido por β -amiloide, amiloide A y IAPP.
 24. Comuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, compuesto que se ha de usar en forma de un medicamento adaptado para administración oral o intravenosa.
 25. Comuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, compuesto se ha de usar en forma de un medicamento que además comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable.
 26. Comuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R¹ es un grupo alquilo C₁₋₆, R² es un grupo alquilo C₁₋₆ y T es un grupo alquileno C₁₋₆.
 27. Comuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R¹ es un grupo metilo, etilo o propilo, R² es un grupo metilo, etilo o propilo y T es un grupo etileno, propileno o butileno.
 28. Comuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 26-27, compuesto que se selecciona entre el grupo constituido por ácido 3-dimetilamino-1-propanosulfónico y sus sales farmacéuticamente aceptables.
 29. Comuesto de acuerdo con la reivindicación 28, compuesto que es el ácido 3-dimetilamino-1-propanosulfónico.
 30. Comuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 26-29, compuesto que previene o inhibe la formación de fibrillas asociadas a IAPP.
 31. Comuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 26-39, siendo la amiloidosis diabetes del adulto.
 32. Comuesto, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, compuesto que se selecciona entre 4-fenil-1-(3'-sulfopropil)-1,2,3,6-tetrahidropiridina y 2-(3-sulfobutil)-1,2,3,4-tetrahidro-9H-pirido[3,4-b]indol.

55

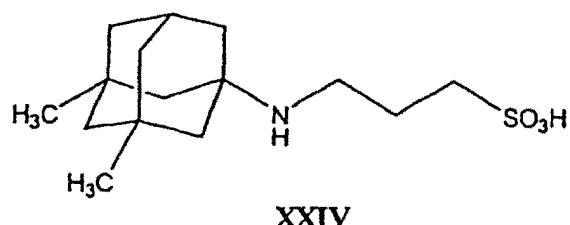
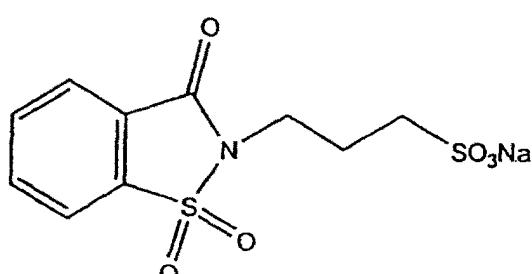
60

65

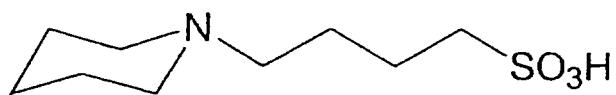




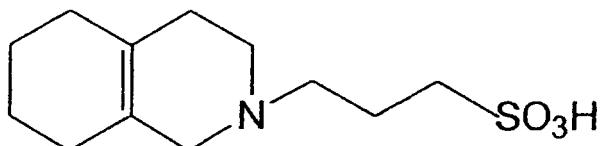
XXIII



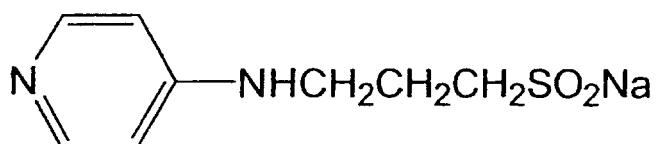
~~Exhibit 2~~



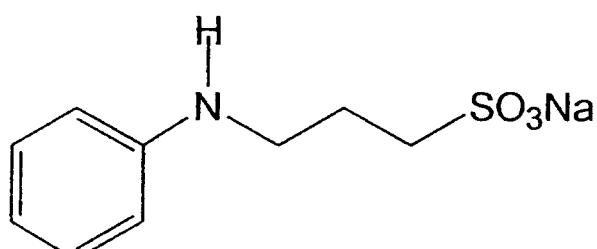
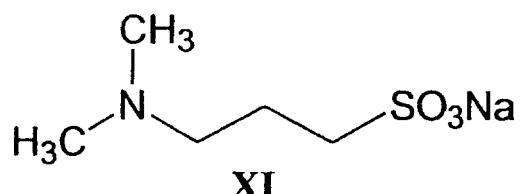
XIV



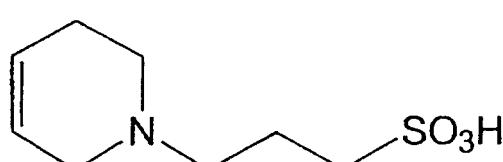
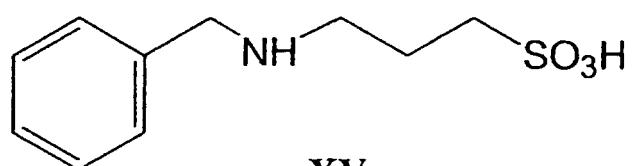
XVIII



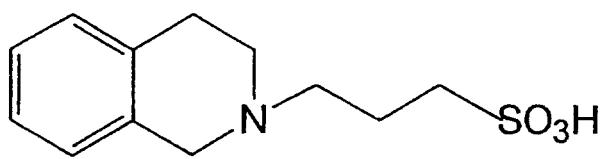
XII



XIII

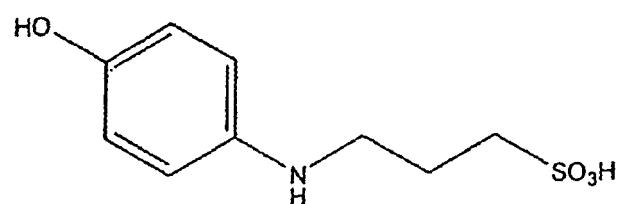


xvi

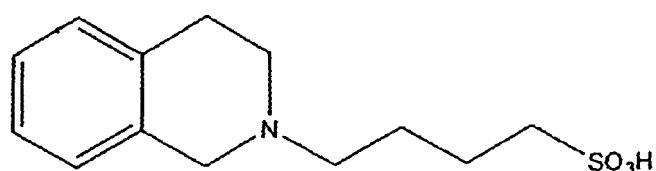


XVII

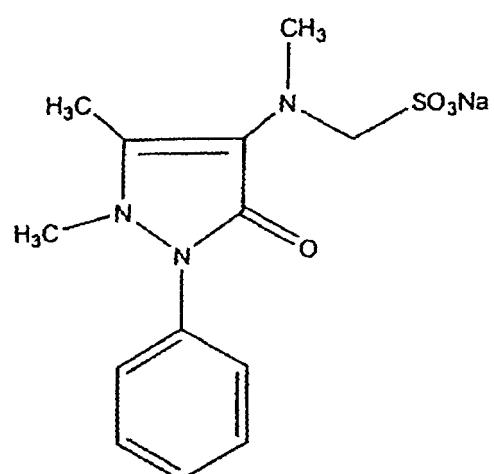
三



XLVI



XXVI



XXVII

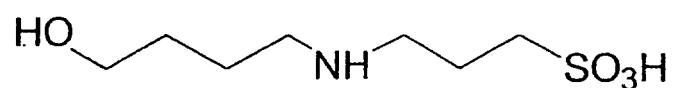
Fz—4



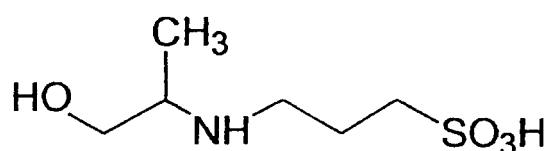
XXXIII



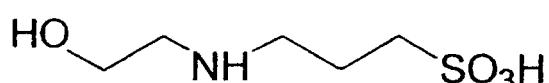
XXXI



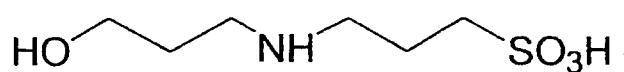
XXXVI



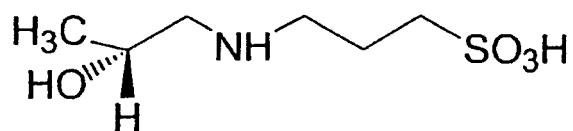
XXXV



XXX

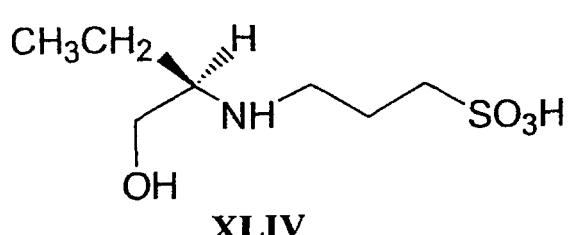
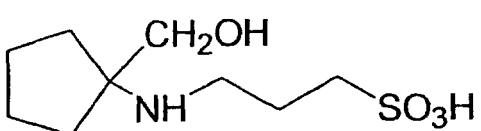
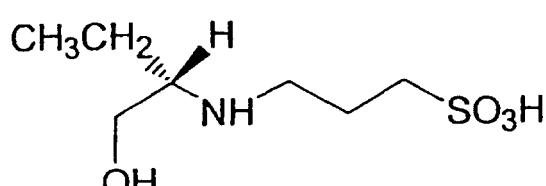
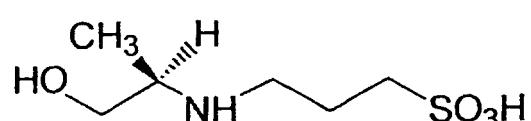
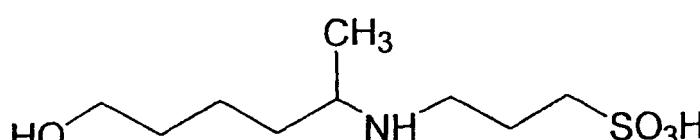
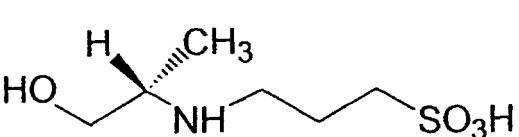
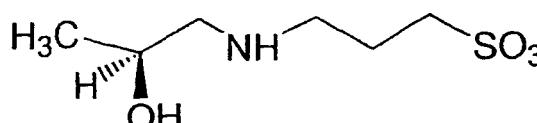
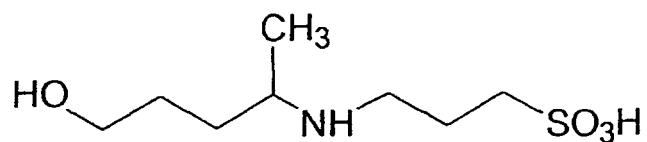


XXXII

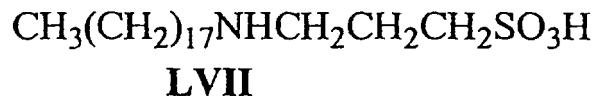
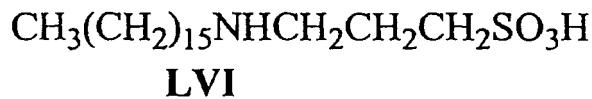
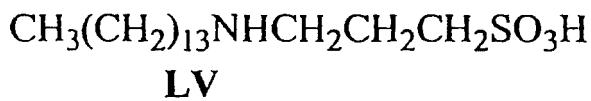
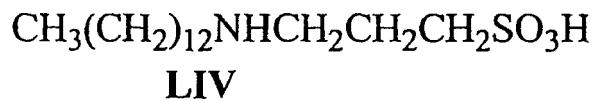
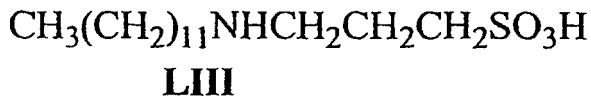
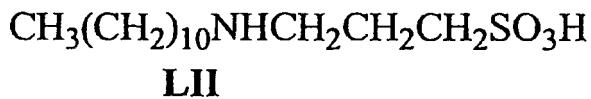
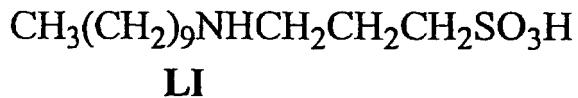
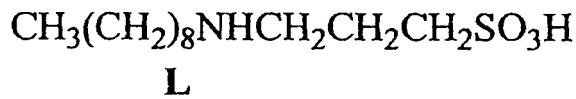
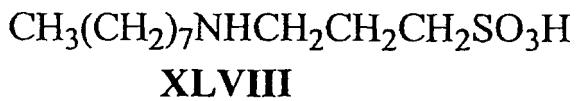
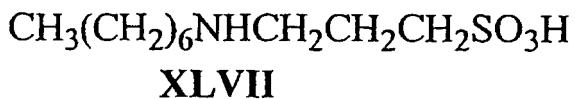
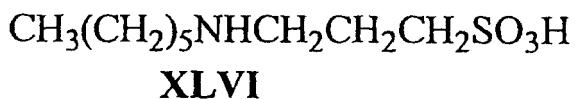
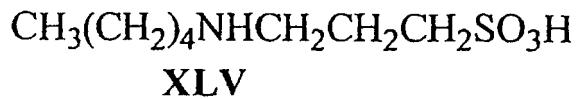


XXXIV

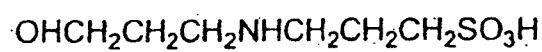
TEST - 6



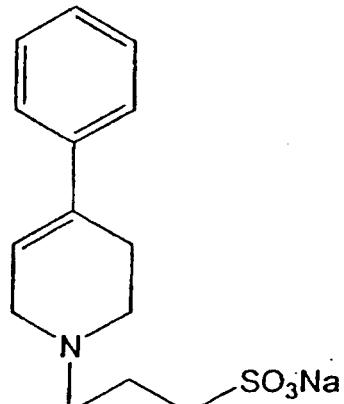
~~FIGURE 7~~



FEB - 8



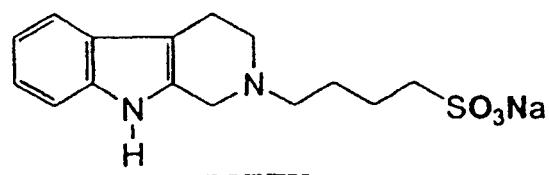
LVX



LVXV

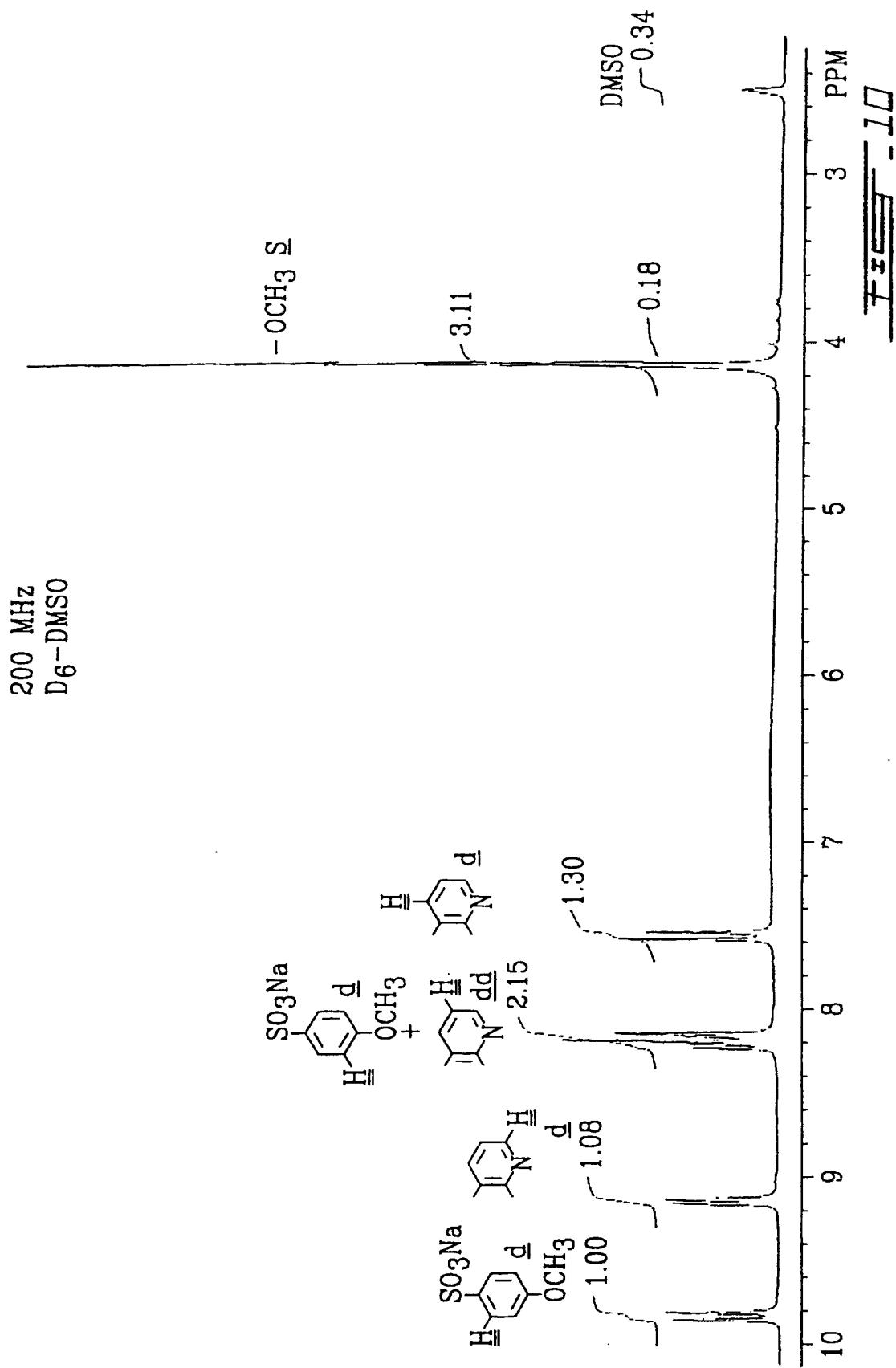


LVXVIII

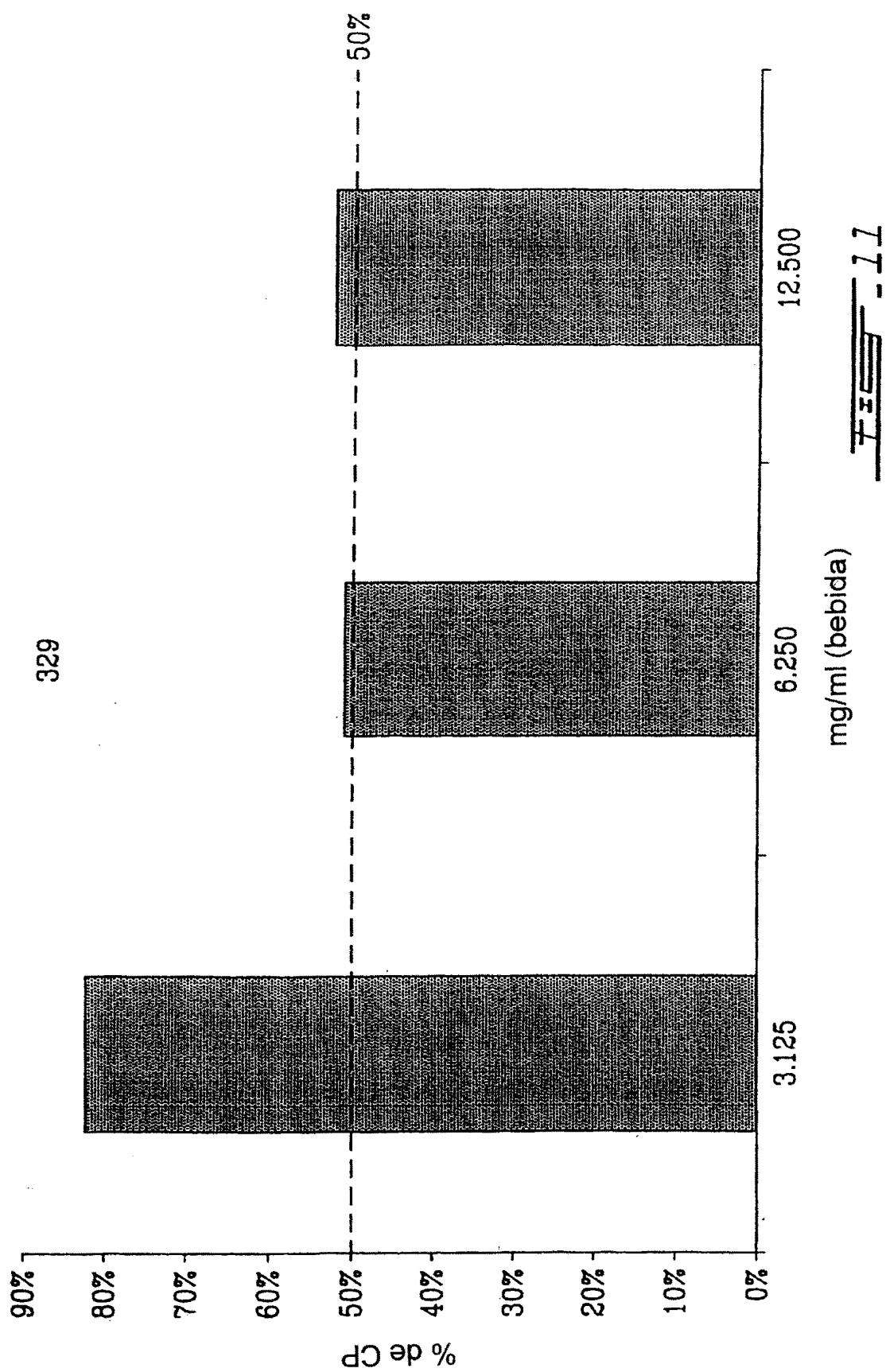


LVXIX

~~7-8-9~~



ES 2 331 905 T3



ES 2 331 905 T3

