

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 954 768**

51 Int. Cl.:

A61K 31/575 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

A61P 43/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.07.2020 PCT/EP2020/071044**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.02.2021 WO21018798**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.07.2020 E 20746623 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.06.2023 EP 4007580**

54 Título: **Composición que comprende derivados de esteroides para su uso en el tratamiento de una patología neuronal asociada a hipoxia, hipoglucemia y/o hiperglucemia**

30 Prioridad:

01.08.2019 BE 201905501

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

24.11.2023

73 Titular/es:

**DENDROGENIX (100.0%)
GIGA - B34 + 3, 11 Avenue de l'Hôpital
4000 Liège, BE**

72 Inventor/es:

**SILVENTE, STÉPHANE;
MARLIER, QUENTIN;
RIVES, ARNAUD y
CARON, NICOLAS**

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

ES 2 954 768 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

Composición que comprende derivados de esteroides para su uso en el tratamiento de una patología neuronal asociada a hipoxia, hipoglucemia y/o hiperglucemia

Área técnica

5 La invención se refiere al campo de las patologías neuronales asociadas a la privación de glucosa y/o de oxígeno. Más concretamente, la invención se refiere a una composición que comprende compuestos derivados de esteroides de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto, para su uso en el tratamiento y/o prevención de isquemia cerebral debida a un accidente cerebrovascular, un traumatismo craneal, una lesión cerebral, una hipoglucemia vinculada a diabetes, una hiperglucemia o un problema respiratorio debido en particular a una infección bacteriana o viral.

Antecedentes tecnológicos

La isquemia es una reducción del aporte de sangre a un órgano, por lo que la isquemia cerebral es la reducción del aporte de sangre a al menos una parte del cerebro. Por lo tanto, la isquemia provoca una interrupción del aporte de oxígeno, nutrientes como la glucosa y la eliminación de moléculas tóxicas resultantes del metabolismo anaeróbico.

15 La isquemia cerebral está implicada en los accidentes cerebrovasculares (AVC), comúnmente conocidos como "ataques cerebrales", y en los traumatismos craneoencefálicos.

Los AVC es la tercera causa de muerte después de las enfermedades cardiovasculares y el cáncer. Pero son la primera causa de discapacidad grave y la segunda de demencia en el mundo occidental. Los AVC están causados por una alteración del riego sanguíneo cerebral. Casi el 85% de los AVC son isquémicos, es decir, causados por la obstrucción de un vaso sanguíneo por un coágulo, lo que reduce el aporte de sangre a una zona del cerebro. El coágulo puede formarse localmente en una pequeña arteria o proceder del corazón o de una lesión en la pared de una de las grandes arterias cervicales. Esta obstrucción impide un aporte suficiente de oxígeno y metabolitos, como la glucosa, para satisfacer las demandas metabólicas y energéticas del sistema nervioso central, lo que provoca isquemia cerebral. Las consecuencias son tanto mayores cuanto que el cerebro es incapaz de pasar del metabolismo aeróbico al anaeróbico para producir la energía que necesita. Como resultado, algunas células cerebrales pueden morir.

Las consecuencias de de los AVC dependen de varios factores: la velocidad a la que se restablece la circulación sanguínea, la duración de la privación de oxígeno y/o metabolitos como la glucosa, y/o la localización del accidente. Dependiendo de la zona afectada, los síntomas clínicos pueden incluir parálisis de diversos grados, pérdida del habla o del lenguaje, o coma, con riesgo de secuelas incapacitantes.

Además, la insuficiencia respiratoria debida, en particular, a una infección bacteriana o vírica también puede provocar una isquemia cerebral. Por ejemplo, un AVC isquémico puede desencadenarse cuando una inflamación de los vasos sanguíneos (vasculitis) o una infección (por ejemplo, el virus del herpes simple) estrechan los vasos sanguíneos que irrigan el cerebro. También hay cada vez más pruebas de que el Covid-19, por ejemplo, tiene un impacto negativo en el sistema nervioso. Diversos estudios han mostrado una correlación entre la infección por Covid-19 y la pérdida del gusto y el olfato, la confusión, los dolores de cabeza, los mareos e incluso los AVC, la encefalopatía y la mielitis (Ling Mao et al, Neurological Manifestations of Hospitalized Patients with COVID-19 in Wuhan, china: a retrospective case series study y Neo Poyiadji et al COVID-19-associated Acute Hemorrhagic Necrotizing Encephalopathy: CT y MRI, <doi: <https://doi.org/10.1101/2020.02.22.20026500>>). El virus es capaz de penetrar en el sistema nervioso a través de las fosas nasales y el bulbo olfatorio. Los receptores de Covid-19, que se encuentran masivamente en los pulmones, también se encuentran en la barrera hematoencefálica y en las terminaciones nerviosas. Una vez en el sistema nervioso, el virus puede destruir las neuronas responsables de la respiración. La destrucción de las neuronas del sistema nervioso autónomo en la médula oblonga provoca y/o agrava la dificultad respiratoria de los pacientes. Por otra parte, también es posible que los bajos niveles de oxígeno en sangre debidos a síntomas respiratorios agudos en pacientes con Covid-19 sean a su vez responsables de trastornos neurológicos. Como las neuronas son muy sensibles a la falta de oxígeno, un descenso prolongado y pronunciado de los niveles de oxígeno en sangre dañaría las neuronas, que acabarían muriendo.

Otra causa de isquemia cerebral es el traumatismo craneoencefálico, que puede ser leve o grave, con todos los estados intermedios posibles. Su gravedad depende de si hay lesiones intracerebrales o un hematoma extracerebral, es decir, una hemorragia entre el cráneo y el cerebro. Los traumatismos craneoencefálicos pueden ir acompañados de contusiones, lesiones neuronales, edema, hemorragias intracerebrales y/o isquemia.

La isquemia cerebral es la principal amenaza para el futuro funcional y anatómico del cerebro traumatizado. Se trata de una isquemia global, difusa o multicéntrica, que afecta a la corteza cerebral del mismo modo que la anoxia o la parada cardiaca. La isquemia afecta a toda la materia gris, la parte del tejido del sistema nervioso central con mayor demanda metabólica de oxígeno y glucosa. Todas las funciones cerebrales se ven así amenazadas. La pérdida celular puede entonces ser masiva y estar marcada por una atrofia cerebral visible.

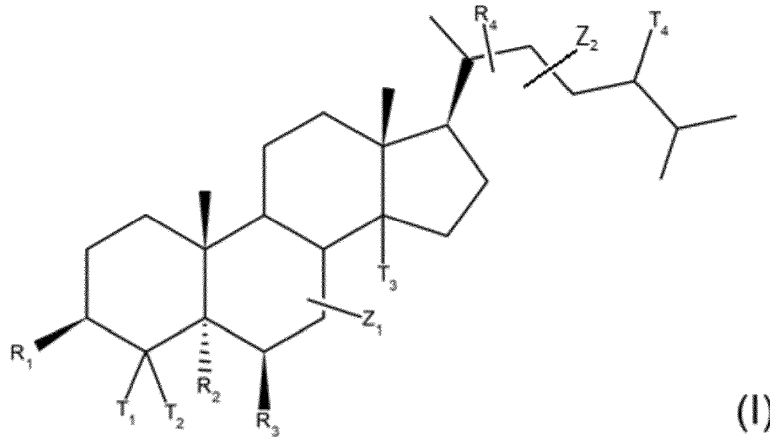
- 5 La isquemia puede adoptar otra forma más local. La microcirculación de los tejidos situados alrededor de un lugar de contusión o hemorragia se ve amenazada por la vasoconstricción, el efecto de la compresión tisular, la microtrombosis capilar o los trastornos del metabolismo celular. La producción de energía de la célula está comprometida porque su metabolismo oxidativo se ha roto. Se liberan productos tóxicos como los radicales libres. El más mínimo acontecimiento respiratorio o circulatorio puede precipitar las células por debajo del umbral de viabilidad.
- 10 Las consecuencias de un traumatismo craneal pueden ser daños físicos como paraplejía, hemiplejía, problemas en la vista, etc. También pueden ser trastornos neuropsicológicos que afectan a la memoria, la atención y la capacidad de comunicación. Por último, modifican el comportamiento y la personalidad de la persona lesionada y su vida cotidiana, así como la de sus seres queridos.
- Algunos casos de diabetes presentan hipoglucemia asociada a hipoxia, cuyas consecuencias son deletéreas para los pacientes afectados.
- 15 La hipoglucemia es la complicación clínica más común en el manejo diario de los diabéticos tratados con insulina, y sigue siendo el factor limitante en el manejo glucémico de la diabetes. La hipoglucemia grave afecta al 40% de los diabéticos tratados con insulina y puede causar daños cerebrales, sobre todo en las neuronas vulnerables del córtex y el hipocampo. Por ejemplo, los déficits de aprendizaje y memoria son una consecuencia directa de esta lesión neuronal en el hipocampo causada por la hipoglucemia grave.
- 20 Se sabe que la hiperglucemia es uno de los síntomas reveladores de la diabetes. La diabetes conduce sistemáticamente a la hiperglucemia. La hiperglucemia no relacionada con la diabetes también existe, y las causas son variadas, por ejemplo la ingestión de alimentos o bebidas que contienen azúcares o los efectos secundarios de la medicación. La hiperglucemia, vinculada o no a la diabetes, tiene efectos nocivos sobre el sistema nervioso.
- 25 Además, la combinación de diabetes e hiperglucemia agrava el daño neuronal resultante de otras formas de daño del sistema nervioso central, como los accidentes cerebrovasculares. Se han publicado varios estudios que demuestran la relación entre la hiperglucemia, la diabetes y el daño neuronal, entre ellos Yazhi Li et al. ("Autophagy impairment mediated by S-nitrosation of ATG48 leads to neurotoxicity in response to hyperglycemia", <doi: <https://doi.org/10.1080/15548627.2017.1320467>>), Ruchi Sharma et al. ("Hyperglycemia Induces Oxidative Stress and Impairs Axonal Transport Rates in Mice", publicado el 18 de octubre de 2010) y Wenjuan Zhou et al. ("TIGAR Attenuates High Glucose-Induced Neuronal Apoptosis via an Autophagy Pathway", <doi: <https://doi.org/10.3389/fnmol.2019.00193>>).
- 30 Actualmente, las técnicas desarrolladas para tratar un AVC consisten en intervenir muy rápidamente, en las 4 o 5 horas siguientes al AVC, y eliminar el coágulo químicamente mediante un activador tisular del plasminógeno recombinante, rtPA, o mecánicamente, mediante trombectomía para permitir la reperfusión. Sin embargo, estas dos formas de intervenir ante un AVC no son óptimamente eficaces y están sujetos a criterios de inclusión de pacientes bastante restrictivos.
- 35 Del documento WO2016016518A2 se conoce una composición que comprende, en un vehículo farmacéuticamente aceptable, al menos un compuesto de fórmula (I) para prevenir la pérdida de audición en un sujeto o para obtener la restauración al menos parcial de la audición en un sujeto tratado que tiene, antes del tratamiento, una función auditiva reducida.
- 40 También se conoce del documento de Zhao H-B et al. ("Ganoderma total sterol (GS) and GS1 protect rat cerebral cortical neurons from hypoxia/reoxygenation injury", <doi: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2004.08.013>>), el efecto del *Ganoderma total sterol* (GS) y sus componentes principales (GS1) en cultivos de neuronas corticales de rata expuestas a hipoxia/reoxigenación.
- 45 También se conoce del *documento* Brigitte Malgrange et al. ("Targeting Cholesterol Homeostasis to Fight Hearing Loss: A New Perspective", <doi: [10.3389/fnagi.2015.00003](https://doi.org/10.3389/fnagi.2015.00003)>), un medio de combatir la pérdida de audición actuando sobre la homeostasis del colesterol. Además, se afirma que el papel del colesterol y sus metabolitos no está claro.
- Los tres documentos mencionados no divulgan ni sugieren una composición que comprenda al menos un compuesto de fórmula (I) para su uso en el tratamiento de una patología neuronal de un sujeto, estando dicha patología neuronal relacionada con la hipoxia y/o hipoglucemia que afecta a células del sistema nervioso central.
- 50 Por lo tanto, existe la necesidad de desarrollar compuestos para el tratamiento de pacientes que han sufrido privación de oxígeno y/o glucosa, causada por ejemplo por isquemia cerebral, hipoglucemia o hipoxia, con el fin de mejorar su recuperación.

Sumario

Una idea de la invención es proporcionar composiciones preventivas y/o curativas útiles para el tratamiento de enfermedades neurológicas que afectan en particular a las neuronas del sistema nervioso central que implican hipoxia, hipoglucemia y/o hiperglucemia.

Con este fin, la invención proporciona una composición que comprende al menos un compuesto de fórmula (I):

5



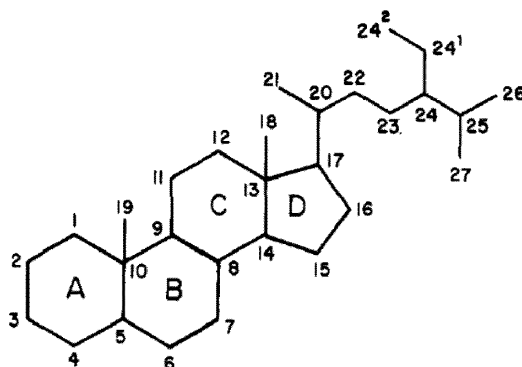
en la que

- 10 $R_1 = \text{OH, F, OC}_n\text{H}_{2n+1}, \text{R-COO, R-OCOO, RHN-COO u OPO(OR)}_2$ con $\text{R} = \text{H OC}_n\text{H}_{2n+1}$ con $n \leq 16$;
 $R_2 = \text{H u OH}$;
 $R_3 = \text{NR}_5\text{R}_6$,
 Siendo R_5 H o $-(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$, y
 tomándose R_6 del grupo formado por $-(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NHR}_7$; $-(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NHR}_7$;
 15 $-(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NHR}_7$; $-(\text{CH}_2)_3\text{NHR}_7$; $-(\text{CH}_2)_4\text{NHR}_7$ con $R_7 = \text{H o COCH}_3$; $-(\text{CH}_2)_2$ -imidazol-4-il ;
 $(\text{CH}_2)_2$ -indol-3-il ; y
 $R_4 = \text{H u OH}$ en posición 20, 22, 24, 25, 26 o 27, colocado de forma que se cree un centro asimétrico de configuración R o S ;
 Z_1 y Z_2 representan cada uno el número de dobles enlaces entre los átomos de carbono C7 y C8 y C22 y C23
 20 respectivamente (0 o 1); T_1, T_2 y $T_3 = \text{H o CH}_3$ independientemente el uno del otro; $T_4 = \text{H, CH}_3,$
 C_2H_5 posicionado de forma que se obtenga un centro asimétrico de configuración R o S en la posición 24 ;
 y/o al menos una sal farmacéuticamente aceptable de al menos un compuesto de fórmula (I),
 para su uso en el tratamiento de la patología neuronal en un sujeto, estando dicha patología neuronal
 relacionada con la hipoxia, hipoglucemia y/o hiperglucemia que afecta a las células del sistema nervioso
 central.

- 25 El compuesto de fórmula (I) y definido por : $Z_1 = Z_2 = 0$; $R_1 = R_2 = \text{OH}$; $R_4 = \text{H}$; $R_5 = \text{H}$; $R_6 = -(\text{CH}_2)_3\text{-NCOOC}(\text{CH}_3)_3$ -
 $(\text{CH}_2)_4\text{-NHCOOC}(\text{CH}_3)_3$; $T_1 = T_2 = T_3 = T_4 = \text{H}$ se denomina DX243BOC, como se muestra en la Tabla 1.

El sustituyente $\text{COOC}(\text{CH}_3)_3$ también se conoce como grupo funcional terc-butoxicarbonilo o Boc.

- 30 El compuesto de fórmula (I) pertenece al grupo de los esteroides. La numeración de los átomos de carbono del
 compuesto de fórmula (I) sigue por tanto la nomenclatura definida por la IUPAC en Pure & Appl. Chem, Vol.61,
 No.10, pp.1783-1822,1989. La numeración de los átomos de carbono de un compuesto perteneciente al grupo de
 los esteroides según la IUPAC se ilustra a continuación:



5 Los métodos para preparar el compuesto de fórmula (I) ya se han descrito previamente, en particular en DE MEDINA, P. et al. Synthesis of New Alkylaminoxysterols with Potent Cell Differentiating Activities: Identification of Leads for the Treatment of Cancer and Neurodegenerative Diseases. Journal of Medicinal Chemistry, 52(23), 2009, pp. 7765-7777.

10 Además, la composición puede poseer una o más de las siguientes características, consideradas individualmente o en combinación.

Según una realización, el compuesto de fórmula (I) se define por $Z_2 = 0$; $R_1 = R_2 = \text{OH}$; $R_4 = \text{H}$; $R_5 = \text{H}$; y $T_1 = T_2 = T_3 = T_4 = \text{H}$.

Según una realización, el compuesto de fórmula (I) se define por $Z_1 = 0$ y $R_5 = \text{H}$.

Según una realización, el compuesto de fórmula (I) se define por $R_6 = -(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NHR}_7$ con $R_7 = \text{COCH}_3$.

15 Según una realización, el compuesto de fórmula (I) se define por $R_6 = -(\text{CH}_2)_2\text{-imidazol-4-il}$.

Según una realización, el compuesto de fórmula (I) se define por $R_6 = -(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NHR}_7$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NHR}_7$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NHR}_7$; o $-(\text{CH}_2)_4\text{NHR}_7$; y $R_7 = \text{H}$.

Según una realización, el compuesto de fórmula (I) se define por $Z_1 = 1$ y $R_5 = \text{H}$.

Según una realización, el compuesto de fórmula (I) se define por :

20 $R_1 = \text{F}$, $\text{OC}_n\text{H}_{2n+1}$, R-COO , R-OCOO , RHN-COO u $\text{OPO}(\text{OR})_2$ con $\text{R} = \text{H}$ o $\text{C}_n\text{H}_{2n+1}$, con $n \leq 16$;
 $R_2 = \text{OH}$;
 $R_5 = \text{H}$;
 $R_6 = -(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NHR}_7$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NHR}_7$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NHR}_7$; $-(\text{CH}_2)_4\text{NHR}_7$;
 $Z_1 = 0$ o $Z_1 = 1$
 $Z_2 = 0$.

25 Según una realización, el compuesto de fórmula (I) se define por $R_6 = -(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NHR}_7$; $-(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NHR}_7$; o $-(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NHR}_7$; y $R_7 = \text{H}$.

30 Según una realización, el al menos un compuesto de fórmula (I) se define por $Z_1 = Z_2 = 0$; $R_1 = R_2 = \text{OH}$; $R_4 = \text{H}$; $R_5 = \text{H}$; $R_6 = (\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$; $T_1 = T_2 = T_3 = T_4 = \text{H}$. En esta realización, el compuesto se denomina DX243. Los resultados obtenidos con este compuesto son especialmente interesantes. Este compuesto tiene un efecto curativo sobre los fenómenos fisiopatológicos de hipoxia, hipoglucemia y/o hiperglucemia, incluso a concentraciones muy bajas.

35 Según una realización, el al menos un compuesto de fórmula (I) se define por $Z_1 = Z_2 = 0$; $R_1 = R_4 = \text{H}$; $R_2 = \text{OH}$; $R_5 = \text{H}$; $R_6 = (\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$; $T_1 = T_2 = T_3 = T_4 = \text{H}$. En esta realización, el compuesto se denomina DX245. Los resultados obtenidos con este compuesto son especialmente interesantes. El efecto curativo de este compuesto contra los fenómenos fisiopatológicos de hipoxia, hipoglucemia y/o hiperglucemia es mayor que el del DX243.

40 Según una realización, el al menos un compuesto de fórmula (I) se define por $Z_1 = 1$; $Z_2 = 0$; $R_1 = R_4 = \text{H}$; $R_2 = \text{OH}$; $R_5 = \text{H}$; $R_6 = (\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$; $T_1 = T_2 = T_3 = T_4 = \text{H}$. En esta realización, el compuesto se denomina DX242. Los resultados obtenidos con este compuesto son especialmente interesantes. El efecto curativo de este compuesto contra los fenómenos fisiopatológicos de hipoxia, hipoglucemia y/o hiperglucemia es mayor que el del DX243.

Según una realización, el al menos un compuesto de fórmula (I) se define por $Z_1 = 1$; $Z_2 = 0$; $R_1 = R_4 = \text{H}$; $R_2 = \text{OH}$; $R_5 = \text{H}$; $R_6 = (\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$; $T_1 = T_2 = T_3 = T_4 = \text{H}$. En esta realización, el compuesto se denomina DX244. Los

resultados obtenidos con este compuesto son especialmente interesantes. El efecto curativo de este compuesto contra los fenómenos fisiopatológicos de hipoxia, hipoglucemia y/o hiperglucemia es mayor que el del DX243.

Según una realización, la patología neuronal del sistema nervioso central pertenece al grupo de los traumatismos cerebrales y los AVC.

5 Según una realización, la patología neuronal del sistema nervioso central es una lesión cerebral debida a una isquemia.

10 Según una realización, la patología neuronal del sistema nervioso central es una lesión cerebral debida a una insuficiencia respiratoria. La insuficiencia respiratoria incluye la insuficiencia respiratoria obstructiva y la insuficiencia respiratoria restrictiva. Esta última puede estar causada por una infección bacteriana o vírica de los pulmones, por ejemplo tras una infección por un coronavirus.

En una realización, la hipoglucemia se debe a la diabetes.

Según una realización, la hiperglucemia se debe a la diabetes.

15 Según una realización, la invención también proporciona una composición para su uso en el tratamiento de una patología neuronal de un sujeto, estando dicha patología neuronal relacionada con hipoxia, hipoglucemia y/o hiperglucemia que afecta a células del sistema nervioso central, estando dicha composición en forma de una solución acuosa y teniendo una concentración de compuesto de fórmula (I) de entre 1 pmol.L^{-1} y 1 mmol.L^{-1} , preferentemente entre 10 pmol.L^{-1} y $0,1 \text{ mmol.L}^{-1}$, más preferentemente entre $0,1 \text{ nmol.L}^{-1}$ y $1 \text{ } \mu\text{mol.L}^{-1}$. Por ejemplo, la concentración del compuesto de fórmula (I) está comprendida entre 1 nmol.L^{-1} y 150 nmol.L^{-1} .

Breve descripción de las figuras

20 La invención se entenderá mejor, y otros objetivos, detalles, características y ventajas de la misma se aclararán en el curso de la siguiente descripción de varias realizaciones particulares de la invención, dadas únicamente a modo de ilustración y no de limitación, con referencia a los dibujos adjuntos.

La figura 1 muestra esquemáticamente un protocolo para estudiar la eficacia de compuestos de fórmula (I), en particular DX243, en un modelo in vitro de isquemia.

25 La figura 2 muestra los resultados de un ensayo inmunocitoquímico para evaluar la supervivencia neuronal en un modelo in vitro de isquemia/reperfusión en presencia de DX243.

La figura 3 muestra los resultados de un ensayo MTT de supervivencia neuronal en un modelo in vitro de isquemia/reperfusión en presencia de DX243.

30 La figura 4 ilustra los resultados de un ensayo con azul de tripano para evaluar la supervivencia neuronal en un modelo in vitro de isquemia/reperfusión en presencia de DX243.

La figura 5 muestra los resultados de un ensayo de supervivencia neuronal con azul de tripano en un modelo de isquemia/reperfusión in vitro en presencia de compuestos de fórmula (I) de la tabla 1, distintos de DX243.

La figura 6 muestra los resultados de un ensayo MTT de supervivencia neuronal en un modelo in vitro de isquemia/reperfusión en presencia de los compuestos de la tabla 1.

35 La figura 7 muestra los resultados de un segundo ensayo de supervivencia neuronal con azul de tripano en un modelo de isquemia/reperfusión in vitro en presencia de los compuestos de fórmula (I) de la tabla 1.

La figura 8 muestra los resultados de un ensayo de AVC in vivo en ratones para evaluar la supervivencia neuronal tras un AVC seguido de reperfusión con tratamiento con DX243.

40 La figura 9 es un conjunto de gráficos que ilustran los resultados del ensayo de AVC in vivo en ratones para evaluar la supervivencia neuronal tras un AVC seguido de reperfusión con tratamiento con DX243.

En las figuras 2 a 4, 6 y 7, las estrellas indican la potencia estadística de los resultados. Una estrella indica que hay un 95% de certeza de que los resultados no se deben al azar. La presencia de 2 estrellas significa que hay un 99% de certeza de que los resultados no se deben al azar, y la presencia de 3 estrellas significa que hay un 99,9% de certeza de que los resultados no se deben al azar.

45

Descripción de realizaciones

A continuación se describen varios protocolos experimentales que demuestran el efecto protector de los compuestos de fórmula (I) indicados en la Tabla 1, incluido el compuesto DX243, contra la hipoxia y la hipoglucemia.

Las concentraciones o molaridades de los compuestos se expresan en moles por litro, cuyo símbolo es mol.L⁻¹ o M.

Ejemplo 1: obtención de neuronas corticales

Con referencia a la Figura 1, la primera etapa del protocolo para estudiar el efecto neuroprotector de los compuestos de fórmula (I), en particular los indicados en la Tabla 1, consiste en obtener un cultivo primario de neuronas corticales a partir de células tomadas del cerebro de embriones de ratón de tipo salvaje colocados en condiciones de cultivo adecuadas (etapa 1). En concreto, las células recolectadas se cultivan en medio Neurobasal™ (Ref. 21103049 ThermoFisher Scientific) a la que se añaden L-Glutamina y suplemento B27 50X (Ref. 17504044 ThermoFisher Scientific) (etapa 2). A continuación, se aíslan y purifican las neuronas del cultivo primario. Cabe señalar que son las propias condiciones de cultivo las que permiten obtener un cultivo purificado de neuronas a partir de la disociación de cortezas embrionarias. A continuación, se realiza la privación de oxígeno y glucosa (DOG) (etapa 3) en estas neuronas para imitar lo más fielmente posible lo que ocurre in vivo durante un accidente cerebrovascular, es decir, una reducción del aporte de oxígeno y glucosa debido a una reducción de la perfusión sanguínea a las células. Para lograr esta privación de oxígeno y glucosa que imita la isquemia, las neuronas se colocaron durante 4 horas en una incubadora con un contenido de oxígeno de alrededor del 1%, sustituyendo el medio de cultivo por un medio sin glucosa (etapa 3). Como el modelo de isquemia es un modelo de isquemia/reperfusión, las neuronas se colocan en un medio que contiene glucosa en condiciones de normoxia durante 24 horas (reperfusión) (etapa 4) tras la etapa de isquemia. El grupo A de neuronas es un grupo de neuronas que han sido tratadas con una solución de compuesto de fórmula (I) durante la DOG y la reperfusión, es decir, se añade una molécula de la tabla 1 al medio sin glucosa en cuanto comienza la privación de glucosa y oxígeno (etapa 3). La concentración del compuesto de fórmula (I) denominado DX243 está comprendida entre 1 nmol.L⁻¹ y 1 pmol.L⁻¹ en el medio sin glucosa. La concentración de las demás moléculas de la Tabla 1 es de 100 nmol.L⁻¹ en el medio sin glucosa. El grupo B de neuronas es un grupo de neuronas que han sido tratadas con la solución DX243 sólo durante la reperfusión (etapa 4), para aproximarse a lo que ocurre clínicamente, es decir, el tratamiento sólo es posible después de varias horas con el tratamiento convencional. La solución DX243 se añade al medio sin glucosa en cuanto comienza la reperfusión (etapa 4). La concentración de DX243 se situó entre 1 nmol.L⁻¹ y 1 pmol.L⁻¹ en el medio sin glucosa.

El control negativo consiste en un grupo de neuronas sometidas a DOG (etapa 3) seguido de reperfusión (etapa 4) sin DX243 presente. Este grupo de neuronas se denomina "Ctrl" en las figuras 2 a 4. El control normal consiste en un grupo de neuronas del cultivo primario colocadas en condiciones de normoxia durante 28 horas. El control normal se denomina "normox" en las figuras 2 a 4. El control positivo consiste en un grupo de neuronas del cultivo primario que han sido sometidas a DOG durante 4 horas (etapa 3) en presencia de roscovitina, un inhibidor del ciclo celular, lo que da lugar a una protección neuronal, seguida de una reperfusión durante 24 horas (etapa 4). El control positivo se denomina "ROSCO" en las figuras 2 a 4.

Al final de la reperfusión (etapa 4), 24 h después de la DOG, se evalúa la supervivencia de las neuronas mediante tres ensayos diferentes: un ensayo inmunocitoquímico 5, un ensayo MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolio) 6 y un ensayo basado en la integridad de la membrana celular utilizando azul de triptano 7. A continuación, los resultados se comparan con los de las tres pruebas de supervivencia de los grupos de control.

Ejemplo 2: Prueba inmunocitoquímica de supervivencia neuronal en el caso de uso de DX243

La Figura 2 muestra los resultados de la primera prueba de supervivencia neuronal utilizando DX243. Los gráficos A y C muestran los resultados obtenidos para el grupo A. La ordenada representa la proporción de células vivas en comparación con el grupo Normox. Los gráficos B y D muestran los resultados obtenidos para el grupo B. La ordenada representa la proporción de células sometidas a apoptosis en comparación con el grupo Normox. Esta primera prueba es una prueba inmunocitoquímica que identifica las células vivas y células muertas.

Se produce una primera serie de imágenes utilizando etiquetado químico de fluorescencia. Este marcaje se realiza con DAPI (4',6-diamidino-2-fenilindol), que se une fuertemente a las bases adenina (A) y timina (T) del ADN. Detecta células vivas. Se tomó una segunda serie de imágenes con marcaje fluorescente utilizando el anticuerpo CC3. El anticuerpo CC3 se utiliza para detectar la caspasa 3 activada y, por tanto, las células en estado de apoptosis.

Para visualizar la proporción de neuronas sanas entre las diferentes condiciones de cultivo, se utiliza el anticuerpo TUJ1. La TUJ1 reacciona con la beta-tubulina III, una proteína estructural que constituye la tubulina y es específica de las neuronas. La beta-tubulina III se utiliza ampliamente como marcador para distinguir las neuronas de otros tipos de células.

A partir de estas imágenes, se calculó la proporción de células vivas (supervivencia celular) determinando la relación entre el número de células vivas y el número total de células. La proporción de células sometidas a apoptosis se calculó mediante la relación entre el número de células detectadas por el anticuerpo CC3 y el número total de células. Los valores obtenidos se compararon con los obtenidos por el grupo normox.

Observamos que DOG induce una disminución de la proporción de células vivas en el grupo Ctrl en los gráficos A y B de la figura 2, y un aumento de la proporción de células que sufren apoptosis en el grupo Ctrl en los gráficos C y D de la figura 2. Sin embargo, tanto el tratamiento con DX243 durante la DOG y la reperfusión como el tratamiento con

DX243 sólo durante la reperusión protegieron parcialmente contra la muerte neuronal. De hecho, observamos un aumento de la proporción de células vivas y una disminución de la proporción de células sometidas a apoptosis tras el tratamiento con DX243 en comparación con el grupo Ctrl. Una concentración de DX243 de entre 1 nmol.L⁻¹ y 100 nmol.L⁻¹ corresponde a un rango de concentración ideal para maximizar los efectos neuroprotectores.

- 5 Además, parece que el tratamiento post-DOG durante 24 horas con DX243 es aún más eficaz en la protección de las neuronas.

Ejemplo 3: Prueba MTT de evaluación de la supervivencia neuronal en el caso de uso de DX243

10 Para confirmar los resultados obtenidos con DX243, se realizó una prueba basada en la actividad metabólica de las neuronas para evaluar la supervivencia neuronal de otra manera. Esta prueba se basa en el uso de la sal de tetrazolio MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolio). En las células vivas activas, la succinato deshidrogenasa mitocondrial reduce el tetrazolio a formazán, un precipitado de color violeta. La cantidad de precipitado formado es proporcional al número de células vivas, pero también a la actividad metabólica de cada célula. Una simple medición espectroscópica de la densidad óptica a 550 nm puede utilizarse para determinar la cantidad relativa de células vivas y metabólicamente activas. Dado que cuanto mayor es el número de células vivas, mayor es la intensidad colorimétrica, se cuantificó la intensidad colorimétrica y se relacionó con la intensidad observada en condiciones de normoxia. Los resultados obtenidos se muestran en el gráfico A de la figura 3 para el grupo A y en el gráfico B de la figura 3 para el grupo B.

15 Los gráficos A y B de la figura 3 muestran que DOG causa una marcada reducción en el número de células metabólicamente activas en el grupo Ctrl. En cambio, el tratamiento de las neuronas con DX243 protege parcialmente contra esta reducción de la supervivencia tras la DOG. Este efecto fue aún más marcado para el grupo de neuronas tratadas con DX243 que durante la reperusión de 24 horas, como se muestra en el gráfico B de la figura 3. En ambos gráficos, un tratamiento con una concentración de DX243 de entre 10 nmol.L⁻¹ y 100 nmol.L⁻¹ parece ser el más eficaz.

Ejemplo 4: Prueba para evaluar la supervivencia neuronal utilizando azul de tripano en el caso de uso de DX243

25 Se realizó una tercera prueba de supervivencia celular con DX243, basada en la integridad de la membrana celular, que se interrumpe en las células muertas. Esta prueba utiliza azul de tripano, que tiñe de azul las células muertas. A continuación, se calculó el porcentaje de células vivas contando la proporción de células azules y no azules, y relacionándolo con el porcentaje de células vivas observado en el grupo normox. Los resultados obtenidos se muestran en el gráfico A de la figura 4 para el grupo A y en el gráfico B de la figura 4 para el grupo B.

30 Se puede observar que el DOG induce una reducción significativa del número de células que han conservado la integridad de su membrana, tanto en el gráfico A de la figura 4 como en el gráfico B de la figura 4. El tratamiento de las neuronas con DX243 restauró el porcentaje de células vivas a niveles cercanos a los observados en el grupo normox, principalmente con concentraciones entre 1 nmol.L⁻¹ y 100 nmol.L⁻¹.

35 Por lo tanto, DX243 es eficaz a concentraciones comprendidas entre 1 nmol.L⁻¹ y 1 µmol.L⁻¹. Para concentraciones de DX243 entre 10 nmol.L⁻¹ y 100 nmol.L⁻¹, los resultados son más estables y el efecto protector de DX243 es estadísticamente más significativo. Esto puede explicarse por la fragilidad de los cultivos primarios fuera de su entorno natural.

Ejemplo 5: Prueba de evaluación de la supervivencia neuronal mediante azul de tripano en el caso de uso de las moléculas de la tabla I

40 Para todas las moléculas de la Tabla I distintas de DX243 utilizadas en el grupo A, se llevó a cabo la tercera prueba de supervivencia celular. Los resultados obtenidos se han representado en la figura 5, incluidos los obtenidos con el DX243. NT significa sin tratar. La barra no rayada NT corresponde a un grupo de neuronas del cultivo primario colocadas en condiciones de normoxia durante 28h. Las barras sombreadas representan grupos de neuronas procedentes de cultivos primarios que han sido sometidas a DOG y reperusión sin moléculas de la tabla 1 (barra sombreada etiquetada NT) o en presencia de una molécula de la tabla 1. El porcentaje de células vivas se calculó contando la proporción de células azules y no azules, y se comparó con el porcentaje de células vivas observado en el grupo NT en condiciones de normoxia, es decir, el grupo NT que no había sido sometido a DOG (no mostrado).

50 Para todos los compuestos probados, con la excepción de DX243BOC, la tasa de supervivencia de los grupos de neuronas fue superior a la de los grupos de neuronas NT que habían sufrido DOG y reperusión (barra sombreada NT), por lo que tuvieron un efecto neuroprotector. En particular, DX245, DX244 y DX242 tienen una tasa de supervivencia más elevada que DX243.

55 La tasa de supervivencia del grupo tratado con DX243BOC fue inferior a la del grupo tratado con DX243 y a la del grupo NT sometido a DOG y reperusión, lo que demuestra la importancia del grupo_{R3} en la actividad del compuesto de fórmula (I).

Ejemplo 6: Prueba MTT de evaluación de la supervivencia neuronal en el caso de uso de moléculas de la tabla I

En el gráfico de la figura 6, se ha realizado una prueba similar al gráfico de la tabla A de la figura 3. En otras palabras, una prueba MTT para evaluar el efecto neuroprotector de las moléculas tras someterse a un tratamiento de 4 horas de DOG seguido de 24 horas de reperusión. El ensayo también se basa en el protocolo de obtención de neuronas corticales del ejemplo 1 descrito anteriormente. A diferencia del ejemplo de la figura 3 A, el control positivo de Roscovitina se sustituyó por un control positivo de Dizocilpina (MK801). Este control positivo también consiste en un grupo de neuronas del cultivo primario que han sido sometidas a DOG durante 4 horas en presencia de Dizocilpina, seguido de reperusión durante 24 horas. El control positivo se denomina "MK801" en las figuras 6 y 7. Las ordenadas de las Figuras 6 y 7 muestran el porcentaje de células vivas tratadas en comparación con las células vivas en condición de normoxia, no mostrado en el gráfico porque es igual al 100%. El MK801 es un antagonista no competitivo del receptor de N-metil-D-aspartato (NMDA) y se sabe que tiene un efecto neuroprotector. Se probaron todos los compuestos de la Tabla 1. La Figura 6 muestra una protección neuronal significativa con el tratamiento de 100nM de DX243 y DX245. Se observó un efecto neuroprotector con esta prueba para DX101, DX242, DX244, DX301, DX302, DX401 y DX249.

Para todos los compuestos probados en este ejemplo, la tasa de supervivencia de los grupos de neuronas es superior a la de los grupos de neuronas NT, por lo que tienen un efecto neuroprotector.

Ejemplo 7: Prueba de evaluación de la supervivencia neuronal mediante azul de tripano en caso de uso de moléculas de la Tabla I

Se llevó a cabo una nueva prueba de supervivencia celular para los diversos compuestos de la Tabla 1 y los resultados se muestran en la Figura 7. Esta prueba es similar a la realizada en la figura 4. Se basa en la integridad de las membranas celulares, que se descompone en las células muertas. Esta prueba utiliza azul de tripano, que tiñe de azul las células muertas. Se realiza de forma similar al ensayo de la figura 4 A, es decir, basándose en el protocolo de obtención de neuronas corticales del ejemplo 1 expuesto anteriormente. A diferencia del ejemplo de la figura 4 A, el control positivo de Roscovitina se sustituyó por el control positivo de Dizocilpina (MK801). El objetivo de este ensayo es evaluar el efecto neuroprotector de las moléculas tras someterlas a un tratamiento de 4 horas de DOG seguido de 24 horas de reperusión, es decir, un total de 28 horas de experimentos. Todos los compuestos de la Tabla 1 se probaron varias veces. Además, se probaron DX243 y DX245 en las diferentes cantidades que se muestran en la figura 7.

En este experimento, se observó una protección neuronal significativa con el tratamiento con 100 nM DX245 y para concentraciones que iban de 1 a 100 nM DX243. También se observó un efecto neuroprotector con esta prueba para 10 nM DX245, 1000 nM DX245, 1000 nM DX243, DX242 y 244.

Por lo tanto, se espera que, en una solución acuosa farmacéuticamente aceptable que comprenda el compuesto de fórmula (I), sea eficaz una concentración del compuesto de fórmula (I) de entre 1 pmol.L⁻¹ y 1 mmol.L⁻¹, preferiblemente entre 10 pmol.L⁻¹ y 0,1 mmol.L⁻¹, más preferiblemente entre 0,1 nmol.L⁻¹ y 1 pmol.L⁻¹.

Ejemplo 8: Estudio del efecto neuroprotector in vivo en un modelo murino

Se realizó un estudio in vivo para demostrar el efecto neuroprotector de la molécula DX243 en un modelo murino macho de aproximadamente 20,5 gramos (g) a 22g de AVC denominado *Oclusión de la Arteria Cerebral Media* (MCAO), que se muestra en la figura 8. Este modelo in vivo, utilizado clásicamente para estudiar el efecto de las moléculas en el AVC, consiste en colocar un catéter en el córtex cingulado anterior (CCA), insertar un filamento en la arteria carótida común (CCA-common carotid artery) y empujar el filamento a través de la arteria carótida común, pasando por la arteria carótida interna (ICA) hasta la arteria cerebral media (MCA), lo que provoca una reducción significativa (>80%) del flujo sanguíneo en el territorio cerebral 8 irrigado por esta arteria (Estelle ROUSSELET et al, Modelo murino de MCAO intraluminal: Evaluación del infarto cerebral mediante tinción con violeta de cresilo, Journal of Visualized Experiments y Carl Zeiss). Después de 1 hora, se retira el filamento para permitir la reperusión y añadir el tratamiento DX243. El DX243 inyectado se diluye en una solución acuosa y se concentra a 50mg/Kg.

Las consecuencias se observan 24 horas después de la inserción del filamento hasta el nivel de la arteria cerebral media, ya sean tisulares (cloruro de trifeniltetrazolio (TTC) que marca en rojo el tejido vivo) o comportamentales (neuroscore). La neuroscore es una evaluación de los déficits neurológicos en ratones que permite evaluar el éxito de la MCAO. La escala utilizada tiene 5 puntos:

0: estado normal

1: leve comportamiento en círculos con o sin rotación incoherente cuando se le agarra por la cola, <50% de intentos de rotación hacia el lado contralateral.

2: cerclaje ligero y constante, >50% de intentos de rotación hacia el lado contralateral.

3: Realiza círculos regulares, fuertes e inmediatos, el ratón mantiene una posición de rotación durante más de 1 a 2 segundos, su nariz casi alcanza su cola.

- 4: rotación severa que progresa en forma de tonel, pérdida de la marcha o del reflejo de giro a la derecha.
- 5: en coma o moribundo.

Los resultados in vivo del efecto neuroprotector de DX243 se muestran en las Figuras 8 y 9. La figura 8 (A) muestra dos imágenes teñidas con TTC que muestran la zona de tejido muerto en blanco y representan la disminución de la zona infartada en los ratones tratados con DX243. El gráfico B de la figura 9 muestra la reducción del porcentaje de área infartada entre los ratones tratados y los no tratados (Ctrl). La ordenada muestra el porcentaje de área infartada en relación con el tamaño total del cerebro del ratón. El gráfico C muestra la mejora del comportamiento (neuroscore) en los ratones tratados. El gráfico D muestra la reducción del porcentaje de ratones muertos en los ratones tratados con DX243. Los gráficos E y F muestran la desaparición de la correlación entre la reducción del flujo sanguíneo y las consecuencias histológicas y conductuales tras el tratamiento con DX 243. La reducción del flujo sanguíneo se midió mediante *Laser Doppler Flowmetry* (LDF). La figura 9 mostraba que el tratamiento con DX243 mejoraba las consecuencias de un AVC en ratones en 24 horas. En el grupo de ratones tratados con DX243, el gráfico D muestra una reducción del porcentaje de ratones muertos. También se muestra en el gráfico B una reducción del tamaño de la lesión (zona infartada) y en el gráfico C una reducción de los déficits de comportamiento (neuroscore) en ratones vivos. Además, el Doppler láser, cuyos resultados se muestran en los gráficos E y F, mostró que cuanto mayor era la reducción del flujo sanguíneo, mayores eran los déficits. Sin embargo, en los ratones tratados ya no parecía haber correlación entre la reducción del flujo sanguíneo y las consecuencias del AVC. Estos resultados in vivo demuestran el efecto neuroprotector observado de las moléculas según la invención.

En conjunto, estos resultados indican que los compuestos DX101, DX243, DX242, DX245, DX244, DX249, DX301, DX302 y DX401 de la Tabla 1 tienen un efecto neuroprotector contra la isquemia cerebral y, por tanto, contra las patologías neuronales ligadas a la hipoxia, la hipoglucemia y/o la hiperglucemia, como los traumatismos cerebrales y los AVC.

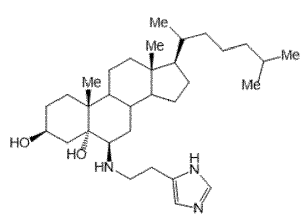
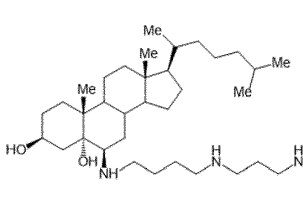
Aunque los experimentos se llevaron a cabo con diez compuestos diferentes de fórmula (I), es evidente que se esperan resultados similares para compuestos de fórmula (I) distintos de los de la Tabla 1.

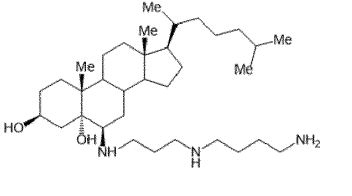
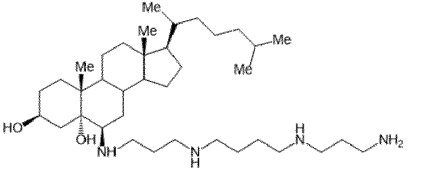
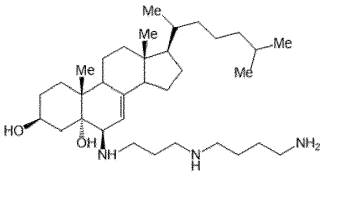
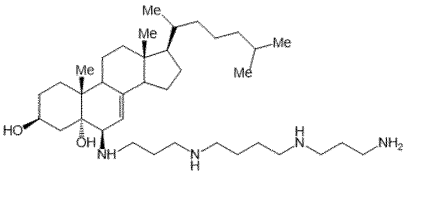
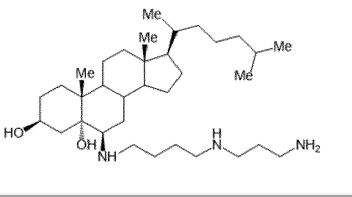
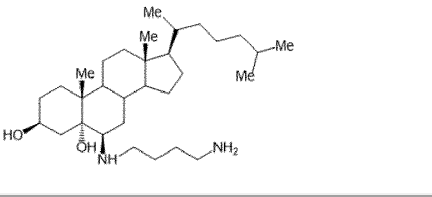
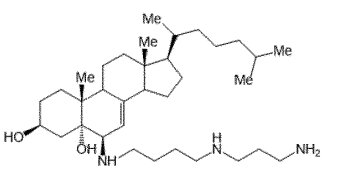
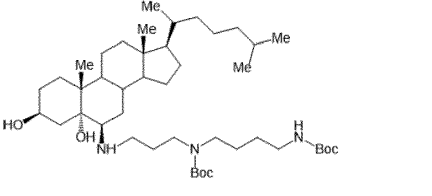
Además, en el contexto de hipoxia sola o hipoglucemia sola, se observa un componente de muerte neuronal apoptótica, como se describe en KATO, et al. ("Recurrent short-term hypoglycemia and hyperglycemia induce apoptosis and oxidative stress via the ER stress response in immortalized adult mouse Schwann (INMS32) cells". *Neuroscience Research*, 13 de noviembre de 2018, recuperado de <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168010218304371?via=ihub>> <doi: <https://doi.org/10.1016/j.neures.2018.11.004>>), en Sandoel, A., et al. ("Muerte celular apoptótica en condiciones de hipoxia". *Fisiología*, 29, pp.168-176, 2014), o en Xu, Y., et al. ("Protective effect of lithium chloride against hypoglycemia-induced apoptosis in neuronal PC12 cell". *Neuroscience*, 330, 25 de agosto de 2016, pp.100-108). Así pues, los resultados observados anteriormente en el modelo de isquemia/reperfusión muestran la protección de los compuestos de fórmula (I) frente a este componente apoptótico. Además, la hipoglucemia es capaz de inducir estrés oxidativo en las células neuronales, un estrés oxidativo presente en el contexto de la privación de oxígeno y glucosa y que es un componente principal en la inducción de la muerte neuronal. Por consiguiente, existen mecanismos comunes que inducen la muerte neuronal en el contexto de la muerte neuronal inducida por hipoglucemia e hipoxia, por hipoglucemia sola y por hipoxia sola, como la apoptosis. En conclusión, el efecto neuroprotector de los compuestos de fórmula (I) según la invención se extiende a los casos de hipoxia sola o de hipoglucemia sola.

El uso del verbo "contener", "comprender" o "incluir" y sus formas conjugadas no excluye la presencia de elementos o etapas distintos de los establecidos en una reivindicación.

En las reivindicaciones, cualquier signo de referencia entre paréntesis no debe interpretarse como una limitación de la reivindicación.

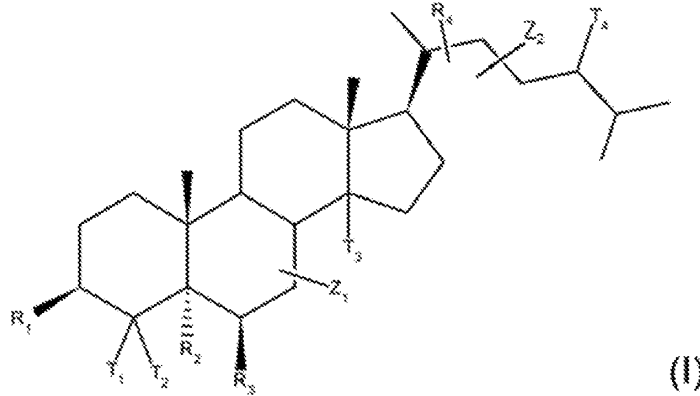
45 Tabla 1:

Nombre	Estructura	Nombre	Estructura
DX101		DX249	
DX243		DX301	

Nombre	Estructura	Nombre	Estructura
			
DX242		DX302	
DX245		DX401	
DX244		DX243BOC	

REIVINDICACIONES

1. Composición que comprende al menos un compuesto de fórmula (I):



5

en la que

10

$R_1 = OH;$

$R_2 = OH ;$

$R_3 = -NR_5R_6,$
siendo R_5 H, y

R_6 se toma del grupo formado por $-(CH_2)_3NH(CH_2)_4NHR_7 ; -(CH_2)_4NH(CH_2)_3NHR_7 ; -(CH_2)_3NH(CH_2)_4NH(CH_2)_3NHR_7 ; -(CH_2)_3NHR_7 ; -(CH_2)_4NHR_7$ donde $R_7 = H$ o $COCH_3 ; -(CH_2)_2$ -imidazol-4-il; y $-(CH_2)_2$ -imidazol-3-il; y

15

$R_4 = H$ en posición 20, 22, 24, 25, 26 o 27, colocado de forma que se crea un centro asimétrico de configuración R o S;

20

Z_1 y Z_2 representan cada uno el número de dobles enlaces entre los átomos de carbono C7 y C8 y C22 y C23 respectivamente; Z_1 es o bien 0 o bien 1; $Z_2 = 0$; $T_1 = T_2 = T_3 = T_4 = H$, colocándose T_4 de forma que se obtiene un centro asimétrico de configuración R o S en la posición 24 ;

y/o al menos una sal farmacéuticamente aceptable de al menos un compuesto de fórmula (I),

para su uso en el tratamiento de una patología neuronal en un sujeto, estando dicha patología neuronal relacionada con hipoxia, hipoglucemia y/o hiperglucemia que afecta a las células del sistema nervioso central.

2. Composición para su uso según la reivindicación 1, en la que el compuesto de fórmula (I) está definido por $Z_1 = 0$.

25

3. Composición para su uso según la reivindicación 2, en la que el compuesto de fórmula (I) está definido por $R_6 = -(CH_2)_4NH(CH_2)_3NHR_7$ con $R_7 = COCH_3$.

4. Composición para su uso según la reivindicación 2, en la que el compuesto de fórmula (I) está definido por $R_6 = -(CH_2)_2$ -imidazol-4-il.

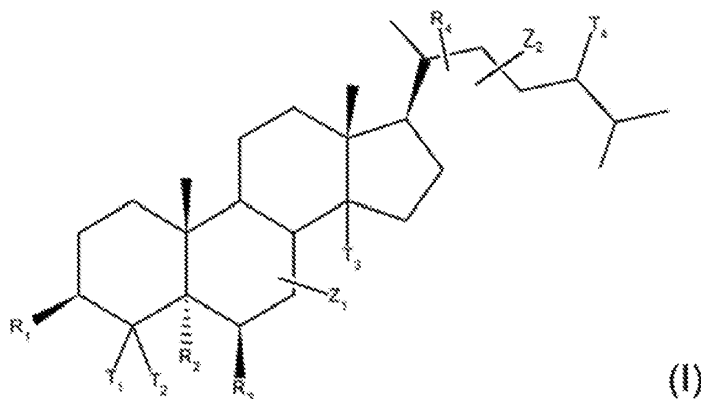
5. Composición para su uso según la reivindicación 2, en la que el compuesto de fórmula (I) está definido por $R_6 = -(CH_2)_3NH(CH_2)_4NHR_7, -(CH_2)_4NH(CH_2)_3NHR_7, -(CH_2)_3NH(CH_2)_4NH(CH_2)_3NHR_7 ;$ o $-(CH_2)_4NHR_7 ;$ y $R_7 = H$.

30

6. Composición para su uso según la reivindicación 1, en la que el compuesto de fórmula (I) está definido por $Z_1 = 1$.

7. Composición para su uso según la reivindicación 6, en la que el compuesto de fórmula (I) está definido por $R_6 = -(CH_2)_3NH(CH_2)_4NHR_7 ; -(CH_2)_4NH(CH_2)_3NHR_7 ;$ o $-(CH_2)_3NH(CH_2)_4NH(CH_2)_3NHR_7 ;$ y $R_7 = H$.

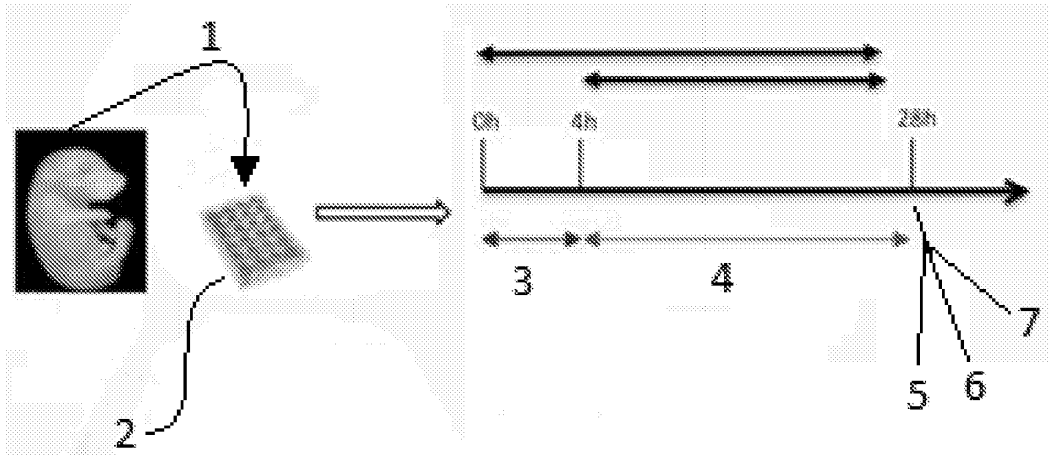
8. Composición que comprende al menos un compuesto de fórmula (I):



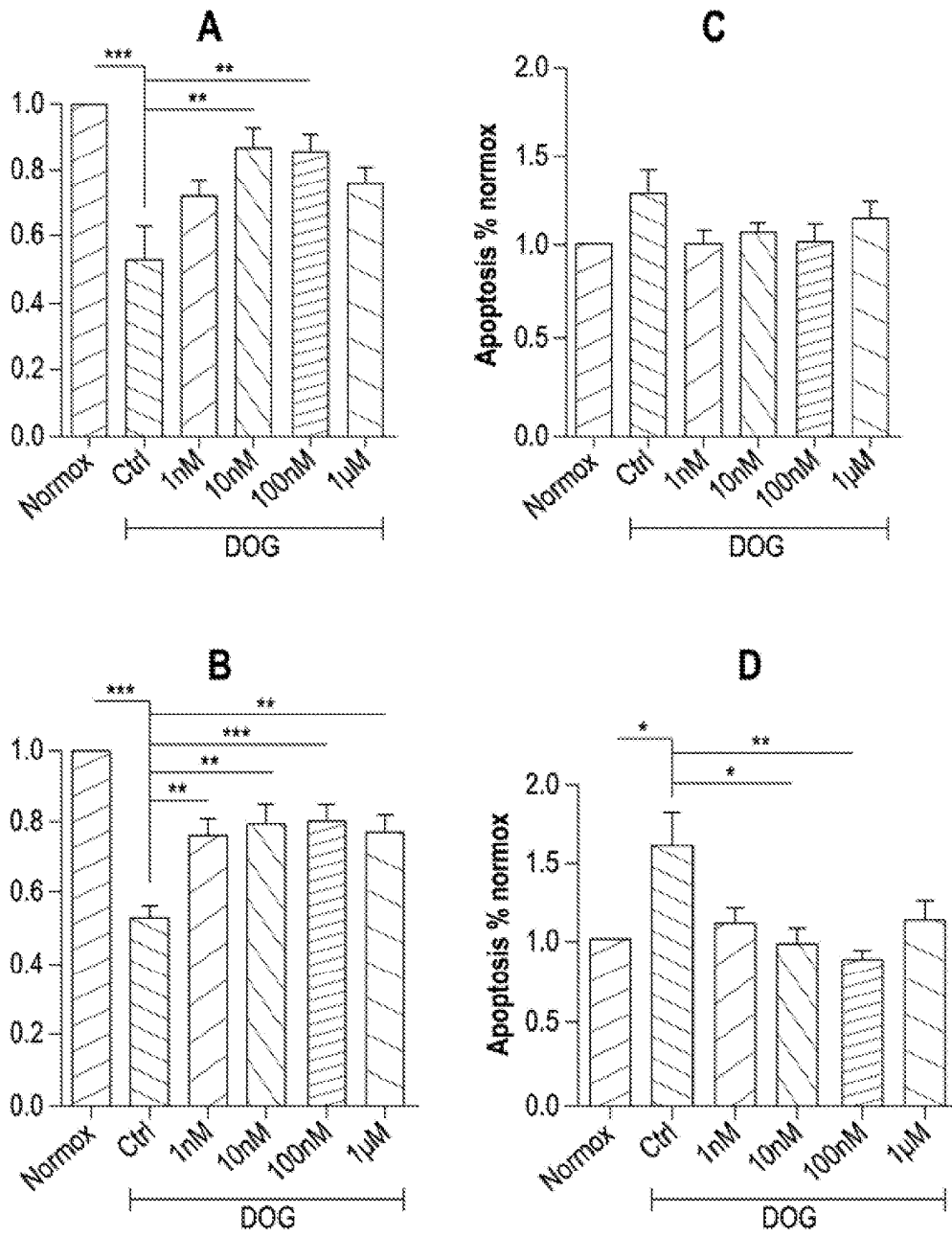
en la que

- 5 $R_1 = F, OC_nH_{2n+1}, R-COO, R-OCOO, RHN-COO$ u $OPO(OR)_2$ con $R = H$ o C_nH_{2n+1} , con $n \leq 16$;
 $R_2 = OH$
 $R_3 = -NR_5R_6$,
 $R_4 = H$ u OH en posición 20, 22, 24, 25, 26 o 27, colocado de forma que se cree un centro asimétrico de configuración R o S;
- 10 $R_5 = H$;
 R_6 se toma del grupo formado por $-(CH_2)_4NH(CH_2)_3NHR_7$, $-(CH_2)_3NH(CH_2)_4NHR_7$, $-(CH_2)_3NH(CH_2)_4NH(CH_2)_3NHR_7$; $-(CH_2)_4NHR_7$; con $R_7 = H$ o $COCH_3$;
 $-(CH_2)_2$ -imidazol-4-il; y $-(CH_2)_2$ -indol-3-il;
- 15 Z_1 y Z_2 representan cada uno el número de dobles enlaces entre los átomos de carbono C7 y C8 y C22 y C23 respectivamente,
 $Z_1 = 0$ o $Z_1 = 1$
 $Z_2 = 0$;
 T_1, T_2, T_3 y $T_4 = H$, colocándose T_4 de forma que se obtiene un centro asimétrico de configuración R o S en la posición 24 ;
- 20 y/o al menos una sal farmacéuticamente aceptable de al menos un compuesto de fórmula (I), para su uso en el tratamiento de la patología neuronal en un sujeto, estando dicha patología neuronal relacionada con hipoxia, hipoglucemia y/o hiperglucemia que afecta a las células del sistema nervioso central.
9. Composición para su uso según una de las reivindicaciones 1 a 8, en la que la patología neuronal del sistema nervioso central se selecciona del grupo que consiste en lesión cerebral traumática y accidente cerebrovascular.
- 25 10. Composición para su uso según una de las reivindicaciones 1 a 8, en la que la patología neuronal del sistema nervioso central es una lesión cerebral debida a isquemia.
11. Composición de uso según una de las reivindicaciones 1 a 8, en la que la patología neuronal del sistema nervioso central es una lesión cerebral debida a una insuficiencia respiratoria.
- 30 12. Composición para su uso según una de las reivindicaciones 1 a 8, en la que la hipoglucemia se debe a la diabetes.
13. Composición para su uso según una de las reivindicaciones 1 a 8, en la que la hiperglucemia se debe a la diabetes.
14. Composición para uso según una de las reivindicaciones 1 a 8, en forma de solución acuosa y con una concentración de compuesto de fórmula (I) comprendida entre 1 pmol.L^{-1} y 1 mmol.L^{-1} , preferentemente entre 10 pmol.L^{-1} y $0,1 \text{ mmol.L}^{-1}$, más preferentemente entre $0,1 \text{ nmol.L}^{-1}$ y $1 \text{ } \mu\text{mol.L}^{-1}$.
- 35

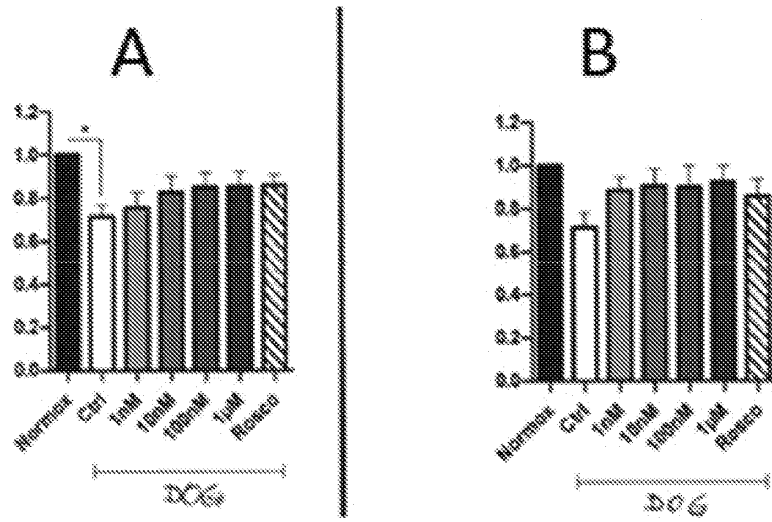
[Fig. 1]



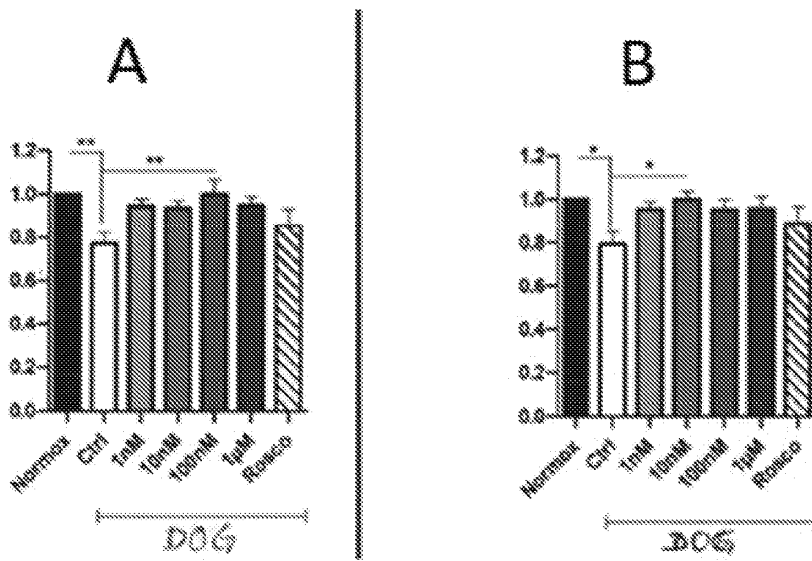
[Fig. 2]



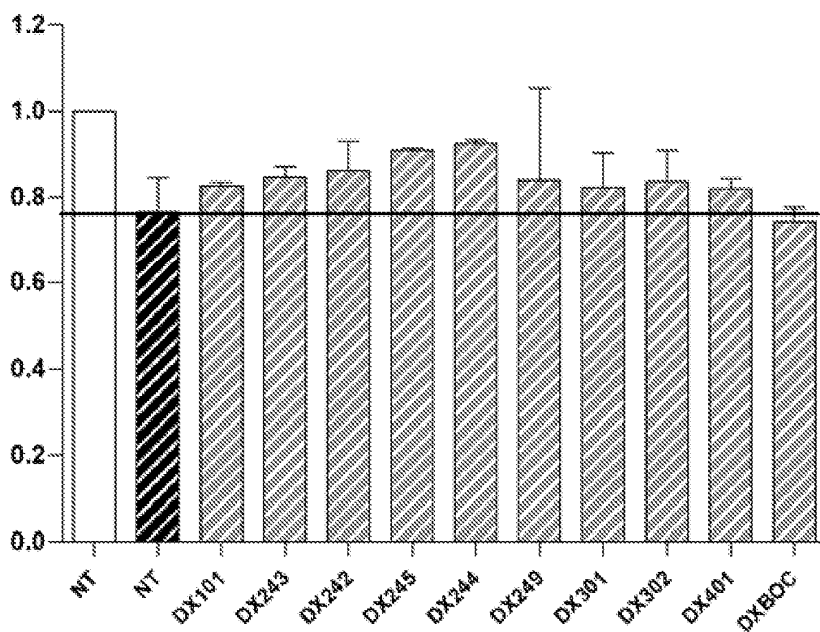
[Fig. 3]



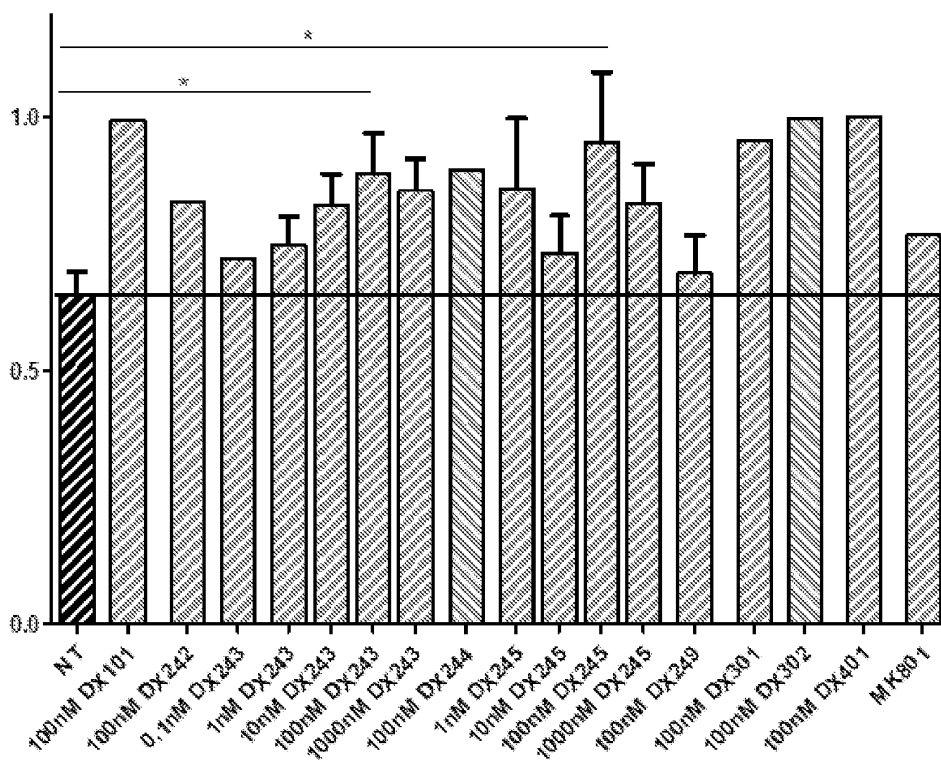
[Fig. 4]



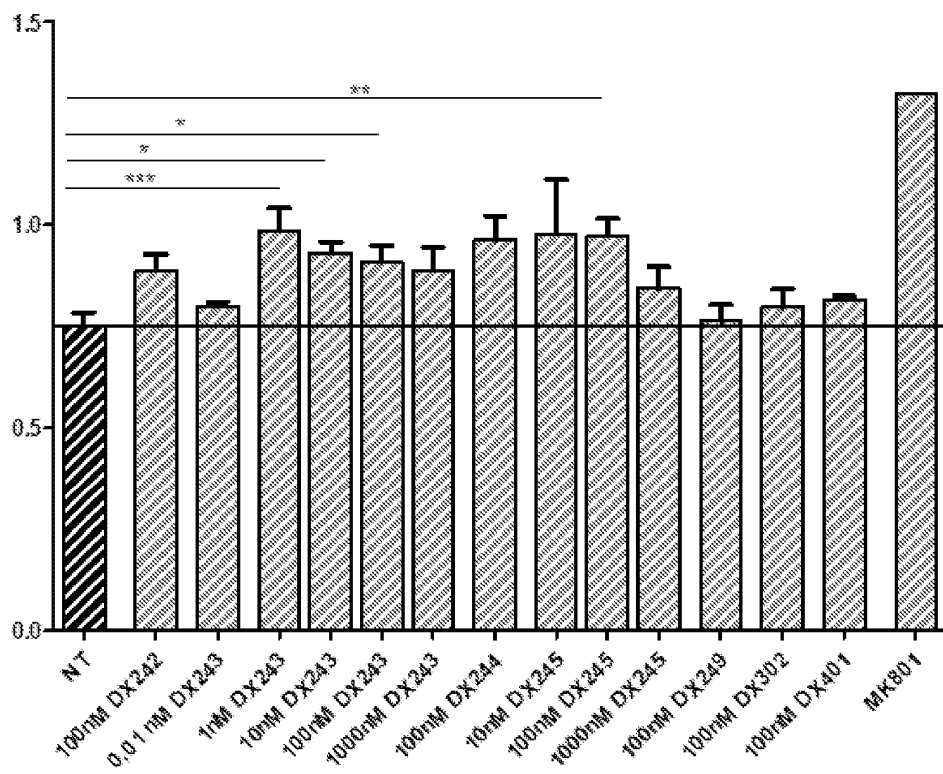
[Fig. 5]



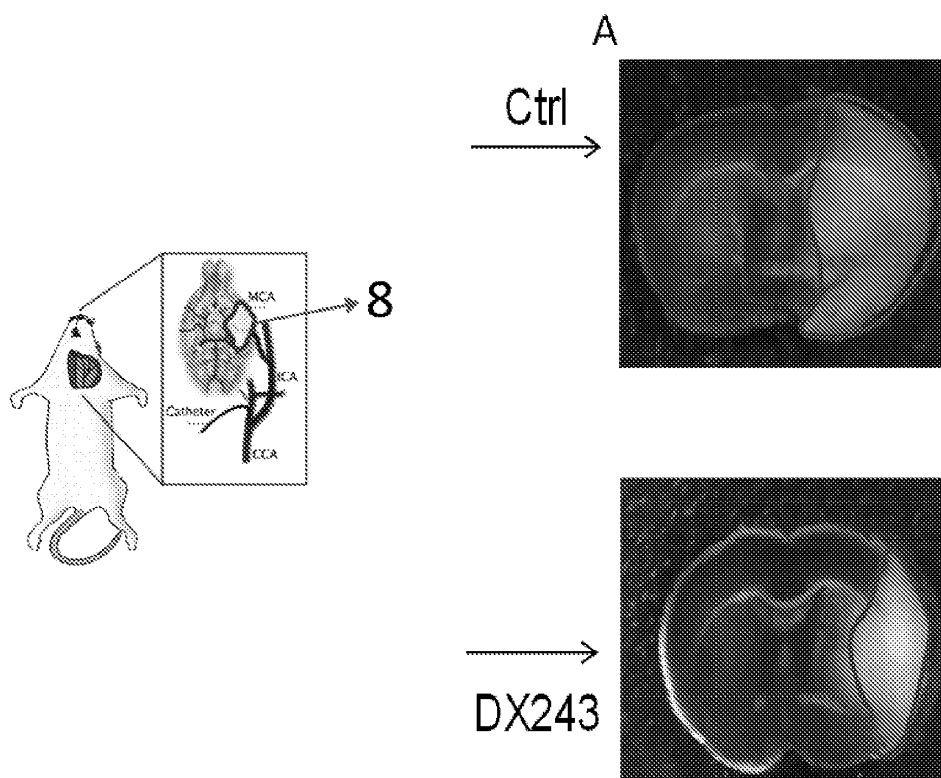
[Fig. 6]



[Fig. 7]



[Fig. 8]



[Fig. 9]

