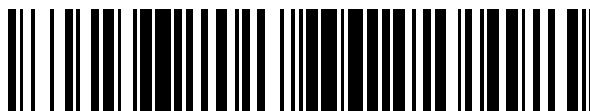


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 575 995**

51 Int. Cl.:

A61K 31/353 (2006.01)

A61K 31/4184 (2006.01)

A61K 31/439 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

A61P 43/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.08.2011 E 11815379 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.04.2016 EP 2600862**

54 Título: **Inhibidores de ERK para trastornos del desarrollo de la conectividad neuronal**

30 Prioridad:

21.10.2010 US 405369 P

05.08.2010 US 370854 P

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

04.07.2016

73 Titular/es:

CASE WESTERN RESERVE UNIVERSITY

(100.0%)

10900 Euclid Avenue

Cleveland, OH 44106, US

72 Inventor/es:

SMITH, MARK A. y

SNAPE, MICHAEL

74 Agente/Representante:

CAMPELLO ESTEBARANZ, Reyes

ES 2 575 995 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

Inhibidores de ERK para trastornos del desarrollo de la conectividad neuronal.

- 5 Esta solicitud reivindica la prioridad de las Solicitudes Provisionales de Estados Unidos Nº 61/370.854, presentada el 5 de agosto de 2010 y 61/405.369, presentada el 21 de octubre de 2010.

CAMPO DE LA INVENCIÓN

- 10 Esta solicitud se refiere al tratamiento de trastornos de inicio en la infancia en los que la conectividad neuronal se ve comprometida, de tal forma que se ven comprometidos un desarrollo normal del cerebro y la función cognitiva.

ANTECEDENTES

- 15 Los trastornos del desarrollo, tales como síndrome del cromosoma X frágil y autismo, están caracterizado por una aparición en la temprana infancia, persistencia a lo largo de la vida y una función cerebral comprometida. Un individuo afectado se verá afectado con respecto a múltiples habilidades basadas en la función normal del cerebro. Por ejemplo, la cognición, la percepción sensorial, el comportamiento social y las habilidades de comunicación y motoras pueden verse afectadas en el síndrome del cromosoma X frágil y el autismo. Estas afecciones son resultado de un fallo en el desarrollo normal del cerebro, produciéndose problemas a nivel anatómico microscópico, en lugar de un grave compromiso de la estructura del cerebro.

- El síndrome del cromosoma X frágil es un trastorno neurológico grave determinado genéticamente en el que los individuos afectados están intelectualmente discapacitados a diferentes grados y muestran una diversidad de
25 síntomas psiquiátricos. El trastorno está causado principalmente por el silenciamiento transcripcional del gen *FRM1* (Verkerk y col. Cell vol 65 1991 págs. 905-914), que conduce al equivalente funcional de un trastorno monogenético (Hagerman West J Med vol 166 1997 págs. 129 - 137). El síndrome del cromosoma X frágil es la mayor causa de discapacidad intelectual hereditaria. No hay ningún tratamiento aprobado para el síndrome del cromosoma X frágil. Por lo tanto, existe la necesidad médica de una terapéutica novedosa que aborde la patología subyacente de este
30 trastorno.

- El autismo es un término usado para describir los trastornos del espectro autista, también conocidos como trastornos generalizados del desarrollo, es decir, trastorno autista, síndrome de Asperger y trastorno generalizado del desarrollo no especificado (PDD-NOS). Estas afecciones son entidades de diagnóstico reconocidas de acuerdo con
35 la Revisión del manual de diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales (DSM-IV) y la Clasificación estadística internacional de enfermedades y problemas relacionados con la salud (ICD-10) (Tidmarsh y Volkmar Can J Psychiatry vol. 48 2003 págs. 517-525). Los trastornos del espectro autista afectan a aproximadamente 1 de 150 personas (Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network Surveillance Year 2002 Principal Investigators; Centers for Disease Control and Prevention, MMWR Surveill Summ. Vol. 56 2007 págs. 12-28).

- 40 El síndrome del cromosoma X frágil (SXF) es la forma hereditaria más común de retraso mental. Las mutaciones en *FMR1*, que codifica la proteína del retraso mental del cromosoma X frágil (FMRP), son la causa del síndrome del cromosoma X frágil (SXF), un trastorno de retraso mental ligado al cromosoma X. La inactivación del gen de ratón *Fmr1* confiere varios fenotipos tipo SXF que incluyen una susceptibilidad mejorada a la epileptogénesis durante el
45 desarrollo. Los hallazgos del documento indican que la inducción de las descargas epileptiformes prolongadas mediadas por mGluR del grupo I con bicolina en un modelo de ratón SXF se inhibió en preparaciones de hipocampo que se trataron previamente con un inhibidor de la fosforilación de ERK1/2. Como inhibidor de ERK1/2 se usó el inhibidor de MEK PD98059. (S.-C. Chuang: "Prolonged Epileptiform Discharges Induced by Altered Group I Metabotropic Glutamate Receptor-Mediated Synaptic Responses in Hippocampal Slices of a Fragile X Mouse
50 Model", Journal of Neuroscience, JOURNAL OF NEUROSCIENCE, Vol. 25, Nº 35, 31 de agosto de 2005, páginas 8048-8055, XP55093890, ISSN: 0270-6474, DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1777-05, 2005).

- En la actualidad, no existen medicamentos para el tratamiento de la sintomatología principal de los trastornos del espectro autista. Se han aprobado dos antipsicóticos atípicos, RISPERDAL y ABILIFY, para el tratamiento de la
55 irritabilidad en los niños y adolescentes con trastorno autista en Estados Unidos. No hay datos bien controlados disponibles para demostrar que cualquier agente tiene beneficios clínicos en todos los síntomas principales del trastorno del espectro autista. Por lo tanto, existe la necesidad médica de una terapéutica novedosa que aborde la patología subyacente de trastornos del espectro autista.

SUMARIO DE LA INVENCIÓN

Esta solicitud se refiere al uso de compuestos inhibidores de ERK para tratar un sujeto en riesgo de o que se sospecha que tiene síndrome del cromosoma X frágil o trastorno del espectro autista asociado a anomalías de ERK.

- 5 El método incluye administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto inhibidor de ERK que impide anomalías en la conectividad neuronal.

En otros aspectos, el compuesto inhibidor de ERK se selecciona entre el grupo que consiste en 2-(2-amino-3-metoxifenil)-4H-cromen-4-ona, (2Z,3Z)-bis{amino[(2-aminofenil)sulfanil]metilideno}butanodinitrilo, 5-[(4-bromo-2-clorofenil)amino]-4-fluoro-N-(2-hidroxietoxi)-1-metil-1H-benzimidazol-6-carboxamida, 2-[(2-fluoro-4-yodofenil)amino]-N-(2-hidroxietoxi)-1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-carboxamida, 2-(4-cloro-2-fluoro-anilino)-N-(2-hidroxietoxi)-1,5-dimetil-6-oxo-piridin-3-carboxamida, 2-[(2-cloro-4-yodofenil)amino]-N-(ciclopropilmetoxi)-3,4-difluorobenzamida, (3R,4R)-4-(3,4-Dimetoxibencil)-3-(4-hidroxi-3-metoxibencil)dihidrofuran-2(3H)-ona, (2Z)-3-amino-3-[(4-aminofenil)sulfanil]-2-[2-(trifluorometil)fenil]prop-2-enenitrilo, hipericina, 3-(3-amino-2H-pirazolo[3,4-c]piridazin-5-il)-2-fenil-3H-pirazolo[1,5-a]piridin-8-io, N-metil-3-fenil-3-[4-(trifluorometil)fenoxi]propan-1-amina fluoxetina, y ácido 2-cloro-4-[[2-[(2R)-1-hidroxi-3-metilbutan-2-il]amino]-9-(propan-2-il)-9H-purin-6-il]amino]benzoico.

Aún en otros aspectos, el compuesto inhibidor de ERK es un inhibidor de MEK seleccionado entre el grupo que consiste en 2-(2-amino-3-metoxifenil)-4H-cromen-4-ona, (2Z,3Z)-bis{amino[(2-aminofenil)sulfanil]metilideno}butanodinitrilo, 5-[(4-bromo-2-clorofenil)amino]-4-fluoro-N-(2-hidroxietoxi)-1-metil-1H-benzimidazol-6-carboxamida, 2-[(2-fluoro-4-yodofenil)amino]-N-(2-hidroxietoxi)-1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-carboxamida, 2-(4-cloro-2-fluoro-anilino)-N-(2-hidroxietoxi)-1,5-dimetil-6-oxo-piridin-3-carboxamida, 2-[(2-cloro-4-yodofenil)amino]-N-(ciclopropilmetoxi)-3,4-difluorobenzamida, (3R,4R)-4-(3,4-Dimetoxibencil)-3-(4-hidroxi-3-metoxibencil)dihidrofuran-2(3H)-ona, y (2Z)-3-amino-3-[(4-aminofenil)sulfanil]-2-[2-(trifluorometil)fenil]prop-2-enenitrilo.

En un aspecto adicional, el compuesto inhibidor de ERK es un inhibidor de ERK seleccionado entre el grupo que consiste en hipericina, 3-(3-amino-2H-pirazolo[3,4-c]piridazin-5-il)-2-fenil-3H-pirazolo[1,5-a]piridin-8-io, N-metil-3-fenil-3-[4-(trifluorometil)fenoxi]propan-1-amina fluoxetina, y ácido 2-cloro-4-[[2-[(2R)-1-hidroxi-3-metilbutan-2-il]amino]-9-(propan-2-il)-9H-purin-6-il]amino]benzoico.

En otros aspectos, el compuesto inhibidor de ERK puede estar en forma de uno o más de sus estereoisómeros. El compuesto inhibidor de ERK puede administrarse junto con al menos uno o más agentes terapéuticos que se usan para el tratamiento de trastornos del espectro autista. El agente terapéutico puede seleccionarse entre el grupo que consiste en un antidepresivo, un antipsicótico, un estimulante, y otros medicamentos. El uno o más agentes terapéuticos adicionales pueden seleccionarse entre el grupo que consiste en risperidona, aripiprazol, citalopram, escitalopram, sertralina, metilfenidato, atomoxetina, memantina y minociclina.

Aún en otros aspectos, el compuesto inhibidor de ERK puede proporcionarse en una forma farmacéuticamente aceptable seleccionada entre el grupo que consiste en comprimidos, trociscos, grageas, suspensiones acuosas y oleosas, polvos y gránulos dispersables, emulsiones, cápsulas duras y blandas, jarabes y elixires. El compuesto inhibidor de ERK puede formularse para liberación separada, simultánea, secuencial o prolongada en un sujeto.

En un aspecto adicional, el trastorno del espectro autista se selecciona entre trastorno autista, síndrome de Asperger o trastorno generalizado del desarrollo no especificado o un subconjunto de estos pacientes en los que la función de ERK es anormal.

Esta solicitud también se refiere al uso de compuestos inhibidores de ERK en solitario o en combinación que evitan anomalías en la conectividad neuronal; o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos; en la preparación de un medicamento para el tratamiento de síndrome del cromosoma X frágil o trastornos del espectro autista asociados a anomalías de ERK.

En otros aspectos, el compuesto inhibidor de ERK se selecciona entre el grupo que consiste en 2-(2-amino-3-metoxifenil)-4H-cromen-4-ona, (2Z,3Z)-bis{amino[(2-aminofenil)sulfanil]metilideno}butanodinitrilo, 5-[(4-bromo-2-clorofenil)amino]-4-fluoro-N-(2-hidroxietoxi)-1-metil-1H-benzimidazol-6-carboxamida, 2-[(2-fluoro-4-yodofenil)amino]-N-(2-hidroxietoxi)-1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-carboxamida, 2-(4-cloro-2-fluoro-anilino)-N-(2-hidroxietoxi)-1,5-dimetil-6-oxo-piridin-3-carboxamida, 2-[(2-cloro-4-yodofenil)amino]-N-(ciclopropilmetoxi)-3,4-difluorobenzamida, (3R,4R)-4-(3,4-Dimetoxibencil)-3-(4-hidroxi-3-metoxibencil)dihidrofuran-2(3H)-ona, (2Z)-3-amino-3-[(4-aminofenil)sulfanil]-2-[2-(trifluorometil)fenil]prop-2-enenitrilo, hipericina, 3-(3-amino-2H-pirazolo[3,4-c]piridazin-5-il)-2-

fenil-3H-pirazolo[1,5-a]piridin-8-io, N-metil-3-fenil-3-[4-(trifluorometil)fenoxi]propan-1-amina fluoxetina, y ácido 2-cloro-4-[[2-[[[(2R)-1-hidroxi-3-metilbutan-2-il]amino]-9-(propan-2-il)-9H-purin-6-il]amino]benzoico.

Aún en otros aspectos, el compuesto inhibidor de ERK es un inhibidor de MEK seleccionado entre el grupo que
 5 consiste en 2-(2-amino-3-metoxifenil)-4H-cromen-4-ona, (2Z,3Z)-bis{amino[(2-aminofenil)sulfanil]metilideno}butanodinitrilo, 5-[(4-bromo-2-clorofenil)amino]-4-fluoro-N-(2-hidroxi-etoxi)-1-metil-1H-benzimidazol-6-carboxamida, 2-[(2-fluoro-4-yodofenil)amino]-N-(2-hidroxi-etoxi)-1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-carboxamida, 2-(4-cloro-2-fluoro-anilino)-N-(2-hidroxi-etoxi)-1,5-dimetil-6-oxo-piridin-3-carboxamida, 2-[(2-cloro-4-yodofenil)amino]-N-(ciclopropilmetoxi)-3,4-difluorobenzamida, (3R,4R)-4-(3,4-Dimetoxibencil)-3-(4-hidroxi-3-
 10 metoxibencil)dihidrofuran-2(3H)-ona, y (2Z)-3-amino-3-[(4-aminofenil)sulfanil]-2-[2-(trifluorometil)fenil]prop-2-enenitrilo.

En un aspecto adicional, el compuesto inhibidor de ERK es un inhibidor de ERK seleccionado entre el grupo que
 15 consiste en hipericina, 3-(3-amino-2H-pirazolo[3,4-c]piridazin-5-il)-2-fenil-3H-pirazolo[1,5-a]piridin-8-io, N-metil-3-fenil-3-[4-(trifluorometil)fenoxi]propan-1-amina fluoxetina, y ácido 2-cloro-4-[[2-[[[(2R)-1-hidroxi-3-metilbutan-2-il]amino]-9-(propan-2-il)-9H-purin-6-il]amino]benzoico.

En otros aspectos, el compuesto inhibidor de ERK puede estar en forma de uno o más de sus estereoisómeros. El medicamento también puede ser uno o más agentes terapéuticos que se usan para el tratamiento de trastornos del
 20 espectro autista junto con el compuesto inhibidor de ERK. El agente terapéutico puede seleccionarse entre el grupo que consiste en un antidepresivo, un antipsicótico, un estimulante, y otros medicamentos. El uno o más agentes terapéuticos adicionales pueden seleccionarse entre el grupo que consiste en risperidona, aripiprazol, citalopram, escitalopram, sertralina, metilfenidato, atomoxetina, memantina y minociclina.

25 Aún en otros aspectos, el compuesto inhibidor de ERK puede proporcionarse en una forma farmacéuticamente aceptable seleccionada entre el grupo que consiste en comprimidos, trociscos, grageas, suspensiones acuosas y oleosas, polvos y gránulos dispersables, emulsiones, cápsulas duras y blandas, jarabes y elixires. El compuesto inhibidor de ERK puede formularse para liberación separada, simultánea, secuencial o prolongada en un sujeto.

30 En un aspecto adicional, el trastorno del espectro autista se selecciona entre trastorno autista, síndrome de Asperger o trastorno generalizado del desarrollo no especificado o un subconjunto de estos pacientes en los que la función de ERK es anormal.

DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

35 La figura 1 ilustra rutas de MAPK intracelular pertinentes para la plasticidad y conectividad neuronal, la morfología dendrítica y la función cerebral
 La figura 2 ilustra imágenes que muestran la localización de pERK en secciones del hipocampo. Los niveles más elevados de pERK en los núcleos neuronales y el citoplasma se encontraron en casos de SXF. Se
 40 muestran áreas representativas de la región CA1/CA2 de los casos de edad de 9 años (A) y 21 años (B) de SXF. Todos los casos de control contenían niveles nominales de pERK en el hipocampo (20 años, C) El recuadro en C muestra la localización de pERK con respecto a la degeneración granulovascular que se encuentra en un número muy pequeño de neuronas piramidales en un caso de control de 67 años, cambios que son coherentes con un envejecimiento normal. Un caso de 71 años de FXTAS muestra niveles
 45 relativamente bajos de pERK neuronal (D) en comparación con los casos de SXF. Barra de escala = 50 µm.
 La figura 3 ilustra un inmunotransferencia (A) y gráficos que muestran análisis de cuantificación (B y C) de ERK y fosfo-ERK (p-ERK) en muestras de 4 casos de SXF, 4 casos de FXTAS, y 7 controles emparejados por edad. Los gráficos indican que, aunque el nivel de ERK relativo (ERK/Actina) no cambió significativamente (B), el nivel de p-ERK relativo (B), el nivel de ERK relativo (C) y la relación relativa de p-
 50 ERK/ERK (D) aumentaron significativamente tanto en muestras cerebrales de SXF como de FXTAS. Todas las muestras también se sometieron a inmunotransferencia con anticuerpos para detectar actina (*p < 0,05, prueba t de Student).
 La figura 4 ilustra imágenes que muestran la expresión de fósforo-ERK y proteínas relacionadas en el cerebro en trastornos del espectro autista y en los neurológicamente normales. Los fotomicrográficos muestran la tinción inmunohistoquímica de proteínas fosforiladas marcadas usando anticuerpos de fósforo
 55 (Cell Signaling Technologies) y diaminobenzidina como cromógeno. El tejido es la corteza. Los pacientes autistas tenían 9 y 11 de edad con un diagnóstico de autismo. La primera fila muestra tejido de un sujeto normal (A) y un paciente con autismo (B) con tinción para pERK. La segunda fila muestra tejido de un sujeto normal (C) y un paciente con autismo (D) con tinción para pMEK. La tercera fila muestra tejido de un sujeto

normal (E) y un paciente con autismo (F) con tinción para pMSK2.

La figura 5 ilustra los gráficos que muestran el efecto de SL327 (400 mg.kg.⁻¹ IP) sobre convulsiones audiógenas en el modelo de ratón transgénico *knockout fmr1* del síndrome del cromosoma X frágil, en comparación con animales de control tratados con vehículo Tween80. Los datos son de n = 10 animales por grupo. El tratamiento con SL327 inhibe completamente toda actividad convulsiva en un ratón tratado, mientras que aproximadamente el 70 % de los animales no tratados mostró convulsiones inducidas de forma audiógena. La latencia (segundos) de aparición de convulsiones también se redujo significativamente en el grupo tratado. Dado que el ratón tratado no mostró ninguna actividad convulsiva, su escala de latencia se indica como de 240 s, el tiempo total máximo de estimulación audiógena. La tasa de supervivencia tras el ensayo también aumentó del 25 % al 100 % tras el tratamiento con SL327.

La figura 6 ilustra un gráfico que muestra los efectos de MPEP y alcohol perílico sobre la latencia de convulsiones. Los datos se presentan como media $\pm$ SEM. Los asteriscos (*p<0,05) indican una diferencia significativa en comparación con el vehículo respectivo.

La figura 7 ilustra un gráfico que muestra los efectos de MPEP y alcohol perílico sobre la latencia del paro respiratorio. Los datos se presentan como media $\pm$ SEM. Los asteriscos (*p<0,05) indican una diferencia significativa en comparación con el vehículo respectivo.

La figura 8 ilustra un gráfico que muestra los efectos de MPEP y alcohol perílico sobre la escala de convulsiones media. Los datos se presentan como media $\pm$ SEM. Los asteriscos (*p<0,05) indican una diferencia significativa en comparación con el vehículo respectivo.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

A menos que se aborden específicamente en el presente documento, todos los términos usados tienen el mismo significado que se entenderá por los expertos en la técnica de la presente invención. Las siguientes definiciones proporcionarán claridad con respecto a los términos usados la memoria descriptiva y las reivindicaciones para describir la presente invención.

Los artículos "un" y "una" se usan en el presente documento para referirse a uno o más de uno (es decir, al menos a uno) del objeto gramatical del artículo. A modo de ejemplo, "un elemento" significa un elemento o más de un elemento.

Las expresiones "comprende", "que comprende", "incluye", "que incluye", "tiene", "que tiene" se usan en el sentido inclusivo y abierto, lo que significa que pueden incluirse elementos adicionales. Las expresiones "tal como", "por ejemplo", como se usan en el presente documento, son no limitantes y únicamente para fines ilustrativos. "Incluyendo" e "incluyendo, pero sin limitación" se usan de forma intercambiable.

El término "o", como se usa en el presente documento, debe entenderse que significa "y/o", a menos que el contexto indique claramente otra cosa.

Se apreciará que la estructura de algunos de los compuestos de la solicitud incluye átomos de carbono asimétricos (quirales). Por consiguiente, debe apreciarse que los isómeros que surgen de dicha simetría se incluyen dentro del alcance de la invención, a menos que se indique otra cosa. Dichos isómeros pueden obtenerse en forma sustancialmente pura por técnicas de separación clásicas y por síntesis estereoquímicamente controlada. Los compuestos de esta solicitud pueden existir en forma estereoisomérica, por lo tanto, pueden producirse como estereoisómeros individuales o como mezclas.

"Isomería" significa compuestos que tienen fórmulas moleculares idénticas pero que difieren en la naturaleza o la secuencia de enlace de sus átomos o en la disposición de sus átomos en el espacio. Los isómeros que difieren en la disposición de sus átomos en el espacio se denominan "estereoisómeros". Los estereoisómeros que son imágenes especulares uno de otro se denominan "diastereoisómeros", y los estereoisómeros que no son imágenes especulares superponibles se denominan "enantiómeros" o, algunas veces, isómeros ópticos. Un átomo de carbono unido a cuatro sustituyentes no idénticos se denomina un "centro quiral".

"Isómero quiral" significa un compuesto con al menos un centro quiral. Tiene dos formas enantioméricas de quiralidad opuesta y puede existir ya sea en forma de enantiómero individual o como una mezcla de enantiómeros. Una mezcla que contenga la misma cantidad de formas enantioméricas individuales de quiralidad opuesta se denomina "mezcla racémica". Un compuesto que tiene más de un centro quiral tiene 2n-1 pares enantioméricos, donde n es el número de centros quirales. Los compuestos con más de un centro quiral pueden existir ya sea en forma de diastereómero individual o como una mezcla de diastereómeros, denominados "mezcla diastereomérica".

Quando un centro quiral está presente, un estereoisómero pueden caracterizarse mediante la configuración absoluta (R o S) de ese centro quiral. La configuración absoluta se refiere a la disposición en el espacio de los sustituyentes unidos al centro quiral. Los sustituyentes unidos al centro quiral en cuestión se clasifican de acuerdo con la Regla de Secuencia de Cahn, Ingold y Prelog. (Cahn y col., Angew. Chem. Inter. Edit. 1966, 5, 385; errata 511; Cahn y col., Angew. Chem. 1966, 78, 413; Cahn e Ingold, J Chem. Soc. 1951 (Londres), 612; Cahn y col., Experientia 1956, 12, 81; Cahn, J., Chem. Educ. 1964, 41, 116).

"Isómeros geométricos" significa los diastereómeros que deben su existencia a la rotación impedida sobre dobles enlaces. Estas configuraciones se diferencian en sus nombres por los prefijos *cis* y *trans*, o *Z* y *E*, que indican que los grupos están en el mismo lado u opuesto del doble enlace en la molécula de acuerdo con las reglas de Cahn-Ingold-Prelog.

Además, las estructuras y otros compuestos analizados en esta solicitud incluyen todos los isómeros atropicos de los mismos. Los "isómeros atropicos" son un tipo de estereoisómero en el que los átomos de dos isómeros se disponen de forma diferente en el espacio. Los isómeros atropicos deben su existencia a una rotación limitada causada por la obstaculización de la rotación de grandes grupos sobre un enlace central. Dichos isómeros atropicos existen típicamente en forma de una mezcla, sin embargo, como resultado de ciertos avances en las técnicas de cromatografía, ha sido posible separar mezclas de dos isómeros atropicos en casos seleccionados.

Como se usa en el presente documento, la expresión "síndrome del cromosoma X frágil" se refiere al trastorno causado por anomalías en la función del gen *FMR1*, que afecta aproximadamente a 1 de 4000 personas.

Como se usa en el presente documento, la expresión "trastorno del espectro autista" se refiere a trastornos psiquiátricos o neurológicos que pueden atribuirse a enfermedades del sistema nervioso. Los ejemplos de dichos trastornos son trastorno autista, síndrome de Asperger y trastorno generalizado del desarrollo no especificado (PDD-NOS). Se estima que 1 de 150 personas de la población general padece trastornos del espectro autista, lo que representa 1,8 millones de pacientes en Estados Unidos y más de 3 millones de pacientes en la UE que podrían beneficiarse de la presente invención.

Como se usa en el presente documento, los términos "paciente" y "sujeto" se refieren a cualquier animal, incluyendo, pero sin limitación, seres humanos y animales no humanos (por ejemplo, roedores, artrópodos, insectos, peces (por ejemplo, pez cebra), primates no humanos, ovinos, bovinos, rumiantes, lagomorfos, porcinos, caprinos, equinos, caninos, felinos, aves, etc.), que será el receptor de un tratamiento particular. Típicamente, los términos "paciente" y "sujeto" se usan de forma intercambiable en el presente documento en referencia a un sujeto humano.

Como se usa en el presente documento, el término "modular" se refiere a un cambio en la actividad biológica de una molécula biológicamente activa. La modulación puede ser un aumento o un descenso de la actividad, un cambio en las características de unión, o cualquier otro cambio en las propiedades biológicas, funcionales o inmunológicas de las moléculas activas.

Como se usa en el presente documento, el término "*in vitro*" se refiere a un entorno artificial y a procesos o reacciones que se producen en un entorno artificial. Los entornos *in vitro* consisten, pero sin limitación, en tubos de ensayo y cultivo celular.

Como se usa en el presente documento, el término "*in vivo*" se refiere al entorno natural (por ejemplo, un animal o una célula) y a procesos o una reacción que se produce en un entorno natural.

Como se usa en el presente documento, la expresión "compuesto de ensayo" se refiere a cualquier entidad química, producto farmacéutico, fármaco, y similar que se usan para tratar o prevenir una enfermedad, dolencia, mal o trastorno de la función corporal. Los compuestos de ensayo comprenden compuestos terapéuticos tanto conocidos como potenciales. Un compuesto de ensayo puede determinarse como terapéutico por selección usando los métodos de selección de la presente invención. Un "compuesto terapéutico conocido" se refiere a un compuesto terapéutico que se ha demostrado (por ejemplo, a través de estudios en animales o experiencia previa con administración en seres humanos) que es eficaz en tal tratamiento o prevención.

El término "tratar" se reconoce en la técnica e incluye inhibir una enfermedad, trastorno o afección en un sujeto, por ejemplo, impidiendo su avance; y aliviar la enfermedad, trastorno o afección, por ejemplo, causando una regresión de la enfermedad, trastorno y/o afección. Tratar la enfermedad o afección incluye mejorar al menos un síntoma de la enfermedad o afección particular, incluso si la patofisiología subyacente no se ve afectada.

El término "prevenir" se reconoce en la técnica e incluye impedir que se produzca una enfermedad, trastorno o afección en un sujeto, que puede estar predispuesto a la enfermedad, trastorno y/o afección pero aún no se ha diagnosticado que la tiene. Prevenir una afección relacionada con una enfermedad incluye impedir que se produzca la afección después del diagnóstico de la enfermedad pero antes del diagnóstico de la afección.

Como se usa en el presente documento, el término "reducción" de un síntoma o síntomas (y equivalentes gramaticales de esta frase) se refiere a la disminución de la gravedad o la frecuencia del síntoma o síntomas, o la eliminación del síntoma o los síntomas.

Como se usa en el presente documento, los términos "administrar" o "administración de" un fármaco a un sujeto (y equivalentes gramaticales de esta frase) incluyen tanto administración directa, incluyendo auto-administración, como administración indirecta, incluyendo el acto de recetar un fármaco. Por ejemplo, como se usa en el presente documento, un médico que indica a un paciente que se autoadministre un fármaco y/o proporciona a un paciente una receta para un fármaco está administrando el fármaco al paciente.

Como se usa en el presente documento, una "manifestación" de una enfermedad se refiere a un síntoma, signo, estado anatómico, estado fisiológico, o característica de informe de un sujeto con la enfermedad.

Como se usa en el presente documento, una "cantidad terapéuticamente eficaz" de un fármaco o agente es una cantidad de un fármaco o agente que, cuando se administra a un sujeto con una enfermedad o afección, tendrá el efecto terapéutico pretendido, por ejemplo, alivio, mejora, paliación o eliminación de una o más manifestaciones de la enfermedad o afección en el sujeto. El efecto terapéutico completo no se produce necesariamente por la administración de una dosis y puede ocurrir solamente después de la administración de una serie de dosis. Por lo tanto, una cantidad terapéuticamente eficaz puede administrarse en una o más administraciones.

Como se usa en el presente documento, una "cantidad profilácticamente eficaz" de un fármaco es una cantidad de un fármaco que, cuando se administra a un sujeto, tendrá el efecto profiláctico pretendido, por ejemplo, prevenir o retrasar la aparición (o reaparición) de una enfermedad o síntomas, o reducir la probabilidad de la aparición (o reaparición) de una enfermedad o síntomas. El efecto profiláctico completo no se produce necesariamente por la administración de una dosis, y puede ocurrir únicamente después de la administración de una serie de dosis. Por lo tanto, una cantidad profilácticamente eficaz puede administrarse en una o más administraciones.

Las expresiones "administración parenteral" y "administrado por vía parenteral" son expresiones reconocidas en la técnica, e incluyen modos de administración distintos de la administración enteral y tópica, tales como inyecciones, e incluyen, sin limitación, intravenosa, intramuscular, intrapleurar, intravascular, intrapericárdica, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardiaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intra-articular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal e inyección intraesternal e infusión.

Las expresiones "administración sistémica", "administrado por vía sistémica", "administración periférica" y "administrado por vía periférica" como se usan en el presente documento se refieren a la administración de un compuesto, fármaco u otro material distinto de directamente en el sistema nervioso central, de tal forma que entra en el sistema del animal y, por lo tanto, está sometido al metabolismo y otros procesos similares, por ejemplo, administración subcutánea.

Una "composición farmacéutica" es una formulación que contiene los compuestos desvelados en una forma adecuada para su administración a un sujeto. En una realización preferida, la composición farmacéutica esta en un volumen elevado o en una forma de dosificación unitaria. La forma de dosificación unitaria es cualquiera de una diversidad de formas, incluyendo, por ejemplo, una cápsula, una bolsa IV, un comprimido, una bomba única o un inhalador de aerosol o un vial. La cantidad de principio activo (por ejemplo, una formulación de compuesto desvelado sales del mismo) en una dosis unitaria de la composición es una cantidad eficaz y se hace variar según el tratamiento particular involucrado. Un experto en la técnica apreciará que a veces es necesario hacer variaciones rutinarias para la dosificación dependiendo de la edad y el estado del paciente. La dosificación dependerá también de la vía de administración. Se contemplan una diversidad de vías, incluyendo, oral, pulmonar, rectal, parenteral, transdérmica, subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal o intranasal, y similares. Las formas de dosificación para la administración tópica o *transdérmica* de un compuesto de esta invención incluyen polvos, pulverizaciones, pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, soluciones, parches e inhaladores. En una realización preferida, el compuesto activo se mezcla en condiciones estériles con un vehículo farmacéuticamente aceptable y con cualquier conservante, tamponante o propulsor que sea necesario.

La expresión "dosis rápida" se refiere a formulaciones del compuesto que son formas de dosificación rápidamente dispersadas.

- 5 La expresión "liberación inmediata" se define como una liberación de compuesto desde una forma de dosificación en un período de tiempo relativamente breve, generalmente hasta aproximadamente 60 minutos. La expresión "liberación modificada" se define por incluir una liberación retardada, liberación prolongada o liberación por impulsos. La expresión "liberación por impulsos" se define como una serie de liberaciones de fármaco a partir de una forma de dosificación. La expresión "liberación sostenida" o "liberación prolongada" se define como una liberación continua de
10 un compuesto a partir de una forma de dosificación durante un período prolongado.

- La expresión "farmacéuticamente aceptable" se reconoce en la técnica. En ciertas realizaciones, la expresión incluye composiciones, polímeros y otros materiales y/o formas de dosificación que son, dentro del alcance del criterio médico, adecuadas para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin excesiva toxicidad,
15 irritación, respuesta alérgica, u otro problema o complicación, en consonancia con una relación beneficio/riesgo razonable.

- La expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable" se reconoce en la técnica, e incluye, por ejemplo, materiales, composiciones o vehículos farmacéuticamente aceptables, tales como una carga líquida o sólida, un diluyente,
20 excipiente, disolvente o material de encapsulación, implicado en el porte o transporte de cualquier composición objeto de un órgano, o porción del cuerpo, a otro órgano, o porción del cuerpo. Cada vehículo debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de una composición objeto y no perjudicial para el paciente. En ciertas realizaciones, un vehículo farmacéuticamente aceptable es no pirógeno. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) azúcares, tales como
25 lactosa, glucosa y sacarosa; (2) almidones, tales como almidón de maíz y almidón de patata; (3) celulosa, tales como carboximetil celulosa sódica, etil celulosa y acetato de celulosa; (4) tragacanto en polvo; (5) malta; (6) gelatina; (7) talco; (8) excipientes, tales como manteca de cacao y ceras para supositorios; (9) aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de girasol, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite e maíz y aceite de soja; (10) glicoles, tal como propilenglicol; (11) polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol;
30 (12) ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; (13) agar; (14) agentes tamponantes, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; (15) ácido algínico; (16) agua libre de pirógenos; (17) solución salina isotónica; (18) solución de Ringer; (19) alcohol etílico; (20) soluciones de tampón fosfato; y (21) otras sustancias compatibles no tóxicas empleadas en formulaciones farmacéuticas.

- 35 Los compuestos de la solicitud son capaces de formar adicionalmente sales. Todas estas formas también se contemplan dentro del alcance de la invención reivindicada.

- "Sal farmacéuticamente aceptable" de un compuesto se refiere a una sal que es farmacéuticamente aceptable y que posee la actividad farmacológica deseada del precursor. Por ejemplo, la sal puede ser una sal de adición de ácidos.
40 Una realización de una sal de adición de ácidos es una sal clorhidrato. Las sales farmacéuticamente aceptables pueden sintetizarse a partir de un precursor que contiene un resto básico o ácido mediante métodos químicos convencionales. Generalmente, dichas sales pueden prepararse haciendo reaccionar las formas de ácido o base libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base o ácido apropiado en agua o en un disolvente orgánico o en una mezcla de los dos; en general, se prefieren medios no acuosos tales como éter,
45 acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetonitrilo. Se encuentran listas de sales adecuadas en Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª ed. (Mack Publishing Company, 1990). Por ejemplo, las sales pueden incluir, pero sin limitación, las sales clorhidrato y acetato de los compuestos de la presente invención que contienen amina alifática, que contienen hidroxil amina, y que contienen imina.

- 50 Debe entenderse que todas las referencias a sales farmacéuticamente aceptables incluyen formas de adición de disolvente (solvatos) o formas cristalinas (polimorfos) como se define en el presente documento, de la misma sal.

- La administración de un agente "en combinación con" o "junto con" incluye administración paralela (administración de ambos agentes al paciente durante un periodo de tiempo, tal como administración en días alternos durante un
55 mes), co-administración (en la que los agentes se administran aproximadamente al mismo tiempo, por ejemplo, de pocos minutos a unas pocas horas uno del otro), y co-formulación (en la que los agentes se combinan o se componen en una forma de dosificación individual para administración oral o parenteral).

Esta solicitud se refiere a composiciones y métodos para tratar un sujeto en riesgo de o que se sospecha que tiene

síndrome del cromosoma X frágil o trastorno del espectro autista asociado a anomalías de ERK.

Existe una superposición de la sintomatología del autismo y el síndrome del cromosoma X frágil que está en paralelo por la superposición en las características biológicas de estos trastornos. Esta superposición puede observarse a nivel de investigación microscópica de la estructura de las neuronas en ambas afecciones. En el síndrome del cromosoma X frágil, la fina estructura de los procesos neuronales se altera. Es decir, la densidad de las espinas dendríticas aumenta en el síndrome del cromosoma X frágil. La fina estructura de los procesos neuronales también se altera en algunos sujetos con autismo. Una vez que se excluyen los casos de discapacidad no específica, la densidad de las espinas dendríticas aumenta en algunos sujetos con autismo. Este aumento se vuelve más pronunciado a medida que empeora la gravedad de los síntomas.

La densidad de las espinas dendríticas refleja el número de conexiones sinápticas entre neuronas y está sujeta a cambios. Se descubrió que las deficiencias en la función cerebral observadas en el síndrome del cromosoma X frágil y el autismo son resultado de deficiencias en el control de la plasticidad de las conexiones entre las neuronas que se median por cambios en la densidad de las espinas. Los factores neurotróficos, tales como BDNF, aumentan en el autismo, por lo tanto, aumentando potencialmente la densidad de las espinas. En el síndrome del cromosoma X frágil, una pérdida de FRMP da como resultado un fallo de LTD y, por lo tanto, un fallo en la inducción de la poda sináptica o la reducción apropiada en la densidad de las espinas. Por lo tanto, se sugiere que las deficiencias de la función cerebral en el autismo y el síndrome del cromosoma X frágil surgen de una inducción inadecuada de aumento en la densidad de las espinas, o un fallo en la disminución de la densidad de las espinas.

La inducción de la densidad de las espinas se basa en la activación de la cinasa regulada por la señal extracelular (ERK). Se requiere la inducción de ERK para el inicio de la activación de factores de transcripción y la síntesis de proteínas en el mantenimiento de LTP y la generación de espinas dendríticas. La figura 1 muestra la actividad subyacente de la ruta de señalización intracelular de ERK en relación con esta función y la plasticidad y conectividad neuronal.

Se ha estudiado la función de ERK en el síndrome del cromosoma X frágil. Varios estudios que usan tejido neuronal y periférico de un modelo de ratón transgénico de síndrome del cromosoma X frágil (el ratón KO *fmr1*) y tejido periférico de pacientes de SXF han investigado la fosforilación de ERK. Hou y col. (Hou, Antion, Hu y col. *Neuron*. Vol. 51 2006 págs. 441-454) mostraron que la fosforilación de ERK observada después de la estimulación del receptor de glutamato metabotrópico (mGluR) en animales de control estaba ausente. Esta ausencia de fosforilación de ERK inducida por estimulación se replicó por Kim y col. (Kim SH, Markham JA, Weiler IJ, Greenough WT. *Proc Natl Acad Sci USA*. Vol. 105 2008 págs. 4429-4434) que indicó una ausencia de fosforilación de ERK inducida por estimulación en sinaptoneurosomas corticales de ratones KO *fmr1*. De hecho, en este estudio, la estimulación mediada por mGluR indujo una desfosforilación persistente de ERK, mediada por una activación inapropiada de fosfatasas. Esta inducción deficiente de fosforilación de ERK en un cerebro de ratón KO *fmr1* se replicó y se extendió por Weng y col. (Weng N, Weiler IJ, Sumis A, Berry-Kravis E, Greenough WT. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. Vol. 147B 2008 págs. 1253-1257) que indicaron que la fosforilación de ERK estimulada se alteró en el tejido periférico de ratones KO *fmr1* y en pacientes de SXF. En general, estos datos implicarán que los niveles de ERK fosforilada se agotan en el síndrome del cromosoma X frágil.

La predicción anterior de que la fosforilación de ERK debe reducirse en el síndrome del cromosoma X frágil que no se ha ensayado en tejido de cerebro de pacientes con esta afección. Por consiguiente, se examinó el tejido cerebral humano *post mortem* de pacientes de SXF y FXTAS con respecto a los niveles de ERK fosforilada. Sorprendentemente, los niveles de ERK fosforilada aumentaron al visualizarse usando tinción inmunohistoquímica (figura 2). Se usó un análisis de transferencia de Western para confirmar este hallazgo (figura 3). Dado que el síndrome del cromosoma X frágil y el autismo parecen superponerse en cuanto a los síntomas que presentan y, en algunos casos, con respecto a la estructura dendrítica de las neuronas, también se investigó un cerebro autista (figura 4). Los niveles de ERK también aumentan en autismo, como se predice por un modelo de estos trastornos en el que se ha producido una inducción inapropiada de aumentos en la densidad de las espinas.

Los datos mostrados en los ejemplos sugieren que la actividad de ERK se aumenta anormalmente en el cerebro en el síndrome del cromosoma X frágil y al menos un subconjunto de pacientes con autismo. Además, este aumento anormal en la actividad de ERK es una ruta común final dentro de las neuronas donde los factores que inducen la enfermedad, tales como una pérdida de FMRP, polimorfismos genéticos en las cadherinas y los factores ambientales que aumentan los niveles de citocina y neurotrofina se traducen en cambios anormales en la densidad de las espinas. A su vez, la densidad alterada de las espinas da como resultado una plasticidad anormal alterada y, por lo tanto, deficiencias en la función cerebral.

Se descubrió que la inhibición de la actividad de ERK en exceso, mejorada o anormalmente alta invierte los síntomas del síndrome del cromosoma X frágil y algunos casos del autismo. A modo de ejemplo, el efecto de la inhibición se investigó en ratones KO *fmr1*. Como casos pediátricos de síndrome del cromosoma X frágil, los ratones KO *fmr1* jóvenes están predispuestos a la epilepsia. Una predisposición a la epilepsia también es común en el autismo. Por lo tanto, se investigó la actividad convulsiva audiogénica en ratones KO *fmr1* en presencia de tratamiento con solución vehículo de control o el compuesto SL 327. SL 327 es un inhibidor potente y selectivo de MEK. Dado que MEK es un activador aguas arriba de ERK, la inhibición con SL327 disminuirá la actividad de ERK. SL327 antagonizó notablemente el desarrollo de convulsiones audiogénicas en ratones KO *fmr1*, por ejemplo, la actividad convulsiva se impidió completamente por la administración de este compuesto.

Sin desear quedar ligado a la teoría, se cree que la inhibición de ERK, directamente o a través de la modulación de sus elementos de control aguas arriba o abajo, impedirá una regulación anormal de la plasticidad neuronal causada por anomalías genéticas o la interacción entre la anomalía genética y estímulos ambientales en el síndrome del cromosoma X frágil y autismo. Por consiguiente, pueden usarse moduladores de la función de ERK neuronal para restaurar la función correcta en el autismo y el síndrome del cromosoma X frágil y así reducir los síntomas de estos trastornos. Un tratamiento para estos tipos de trastornos puede ser uno que desactive el aumento de la función de ERK observada en el síndrome del cromosoma X frágil o el autismo.

Por lo tanto, un aspecto de la solicitud se refiere a composiciones y métodos de tratamiento de un sujeto en riesgo de o que se sospecha que tiene síndrome del cromosoma X frágil o trastornos del espectro autista asociados a anomalías de ERK administrando al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto inhibidor de ERK, que evita anomalías en la conectividad neuronal. El compuesto inhibidor de ERK puede incluir cualquier compuesto que actúe sobre las rutas de señalización que implican ERK y que evitan anomalías en la conectividad neuronal.

En algunas realizaciones de la solicitud, el compuesto inhibidor de ERK puede incluir inhibidores indirectos de MAPK que actúan a través de MEK, tales como inhibidores de MEK. Los ejemplos de inhibidores de MEK pueden incluir 2-(2-amino-3-metoxifenil)-4H-cromen-4-ona (PD98059) (Romerio y Zella FASEB J. Vol. 16 2002 págs. 1680-1682), (2Z,3Z)-bis{amino[(2-aminofenil)sulfanil]metilideno}butanodinitrilo (U0126) (Duncia y col. Bioorg Med Chem Lett. Vol. 8 1998 págs. 2839-2844), 5-[(4-bromo-2-clorofenil)amino]-4-fluoro-N-(2-hidroxietoxi)-1-metil-1H-benzimidazol-6-carboxamida (AZD6244 (ARRY-142886)) (Yeh y col. Clin Cancer Res vol. 13 2007 págs. 1576-1583), 2-[(2-fluoro-4-yodofenil)amino]-N-(2-hidroxietoxi)-1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-carboxamida (o 2-(4-cloro-2-fluoro-anilino)-N-(2-hidroxietoxi)-1,5-dimetil-6-oxo-piridin-3-carboxamida) AZD8330 (ARRY-424704) (Chung y col. Clin Cancer Res. Vol. 15 2009 págs. 3050-3057), 2-[(2-cloro-4-yodofenil)amino]-N-(ciclopropilmetoxi)-3,4-difluorobenzamida (CI-1040) (LoRusso y col. (2005) J Clin Oncol vol. 23 2005 págs. 5281-5293), (3R,4R)-4-(3,4-Dimetoxibencil)-3-(4-hidroxi-3-metoxibencil)dihidrofuran-2(3H)-ona (Arctigenin) (Jang y col. J. Neurosci. Res. vol 68 2002 págs. 233-240), (2Z)-3-amino-3-[(4-aminofenil)sulfanil]-2-[2-(trifluorometil)fenil]prop-2-enenitrilo (SL327) (Wang y col. J. Pharmacol. Exp. Ther. vol. 304 2003 págs. 172-178), y alcohol perflico o [(4S)-4-(prop-1-en-2-il)ciclohex-1-en-1-il]metanol, que es un inhibidor de MEK (Clark y col. Clin Canc Res 9 2003 págs. 4494-4505).

Los ejemplos adicionales de inhibidores de MEK pueden incluir U0125 (1,4-Diamino-2,3-diciano-1,4-bis(feniltio)butadieno), PD 0325901, AS703026, ARRY-438162, GDC-0973, GSK1120212, RO4987655, RDEA119, TAK-733, E6201, CI-1040, PD 318088, PD 0316684, PD 0188563, PD 169842, PD 0335676, PD 0184264, PD184352, ARRY-509, AR-00241389, GC63, G8935, Isotiazol, LL,Z-1640, Hpotemicina, L-783.277, 10-Z-Himendaldisina, RO-09-2210, 87-250940, XL-518, AR119, AS-701173, AS-701255, 360770-54-3, NAMI-A, (2-hidroxietoxi)-amida del ácido 6-(4-Bromo-2-cloro-fenilamino)-7-fluoro-3 (tetrahidro-piran-2-ilmetil)-3H-benzoimidazol-5-carboxílico, 1-[6-(4-Bromo-2-cloro-fenilamino)-7-fluoro-3-metil-3H-benzoimidazol-5-il]-2-hidroxi-etanona, (2-hidroxi-1,1 -dimetil-etoxi)-amida del ácido 6-(4-bromo-2-cloro-fenilamino)-7-fluoro-3-metil-3H-benzoimidazol-5-carboxílico, (2-hidroxi-etoxi)-amida del ácido 6-(4-Bromo-2-cloro-fenilamino)-7-fluoro-3-(tetrahidro-furan-2-ilmetil)-3H-benzoimidazol-5-carboxílico, (2-hidroxi-etoxi)-amida del ácido 6-(4-Bromo-2-fluoro-fenilamino)-7-fluoro-3 metil-3H-benzoimidazol-5-carboxílico y (2-hidroxietoxi)-amida del ácido 6-(2,4-Dicloro-fenilamino)-7-fluoro-3-metil 3H-benzoimidazol-5-carboxílico, (2-hidroxi-etoxi)-amida del ácido 6-(4-Bromo-2-cloro-fenilamino)-7-fluoro-3 metil-3H-benzoimidazol-5-carboxílico, denominado en lo sucesivo en el presente documento como inhibidor de MEK 1; 2-[(2-fluoro-4-yodofenil)amino]-N-(2-hidroxietoxi)-1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-carboxamida; denominada en lo sucesivo en el presente documento como inhibidor de MEK 2; 4-(4-bromo-2-fluorofenilamino)-N-(2-hidroxietoxi)-1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridazin-3-carboxamida, 4-(4-bromo-2-fluorofenilamino)-N-(2-hidroxietoxi)-1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridazin-3-carboxamida, (2-hidroxi-etoxi)-amida del ácido 6-(4-Bromo-2-cloro-fenilamino)-7-fluoro-3-metil-3H-benzoimidazol-5-carboxílico, 2-(2-fluoro-4-yodofenilamino)-N-(2-hidroxietoxi)-1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-carboxamida, dihidrogenofosfato de 2-[(3-[(4-[(5-{2-[(3-fluorofenil)amino]-2-oxoetil)-1H-pirazol-3-

il)amino]quinazolin-7-il}oxi]propil](etil)amino}etilo, y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Aún otros ejemplos de inhibidores de MEK se describen en las Patentes de Estados Unidos N° 7.517.994, 7.732.616, 7.893.065, 6.147.107, 6.319.955, 7.528.166, 6.063.383, 6.703.420, 6.972.298, 7.169.816, 6.696.440, 5 7.235.537, 7.425.637, 5.525.625, 6.150.401, 6.346.282, 6.949.558, 6.573.044 y 6.512.010.

En otras realizaciones, el compuesto inhibidor de ERK puede incluir inhibidores de ERK. Los ejemplos de inhibidores de ERK pueden incluir Hipericina (Romerio y Zella FASEB J. Vol. 16 2002 págs.1680-1682), 3-(3-amino-2H-pirazolo[3,4-c]piridazin-5-il)-2-fenil-3H-pirazolo[1,5-a]piridin-8-io (documento FR 180204) ((Ogori y col. Biochem 10 Biophys Res Commun. Vol. 336 2005 págs. 357-363), N-metil-3-fenil-3-[4-(trifluorometil)fenoxi]propan-1-amina fluoxetina (Valjent y col. Eur J Neurosci. Vol. 19 2004 págs. 1826-183) y ácido 2-cloro-4-[[2-[[2R)-1-hidroxi-3-metilbutan-2-il]amino]-9-(propan-2-il)-9H-purin-6-il]amino]benzoico (purvalanol) (Knockaer y col. Oncogene. Vol. 21 2002 págs. 6413-6424).

15 Otros ejemplos de inhibidores de ERK pueden incluir PD173074, SC1 (Pluripotin), GW5074, BAY 43-9006, AG 99, CAY10561, ISIS 5132, Apigenin, SP600125, SU4984, SB203580, PD169316, y/o péptidos del inhibidor de la activación de ERK, AG1478, 3-ciano-4-(fenoxianilino)quinolinas (tal como Wyeth-Ayerst Compuesto 14), un péptido correspondiente a los 13 aminoácidos amino-terminales de MEK1. Aún otros ejemplos de inhibidores de ERK incluyen composiciones de pirazol y composiciones de isoxazol, tal como se desvela en la Patente de Estados 20 Unidos N° 6.495.582. Aún otros ejemplos de inhibidores de ERK que pueden usarse incluyen los desvelados en la publicación de patente de Estados Unidos 2003/0060469 (Ludwig S. y col.); publicación de patente de Estados Unidos 2004/0048861 (Bemis G. y col.); y publicación de patente de Estados Unidos 2004/0082631 (Hale M. y col.), el inhibidor de ERK descrito en la publicación de patente Japonesa abierta a inspección pública (Tokukai) N° 2005-330265, 5-Yodotubercidina (4-amino-5-yodo-7-(β-D-ribofuranosil)pirrolo[2,3-d]-pirimidina), 3-(2-aminoetil)-5-[(4- 25 etoxifenil)metileno]-2,4-tiazolidinadiona.

Aún otros ejemplos de inhibidores de ERK se describen en las Patentes de Estados Unidos N° 7.517.994, 7.732.616, 7.893.065, 6.147.107, 6.319.955, 7.528.166, 6.063.383, 6.703.420, 6.972.298, 7.169.816, 6.696.440, 7.235.537, 7.425.637, 5.525.625, 6.150.401, 6.346.282, 6.949.558, 6.573.044 y 6.512.010.

30 Los agentes terapéuticos que se han enumerado anteriormente, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, pueden formularse en formas de dosificación farmacéutica, junto con vehículos farmacéuticamente aceptables adecuados, tales como diluyentes, cargas, sales, tampones, estabilizantes, solubilizantes, etc. La forma de dosificación puede contener otros excipientes farmacéuticamente aceptables para modificar condiciones tales 35 como el pH, la osmolaridad, el sabor, la viscosidad, la esterilidad, la lipofiliidad, la solubilidad, etc.

Las formas de dosificación adecuadas incluyen formas de dosificación sólidas, por ejemplo, comprimidos, cápsulas, polvos, gránulos dispersables, obleas y supositorios, incluyendo formulaciones de liberación sostenida y liberación retardada.

40 Los polvos y comprimidos comprenderán generalmente del 5 % al 70 % de principio activo. Los vehículos y excipientes sólidos adecuados se conocen generalmente en la técnica e incluyen, por ejemplo, carbonato de magnesio, estearato de magnesio, talco, azúcar, lactosa, etc. Los comprimidos, polvos, obleas y cápsulas son todas formas de dosificación adecuadas para administración oral.

45 Las formas de dosificación líquidas incluyen soluciones, suspensiones y emulsiones. Las preparaciones de forma líquida pueden administrarse por vía intravenosa, intracerebral, intraperitoneal, parenteral o inyección intramuscular o infusión. Las formulaciones inyectables estériles pueden comprender una solución o suspensión estéril del agente activo en un disolvente o disolvente farmacéuticamente aceptable no tóxico. Los diluyentes y disolventes pueden 50 incluir agua estéril, solución de Ringer y solución de cloruro sódico isotónica, etc. Las formas de dosificación líquida también incluyen soluciones o pulverizaciones para administración intranasal.

Las preparaciones en aerosol para inhalación pueden incluir soluciones y sólidos en forma de polvo, que pueden combinarse con un vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como un gas comprimido inerte.

55 También se incluyen formas de dosificación para administración transdérmica, incluyendo cremas, lociones, aerosoles y/o emulsiones. Estas formas de dosificación pueden incluirse en parches transdérmicos del tipo matriz o reservorio, que se conocen generalmente en la técnica.

Las preparaciones farmacéuticas pueden prepararse convencionalmente en forma de dosificación unitaria, de acuerdo con procedimientos convencionales de formulación farmacéutica. La cantidad de compuesto activo por dosis unitaria puede variarse de acuerdo con la naturaleza del compuesto activo y el régimen de dosificación pretendido. Generalmente, estará dentro del intervalo 0,1 mg a 1000 mg.

5

El compuesto inhibidor de ERK puede usarse en solitario, es decir, como una monoterapia, o en combinación con uno o más de los compuestos usados actualmente como aprobados o de uso no aprobado como tratamientos para trastorno del espectro autista, como terapia adyuvante. El uno o más compuestos usados actualmente que pueden usarse junto con el compuesto inhibidor de ERK pueden seleccionarse entre el grupo que consiste en un antidepresivo, un antipsicótico, un estimulante y otros medicamentos, y se selecciona preferiblemente entre risperidona (RISPERDAL), aripiprazol (ABILIFY), citalopram (CELEXA), escitalopram (LEXAPRO), (sertralina (ZOLOFT), metilfenidato (RITALIN), atomoxetina (STRATTEA), memantina (NAMENDA) o minociclina (MINOCIN).

El compuesto inhibidor de ERK puede usarse en la preparación de un medicamento para el tratamiento del síndrome del cromosoma X frágil o trastorno del espectro autista. Un medicamento como se describe en el presente documento puede incluir uno de los fármacos adyuvantes que se han mencionado anteriormente.

En uso terapéutico, el compuesto activo puede administrarse por vía oral, rectal, parenteral o por inhalación (administración pulmonar). Se prefiere la administración oral, particularmente para administración a pacientes pediátricos o adolescentes. Por lo tanto, los medicamentos descritos en el presente documento pueden adoptar la forma de cualquiera de las composiciones farmacéuticas conocidas para dichos métodos de administración. Las composiciones pueden formularse de una manera conocida por los expertos en la técnica para dar una liberación controlada, por ejemplo, liberación rápida, prolongada o sostenida, del principio o principios activos incluidos en el medicamento para su uso en el presente documento.

25

Si el compuesto inhibidor de ERK se proporciona como una terapia adyuvante o como terapia de combinación a otro fármaco, el compuesto inhibidor de ERK y el otro fármaco pueden incorporarse como formas de dosificación separadas o pueden formularse en una única forma de dosificación. Ya se formulen como formas de dosificación separadas o combinadas, puede ser beneficioso facilitar una liberación simultánea, secuencial o prolongada de los diferentes fármacos en el sistema del paciente. Por lo tanto, una forma de dosificación individual se formulará para una liberación controlada de los principios activos por una técnica de formulación conocida convencionalmente en la técnica, mientras que las formas de dosificación separadas pueden administrarse de acuerdo con un régimen de dosificación secuencial, es decir, gradual. Además, incluso si el medicamento únicamente comprende un compuesto de inhibición de MAPK como su compuesto activo, no obstante, puede desearse formular el medicamento para su liberación controlada en el paciente, de nuevo de acuerdo con técnicas de formulación convencionales conocidas en la técnica.

Se conocen en la técnica vehículos farmacéuticamente aceptables adecuados para su uso en dichas composiciones. Los medicamentos usados en la invención pueden contener del 0,1 al 99 % en peso del compuesto activo y típicamente contienen proporciones de compuesto activo formuladas de acuerdo con niveles activos estandarizados para diferentes tipos de pacientes y/o diferentes fuerzas de medicamento dependiendo del régimen de dosificación deseado.

Los medicamentos pueden prepararse generalmente en forma de dosificación unitaria. Una dosis unitaria comprende uno o más principios activos en una cantidad de 0,1 a 1000 mg. Los excipientes usados en la preparación de estos medicamentos pueden ser excipientes convencionales conocidos en la técnica para este fin. Los niveles de dosificación apropiados pueden determinarse por cualquier método adecuado conocido por un experto en la técnica. Sin embargo, se entenderá que el nivel de dosis específico para cualquier paciente particular dependerá de una diversidad de factores, incluyendo la actividad del compuesto específico empleado, la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo, la dieta, el tiempo de administración, la vía de administración, la tasa de excreción, la combinación de fármacos y la gravedad de la enfermedad que se encuentra en tratamiento.

Convenientemente, el medicamento descrito en el presente documento, ya sea que comprende un compuesto inhibidor de ERK en solitario o junto con otros fármacos, se proporciona en forma de un kit que incluye el medicamento e instrucciones del medicamento que se va a usar para el tratamiento de uno o más trastornos del espectro autista y, preferiblemente, trastorno autista, síndrome de Asperger o trastorno generalizado del desarrollo no especificado, o síndrome del cromosoma X frágil. Si el medicamento comprende el compuesto inhibidor de ERK y uno o más fármacos adicionales en formas de dosificación separadas, las instrucciones proporcionan detalles del régimen de dosificación que se va a emplear.

55

La invención se ilustra adicionalmente mediante el siguiente ejemplo:

Ejemplo 1

5 Nuevos estudios en animales sugieren que el control deficiente de la fosforilación de ERK tiene importancia patológica en SXF. En este ejemplo, se ensayó el efecto de un inhibidor de MEK sobre la conducta de ratones KO *Fmr1*, confirmando la función de MEK sobre la fosforilación de ERK. Sin embargo, dado que la regulación de las rutas de señalización intracelular puede diferir de acuerdo con la especie y el tejido, es importante determinar si la fosforilación de ERK es anormal en el tejido cerebral de pacientes con SXF y FXTAS. Dada la importancia potencial de este proceso en dilucidar importantes marcadores patológicos y el desarrollo de dianas terapéuticas para el SXF, cabe señalar que se trata del primer examen de fosforilación de ERK alterada en tejido cerebral humano.

Métodos

Tejido

La investigación de rutas de ERK humana se realizó en pacientes de síndrome del cromosoma X frágil de 9, 20, 22, 23, 62 y 86 años con un diagnóstico conformado por pruebas moleculares (Tabla 1). También se usaron sujetos con una premutación del gen FMR1 de 70, 72 y 81 edades (Tabla 1). Para el autismo, se usaron casos pediátricos de 9 y 11 años. Los análisis se realizaron en las neuronas y la glía en la materia blanca y el hipocampo.

Tabla 1 Casos de síndrome del cromosoma X frágil y FXTAS

Diagnóstico	Edad (a)	Fijadas	Congeladas	Género
Control	8		Sí	M
Control	9	Sí		F
Control	14		Sí	M
Control	21	Sí		M
Control	32	Sí		F
Control	42		Sí	M
Control	65		Sí	F
Control	68	Sí		M
Control	74		Sí	M
Control	75		Sí	F
Control	81		Sí	M
SXF	10	Sí	Sí	M
SXF	22	Sí		M
SXF	23	Sí	Sí	M
SXF	63	Sí	Sí	M
SXF	86		Sí	M
Premutación	70		Sí	M
Premutación	72	Sí	Sí	M
Premutación	81		Sí	M

25 Para este ejemplo, se obtuvieron muestras fijadas en formalina de tejido cerebral que incluía áreas del hipocampo de 4 casos de X frágil y un caso de FXTAS del Banco de tejidos cerebrales y otros tejidos para trastornos del desarrollo de NICHD en la University of Mariland. Además, se obtuvieron al mismo tiempo muestras emparejadas en edad de la misma fuente. El tejido se embebió en parafina y se cortaron secciones de 6 µm para la evaluación inmunohistoquímica. También se proporcionó por la University of Mariland una serie de muestras corticales frontales congeladas de 4 casos de SXF y 3 casos de FXTAS y muestras de control emparejadas en edad. Se obtuvo tejido cortical adicional de individuos de control de los University Hospitals of Cleveland usando un protocolo IRB aprobado. La Tabla 1 proporciona información de casos más detallada para las muestras usadas en este estudio.

Se realizaron estudios inmunohistoquímicos en las secciones embebidas en parafina usando el método de peroxidasa-anti-peroxidasa (Sternberger y col. Proc Natl Acad Sci U S A. Vol. 82 1985 págs. 4274-4276). En primer lugar, las secciones se desparafinaron a través de 2 cambios de xileno y después se rehidrataron a través de una serie de soluciones de etanol graduado del 100 % al 50 % de etanol. Las secciones se incubaron en una solución al

3 % de H₂O₂ durante 30 min para reducir cualquier actividad de peroxidasa endógena. Finalmente, se pusieron en solución salina tamponada con Tris (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH = 7,6). Después de una incubación de 30 min en suero de cabra normal al 10 % (NGS) en TBS, se aplicó un anticuerpo primario durante 16 horas. Después de aclarar en NGS al 1 %, y posteriormente durante 10 min en NGS al 10 %, se aplicó un anticuerpo secundario de

5

cabra anti-ratón o de cabra anti-conejo durante 30 min. Después de aclarar como anteriormente, se aplicó un complejo de peroxidasa-anti-peroxidasa de ratón o conejo durante 1 h. Los portamuestras se aclararon 2 veces en cubetas de tinción de tampón Tris (Tris 50 mM, pH 7,6) y desarrollo por 3'-3'-diaminobenzidina (Dako). Después de la tinción, las secciones se aclararon en Tris, se deshidrataron a través de etanoles con respecto a xileno y se

10

montaron con Permount. Para el análisis de transferencia de Western, la materia gris de las muestras de corteza congeladas se homogeneizó en 1 x tampón de lisis celular (Cell Signaling) con la adición de cócteles de inhibidores de proteasa (Sigma) y PMSF (1 mM). La concentración de proteínas del homogenizado total se midió usando el ensayo BCA (Pierce). La electroforesis en gel de poliacrilamida usando geles al 10 % se realizó usando 30 µg de proteína por pocillo, y las

15

proteínas se transfirieron a Immobilon (Millipore). Después del bloqueo en leche en polvo al 10 %, se aplicaron anticuerpos primarios durante 16 horas a 4 °C, después se aclaró 5 veces en TBS con Tween-20 al 0,1 % (Sigma). Se aplicaron anticuerpos secundarios marcados con peroxidasa durante 1 hora a TA, las transferencias de aclararon en TBS-Tween como anteriormente y se desarrollaron quimioluminiscencia mejorada (Millipore) y se expusieron a una película (BioExpress). Se usaron anticuerpos frente a ERK total (Cell signaling) y ERK 42/44 doblemente

20

Estudios de fármacos

Se criaron ratones knockout *fmr1* macho y se sometieron a pruebas a los 21 días de edad. Todos los ratones se aclimataron al entorno, se examinaron, se manipularon y se pesaron antes del inicio del estudio para asegurar una salud e idoneidad adecuadas y para minimizar el estrés no específico asociado a la manipulación. Durante el transcurso del estudio, se mantuvieron ciclos de luz/oscuridad 12/12. La temperatura ambiente se mantuvo entre 20 °C y 23 °C con una humedad relativa mantenida aproximadamente al 50 %. Se proporcionaron comida y agua *ad libitum* durante la duración del estudio. Cada ratón se asignó aleatoriamente a los grupos de tratamiento. El ensayo se realizó durante la fase de ciclo de luz de los animales. Se disolvió SL327 (Sigma Aldrich, 400 mg/kg) en Tween80 al 5 % y solución salina y se administró i.p. a un volumen de dosis de 10 ml/kg 30 min antes del ensayo. Los ratones se pusieron individualmente en una cámara de Plexiglas y se dejó que la explorasen durante 15 s después de lo cual se expusieron a un tono de 125 dB durante 2 minutos seguido de 1 minuto sin ningún sonido, y después un tono adicional de 2 minutos. Los ratones se puntuaron en base a su respuesta, latencia e intensidad convulsiva:

35

- | | |
|------------------------------|---------------------------------|
| 0: sin respuesta | 3: convulsiones clónico-tónicas |
| 1. carrera y salto a lo loco | 4: convulsiones tónicas |
| 2. convulsiones clónicas | 5: paro respiratorio |

A los animales que no mostraron ninguna respuesta se les dio escalas de latencia de 240 s.

Resultados

40

En el cerebro, se indicó la localización nuclear específica de pERK en casos de SXF y FXTAS. Los núcleos de las células gliales y las células neuronales mostraron inmunorreactividad a pERK tanto en la materia blanca como la materia gris, predominando la tinción glial. Se observaron números variables de estructuras positivas a pERK en los casos de mutación pero pERK fue virtualmente indetectable en casos de control emparejados en edad (figura 2). En algunos de los casos anteriores diagnosticados con FXTAS, algunas neuronas piramidales tenían distinta degeneración granulovacuolar que prevalece en los controles puede estar relacionado con el desarrollo de una

45

patología tipo EA presente en los individuos de control más mayores. La cuantificación de las bandas de proteínas específicas mostró niveles significativamente mayores de fosfo-p44/42 Erk1/2 en casos de SXF (p<0,0001) y en FXTAS (p<0,0001) (figura 2). Además, el análisis por transferencia de western mostró que Erk1/2 total no fue diferente entre los casos de control y los que tenían mutación (figura 3). Sin embargo, fosfo-p44/42 Erk1/2, mostró una acumulación significativa en los casos de SXF, mientras que los controles jóvenes emparejados en edad no mostraron ninguna (figura 2B). En el FXTAS, algunos casos mostraron niveles aumentados de fosfo-p44/42 Erk1/2, así como algunos de los individuos

50

55

El tratamiento con SL327 dio como resultado una ausencia de cualquier actividad convulsiva audiógena (figura 5A). Los efectos de SL327 sobre la latencia de aparición de convulsiones se muestran en la figura 5B. El análisis ANOVA descubrió un efecto del tratamiento significativo. SL327 aumentó significativamente la latencia de convulsiones en comparación con su vehículo. Dado que SL327 dio como resultado una ausencia completa de convulsiones en todos los ratones durante el ensayo, se dio una latencia de 240 s. Los efectos de SL327 sobre la tasa de supervivencia se muestran en la figura 5C. Todos los ratones que recibieron SL327 sobrevivieron. Los efectos de SL327 sobre la escala de convulsiones media se muestran en la figura 5D. Los ratones tratados con SL327 mostraron una escala de convulsiones significativamente menor que los ratones tratados con vehículo. Además de la ausencia de convulsiones (puntuación 2, 3 y 4) y paro respiratorio (puntuación 5), los ratones tratados con SL327 también mostraron una ausencia de carrera y salto a lo loco (puntuación 1). Por consiguiente, todos los ratones recibieron una puntuación de "0" durante la duración del ensayo.

Ejemplo 2

Este Ejemplo muestra las propiedades anticonvulsivas potenciales de alcohol perílico en el ensayo de convulsiones audiógenas en ratones knockout FMRI.

El compuesto de referencia MPEP, un antagonista del receptor mGluR₅, y alcohol perílico (25 y 50 mg/kg) retrasaron significativamente la aparición de convulsiones audiógenas y paro respiratorio, y atenuaron la escala de convulsiones global.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales

Se criaron ratones knockout FMRI macho en PsychoGenies y se sometieron a pruebas a los 21 días. Todos los ratones se aclimataron al entorno, se examinaron, se manipularon y se pesaron antes del inicio del estudio para asegurar una salud e idoneidad adecuadas y para minimizar el estrés no específico asociado a la manipulación. Durante el transcurso del estudio, se mantuvieron ciclos de luz/oscuridad 12/12. La temperatura ambiente se mantuvo entre 20 °C y 23 °C con una humedad relativa mantenida aproximadamente al 50 %. Se proporcionaron comida y agua *ad libitum* durante la duración del estudio. Cada ratón se asignó aleatoriamente a los grupos de tratamiento. El ensayo se realizó durante la fase de ciclo de luz de los animales.

Fármacos

Se usaron los siguientes compuestos. Todos los compuestos se administraron i.p. a un volumen de dosis de 10 ml/kg:

- Se disolvió MPEP HCl (*TRC, Lote 10B/95104*; 30 mg/kg) en una solución salina inyectable estéril y se administró 30 min antes del ensayo.
- Se disolvió alcohol perílico (*Sigma Aldrich, Lote nla*; 25 y 50 mg/kg) en aceite de soja y se administró 60 min antes del ensayo.
- No se observó ningún signo clínico ni toxicidad durante el tratamiento previo o el ensayo

Métodos: Convulsiones audiógenas

Los ratones se sometieron a pruebas a los 21 días de edad y se trataron previamente con vehículo o compuesto de ensayo 30 minutos antes del ensayo. Los ratones se pusieron individualmente en una cámara de Plexiglas y se dejó que explorasen durante 15 s, después de lo cual se expusieron a un tono de 125 dB durante 2 minutos, seguido de 1 minuto sin sonido, y después un tono adicional de 2 minutos. Los ratones se puntuaron en base a su respuesta, latencia e intensidad convulsiva:

0: sin respuesta	3: convulsiones clónico-tónicas
1. carrera y salto a lo loco	4: convulsiones tónicas
2. convulsiones clónicas	5: paro respiratorio

A los animales que no mostraron respuesta alguna se les dio puntuaciones de latencia de 240 s para los fines de análisis de datos.

Análisis estadístico

Los datos se analizaron por análisis de varianza (ANOVA) seguido de comparaciones *post-hoc* con pruebas de Fisher cuando fue apropiado. Un efecto se consideró significativo si $p < 0,05$. Los datos se presentan como la media $\pm$ error estándar de la media.

RESULTADOS

10 Latencia de convulsiones

Los efectos de MPEP y alcohol perílico sobre la latencia de aparición de convulsiones se muestran en la figura 6. El análisis ANOVA descubrió un efecto del tratamiento significativo. Un análisis *post hoc* mostró que MPEP y alcohol perílico (25 y 50 mg/kg) aumentaron la latencia de convulsiones en comparación con el vehículo respectivo.

15

Latencia del paro respiratorio

Los efectos de MPEP y alcohol perílico sobre la latencia del paro respiratorio (y posterior muerte) se muestran en la figura 7. El análisis ANOVA descubrió un efecto del tratamiento significativo. El análisis *post hoc* descubrió que MPEP y alcohol perílico (25 y 50 mg/kg) prolongaron significativamente la latencia del paro respiratorio en comparación con el vehículo respectivo. Los ratones tratados con MPEP (30 mg/kg) no mostraron dificultad respiratoria durante los ensayos y, por lo tanto, a todos se les dio una latencia de 240 s.

20 Escala de convulsiones media

25

Los efectos de MPEP y alcohol perílico sobre la escala de convulsiones media se muestran en la figura 8. El análisis ANOVA descubrió un efecto del tratamiento significativo. Un análisis *post hoc* mostró que, en comparación con el vehículo, MPEP y alcohol perílico (25 y 50 mg/kg) redujeron significativamente la escala de convulsiones.

REIVINDICACIONES

1. Compuestos inhibidores de ERK en solitario o en combinación que evitan anomalías en la conectividad neuronal; o una sal farmacéuticamente aceptable y/o uno o más estereoisómeros de los mismos; para su uso en el tratamiento de síndrome del cromosoma X frágil o trastornos del espectro autista asociados a anomalías de ERK, en los que el inhibidor de ERK se selecciona entre el grupo que consiste en 2-(2-amino-3-metoxifenil)-4H-cromen-4-ona, (2Z,3Z)-bis{amino[(2-aminofenil)sulfanil]metilideno}butanodinitrilo, 5-[(4-bromo-2-clorofenil)amino]-4-fluoro-N-(2-hidroxietoxi)-1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxamida, 2-[(2-fluoro-4-yodofenil)amino]-N-(2-hidroxietoxi)-1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-carboxamida, 2-(4-cloro-2-fluoro-anilino)-N-(2-hidroxietoxi)-1,5-dimetil-6-oxo-piridin-3-carboxamida, 2-[(2-cloro-4-yodofenil)amino]-N-(ciclopropilmetoxi)-3,4-difluorobenzamida, (3R,4R)-4-(3,4-Dimetoxibencil)-3-(4-hidroxi-3-metoxibencil)dihidrofuran-2(3H)-ona, (2Z)-3-amino-3-[(4-aminofenil)sulfanil]-2-[2-(trifluorometil)fenil]prop-2-enenitrilo, hipericina, 3-(3-amino-2H-pirazolo[3,4-c]piridazin-5-il)-2-fenil-3H-pirazolo[1,5-a]piridin-8-io, y ácido 2-cloro-4-[[2-[[[(2R)-1-hidroxi-3-metilbutan-2-il]amino]-9-(propan-2-il)-9H-purin-6-il]amino]benzoico.
2. Compuestos inhibidores de ERK para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en los que el compuesto inhibidor de ERK es un inhibidor de ERK seleccionado entre el grupo que consiste en hipericina, 3-(3-amino-2H-pirazolo[3,4-c]piridazin-5-il)-2-fenil-3H-pirazolo[1,5-a]piridin-8-io y ácido 2-cloro-4-[[2-[[[(2R)-1-hidroxi-3-metilbutan-2-il]amino]-9-(propan-2-il)-9H-purin-6-il]amino]benzoico, o uno o más estereoisómeros de los mismos.
3. Compuestos inhibidores de ERK para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 y 2, en los que el compuesto inhibidor de ERK está en forma de uno o más de sus estereoisómeros.
4. Compuestos inhibidores de ERK para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 3, en los que el compuesto inhibidor de ERK se incluye en un medicamento junto con al menos un antidepresivo, un antipsicótico, un estimulante y otros medicamentos
5. Compuestos inhibidores de ERK para su uso de acuerdo con la reivindicación 4, en los que el compuesto ERK se incluye en un medicamento junto con al menos uno de risperidona, aripiprazol, citalopram, escitalopram, sertralina, metilfenidato, atomoxetina, memantina o minociclina.
6. Compuestos inhibidores de ERK para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 5, en los que el compuesto está comprendido en un medicamento que está en una forma farmacéuticamente aceptable seleccionada entre el grupo que consiste en comprimidos, trociscos, grageas, suspensiones acuosas y oleosas, polvos y gránulos dispersables, emulsiones, cápsulas duras y blandas, jarabes y elixires.
7. Compuestos inhibidores de ERK para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 5, en los que el compuesto está comprendido en un medicamento que se formula para una liberación prolongada en un sujeto.
8. Compuestos inhibidores de ERK para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 7, en los que el trastorno del espectro autista se selecciona entre trastorno autista, síndrome de Asperger o trastorno generalizado del desarrollo no especificado.
9. Uso de compuestos inhibidores de ERK en solitario o en combinación que evitan anomalías en la conectividad neuronal; o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos; en la preparación de un medicamento para el tratamiento de síndrome del cromosoma X frágil o trastornos del espectro autista asociados a anomalías de ERK, en el que el inhibidor de ERK se selecciona entre el grupo que consiste en 2-(2-amino-3-metoxifenil)-4H-cromen-4-ona, (2Z,3Z)-bis{amino[(2-aminofenil)sulfanil]metilideno}butanodinitrilo, 5-[(4-bromo-2-clorofenil)amino]-4-fluoro-N-(2-hidroxietoxi)-1-metil-1H-bencimidazol-6-carboxamida, 2-[(2-fluoro-4-yodofenil)amino]-N-(2-hidroxietoxi)-1,5-dimetil-6-oxo-1,6-dihidropiridin-3-carboxamida, 2-(4-cloro-2-fluoro-anilino)-N-(2-hidroxietoxi)-1,5-dimetil-6-oxo-piridin-3-carboxamida, 2-[(2-cloro-4-yodofenil)amino]-N-(ciclopropilmetoxi)-3,4-difluorobenzamida, (3R,4R)-4-(3,4-Dimetoxibencil)-3-(4-hidroxi-3-metoxibencil)dihidrofuran-2(3H)-ona, (2Z)-3-amino-3-[(4-aminofenil)sulfanil]-2-[2-(trifluorometil)fenil]prop-2-enenitrilo, hipericina, 3-(3-amino-2H-pirazolo[3,4-c]piridazin-5-il)-2-fenil-3H-pirazolo[1,5-a]piridin-8-io, y ácido 2-cloro-4-[[2-[[[(2R)-1-hidroxi-3-metilbutan-2-il]amino]-9-(propan-2-il)-9H-purin-6-il]amino]benzoico.

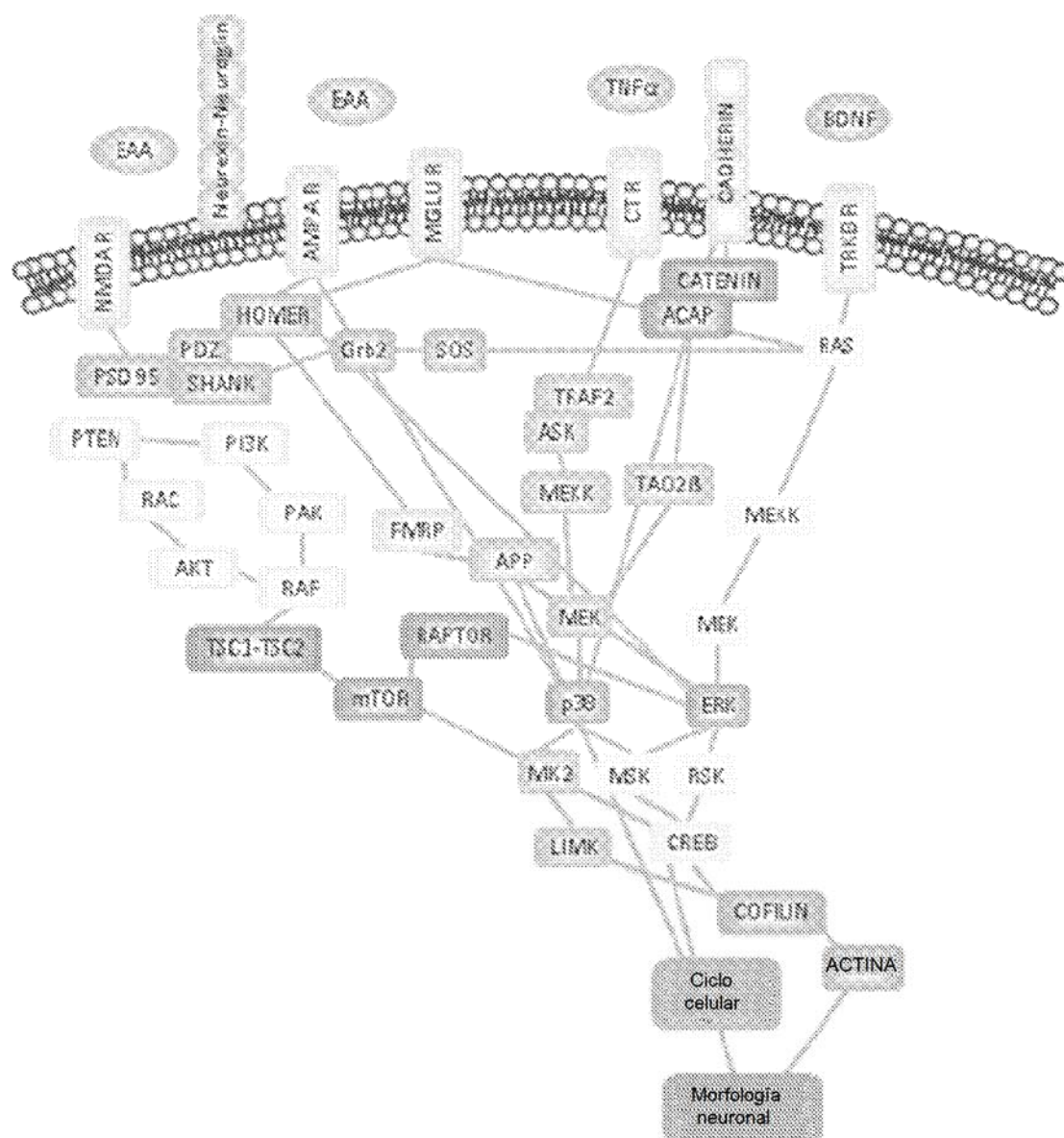
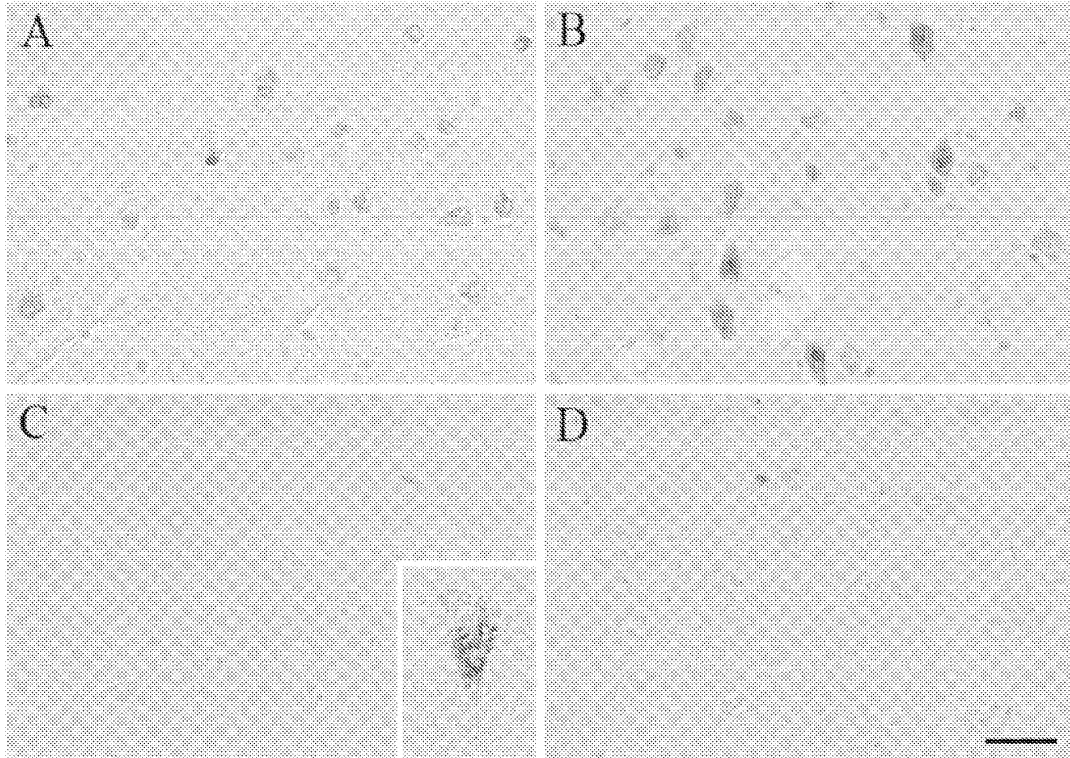
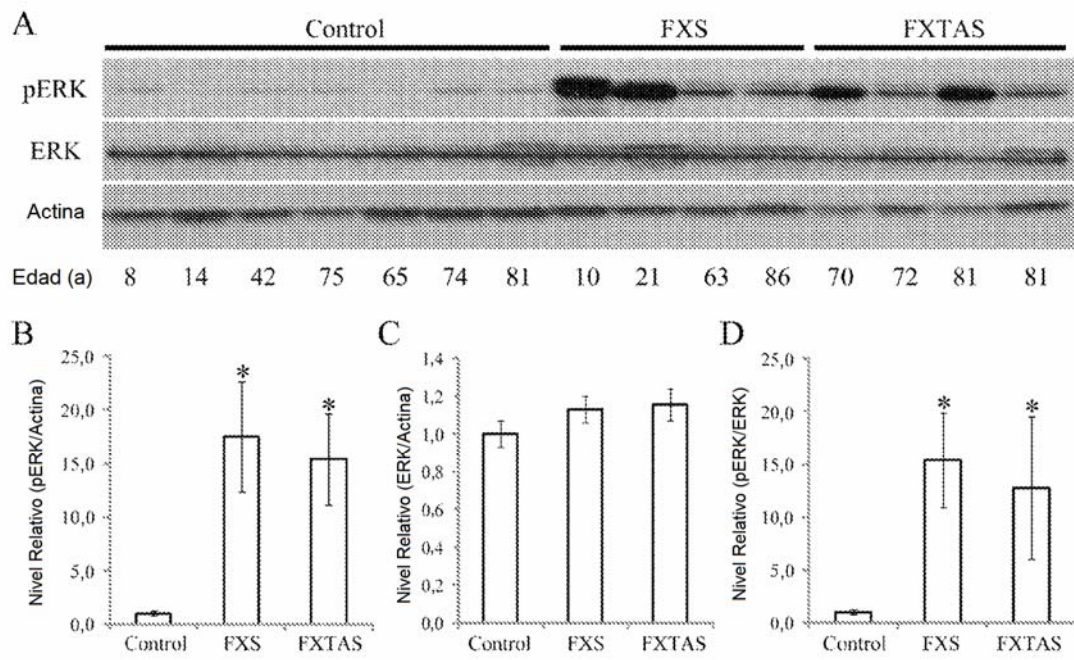


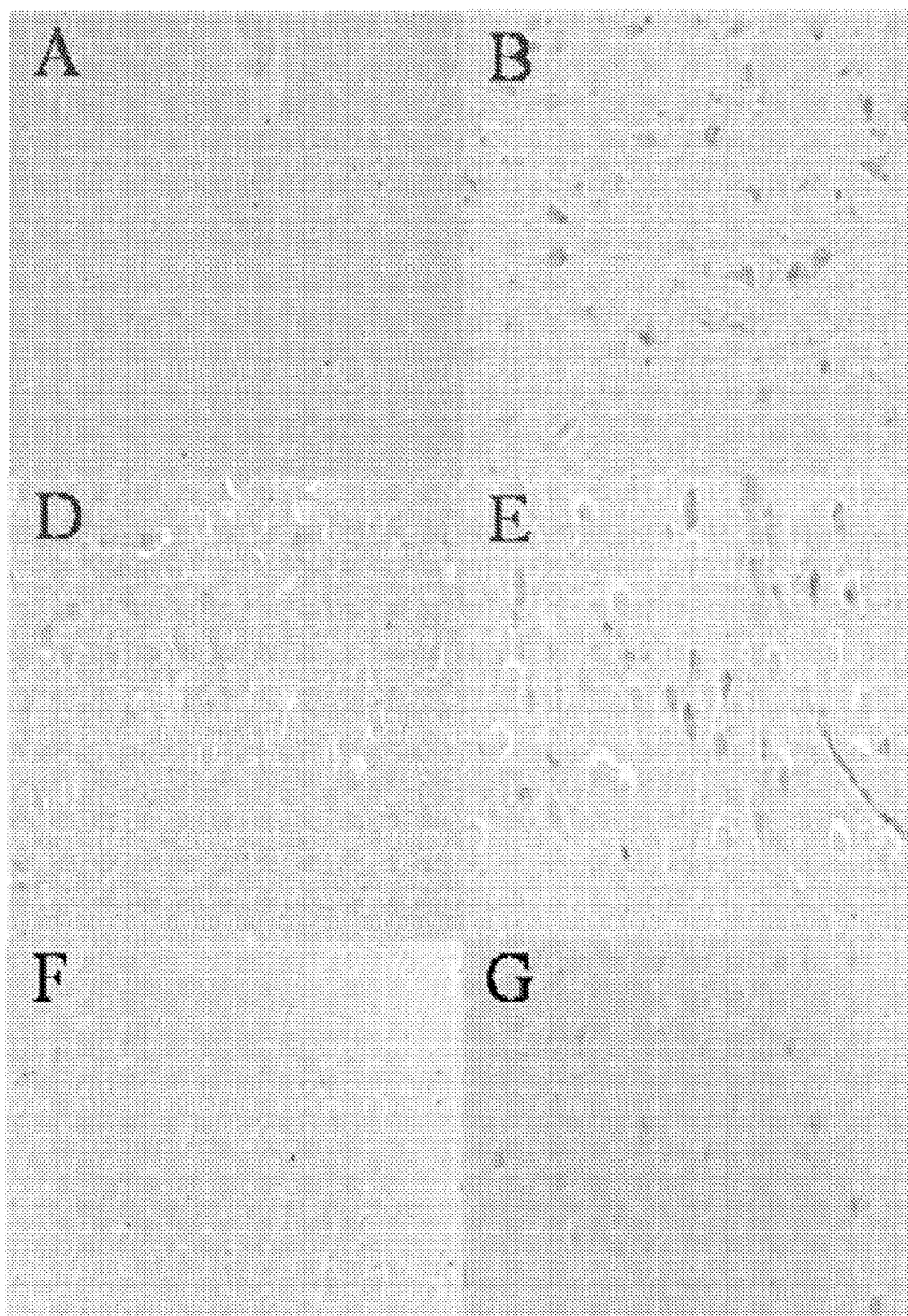
Fig. 1



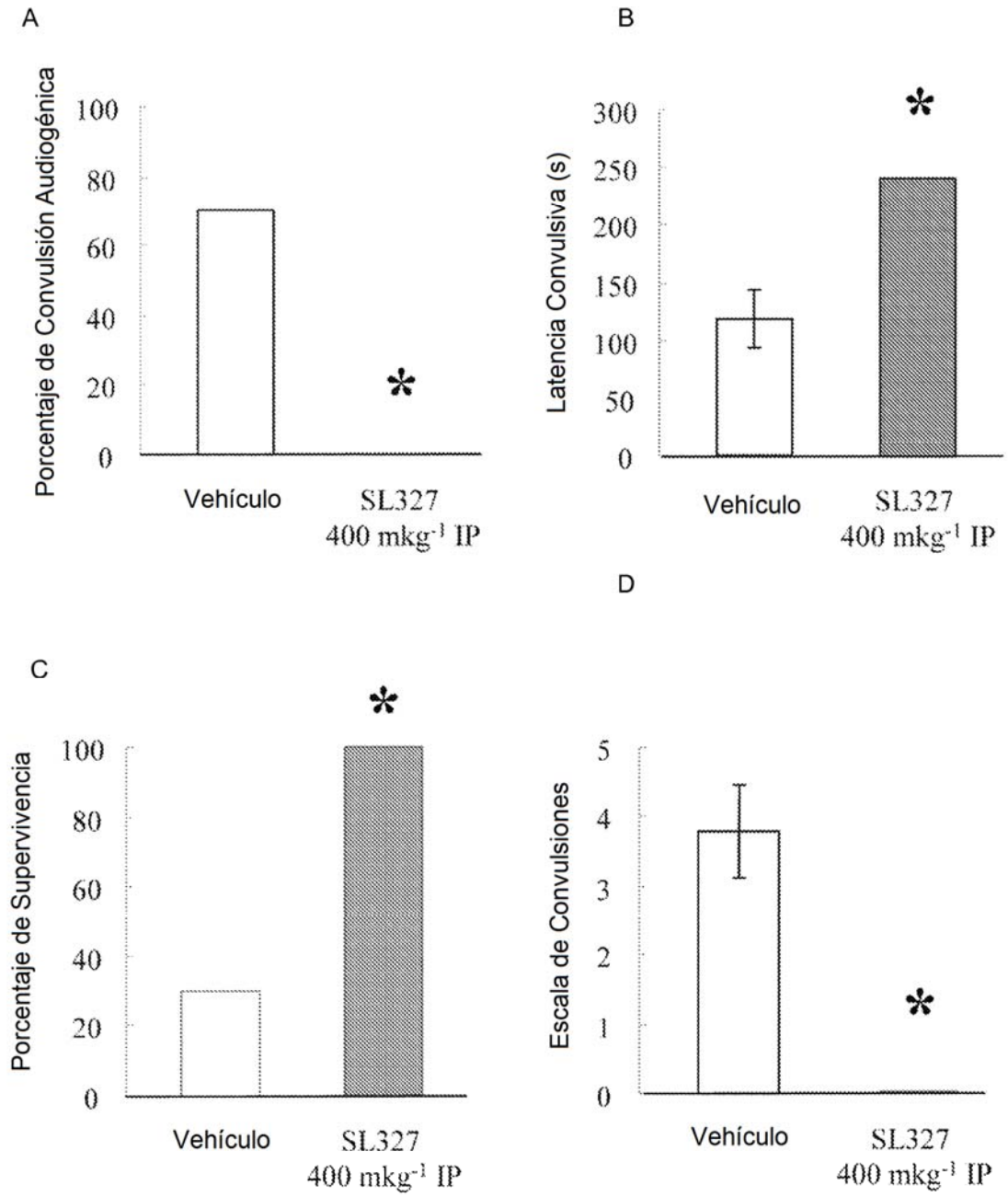
Figs. 2A-D



Figs. 3A-D



Figs. 4A-G



Figs. 5A-D

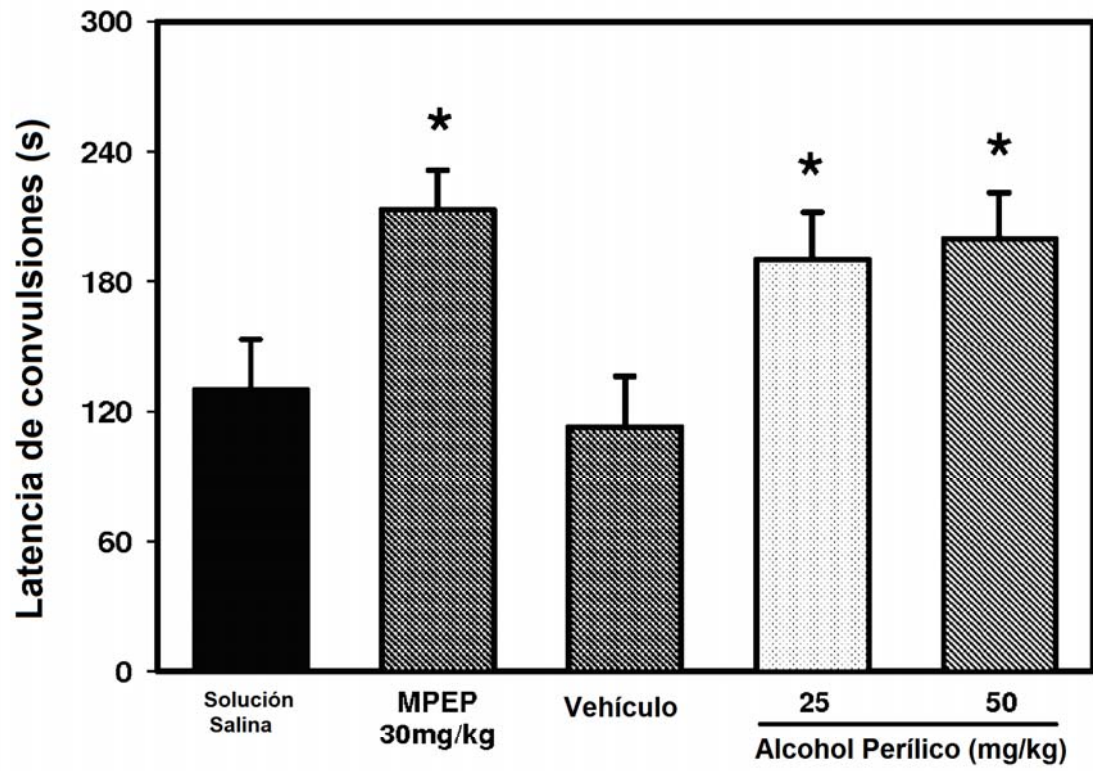


Fig. 6

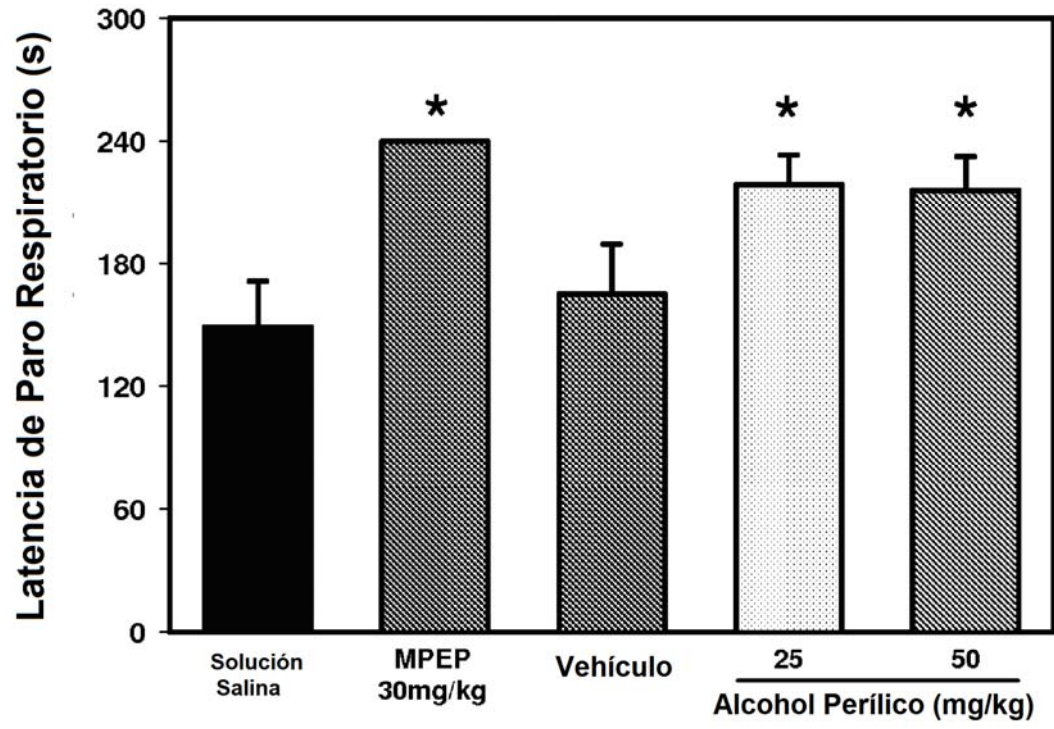


Fig. 7

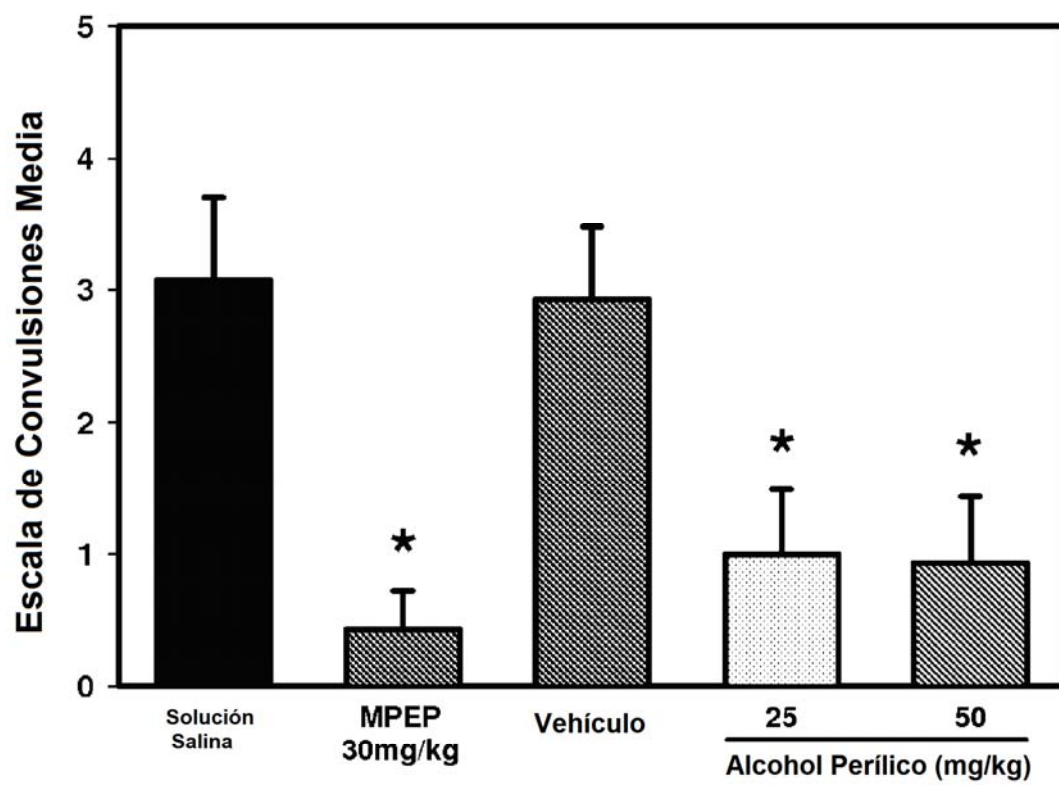


Fig. 8