



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 328 938**

51 Int. Cl.:

C07D 403/06 (2006.01)

C07D 207/16 (2006.01)

C07D 211/60 (2006.01)

A61K 31/445 (2006.01)

A61K 31/405 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **05708486 .5**

96 Fecha de presentación : **28.02.2005**

97 Número de publicación de la solicitud: **1856102**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **21.11.2007**

54 Título: **Medicamento para el Alzheimer.**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
19.11.2009

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
19.11.2009

73 Titular/es: **Ioulia Tseti**
3 Streit Str
145 61 Kifissia, GR

72 Inventor/es: **Kourounakis, Panos;**
Doulgeris, Christos;
Galanakis, Dimitrios y
Kourounakis, Angeliki

74 Agente: **Zea Checa, Bernabé**

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

Medicamento para el Alzheimer.

La presente invención se refiere a compuestos para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer y condiciones patológicas relacionadas.

La enfermedad de Alzheimer (AD) es el desorden neurodegenerativo más común, caracterizado por el deterioro progresivo de, principalmente aunque no únicamente, las funciones cognitivas. Los eventos moleculares iniciales que llevan a la AD no son totalmente conocidos, y los mecanismos patobioquímicos involucrados son muy complejos. Sin embargo, la inflamación cerebral^{1,2}, el estrés oxidativo^{3,4} y la pérdida masiva de neuronas, particularmente las colinérgicas, se detectan en todos los cerebros con AD. Estudios recientes sugieren que el uso de fármacos antiinflamatorios no esteroideos (NSAIDs) pueden disminuir el riesgo de desarrollar AD⁵.

¹ **Rogers J et al**, "Inflammation and Alzheimer's disease", 2000, *Neurobiology of Aging*, 21, 383-421

² **McGeer P, McGeer E**, "Inflammation, autotoxicity and Alzheimer's disease", 2001, *Neurobiology of Aging*, 22, 799-809

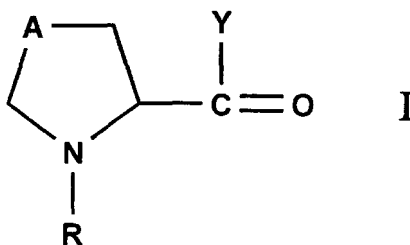
³ **Behl C**, "Alzheimer's disease and oxidative stress: implications for novel therapeutic approaches", 1999, *Progress in Neurobiology*, 57, 301-323

⁴ **Smith M et al**, "Oxidative stress in Alzheimer's disease", 2000, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1502, 139-144

⁵ **Breitner J, Zandi P**, "Do NSAIDs prevent Alzheimer's disease? And if so, why? The epidemiological evidence", 2001, *Neurobiology of Aging*, 22, 811-817

Uno de los objetivos de la presente invención es proporcionar nuevos derivados antiinflamatorios no esteroideos que conservan su acción antiinflamatoria y tienen actividad nootrópica y antioxidante o neurotrófica o neuroreparativa además de presentar una toxicidad gastrointestinal reducida, pudiéndose utilizar en tratamientos a largo término.

Un primer aspecto de la presente invención es proporcionar compuestos de fórmula general I:



R es una fracción de un fármaco antiinflamatorio no esteroideo seleccionada entre indometacina, naproxeno, ibuprofeno o ketoprofeno,

A es un grupo CHOH o un grupo CH₂ o un grupo (CH₂)₂

Y es una fracción antioxidante seleccionada entre cisteamina o etil éster de cisteína o la fracción neuroprotectora 2-piridin-3-il-alcánol o la fracción inductora del NGF 2-metoxi-4-metilfenol.

Se eligió la indometacina y el naproxeno de entre todos los NSAIDs conocidos porque tienen la capacidad de traspasar la barrera sanguínea cerebral y alcanzar su objetivo, que en este caso es el sistema nervioso central. Las estructuras del NSAID y el antioxidante (o neurotrófico o neuroreparador) se unen entre ellas mediante un compuesto prolina o 4-hidroxiprolina. Esta estructura de pirrolidina sustituida se derivatiza de tal manera (derivado amida o éster) que proporciona compuestos relacionados con derivados prolina que son potentes nootrópicos^{6,7}. Se eligió la cisteamina y la cisteína (éster de etilo) como especies antioxidantes porque son buenos "antioxidantes naturales" conocidos, sustancias fisiológicas y por lo tanto no tóxicas. El 2-metoxi-4-metilfenol se utilizó para esterificar la amida de NSAID-prolina porque el 3,4-dihidroxitolueno es un inductor de NGF conocido. Estos compuestos están diseñados para liberar el anterior inductor de NGF mediante la biotransformación de la molécula inicial, es decir, mediante hidrólisis y a continuación O-desmetilación. También es posible que el compuesto inicial tenga capacidad inductora de NGF^{8,9}. Se ha utilizado el 2-piridin-3-il-etanol porque se ha encontrado que los ésteres de este alcohol presenta propiedades neuroreparativas^{10,11}.

⁶ Gudasheva T. *et al*, "Synthesis and anti-amnesic activity of a series of N-acylprolyl-containing dipeptides", 1996, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 31, 151-157

⁷ EP0486386, US5332735

⁸ Kourounakis A., Bodor N., Simpkins J., 1996, *Int. J. Pharm.*, 141, 239-

⁹ Kourounakis A., Bodor N., Simpkins J., 1997, *J. Pharm. Pharmacol.*, 49, 1-

¹⁰ Steiner J.P. *et al*, 1997, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94, 2019-

¹¹ Steiner J.P. *et al*, 1997, *Nature Medicine*, 3, 421-

Un segundo aspecto de la presente invención proporciona un método para la producción de un compuesto de la invención como se define arriba de fórmula general I.

Un tercer aspecto de la presente invención se refiere al uso de compuestos de la presente invención (es decir, de fórmula general I) en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer u otros trastornos neurodegenerativos relacionados.

Un cuarto aspecto de la presente invención proporciona el uso de compuestos de la presente invención en la preparación de un producto farmacéutico para el tratamiento o el retraso del avance de la enfermedad de Alzheimer u otros trastornos neurodegenerativos. Además, los nuevos compuestos pueden utilizarse en casos donde se ha diagnosticado o se sospecha de inflamación o de estrés oxidativo del SNC.

Un quinto aspecto de la presente invención proporciona una composición farmacéutica que contiene al menos un compuesto de fórmula general I como ingrediente activo.

Según la presente invención, las composiciones que se proporcionan pueden administrarse a humanos o utilizarse como medicamento veterinario, en particular para otros mamíferos. Preferiblemente se administra una "cantidad terapéuticamente efectiva", que sea suficiente para mostrarse beneficiosa para el paciente. Dicho beneficio puede ser, al menos, la mejora de al menos un síntoma. La cantidad administrada, la velocidad y el régimen de administración, dependerá de la naturaleza y la severidad de aquello que se trata. La prescripción del tratamiento, por ejemplo, la decisión de la dosis etc., es responsabilidad del facultativo y otros médicos.

Las composiciones farmacéuticas según la presente invención, y para el uso según la presente invención, pueden comprender, además del principio activo, un excipiente aceptable farmacéuticamente, portador, tampón, estabilizante u otros materiales conocidos por el experto en la materia. Dichos materiales deben ser no tóxicos y no deben interferir con la eficacia del principio activo. La naturaleza concreta del portador u otro material dependerá de la ruta de administración, que puede ser oral, nasal, rectal o parenteral.

Las composiciones farmacéuticas para la administración oral pueden presentarse en forma de pastilla, cápsula, polvo o líquido. Una pastilla puede comprender un portador sólido como gelatina o un adyuvante. Las composiciones líquidas farmacéuticas generalmente comprenden un portador líquido tal como agua, petróleo, aceites animales o vegetales, aceite mineral o sintético. Puede incluirse solución fisiológica salina, dextrosa u otra solución de sacáridos o glicoles tales como propilenglicol o polietilenglicol.

Para inyección intravenosa, intramuscular, cutánea o subcutánea, o inyección en el lugar de la lesión, el principio activo estará en forma de solución acuosa aceptable parenteral libre de pirógenos y con un pH, tonicidad y estabilidad apropiados. Los expertos en la materia serán capaces de preparar soluciones apropiadas utilizando, por ejemplo, vehículos isotónicos como la inyección de cloruro de sodio, la inyección de Ringer, la inyección de Ringer lactato. Si es necesario pueden incluirse conservantes, estabilizantes, tampones, antioxidantes y/o otros aditivos.

Sección experimental

Materiales: todos los productos químicos son de la más alta pureza disponible comercialmente. El ácido 2-tiobarbiturato y los kits de diagnóstico para la determinación del colesterol total, LDL y triglicéridos se compraron a Sigma Co (St Louis MO).

Todos los demás reactivos se compraron a Aldrich-Chemicals (Steinheim, Alemania).

En los experimentos *in-vivo* se utilizaron ratas Fischer-344.

Síntesis: los puntos de fusión (mp) se obtuvieron mediante un equipo MEL-TEMP II (Laboratory Devices) y se proporcionan sin corrección.

Los espectros infrarrojos se tomaron en un espectrofotómetro de infrarrojos Perkin Elmer 597. Las resonancias magnéticas nucleares de protón (¹H NMR) se obtuvieron con un espectrómetro Bruker AW 400 MHz.

ES 2 328 938 T3

Los desplazamientos químicos se proporcionan en partes por millón (d) frente a tetrametilsilano (TMS) y se proporcionan las señales como sigue: s, singulete; d, doblete; t, triplete; m, multiplete. Los análisis elementales se realizaron con un analizador Perkin Elmer 2400 CHN.

5 Procedimiento general para la síntesis de los nuevos compuestos

Preparación de cloruro de naproxeno y de indometacina

El NSAID (10 mmol) se disuelve en diclorometano (aproximadamente 100 ml), la solución se enfría en hielo, se añade gota a gota cloruro de oxalilo (30 mmol) y se agita a 0°C durante 30 minutos. A continuación se agita a temperatura ambiente durante 3 horas más. El disolvente y el exceso de cloruro de oxalilo se evaporan bajo presión para proporcionar un sólido amarillo (cloruro de indometacina) o un sólido blanco (cloruro de naproxeno). Se utilizan directamente sin más purificaciones adicionales.

15 Rendimiento aproximadamente 96%.

Preparación de amidas de indometacina y de naproxeno con prolina

Se disuelve L-prolina (10 mmol) en una cantidad equimolar de una solución 2N de hidróxido de sodio. La solución se enfría a 0°C, a continuación se añade el cloruro de NSAID (10 mmol) mientras se añade gota a gota una solución 4N de hidróxido de sodio manteniendo la solución alcalina y a 0°C. Después de la adición del cloruro de NSAID la mezcla de reacción se mantiene a temperatura ambiente y se agita durante una hora más. La solución alcalina se lava con acetato de etilo (3 x 40 ml), la fase acuosa se acidifica (pH - 3) con ácido clorhídrico 1N y se extrae con cloroformo (3 x 50 ml), los extractos orgánicos combinados se lavan con agua (2 x 15 ml) y se secan con sulfato de magnesio anhidro, se filtra y se evapora el disolvente orgánico bajo vacío para proporcionar la amida del NSAID con prolina (sólido marrón-amarillento en caso de la indometacina y sólido blanco en el caso del naproxeno).

Rendimiento aproximadamente 87%

30 En el caso de la amida de naproxeno con 4-hidroxiprolina, el producto cristalino liberado, después de acidificar la solución acuosa alcalina de la amida, se filtra, se lava con agua fría y se seca sobre pentóxido de fósforo bajo vacío.

Rendimiento aproximadamente 85%

35 *Preparación de la amida de amida de indometacina o de naproxeno con prolina o 4-hidroxiprolina con cisteamina o cisteína etil éster*

La amida de NSAID con prolina o 4-hidroxiprolina (10 mmol) se disuelve en dimetilformamida seca (aproximadamente 10 ml) (bajo nitrógeno) y se añade 1,1-carbonildiimidazol (CDI) (10.4 mmol) bajo agitación a 0°C. Al empezar la liberación de gas, la mezcla de reacción se dejó a temperatura ambiente con agitación hasta acabar la liberación de gas (aproximadamente 1 h). A continuación se añade la sal hidrocloreuro de cisteamina o la cisteína etil éster (10,1 mmol). La mezcla de reacción se deja durante 24 horas con agitación. A continuación, se añade agua gota a gota hasta que no se separa más aceite, el cual se extrae con cloroformo, los extractos orgánicos combinados se secan (MgSO₄) y se evapora el disolvente a presión reducida. El residuo, un aceite amarillo, se purifica mediante cromatografía flash (Sílica gel, éter petr./Acetato de etilo).

45 Rendimiento aproximadamente 30-60%

Síntesis del éster de amida de indometacina o naproxeno con prolina con 2-metoxi-4-metilfenol

50 La amida del NSAID con prolina (10 mmol) y el 2-metoxi-4-metilfenol (40 mmol) se disuelven en diclorometano seco, se añaden 1,3-diciclohexilcarbodiimida (DCC) (20 mmol) y 4-dimetilaminopiridina (DMAP) (1.88 mmol) y la mezcla se agita durante 36 h. La mezcla se filtra y el filtrado se lava con una solución acuosa de Na₂CO₃ (10%). La fase acuosa se extrae con diclorometano (3 x 60), se secan los extractos orgánicos combinados (MgSO₄), se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida. El residuo, un aceite amarillo, se purifica mediante cromatografía flash (Sílica gel, éter petr./acetato de etilo).

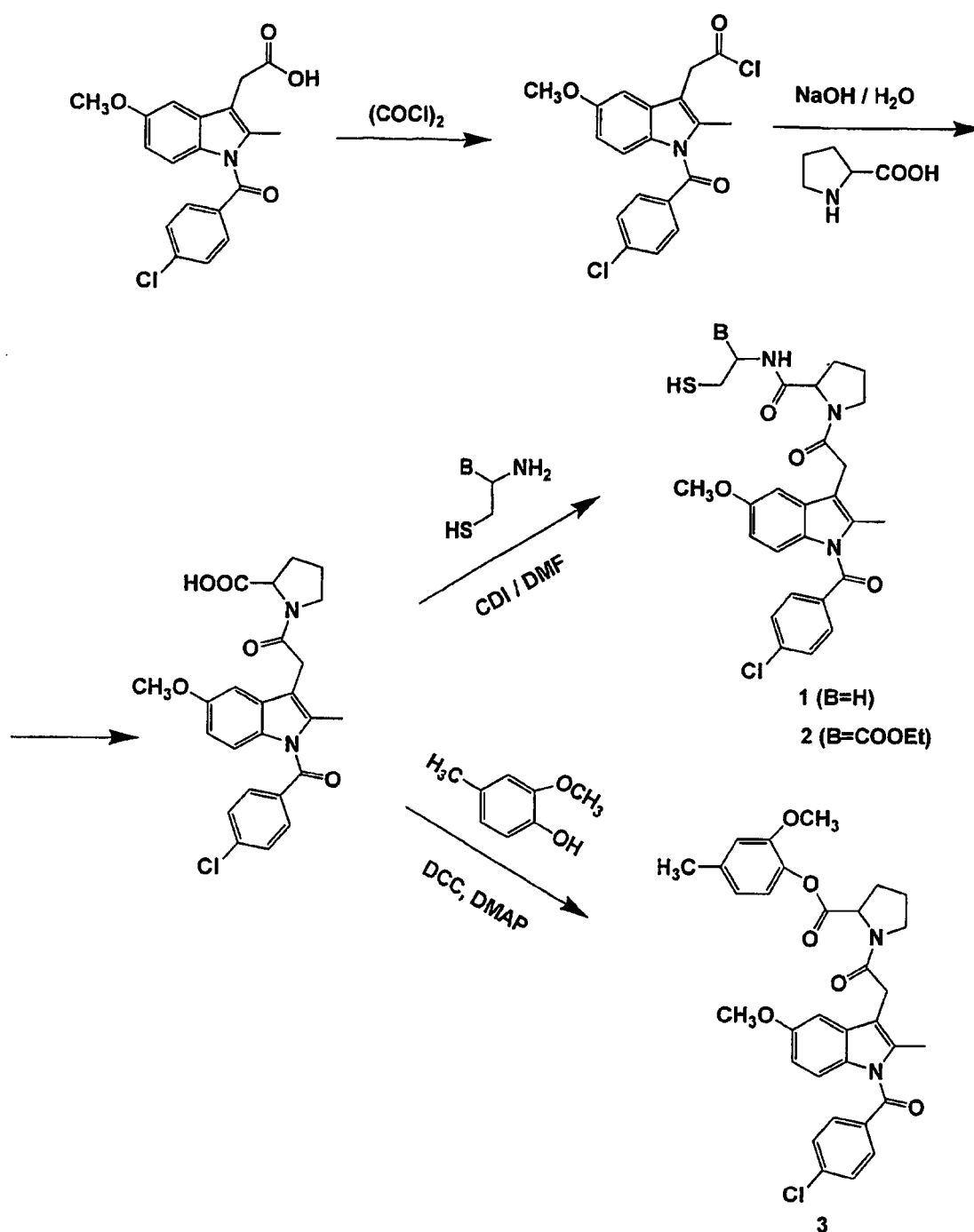
55 Rendimiento aproximadamente 40-50%

60

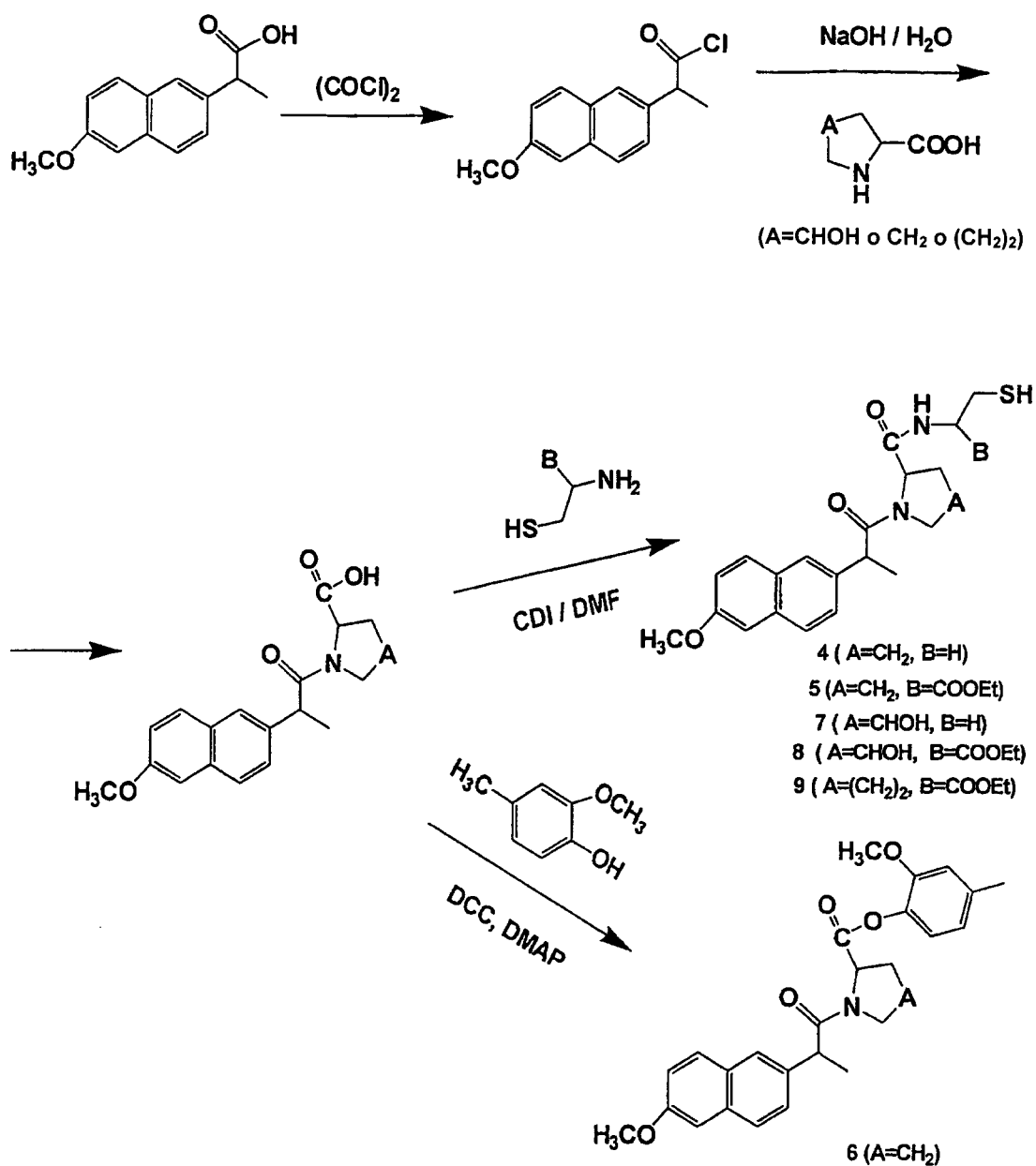
65

Ejemplos

Síntesis de los compuestos 1 a 3 (derivados de indometacina)



Síntesis de los compuestos 4 a 9 (derivados de naproxeno)



Compuesto 1

(2-mercaptoetil)amida del ácido 1-[2-[1-(4-clorobenzoyl)-5-metoxi-2-metil-1-H-indol-3-il]-acetil]-pirrolidin-2-carboxílico

Sólido amarillo. mp: 136-140°C

Análisis de C₂₆H₂₈ClN₃O₄S:

Calculado: C: 60.75 H: 5.49 N: 8.17

Experimental: C: 60.55 H: 5.68 N: 8.51

ES 2 328 938 T3

Compuesto 2

Etil éster del ácido 2-[(1-{2-[1-(4-clorobenzoyl)-5-metoxi-2-metil-1-H-indol-3-il]-acetil}-pirrolidin-2-carbonil)-amino]-3-mercaptopropiónico

Sólido amarillo. mp: 108-111°C

Análisis de $C_{29}H_{32}ClN_3O_6S$:

Calculado: C: 59.43 H: 5.50 N: 7.17

Experimental: C: 59.00 H: 5.56 N: 7.43

Compuesto 3

2-metoxi-4-metilfenil éster del ácido 1-{2-(2-(4-clorobenzoyl)-5-metoxi-2-metil-1-H-indol-3-il)-acetil}-pirrolidin-2-carboxílico

Sólido amarillo

Análisis de $C_{32}H_{31}ClN_2O_6$:

Calculado: C: 66.84 H: 5.43 N: 4.87

Experimental: C: 66.74 H: 5.75 N: 5.27

Compuesto 4

(2-mercaptoetil)amida del ácido 1-[2-(6-metoxinaftalen-2-il)-propionil]-pirrolidin-2-carboxílico

Sólido blanco. mp: 151-152°C

Análisis de $C_{21}H_{26}N_2O_3S$:

Calculado: C: 65.26 H: 6.78 N: 7.25

Experimental: C: 65.19 H: 7.11 N: 7.24

Compuesto 5

Etil éster del ácido 3-mercapto-2-({1-[2-(6-metoxinaftalen-2-il)-propionil]-piperidin-2-carbonil}-aminopropiónico

Aceite amarillo

Análisis de $C_{24}H_{30}N_2O_5S$:

Calculado: C: 62.86 H: 6.59 N: 6.10

Experimental: C: 62.60 H: 6.31 N: 5.71

Compuesto 6

2-metoxi-4-metil-fenil éster del ácido 1-[2-(6-metoxinaftalen-2-il)-propionil]-pirrolidin-2-carboxílico

Sólido blanco

Análisis de $C_{27}H_{29}NO_5$:

Calculado: C: 71.41 H: 6.68 N: 2.94 (con 0.3143 $C_4H_8O_2$)

Experimental: C: 71.41 H: 6.89 N: 3.14

ES 2 328 938 T3

Compuesto 7

(2-mercaptoetil)amida del ácido 4-hidroxi-1-[2-(6-metoxinaftalen-2-il)-propionil]-pirrolidin-2-carboxílico

Sólido blanco. mp: 139-141°C

Análisis de $C_{21}H_{26}N_2O_4S$:

Calculado: C: 62.66 H: 6.51 N: 6.96

Experimental: C: 62.27 H: 6.69 N: 7.20

Compuesto 8

Etil éster del ácido 2-([4-hidroxi-1-[2-(6-metoxinaftalen-2-il)-propionil]-pirrolidin-2-carbonil]-amino-3-mercapto-propiónico

Sólido blanco

Análisis de $C_{24}H_{30}N_2O_6S$:

Calculado: C: 60.74 H: 6.37 N: 5.90

Experimental: C: 60.38 H: 6.39 N: 6.17

Compuesto 9

Etil éster del ácido 3-mercapto-2-([1-[2-(6-metoxinaftalen-2-il)-propionil]-piperidin-2-carbonil]-aminopropiónico

Aceite amarillo

Análisis de $C_{25}H_{32}N_2O_5S$:

Calculado: C: 63.53 H: 6.82 N: 5.92

Experimental: C: 63.65 H: 7.26 N: 5.51

Efecto de los compuestos en inflamación provocada por carragenano

Se indujo un edema mediante inyección i.d. de carragenano (0.1 ml de una solución acuosa 2% p/v) en la almohadilla de la pata trasera derecha de ratas hembra Fischer-344 (200-220 g) (la pata izquierda sirvió de control). Los compuestos en estudio se disolvieron o suspendieron en agua que contenía unas pocas gotas de Tween 80 y se administraron vía i.p. (0.3 mmol/kg) inmediatamente después de la inyección de carragenano. 3.5 h más tarde se practicó la eutanasia a los ratones y se amputaron ambas patas a la altura de los tobillos y se pesaron por separado. Para cada animal se proporciona la hinchazón provocada por la inflamación como porcentaje de incremento de peso de la almohadilla de la pata trasera derecha en comparación con la almohadilla de la pata trasera izquierda no inyectada, y a partir de éste, se calculó el porcentaje de supresión del edema en comparación con los controles. Los ácidos antiinflamatorios originales se utilizaron (a las mismas concentraciones molares) como control absoluto. Todos los derivados mostraron inhibición del edema y en algunos casos su potencia fue mayor que la del compuesto original.

Tabla 1: Efecto de los compuestos ensayados en edema inducido por carragenano en la almohadilla de la pata posterior de la rata

Compuesto	% Inhibición de edema
Indometacina	47.8
1	23
2	20
Naproxeno	45
4	30
5	30
6	20
7	31
8	60

Efecto de los compuestos en la enfermedad inducida por adyuvante (artritis experimental)

Se provocó una enfermedad inducida con adyuvantes (AID) mediante la inyección i.d. de adyuvante completo de Freund (0.1 ml de FCA) en la almohadilla del pie de la pata trasera derecha de ratas Fischer-344 hembras. Los compuestos en estudio se disolvieron o se suspendieron en agua que contenía unas pocas gotas de Tween 880 y se administraron i.p. (0.3-0.6 mmol/kg) una vez al día durante 14 días. Con el objeto de observar el progreso de la reacción inflamatoria local, se evaluó el cambio en la hinchazón de la pata tratada con el adyuvante mediante la localización de puntos (puntuación inflamatoria) en una escala aleatoria, mientras que para la cuantificación de la artritis se anotó la puntuación artrítica.

Muchos de los nuevos compuestos suprimieron prácticamente la totalidad de la artritis en comparación con ratas no tratadas con AID (que desarrollaron artritis severa), mientras otros mejoraron los síntomas de la artritis.

Tabla 2: Efecto de los compuestos ensayados en artritis experimental inducida por FCA en ratas

Compuesto	% Inhibición de artritis experimental
1	50
2	75
4	30
5	100

Acción ulcerogénica de los compuestos en ratas

Se administraron s.c. a ratas Fischer-344 (160-180g) dosis equimolares de los NSAIDs originales y los respectivos derivados una vez al día durante 4 días. La dosis utilizada fue de aproximadamente LD₅₀ del NSAID original. La incidencia de úlceras perforantes gastrointestinales, cambio de peso corporal, melena y mortalidad se anotó a las 24 h después del último tratamiento. Los resultados mostraron que la administración de los NSAID originales, durante un periodo de 4 días y a la dosis indicada, resultó en una alta incidencia de úlceras perforantes intestinales, así como

la incidencia de melena. Estos efectos estuvieron acompañados con una mortalidad del 50% de los animales y una reducción pronunciada del peso corporal. En cambio, las dosis equimolares de los nuevos derivados no mostraron pruebas macroscópicas de ulceración y todos los animales sobrevivieron con un aumento del peso corporal.

Tabla 3: Toxicidad gastrointestinal en ratas de la indometacina, naproxeno y algunos nuevos derivados

Compuesto	Dosis (PM/kg)	Mortalidad (%) ^a	Úlceras perforantes (%) ^b	Cambio del peso corporal ^c	Incidencia de melena
Indometacina	84	50	80	-14.9	+
1	84	0	0	+1.3	-
2	84	0	0	+3.9	-
3	84	0	0	+11.1	-
Naproxeno	1350	50	100	-15.8	+
4	1350	0	0	+3.5	-
5	1350	0	0	+1.5	-

^a (muertes/total) x 100

^b % de animales que desarrollaron úlceras perforantes

^c en g/100 peso corporal

Evaluación de la actividad antioxidante

1) Peroxidación *in vitro* de lípidos

Se preparó fracción hepática microsomal a partir de ratas no tratadas Fischer-344. La mezcla de incubado contenía fracción hepática microsomal inactivada por calor (90°C durante 90 sec), correspondiente a 2.5 mg proteína/ml (concentración f_{mal}) o 4 mmol/L de residuos de ácido graso, ácido ascórbico (0.2 mmol/L) en tampón Tris-HCl/KCl (50 mmol/L/150 mmol/L, pH 7.4) y varias concentraciones (1-0.05 mmol/L) de los compuestos ensayados disueltos en dimetilsulfoxido (DMSO). La reacción se inició mediante la adición de una solución recién preparada de FeSO_4 (10 $\mu\text{M/L}$) y la mezcla se incubó a 37°C durante 45 min. Se tomaron alícuotas (0.3 mL) de la mezcla de incubación a varios intervalos de tiempo. La peroxidación de lípidos se siguió mediante espectrofotometría (535 contra 600 nm) mediante la determinación del material reactivo TBA. Se ensayaron todos los compuestos, incluido el DMSO, bajo las condiciones experimentales anteriores y mostraron que no interferían con el ensayo. Cada experimento se realizó, como mínimo, por triplicado.

TABLA 4

Concentraciones de los compuestos ensayados que producen el 50% de inhibición (IC_{50}) de la peroxidación de lípidos a 45 min

Compuesto	IC_{50} (μM)
2	390
5	320
8	500
9	122

II) Interacción de los compuestos ensayados con el radical libre estable DPPH

Los compuestos ensayados se disolvieron en etanol absoluto (grado analítico, contenido en hierro inferior a 10-3 p/v), añadido a un volumen igual de una solución de DPPH en etanol (concentración final 0.2 mmol/L) a varias concentraciones (0.1 y 0.2 mmol/L) y se mantuvieron a temperatura ambiente. La absorbancia (517 nm) se anotó a los 45 min. Cada experimento se realizó al menos por triplicado.

TABLA 5

% de interacción de los compuestos ensayados con el radical libre estable DPPH

Compuesto	0.2mM	0.1mM
2	70	44
4	78	57
5	85	65
7	56	34
8	75	55
9	76	46

Actividad hipocolesterolémica e hipolipidémica

Actividad hipocolesterolémica e hipolipidémica de los productos ensayados se demostró in vivo mediante la inhibición de hiperlipidemia inducida por tiloxapol (200 mg/kg i.p.) en ratas. Los nuevos derivados NSAID se administraron (56 µmol/kg, i.p., una vez) a ratas hipercolesterolémicas y 24 h después se determinaron las concentraciones de colesterol total en plasma (TC), LDL y triglicéridos (TG) en sangre extraída de la aorta. Los resultados mostraron que algunos de los nuevos derivados poseen una actividad hipocolesterolémica e hipolipidémica significativa.

TABLA 6

Efectos de los compuestos ensayados en los niveles de colesterol total en plasma (TC), colesterol LDL y triglicéridos (TG) de ratas hiperlipidémicas

Compuesto	% disminución TC	LDL	TG
5	58**	55*	68.7**
7	45*	53.5 *	51
8	35.5	56.5*	25
9	40	52*	21.3
* P < 0.05; ** P < 0.01 vs tiloxapol (test t de student)			

Tomando en consideración todos los parámetros utilizados, se han clasificado los tres mejores compuestos en el siguiente orden:

El compuesto 5 es la mejor realización (el mejor antiartrítico, antioxidante (DPPH), agente de reducción de lípidos y el segundo mejor antiinflamatorio y antioxidante (LP) y no tóxico).

El segundo y tercer mejor compuesto son los compuestos 2 y 8.

Todos los compuestos se han diseñado para tener actividad antiinflamatoria. Sin embargo, el compuesto 8 (el tercer mejor compuesto) sorprendentemente mostró una actividad antiinflamatoria mucho mayor que el NSAID original (ver Tabla 1).

Sorprendentemente, algunos de los compuestos son capaces de reducir la hiperlipidemia. Esta propiedad es muy importante para ciertos tipos de la enfermedad de Alzheimer (demencias vasculares) (ver Tabla 6).

Es esperable que los compuestos 3 y 6 induzcan el NGF (factor de crecimiento del nervio) que es un factor importante para la preservación, reparación y supervivencia de las neuronas.

Los compuestos reivindicados no se han encontrado en la literatura. Más concretamente, no se han encontrado compuestos que posean la combinación de todas o prácticamente todas las propiedades biológicas (antioxidante, anti-inflamatoria, nootrópica, hipolipidémica y con una toxicidad gastrointestinal muy reducida) que se da en las moléculas descritas en esta patente.

Es conocido que los fármacos antiinflamatorios no esteroideos presentan toxicidad gastrointestinal como un efecto secundario común. En contra de lo esperado, nuestros compuestos son ventajosos ya que no presentan éste efecto secundario. Por lo tanto, pueden administrarse en tratamientos de largo término. Las especies antioxidantes utilizadas son compuestos “naturales” presentes en el cuerpo humano y que muestran una baja o nula toxicidad. La capacidad antioxidante reduce la toxicidad gastrointestinal de los NSAIDs y por lo tanto se reivindica que adicionalmente reduce la gastrotoxicidad de la especie antiinflamatoria incorporada. Además, reducen el estrés oxidativo en el sistema nervioso central. Adicionalmente, debe resaltarse que un número de los casos AD (demencias vasculares) pueden estar causadas por la arterioesclerosis. Una de las causas comunes de la arteriosclerosis es la hipercolesterolemia. Los compuestos sintetizados tienen propiedades hipocolesterolémicas^{12,13,14,15}.

¹² **Hofman A. et al.**, “Atherosclerosis, apolipoprotein E, and prevalence of dementia and Alzheimer’s disease in the Rotterdam study”, 1997, *Lancet*, 349, 151-154

¹³ **Drachman D. A. et al.**, “Statins and the risk of dementia”, 2000, *The Lancet*, 356, 1627-1631

¹⁴ **Refolo L. et al.**, “Hypercholesterolemia accelerates the Alzheimer’s amyloid pathology in a transgenic mouse model”, 2000, *Neurobiology of disease*, 7, 321-331

¹⁵ **Kalaria R.**, “The role of cerebral ischemia in Alzheimer’s disease”, 2000, *Neurobiology of Aging* 21, 321-330

La invención se define mediante las reivindicaciones.

Referencias citadas en la descripción

Esta lista de referencias citadas por el solicitante únicamente es para comodidad del lector. Dicha lista no forma parte del documento de patente europea. Aunque se ha tenido gran cuidado en la recopilación de las referencias, no se pueden excluir errores u omisiones y la EPO rechaza toda responsabilidad a este respecto.

Documentos de patente citados en la descripción

• EP 0486386 A [0005]

• US 5332735 A [0005]

Bibliografía no relativa a patentes citada en la descripción

• **Rogers J et al.** Inflammation and Alzheimer’s disease. *Neurobiology of Aging*, 2000, vol. 21, 383-421

• **McGeer P; McGeer E.** Inflammation, autotoxicity and Alzheimer’s disease. *Neurobiology of Aging*, 2001, vol. 22, 799-809 [0002]

• **Behl C.** Alzheimer’s disease and oxidative stress: implications for novel therapeutic approaches. *Progress in Neurobiology*, 1999, vol. 57, 301-323 [0002]

• **Smith M et al.** Oxidative stress in Alzheimer’s disease. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2000, vol. 1502, 139-144 [0002]

• **Breitner J; Zandi P.** Do NSAIDs prevent Alzheimer’s disease? And if so, why? The epidemiological evidence. *Neurobiology of Aging*, 2001, vol. 22, 811-817 [0002]

• **Gudasheva T. et al.** Synthesis and anti-amnesic activity of a series of N-acylprolyl-containing dipeptides. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 1996, vol. 31, 151-157 [0005]

• **Kourounakis A.; Bodor N.; Simpkins J.** *Int. J. Pharm.*, 1996, vol. 141, 239 [0005]

ES 2 328 938 T3

- **Kourounakis A.; Bodor N.; Simpkins J. J.** *J. Pharm. Pharmacol.*, 1997, vol. 49, 1 [0005]

- **Steiner J.P. et al.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997, vol. 94, 2019 [0005]

5 • **Steiner J.P et al.** *Nature Medicine*, 1997, vol. 3, 421 [0005]

- **Hofman A. et al.** Atherosclerosis, apolipoprotein E, and prevalence of dementia and Alzheimer's disease in the Rotterdam study. *Lancet*, 1997, vol. 349, 151-154 [0043]

10 • **Drachman D. A. et al.** Statins and the risk of dementia. *Lancet*, 2000, vol. 356, 1627-1631 [0043]

- **Refolo L. et al.** Hypercholesterolemia accelerates the Alzheimer's amyloid pathology in a transgenic mouse model. *Neurobiology of disease*, 2000, vol. 7, 321-331 [0043]

15 • **Kalaria R.** The role of cerebral ischemia in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 2000, vol. 21, 321-330 [0043]

20

25

30

35

40

45

50

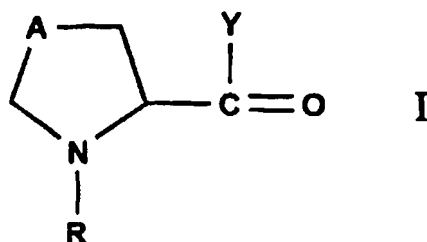
55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Compuestos de la fórmula general I:



R es una fracción de un fármaco antiinflamatorio no esteroideo seleccionada entre:

- i) indometacina o
- ii) los derivados del ácido propiónico que consisten en naproxeno, ibuprofeno o ketoprofeno

A es un grupo CHOH o un grupo CH₂ o un grupo (CH₂)₂

Y es:

- i) una fracción antioxidante seleccionada entre cisteamina o etil éster de cisteína o
- ii) la fracción neuroprotectora 2-piridin-3-il-alcanol o
- iii) la fracción inductora del NGF 2-metoxi-4-metil-fenol

2. Compuesto 5 de fórmula:

etil éster del ácido 3-mercapto-2-({ 1-[2-(6-metoxinaftalen-2-il)-propionil]-pirrolidin-2-carbonil}-aminopropiónico.

3. Compuesto 2 de fórmula:

etil éster del ácido 2-[(1-{ 2-[1-(4-clorobenzoil)-5-metoxi-2-metil-1-H-indol-3-il]-acetil}-pirrolidin-2-carbonil)-amino]-3-mercaptopropiónico.

4. Compuesto 8 de fórmula:

etil éster del ácido 2-({ 4-hidroxi-1-[2-(6-metoxinaftalen-2-il)-propionil]-pirrolidin-2-carbonil}-amino-3-mercaptopropiónico.

5. Compuesto 9 de fórmula:

etil éster del ácido 3-mercapto-2-({ 1-[2-(6-metoxinaftalen-2-il)-propionil]-piperidin-2-carbonil}-aminopropiónico.

6. Compuesto 1 de fórmula:

(2-mercaptoetil)amida del ácido 1-{ 2-[1-(4-clorobenzoil)-5-metoxi-2-metil-1-H-indol-3-il]-acetil}-pirrolidin-2-carboxílico.

7. Compuesto 4 de fórmula:

(2-mercaptoetil)amida del ácido 1-[2-(6-metoxinaftalen-2-il)-propionil]-pirrolidin-2-carboxílico.

8. Compuesto 3 de fórmula:

2-metoxi-4-metilfenil éster del ácido 1-{ 2-(2-(4-clorobenzoil)-5-metoxi-2-metil-1-H-indol-3-il)-acetil}-pirrolidin-2-carboxílico.

9. Compuesto 6 de fórmula:

2-metoxi-4-metilfenil éster del ácido 1-[2-(6-metoxinaftalen-2-il)-propionil]-pirrolidin-2-carboxílico.

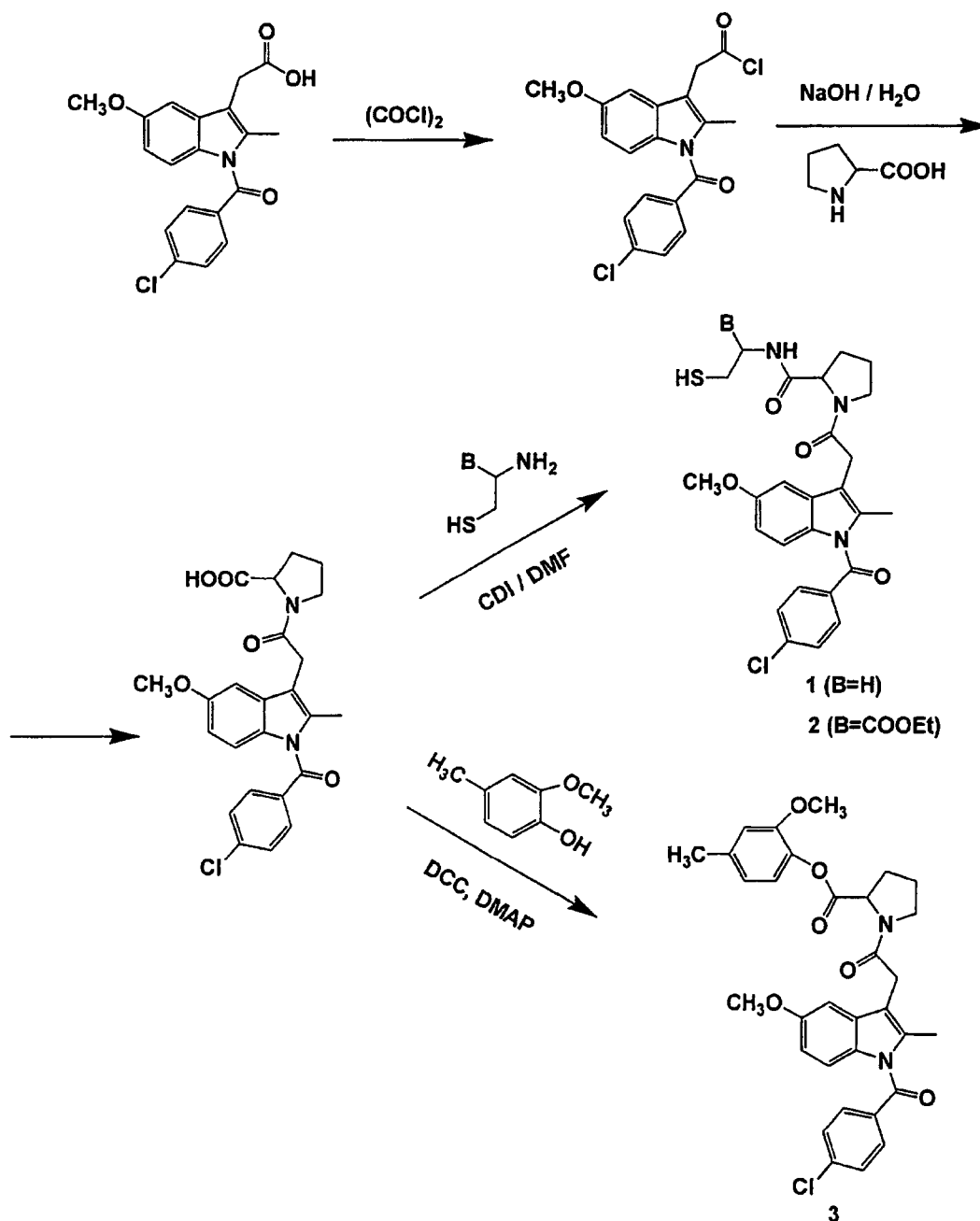
10. Compuesto 7 de fórmula:

(2-mercaptoetil)amida del ácido 4-hidroxi-1-[2-(6-metoxinaftalen-2-il)-propionil]-pirrolidin-2-carboxílico.

11. Uso de cualquiera de los compuestos según cualquiera de las reivindicaciones 1-10 para la producción de un medicamento para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer u otros trastornos neurodegenerativos o para el retraso de la evolución de la enfermedad de Alzheimer u otros trastornos neurodegenerativos o para el tratamiento de casos donde se ha diagnosticado o se sospecha inflamación o estrés oxidativo del SNC.

12. Composición farmacéutica que contiene como ingrediente activo al menos un compuesto de fórmula general I de la reivindicación 1 o cualquiera de los compuestos 1 a 9 de las reivindicaciones 2-10.

13. Método para la producción de los compuestos 1 a 3 (derivados de indometacina):



14. Método para la producción de los compuestos 4 a 9 (derivados de naproxeno):

