

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 973 454**

51 Int. Cl.:

A61K 31/5513 (2006.01)

A61P 43/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.10.2018** **PCT/IB2018/058345**

87 Fecha y número de publicación internacional: **02.05.2019** **WO19082125**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.10.2018** **E 18804704 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.03.2024** **EP 3700534**

54 Título: **Métodos para tratar el síndrome de Phelan McDermid utilizando farnesil dibenzodiazepinonas**

30 Prioridad:

27.10.2017 US 201762577821 P

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

20.06.2024

73 Titular/es:

AMO PHARMA LTD. (100.0%)
Throwsters The Street
Womersh GU5 0PF, GB

72 Inventor/es:

SNAPE, MICHAEL;
COGRAM, PATRICIA y
DEACON, ROBERT

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 973 454 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

Métodos para tratar el síndrome de Phelan McDermid utilizando farnesil dibenzodiazepinonas

5 Antecedentes de la invención

El síndrome de Phelan McDermid (PMS) es un trastorno del desarrollo neurológico mencionado por primera vez en la bibliografía por Watt et al. (1985) y luego descrito con más detalle por Phelan et al. (2001).

10 Las características clínicas del PMS en humanos incluyen hipotonía neonatal severa (>97 % de los individuos), retraso global en el desarrollo (>98 %), crecimiento normal a acelerado (95 %), habla ausente o severamente retrasada (>98 %), y características dismórficas menores (Phelan 2008). Desde el punto de vista del comportamiento, los individuos con Phelan McDermid comúnmente presentan hiposensibilidad al dolor, contacto visual deficiente, movimientos estereotipados, función social disminuida, hiperactividad, función sensoriomotora alterada y comportamiento agresivo.

15 El fenotipo conductual puede retroceder con la edad, mostrando una disminución de la función social, motora o psiquiátrica (Soorya et al. 2013). Físicamente, el PMS puede estar asociado con características dismórficas menores y linfedema.

20 Una comorbilidad clave en el PMS es la presencia de epilepsia. Hasta el 41 % de los individuos afectados sufrirán convulsiones (febriles y/o no febriles) (Soorya et al. 2013). Holder y Quach (2016) también describen que el 46 % de los individuos con Phelan McDermid tuvieron convulsiones en algún momento de su vida, presentando todo tipo de convulsiones. Las convulsiones más comunes fueron crisis de ausencia atípicas (90 %), con otros tipos que incluyen tónicas (54 %), atónicas (18 %), tónico-clónicas (9 %) y mioclónicas (9 %). El 20 % de los individuos caracterizados por Holder y Quach habían padecido estado epiléptico y el 8 % fueron diagnosticados con síndrome de Lennox Gastaut. Las convulsiones pueden ser controladas farmacológicamente o ser farmacorresistentes. Existe una

25 tendencia hacia una mayor susceptibilidad a las convulsiones con la edad, y el inicio de las convulsiones se correlaciona con la regresión de las habilidades funcionales (Soorya et al. 2013). Se han utilizado múltiples anticonvulsivos y es común el uso de muchos compuestos farmacéuticos para las convulsiones.

30 El trastorno en humanos se caracteriza por una eliminación cromosómica en 22q13.3 que contiene el gen *SHANK3/ProSAP2* (Bonaglia et al. 2001; Anderlid et al. 2002; Wilson et al. 2003). La opinión de consenso considera que los signos y síntomas del PMS están relacionados con la haploinsuficiencia de la proteína SHANK3.

35 Shcheglovitov et al. (2013) demostraron que las líneas de células madre pluripotentes inducidas (IPS) derivadas de pacientes con PMS tienen respuestas alteradas de los receptores postsinápticos AMPA y NMDA que reflejan menos sinapsis excitadoras. Estos déficits se relacionaron con niveles reducidos de la isoforma más larga de la proteína SHANK3 (Shcheglovitov et al. (2013)) y fueron rescatados mediante la administración del factor 1 de crecimiento similar a la insulina (IGF-1). Los autores propusieron que SHANK3 es necesario en una etapa temprana de la formación de sinapsis y que el IGF-1 promueve la maduración de las sinapsis al desencadenar la pérdida de SHANK3 y el reclutamiento de la proteína PSD95. Bozdagi et al. (2013) también mostraron el rescate del fenotipo de un ratón con eliminación de *Shank3* con IGF-1. Kolevzon et al. (2014) informaron que la administración de IGF-1 en condiciones controladas con placebo resultó en mejoras en los comportamientos sociales, repetitivos y aberrantes de los ratones con eliminación de *Shank3* durante el transcurso de 12 semanas de tratamiento.

40

45 Ha habido relativamente pocos estudios clínicos de intervenciones farmacológicas en el PMS, aunque en los Estados Unidos se está llevando a cabo un estudio de los efectos de la oxitocina intranasal en el PMS (identificador NCT02710084 del ClinicalTrials.gov). El documento WO2012/117334 divulga moduladores alostéricos de mGluR.5 para uso en el tratamiento del síndrome de Phelan McDermid.

50 No existen tratamientos aprobados para el PMS.

Por lo tanto, se necesitan medios para tratar el PMS; la invención presentada en el presente documento está dirigida a tales fines.

55 Breve resumen de la invención

La presente invención se refiere a compuestos y composiciones para uso en los métodos para tratar el síndrome de Phelan McDermid (PMS) en sujetos que padecen el trastorno o en sujetos predispuestos a desarrollar el trastorno. Como se analiza más detalladamente más adelante, se ha descubierto que los compuestos de farnesil dibenzodiazepinona pueden reducir los síntomas del trastorno en individuos con PMS a los que se administran los compuestos.

60

El alcance de la invención está definido por las reivindicaciones. Las referencias a métodos de tratamiento en el resumen y la descripción detallada de la invención en esta descripción deben interpretarse como referencias a los compuestos, composiciones farmacéuticas y medicamentos de la presente invención para uso en un método para el tratamiento del cuerpo humano (o animal) mediante terapia.

65

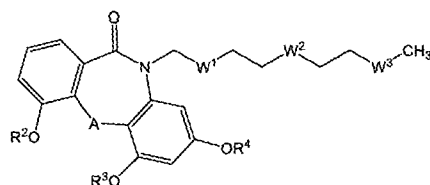
En el presente documento se divulga el uso de (i) al menos un compuesto de farnesil dibenzodiazepinona o (ii) una formulación farmacéutica que comprende al menos un compuesto de farnesil dibenzodiazepinona y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable en el tratamiento de un sujeto que tiene PMS o en un método para el tratamiento de un sujeto que tiene PMS.

Además se divulga el uso de (i) al menos un compuesto de farnesil dibenzodiazepinona o (ii) una formulación farmacéutica que comprende al menos un compuesto de farnesil dibenzodiazepinona y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable en la inhibición del desarrollo de PMS en un sujeto predispuesto a desarrollar PMS o en un método para inhibir el desarrollo de PMS en un sujeto predispuesto a desarrollar PMS.

Además se divulga una cantidad terapéuticamente eficaz de (i) al menos un compuesto de farnesil dibenzodiazepinona o (ii) una formulación farmacéutica que comprende al menos un compuesto de farnesil dibenzodiazepinona y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable para uso en el tratamiento de un sujeto que tiene PMS o en un método para tratar a un sujeto que tiene PMS.

Aemás se divulga una cantidad terapéuticamente eficaz de (i) al menos un compuesto de farnesil dibenzodiazepinona o (ii) una formulación farmacéutica que comprende al menos un compuesto de farnesil dibenzodiazepinona y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable para uso en la inhibición del desarrollo de PMS en un sujeto predispuesto a desarrollar PMS o en un método para inhibir el desarrollo de PMS en un sujeto predispuesto a desarrollar PMS.

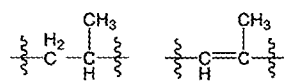
La invención se refiere a una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto para uso en el tratamiento o prevención del síndrome de Phelan McDermid (PMS) en un sujeto que tiene PMS, en la que el compuesto se selecciona entre los compuestos abarcados por la Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos:



Fórmula I

en la que,

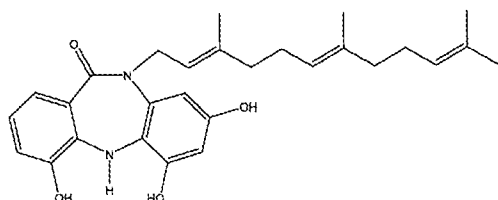
cada uno de W^1 , W^2 y W^3 es independientemente



$\begin{array}{c} \text{---S---} \\ | \\ \text{---C---} \\ | \\ \text{---S---} \end{array}$
 $\begin{array}{c} \text{---S---} \\ | \\ \text{---C---} \\ | \\ \text{---S---} \end{array}$
 $\begin{array}{c} \text{---S---} \\ | \\ \text{---C---} \\ | \\ \text{---S---} \end{array}$
, o la cadena del triciclo puede terminar en W^3 , W^2 o W^1 siendo W^3 , W^2 o W^1 respectivamente $-\text{CH}=\text{O}$ o $-\text{CH}_2\text{OH}$:

A es -NH- o -NC(O)R¹- en la que R¹ es alquilo C₁₋₆, cada uno de R², R³ y R⁴ es independientemente H.

En cada una de las realizaciones y aspectos de la invención, el compuesto puede ser el compuesto AMO-01 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo



AMO-01

En realizaciones y aspectos relevantes de la invención, un sujeto predispuesto a desarrollar PMS es un sujeto que tiene una eliminación cromosómica en 22q13.3.

En cada una de las realizaciones y aspectos de la invención, la cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto de Fórmula (I) o la formulación farmacéutica que comprende al menos un compuesto de Fórmula (I) y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable está entre aproximadamente 0.1 µg y aproximadamente 200 mg por kg del agente por peso corporal del sujeto.

En cada una de las realizaciones y aspectos de la invención, al menos un compuesto Fórmula (I) o la formulación farmacéutica que comprende al menos un compuesto de Fórmula (I) y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable se administra al sujeto por vía intravenosa, subcutánea u otros medios aceptables.

Las características novedosas que se cree que son características de la invención, al igual que su organización y método de operación, junto con otros objetivos y ventajas se entenderá mejor a partir de la siguiente descripción cuando se consideran en conexión con las figuras acompañantes. Sin embargo, debe entenderse expresamente que cualquier descripción, figura, ejemplo, etc. se proporciona únicamente con fines de ilustración y descripción y de ninguna manera pretende definir los límites de la invención que está definida por las reivindicaciones.

Breve descripción de los dibujos

Figura 1. Activación de la vía Ras-ERK en ratones transgénicos de tipo silvestre (WT) y con eliminación de (KO) *Shank3b*^{-/-} según lo indexado por los niveles de pERK en el hipocampo y la corteza. "ns" es no significativo; **** es p < 0.0001.

Figura 2. Ansiedad evaluada mediante pruebas de caja clara y oscura en el modelo transgénico con eliminación de *Shank3b* de PMS después de una dosis única de 30 mg/kg i.p. AMO-01 o vehículo administrado 4 horas antes de la prueba en grupos de n = 10 ratones. El ANOVA general utilizado para analizar este experimento fue significativo (F = 31.19, p < 0.0001). La diferencia entre ratones de tipo silvestre (WT) tratados con vehículo y con eliminación (KO) de *Shank3b*^{-/-} fue significativa (p < 0.001). AMO-01 no tuvo ningún efecto significativo en ratones de tipo silvestre. Por el contrario, AMO-01 redujo significativamente el déficit mostrado en ratones *Shank3b*^{-/-} (p < 0.0001), aunque esta reversión no fue completa ya que todavía había una diferencia significativa entre los ratones de tipo silvestre tratados con AMO-01 y *Shank3b*^{-/-} (p < 0.05). "ns" es no significativo; * es p < 0.05; **** es p < 0.0001.

Figura 3. Comportamiento autolesivo como el indexado por un autoacicalamiento excesivo en el modelo transgénico eliminación de *Shank3b* de PMS después de una dosis única de 30 mg/kg i.p. de AMO-01. El ANOVA general utilizado para analizar este experimento fue significativo (F = 29.14, p < 0.0001). La diferencia entre los ratones de tipo silvestre tratados con vehículo y los ratones con eliminación de *Shank3b*^{-/-} fue significativa (p < 0.001). AMO-01 no tuvo ningún efecto significativo en ratones de tipo silvestre. Por el contrario, AMO-01 redujo significativamente el déficit mostrado en ratones *Shank3b*^{-/-} (p < 0.0001). Esta reversión fue completa ya que no hubo diferencias significativas entre los ratones de tipo silvestre tratados con AMO-01 y los ratones *Shank3b*^{-/-} después del tratamiento. "ns" es no significativo; **** es p < 0.0001.

Figura 4. Respuesta a la novedad social como la indexada por el tiempo transcurrido en interacción con un ratón familiar o nuevo en el modelo transgénico eliminación de *Shank3b* de PMS después de una dosis única de 30 mg/kg i.p. de AMO-01. Los animales de tipo silvestre (WT) pasan más tiempo en estrecha interacción con un ratón extraño (no visto anteriormente) que con un ratón familiar (uno encontrado anteriormente) y esta diferencia no se ve afectada por el tratamiento con AMO-01. Esta diferencia no se observa en los ratones eliminación de *Shank3b* tratados con vehículo que muestran un procesamiento alterado de la novedad social. El tratamiento con AMO-01 normaliza la respuesta diferencial a la novedad social en ratones eliminación de *Shank3b*. El ANOVA general utilizado para analizar este experimento fue significativo (F = 52.75, p < 0.0001). "ns" es no significativo; **** es p < 0.0001.

Figura 5. Comportamiento de marcha con vigas en el modelo transgénico eliminación de *Shank3b* de PMS después de una dosis única de 30 mg/kg i.p. de AMO-01. El ANOVA general utilizado para analizar este experimento fue significativo (F = 29.76, p < 0.0001). La diferencia entre los ratones de tipo silvestre tratados con vehículo y los ratones con eliminación de *Shank3b*^{-/-} fue significativa (p < 0.001). AMO-01 no tuvo ningún efecto significativo en ratones de tipo silvestre. Por el contrario, AMO-01 redujo significativamente el déficit mostrado en ratones *Shank3b*^{-/-} (p < 0.0001). Esta reversión fue completa ya que no hubo diferencias significativas entre los ratones de tipo silvestre tratados con AMO-01 y los ratones *Shank3b*^{-/-} después del tratamiento. "ns" es no significativo; *** es p < 0.001.

Figura 6. Comportamiento de enterramiento de canicas en el modelo transgénico con eliminación de *Shank3b* de PMS después de una dosis única de 30 mg/kg i.p. de AMO-01. El ANOVA general utilizado para analizar este experimento fue significativo (F = 42.15, p < 0.0001). La diferencia entre los ratones de tipo silvestre tratados con vehículo y con eliminación de *Shank3b*^{-/-} fue significativa (p < 0.001). AMO-01 no tuvo ningún efecto significativo en ratones de tipo silvestre. Por el contrario, AMO-01 redujo significativamente el déficit mostrado en ratones *Shank3b*^{-/-} (p < 0.0001). Esta reversión fue completa ya que no hubo diferencias significativas entre los ratones de tipo silvestre tratados con AMO-01 y los ratones *Shank3b*^{-/-} después del tratamiento. "ns" es no significativo; **** es p < 0.0001.

Figura 7. Umbral de convulsiones audiogénicas en el modelo transgénico con eliminación de *Shank3b* de PMS después de una dosis única de 30 mg/kg i.p. de AMO-01.

Figura 8. Programa de administración de AMO-01 a un sujeto con síndrome de Phelan McDermid.

Figura 9. Potenciales evocados visuales registrados en la corteza visual de un varón de 23 años con síndrome de Phelan McDermid genéticamente confirmado inmediatamente antes e inmediatamente después de una infusión de una dosis total administrada como 120 mg/m² durante seis horas.

5 Descripción detallada de la invención

I. Definiciones

10 Tal como se utiliza en el presente documento, "un" o "uno, una" puede significar uno o más. Como se usa en el presente documento cuando se usa junto con la palabra "que comprende", las palabras "un" o "uno, una" pueden significar uno o más de uno. Tal como se utiliza en el presente documento, "otro" puede significar al menos un segundo o más. Además, a menos que el contexto requiera lo contrario, los términos singulares incluyen los plurales y los términos plurales incluyen el singular.

15 Como se usa en el presente documento, "aproximadamente" se refiere a un valor numérico, que incluye, por ejemplo, números enteros, fracciones y porcentajes, ya sea que se indiquen explícitamente o no. El término "aproximadamente" generalmente se refiere a un intervalo de valores numéricos (por ejemplo, +/- 5-10 % del valor mencionado) que un experto en la técnica consideraría equivalente al valor mencionado (por ejemplo, que tiene la misma función o resultado). En algunos casos, el término "aproximadamente" puede incluir valores numéricos redondeados a la cifra significativa más cercana.

20 Como se usa en el presente documento, "tratar" y todas sus formas y tiempos (incluyendo, por ejemplo, tratar, que trata, tratado y tratamiento) se refieren tanto al tratamiento terapéutico como al tratamiento profiláctico o preventivo. Los sujetos que necesitan tratamiento incluyen aquellos que ya han sido diagnosticados con PMS, así como aquellos predispuestos a desarrollar PMS pero que aún no han sido diagnosticados con PMS.

II. La presente invención

30 Como se indicó anteriormente, la presente invención se basa en el descubrimiento por parte de los inventores de que ciertos compuestos de farnesil dibenzodiazepinona pueden reducir los síntomas del síndrome de Phelan McDermid (PMS) en individuos que padecen el trastorno y a quienes se les administra los compuestos. Por lo tanto, la presente invención está dirigida a compuestos para uso en métodos para tratar el PMS en sujetos que padecen el trastorno o en sujetos predispuestos a desarrollar el trastorno.

35 Un sujeto que tiene PMS o está predispuesto a desarrollar PMS es un sujeto que tiene una eliminación cromosómica en 22q13.3 y/o en quien la expresión de la proteína SHANK3 está reducida y/o en quien se produce una proteína SHANK3 disfuncional. Los loci cromosómicos 22q13.3 incluyen el gen *SHANK3/ProSAP2* que codifica la proteína SHANK3.

40 SHANK3 ("SH3 y múltiples dominios 3 de repetición de anquirina"; también conocida como proteína 2 asociada a sinapsis rica en prolina (ProSAP2)) es una proteína estructural que se encuentra en las dendritas. Es miembro de una familia de proteínas estructurales presentes en densidades postsinápticas involucradas en la formación de sinapsis, probablemente mediante la conexión de receptores de neurotransmisores, canales iónicos y otras proteínas de membrana al citoesqueleto de actina y vías de señalización acopladas a la proteína G (Boeckers et al., 2002).

45 El mensaje de SHANK3 se expresa en el corazón, el cerebro y el bazo (Lim et al., 1999). Dentro del cerebro, SHANK3 se expresa principalmente en las neuronas.

50 Los estudios han demostrado que diferentes eliminaciones de SHANK3 producen efectos diferentes (aunque similares) en términos de actividad de las isoformas de la proteína SHANK3 y cambios específicos del receptor. Se ha creado una variedad de ratones murinos con eliminación de genes en los que el gen *Shank3* está restringido. Se han abordado diferentes exones del gen, con diferentes resultados en relación con la expresión de isoformas de la proteína SHANK3. Bozdagi et al. (2010) crearon un ratón en el que se eliminó el gen *Shank3* entre los exones 4 y 9 (incluidos los dominios repetidos de anquirina). La expresión heterocigota de esta modificación mostró una reducción del 50 % en los niveles de ARNm de *shank3*. En heterocigotos juveniles (de 3 a 4 semanas de edad), la transmisión mediada por AMPA glutamatérgico basal se redujo a través de mecanismos pre y postsinápticos. En relación con esto, el mantenimiento de la potenciación a largo plazo (LTP; una forma de plasticidad sináptica) del hipocampo inducida por la explosión theta y la alta frecuencia se redujo, pero no la depresión a largo plazo (LTD). Estos cambios determinados electrofisiológicamente fueron acompañados por una falla en mantener el aumento del volumen de sinapsis que acompaña a la LTP y una reducción del tráfico del receptor AMPA. Estos ratones mostraron déficits de interacción social. Bozdagi et al. (2013) mostraron déficits en este modelo revertidos por el IGF-1.

65 Krouser et al. (2013) informaron sobre la eliminación homocigótica del exón 21 de *Shank3* en ratones estudiados entre 2 y 6 meses de edad. Esta eliminación redujo las isoformas predominantes de la proteína SHANK3 en el hipocampo, pero tuvo efectos complejos con la aparición de isoformas más cortas. Este ratón no mostró cambios importantes en los receptores de glutamato, excepto el subtipo mGluR5 del receptor metabotrópico de glutamato. En consecuencia,

la LTP del hipocampo fue deficiente, lo que refleja una relación reducida de NMDA/AMPA. No hubo déficit de LTD dependiente de mGluR en estos ratones. Estos ratones no mostraron diferencias en la densidad o complejidad de las espinas dendríticas.

Duffney et al. (2015) crearon e informaron sobre ratones heterocigotos con eliminación del extremo terminal C (exón 21) de *Shank3* que mostró una reducción del 50 al 70 % en la proteína SHANK3. Los jóvenes mostraron un comportamiento deteriorado en la prueba de interacción social. Los EPSP mediados por NMDA en la corteza prefrontal se redujeron en estos ratones, mientras que las respuestas mediadas por AMPA estaban intactas. Este hallazgo se relacionó con una reducción en las subunidades del receptor NMDA de membrana. Estos ratones también mostraron una reducción en la señalización de cofilina dependiente de rac y, por lo tanto, en la actina sináptica, sin embargo, la densidad de las espinas dendríticas y, por lo tanto, el número de sinapsis no cambiaron en estos ratones. Los ratones descritos por Bozdagi et al. (2010) tuvieron una eliminación del extremo terminal N que llevó a la pérdida de las isoformas más largas y también tenían deficiencia de cofilina. Uppal et al. (2015) estudiaron la eliminación del extremo terminal N heterocigoto a las 5 semanas y a los 3 meses de edad y no encontraron diferencias en la densidad de sinapsis a ninguna de las edades. Sin embargo, un examen detallado mostró un aumento en las sinapsis perforadas a las 5 semanas pero no a los 3 meses. No se observaron diferencias en ninguna edad en la columna vertebral, el tamaño de la cabeza, la longitud de la PSD y el área de la PSD en ninguna edad. Jaramillo et al. (2016) informaron sobre una eliminación del extremo terminal N del exón 4 al 9 heterocigoto en ratones de 3 a 5 meses de edad en el momento del estudio. Esta manipulación provocó un patrón complejo de cambios en las isoformas de la proteína SHANK3. Estos ratones mostraron una LTP disminuida en el hipocampo con LTD dependiente de mGluR5 intacta. La transmisión sináptica y la relación NMDA/AMPA no se vieron afectadas en el hipocampo, pero la relación NMDA/AMPA disminuyó en el cuerpo estriado debido a la disminución de la función del receptor NMDA.

Peca et al. (2011) produjeron un ratón con eliminación en el que se atacaron los exones 13-16 del gen *Shank3*, eliminando el dominio PDZ. Esta eliminación produce una eliminación completa de las isoformas SHANK3 α (la isoforma más larga) y SHANK3 β y una reducción significativa de la supuesta isoforma SHANK3 γ . La forma homocigótica de este ratón mostró niveles reducidos de SAPAP3, Homer-1b/c y PSD93, así como una reducción en las subunidades del receptor de glutamato GluR2, NR2A y NR2B en el cuerpo estriado. Esto estuvo acompañado por una reducción en la densidad de las espinas dendríticas, en el contexto de un aumento en la complejidad de los ejes dendríticos y la longitud dendrítica total en el cuerpo estriado. Los picos de población del cuerpo estriado se redujeron debido a una reducción en las respuestas AMPA postsinápticas en ausencia de un cambio en la relación NMDA/AMPA. La electrofisiología del hipocampo no cambió en estos ratones.

Por lo tanto, en términos de efectos sinápticos, existe una amplia pérdida de plasticidad sináptica del hipocampo en todos los modelos, pero diferentes eliminaciones de *Shank3* producen diferentes efectos en términos de isoformas de la proteína SHANK3 y diferentes cambios específicos del receptor.

Los efectos de la eliminación del gen *Shank3* en ratones pueden compararse con líneas celulares IPS derivadas de pacientes con síndrome de Phelan McDermid, como lo informan Shcheglovitov et al. (2013). Estos autores informan que las respuestas postsinápticas de AIPA y NMDA están significativamente alteradas en las células IPS del síndrome de Phelan McDermid, en ausencia de diferencias en la inhibición GABAérgica. Estos cambios reflejaron menos sinapsis excitadoras y están relacionados con niveles reducidos de la isoforma más larga de la proteína SHANK3.

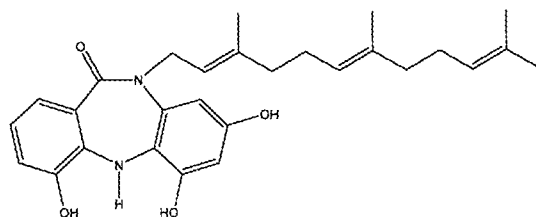
Holder y Quach (2016) citan los datos de Shcheglovitov et al. (2013) en relación con la mayor susceptibilidad a las convulsiones observadas en el síndrome de Phelan McDermid al referirse a las IPC estudiadas por tener una mayor resistencia a la entrada en comparación con las neuronas de control, potencialmente relacionadas con la expresión reducida de subunidades de canales activados por nucleótidos cíclicos activados por hiperpolarización (HCN). Holder y Quach proponen que esto "indica una tendencia a una mayor excitabilidad que potencialmente subyace a la elevada prevalencia de epilepsia en individuos con mutaciones SHANK3 en comparación con la población general".

Una aberración molecular clave en el PMS es la hiperactividad de la vía enzimática Ras-ERK, que desempeña un papel crítico en la plasticidad sináptica y la supervivencia neuronal (Grewal et al., 1999). La vía Ras-ERK también se ha implicado en la generación de convulsiones según una serie de líneas convergentes de evidencia de activación de esta vía en diferentes modelos experimentales y en el uso de inhibidores de la vía Ras-ERK. La activación de la vía Ras-ERK está indexada por los niveles de la forma fosforilada de ERK (pERK). Esta activación se observa durante diversas formas de adaptación en los mecanismos sinápticos que subyacen a la excitabilidad en el cerebro. Davis et al., (2000) demostraron que la inducción de la LTP del hipocampo en la rata va acompañada de un aumento rápido pero transitorio de pERK.

Sobre la base de esta sobreactividad, y como se describe a continuación, se evaluó un inhibidor de penetración cerebral de la vía Ras-ERK, denominado en el presente documento AMO-01, en un modelo de ratón con eliminación de C57BL/6^{-/-} de PMS. Una sola dosis i.p. administrada a animales de prueba de dos meses de edad se encontró que mejoraba significativamente todas las características neuroconductuales aberrantes asociadas con los ratones, estableciendo así la base para la presente invención.

Farnesil dibenzodiazepinonas

AMO-01 (10-farnesil-4,6,8-trihidroxi-dibenzodiazepin-11-ona) es una farnesil dibenzodiazepinona y un miembro de una clase de compuestos de dibenzodiazepinona que contienen una fracción farnesilo. La estructura de AMO-01 es la siguiente:



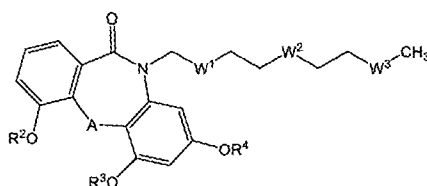
AMO-01

Cada uno de los métodos de la presente invención se puede practicar mediante la administración de AMO-01, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, a un sujeto que tiene PMS o un sujeto predispuesto a desarrollar el PMS.

Los compuestos de farnesil dibenzodiazepinona son producidos por cepas de *Micromonospora*, un género de bacterias de la familia Micromonosporaceae que son grampositivas, formadoras de esporas, generalmente aeróbicas, y que forman un micelio ramificado. Los miembros del género también suelen producir antibióticos aminoglucósidos.

AMO-01 es producido por *Micromonospora* sp. cepa 046-ECO11. La cepa 046-ECO11 se depositó el 7 de marzo de 2003 en la Autoridad Depositaria Internacional de Canadá (IDAC), Oficina de Microbiología, Health Canada, 1015 Arlington Street, Winnipeg, Manitoba, Canadá R3E 3R2, con el número de acceso 070303-01. Se pueden encontrar más detalles sobre la cepa 046-ECO11 y los medios para producir AMO-01 en la publicación de patente internacional WO 2004/065591, publicada el 5 de agosto de 2004, cuyo contenido se incorpora en el presente documento como referencia.

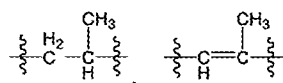
Además de AMO-01 y sus sales farmacéuticamente aceptables, cada uno de los métodos de la presente invención se puede practicar mediante la administración a un sujeto que tiene PMS o un sujeto predispuesto a desarrollar PMS al menos un compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



Fórmula I

en la que,

cada uno de W¹, W² y W³ es independientemente



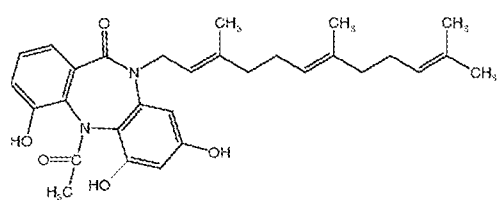
o la cadena del tríciclo puede terminar en W³, W² o W¹ siendo W³, W² o W¹ respectivamente -CH=O o -CH₂OH;

A es -NH- o -NC(O)R¹- en la que R¹ es alquilo C₁-₆, cada uno de R², R³ y R⁴ es independientemente H.

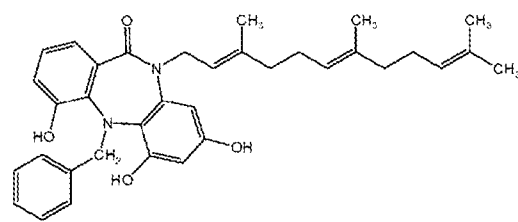
En determinadas realizaciones, la invención proporciona compuestos de Fórmula I, en la que A se selecciona del grupo que consiste en NH y NC(O)R¹; en la que R² es H; R³ es H; y R⁴ es H. En otra realización, R², R³ y R⁴ son cada uno H; y todos los demás grupos son como se definieron previamente. En una realización adicional, R², R³ y R⁴ son cada uno H; y W¹ es -CH=CH- y todos los demás grupos son como se definieron previamente. En una realización adicional, R², R³ y R⁴ son cada uno H, y W² es -CH=CH- y todos los demás grupos son como se definieron previamente. En una realización adicional, R², R³ y R⁴ son cada uno H; y W³ es -CH=CH-; y todos los demás grupos son como se definieron previamente. En una realización adicional, A es NH; R², R³ y R⁴ son cada uno H; y todos los demás grupos son como se definieron previamente. En una realización adicional, A es NH; cada uno de W¹, W² y W³ es -CH=CH-; y todos los demás grupos son como se definieron previamente. La invención abarca todas las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos anteriores.

Los siguientes son compuestos ejemplares adicionales de Fórmula I.

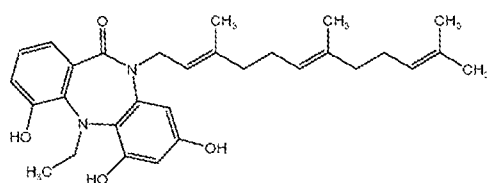
Los compuestos de fórmula IV, V, VI, XXVI, XXVII, XXVIII, XXIX, XXX, XXI, XXXII, XXXIII, XXXIV, XXXVII, XXXVIII y XXXIX no son de la invención.



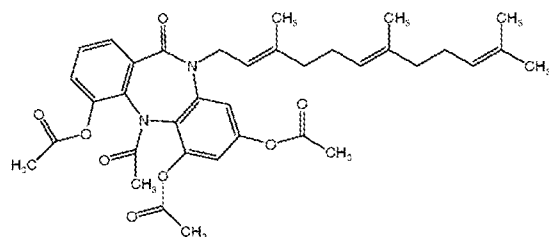
Fórmula III



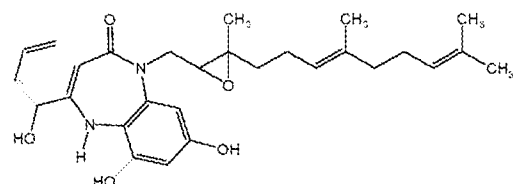
Fórmula IV



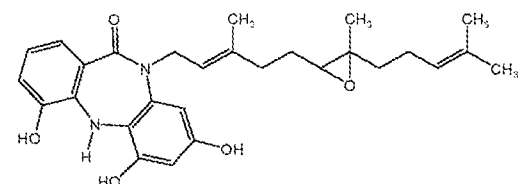
Fórmula V



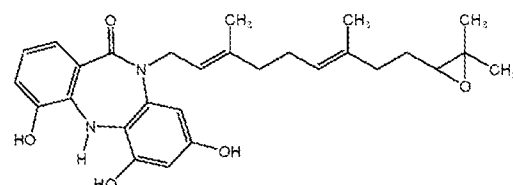
Fórmula VI



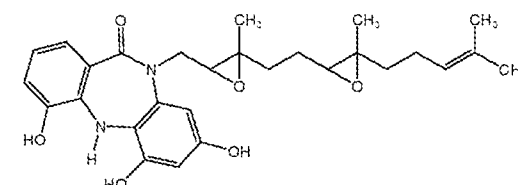
Fórmula VII



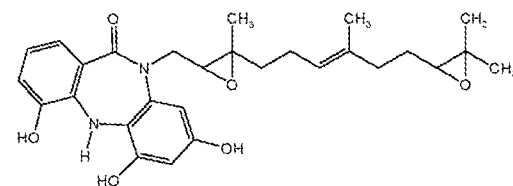
Fórmula VIII



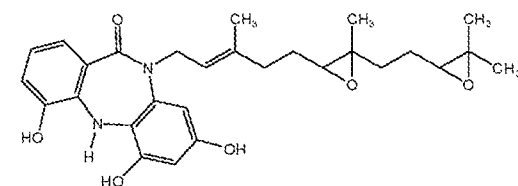
Fórmula IX



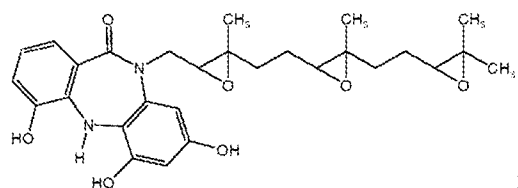
Fórmula X



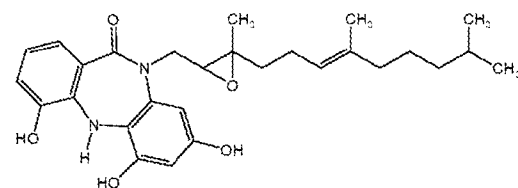
Fórmula XI



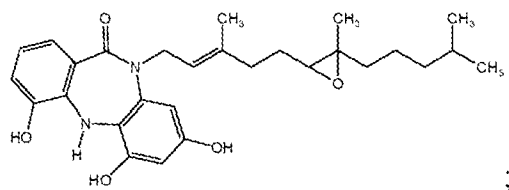
Fórmula XII



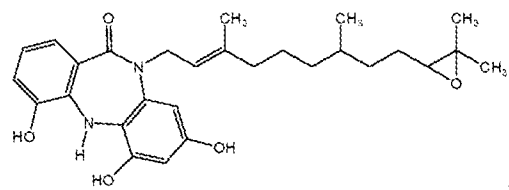
Fórmula XIII



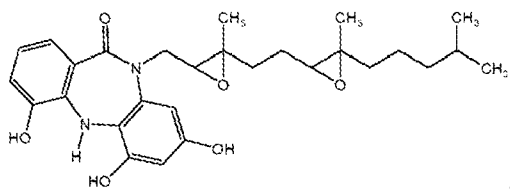
Fórmula XIV



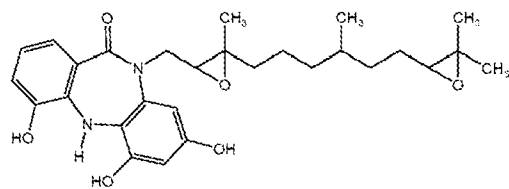
Fórmula XV



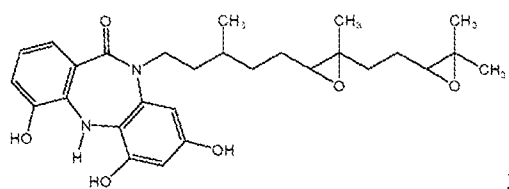
Fórmula XVI



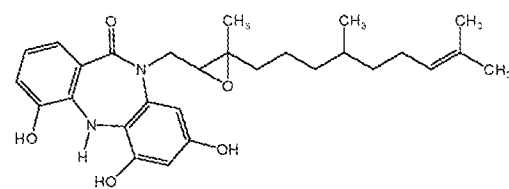
Fórmula XVII



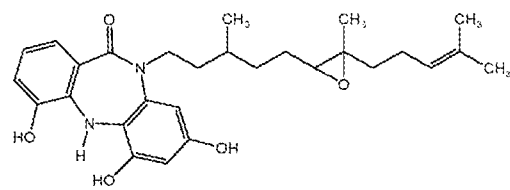
Fórmula XVIII



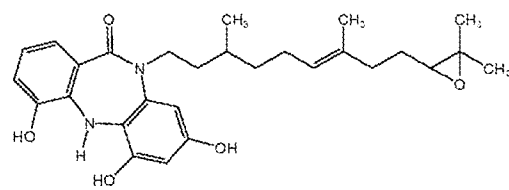
Fórmula XIX



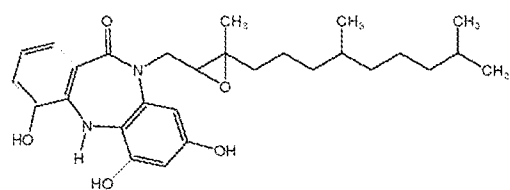
Fórmula XX



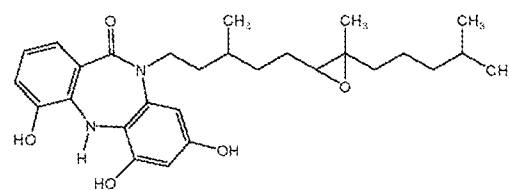
Fórmula XXI



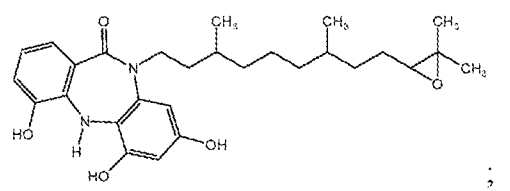
Fórmula XXII



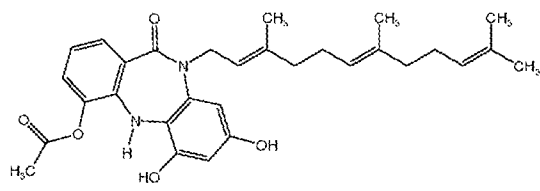
Fórmula XXIII



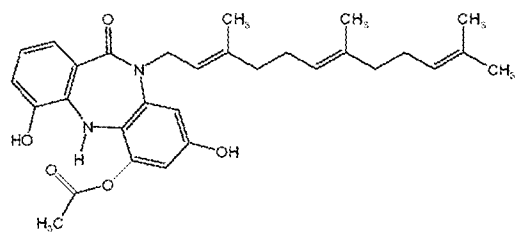
Fórmula XXIV



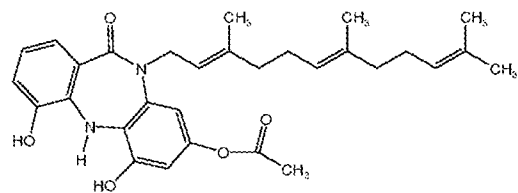
Fórmula XXV



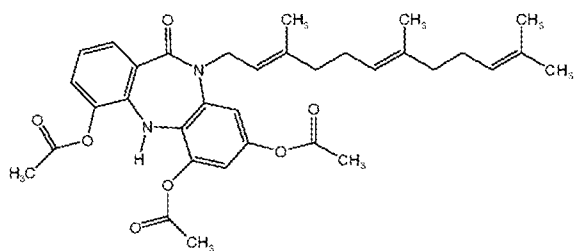
Fórmula XXVI



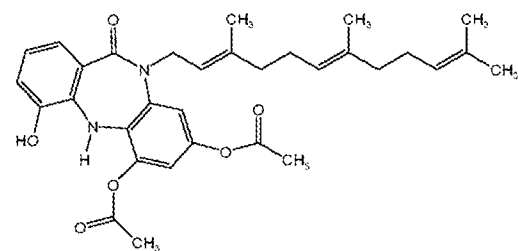
Fórmula XXVII



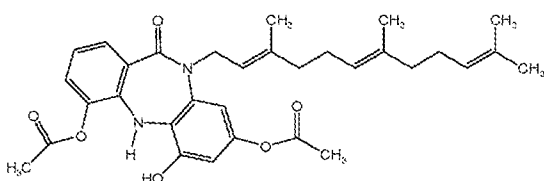
Fórmula XXVIII



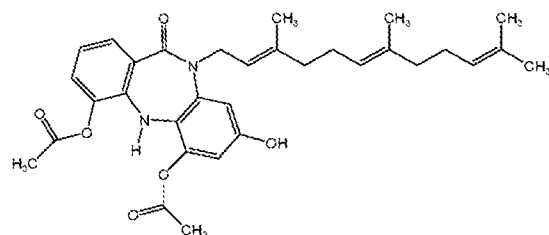
Fórmula XXIX



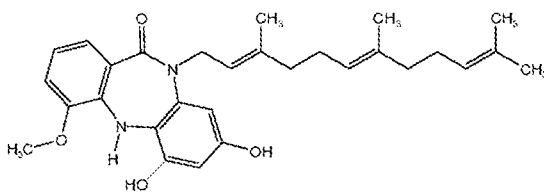
Fórmula XXX



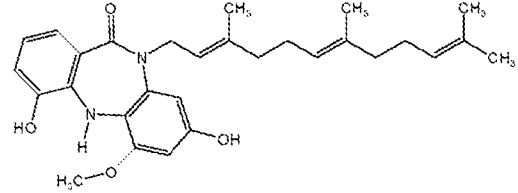
Fórmula XXXI



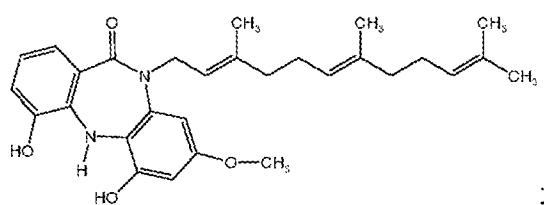
Fórmula XXXII



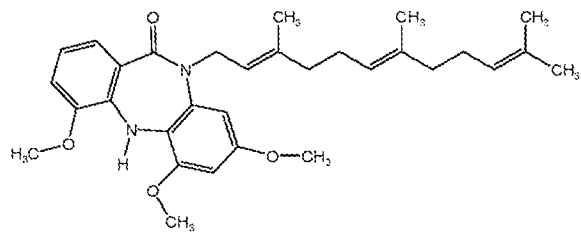
Fórmula XXXIII



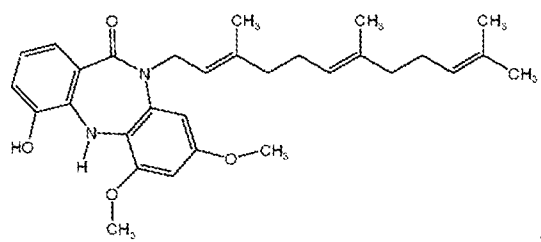
Fórmula XXXIV



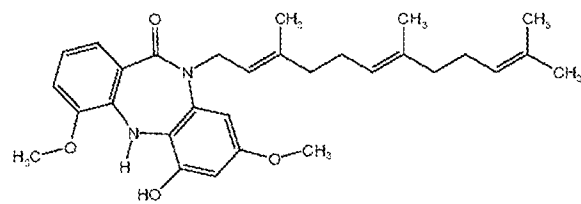
Fórmula XXXV



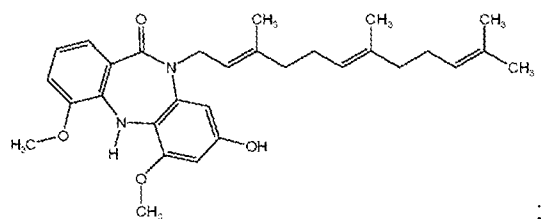
Fórmula XXXVI



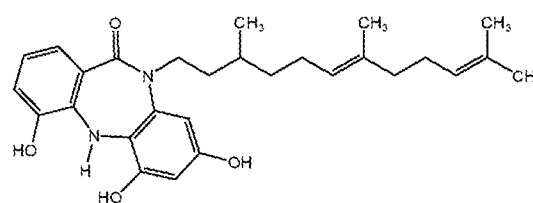
Fórmula XXXVII



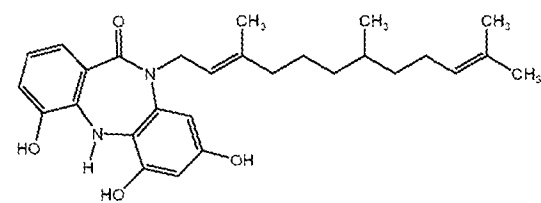
Fórmula XXXVIII



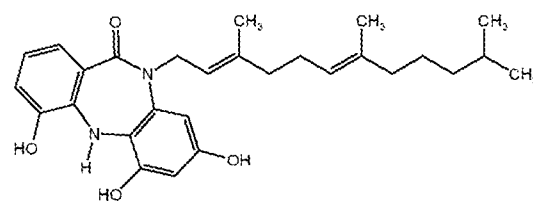
Fórmula XXXIX



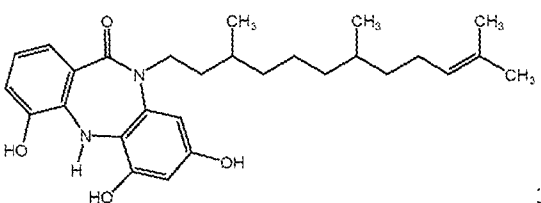
Fórmula XL



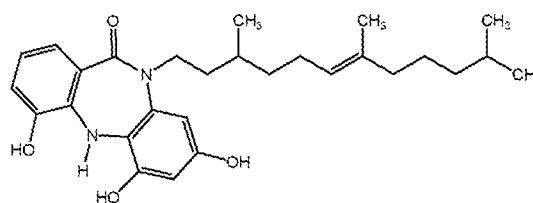
Fórmula XLI



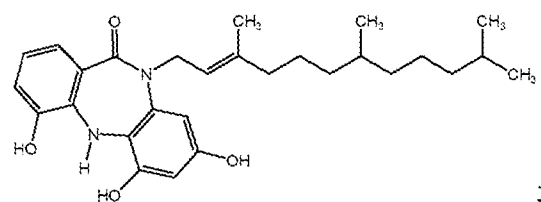
Fórmula XLII



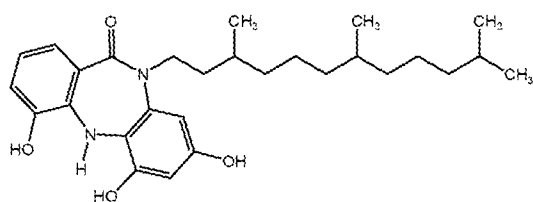
Fórmula XLIII



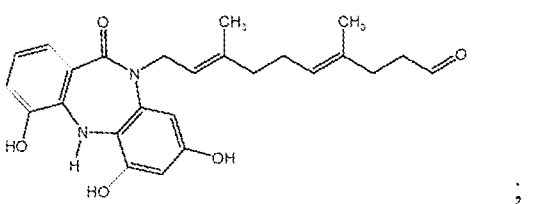
Fórmula XLIV



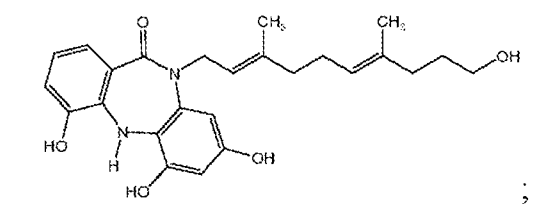
Fórmula XLV



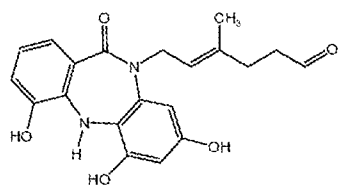
Fórmula XLVI



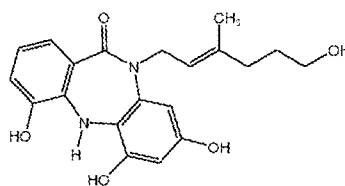
Fórmula XLVII



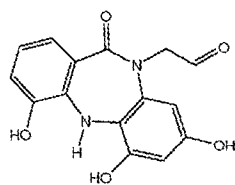
Fórmula XLVIII



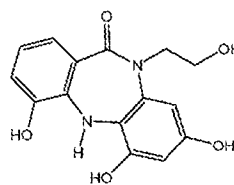
Fórmula XLIX



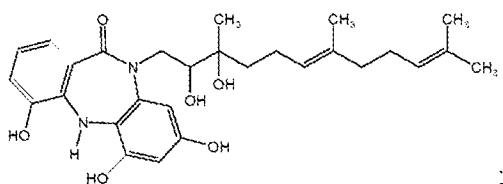
Fórmula L



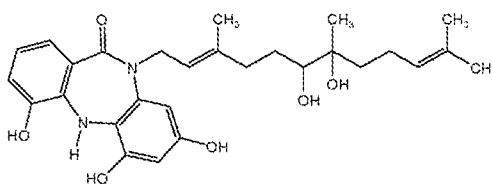
Fórmula LI



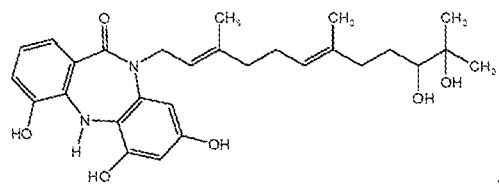
Fórmula LII



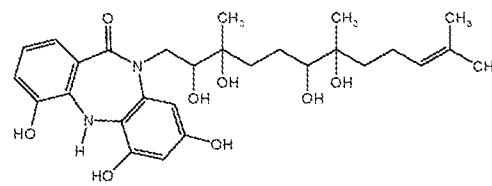
Fórmula LIII



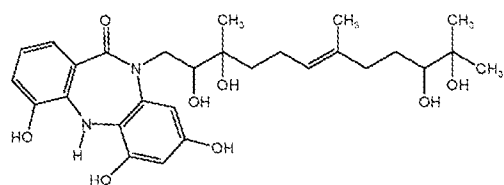
Fórmula LIV



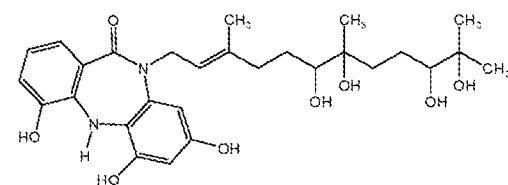
Fórmula LV



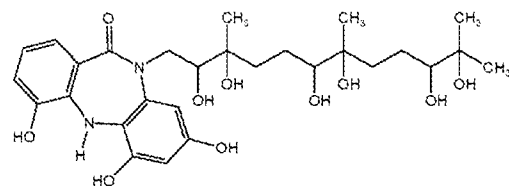
Fórmula LVI



Fórmula LVII



Fórmula LVIII



Fórmula LIX

Como se usa en el presente documento, el término "alquilo" se refiere a grupos hidrocarbonados lineales o ramificados. Los ejemplos de grupos alquilo incluyen, sin limitación, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, pentilo, hexilo, heptilo, ciclopentilo, ciclohexilo, ciclohexilmetilo y similares. El alquilo puede estar opcionalmente sustituido con sustituyentes seleccionados entre acilo, amino, acilamino, aciloxi, carboalcoxi, carboxi, carboxiamido, ciano, halo, hidroxilo, nitro, tio, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, heterociclilo, arilo, heteroarilo, alcoxi, ariloxi, sulfinilo, sulfonilo, oxo, guanidino y formilo.

El término "alquenilo" se refiere a grupos hidrocarbonados lineales, ramificados o cíclicos que contienen al menos un doble enlace carbono-carbono. Los ejemplos de grupos alquenilo incluyen, sin limitación, vinilo, 1-propen-2-ilo, 1-buten-4-ilo, 2-buten-4-ilo, 1-penten-5-ilo y similares. El alquenilo puede estar opcionalmente sustituido con sustituyentes seleccionados entre acilo, amino, acilamino, aciloxi, carboalcoxi, carboxi, carboxiamido, ciano, halo, hidroxilo, nitro, tio, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, heterociclilo, arilo, heteroarilo, alcoxi, ariloxi, sulfinilo, sulfonilo, formilo, oxo y guanidino. La(s) porción(es) de doble enlace de la cadena hidrocarbonada insaturada pueden estar en configuración cis o trans.

Los términos "cicloalquilo" y "anillo cicloalquilo" se refieren a un anillo carbocíclico saturado o parcialmente insaturado en un sistema de anillos carbocíclico simple o condensado que tiene de tres a quince miembros por anillo. Ejemplos de grupos cicloalquilo incluyen, sin limitación, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclohexilo y cicloheptilo. El cicloalquilo puede estar opcionalmente sustituido con sustituyentes seleccionados entre acilo, amino, acilamino, aciloxi, carboalcoxi, carboxi, carboxiamido, ciano, halo, hidroxilo, nitro, tio, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, heterociclilo, arilo, heteroarilo, alcoxi, ariloxi, sulfinilo, sulfonilo y formilo.

Los términos "heterociclilo" y "heterocíclico" se refieren a un anillo saturado o parcialmente insaturado que contiene de uno a cuatro heteroátomos o heterogrupos seleccionados entre O, N, NH, NR_x, PO₂, S, SO o SO en un sistema de anillos heterocíclico único o condensado que tiene de tres a quince miembros por anillo. Los ejemplos de un anillo heterociclilo o heterocíclico incluyen, sin limitación, morfolinilo, piperidinilo y pirrolidinilo. El anillo heterociclilo, heterocíclico o heterociclilo puede estar opcionalmente sustituido con sustituyentes seleccionados entre acilo, amino, acilamino, aciloxi, oxo, tiocarbonilo, imino, carboalcoxi, carboxi, carboxiamido, ciano, halo, hidroxilo, nitro, tio, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, heterociclilo, arilo, heteroarilo, alcoxi, ariloxi, sulfinilo, sulfonilo y formilo.

El término "aminoácido" se refiere a cualquier aminoácido natural; los aminoácidos naturales son bien conocidos por un experto en la técnica.

El término "halo" se refiere a un átomo de halógeno, por ejemplo, bromo, cloro, flúor y yodo.

Los términos "arilo" y "anillo de arilo" se refieren a grupos aromáticos en un sistema de anillo único o condensado, que tienen de cinco a quince miembros por anillo. Los ejemplos de arilo incluyen, sin limitación, fenilo, naftilo, bifenilo, terfenilo. El arilo puede estar opcionalmente sustituido con uno o más grupos sustituyentes seleccionados entre acilo, amino, acilamino, aciloxi, azido, alquiltio, carboalcoxi, carboxi, carboxiamido, ciano, halo, hidroxilo, nitro, tio, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, heterociclilo, arilo, heteroarilo, alcoxi, ariloxi, sulfinilo, sulfonilo y formilo.

Los términos "heteroarilo" y "anillo heteroarilo" se refieren a grupos aromáticos en un sistema de anillo único o condensado, que tienen de cinco a quince miembros por anillo y que contienen al menos un heteroátomo tal como O, N, S, SO y SO₂. Ejemplos de grupos heteroarilo incluyen, sin limitación, grupos piridinilo, tiazolilo, tiadiazolilo, isoquinolinilo, pirazolilo, oxazolilo, oxadiazolilo, triazolilo y pirrolilo. Los grupos heteroarilo pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o más grupos sustituyentes seleccionados entre acilo, amino, acilamino, aciloxi, carboalcoxi, carboxi, carboxiamido, ciano, halo, hidroxilo, nitro, tio, tiocarbonilo, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, heterociclilo, arilo, heteroarilo, alcoxi, ariloxi, sulfinilo, sulfonilo y formilo.

Los términos "aralquilo" y "heteroaralquilo" se refieren a un grupo arilo o un grupo heteroarilo, respectivamente unidos directamente a través de un grupo alquilo, tal como bencilo. Aralquilo y heteroaralquilo pueden estar opcionalmente sustituidos como grupos arilo y heteroarilo.

De manera similar, los términos "aralquenilo" y "heteroaralquenilo" se refieren a un grupo arilo o un grupo heteroarilo, respectivamente unidos directamente a través de un grupo alqueno, tal como bencilo. Aralquenilo y heteroaralquenilo pueden estar opcionalmente sustituidos como grupos arilo y heteroarilo.

Los compuestos de la presente invención pueden poseer uno o más átomos de carbono asimétricos y pueden existir como isómeros ópticos formando mezclas de compuestos racémicos o no racémicos. Los compuestos de la presente invención son útiles como isómeros individuales o como una mezcla de formas isómeras estereoquímicas. Los diastereoisómeros, es decir, isómeros estereoquímicos no superponibles, se pueden separar por medios convencionales tales como cromatografía, destilación, cristalización o sublimación. Los isómeros ópticos pueden obtenerse mediante resolución de las mezclas racémicas según procedimientos convencionales.

Como se usa en el presente documento, la referencia a un sujeto que tiene PMS es un sujeto identificado con una eliminación cromosómica en 22q13.3 que tiene al menos dos de los siguientes síntomas: hipotonía (tono bajo), crecimiento normal o acelerado, capacidad de habla ausente o severamente retrasada y retraso global en el desarrollo.

5 Como se usa en el presente documento, la referencia a un sujeto predispuesto a desarrollar PMS es un sujeto identificado por tener una eliminación cromosómica en 22q13.3 y/o un sujeto que tiene al menos dos de los siguientes síntomas: hipotonía (tono bajo), crecimiento normal o acelerado, habla ausente o muy retrasada y retraso en el desarrollo global.

10 Como resultará evidente, la identidad de la(s) eliminación(es) cromosómica(s) en un sujeto que tiene PMS o está predispuesto a desarrollar PMS puede variar en tamaño, número y ubicación específica dentro de los loci. Además, debido a que se cree que el PMS está relacionado con la haploinsuficiencia de *SHANK3*, la eliminación cromosómica en 22q13.3 puede estar en uno o ambos alelos. Cuando está en ambos alelos, la eliminación puede ser diferente entre los alelos.

15 Como se usa en el presente documento, la expresión reducida de la proteína SHANK3 en un sujeto es una reducción de la expresión de la proteína SHANK3 de al menos un 30 % frente a un sujeto que no tiene una eliminación cromosómica en 22q13.3. La reducción en la expresión de la proteína SHANK3 puede ser al menos del 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o más frente a un sujeto que no tiene una eliminación cromosómica en 22q13.3.

Como se usa en el presente documento, una proteína SHANK3 disfuncional es una proteína SHANK3 que no soporta la función de sinapsis normal.

25 III. Compuestos para uso en métodos de tratamiento

La presente invención se refiere a compuestos para uso en métodos para tratar a un sujeto que tiene PMS o un sujeto predispuesto a desarrollar PMS. Cada uno de los métodos de la invención comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de (i) al menos un compuesto de Fórmula I o (ii) una formulación farmacéutica que comprende al menos un compuesto de Fórmula (I) y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable a un sujeto, tal como un sujeto que tiene PMS o un sujeto predispuesto a desarrollar PMS. En determinadas realizaciones, al menos un compuesto de farnesil dibenzodiazepinona es AMO-01.

35 También se divulga el uso de (i) al menos un compuesto de farnesil dibenzodiazepinona o (ii) una formulación farmacéutica que comprende al menos un compuesto de farnesil dibenzodiazepinona y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable para (a) tratar a un sujeto que tiene PMS, (b) métodos para tratar a un sujeto que tiene PMS, (c) tratar a un sujeto predispuesto a desarrollar PMS o (d) métodos para tratar a un sujeto predispuesto a desarrollar PMS. En determinadas realizaciones, al menos un compuesto de farnesil dibenzodiazepinona es AMO 01.

40 También se divulga una cantidad terapéuticamente eficaz de (i) al menos un compuesto de farnesil dibenzodiazepinona o (ii) una formulación farmacéutica que comprende al menos un compuesto de farnesil dibenzodiazepinona y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable para su uso para (a) tratar a un sujeto que tiene PMS, (b) un método para tratar a un sujeto que tiene PMS, (c) tratar a un sujeto predispuesto a desarrollar PMS, o (d) métodos para tratar a un sujeto predispuesto a desarrollar PMS. En determinadas realizaciones, al menos un compuesto de farnesil dibenzodiazepinona es AMO-01.

Como se usan en el presente documento, los términos "tratar", "que trata" y "tratamiento" tienen sus significados ordinarios y habituales, e incluyen uno o más de los siguientes: mejorar un síntoma del PMS en un sujeto que tiene PMS o un sujeto predispuesto a desarrollar PMS; bloquear un síntoma del PMS en dicho sujeto; bloquear o mejorar la recurrencia de un síntoma del PMS en dicho sujeto; disminuir la gravedad y/o la frecuencia de un síntoma del PMS en dicho sujeto; bloquear la progresión del PMS en dicho sujeto; y curar o resolver el PMS en dicho sujeto. Tratamiento significa mejorar, etc., entre aproximadamente un 1 % y aproximadamente un 100 % frente a un sujeto al que no se le ha administrado el tratamiento. Preferiblemente, la mejora, etc. es aproximadamente 100 %, aproximadamente 99 %, aproximadamente 98 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente el 40 % o aproximadamente el 30 % frente a un sujeto al que no se le ha administrado el tratamiento. El tratamiento puede comenzar antes, simultáneamente o después de la aparición de los síntomas clínicos del trastorno. Por lo tanto, el sujeto puede estar mostrando síntomas del PMS, o simplemente diagnosticado como predispuesto a desarrollar PMS pero hasta el momento libre de síntomas del trastorno. Los resultados del tratamiento pueden ser permanentes o pueden continuar durante un período de días (tal como 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7 días), semanas (tal como 1, 2, 3 o 4 semanas) o meses (tal como 1, 2, 3, 4, 5, 6 o más meses).

La cantidad de al menos una farnesil dibenzodiazepinona administrada a un sujeto cuando se practican los métodos de la invención variará según factores tales como la edad y el peso del sujeto, y la identidad y gravedad de los síntomas del trastorno. Sin embargo, la cantidad administrada a un sujeto será una cantidad terapéuticamente eficaz, es decir, una cantidad suficiente para efectuar el tratamiento. Como ejemplo, una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos

una farnesil dibenzodiazepinona está entre aproximadamente 0.1 µg y aproximadamente 200 mg por kg de peso corporal del sujeto. Intervalos adicionales de cantidades terapéuticamente eficaces incluyen, entre otros, aproximadamente 10 µg/kg a 200 mg/kg; aproximadamente 100 µg/kg a 200 mg/kg; aproximadamente 1 mg/kg a 200 mg/kg; aproximadamente 10 mg/kg a 200 mg/kg; aproximadamente 10 µg/kg a 100 mg/kg; aproximadamente 100 µg/kg a 100 mg/kg; aproximadamente 1 mg/kg a 100 mg/kg; aproximadamente 10 mg/kg a 100 mg/kg; aproximadamente 0.1 µg/kg a 50 mg/kg; aproximadamente 1 µg/kg a 50 mg/kg; aproximadamente 10 µg/kg a 50 mg/kg; aproximadamente 100 µg/kg a 50 mg/kg; aproximadamente 1 mg/kg a 50 mg/kg; aproximadamente 1 mg/kg a 40 mg/kg; aproximadamente 1 mg/kg a 30 mg/kg; aproximadamente 1 mg/kg a 20 mg/kg; aproximadamente 1 mg/kg a 10 mg/kg; aproximadamente 1 mg/kg a 5 mg/kg; aproximadamente 0.1 mg/kg a 10 mg/kg; aproximadamente 0.1 mg/kg a 5 mg/kg; aproximadamente 10 mg/kg a 50 mg/kg; y aproximadamente 20 µg/kg a 40 mg/kg de peso corporal del sujeto. Ejemplos específicos de cantidades terapéuticamente eficaces incluyen, entre otros, aproximadamente 0.1, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59 y 60 mg/kg del peso corporal del sujeto. Dicho de manera alternativa, una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos una farnesil dibenzodiazepinona está entre aproximadamente 1 mg/m² y aproximadamente 1000 mg/m². Los intervalos adicionales de cantidades terapéuticamente efectivas incluyen, entre otros, aproximadamente 1 mg/m² a aproximadamente 1000 mg/m²; aproximadamente 1 mg/m² a aproximadamente 500 mg/m²; aproximadamente 1 mg/m² a aproximadamente 400 mg/m²; aproximadamente 1 mg/m² a aproximadamente 300 mg/m²; aproximadamente 1 mg/m² a aproximadamente 250 mg/m²; aproximadamente 1 mg/m² a aproximadamente 200 mg/m²; aproximadamente 1 mg/m² a aproximadamente 150 mg/m²; aproximadamente 1 mg/m² a aproximadamente 100 mg/m²; aproximadamente 50 mg/m² a aproximadamente 1000 mg/m²; aproximadamente 50 mg/m² a aproximadamente 500 mg/m²; aproximadamente 50 mg/m² a aproximadamente 400 mg/m²; aproximadamente 50 mg/m² a aproximadamente 300 mg/m²; aproximadamente 50 mg/m² a aproximadamente 200 mg/m²; aproximadamente 50 mg/m² a aproximadamente 150 mg/m²; aproximadamente 50 mg/m² a aproximadamente 100 mg/m²; aproximadamente 100 mg/m² a aproximadamente 1000 mg/m²; aproximadamente 100 mg/m² a aproximadamente 500 mg/m²; aproximadamente 100 mg/m² a aproximadamente 400 mg/m²; aproximadamente 100 mg/m² a aproximadamente 300 mg/m²; aproximadamente 100 mg/m² a aproximadamente 200 mg/m²; y aproximadamente 100 mg/m² a aproximadamente 150 mg/m². Ejemplos específicos de cantidades terapéuticamente eficaces incluyen, entre otros, aproximadamente 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 o 200 mg/m², o más.

Al menos un compuesto de farnesil dibenzodiazepinona se puede administrar a un sujeto una, o dos veces, tres veces, cuatro veces, cinco veces, seis veces o más, durante un curso de tratamiento. El tiempo entre cada dosis en un programa de dosificación puede variar entre días, semanas, meses o años, e incluye la administración una vez cada 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 o más semanas. Se puede administrar la misma cantidad de al menos una farnesil dibenzodiazepinona en cada dosis del programa de dosificación, o las cantidades en cada dosis pueden variar. Las dosis y programas de dosificación apropiados pueden determinarse fácilmente mediante técnicas bien conocidas por los expertos en la técnica sin excesiva experimentación. Tal determinación se basará, en parte, en la tolerabilidad y eficacia de una dosis particular.

Las frecuencias de administración incluyen 4, 3, 2 o una vez al día, cada dos días, cada tercer día, cada cuarto día, cada quinto día, cada sexto día, una vez a la semana, cada ocho días, cada nueve días, cada diez días, quincenal, mensual y bimensual. La duración del tratamiento se basará en los síntomas y la gravedad del trastorno en el sujeto en particular y será mejor que la determine el médico tratante. Sin embargo, se prevé que la continuación del tratamiento dure varios días, semanas, meses o años. De hecho, en algunos casos, el tratamiento puede continuar durante toda la vida del sujeto.

Dependiendo del medio de administración, la dosis se puede administrar toda de una vez, tal como con una formulación oral en una cápsula o líquido, o lentamente durante un período de tiempo, tal como con una administración intramuscular o intravenosa. Cuando se administra a lo largo del tiempo, el transcurso de la administración puede ser, por ejemplo, 10, 20, 30, 40, 50 o 60 minutos, o 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5, 7, 7.5, 8, 8.5, 9, 9.5 o 10 horas, o más. En una realización de la invención, la dosis es de 120 mg/m² administrada al sujeto durante 6 horas.

Como se usa en el presente documento, "sujeto" incluye, entre otros, un ser humano, un primate no humano, un ave, un caballo, una vaca, una cabra, una oveja, un animal de compañía, tal como un perro, un gato o un roedor, u otro mamífero.

IV. Formulaciones y dosis

En cada uno de los métodos de tratamiento de la invención, al menos un compuesto de Fórmula (I) y las formulaciones farmacéuticas se administran en una forma farmacéuticamente aceptable y en cantidades sustancialmente no tóxicas.

Las formulaciones farmacéuticas de la invención comprenderán al menos un compuesto de farnesil dibenzodiazepinona como se describe en el presente documento. Las formulaciones farmacéuticas también comprenderán uno o más vehículos o diluyentes farmacéuticamente aceptables.

Los ejemplos adecuados de vehículos y diluyentes son bien conocidos por los expertos en la técnica e incluyen agua, agua para inyección, solución salina, solución salina tamponada, dextrosa, glicerol, etanol, propilenglicol, polisorbato 80 (Tween-80™), poli(etilen)glicol 300 y 400 (PEG 300 y 400), aceite de ricino PEGilado (por ejemplo, Cremophor EL), poloxámero 407 y 188, vehículos hidrófilos e hidrófobos, y combinaciones de los mismos. Los vehículos hidrófobos incluyen, por ejemplo, emulsiones de grasas, lípidos, fosfolípidos PEGilados, matrices poliméricas, polímeros biocompatibles, liposomas, vesículas, partículas y liposomas. Los términos excluyen específicamente el medio de cultivo celular. Las formulaciones pueden comprender además agentes estabilizantes, tampones, antioxidantes y conservantes, agentes de tonicidad, agentes de relleno, emulsionantes, agentes de suspensión o viscosidad, diluyentes inertes, rellenos y combinaciones de los mismos.

La identidad de los vehículos y diluyentes dependerá de la manera en que se utilicen las formulaciones farmacéuticas y de los medios utilizados para administrar las formulaciones farmacéuticas a un sujeto. Por ejemplo, se pueden preparar formulaciones farmacéuticas para preparaciones intramusculares donde el vehículo es agua para inyección, solución salina al 0.9 % o solución de glucosa al 5 %.

Además, las formulaciones farmacéuticas se pueden administrar en forma líquida. El líquido puede ser para dosificación oral, para dosificación oftálmica o nasal en forma de gotas, o para uso como enema o ducha vaginal. Cuando la formulación farmacéutica se formula como un líquido, el líquido puede ser una solución o una suspensión de la formulación farmacéutica. Existe una variedad de formulaciones adecuadas para la solución o suspensión de las formulaciones farmacéuticas que son bien conocidas por los expertos en la técnica, dependiendo del uso previsto de las mismas. Las formulaciones líquidas para administración oral preparadas en agua u otros vehículos acuosos pueden contener diversas agentes de suspensión tales como metilcelulosa, alginatos, tragacanto, pectina, kelgin, carragenano, acacia, polivinilpirrolidona y alcohol polivinílico. Las formulaciones líquidas también pueden incluir soluciones, emulsiones, jarabes y elixires que contienen, junto con el o los compuestos activos, agentes humectantes, edulcorantes y agentes colorantes y saborizantes.

Los compuestos de farnesil dibenzodiazepinona y las formulaciones farmacéuticas se pueden formular y administrar a través de cualquiera de los medios comúnmente conocidos, incluidos, entre otros, la administración oral, sublingual, intranasal, intraocular, rectal, transdérmica, mucosa, pulmonar, tópica o parenteral. Los modos de administración parenteral incluyen, entre otros, intradérmico, subcutáneo (s.c., s.q., sub-Q, Hypo), intramuscular (i.m.), intravenosa (i.v.), intraperitoneal (i.p.), intraarterial, intramedular, intracardiaca, intraarticular (articulación), intrasinovial (área del líquido articular), intracraneal, intraespinal e intratecal (líquido espinal). Para efectuar dicha administración se puede utilizar cualquier dispositivo conocido útil para inyección parenteral o infusión de formulaciones de fármacos.

V. Ejemplo 1

Ratones

Se generaron ratones homocigotos *Shank3^{b/-}* con eliminaciones de los exones 13-16, obtenidos inicialmente del Jackson Laboratory, y se generaron compañeros de camada de tipo silvestre (WT) a partir de ratones C57BL/6J y se retrocruzaron repetidamente con ratones C57BL/6J durante más de ocho generaciones. Los ratones con eliminación (KO) de *Shank3* resultantes se alojaron en grupos del mismo genotipo en una habitación con temperatura y humedad controladas con un ciclo de luz y oscuridad de 12 h (luces encendidas de 7 am a 7 pm). La temperatura y la humedad ambiente se registraron continuamente en el sitio de albergue. Las pruebas se realizaron durante la fase de luz. Comida y agua estaban disponibles a voluntad. Las pruebas se realizaron en ratones con eliminación de *Shank3* y sus compañeros de camada de tipo silvestre, con N = 10 ratones por grupo de tratamiento, probados a los dos meses de edad durante experimentos de comportamiento. Los ratones se alojaron en jaulas de plástico comerciales y los experimentos se realizaron de acuerdo con los requisitos del Acta sobre Animales del Reino Unido (Procedimientos Científicos), 1986. Todos los experimentos se realizaron con experimentadores que no conocían el genotipo y al tratamiento farmacológico. A los animales se les permitió un período mínimo de aclimatación de una semana antes de realizar cualquier experimento. Sólo se utilizaron animales sanos. No se debía administrar ningún tratamiento profiláctico o terapéutico durante el período de aclimatación.

Actividad de Ras-ERK

En un experimento inicial, se determinó la actividad de la vía Ras-ERK en el cerebro y los linfocitos en tratamiento frente a animales sin tratamiento previo. Se compararon grupos de N = 10 ratones. Para la determinación de los niveles de biomarcadores cerebrales, se utilizaron los siguientes métodos y reactivos. Se separaron veinte microgramos de lisado de proteínas de cada muestra en geles de electroforesis de poli(acrilamida con dodecilsulfato de sodio al 8-16 % (Bio-Rad, 161-1222) y luego se transfirieron a membranas de nitrocelulosa (Bio-Rad, 162-0115). Las membranas se procesaron siguiendo el sustrato de transferencia Western ECL (Pierce, 32106) con (ERK) 1/2 (1/2000) (Cell Signaling). El contenido total de proteína ERK 1/2 (fosforilada) se evaluó mediante transferencia de membranas con anticuerpos antifosfo-ERK (1/2000) (Cell Signaling). La fosforilación de ERK se normalizó al contenido de proteínas en la misma muestra y se expresó como % de cambio con respecto a las condiciones basales, considerando los niveles basales como 100 %. La carga de proteínas se evaluó quitando y volviendo a transferir las membranas con

anticuerpo de actina b (1/1000) (Sigma Chemical Co.). Fósforo-ERK1/2 (Thr 202/Tyr-204) (Cell Signaling Technology®, #4370) ERK total, p44/42 MAPK (Erk1/2) Anticuerpo #9102 (Cell Signaling Technology®). Para los controles de carga, se quitaron las membranas y se volvieron a sondear con el anticuerpo contra tubulina (Sigma, A3853). Para las determinaciones de biomarcadores de linfocitos, se utilizó un FACStar plus (Becton Dickinson) con el láser de excitación sintonizado a 488 nm y se recolectó la fluorescencia verde de FITC (GST) a través de un filtro de paso de banda de 515-545 nm. La intensidad media de fluorescencia de FITC se calculó en relación con la fluorescencia de las células de referencia. La intensidad media de fluorescencia celular (MFI) es directamente proporcional al número medio de moléculas de Ab unidas por célula.

Pruebas de comportamiento

Se administró AMO-01 de AMO Pharma Ltd a ratones de la siguiente manera:

A. AMO-01 en una dosis única de 30 mg/kg por vía intraperitoneal en un vehículo de etanol, PEG 400 y polisorbato 80 y dextrosa al 5 %

B. Vehículo dosificado por vía intraperitoneal a razón de 15 mL/kg

Se trataron grupos de N = 10 ratones durante 4 horas antes de la prueba el primer día de la prueba. Se realizaron cinco días de pruebas después de la dosis intraperitoneal única administrada el día 1.

Se estudiaron los siguientes grupos:

1. Ratones con eliminación de *Shank3b*^{-/-} + vehículo, N = 10
2. Ratones con eliminación de *Shank3b*^{-/-} + AMO-01 30 mg/kg i.p., N = 10
3. Compañeros de camada de tipo silvestre + vehículo, N = 10
4. Compañeros de camada de tipo silvestre + AMO-01 30 mg/kg i.p., N = 10

Se administraron las siguientes pruebas.

Día 1: Aumento de la ansiedad en la prueba de la caja con luz - oscuridad. Las pruebas se realizaron en un aparato de prueba de dos cámaras (Med Associates, St. Albans, VT), con un lado "la cámara oscura" mantenida en la oscuridad en todo momento y la otra cámara iluminada durante las pruebas era "la cámara de luz". Al colocar los ratones en la cámara oscura, se iluminó la cámara de luz y se abrió la puerta entre las dos cámaras. A los ratones se les permitió explorar libremente el aparato durante 5 minutos. La latencia para salir de la cámara oscura a la iluminada y el porcentaje de tiempo pasado en la cámara iluminada se utilizaron como índices de comportamientos similares a la ansiedad.

Día 2: Aseo excesivo que conduce a lesiones cutáneas. Los ratones con eliminación de *Shank3b*^{-/-} desarrollan lesiones cutáneas pronunciadas en diversos grados en la colonia general de albergue. Durante esta prueba, un observador ciego al genotipo calificó el tiempo dedicado a acicalarse en todas las secuencias: limpiarse la cara, rascarse/frotarse la cabeza y las orejas y acicalarse todo el cuerpo.

Día 3: Anormalidades en el reconocimiento social y respuesta a la novedad social. Esta prueba estuvo compuesta por tres fases con varios estímulos colocados en cada una de las dos cámaras laterales. La fase 1 contiene dos estímulos no sociales idénticos (NS1 y NS1), la fase 2 contiene un estímulo no social (NS1) y un estímulo social (Soc1), y la fase 3 contiene un estímulo social conocido (Soc1) y un estímulo social novedoso (Soc2). Se comparó el índice de preferencia de un estímulo sobre otro en cada fase.

Día 4: Función motora sensorial evaluada mediante pruebas de marcha con vigas. Se utilizó un paradigma estándar para evaluar el rendimiento de la marcha con vigas (latencia para caer).

Día 5: Actividades de la vida diaria/comportamientos típicos de la especie evaluados mediante enterramiento de canicas. Se utilizó un paradigma estándar para evaluar el comportamiento del entierro de canicas.

El umbral de convulsiones evaluado mediante convulsiones audiogénicas se evaluó en una cohorte separada con N = 10 por grupo. Las convulsiones se indujeron con un estímulo continuo de 60 segundos (124 db). Un observador ciego calificó las tasas de respuesta motora y la puntuación de gravedad de las convulsiones después de la estimulación auditiva según la clasificación: carrera silvestre, convulsiones y paro respiratorio.

Los resultados de las pruebas de función de la vía Ras-ERK se muestran en la Figura 1, donde se muestra la activación de la vía Ras-ERK en ratones de tipo silvestre (WT) y con eliminación (KO) de *shank3* según lo indexado por los niveles de pERK en el hipocampo y la corteza. No se observaron cambios en el hipocampo, lo que es paralelo a la falta de efecto observado en esta región usando electrofisiología en los estudios de Peca et al. (2011). Por el contrario, se observó un aumento de casi tres veces en pERK en la corteza (Peca et al. 2011 informaron cambios estriato-cortical en este ratón). También se observó un aumento significativo en los linfocitos periféricamente circulantes (datos no mostrados).

Los resultados de la prueba de caja oscura clara se proporcionan en la Figura 2, que muestra el rescate de conductas mediadas por ansiedad de caja oscura clara por AMO-01 en ratones eliminación de *Shank3b*. Ansiedad evaluada mediante una prueba de caja oscura clara en el modelo transgénico eliminación de *Shank3b* de PMS después de una dosis única de 30 mg/kg ip de AMO-01 o vehículo administrado 4 horas antes de la prueba en grupos de N = 10 ratones. El ANOVA general utilizado para analizar este experimento fue significativo ($F = 31.19$, $p < 0.0001$). La diferencia entre los ratones Tipo silvestre tratados con vehículo y con eliminación (KO) de *Shank3b*^{-/-} fue significativa ($p < 0.001$). AMO-01 no tuvo ningún efecto significativo en ratones de tipo silvestre. AMO-01 redujo significativamente el déficit mostrado en ratones *Shank3b*^{-/-} ($p < 0.0001$), aunque esta reversión no fue completa ya que todavía había una diferencia significativa entre los ratones de tipo silvestre y eliminación de *Shank3b*^{-/-} tratados con AMO-01 ($p < 0.05$).

Los resultados de la prueba de aseo se proporcionan en la Figura 3, que muestra un rescate del comportamiento de aseo excesivo por parte de AMO-01 en ratones eliminación de *Shank3b*. Comportamiento autolesivo indexado por un autoacicalamiento excesivo en el modelo transgénico eliminación de *Shank3b* de PMS después de una dosis única de 30 mg/kg ip de AMO-01. El ANOVA general utilizado para analizar este experimento fue significativo ($F = 29.14$, $p < 0.0001$). La diferencia entre los ratones de tipo silvestre y con eliminación de *Shank3b*^{-/-} tratados con vehículo fue significativa ($p < 0.001$). AMO-01 no tuvo ningún efecto significativo en ratones de tipo silvestre. AMO-01 redujo significativamente el déficit mostrado en ratones *Shank3b*^{-/-} ($p < 0.0001$). Esta reversión fue completa ya que no hubo diferencias significativas entre los ratones de tipo silvestre y eliminación de *Shank3b*^{-/-} tratados con AMO-01 después del tratamiento.

Los resultados de las pruebas de reconocimiento social y respuesta a la novedad social se proporcionan en la Figura 4, que muestra un rescate de la respuesta a la novedad social por parte de AMO-01 en ratones eliminación de *Shank3b*. La respuesta a la novedad social se indexó según el tiempo transcurrido en interacción con un ratón familiar o nuevo en el modelo transgénico eliminación de *Shank3b* de PMS después de una dosis única de 30 mg/kg ip de AMO-01. El ANOVA general utilizado para analizar este experimento fue significativo ($F = 52.75$, $p < 0.0001$).

Los resultados de las pruebas de marcha con vigas se proporcionan en la Figura 5, que muestra un rescate del comportamiento de marcha con vigas mediante AMO-01 en ratones KO de *Shank3b*. Comportamiento de marcha con viga en el modelo transgénico eliminación de *Shank3b* de PMS después de una dosis única de 30 mg/kg ip de AMO-01. El ANOVA general utilizado para analizar este experimento fue significativo ($F = 29.76$, $p < 0.0001$). La diferencia entre los ratones de tipo silvestre y con eliminación de *Shank3b*^{-/-} tratados con vehículo fue significativa ($p < 0.001$). AMO-01 no tuvo ningún efecto significativo en ratones de tipo silvestre. AMO-01 redujo significativamente el déficit mostrado en ratones *Shank3b*^{-/-} ($p < 0.0001$). Esta reversión fue completa ya que no hubo diferencias significativas entre los ratones de tipo silvestre y eliminación de *Shank3b*^{-/-} tratados con AMO-01 después del tratamiento.

Los resultados de la prueba de enterramiento de canicas se proporcionan en la Figura 6, que muestra un rescate del comportamiento de enterramiento de canicas por AMO-01 en ratones eliminación de *Shank3b*. Comportamiento de enterramiento de canicas en el modelo transgénico eliminación de *Shank3b* de PMS después de una dosis única de 30 mg/kg ip de AMO-01. El ANOVA general utilizado para analizar este experimento fue significativo ($F = 42.15$, $p < 0.0001$). La diferencia entre los ratones de tipo silvestre y con eliminación de *Shank3b*^{-/-} tratados con vehículo fue significativa ($p < 0.001$). AMO-01 no tuvo ningún efecto significativo en ratones de tipo silvestre. AMO-01 redujo significativamente el déficit mostrado en ratones eliminación de *Shank3b*^{-/-} ($p < 0.0001$). Esta reversión fue completa ya que no hubo diferencias significativas entre los ratones de tipo silvestre y eliminación de *Shank3b*^{-/-} tratados con AMO-01 después del tratamiento.

Los resultados de la prueba del umbral de convulsiones se proporcionan en la Figura 7, que muestra un rescate de un umbral de convulsiones audiogénico reducido mediante AMO-01 en ratones eliminación de *Shank3b*. Umbral de convulsiones audiogénicas en el modelo transgénico eliminación de *Shank3b* de PMS después de una dosis única de 30 mg/kg ip de AMO-01.

Por lo tanto, puede verse que los experimentos proporcionados en el presente documento mostraron que en el modelo de ratón homocigoto con eliminación de *Shank3b*^{-/-} del síndrome de Phelan McDermid, la vía Ras-ERK se activa en la corteza (en un múltiplo significativo) mientras que la actividad permanece sin cambios en el hipocampo. Estos datos concuerdan con los reportados por Peca et al. (2011), quienes mostraron una plasticidad alterada de las vías estriatocorticales en ausencia de cambios en el hipocampo en este modelo. Un aumento de la activación de la vía Ras-ERK es consistente con una disminución del umbral convulsivo en la corteza, Nateri et al. (2007).

La administración de 30 mg/kg i.p. de AMO-01 no tuvo efecto sobre la ansiedad, el aseo, la sociabilidad, la función sensoriomotora o los comportamientos o la cognición típicos de la especie en ratones de tipo silvestre. Estos datos son consistentes con resultados de pruebas de comportamiento anteriores en ratones de tipo silvestre con este compuesto. Por el contrario, esta dosis revirtió los déficits en todos estos dominios en el modelo de ratón transgénico con eliminación de *Shank3* del síndrome de Phelan McDermid. Esta reversión representó una normalización significativa de la función en los dominios de ansiedad y convulsiones audiogénicas, y una normalización completa de la función en los ámbitos de aseo, social, sensoriomotor y típico de la especie. Este amplio rescate del fenotipo del

síndrome de Phelan McDermid se generó después de una dosis única de AMO-01 y persistió durante al menos cinco días.

VI. Ejemplo 2

A un varón de veintitrés años con un diagnóstico genéticamente confirmado de síndrome de Phelan McDermid se le administró AMO-01.

El fármaco del estudio se preparó a partir de una formulación estéril a granel que contenía 32.8 mg/mL (3.15 % p/p) del principio activo disuelto en solución salina estéril al 0.9 % para producir una formulación de dosificación final isotónica. Cada vial del producto farmacéutico contenía 70 mg del fármaco AMO-01 en 2.134 mL de formulación (más un exceso del 2 %). Esto correspondió a un contenido total de fármaco de 71.4 mg de principio activo por 2.176 mL de fórmula. AMO-01 se administró como una dosis única mediante infusiones intravenosas durante un período de 6 horas, con una dosis total administrada de 120 mg/m².

Se evaluaron la frecuencia de las convulsiones y los potenciales evocados visuales (VEP) junto con las medidas clínicas. Los VEP proporcionan una técnica no invasiva para evaluar la integridad funcional de las vías visuales en el cerebro desde la retina hasta la corteza visual a través del nervio óptico/radiaciones ópticas. El VEP se registra desde la superficie de la cabeza, sobre la corteza visual, y se extrae del EEG en curso mediante un promedio de señales. Los VEP reflejan la suma de potenciales postsinápticos excitadores e inhibidores que ocurren en las dendritas apicales (Zemon et al., 1986) que modulan las señales excitadoras e inhibidoras recibidas por las células piramidales. Los principales picos y valles positivos y negativos en las formas de onda de VEP reflejan diferentes eventos celulares. El estímulo de tablero de ajedrez de inversión de contraste utilizado en este estudio produce un pico positivo aproximadamente a 60 ms (P0 o P60), lo que refleja la activación de la corteza visual primaria desde el núcleo geniculado lateral. Un pico negativo a aproximadamente 75 ms (N0 o N75) que refleja despolarización y actividad postsináptica glutamatérgica que se extiende a las capas superficiales de la corteza visual primaria, y un pico positivo a aproximadamente 100 ms (P1 o P100) que refleja hiperpolarización superficial y actividad GABAérgica (Zemon et al., 1980). Los PEV se han utilizado en ensayos clínicos; por ejemplo, un fármaco antiepiléptico (gabapentina; Conte et al., 2009) y una fórmula infantil (O'Connor et al., 2009). Ambos recibieron la aprobación de la FDA basada en parte en hallazgos positivos de estudios de VEP. Los datos de los ensayos clínicos en curso en Mount Sinai respaldan el uso de VEP como medida de la respuesta al tratamiento. Se realizaron evaluaciones de la respuesta clínica antes del tratamiento, después de seis horas de tratamiento y una semana, dos semanas y cuatro semanas después del tratamiento según el esquema de la Figura 8.

Resultados

El sujeto tenía una historia bien documentada de convulsiones mixtas que habían estado ocurriendo "como un reloj" de 3 a 4 veces por semana, cada semana, durante cuatro años desde que tenía diecinueve años de edad. Sus convulsiones incluyeron convulsiones tónico-clónicas acompañadas de desaturación de oxígeno, así como cambios ortostáticos en la presión arterial. Estas convulsiones fueron de naturaleza severa y grave y fueron eventos potencialmente mortales.

El sujeto estaba a punto de sufrir una de estas convulsiones graves en la hora aproximadamente anterior a la infusión del fármaco del estudio; su período periictal previo a la convulsión era detectable debido a que estaba acompañado de cambios clásicos de personalidad y comportamiento. Según el médico investigador, el fármaco del estudio infundido pareció abortar por completo el inminente episodio de convulsión. Sorprendentemente, las convulsiones cesaron por completo durante las siguientes dos semanas (y según el médico investigador, esta fue la primera racha de dos semanas sin convulsiones desde que el sujeto estaba en la adolescencia, al menos hace cinco años). Durante este período sin convulsiones, este joven "despertó" en varios niveles diferentes y se volvió más sociable, más comprometido (por ejemplo, mejor contacto visual), más cooperativo, menos inquieto y sus habilidades motoras también mejoraron. Aproximadamente tres semanas después de la infusión del fármaco del estudio, "pequeños eventos" comenzaron a repetirse, tal vez representando convulsiones parciales complejas menores, aunque no acompañadas de convulsiones; estos episodios raros/espóricos fueron descritos por el médico investigador como "más breves, con menos movimientos involucrados".

Los VEP se registraron inmediatamente antes y seis horas después de la infusión de AMO-01. La Figura 9 muestra cómo los VEP de este sujeto mejoraron con el tratamiento.

En conjunto, estos datos confirman que la administración de AMO-01 a un sujeto humano con pérdida de función del gen SHANK3 puede dar como resultado un beneficio clínico en múltiples características del síndrome de Phelan McDermid que persisten más allá de la exposición a este compuesto, como se observa *in vivo* en el modelo de ratón con eliminación de Shank3b de este trastorno.

REFERENCIAS

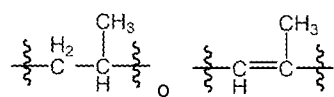
Todas las siguientes referencias han sido citadas en esta solicitud:

- Anderlid BM, Schoumaus J, Anneren G, Paez I, Dumanski J, Blennow E, Nordernskjöld M. (2002) FISH-mapping of a 100-kb terminal 22q13 deletion. *Hum Genet.* 110: 439-443.
- 5 Boeckers TM, Bockmann J, Kreutz MR, Gundelfinger ED. (2002) ProSAP/Shank proteins - a family of higher order organizing molecules of the postsynaptic density with an emerging role in human neurological disease. *J Neurochem.* 81: 903-910.
- 10 Bonaglia M, Giorda R, Borgatti R, Felisari G, Gagliardi C, Selicorni A, Zuffardi O. (2001) Disruption of the ProSAP2 Gene in a t(12;22)(q24.1;q13.3) is associated with the 22q13.3 Deletion syndrome. *Am J Hum Genet.* 69: 261-268.
- 15 Bozdagi O, Sakurai T, Papapetrou D, Wang X, Dickstein DL, Takahashi N, Kajiwar Y, Yang M, Katz AM, Scattoni ML, Harris MJ, Saxena R, Silverman JL, Crawley JN, Zhou Q, Hof PR, Buxbaum JD. (2010) Haploinsufficiency of the autism-associated Shank3 gene leads to deficits in synaptic function, social interaction, and social communication. *Mol Autism.* 1: 15.
- Bozdagi O, Tavassoli T, Buxbaum JD. (2013) Insulin-like growth factor-i rescues synaptic and motor deficits in a mouse model of autism and developmental delay. *Mol Autism.* 4: 9.
- 20 Conte MM, Victor JD. VEP indices of cortical lateral interactions in epilepsy treatment. *Vision Research.* May 2009; 49(9): 898-906.
- 25 Davis S, Vanhoutte P, Pages C, Caboche J, Laroche S. (2000). The MAPK/ERK cascade targets both Elk-1 and cAMP response element-binding protein to control long-term potentiation-dependent gene expression in the dentate gyrus in vivo. *J Neurosci.* 20(12): 4563-4572.
- Duffney U, Zhong P, Wei J, Matas E, Cheng J, Qin L, Ma K, Dietz DM, Kajiwar Y, Buxbaum JD, Yan Z. (2015) Autism-like Deficits in Shank3-Deficient Mice Are Rescued by Targeting Actin Regulators. *Cell Rep.* 11: 1400-1413.
- 30 Grewal SS, York RD, Stork PJ. (1999) Extracellular-signal-regulated kinase signalling in neurons. *Curr Opin Neurobiol.* 9: 544-553.
- 35 Holder J, Quach M. (2016). The spectrum of epilepsy and electroencephalographic abnormalities due to SHANK3 loss-of-function mutations. *Epilepsia*, 57(10): 1651-1659.
- Jaramillo TC, Speed HE, Xuan Z, Reimers JM, Liu S, Powell CM. (2016) Altered Striatal Synaptic Function and Abnormal Behaviour in Shank3 Exon4-9 Deletion Mouse Model of Autism. *Autism Res.* 9: 350-75.
- 40 Kolevzon A, Bush L, Wang AT, Halpern D, Frank Y, Grodberg D, Rapaport R, Tavassoli T, Chaplin W, Soorya L, Buxbaum JD. (2014) A pilot controlled trial of insulin-like growth factor-1 in children with Phelan-McDermid syndrome. *Mol Autism.* 5: 54.
- 45 Kouser M, Speed HE, Dewey CM, Reimers JM, Widman AJ, Gupta N, Liu S, Jaramillo TC, Bangash M, Xiao B, Worley PF, Powell CM. (2013) Loss of predominant Shank3 isoforms results in hippocampus-dependent impairments in behavior and synaptic transmission. *J Neurosci.* 33: 18448-68.
- 50 Lim S, Naisbitt S, Yoon J, Hwang JI, Suh PG, Sheng M, Kim E. (1999) Characterization of the Shank family of synaptic proteins. Multiple genes, alternative splicing, and differential expression in brain and development. *J Biol Chem.* 274: 29510-8.
- 55 Nateri A, Gennadij R, Gebhardt C, Da Costa C, Naumann H, Vreugdenhil M, Makwana M, Brandner S, Adams R, Jefferys J, Kann O, Behrens A. (2007). ERK activation causes epilepsy by stimulating NMDA receptor activity. *EMBO.* 26(23): 4891-4901.
- Pega J, Feliciano C, Ting J, Wang W, Wells W, Talaingair T, Lascola C, Fu Z. (2011) Shank3 mutant mice display autistic-like behaviors and striatal dysfunction. *Nature.* 472 (7344): 437-442.
- 60 Phelan MC, Rogers RC, Saul RA et al. (2001) 22q13 Deletion Syndrome. *Am. J. Med. Genet.* 101: 91-99.
- Phelan MC. (2008) Deletion 22q1 3.3 syndrome. *Orphanet J. Rare Dis.* 3: 14.
- 65 Shcheglovitov A, Shcheglovitov O, Yazawa M, Portmann T, Shu R, Sebastiano V, Krawisz A, Freohlich W, Bernstein J, Hallmayer J, Dolmetch R. (2013) SHANK3 and IGF1 restore synaptic deficits in neurons from 22q13 deletion syndrome patients. *Nature.* 503: 267-271.
- Soorya L, Kolevzon A, Zweifach J, Lim T, Dobry Y, Schwartz L, Frank Y, Wang A, Cai G, Parkhomenko E, Halpern D,

- Grodberg D, Anagartia B, Willner J, Yang A, Canitano R, Chaplin W, Betancur C, Buxbaum J. (2013) Prospective investigation of autism and genotype-phenotype correlations in 22q13 deletion syndrome and SHANK3 deficiency. *Mol. Autism*. 4: 1-18.
- 5 Uppal N, Pur R, Yuk F, Janssen WG, Bozdagi-Gunal O, Harony-Nicolas H, Dickstein DL, Buxbaum JD, Hof PR. (2015) Ultrastructural analyses in the hippocampus CA1 field in Shank3-deficient mice. *Mol Autism*. 6: 41.
- Watt JL, Olson, IA, Johnston AW et al. (1985) A familial pericentric inversion of chromosome 22 with a recombinant subject illustrating a "pure" partial monosomy syndrome. *J. Med. Genet*. 22: 283-287.
- 10 Wilson H, Wong A, Shaw S, Tse W, Stapleton G, Phelan M, Hu S, Marshall J, McDermid H. (2003) Molecular characterization of the 22q13 deletion syndrome supports the role of the haploinsufficiency of SHANK3/PROSAP2 in the major neurological symptoms. *J Med Genet*. 40: 474-584.
- 15 Zemon V, Kaplan E, Ratliff F. Bicuculline enhances a negative component and diminishes a positive component of the visual evoked cortical potential in the cat. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. Dec 1980; 77(12): 7476-7478.
- 20 Zemon V, Kaplan E, Ratliff F. Evoked Potentials. In: Cracco RQ, Rodis-Wollner I, eds. *Frontiers of Clinical Neuroscience*. Vol 3. New York: Alan R. Liss; 1986: 287-295.

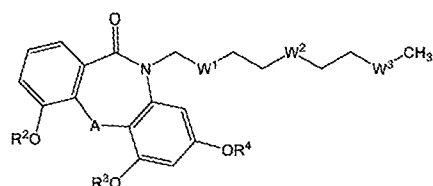
COc1ccc2c(c1)c3cc(OC)c(OC)c(OC)c3n2C(=O)N(C)CCW1CCCCW2CCCCW3CCCCW4

en la que,
cada uno de W^1 , W^2 y W^3 es independientemente

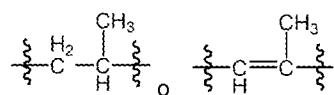


A es $-\text{NH}-$ o $-\text{NC(O)}\text{R}^1-$ en la que R^1 es alquilo C_{1-6} , cada uno de R^2 , R^3 y R^4 es independientemente H.

2. Una cantidad terapéuticamente eficaz de (i) al menos un compuesto de Fórmula I o (ii) una formulación farmacéutica que comprende al menos un compuesto de Fórmula I y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable para uso en la inhibición del desarrollo del síndrome de Phelan McDermid (PMS) en un sujeto predispuesto a desarrollar PMS o para uso en un método para inhibir el desarrollo de PMS en un sujeto predispuesto a desarrollar PMS

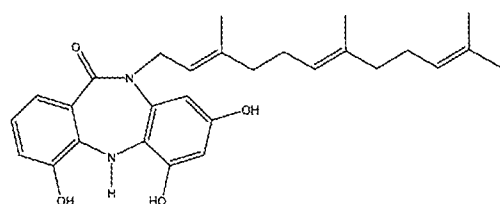


en la que,
cada uno de W^1 , W^2 y W^3 es independientemente



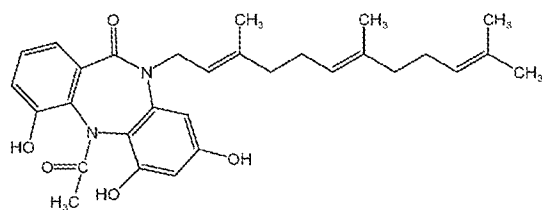
A es -NH- o -NC(O)R¹- en la que R¹ es alquilo C₁₋₆, cada uno de R², R³ y R⁴ es independientemente H.

3. La cantidad terapéuticamente eficaz para uso de la reivindicación 1 o 2, en la que al menos un compuesto de Fórmula I es AMO-01 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo



AMO-01

4. La cantidad terapéuticamente eficaz para uso de la reivindicación 1 o 2, en la que al menos un compuesto de Fórmula I es de Fórmula III o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo



Fórmula III

5. La cantidad terapéuticamente eficaz para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 4, en la que el sujeto que tiene PMS o el sujeto predispuesto a desarrollar PMS es un sujeto que tiene una eliminación cromosómica en 22q13.3.

6. La cantidad terapéuticamente eficaz para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 5, en la que la cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto de Fórmula I está entre 0.1 µg/kg y 200 mg/kg del compuesto de Fórmula I por peso corporal del sujeto.

7. La cantidad terapéuticamente eficaz para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 5, en la que la cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto de Fórmula I está entre 80 y 160 mg/m².

8. La cantidad terapéuticamente eficaz para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 5, en la que la cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto de Fórmula I es 120 mg/m².

9. La cantidad terapéuticamente eficaz para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 8, en la que al menos un compuesto de Fórmula I o la formulación farmacéutica comprende al menos un compuesto de Fórmula I y se administra al sujeto un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable mediante administración intravenosa o subcutánea.

Figura 1

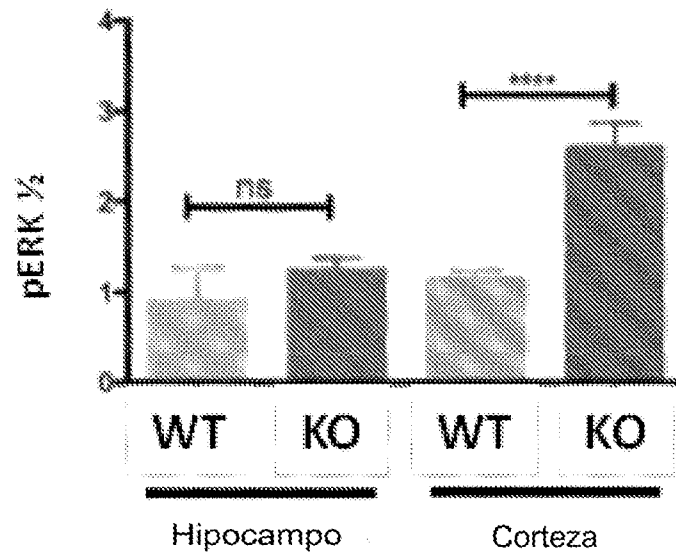


Figura 2

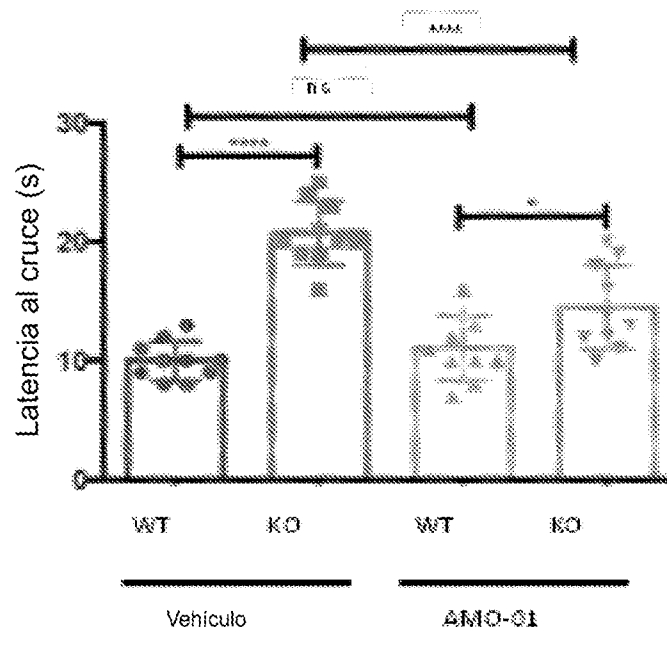


Figura 3

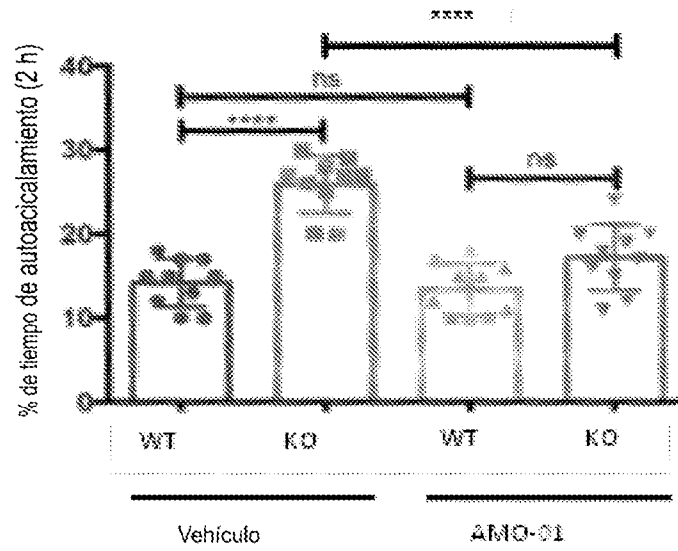


Figura 4

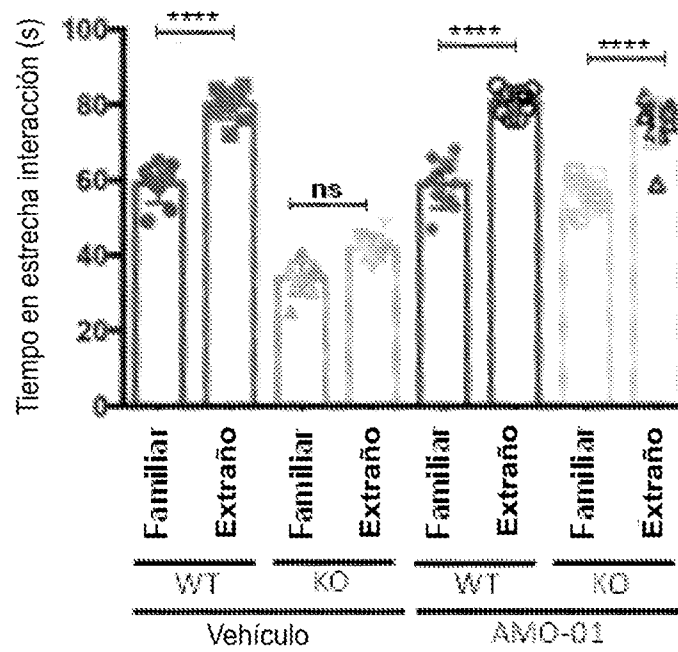


Figura 5

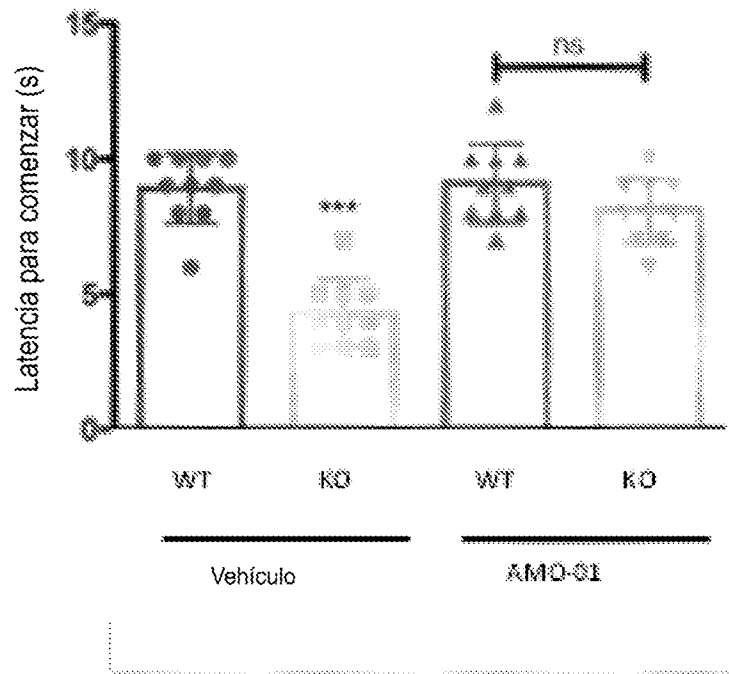


Figura 6

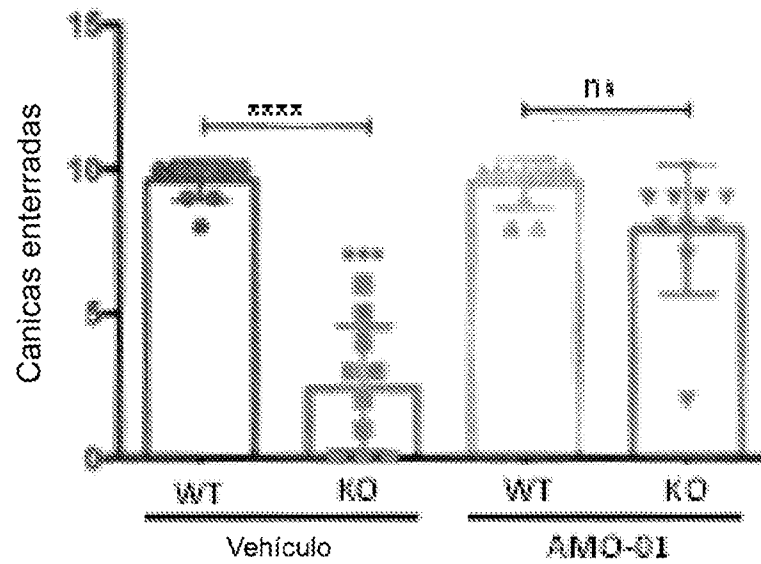


Figura 7

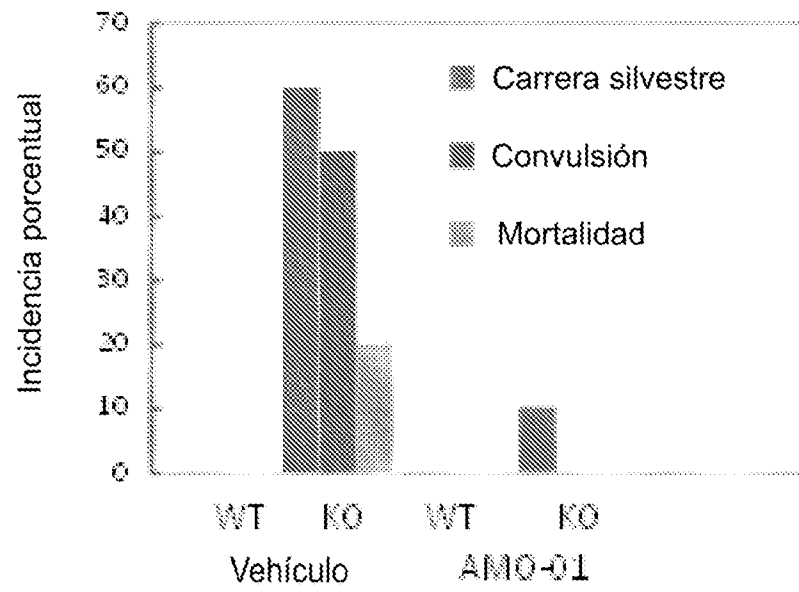


Figura 8

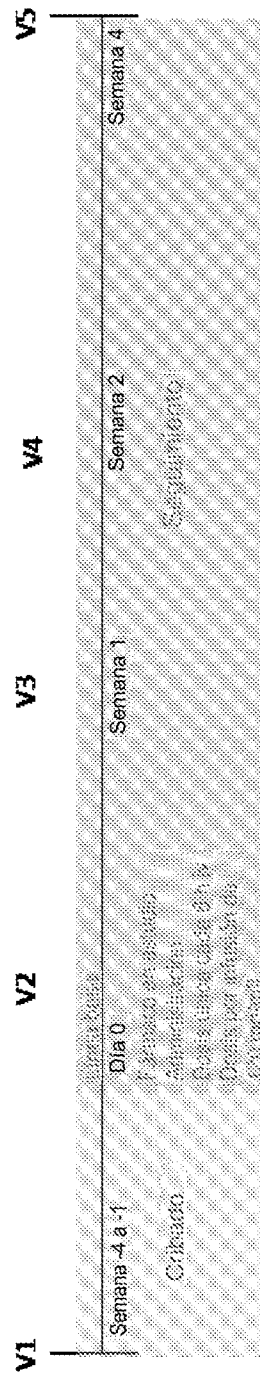
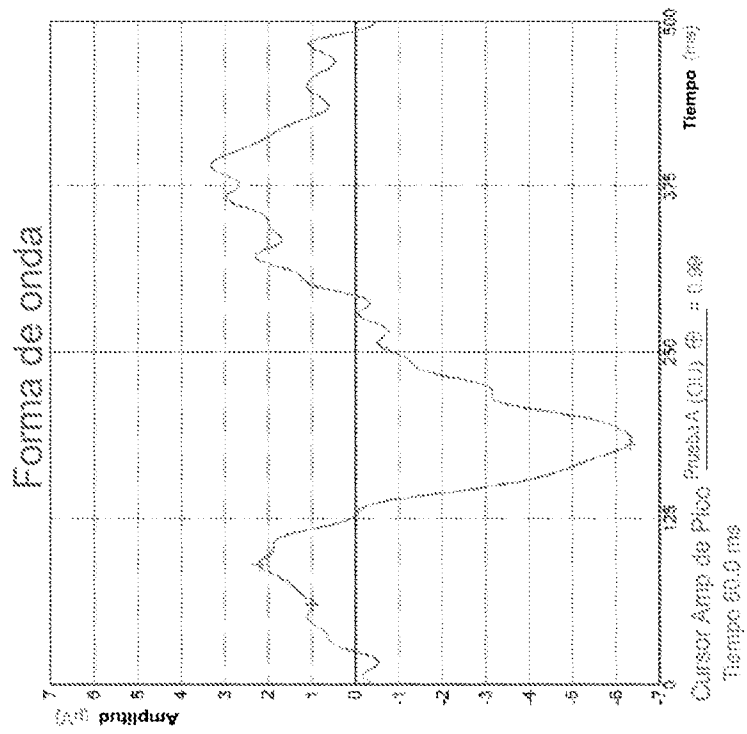
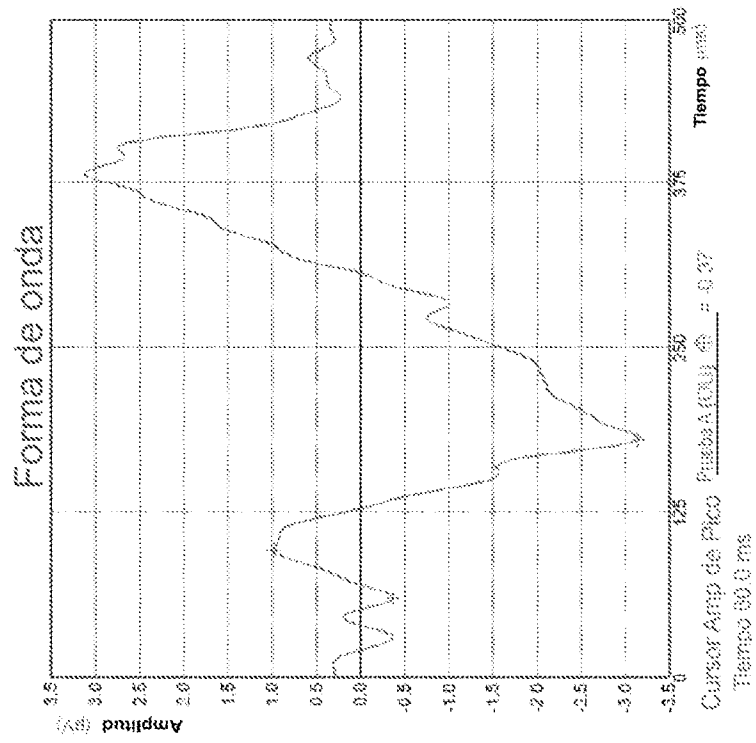


Figura 9



Línea base



Después de la Infusión