

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 997 937**

51 Int. Cl.:

A61K 31/4365 (2006.01)

A61K 31/4436 (2006.01)

A61K 31/444 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.03.2021** **PCT/EP2021/057988**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.09.2021** **WO21191435**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.03.2021** **E 21714196 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.11.2024** **EP 4125886**

54 Título: **Uso de derivados de tienopiridona para el tratamiento de la adrenoleucodistrofia o adrenomieloneuropatía**

30 Prioridad:

26.03.2020 EP 20166035

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
18.02.2025

73 Titular/es:

POXEL (100.00%)
Immeuble le Sunway 259/261 Avenue Jean Jaures
69007 Lyon, FR

72 Inventor/es:

BOLZE, SÉBASTIEN;
FOUQUERAY, PASCALE y
HALLAKOU-BOZEC, SOPHIE

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 997 937 T3

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

DESCRIPCIÓN

Uso de derivados de tienopiridona para el tratamiento de la adrenoleucodistrofia o adrenomieloneuropatía

5 **Campo técnico**

La invención se refiere a un derivado de tienopiridona de acuerdo con la invención para su uso en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas genéticas seleccionadas de adrenoleucodistrofia (ALD) y adrenomieloneuropatía (AMN).

10

Antecedentes de la técnica

La adrenoleucodistrofia y la adrenomieloneuropatía son enfermedades genéticas neurodegenerativas. La adrenoleucodistrofia (ALD) ligada a X es un trastorno genético vinculado con el cromosoma X. Se observan tres fenotipos principales en los hombres afectados. La forma cerebral infantil se manifiesta generalmente entre los 4 y 8 años de edad. Inicialmente se parece al trastorno por déficit de atención o hiperactividad. La desmielinización central progresiva con deterioro de la cognición, el comportamiento, la visión, la audición y la función motora siguen los síntomas iniciales y a menudo conducen a una discapacidad total dentro de los 2 años. El segundo fenotipo, la adrenomieloneuropatía (AMN), que es la forma adulta de ALD, se manifiesta más comúnmente a finales de los años veinte como paraparesia progresiva, trastornos del esfínter, disfunción sexual y, a menudo, deterioro de la función adrenocortical. Además, los pacientes con AMN generalmente tienen disfunción de la médula espinal, lo que lleva a los síntomas iniciales que incluyen dificultades para caminar o un cambio en el patrón de caminar. Todos los síntomas son progresivos durante décadas. En particular, la AMN se puede dividir en dos formas clínicas generales: AMN con afectación cerebral en donde se afectan tanto la médula espinal como el cerebro, y AMN sin afectación cerebral en donde solo se afecta la médula espinal. El tercer fenotipo es la enfermedad de Addison, que está presente con insuficiencia adrenocortical primaria entre los 2 años y la edad adulta y más comúnmente a los 7,5 años, sin evidencia de anomalía neurológica.

La adrenoleucodistrofia (ALD) ligada al cromosoma X es causada por mutaciones en el gen ABCD1. El gen ABCD1 proporciona instrucciones para producir la proteína adrenoleucodistrofia (ALDP por sus siglas en inglés). ALDP se encuentra en las membranas de estructuras celulares llamadas peroxisomas. Los peroxisomas son pequeños sacos dentro de las células que procesan muchos tipos de moléculas. ALDP lleva un grupo de grasas llamadas ácidos grasos de cadena muy larga (VLCFA por sus siglas en inglés) a los peroxisomas, en donde se descomponen. Las mutaciones que causan la adrenoleucodistrofia impiden la producción de ALDP en aproximadamente el 75 por ciento de las personas con este trastorno. Con poco o ningún ALDP funcional, los VLCFA no se descomponen y se acumulan en el cuerpo. Esto conduce a niveles elevados de ácidos grasos de cadena muy larga (VLCFA) y reduce la oxidación de VLCFA en los peroxisomas. Los lípidos que contienen VLCFA se acumulan en todos los tejidos; sin embargo, el cerebro, la médula espinal, la corteza suprarrenal y las células de Leydig de los testículos tienen el mayor aumento de VLCFA. La acumulación de estas grasas puede ser tóxica para las glándulas suprarrenales y para la capa de grasa de aislamiento (mielina) que rodea muchos nervios del cuerpo. En la ALD cerebral infantil, no solo las células sufren desmielinización, sino que también hay una respuesta inflamatoria, todo lo cual destruye el cerebro. El proceso inflamatorio destruye la mielina, provocando un deterioro progresivo e implacable hasta un estado vegetativo o la muerte, normalmente en un plazo de cinco años.

La adrenomieloneuropatía (AMN) es la aparición en adultos de la adrenoleucodistrofia (ALD). Como ALD, AMN se caracteriza por la mutación del gen ABCD1, que da como resultado una función de peroxisoma alterada con acumulación de ácidos grasos de cadena muy larga (VLCFA) y desmielinización. A diferencia de la ALD, que es un trastorno mortal rápidamente progresivo de la primera infancia, la AMN es un trastorno lentamente progresivo de la edad adulta que causa disfunción de la glándula suprarrenal, médula espinal (mielopatía) y nervios periféricos (neuropatía).

No existe un tratamiento eficaz para la X-ALD; El trasplante de médula ósea de células madre hematopoyéticas (HSCT, por sus siglas en inglés) puede reducir la progresión de la ALD en algunos pacientes si se realiza cuando aparecen los primeros síntomas neurológicos. Sin embargo, el HSCT también se asocia con una morbilidad y mortalidad sustanciales.

Las formas actuales de tratar estas enfermedades están dirigidas esencialmente a aliviar los síntomas de los pacientes. Por ejemplo, uno de los posibles síntomas de los pacientes con AMN es la insuficiencia suprarrenal, por lo que la atención se centrará en el tratamiento de esta insuficiencia suprarrenal con terapia de reemplazo de esteroides.

Recientemente, algunos autores informaron la pérdida de AMPK α 1 en pacientes con ALD y sugirieron que la metformina podría ser útil para tratar a estos pacientes al activar la AMPK (J. Singh et al., *Journal of Neurochemistry*, 138, 86-100, 2016). Sin embargo, se sabe que la metformina induce acidosis láctica como efecto secundario. Además, su eficacia se observa en fibroblastos cultivados a una dosis de al menos 100 μ M y, en ratones ABCD2 KO, cuando se administra por vía oral a 100 mg/kg.

Por lo tanto, sigue existiendo la necesidad de compuestos alternativos que sean útiles en el tratamiento de ALD y AMN a dosis más bajas y/o con efectos secundarios reducidos.

Los inventores han demostrado que derivados de tienopiridona específicos podrían satisfacer esta necesidad. Estos compuestos se divulgaron ampliamente como activadores de AMPK en WO 2014/001554 y EP 2 679 591 pero nunca se ha sugerido hasta ahora usarlos en el tratamiento de ALD y AMN. Se ha demostrado que son activadores directos de varias isoformas de AMPK, incluida la subunidad $\beta 1$, lo que hace que su eficacia en el tratamiento de estas afecciones sea aún más sorprendente que se sabe que los activadores directos de AMPK proporcionan efectos metabólicos diferentes a los obtenidos con activadores indirectos de AMPK como la metformina.

Más específicamente, los inventores descubrieron que estos derivados de tienopiridona podrían restaurar el fenotipo saludable o mejorar el fenotipo de estas enfermedades.

Estos derivados de tienopiridona actúan para reducir la acumulación de ácidos grasos de cadena muy larga (VLCFA). También se encontró que cuando las células se cultivan en presencia de un derivado de tienopiridona de fórmula (I), se induce la expresión de una proteína alternativa (ABCD2), relacionada con ALDP (con una secuencia muy cercana a la de ALDP). Dado que se elimina ALDP en ALD y AMN, la inducción de una proteína relacionada parece ser la base del mecanismo por el cual un derivado de tienopiridona de fórmula (I) puede mejorar el fenotipo de la enfermedad en este sistema modelo. Así, estos derivados de la tienopiridona, mediante la sobreexpresión de esta proteína, permiten reducir la acumulación de ácidos grasos.

Sumario de la invención

La invención es como se define en el juego de reivindicaciones adjunto.

La invención se refiere a un derivado de tienopiridona seleccionado del grupo que consiste en 2-cloro-4-hidroxi-3-(5-hidroxitetralin-6-il)-5-fenil-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-ona, 2-cloro-5-(4-fluorofenil)-4-hidroxi-3-indan-5-il-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-ona, 2-cloro-4-hidroxi-3-indan-5-il-5-fenil-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-ona y sus sales y/o solvatos farmacéuticamente aceptables, para su uso en el tratamiento de adrenoleucodistrofia y/o adrenomieloneuropatía.

Breve descripción de las figuras

Las Figuras 1A y 1B muestran el nivel de ácido hexacosanóico en fibroblastos derivados de pacientes con AMN (Figura 1A) y linfocitos (Figura 1B) cuando se tratan o no con PXL770 (compuesto de la invención).

Se estudiaron seis situaciones: Control sano / AMN sin tratamiento/ AMN + PXL770 (5 μ M) / AMN + PXL770 (10 μ M) / AMN + PXL770 (25 μ M) / AMN + PXL770 (50 μ M).

La Figura 2 muestra el nivel de expresión de ABCD2 en fibroblastos AMN cuando se cultivan con o sin la presencia de PXL770.

La Figura 3 muestra el nivel de ácido hexacosanóico en células gliales mixtas de ratón AMN cuando se tratan o no con PXL770.

Se estudiaron tres situaciones: Tipo salvaje / ALD-KO / ALD-KO + PXL770 (25 μ M).

La Figura 4 muestra el nivel de expresión de ABCD2 en células gliales mixtas de corteza cerebral de ratón ALD-KO cuando se cultivan con o sin la presencia de PXL770.

Las Figuras 5A y 5B muestran el nivel de ácido hexacosanóico en fibroblastos derivados de pacientes con ALD (Figura 5A) y linfocitos (Figura 5B) cuando se tratan o no con PXL770.

Se estudiaron seis situaciones: Control sano / AMN sin tratamiento/ AMN + PXL770 (5 μ M) / AMN + PXL770 (10 μ M) / AMN + PXL770 (25 μ M) / AMN + PXL770 (50 μ M).

La Figura 6 muestra el nivel de expresión de ABCD2 en fibroblastos ALD cuando se cultivan con o sin la presencia de PXL770.

La Figura 7 muestra los niveles de ácido hexacosanóico en la corteza cerebral de ratones X-ALD tratados con PXL770, en comparación con ratones X-ALD no tratados y ratones de tipo salvaje.

La Figura 8 muestra los niveles de ácido hexacosanóico en el plasma de ratones X-ALD tratados con PXL770, en comparación con ratones X-ALD no tratados y ratones de tipo salvaje.

La Figura 9 muestra el nivel de ácido hexacosanóico en fibroblastos y linfocitos derivados de pacientes con AMN cuando se tratan o no con metformina (compuesto comparativo).

La Figura 10 muestra una comparación directa entre PXL770 y metformina en los niveles de ácido hexacosanóico en fibroblastos derivados de pacientes con AMN.

La Figura 11 muestra el nivel de expresión de ABCD2 en fibroblastos AMN y ALD cuando se cultivan con o sin la presencia de metformina.

La Figura 12 muestra el nivel de expresión de ABCD2 en células gliales mixtas de corteza cerebral de ratón ALD-KO cuando se cultivan con o sin la presencia de metformina.

La Figura 13 muestra los niveles de ácido hexacosanóico en la médula espinal de ratones X-ALD tratados con PXL770, en comparación con ratones X-ALD no tratados y ratones de tipo salvaje.

La Figura 14 muestra el nivel de ácido hexacosanóico en fibroblastos derivados de pacientes con AMN cuando se tratan con diversas dosis de compuestos según esta invención o con varias dosis de PXL700 (comparativo).

La Figura 15 muestra el nivel de ácido hexacosanóico en fibroblastos derivados de pacientes con AMN cuando se tratan con diversos compuestos según esta invención, en comparación con metformina (comparativa) y PXL700 (comparativo).

5 Descripción detallada de la invención

Las referencias a métodos de tratamiento en esta descripción deben interpretarse como referencias a los compuestos, composiciones farmacéuticas y medicamentos de la presente invención para su uso en un método para tratar a un sujeto mediante terapia.

Definiciones

Como se usa en este documento, los siguientes términos se definen con los siguientes significados a menos que se indique explícitamente lo contrario.

El término "átomo de halógeno" se refiere a un átomo seleccionado de átomos de flúor, cloro, bromo y yodo.

El término "grupo alquilo" se refiere a una cadena saturada lineal o ramificada de 1 a 5 átomos de carbono, tal como metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo, iso-butilo o terc-butilo. Preferiblemente, los grupos alquilo son cadenas saturadas lineales o ramificadas de 1 a 3 átomos de carbono, tales como grupos metilo, etilo, n-propilo o iso-propilo.

El término "grupo arilo" se refiere a un grupo aromático C₆-C₁₈, como un grupo fenilo o naftilo, opcionalmente sustituido con uno o más átomos o grupos seleccionados de átomos de halógeno, grupos alquilo, hidroxilo (OH), grupos alquilo, amino (NH₂), grupos mono- o di-alquilamino, carboxi (COOH), grupos alquilo, carbonilo, grupos mono- o di-alquilaminocarbonilo, carboxamida (CONH₂), ciano (CN), grupos alquilo, sulfonilo y trifluorometilo (CF₃). Más concretamente, el grupo arilo puede estar sustituido o no por átomos de flúor, cloro, bromo, grupo hidroxilo, metoxi, etoxi, amino, dimetilamino, dietilamino, metilo, etilo, n-propilo, n-butilo, isopropilo, sec-butilo, isobutilo, terc-butilo, carboxi, metoxycarbonilo, etoxycarbonilo, carboxamida, dimetilaminocarbonilo, metilaminocarbonilo, ciano, metilsulfonilo o trifluorometilo.

El término "grupo aralquilo" se refiere a un grupo alquilo como se define anteriormente, un átomo de hidrógeno el cual se reemplaza por un grupo arilo como se define anteriormente. Un ejemplo de un grupo aralquilo es un grupo bencilo.

El término grupo "alquilo" (o "alcoxi") se refiere a un grupo alquilo como se define anteriormente unido al resto de la molécula a través de un átomo de oxígeno. Entre los grupos alquilo se pueden mencionar los grupos metoxi y etoxi.

El término grupo "aralquilo" se refiere a un grupo aralquilo como se define anteriormente unido al resto de la molécula a través de un átomo de oxígeno. Entre los grupos aralquilo se puede mencionar el grupo bencilo.

El término "grupo alquilamino" se refiere a un grupo alquilo como se define anteriormente unido al resto de la molécula a través de un átomo de nitrógeno. Entre los grupos alquilamino se pueden mencionar los grupos dimetilamino y dietilamino.

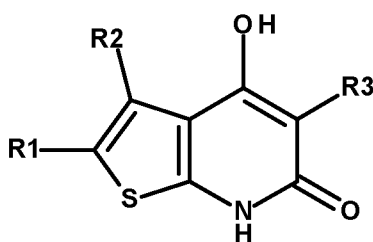
El término "grupo alquilo, carbonilo" se refiere a un grupo alquilo como se define anteriormente unido al resto de la molécula a través de un grupo carbonilo.

El término "grupo alquilaminocarbonilo" se refiere a un grupo alquilamino como se define anteriormente unido al resto de la molécula a través de un grupo carbonilo.

El término "alquilo, sulfonilo" se refiere a un alquilo como se define anteriormente unido al resto de la molécula a través de un grupo SO₂. Entre los grupos alquilo, sulfonilo se pueden mencionar los grupos metilsulfonilo y etilsulfonilo.

Los "solvatos" de los compuestos se entienden en la presente invención como aducciones de moléculas de disolvente inerte sobre los compuestos que se forman debido a su fuerza de atracción mutua. Los solvatos son, por ejemplo, hidratos o alcoholatos.

Se divulgan usos específicos de derivados de tienopiridona de Fórmula (I):



(I)

5 en donde:

R1 representa un átomo de hidrógeno o un átomo de halógeno,

10 R2 representa un grupo indanilo o tetralinilo, sustituido o no por uno o más (por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6 o 7) grupos seleccionados de átomos de halógeno, grupos alquilo, hidroxilo, grupos alcoxi, amino, grupos mono- o di-alquilamino, grupos carboxi, grupos alquiloxicarbonilo, grupos mono- o di-alquilaminocarbonilo, grupos carboxamida, ciano, alquilsulfonilo y trifluorometilo,

15 R3 representa un grupo arilo, sustituido o no por uno o más (por ejemplo, 2, 3, 4 o 5) átomos o grupos seleccionados de átomos de halógeno, grupos alquilo, hidroxilo, grupos alcoxi, grupos aralquilo, amino, grupos mono- o di-alquilamino, grupos carboxilo, grupos alquiloxicarbonilo, grupos mono- o di-alquilaminocarbonilo, grupos carboxamida, ciano, alquilsulfonilo y trifluorometilo, o sus sales y/o solvatos farmacéuticamente aceptables.

En un aspecto particular, se divulga se cumple al menos una de las siguientes condiciones y preferentemente todas ellas:

- 20
- R1 representa un átomo de halógeno, en particular un átomo de cloro,
 - R2 no está sustituido o está sustituido con 1 o 2 sustituyentes que incluyen al menos un grupo hidroxilo,
 - R2 es un grupo tetralinilo,
 - R3 representa un fenilo, que no está sustituido o está sustituido con 1 o 2 sustituyentes,
- 25
- el compuesto de fórmula (I) está en forma de sal, preferiblemente una sal de sodio o potasio, más preferiblemente una sal de potasio,
 - el compuesto de fórmula (I) está en forma de solvato, preferiblemente de hidrato, más preferiblemente de monohidrato.

30 En un aspecto aún más preferido, se divulga que se cumple al menos una de las siguientes condiciones y preferentemente todas ellas:

- 35
- R1 representa un átomo de halógeno, en particular un átomo de cloro,
 - R2 está sustituido con 1 o 2 sustituyentes que incluyen al menos un grupo hidroxilo,
 - R2 es un grupo tetralinilo,
 - R3 representa un grupo fenilo, que no está sustituido,
 - el compuesto de fórmula (I) está en forma de sal, preferiblemente una sal de sodio o potasio, más preferiblemente una sal de potasio,
 - el compuesto de fórmula (I) está en forma de solvato, preferiblemente de hidrato, más preferiblemente de monohidrato.
- 40

En otro aspecto, se divulga que se cumple al menos una de las siguientes condiciones y preferentemente todas ellas:

- 45
- R1 representa un átomo de halógeno, en particular un átomo de cloro,
 - R2 está sustituido con 1 o 2 sustituyentes que incluyen al menos un grupo hidroxilo,
 - R2 es un grupo indanilo,
 - R3 representa un grupo fenilo, que no está sustituido o está sustituido con 1 o 2 sustituyentes.

50 Se divulga que ejemplos de compuestos de fórmula (1) son los siguientes:

2-cloro-4-hidroxi-3-indan-5-il-5-fenil-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-ona
 2-cloro-5-(4-fluorofenil)-4-hidroxi-3-indan-5-il-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-ona
 2-cloro-4-hidroxi-3-indan-5-il-5-(3-metoxifenil)-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-ona
 55 2-cloro-4-hidroxi-3-indan-5-il-5-(4-metoxifenil)-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-ona
 3-(2-cloro-4-hidroxi-3-indan-5-il-6-oxo-7H-tieno[2,3-b]piridin-5-il)benzonitrilo

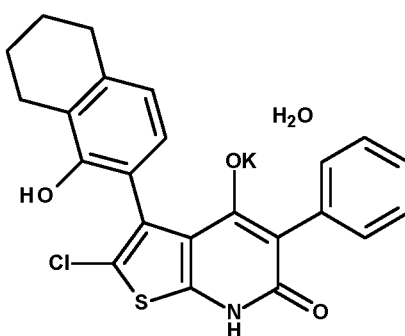
2-cloro-4-hidroxi-3-indan-5-il-5-(3-metilfenil)-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-ona
 2-cloro-5-(4-fluorofenil)-4-hidroxi-3-(4-hidroxiindan-5-il)-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-ona
 2-cloro-5-(3-fluorofenil)-4-hidroxi-3-(4-hidroxiindan-5-il)-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-ona
 2-cloro-4-hidroxi-3-(4-hidroxiindan-5-il)-5-fenil-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-ona
 2-cloro-5-(2-fluorofenil)-4-hidroxi-3-(4-hidroxiindan-5-il)-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-ona
 2-cloro-4-hidroxi-3-(5-hidroxitetralin-6-il)-5-fenil-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-ona
 3-(2-cloro-4-hidroxi-6-oxo-3-tetralin-6-il-7H-tieno[2,3-b]piridin-5-il)benzonitrilo
 2-cloro-3-(5-oxidotetralin-6-il)-5-fenil-tieno[2,3-b]piridin-4,6-diolato de trisodio
 2-cloro-4-hidroxi-5-fenil-3-tetralin-6-il-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-ona
 2-cloro-5-(4-fluorofenil)-4-hidroxi-3-(5-hidroxitetralin-6-il)-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-ona
 2-cloro-3-(5-oxidotetralin-6-il)-6-oxo-5-fenil-7H-tieno[2,3-b]piridin-4-olato de disodio
 2-cloro-4-hidroxi-3-(5-hidroxitetralin-6-il)-5-(3-metilfenil)-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-ona
 2-cloro-4-hidroxi-3-(5-hidroxitetralin-6-il)-5-(4-metilfenil)-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-ona
 2-cloro-5-(3-fluorofenil)-4-hidroxi-3-(5-hidroxitetralin-6-il)-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-ona
 2-cloro-3-(5-hidroxitetralin-6-il)-6-oxo-5-fenil-7H-tieno[2,3-b]piridin-4-olato de sodio
 2-cloro-3-(5-hidroxitetralin-6-il)-6-oxo-5-fenil-7H-tieno[2,3-b]piridin-4-olato de potasio.

Los compuestos de fórmula (I) generalmente se pueden preparar como se describe en el documento WO 2014/001554.

Entre los compuestos anteriores, el derivado de tienopiridona para su uso de acuerdo con la invención se selecciona del grupo que consiste en 2-cloro-4-hidroxi-3-(5-hidroxitetralin-6-il)-5-fenil-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-ona, 2-cloro-5-(4-fluorofenil)-4-hidroxi-3-indan-5-il-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-ona, 2-cloro-4-hidroxi-3-indan-5-il-5-fenil-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-ona, y sus sales y/o solvatos farmacéuticamente aceptables.

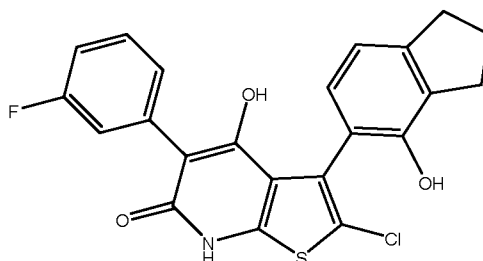
Ejemplos de tales compuestos para su uso de acuerdo con la invención incluyen:

PXL770 que es la sal de potasio monohidrato de 2-cloro-4-hidroxi-3-(5-hidroxitetralin-6-il)-5-fenil-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-ona correspondiente a la siguiente estructura de fórmula (Ia):



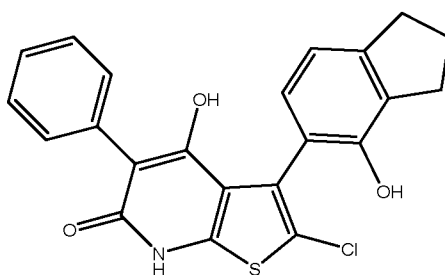
(Ia)

2-cloro-5-(4-fluorofenil)-4-hidroxi-3-indan-5-il-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-ona que tiene la fórmula (Ib):



(Ib)

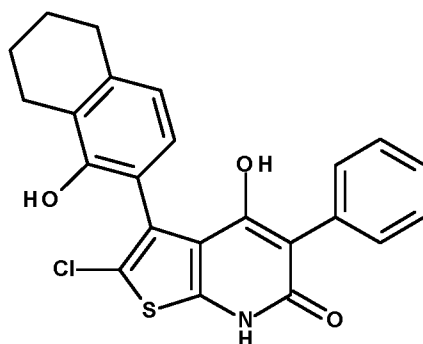
2-cloro-4-hidroxi-3-indan-5-il-5-fenil-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-ona que tiene la fórmula (Ic):



(Ic)

5 PXL770 se puede preparar de acuerdo con un proceso que comprende los pasos de:

(A) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (II) con carbonato de potasio en una solución que comprende agua y un solvente seleccionado de acetato de *n*-butilo e isopropanol:



(II);

(B) formar un precipitado; y

(C) recuperar el precipitado obtenido en el paso (B), preferentemente por filtración.

15 El compuesto de fórmula (II) y un proceso de preparación del mismo se han descrito en la solicitud de patente WO 2014/001554.

Alternativamente, dicho compuesto de fórmula (II) puede obtenerse mediante un proceso mejorado que comprende los pasos de:

(a) hacer reaccionar 6-acetil-5-hidroxitetralina con una fuente de bencilo electrófila, preferiblemente bromuro de bencilo, en presencia de una base;

(b) hacer reaccionar el compuesto obtenido en el paso (a) con cianoacetato de etilo en presencia de hexametildisilazano y ácido acético;

(c) hacer reaccionar el compuesto obtenido en el paso (b) con azufre en presencia de una base;

(d) opcionalmente formar una sal del compuesto obtenido en el paso (c), preferiblemente una sal clorhidrato;

(e) hacer reaccionar el compuesto obtenido en el paso (c) o (d) con una fuente de cloro electrófilo, preferiblemente N-clorosuccinimida;

(f) hacer reaccionar el compuesto obtenido en el paso (e) con cloruro de fenilacetilo;

(g) hacer reaccionar el compuesto obtenido en el paso (f) con una base;

(h) hacer reaccionar el compuesto obtenido en el paso (g) con tribromuro o tricloruro de boro, preferiblemente tricloruro de boro; y

(i) opcionalmente recuperar el compuesto obtenido en el paso (h).

Normalmente, el paso (B) puede comprender un subpaso (b1) de calentamiento de la mezcla obtenida en el paso (A), preferiblemente a una temperatura cercana al reflujo de la mezcla, seguido de un subpaso (b2) de enfriamiento de la mezcla resultante, por ejemplo, a una temperatura comprendida entre -15 °C y 35 °C. La expresión "próximo al reflujo de la mezcla" se refiere típicamente a una temperatura comprendida entre el 90 % y el 100 % del punto de ebullición del sistema disolvente en el paso (A) (por ejemplo, agua/isopropanol o agua/acetato de *n*-butilo).

Puede realizarse una etapa de destilación, preferiblemente a presión reducida, entre la subetapa de calentamiento y la subetapa (b2).

El paso (B) permite que se forme un precipitado cristalino, cuya formación se puede favorecer o desencadenar

añadiendo semillas a los pasos (b2).

Preferiblemente, dicho precipitado se recupera por filtración en el paso (C). A continuación, puede lavarse sucesivamente con uno o varios disolventes, preferiblemente agua, acetato de *n*-butilo y/o *ter*-butil metil éter.

5 El compuesto de fórmula (Ia), es decir, PXL770, se obtiene así en forma de un sólido, tal como un polvo, que tiene los siguientes picos XRPD (difracción de rayos X en polvo) (por sus siglas en inglés), medidos por medio de un difractómetro, usando radiación Cu K (alfa):

2-teta (°)	valor d (Å)
13,010	6,7992
14,720	6,0130
17,330	5,1128
19,640	4,5164
21,170	4,1933
22,700	3,9140
23,860	3,7263
24,410	3,6435
26,730	3,3323
28,700	3,1079
30,960	2,8860
34,750	2,5794
35,530	2,5246
35,950	2,4960
36,660	2,4493

10 También se describe un método para tratar enfermedades seleccionadas del grupo que consiste en adrenoleucodistrofia y adrenomieloneuropatía, comprendiendo el método administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un derivado de tienopiridona de fórmula (I) o una composición farmacéutica que comprenda una cantidad eficaz de un derivado de tienopiridona de fórmula (I) y un soporte farmacéuticamente aceptable.

15 Los derivados de tienopiridona de la invención parecen tratar la ALD y/o la AMN mediante la reducción de la acumulación de VLCFA. De hecho, se ha demostrado en la literatura que la carga de VLCFA aumenta con la gravedad de la enfermedad y que la reducción de VLCFA puede anular la respuesta inflamatoria. Por lo tanto, la reducción de la sobrecarga de VLCFA, especialmente en el sistema nervioso central, tiene el potencial de detener o revertir la progresión de la enfermedad en ALD y/o AMN.

20 Los inventores han descubierto que los derivados de tienopiridona de la invención disminuyen fuertemente el nivel de VLCFA en fibroblastos y linfocitos derivados de pacientes con ALD y AMN y en células gliales mixtas de ratón. Los derivados de tienopiridona de fórmula (I) actúan sobre la restauración de la función ALDP (ABCD1) al inducir la sobreexpresión de ABCD2, también conocida como ALDRP, que tiene una similitud de secuencia significativa con ALDP. Los inventores han encontrado que los derivados de tienopiridona de la invención inducen la sobreexpresión de ABCD2, lo que compensa la falta de ABCD1 y permite así la reducción de la acumulación de VLCFA.

25 La composición farmacéutica utilizada según la invención se puede preparar por cualquier método convencional. El derivado de tienopiridona de la invención se puede convertir aquí en una forma de dosificación adecuada junto con al menos un excipiente o adyuvante sólido, líquido y/o semilíquido y, si se desea, en combinación con uno o más ingredientes activos adicionales.

30 El término "soporte farmacéuticamente aceptable" se refiere a un vehículo, adyuvante o excipiente aceptable para el sujeto desde un punto de vista farmacológico/toxicológico y para el químico farmacéutico fabricante desde un punto de vista físico/químico con respecto a la composición, formulación, estabilidad, sujeto aceptación y biodisponibilidad.

35 El término "vehículo", "adyuvante" o "excipiente" se refiere a cualquier sustancia, que no es en sí misma un agente terapéutico, que se agrega a una composición farmacéutica para ser utilizada como vehículo, adyuvante y/o diluyente para la administración de un agente terapéutico a un sujeto para mejorar sus propiedades de manipulación o almacenamiento o para permitir o facilitar la formación de una unidad de dosificación de la composición en un artículo discreto. Las composiciones farmacéuticas de la invención, individualmente o en combinación, pueden comprender uno o varios agentes o vehículos elegidos entre dispersantes, solubilizantes, estabilizantes, conservantes, etc.

40 El término "tratamiento", "tratar" y "tratando" se refieren a la terapia, prevención y profilaxis de un trastorno seleccionado en el grupo que consiste en adrenoleucodistrofia (ALD) y adrenomieloneuropatía (AMN). Como se describe en el presente documento, el término "tratamiento" o "tratar" se refiere a la profilaxis de una enfermedad o al menos uno de sus síntomas. Esto también significa una mejora, prevención de al menos un parámetro físico

medible asociado con la enfermedad que se está tratando, que es discernible o no en el sujeto. El término "tratamiento" o "tratar" se refiere además a la inhibición o ralentización de la progresión de la enfermedad, físicamente, la estabilización de un síntoma discernible, fisiológicamente, por ejemplo, la estabilización de un parámetro físico, o ambos. El término "tratamiento" o "tratar" también se refiere a retrasar la aparición de una enfermedad o trastorno. En algunas realizaciones particulares, el compuesto de la invención se administra como medida preventiva. En este contexto, "prevención" o "prevenir" se refiere a una reducción del riesgo de desarrollar al menos uno de los síntomas relacionados con la enfermedad.

El término "tratar" puede incluir actuar sobre la acumulación de ácidos grasos de cadena muy larga (VLCFA) con un derivado de tienopiridona de acuerdo con la invención o una composición farmacéutica que comprende el mismo. Más específicamente, los derivados de tienopiridona de acuerdo con la invención reducen la acumulación de VLCFA y, por lo tanto, pueden anular o reducir la respuesta inflamatoria. "Tratamiento", como se usa en este documento, también cubre cualquier tratamiento de desmielinización central, insuficiencia adrenocortical o disfunción de la glándula suprarrenal. Por lo tanto, los términos "tratar", "tratando", "tratamiento" y similares, incluyen el tratamiento de síntomas relacionados con ALD y/o AMN.

El tratamiento consiste en la administración de un derivado de tienopiridona de acuerdo con la invención o una composición farmacéutica de la invención a un sujeto que presenta un trastorno declarado para curar, retrasar o ralentizar el progreso, mejorando así el estado de los pacientes.

Dentro del contexto de la invención, el término "sujeto" significa un mamífero y más particularmente un ser humano. Los sujetos a tratar según la invención pueden seleccionarse adecuadamente con base en varios criterios asociados a la enfermedad tales como tratamientos farmacológicos previos, patologías asociadas, genotipo, exposición a factores de riesgo, infección viral, así como cualquier otro biomarcador relevante que puede evaluarse mediante métodos de detección inmunológicos, bioquímicos, enzimáticos, químicos o de ácidos nucleicos.

En el caso de la ALD, el tratamiento es más particularmente adecuado para un paciente de 2 a 10 años. Como AMN es una forma adulta de ALD, el tratamiento es más particularmente adecuado para un paciente que tiene entre 20 y 39 años.

Las composiciones farmacéuticas se pueden administrar en forma de unidades de dosificación que comprenden una cantidad efectiva predeterminada de ingrediente activo por unidad de dosificación.

Las composiciones farmacéuticas se pueden adaptar para la administración a través de cualquier método adecuado deseado, por ejemplo, por método oral (incluyendo bucal o sublingual), rectal, nasal, tópica (incluyendo bucal, sublingual o transdérmica), vaginal o parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa o intradérmica). Tales composiciones se pueden preparar usando todos los procesos conocidos en la técnica farmacéutica, por ejemplo, combinando el ingrediente activo con el excipiente(s) o adyuvante(s). Preferiblemente, la composición farmacéutica según la invención está adaptada para la administración oral.

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración oral se pueden administrar como unidades separadas, como, por ejemplo, cápsulas o tabletas; polvos o gránulos; soluciones o suspensiones en líquidos acuosos o no acuosos; espumas comestibles o alimentos en espuma; o emulsiones, tales como emulsiones líquidas de aceite en agua o emulsiones líquidas de agua en aceite.

Así, por ejemplo, en el caso de la administración oral en forma de comprimido o cápsula, el componente de principio activo puede combinarse con un excipiente inerte oral, no tóxico y farmacéuticamente aceptable. Los polvos se preparan triturando el compuesto hasta un tamaño fino adecuado y mezclándolo con un excipiente farmacéutico triturado de manera similar, como, por ejemplo, un carbohidrato comestible, como, por ejemplo, almidón o manitol. También pueden estar presentes un saborizante, conservante, dispersante y colorante.

Las cápsulas se pueden producir preparando una mezcla de polvo como se ha descrito anteriormente y rellenando con ella cubiertas de gelatina moldeadas. Antes de la operación de llenado se pueden añadir a la mezcla de polvos deslizantes y lubricantes, como por ejemplo ácido silícico altamente disperso, talco, estearato de magnesio, estearato de calcio o polietilenglicol en forma sólida. También se puede añadir un disgregante o solubilizante, como por ejemplo agar-agar, carbonato cálcico o carbonato sódico, para mejorar la disponibilidad del medicamento después de la toma de la cápsula.

Además, si se desea o es necesario, se pueden incorporar a la mezcla aglutinantes, lubricantes y disgregantes adecuados, así como colorantes. Los aglutinantes adecuados incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales, como, por ejemplo, glucosa o beta-lactosa, edulcorantes hechos de maíz, caucho natural y sintético, como, por ejemplo, acacia, tragacanto o alginato de sodio, carboximetilcelulosa, polietilenglicol, ceras y similares. Los lubricantes usados en estas formas de dosificación incluyen oleato de sodio, estearato de sodio, estearato de magnesio, benzoato de sodio, acetato de sodio, cloruro de sodio y similares. Los desintegrantes incluyen, sin limitarse a ellos, almidón, metilcelulosa, agar, bentonita, goma xantana y similares. Las tabletas se formulan, por ejemplo, preparando una mezcla de polvo, granulando o prensando en seco la mezcla, agregando un lubricante y un desintegrante y

presionando toda la mezcla para dar tabletas. Se prepara una mezcla en polvo mezclando el compuesto triturado de manera adecuada con un diluyente o una base, como se describe anteriormente, y opcionalmente con un aglutinante, como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, un alginato, gelatina o polivinilpirrolidona, un retardante de disolución, como por ejemplo la parafina, un acelerador de la absorción como por ejemplo una sal cuaternaria y/o un absorbente como por ejemplo la bentonita, el caolín o el fosfato dicálcico. La mezcla de polvo se puede granular humedeciéndola con un aglutinante, como, por ejemplo, jarabe, pasta de almidón, mucílago de acacia o soluciones de celulosa o materiales poliméricos y presionándola a través de un tamiz. Como alternativa a la granulación, la mezcla de polvo se puede pasar a través de una máquina de formación de tabletas, dando grumos de forma no uniforme que se rompen para formar gránulos. Los gránulos pueden lubricarse mediante la adición de ácido esteárico, una sal de estearato, talco o aceite mineral para evitar que se peguen a los moldes de fundición de comprimidos. La mezcla lubricada luego se presiona para dar comprimidos. El compuesto según la invención también puede combinarse con un excipiente inerte de flujo libre y luego prensarse directamente para dar tabletas sin llevar a cabo los pasos de granulación o prensado en seco. Puede estar presente una capa protectora transparente u opaca que consta de una capa de sellado de goma laca, una capa de azúcar o material polimérico y una capa brillante de cera. Se pueden añadir colorantes a estos recubrimientos para poder diferenciar entre diferentes unidades de dosificación.

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración oral también se pueden formular mediante secado por aspersión de una dispersión sólida o líquida.

Los líquidos orales, tales como, por ejemplo, solución, jarabes y elixires, se pueden preparar en forma de unidades de dosificación de modo que una cantidad dada comprenda una cantidad predeterminada del compuesto. Los jarabes se pueden preparar disolviendo el compuesto en una solución acuosa con un sabor adecuado, mientras que los elixires se preparan utilizando un vehículo alcohólico no tóxico. Las suspensiones se pueden formular por dispersión del compuesto en un vehículo no tóxico. También se pueden añadir solubilizantes y emulsionantes como, por ejemplo, alcoholes isoestearílicos etoxilados y éteres de sorbitol polioxietilenado, conservantes, aditivos de sabor como, por ejemplo, aceite de menta o edulcorantes naturales o sacarina u otros edulcorantes artificiales y similares.

Las formulaciones de unidades de dosificación para administración oral pueden, si se desea, encapsularse en microcápsulas. La formulación también se puede preparar de tal manera que la liberación se prolongue o retrase, como, por ejemplo, mediante recubrimiento o incrustación de material particulado en polímeros, cera y similares.

El derivado de tienopiridona utilizado según la invención también se puede administrar en forma de sistemas de administración de liposomas, como, por ejemplo, vesículas unilamelares pequeñas, vesículas unilamelares grandes y vesículas multilamelares. Los liposomas se pueden formar a partir de diversos fosfolípidos, como, por ejemplo, colesterol, estearilamina o fosfatidilcolinas.

Por "cantidad eficaz" se entiende la cantidad del compuesto definido anteriormente que previene, elimina o reduce los efectos nocivos de la enfermedad tratada en seres humanos. Se entiende que la dosis administrada puede ser adaptada por el experto en la materia en función del paciente, la patología, la forma de administración, etc. Por ejemplo, el derivado de tienopiridona de acuerdo con la invención se puede administrar una o dos veces al día a una dosis diaria de 0,5 mg a 300 mg para un paciente humano, preferiblemente de 20 mg a 1000 mg, más preferiblemente de 60 mg a 500 mg. Se puede administrar 4, 5, 6 o 7 días a la semana como medicamento de larga duración.

En una realización particular de esta invención, el derivado de tienopiridona de acuerdo con la invención se administra como unidades de dosificación que comprenden de 0,5 mg a 1500 mg, preferiblemente de 20 mg a 1000 mg, más preferiblemente de 60 mg a 500 mg del derivado de tienopiridona de acuerdo con la invención.

La invención también se describirá con mayor detalle en los siguientes ejemplos, que no pretenden limitar el alcance de esta invención, tal como se define en las reivindicaciones adjuntas.

Ejemplos

Ejemplo 1: Síntesis de PXL770

Abreviaturas

a/a: relación entre el área de los picos de un compuesto dado y el total de las áreas de los picos en un espectro o cromatograma equivalente

Métodos analíticos

XRPD

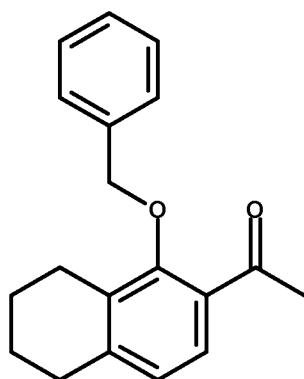
Los análisis de difracción de rayos X en polvo (XRPD) se realizaron utilizando un difractómetro Panalytical Xpert Pro

equipado con un tubo de rayos X Cu (radiación K alfa) y un sistema detector Pixcel. Las muestras se analizaron en modo de transmisión y se mantuvieron entre películas de polietileno de baja densidad. Los patrones de XRPD se clasificaron, manipularon e indexaron utilizando el software HighScore Plus 2.2c.

5 TG/DTA

Los análisis termogravimétricos (TG) se llevaron a cabo en un Perkin Elmer Diamond Analizador termogravimétrico/de temperatura diferencial (TG/DTA). Los patrones de calibración fueron indio y estaño. Las muestras se colocaron en una bandeja de muestra de aluminio, se insertaron en el horno TG y se pesaron con precisión. Las muestras se calentaron de 30 a 300 °C en una corriente de nitrógeno a una velocidad de 10 °C/minuto. La temperatura del horno se equilibró a 30 °C antes del análisis de las muestras.

1a) Síntesis de 1-(5-benciloxitetralin-6-il)etanona (1)

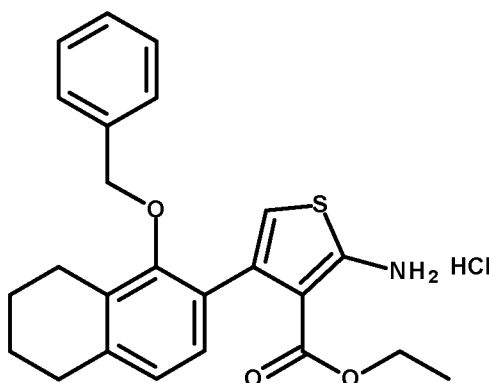


(1)

Se disolvió 6-acetil-5-hidroxitetralina (100 g, 1 eq.) en acetonitrilo (300 ml). Después de la adición de K_2CO_3 (1,1 eq.) y bromuro de bencilo (1,05 eq.), la suspensión se calentó (76 °C). Después de 48 horas, se añadió bromuro de bencilo (0,1 eq). Después de un total de 74 horas, el sólido se filtró y se lavó con acetonitrilo (200 ml) y los filtrados combinados se evaporaron.

El Compuesto 1 se obtuvo como un jarabe: m = 148,6 g, rendimiento cuantitativo, pureza a/a de 96,6 %.

1b) Síntesis de 2-amino-4-(5-benciloxitetralin-6-il)tiofeno-3-carboxilato de etilo (2)



(2)

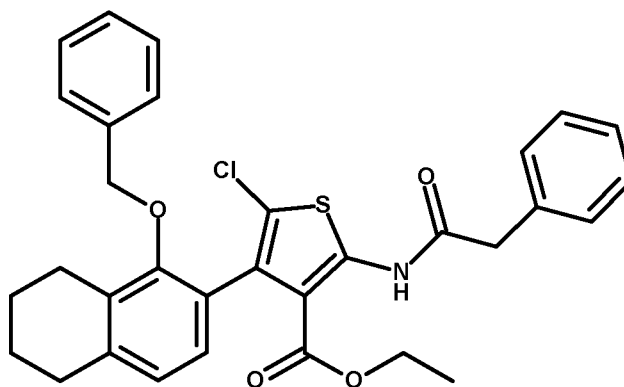
Se calentó ácido acético (70 ml) a T = 65 °C. Se añadió HMDS (1,5 eq.) durante 10 min. Posteriormente, se añadió a una solución del compuesto 1 (69,5 g, 1 eq.) y cianoacetato de etilo (1,5 eq.) en ácido acético (140 ml). La mezcla resultante se agitó a T = 65 °C por 24 hr.

Después de enfriar a temperatura ambiente, se añadieron NaOH acuoso (1 M, 140 mL) y TBME (210 mL). Las capas se separaron. La capa orgánica se lavó con NaOH acuoso (1 M, 4 x 140 mL) hasta que el pH de la fase acuosa fue básico (pH = 13). La capa orgánica se lavó con HCl acuoso (1 M, 140 mL) y H₂O (2 x 140 ml).

Se añadieron EtOH (240 mL), NaHCO₃ (1,3 eq.) y azufre (1,0 átomo eq.). Después de calentar a reflujo durante 180 min, la mezcla de reacción se concentró a 210 ml y se coevaporó con TBME (3 x 140 ml). Después de enfriar a

temperatura ambiente, la suspensión se filtró y el sólido se lavó con TBME (70 mL). Los filtrados combinados se concentraron hasta 210 ml y se añadió gota a gota HCl en dioxano (1,1 eq.) a temperatura ambiente. Después de la siembra, se observó precipitación. Se añadió gota a gota heptano (350 ml) a temperatura ambiente. Después de agitar durante 14 h, se filtró la suspensión. Después de lavar con heptano (3 x 70 mL) y secar, el compuesto 2 se recuperó como un sólido. m = 83,2 g, 71 % de rendimiento, pureza a/a de 93,7 %.

1c) Síntesis de 4-(5-benciloxitetralin-6-il)-5-cloro-2-[(2-fenilacetil)amino]tiofeno-3-carboxilato de etilo (3)



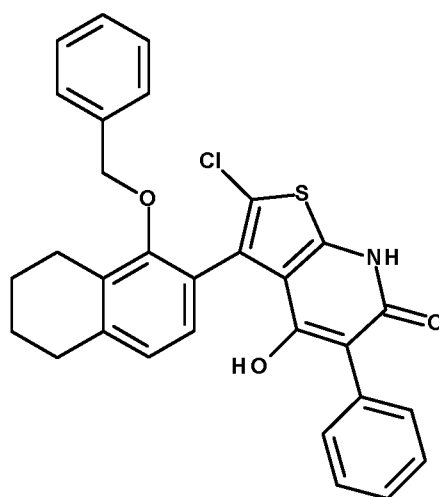
(3)

Compuesto 2 (17,69 g, 1 eq.) se disolvió en diclorometano (140 ml). La solución resultante se enfrió con hielo/agua. Con agitación, se añadió N-clorosuccinimida (1,05 eq.). La mezcla se oscureció durante unos pocos minutos. Después de 1 h, se añadió cloruro de fenilacetilo (1,25 eq.).

Después de 1 hora a 0 °C y 2 horas a temperatura ambiente, la mezcla se evaporó hasta aproximadamente 35 ml y se añadió EtOH (2 x 70 ml) y se evaporó de nuevo. La mezcla se diluyó con EtOH (35 ml) y se enfrió con hielo/agua. El producto precipitó. El sólido se filtró y se lavó con EtOH frío (3 x 18 ml).

El Compuesto 3 se obtuvo como un sólido: m = 20,99 g, 94,2 % de rendimiento, pureza a/a de 99,3 %.

1d) Síntesis de 3-(5-benciloxitetralin-6-il)-2-cloro-4-hidroxi-5-fenil-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-ona (4)

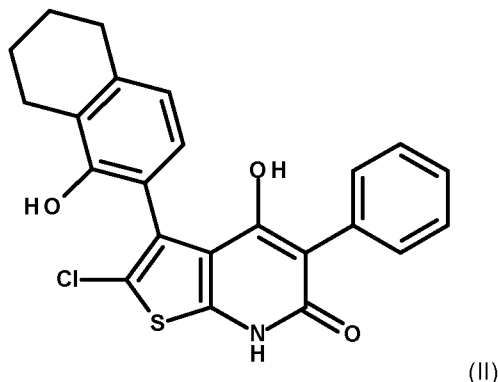


(4)

Compuesto 3 (19,88 g, 1 eq.) se solubilizó en metiltetrahidrofurano (120 ml) y la mezcla de reacción se enfrió a una temperatura entre -16 °C y -10 °C (NaCl/hielo). Se añadió ter-butóxido de potasio (5 eq.) en cuatro porciones. Luego, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 65 min a temperatura ambiente. Se realizó una adición gota a gota de HCl 2N (5 eq.) a T = 0-5 °C (agua/hielo) y la mezcla resultante se agitó vigorosamente. La fase orgánica se lavó con NaCl_(ac) (11 %, 1 x 50 mL) y agua (2 x 50 mL). La fase orgánica se concentró a una solución de ~50 %. Se añadió metiltetrahidrofurano (80 ml) y la solución resultante se concentró hasta ~50 % de solución. Se añadió TBME (100 ml) y la solución resultante se concentró a una solución de ~50 % (este paso se repitió 3 veces). Luego, se añadieron TBME (25 mL), semillas del compuesto 4 y n-heptano (20 ml) y la solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se concentró a

aproximadamente 50 mL, se filtró, se enjuagó con licor madre y se lavó con n-Heptano (2 x 40 mL) y se secó. El Compuesto 4 se obtuvo como un sólido granular. Rendimiento 88 %, pureza de a/a 99,5 %.

1e) Síntesis de 2-cloro-4-hidroxi-3-(5-hidroxitetralin-6-il)-5-fenil-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-ona (I)



El Compuesto (15 g, 1 eq.) se disolvió en 75 ml de diclorometano y se enfrió a T = -10 °C/-15 °C (con hielo/NaCl). Se añadió gota a gota BCl₃ (1,5 equiv., solución: 1 mol/L en diclorometano) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 15 horas. La mezcla resultante se enfrió con hielo/agua y se añadió agua (75 ml). La mezcla resultante se agitó vigorosamente y la fase orgánica se extrajo con agua/MeOH (9:1 v/v, 5 x 45 mL). La fase orgánica se concentró, se realizó un cambio de solvente con tolueno (3 x 90 mL) y se diluyó con tolueno para llegar a un volumen final de 90 mL de tolueno. La mezcla resultante se calentó a reflujo y se añadieron 15 ml de metanol. Se obtuvo una solución pardusca con pocas partículas. Las semillas se agregaron a T = 40 °C, se calentaron a T = 52 °C y se enfriaron a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó durante la noche y luego se enfrió con hielo/NaCl (T = -10 °C/-15 °C) durante 100 minutos. El producto precipitado se filtró, se lavó con tolueno/heptano 1:2 v/v (15 mL) y heptano (15 mL) y se secó. Se obtuvieron cristales del compuesto (II): 87 % de rendimiento, pureza a/a de 99,0 %.

1f) Síntesis de la sal potásica monohidratada de 2-cloro-4-hidroxi-3-(5-hidroxitetralin-6-il)-5-fenil-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-ona (Ia)

El Compuesto (I) se suspendió en una mezcla de agua/isopropanol (1/1,5 partes de cada disolvente) y luego se añadieron de 0,50 a 0,55 eq de carbonato de potasio. El pH era de aproximadamente 12 (papel indicador de pH) al final de la adición de carbonato de potasio. Después de 3 horas de agitación a 50 °C, la suspensión era más espesa y el pH era de aproximadamente 8 (papel indicador de pH). La temperatura se elevó a 80 °C hasta que se obtuvo una solución (10-15 minutos). Se puede hacer una aclaración en este punto del proceso si es necesario. Se añadieron 7 partes de agua y luego la mezcla de reacción se enfrió a 40 °C (se observó una solución turbia). El disolvente se destiló a presión reducida (de 18000 Pa a 4000 Pa (180 mbar a 40 mbar)) a 40 °C hasta que quedaron 7 partes de disolvente en el reactor. Aquí puede ocurrir la cristalización de la sal de potasio monohidratada. Se añadieron 4,2 partes de agua y la mezcla se sembró con el compuesto (I) (1 a 2 % de semillas). A continuación, la suspensión se enfrió desde 40 °C hasta 5 °C en 7 horas (5 °C/hora) y se mantuvo a 5 °C durante varias horas. La suspensión se filtró. La torta se lavó dos veces con 1,42 partes de agua. El sólido recogido se secó a 40 °C al vacío con un rendimiento mínimo del 80 % del Compuesto (Ia), con la pureza química requerida (es decir, 98 %).

Ejemplo 2: Caracterización de PXL770

a) Los datos de difracción de rayos X en polvo (XRPD) del compuesto (Ia) indicaron que estaba compuesto por un material cristalino. La descripción de XRPD del compuesto (Ia) se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1

Pico num.	2-teta (°)	valor d (Å)	Intensidad relativa (%)
1	4,910	17,9826	15
2	11,560	7,6486	8
3	13,010	6,7992	25
4	14,720	6,0130	100
5	16,450	5,3843	11
6	17,330	5,1128	49
7	17,770	4,9872	14
8	18,690	4,7437	12
9	19,220	4,6141	16

(continuación)

Pico num.	2-teta (°)	valor d (Å)	Intensidad relativa (%)
10	19,640	4,5164	20
11	20,190	4,3946	8
12	21,170	4,1933	23
13	21,580	4,1145	12
14	22,190	4,0028	12
15	22,700	3,9140	26
16	23,240	3,8243	17
17	23,860	3,7263	23
18	24,410	3,6435	43
19	25,330	3,5133	10
20	26,230	3,3947	17
21	26,730	3,3323	23
22	28,700	3,1079	25
23	29,590	3,0164	11
24	29,950	2,9810	13
25	30,960	2,8860	36
26	31,570	2,8316	15
27	32,200	2,7776	18
28	33,080	2,7057	14
29	33,530	2,6704	17
30	34,050	2,6308	10
31	34,750	2,5794	26
32	35,530	2,5246	56
33	35,950	2,4960	22
34	36,660	2,4493	20
35	37,300	2,4087	11
36	38,320	2,3469	16
37	39,490	2,2801	13

b) El análisis TG/DTA mostró una pérdida de peso inicial del 1,1 % entre 30 y 100 °C, seguida de una pérdida de peso mayor del 3 % entre 117 y 160 °C debido a la pérdida de agua ligada. La segunda pérdida de peso estuvo acompañada por una gran endotermia y las pérdidas de peso combinadas del 4 % se aproximan a la pérdida de peso teórica para un monohidrato (3,75 % p/p). El compuesto se descompuso por encima de 240 °C.

Ejemplo 3: Disminución de los niveles de ácidos grasos de cadena muy larga (VLCFA) en linfocitos derivados de pacientes con AMN tratados con PXL770 (invención)

La acumulación de ácidos grasos de cadena muy larga (VLCFA) en el plasma y los tejidos (incluidos el cerebro y la médula espinal) es un sello distintivo de la enfermedad de AMN. Se ha demostrado en la literatura que la carga de VLCFA aumenta con la gravedad de la enfermedad y que la reducción de VLCFA puede anular la respuesta inflamatoria. Por lo tanto, la reducción de la sobrecarga de VLCFA, especialmente en el sistema nervioso central, tiene el potencial de detener o revertir la progresión de la enfermedad en AMN.

Para demostrar la eficacia de PXL770 para reducir los ácidos grasos de cadena muy larga (VLCFA) in vitro, el estudio se centra en la evaluación del nivel de ácido hexacosanoico, que es el VLCFA más frecuente, en células de control sanas y en linfocitos primarios derivados de pacientes humanos con AMN. Las líneas celulares se obtuvieron de Coriell Cell Repositories. Los linfocitos se cultivaron en RPMI-1640 con suero fetal bovino (FBS por sus siglas en inglés) al 10 %. Los cultivos se dividieron en una proporción 1:5. Como control se utilizaron linfocitos de pacientes sanos. Todos los tratamientos se realizaron en medios completos que contenían suero bovino fetal (FBS, 15 %). Todas las células cultivadas se mantuvieron a 37 °C en 5 % de CO₂.

Luego se midió el contenido de VLCFA como sigue. Las muestras se ajustan a un volumen final de 0,5 a 1 ml con agua de grado LC-MS y se enriquecen con 10 ng de ácido lignocérico-d4 como patrón interno. La muestra se acidifica a pH 3-4 con ácido clorhídrico diluido y se extrae con isooctano-acetato de etilo (9:1) tres veces al mismo volumen. El extracto se seca bajo nitrógeno y el residuo se reconstituye en metanol-agua-acetato de amonio (75:25: 10 mM).

Ácidos grasos totales: Después de preparar las muestras con el estándar interno como se describe anteriormente para los ácidos grasos libres, se agrega hidróxido de sodio acuoso hasta una concentración final de 1 M. La mezcla se incubó a 37 °C en la oscuridad bajo nitrógeno durante 3 h. Luego, las muestras se acidifican, extraen y reconstituyen como se describe anteriormente.

Análisis LC-MS de ácidos grasos: Los extractos de ácidos grasos reconstituidos se someten a HPLC en una columna Targa C8 (2x10 mm) utilizando una mezcla de disolventes de metanol-acetato de amonio acuoso (10 mM). La columna se eluye con un gradiente de metanol (75 a 90 %) durante 8 min a un flujo de 0,25 ml/min. El eluyente de la columna se introduce directamente en el analizador de masas (QTRAP5500) y se controla en busca de ácidos grasos mediante el método pseudo MRM publicado. Bajo estas condiciones, los VLCFA eluyen entre 5 y 8 min. Cada ácido graso se cuantifica frente al patrón interno añadido.

En primer lugar, la evolución del ácido hexacosanóico en los linfocitos se controla en células de control sanas y en linfocitos primarios derivados de pacientes humanos con AMN; y en un segundo tiempo se asignó un tratamiento de PXL770 a linfocitos primarios derivados de humanos con AMN en cultivo a diferentes concentraciones (5 μ M, 10 μ M, 25 μ M, 50 μ M) durante una semana y se midió el nivel de ácido hexacosanóico.

Los resultados de este estudio se presentan en la Figura 1. Esta figura muestra que el nivel de ácido hexacosanóico (expresado como ng por 10⁶ células) disminuye en los linfocitos de pacientes con AMN cuando son tratados con diferentes dosis de PXL770. PXL770 a todas las dosis probadas disminuye fuertemente el nivel de ácido hexacosanóico y alcanza a las dosis de 5 y 50 μ M al mismo nivel que el presente en los linfocitos de los controles sanos.

En conclusión, se puede confirmar que PXL770 reduce fuertemente el nivel de ácido hexacosanóico y, más ampliamente, los VLCFA más prevalentes en linfocitos derivados de pacientes con AMN.

Ejemplo 4: Sobreexpresión de ABCD2 en fibroblastos AMN cultivados en presencia de PXL770 (invención)

Las investigaciones terapéuticas en AMN también se han centrado en la inducción de la proteína relacionada con la adrenoleucodistrofia del transportador peroxisomal funcionalmente redundante (ABCD2, también conocida como ALDRP). ABCD2 tiene una similitud de secuencia significativa con ABCD1 (también conocido como ALDP), el gen mutado/eliminado en AMN y, por lo tanto, puede compensar la pérdida de ABCD1 cuando se sobreexpresa.

Para demostrar que la presencia de PXL770 en el cultivo de fibroblastos de AMN aumenta la expresión de los niveles de ABCD2, se realizó una transferencia western para comparar los niveles de ABCD2 en fibroblastos de AMN en ausencia y en presencia de PXL770. Más específicamente, la extracción de la proteína se realizó de la siguiente manera.

Las células se lavaron con solución salina amortiguada con Tris fría (base Trizma 20 mM y NaCl 137 mM, pH 7,5) y se lisaron en amortiguador de carga de muestra 1X SDS (base Trizma 62,5 mM, SDS al 2 % [p/v], glicerol al 10 %), y después de sonicación y centrifugación a 15,000 g durante 5 min, el sobrenadante se usó para el ensayo de inmunotransferencia. La concentración de proteína de las muestras se determinó con el reactivo de ensayo de proteína compatible con detergente (Bio-Rad) usando BSA como estándar. La muestra se hirvió durante 3 min con 0,1 volúmenes de una mezcla de β -mercaptoetanol al 10 % y azul de bromofenol al 0,5 %. Luego, 40 μ g de proteína celular total se resolvieron mediante electroforesis en geles de poliacrilamida al 8 o al 12 %, se electrotransferieron y bloquearon con solución salina amortiguada con Tris que contenía Tween 20 (TBST; base Trizma 10 mM, pH 7,4, Tween 20 al 1 % y 150 NaCl mM) con leche descremada al 5 %. Después de la incubación con anticuerpos contra ABCD2, ABCD3 y β -actina a 4° durante la noche, las membranas se lavaron con TBST y se incubaron con IgG anti-conejo o de ratón conjugada con peroxidasa de rábano picante durante 1 hora a temperatura ambiente. Las membranas se detectaron mediante autorradiografía usando ECL-plus (Amersham Biosciences) después de lavar con amortiguador TBST.

Los resultados del análisis de transferencia Western se presentan en la Figura 2. Esta figura nos permite asegurar que existe una sobreexpresión de las proteínas ABCD2 en los fibroblastos AMN cuando se tratan con PXL770 en concentraciones de 5, 10, 25 μ M en comparación con su nivel en los fibroblastos de control y, lo que es más interesante, en comparación con los fibroblastos AMN no tratados con PXL770.

Se sabía en la literatura que la sobreexpresión de ABCD2 conduce a una acumulación reducida de VLCFA en fibroblastos cultivados de pacientes con AMN (Kemp S., Wei H. M., Lu J. F., Braiterman L. T., McGuinness M. C., Moser A. B., Watkins P. A. and Smith K. D. (1998) Gene redundancy and pharmacological gene therapy: implications for X-linked adrenoleukodystrophy. Nat. Med. 4, 1261–1268).

En consecuencia, PXL770 induce la sobreexpresión de ABCD2, lo que puede compensar la falta de ABCD1 y permite que una o ambas de estas proteínas alternativas contribuyan a la reducción de la acumulación de VLCFA.

Ejemplo 5: Disminución de los niveles de ácidos grasos de cadena muy larga (VLCFA) en células gliales mixtas de ratón AMN

Los inventores llevaron a cabo un estudio de la medición de la acumulación de VLCFA en células gliales mixtas de ratón con AMN cuando no están sometidas a ningún tratamiento y cuando se tratan con PXL770 (invención) a diferentes dosis.

Se compraron parejas reproductoras de ratones C57BL6 en Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME) y se mantuvieron en las instalaciones para animales del Sistema de Salud Henry Ford (HFHS por sus siglas en inglés). Todos los procedimientos con animales fueron aprobados por el Comité de Revisión de Animales de HFHS y todos los animales recibieron atención humanitaria de conformidad con las pautas experimentales de HFHS y los criterios de atención humanitaria del Consejo Nacional de Investigación (*Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio*). Se criaron ratones con el gen *Abcd1* eliminado y se usaron para extraer células gliales mixtas. Se prepararon cultivos primarios enriquecidos en astrocitos a partir de la corteza completa de ratones C57BL/6 de 1 día de edad. Brevemente, la corteza se diseccionó rápidamente en HBSS sin calcio/magnesio enfriado con hielo a pH 7,4 como se describió anteriormente. El tejido se picó, se incubó en HBSS que contenía tripsina (2 mg/ml) durante 20 min y se lavó dos veces en medio de placa que contenía FBS al 10 % y gentamicina 10 µg/ml y luego se desbarató triturando con una pipeta Pasteur, después de lo cual las células se sembraron en matraces de cultivo de 75 cm² (Falcon, Franklin, NJ). Después de la incubación a 37 °C en 5 % de CO₂ durante 1 día, el medio se cambió completamente al medio de cultivo (DMEM que contenía FBS al 10 % y gentamicina 10 µg/ml). Los cultivos recibieron intercambios medios con medio fresco dos veces por semana. Todas las células cultivadas se mantuvieron a 37 °C en 5 % de CO₂. Después de 10 días, se usaron cultivos gliales mixtos confluentes para los experimentos descritos.

Se midió el nivel de ácido hexacosanóico en seis grupos de células gliales mixtas. Estos seis grupos incluyen células gliales mixtas de tipo salvaje, células gliales mixtas ALD-KO (que corresponde a células gliales derivadas de ratón con AMN, ALD es otro nombre para ABCD1) y células gliales mixtas ALD-KO con un tratamiento de diferentes concentraciones de PXL770 (5 µM, 10 µM, 25 µM, 50 µM).

Los resultados se muestran en la Figuras 3. Cuando se cultivan células gliales mixtas de ratón ALD-KO en presencia de PXL770 (25 µM), disminuye la acumulación de ácido hexacosanóico en estas células.

En conclusión, PXL770 desempeña un papel en la reducción de la acumulación de ácido hexacosanóico y, más ampliamente, de VLCFA en general.

Ejemplo 6: Sobreexpresión de ABCD2 en células gliales mixtas de corteza cerebral de ratón ALD-KO en presencia de PXL770 (invención)

Se realizó el mismo protocolo experimental que en el ejemplo 4 para células gliales mixtas de corteza cerebral de ratón ALD-KO. Este modelo es principalmente un modelo para AMN.

La Figura 4 muestra que, como en los fibroblastos derivados de pacientes con AMN del ejemplo 4, hay una sobreexpresión de ABCD2 cuando las células gliales mixtas de la corteza cerebral de ratón ALD-KO se trataron con PXL770 en comparación con las células gliales mixtas de la corteza cerebral de ratón ALD-KO no tratadas (ctl).

En conclusión, PXL770 aumentó el nivel de ABCD2 en células gliales mixtas de corteza cerebral de ratón ALD-KO.

Ejemplo 7: Disminución de los niveles de ácidos grasos de cadena muy larga (VLCFA) en linfocitos derivados de pacientes con ALD tratados con PXL770 (invención)

Después de estudios en células de pacientes con la forma más grave de ALD (AMN), los inventores replicaron el mismo método de estudio que en el ejemplo 1 para analizar el efecto de PXL770 en células de pacientes con X-ALD (fenotipo inflamatorio grave).

Los resultados que se presentan en la Figura 5 muestran que el nivel de ácido hexacosanóico disminuye en linfocitos de pacientes con ALD cuando son tratados con concentraciones crecientes de PXL770 alcanzando el mismo nivel que el presente en linfocitos de controles sanos.

PXL770 reduce fuertemente el nivel de VLCFA en linfocitos derivados de pacientes con ALD.

Ejemplo 8: Sobreexpresión de ABCD2 en fibroblastos ALD cultivados en presencia de PXL770 (invención)

Al igual que en el ejemplo 4, para demostrar que la presencia de PXL770 en el cultivo de fibroblastos de pacientes con ALD aumenta la expresión de los niveles de ABCD2, se realizó una transferencia Western para comparar los niveles de ABCD2 en fibroblastos de pacientes con ALD en ausencia y en presencia de PXL770.

El resultado de la transferencia Western se presenta en la Figura 6. Estos resultados muestran que existe una sobreexpresión de las proteínas ABCD2 en fibroblastos ALD cuando se tratan con PXL770, especialmente con baja concentración de PXL770 (5 µM).

En conclusión, PXL770 puede compensar la falta de ABCD1 y así contribuir a la reducción de la acumulación de VLCFA.

Ejemplo 9: Experimento in vivo en ratón X-ALD

Se trataron ratones macho ABCD1-KO (n=15) con alimentación forzada oral de PXL770 (invención) (75 mg/kg) dos veces al día, todos los días durante 60 días. Los ratones ABCD1-KO no tratados (n=15) y los ratones de tipo salvaje (WT por sus siglas en inglés) (n=12) sirvieron como controles. Se sacrificaron los ratones después del tratamiento y se recogieron la corteza cerebral y el plasma para el análisis VLCFA. El análisis se realizó de acuerdo con los protocolos estandarizados de Lipidomics Core Facility y los datos se expresan como niveles de µg/ml de VLCFA. Se seleccionó ácido hexacosanóico (C26:0) como representante de los VLCFA.

Se realizó un ANOVA unidireccional con la prueba de comparación múltiple de Dunnett para evaluar el efecto de PXL770 en los VLCFA del cerebro (**** p<0,0001, *** p<0,001). Se realizó una prueba de Kruskal-Wallis con la prueba de comparación múltiple de Dunn para evaluar el efecto de PXL770 en los VLCFA del plasma (**** p<0,0001, *** p<0,01).

Como se muestra en las Figuras 7 y 8, PXL770 reduce significativamente la acumulación de VLCFA tanto en la corteza cerebral como en el plasma de ratones X-ALD, respectivamente.

Ejemplo 10: Disminución de los niveles de ácidos grasos de cadena muy larga (VLCFA) en linfocitos derivados de pacientes con AMN y ALD tratados con metformina

Los experimentos descritos en los Ejemplos 3 y 7 fueron realizados con metformina (compuesto comparativo) por el mismo laboratorio y descritos por Singh et al. en Journal of Neurochemistry, 2016; 138, 86-100.

Los resultados de estos experimentos se muestran en la Figura 9.

Se observó que la metformina a 5 mM disminuyó el contenido de VLCFA en los linfocitos derivados de pacientes con AMN y ALD en -29 % y -42 %, respectivamente, después de 7 días de tratamiento, lo que no fue suficiente para proporcionar un efecto de normalización como se muestra en la Figura 9 (el contenido de VLCFA se mantuvo más alto que con el control).

Por el contrario, PXL770 (compuesto de la invención), cuando se administró a una concentración mucho más baja (5 µM) proporcionó un efecto de normalización tanto en pacientes con AMN (ver Ejemplo 3) como en pacientes con ALD (ver Ejemplo 7).

Este ejemplo demuestra que PXL770 reduce el contenido de VLCFA en células derivadas de pacientes con AMN y ALD con una mayor eficacia y una mayor potencia que la metformina.

Ejemplo 11: Comparación directa entre PXL770 (invención) y metformina (comparativa)

Para comparar la eficacia de PXL770 y metformina para reducir los ácidos grasos de cadena muy larga (VLCFA) in vitro, el estudio se centra en la evaluación del nivel de ácido hexacosanóico, que es el VLCFA más frecuente, en células de control sanas y en fibroblastos primarios derivados de paciente humano con AMN. Las líneas celulares se obtuvieron de Coriell Cell Repositories. Los fibroblastos se cultivaron en DMEM con FBS al 15 %. Los cultivos se dividieron en una proporción 1:5. Como control se usaron fibroblastos de pacientes sanos. Todos los tratamientos se realizaron en medios completos que contenían suero bovino fetal (FBS, 15 %). Todas las células cultivadas se mantuvieron a 37 °C en 5 % de CO₂.

Luego se midió el contenido de VLCFA como sigue. Las muestras se ajustan a un volumen final de 0,5 a 1 ml con agua de grado LC-MS y se enriquecen con 10 ng de ácido lignocérico-d4 como patrón interno. La muestra se acidifica a pH 3-4 con ácido clorhídrico diluido y se extrae con isooctano-acetato de etilo (9:1) tres veces al mismo volumen. El extracto se seca bajo nitrógeno y el residuo se reconstituye en metanol-agua-acetato de amonio (75:25:10 mM).

Ácidos grasos totales: Después de preparar las muestras con el estándar interno como se describe anteriormente para los ácidos grasos libres, se agrega hidróxido de sodio acuoso hasta una concentración final de 1 M. La mezcla se incubó a 37 °C en la oscuridad bajo nitrógeno durante 3 h. Luego, las muestras se acidifican, extraen y reconstituyen como se describe anteriormente.

Análisis LC-MS de ácidos grasos: Los extractos de ácidos grasos reconstituidos se someten a HPLC en una columna Targa C8 (2x10 mm) utilizando una mezcla de disolventes de metanol-acetato de amonio acuoso (10 mM). La columna se eluye con un gradiente de metanol (75 a 90 %) durante 8 min a un flujo de 0,25 ml/min. El eluyente de la columna se introduce directamente en el analizador de masas (QTRAP5500) y se controla en busca de ácidos grasos mediante el método pseudo MRM publicado. Bajo estas condiciones, los VLCFA eluyen entre 5 y 8 min. Cada ácido graso se cuantifica frente al patrón interno añadido.

El estudio planificó diferentes grupos de pacientes. En primer lugar, la evolución del ácido hexacosanóico en los fibroblastos se controla en células de control sanas y en fibroblastos primarios derivados de pacientes humanos con AMN; y en un segundo tiempo se asignó un tratamiento de PXL770 a fibroblastos primarios derivados de humano con AMN en cultivo a diferentes dosis (PXL770: 0,1, 0,5, 1, 2, 3,5 y 5µM; metformina: 100, 200, 300 y 400 µM) durante una semana y se midió el nivel de ácido hexacosanóico.

Los resultados de este estudio se presentan en la Figura 10. Esta figura muestra que el nivel de ácido hexacosanóico (expresado como ng por 10⁶ células) disminuye en los fibroblastos de pacientes con AMN cuando son tratados con dosis crecientes de PXL770. Además, se alcanza una potencia y eficacia mucho mayor con PXL770 en comparación con la metformina.

Ejemplo 12: Sobreexpresión de ABCD2 en fibroblastos de pacientes con AMN y ALD cultivados en presencia de metformina (comparativa)

Los experimentos descritos en los Ejemplos 4 y 6 fueron realizados con metformina por el mismo laboratorio y descritos por Singh et al. en Journal of Neurochemistry, 2016; 138, 86-100.

Los resultados de estos experimentos se muestran en la Figura 11.

Se observó que la metformina a una concentración muy de 5 mM solo aumentaba ligeramente la expresión de la proteína ABCD2 en fibroblastos derivados de pacientes con AMN y ALD.

Por el contrario, PXL770, cuando se administró a una concentración mucho más baja (5 µM) proporcionó un efecto mucho mayor. Por lo tanto, PXL770 tiene mayor eficacia y potencia que la metformina.

Ejemplo 13: Sobreexpresión de ABCD2 en células gliales mixtas de corteza cerebral de ratón AMN-KO en presencia de metformina (comparativa)

El mismo protocolo experimental que en el ejemplo 6 fue realizado con metformina por el mismo laboratorio y descrito por Singh et al. en Revista de Neuroquímica, 2016; 138, 86-100.

Los resultados de estos experimentos se muestran en la Figura 12.

Se observó que la metformina a 100 µM inducía un aumento limitado en los niveles de proteína ABCD2 en células gliales de ratones ABCD1-KO.

Por el contrario, PXL770, cuando se administró a una concentración mucho más baja (5 µM) proporcionó un efecto mucho mayor. Por lo tanto, PXL770 tiene mayor eficacia y potencia que la metformina.

Ejemplo 14: Experimento in vivo en ratón X-ALD

Se trataron ratones macho ABCD1-KO (n=8) con alimentación forzada oral de PXL770 (invención) (75 mg/kg) dos veces al día, todos los días durante 90 días. Los ratones ABCD1-KO no tratados (n=8) y los ratones de tipo salvaje (WT por sus siglas en inglés) (n=8) sirvieron como controles. Se sacrificaron los ratones después del tratamiento y se recogió la médula espinal para el análisis VLCFA. El análisis se realizó de acuerdo con los protocolos estandarizados de Lipidomics Core Facility y los datos se expresan como niveles de µg/ml de VLCFA. Se seleccionó ácido hexacosanóico (C26:0) como representante de los VLCFA.

Como se muestra en la Figura 13, PXL770 reduce significativamente la acumulación de VLCFA en la médula espinal de ratones X-ALD.

Ejemplo 15: Disminución de los niveles de ácidos grasos de cadena muy larga (VLCFA) en fibroblastos derivados de pacientes con AMN tratados con diversas tienopiridonas

El experimento descrito en el Ejemplo 3 se reprodujo con varios compuestos de tienopiridona, a saber:

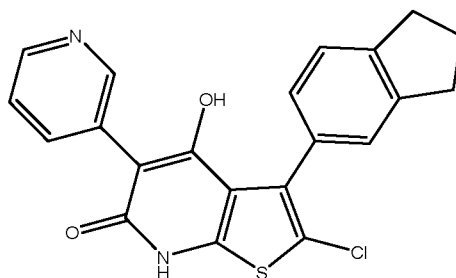
PXL770: 2-cloro-3-(5-hidroxitetralin-6-il)-6-oxo-5-fenil-7H-tieno[2,3-b]piridin-4-olato de potasio (invención).

PXL700: 2-cloro-4-hidroxi-3-indan-5-il-5-(3-piridil)-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-ona (comparativa)

PXL702: 2-cloro-4-hidroxi-3-indan-5-il-5-fenil-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-ona (invención)

PXL695: 2-cloro-5-(4-fluorofenil)-4-hidroxi-3-indan-5-il-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-ona (invención), cada uno probado a concentraciones de 0,1 a 5 µM.

PXL700 tiene la siguiente fórmula:



Se realizó un ANOVA unidireccional con la prueba de comparación múltiple de Dunnett para evaluar el efecto de PXL770 en los VLCFA del cerebro (**** $p < 0,0001$, *** $p < 0,001$). Se realizó una prueba de Kruskal-Wallis con la prueba de comparación múltiple de Dunn para evaluar el efecto de PXL770 en los VLCFA del plasma (**** $p < 0,0001$, *** $p < 0,01$).

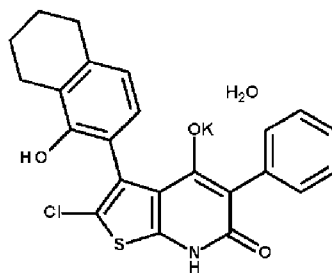
Como se muestra en la Figura 14, PXL770, PXL695 y PXL702 exhibieron una disminución comparable en los niveles de VLCFA, mientras que PXL700 (que no está incluido dentro de las tienopiridonas de acuerdo con esta invención) exhibió ningún efecto o un efecto muy limitado.

Estos compuestos se compararon además a una concentración de 5 μM con metformina a 400 μM . Como se muestra en la Figura 15, la metformina también mostró un efecto muy limitado o nulo.

REIVINDICACIONES

1. Un derivado de tienopiridona seleccionado del grupo que consiste en 2-cloro-4-hidroxi-3-(5-hidroxitetralin-6-il)-5-fenil-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-ona, 2-cloro-5-(4-fluorofenil)-4-hidroxi-3-indan-5-il-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-ona, 2-cloro-4-hidroxi-3-indan-5-il-5-fenil-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-ona, y sus sales y/o solvatos farmacéuticamente aceptables, para su uso en el tratamiento de adrenoleucodistrofia y/o adrenomieloneuropatía.

2. Un derivado de tienopiridona para su uso en el tratamiento de adrenoleucodistrofia y/o adrenomieloneuropatía, en donde dicho derivado de tienopiridona es una sal de potasio monohidrato de 2-cloro-4-hidroxi-3-(5-hidroxitetralin-6-il)-5-fenil-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-ona que tiene la Fórmula (Ia):



(Ia)

3. El derivado de tienopiridona para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde dicho derivado de tienopiridona se administra una o dos veces al día a una dosis diaria de 0,5 mg a 3000 mg para un paciente humano, preferiblemente de 20 mg a 1000 mg, más preferiblemente de 60 mg a 500 mg.

4. El derivado de tienopiridona para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde dicho derivado de tienopiridona es eficaz para tratar la desmielinización central, la insuficiencia adrenocortical o la disfunción de la glándula suprarrenal.

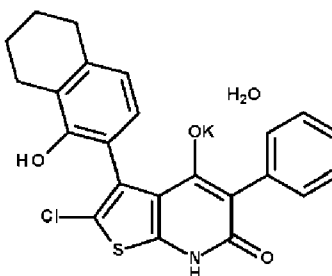
5. El derivado de tienopiridona para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 que es para su uso en el tratamiento de adrenomieloneuropatía en un sujeto adulto que tiene entre 20 y 39 años.

6. El derivado de tienopiridona para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 que es para su uso en el tratamiento de adrenoleucodistrofia en un sujeto que tiene de 2 a 10 años.

7. El derivado de tienopiridona para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 que se administra por vía oral.

8. Una composición farmacéutica que comprende (i) un derivado de tienopiridona seleccionado del grupo que consiste en 2-cloro-4-hidroxi-3-(5-hidroxitetralin-6-il)-5-fenil-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-ona, 2-cloro-5-(4-fluorofenil)-4-hidroxi-3-indan-5-il-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-ona, 2-cloro-4-hidroxi-3-indan-5-il-5-fenil-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-ona o una sal y/o solvato farmacéuticamente aceptable de los mismos y (ii) un excipiente farmacéuticamente aceptable para su uso en el tratamiento de adrenoleucodistrofia y/o adrenomieloneuropatía.

9. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 8 en donde el derivado de tienopiridona es una sal de potasio monohidrato de 2-cloro-4-hidroxi-3-(5-hidroxitetralin-6-il)-5-fenil-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-ona que tiene la Fórmula (Ia):



(Ia)

Figura 1

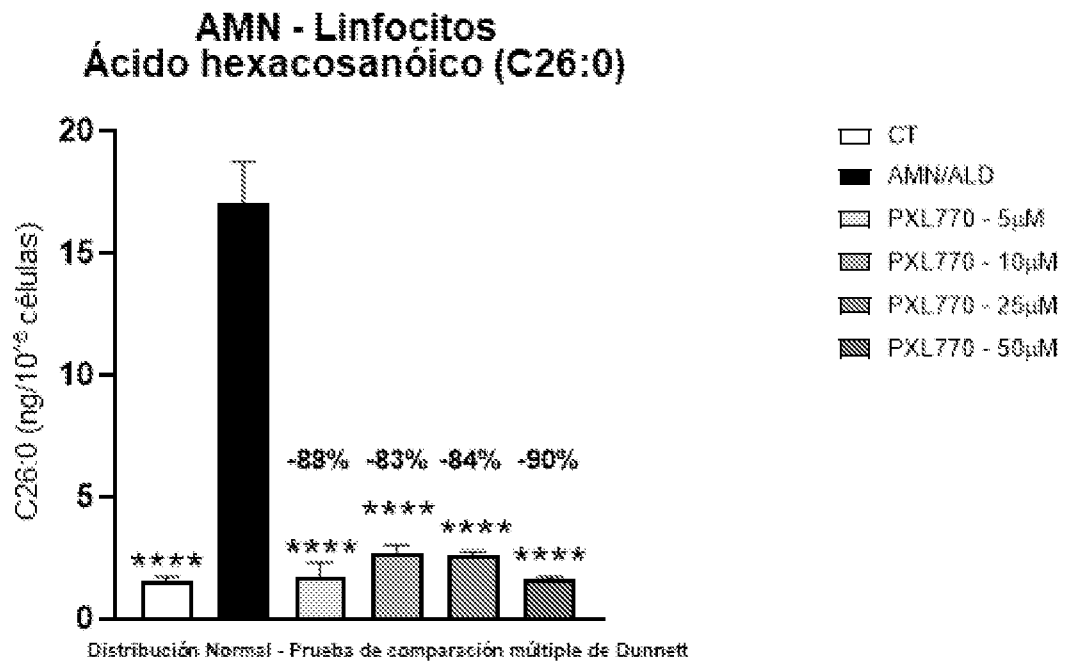


Figura 2

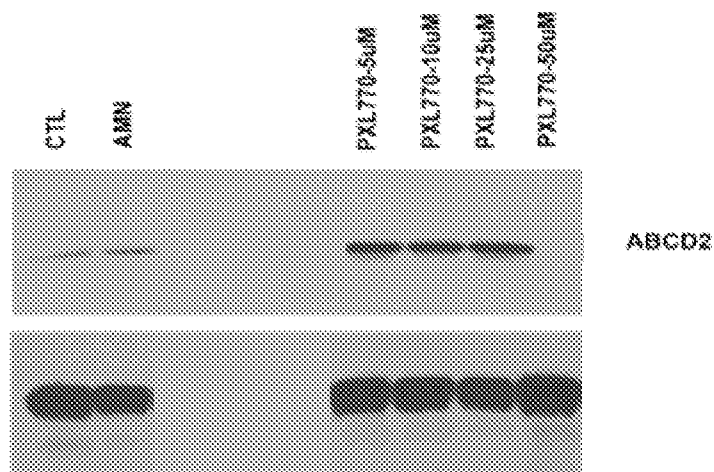


Figura 3

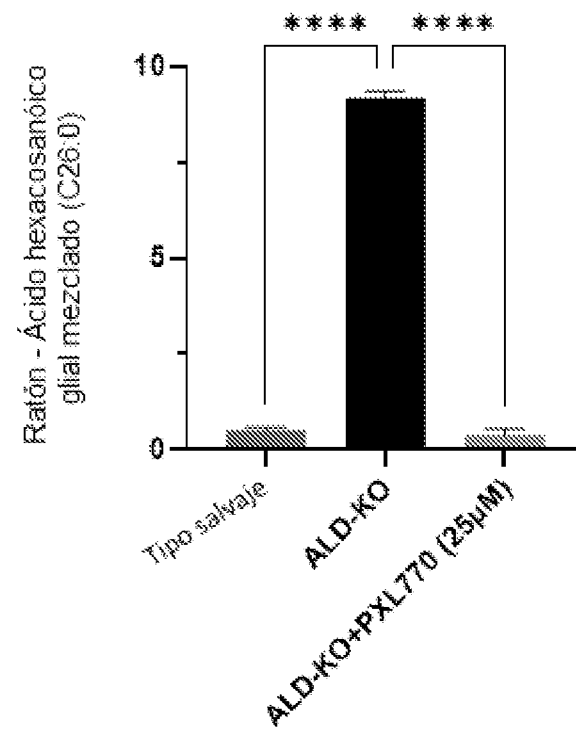


Figura 4

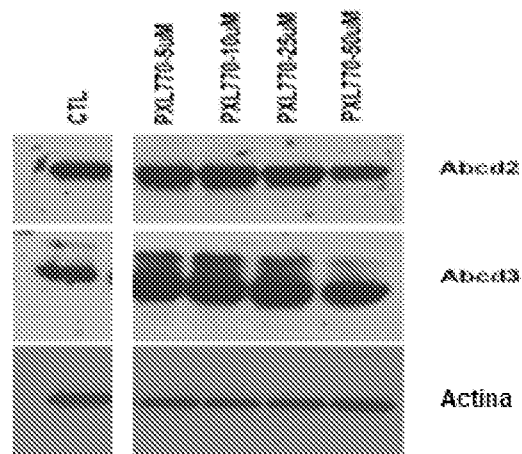


Figura 5

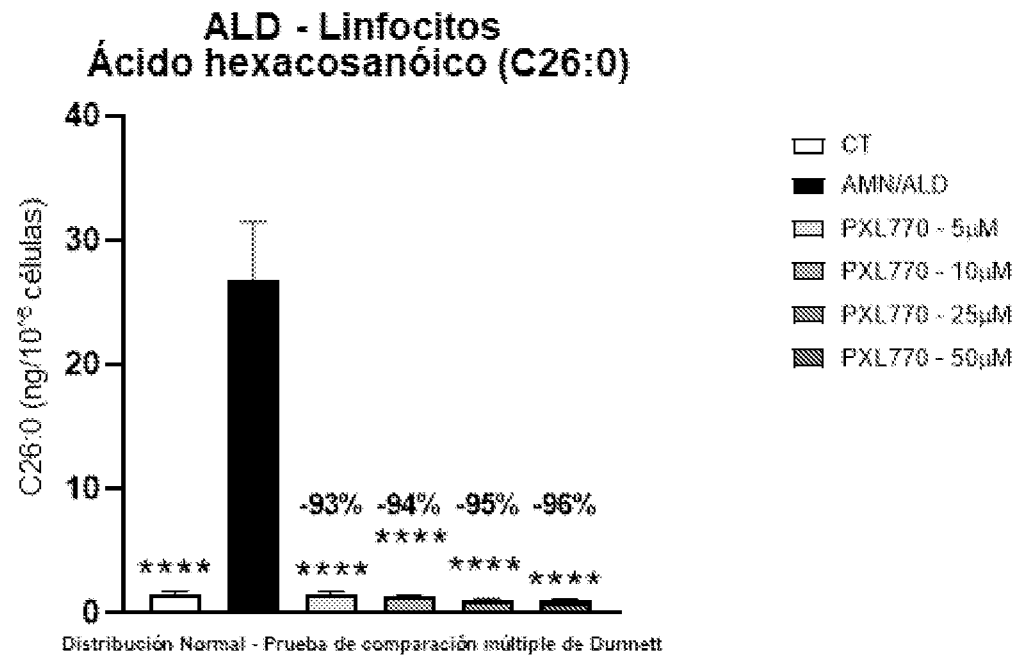


Figura 6

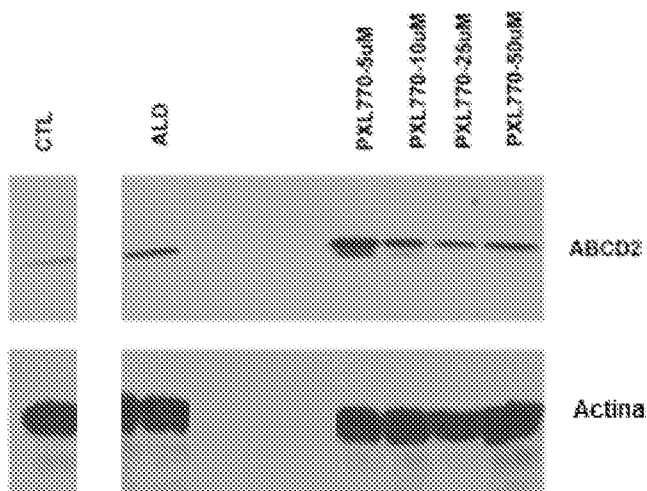


Figura 7

Ácido hexacosanóico cerebral

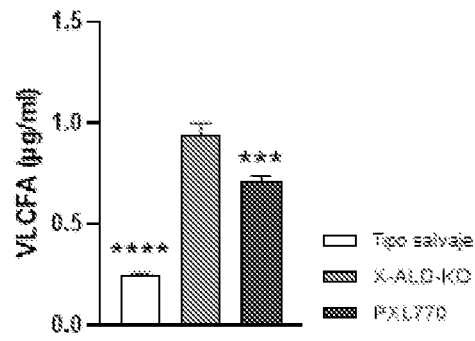


Figura 8

Ácido hexacosanóico plasmático

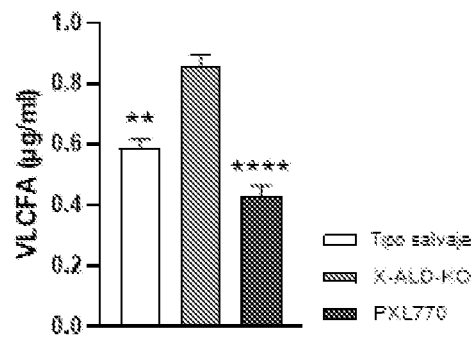


Figura 9

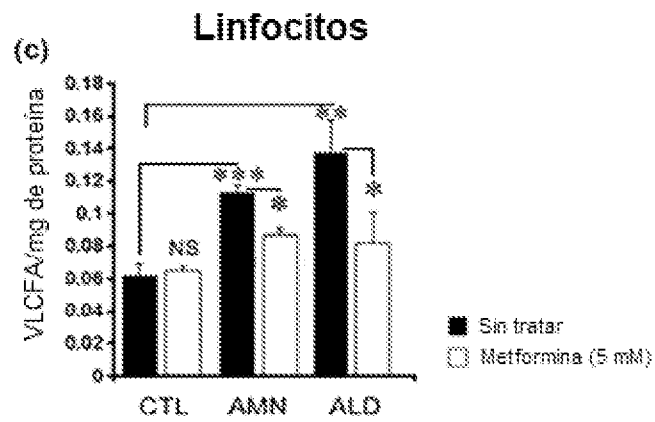


Figura 10

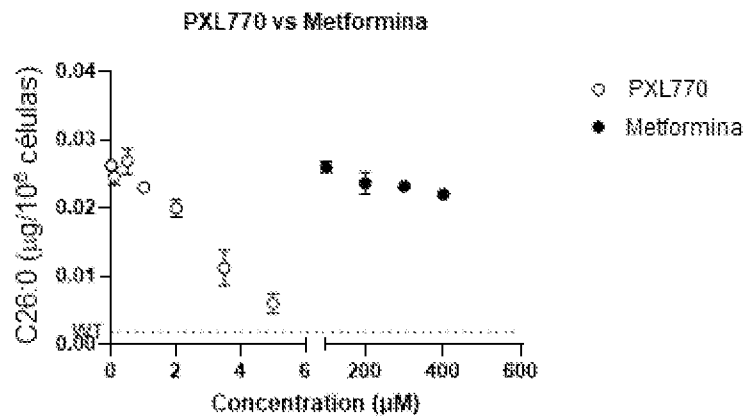


Figura 11

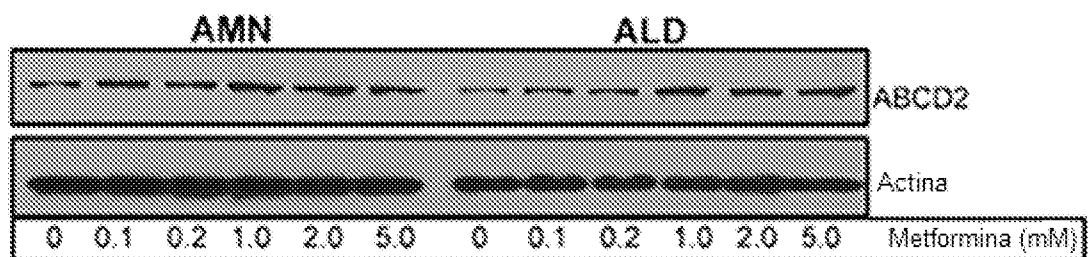


Figura 12

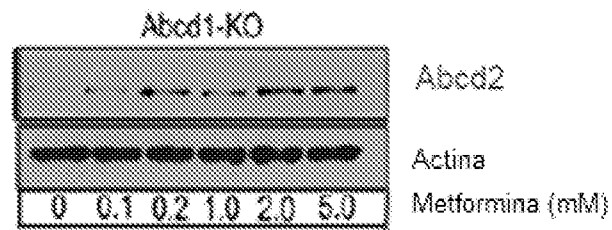


Figura 13

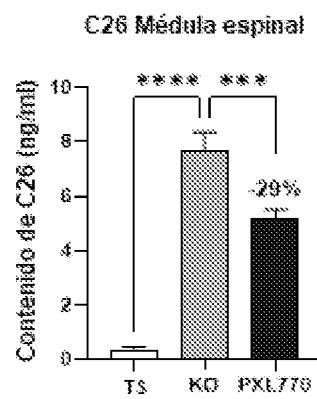
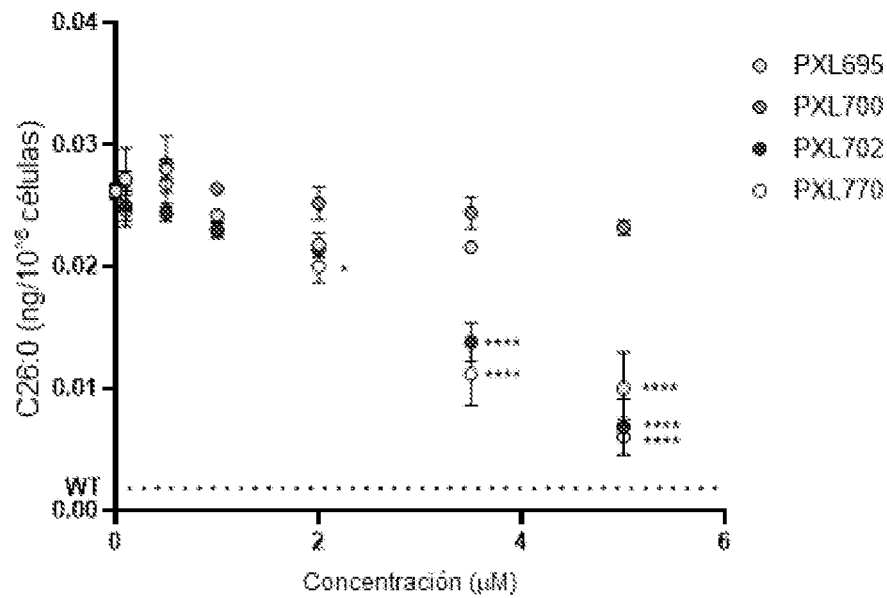


Figura 14

****, $p < 0.001$ vs fibroblastos AMN ctrl

*, $p < 0.05$ vs fibroblastos AMN ctrl

Figura 15