

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 426 501**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/381** (2006.01)

**A61P 25/28** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.07.2007 E 07812875 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.07.2013 EP 2173340**

54 Título: **Procedimientos de mejora de la función cognitiva utilizando compuestos no peptídicos**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**23.10.2013**

73 Titular/es:

**ACUMEN PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)  
4435 NORTH FIRST STREET 360  
LIVERMORE, CA 94551, US**

72 Inventor/es:

**KRAFFT, GRANT A.;  
PRAY, TODD y  
Goure, WILLIAM F.**

74 Agente/Representante:

**CURELL AGUILÁ, Mireia**

**ES 2 426 501 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**

Procedimientos de mejora de la función cognitiva utilizando compuestos no peptídicos.

**5 Antecedentes de la invención**

Campo de la invención

10 La presente invención se refiere a la mejora de la función cognitiva en un paciente que tiene disminuida la función cognitiva debido a neurotoxicidad por LDDA mediante la administración de un compuesto no peptídico como se define en las reivindicaciones que tiene un peso molecular menor que 1000.

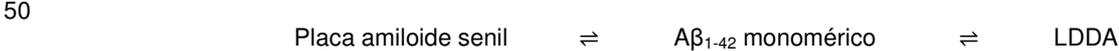
Estado de la técnica

15 La enfermedad de Alzheimer (EA) es una demencia progresiva mortal sin cura en la actualidad. Aunque la base molecular de la enfermedad no se ha demostrado, considerables pruebas implican actualmente a las neurotoxinas derivadas de péptidos beta amiloides (A $\beta$ ) y, en particular, el péptido beta amiloide de 42 aminoácidos (A $\beta$ <sub>1-42</sub>). El A $\beta$  es un péptido anfipático, cuya abundancia aumenta por mutaciones genéticas y factores de riesgo relacionados con la EA. Las fibrillas formadas a partir de A $\beta$  constituyen los núcleos de las placas amiloides seniles, que son señas de identidad del cerebro con EA. Las fibrillas análogas generadas *in vitro* son letales para las neuronas cerebrales cultivadas. Estos descubrimientos proporcionaron la lógica central para la hipótesis de la cascada amiloide original, una teoría en la que se propuso que la pérdida de memoria es la consecuencia de la muerte neuronal producida por A $\beta$  fibrilar (Hardy y Higgins (1992) Science 256:184-185).

25 A pesar de su fuerte apoyo experimental y atractivo intuitivo, la hipótesis de la cascada amiloide original ha demostrado ser inconsistente con las observaciones clave, incluida la escasa correlación entre la demencia y la carga amiloide de la placa senil (Katzman (1988) Ann. Neurol. 23 (2):138-144). Utilizando un modelo de ratón transgénico de la EA, se obtuvieron dos conclusiones sorprendentes cuando los ratones se trataron con anticuerpos monoclonales contra A $\beta$ : (1) los ratones vacunados presentaron inversión de la pérdida de memoria, con recuperación evidente en 24 horas, y (2) beneficios cognitivos de la vacunación acumulados a pesar de la falta de cambio en los niveles de la placa senil (Dodart *et al.* (2002) Nat. Neurosci 5:452-457; Kotilinek *et al.* (2002) J. Neurosci. 22:6331-6335). Dichos descubrimientos no concuerdan con un mecanismo para la pérdida de memoria dependiente de la muerte neuronal producida por fibrillas de amiloide.

35 Los defectos destacados en la hipótesis de la cascada amiloide original se han eliminado por una hipótesis actualizada de la cascada amiloide que incorpora una función para moléculas adicionales neurológicamente activas formadas por autoensamblaje de A $\beta$ . Estas moléculas son ligandos difundibles derivados de  $\beta$ -amiloides (LDDA), que se ensamblan en A $\beta$ <sub>1-42</sub> a bajas concentraciones (Lambert *et al.* (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95:6448-6453). Esencialmente los eslabones que faltan en la hipótesis de la cascada amiloide original, LDDA inhiben rápidamente la potenciación a largo plazo (Lambert *et al.* (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95:6448-6453; Walsh *et al.* (2002) Nature 416:535-539; Wang *et al.* (2002) Brain Res. 924:133-140), un paradigma experimental clásico para la memoria y la plasticidad sináptica. En la hipótesis de la cascada A $\beta$  actualizada, la pérdida de memoria surge de la falta de sinapsis, antes de la muerte de las neuronas, originándose el fallo por LDDA, no por fibrillas (Hardy y Selkoe (2002) Science 297:353-356). Los LDDA se producen en el tejido cerebral y son sorprendentemente elevados en el tejido cerebral de EA en comparación con referencias de edad similar (Kayed *et al.* (2002) Science 300:486-489; Gong *et al.* (2003) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 100:10417-10422) y en modelos de ratones transgénicos de EA (Kotilinek *et al.* (2002). J. Neurosci. 22:6331-6335; Chang *et al.* (2003) J. Mol. Neurosci. 20:305-313).

Un enfoque mecanicista simplista a esta teoría puede ilustrarse de la manera siguiente:



en el que la formación de LDDA es una ruta separada de la formación de la placa amiloide senil, las cuales están en equilibrio con A $\beta$ <sub>1-42</sub> monomérico.

55 Otros experimentos han demostrado importantes propiedades neurológicas de los LDDA. Se ha demostrado que los LDDA tienen toxicidad selectiva para las neuronas CA1 del hipocampo en comparación con neuronas CA3, y completa ausencia de toxicidad para con las neuronas cerebelares (Kim *et al.* (2003) FASEB J. 17:118-120). La inyección ventricular de oligómeros de A $\beta$ <sub>1-42</sub> en ratas naturales dio lugar a modelos de comportamiento rápidos y alterados, produciéndose la recuperación completa en 24 horas (Cleary *et al.* (2005) Nat. Neurosci. 8:79-84), y estas carencias se atribuyen a oligómeros de orden superior, específicamente 12-meros (Lesne *et al.* (2006) Nature 440:352-357). La unión de LDDA a las neuronas se produce con una alta especificidad y se localiza en receptores posinápticos en un subconjunto de neuronas del hipocampo (Lacor *et al.* (2004) J. Neurosci. 24:10191-10200). Esto provoca el incremento rápido y persistente del arco del producto génico precoz inmediato, cuya traducción es dependiente de la actividad en polirribosomas situados en subconjuntos de las espinas dendríticas (Steward *et al.* (1998) Neuron 21:741-751; Guzowski *et al.* (2000) J. Neurosci. 20:3993-4001). Más recientemente, los LDDA han

estado implicados como activadores aguas arriba de la fosforilación de tau, y se ha demostrado que interfieren en el comportamiento animal a niveles femtomolares (Matsubara *et al.* (2004) *Neurobiol. Aging* 25:833-841).

5 La reversibilidad de la pérdida de memoria en modelos de ratón, acoplada con las propiedades neurológicas de los LDDA y su presencia en el cerebro de EA, proporciona un fuerte apoyo a la hipótesis de que la EA es una enfermedad sináptica provocada por LDDA (Lambert *et al.* (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:6448-6453; Klein *et al.* (2001) *Trends Neurosci.* 24:219-220; Selkoe (2002) *Science* 298:789-791).

10 La utilización de anticuerpos específicos para los LDDA es una poderosa manera de modular el equilibrio entre  $A\beta_{1-42}$  monomérico y los LDDA, proporcionando de ese modo tratamiento para las enfermedades mediadas por LDDA. Sin embargo, la administración de anticuerpos está limitada por lo general a disoluciones inyectables que plantean problemas de observancia por parte del paciente, así como la presencia de un médico adjunto. Las pequeñas moléculas que modulan este equilibrio, administrables por medios no inyectables tales como la administración oral, la administración transdérmica, la administración pulmonar, la administración nasal, etc., serían especialmente  
15 beneficiosas.

Se afirma que numerosas moléculas pequeñas desarrolladas originalmente como bloqueadores de fibrillas de amiloide poseen propiedades de bloqueo de ensamblaje de oligómeros de  $A\beta$ . Algunos de estos compuestos incluyen Alzhemed™ (Gervais (2004) *Neurobiol. Aging* 25:S11-12), Clioquinol (Ritchie *et al.* (2003) *Arch. Neurol.* 60:1685-1691),  $\beta$ -ciclodextrinas sustituidas (Yu *et al.* (2002) *J. Mol. Neurosci.* 19:51-55), trehalosa (Lui (2005) *Neurobiol. Disease* 20:74-81), fenoles sustituidos con un solo amino, carbonilo y nitro (De Felice *et al.* (2001) *FASEB J.* 20 de marzo; De Felice *et al.* (2004) *FASEB J.* 18:1366-1372), Curcumina (Yang *et al.* (2005) *J. Biol. Chem.* 280(7):5892-5901), análogos de ciclohexanohexol (McLaurin *et al.* (2006) *Nature Med.* 12:801-808), esteroesteroles (Lecanu *et al.* (2004) *Steroids* 69:1-16) y pironas tricíclicas (Maeqawa *et al.* (2006) *J. Neurochem.* 98:57-67). Dos de estos compuestos, Alzhemed™ y Clioquinol, han avanzado en ensayos clínicos.

Alzhemed™ (ácido 3-amino-1-propansulfónico), denominado "mimético GAG", se propone para reducir los niveles de amiloide soluble e insoluble al unirse al monómero  $A\beta$ , aunque ningún detalle experimental ha aparecido para confirmar el modo de acción propuesto. Alzhemed™ ha completado recientemente una ampliación de 20 meses de estudio abierto de un ensayo en fase II, y hay informes de deterioro cognitivo ralentizado en algunos pacientes con EA leve; sin embargo, no se observó eficacia durante la fase enmascarada del estudio (Gervais (2004) *Neurobiol Aging* 25: S11-12).

35 El segundo compuesto en un ensayo clínico en fase II, Clioquinol, ha demostrado que estabiliza la capacidad cognitiva de los pacientes en comparación con los pacientes no tratados, y presentaba menores concentraciones de  $A\beta_{1-42}$  en su plasma (Ritchie *et al.* (2003) *Arch. Neurol.* 60:1685-1691). Sin embargo, una impureza tóxica (una forma di-yodo de Clioquinol) aparecida durante la producción ha dado como resultado que el estudio se interrumpa y que El Clioquinol se reemplace por un análogo denominado PBT2 (Blennow *et al.* (2006) *Lancet* 368:387-403).

40 Por último, se informó de que un compuesto o compuestos no identificados en un extracto de hojas de ginkgo biloba reduce las concentraciones de trímeros y tetrámeros de  $A\beta_{1-42}$  y aumenta las concentraciones de polímeros de alto peso molecular en función de la dosis (Yao *et al.* (2001) *Brain Res.* 889:181-190). También se informó de la protección en función de la dosis frente a la toxicidad provocada por el oligómero de  $A\beta$  a las células PC-12.

45 De los compuestos descritos para bloquear el ensamblaje de  $A\beta$  o la unión al monómero de  $A\beta_{1-42}$ , pocos parecen tener un potencial terapéutico alto. Dada su estructura muy sencilla y sus propiedades hidrófilas, es muy poco probable que Alzhemed™ tenga una afinidad elevada y selectiva por el monómero de  $A\beta_{1-42}$ . Cualquier efecto que Alzhemed™ tenga sobre la agregación o disgregación de  $A\beta$  es probablemente atribuible a su interacción con restos iónicos cerca del término N de  $A\beta_{1-42}$ . Las ciclodextrinas no tienen propiedades similares al plomo ni similares a medicamentos que serían recomendables para desarrollo (Oprea *et al.* (2001) *J. Chem. Inf. Comput Sci.* 41:1308-1315; Vieth *et al.* (2004) *J. Med. Chem.* 47:224-232), y los fenoles de De Felice contienen grupos funcionales aldehído y nitro que a menudo se consideran reactivos y excluidos de las bibliotecas de cribado (Walters y Namchuk (2003) *Nat. Rev.* 2:259-266). Numerosas moléculas que contienen el grupo funcional fenol se han descrito como "resultados frecuentes" en bibliotecas de cribado (Roche *et al.* (2002) *J. Med. Chem.* 45:137-142). Por lo tanto, la  
50 evaluación adicional de la actividad y la selectividad de los fenoles de De Felice es necesaria para confirmar que estos compuestos son resultados válidos. Se ha señalado que algunos compuestos con un esqueleto esteroideo son inhibidores promiscuos debido a un proceso de autoagregación inesperado (McGovern *et al.* (2002) *J. Med. Chem.* 45:1712-1722), lo que puede explicar los resultados ambiguos de esteroesterol. Por último, el principio activo en el extracto de ginkgo biloba es desconocido. Por lo tanto, la mayoría de los bloqueadores del ensamblaje de  $A\beta$  pretendidos no se considerarían compuestos para el desarrollo terapéutico.

A pesar de estos supuestos resultados y como se señaló anteriormente, los ensayos de unión indican que estos compuestos son, en el mejor de los casos, antagonistas moderados para la formación de LDDA.

65 Por consiguiente, sería particularmente beneficioso proporcionar moléculas pequeñas que proporcionen mejor inhibición, regulación y/o modulación de la formación de LDDA.

**Sumario de la invención**

La presente invención se basa en el descubrimiento de que la formación de A $\beta$ <sub>1-42</sub> (LDDA) neurotóxico, no fibrilar, globular, soluble, puede ser antagonizada por compuestos no peptídicos sustancialmente puros como se definen en las reivindicaciones, que tienen un peso molecular inferior a 1500, preferentemente inferior a 1000, compuestos que antagonizan la formación de LDDA a niveles mayores que los previamente alcanzables. Antagonizando la formación de LDDA, se mejora la función cognitiva. Esta invención se basa además en el descubrimiento de numerosas estructuras que presentan este antagonismo mejorado, demostrando que no es dependiente de la estructura.

Una forma de realización de la invención se refiere a la mejora de la función cognitiva en un paciente que tiene disminuida la función cognitiva debido a neurotoxicidad por LDDA. La utilización de los compuestos definidos en las reivindicaciones comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto no peptídico sustancialmente puro, como se define en las reivindicaciones, caracterizándose dicho compuesto por:

- (a) tener un peso molecular inferior a 1000;
- (b) ser una antagonista contra la formación de LDDA neurotóxicos a partir de monómeros de A $\beta$ <sub>1-42</sub>; y
- (c) presentar una CI<sub>50</sub> de aproximadamente 55  $\mu$ M o inferior en el ensayo del Ejemplo 1, que mide la formación de LDDA neurotóxicos.

En algunas formas de realización de la invención, la función cognitiva disminuida en un paciente es debida a que el paciente sufre o tiene riesgo de sufrir una enfermedad asociada con la formación y/o actividad de los LDDA. En otras formas de realización, la enfermedad se selecciona del grupo que consiste en enfermedad de Alzheimer, síndrome de Down, apoplejía y deterioro cognitivo leve.

En otras formas de realización de la invención, la función cognitiva disminuida en un paciente es debida a que el paciente sufre o tiene riesgo de sufrir una enfermedad asociada con fibrillas amiloides insolubles, placas seniles y/u ovillos. Alternativamente, la función cognitiva disminuida en un paciente es debida a que el paciente sufre o tiene riesgo de sufrir una enfermedad asociada con la sobreexpresión de la proteína A $\beta$ <sub>1-42</sub>. En algunas formas de realización, la enfermedad se selecciona del grupo que consiste en demencia asociada con isquemia focal y degeneración neuronal.

También se describe un procedimiento para inhibir, regular y/o modular la unión de LDDA neurotóxicos a espinas y/o sinapsis de una célula neuronal. El procedimiento comprende poner en contacto dicha célula neuronal con una cantidad eficaz de un compuesto no peptídico sustancialmente puro, caracterizándose dicho compuesto por:

- (a) tener un peso molecular inferior a 1000;
- (b) ser una antagonista contra la formación de LDDA neurotóxicos a partir de monómeros de A $\beta$ <sub>1-42</sub>; y
- (c) presentar una CI<sub>50</sub> de aproximadamente 55  $\mu$ M o inferior en el ensayo del Ejemplo 1, que mide la formación de LDDA neurotóxicos.

También se describe un procedimiento para inhibir, regular y/o modular la potenciación a largo plazo de células neuronales. El procedimiento comprende poner en contacto dichas células con una cantidad eficaz de un compuesto no peptídico sustancialmente puro, caracterizándose dicho compuesto por:

- (a) tener un peso molecular inferior a 1000;
- (b) ser una antagonista contra la formación de LDDA neurotóxicos a partir de monómeros de A $\beta$ <sub>1-42</sub>; y
- (c) presentar una CI<sub>50</sub> de aproximadamente 55  $\mu$ M o inferior en el ensayo del Ejemplo 1, que mide la formación de LDDA neurotóxicos.

En otra forma de realización, la invención se refiere a tratar a un paciente que sufre función cognitiva disminuida debido a que el paciente sufre o tiene riesgo de sufrir una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en enfermedad de Alzheimer, síndrome de Down, apoplejía, deterioro cognitivo leve, demencia asociada con isquemia focal y degeneración neuronal, usando un compuesto como se define en las reivindicaciones. La utilización comprende administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto no peptídico sustancialmente puro como se define en las reivindicaciones, caracterizándose dicho compuesto por:

- (a) tener un peso molecular inferior a 1000;
- (b) ser una antagonista contra la formación de LDDA neurotóxicos a partir de monómeros de A $\beta$ <sub>1-42</sub>; y

(c) presentar una  $CI_{50}$  de aproximadamente 55  $\mu M$  o inferior en el ensayo del Ejemplo 1, que mide la formación de LDDA neurotóxicos.

5 En una forma de realización de la invención, el compuesto no peptídico sustancialmente puro se administra en una cantidad de aproximadamente 0,05 miligramos a aproximadamente 1000 miligramos, una o más veces al día. En otra forma de realización de la invención, el compuesto como se define en las reivindicaciones se administra en una composición farmacéutica, que comprende además un excipiente farmacéuticamente aceptable.

10 En algunas formas de realización, el compuesto como se define en las reivindicaciones exhibe una inhibición en la formación de LDDA neurotóxicos según se mide mediante una  $CI_{50}$  de aproximadamente 5  $\mu M$ , o 2  $\mu M$ , o 1  $\mu M$  o inferior en el ensayo del Ejemplo 1.

15 La invención también se refiere a la utilización de una composición como se define en las reivindicaciones para potenciar la función cognitiva en un paciente que tiene función cognitiva disminuida debido a neurotoxicidad por LDDA, en el que la composición comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto no peptídico sustancialmente puro, caracterizándose dicho compuesto por:

20 (a) tener un peso molecular inferior a 1000;

(b) ser una antagonista contra la formación de LDDA neurotóxicos a partir de monómeros de  $A\beta_{1-42}$ ; y

(c) presentar una  $CI_{50}$  de aproximadamente 55  $\mu M$  o inferior en el ensayo del Ejemplo 1, que mide la formación de LDDA neurotóxicos.

25 La composición como se define en las reivindicaciones puede comprender además un excipiente farmacéuticamente aceptable.

30 La presente invención también describe un procedimiento para fabricar un medicamento, que comprende el compuesto como se define en las reivindicaciones como se expone en las formas de realización en esta sección.

### Breve descripción de las figuras

35 La figura 1 muestra la inhibición del ensamblaje en función de la dosis representativa de compuestos descritos en la presente memoria utilizando el análisis TERF. Se muestran los resultados del compuesto A de ensayo analizado a concentraciones entre 0,05 a 3  $\mu M$ , así como los resultados del compuesto B de ensayo analizado a una concentración de 30  $\mu M$ . Se muestran también las referencias positivas y negativas. El eje X indica el tiempo en minutos, en tanto que el eje Y indica las unidades de fluorescencia relativas (UFR)  $\times 10^3$  medido por el análisis TERF en el Ejemplo 1.

40 La figura 2 muestra la inhibición del ensamblaje en función de la dosis representativa del supuesto compuesto bloqueador de fibrilla amiloide Alzhemed™ (Neurochem) analizado en el análisis TERF descrito en la presente memoria. Se muestran también las referencias positivas y negativas. El eje X indica el tiempo en minutos, en tanto que el eje Y indica las unidades de fluorescencia relativas (UFR)  $\times 10^3$  medido por el análisis TERF.

45

### Descripción detallada de la invención

#### A. Invención

50 Debe señalarse que, como se emplean en la presente memoria y en las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular "un", "una", "el" y "la" incluyen referencias en plural a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

A menos que se defina de otra manera, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente memoria tienen los mismos significados entendidos comúnmente por cualquier experto en la materia a la que pertenece esta invención. Aunque en la puesta en práctica o las pruebas de la presente invención puede utilizarse cualquiera de los procedimientos y materiales similares o equivalentes a los descritos en la presente memoria, se describen a continuación los procedimientos, dispositivos y materiales preferidos. Nada en la presente memoria debe interpretarse como un reconocimiento de que la invención no da derecho a anteceder dicha divulgación en virtud de la invención anterior.

60 Las definiciones utilizadas en la presente memoria se limitan a la aplicación de pequeñas moléculas como las que se refieren a la agregación o a la oligomerización de LDDA y enfermedades mediadas por éste.

65 La presente invención se basa en el descubrimiento de que la formación de péptidos  $A\beta_{1-42}$  (LDDA) neurotóxicos, no fibrilares, globulares, oligoméricos, solubles, puede ser antagonizada por compuestos no peptídicos sustancialmente puros que tienen un molecular peso inferior a 1500, preferentemente menor que 1000. Los compuestos antagonizan

la formación de LDDA a niveles mayores que los que pudieron conseguirse anteriormente. Una descripción adicional de las formas de realización que se refieren a antagonizar la formación de LDDA se puede encontrar en la solicitud PCT n° PCT/US2007/073408, presentada el 12 de julio de 2007, titulada "Methods of Modifying Amyloid  $\beta$  Oligomers Using Non-Peptidic Compounds", número de expediente 089265-1400.

5 Sin limitarse por ninguna teoría, se cree que la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más de los compuestos descritos en la presente memoria va a interactuar con motivos claves del ensamblaje dentro de los monómeros de  $A\beta_{1-42}$  o dentro de los motivos críticos en los oligómeros de  $A\beta_{1-42}$ . Esta interacción, a su vez, impedirá la formación de LDDA neurotóxicos o la actividad de dichos ligandos. La perturbación de los LDDA o de la actividad de dichos ligandos protegerá la potenciación a largo plazo de las células neuronales, obviando de ese modo y/o invirtiendo la neurotoxicidad relacionada con los LDDA. Además, esta interacción no interfiere con la formación de placas seniles de  $A\beta$ .

15 La invención se refiere a la potenciación de la función cognitiva en un paciente que tiene función disminuida. La expresión "función cognitiva" se refiere al proceso intelectual mediante el cual una persona es consciente, percibe, o comprende ideas. Función cognitiva comprende la cualidad de conocer, que incluye todos los aspectos de perfección; reconocimiento; concepción; sensación; pensamiento; razonamiento; recuerdo e imaginación.

20 La expresión "función cognitiva disminuida" se refiere a pérdida de memoria, ralentización mental, decaimiento intelectual y/o amnesia. La pérdida de memoria se puede caracterizar como la dificultad o fracaso para evocar inmediatamente o de forma retrasada. La ralentización mental es la dificultad en el procesamiento o terminación de tareas previamente aprendidas de una manera oportuna, o en el procesamiento de forma rápida de nueva información. decaimiento intelectual se define como pérdida de información, o una incapacidad para utilizar información previamente poseída o utilizada por una persona. La amnesia es una pérdida extrema de la capacidad cognitiva, que da como resultado la incapacidad parcial o total para evocar experiencias pasadas y la pérdida alterada o total de la capacidad para hablar o escribir. La función cognitiva disminuida puede estar provocada por un número de enfermedades que se explican más abajo concienzudamente.

30 Los métodos para evaluar la función cognitiva incluyen, pero no se limitan a, instrumentos estandarizados, por ejemplo el Miniexamen del estado Mental de Folstein; Miniexamen del Estado Mental Modificado; Evaluación del Estado Mental en Ancianos de Middlesex; Cuestionario Portátil Corto del Estado Mental; Escala de Evaluación de la Enfermedad de Alzheimer; Prueba del Dibujo del Reloj; Clasificación de la Demencia Clínica; Inventario Neuropsiquiátrico o cualquier prueba diseñada de forma similar. Utilizando las pruebas enunciadas anteriormente, un médico experto será capaz de evaluar el nivel de función cognitiva disminuida de un paciente o de función cognitiva potenciada tras el tratamiento. Adicionalmente, también se pueden usar observaciones informales e interacciones de individuos con un paciente para evaluar la función cognitiva, que incluyen, pero no se limitan a, miembros de la familia, amigos, cuidadores oficiales tales como enfermeras, e individuos que tienen un conocimiento íntimo previo del paciente.

40 También se puede usar la medida mecánica de las neuronas y del tejido neuronal para evaluar la función cognitiva, incluyendo, pero sin limitarse a, Tomografía Computerizada (CT); Tomografía Axial Computerizada (CAT); Formación de Imágenes mediante Resonancia Magnética (MRI); Formación de Imágenes mediante Resonancia Magnética Funcional (fMRI); Tomografía de Emisión Positrónica (PET); Tomografía Computerizada de Emisión Monofotónica (SPECT); Formación de Imágenes Ópticas Difusas (DOI); Tomografía Óptica Difusa (DOT) o cualquier instrumentación diseñada de forma similar.

50 La expresión "compuesto no peptídico" se refiere a un compuesto, cuyos ejemplos se describen en la presente memoria, que no están compuestos de péptidos y/o proteínas. Debe apreciarse que la presencia de 1 a 10, o de 1 a 5, o 1 a 2 restos de aminoácidos unidos a las estructuras del compuesto dadas a conocer en la presente memoria no hacen peptídicas a dichas estructuras siempre que el peso molecular del compuesto sea inferior a 1500, preferentemente inferior a 1000, y los restos de aminoácidos no posean ninguna función de unión a antígeno, y además siempre que la propia estructura en ausencia de los restos de aminoácidos posea inhibición de la formación de LDDA como se expone en el Ejemplo 1 en la presente memoria. En una forma de realización preferida, los compuestos no peptídicos descritos en la presente memoria no contienen restos de aminoácidos derivados de uno de los 20 aminoácidos de origen natural.

60 Los términos "péptidos" y "proteínas" se refieren a compuestos de alto peso molecular que tienen numerosos restos de aminoácidos unidos por enlaces amido (-C(O)-NR-). Los restos de aminoácidos derivan por lo general de uno de los 20 aminoácidos de origen natural.

Los compuestos descritos en la presente memoria son útiles en un procedimiento para la inhibición, regulación y/o modulación del ensamblaje de los LDDA, ya sea *in vitro* o *in vivo*. El término "LDDA" se define convencionalmente como ligandos difundibles derivados de beta-amiloides que tienen las siguientes características: péptidos  $A\beta_{1-42}$  neurotóxicos, no fibrilares, globulares, oligoméricos y solubles.

El término "neurotoxicidad" se refiere al efecto tóxico de los LDDA sobre células neuronales ya sea *in vitro* y/o *in*

- vivo. Los LDDA se unen a receptores neuronales específicos que activan la señalización neuronal anómala, que pone en peligro la potenciación a largo plazo y produce insuficiencia de memoria. Por lo tanto, los LDDA alteran la función de las células neuronales de tal manera que, aunque todavía viables, las neuronas no funcionan adecuadamente. Dicha funcionalidad alterada se denomina en la presente memoria “disfunción neuronal”, que es una subclase de neurotoxicidad. La señalización persistente de LDDA provoca la transcripción anómala y la pérdida progresiva de sinapsis, y la señalización persistente de LDDA a muy largo plazo y la patología estructural acumulada conducen a la eventual muerte de neuronas y la distrofia cerebral macroscópica.
- El término “soluble” significa la capacidad de una sustancia determinada, el soluto (un ejemplo en la presente invención es el oligómero de  $A\beta_{1-42}$ ) para disolverse en un disolvente. En el contexto de la presente invención, los oligómeros de  $A\beta$  solubles son capaces de fraccionarse por centrifugación.
- El término “oligómero” se refiere a un complejo proteico de un número finito de subunidades monoméricas. En el contexto de la invención, los oligómeros se conocen como trímeros, polímeros de bajo n, dodecámeros (12-meros), y polímeros de n grande compuestos de péptidos  $A\beta_{1-42}$ . El término “oligómero” no incluye placas amiloides seniles.
- El término “globular” significa un gran complejo proteico soluble, que se distingue de fibrillas y placas amiloides. Preferentemente, los intervalos de estructura globular de 4 nanómetros (nm) a aproximadamente 12 nm de tamaño, preferentemente, de aproximadamente 4,7 a aproximadamente 11 nm, que pueden observarse en el análisis de microscopio atómico (AFM) de fracciones sobrenadantes de preparados de oligómero de  $A\beta_{1-42}$  soluble como se describen en la patente US n° 6.218.506.
- La expresión “no fibrilar” significa los péptidos y complejos oligoméricos de  $A\beta_{1-42}$  que no están alineados en un patrón morfológicamente distinto conocido como protofibrillas amiloides o fibrillas amiloides.
- La expresión “sustancialmente puro” se define como sustancialmente exento de impurezas, como por ejemplo menos de 20% de impurezas. En una forma de realización, un compuesto es sustancialmente puro si contiene menos de 10% de impurezas y, en otra forma de realización, si contiene menos de 1% de impurezas.
- Como se menciona anteriormente, la función cognitiva disminuida puede estar provocada por un número de enfermedades. Los términos “enfermedad”, “trastorno” y “afección” se utilizan inclusivamente y se refieren a cualquier afección mediada, al menos en parte, por los LDDA. En el contexto de esta invención, la enfermedad puede estar relacionada con fibrillas amiloides insolubles, placas seniles, ovillos neurofibrilares y/o la sobreexpresión de la proteína  $\beta_{1-42}$  amiloide. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, enfermedad de Alzheimer, síndrome de Down, deterioro cognitivo leve, apoplejía, demencia relacionada con isquemia focal, y degeneración neuronal. Los pacientes susceptibles de tratamiento incluyen las personas en situación de riesgo de la enfermedad pero que no presentan síntomas, así como los pacientes que actualmente presentan síntomas. Por lo tanto, los compuestos descritos en la presente memoria pueden administrarse profilácticamente a la población general sin necesidad de ninguna evaluación del riesgo del paciente.
- El término “ovillos” significa los ovillos neurofibrilares formados en el interior de las neuronas que se degeneran por la agrupación de filamentos helicoidales emparejados, que se ensamblan a partir de las formas hiperfosforiladas de la proteína asociada a microtúbulos conocida como tau.
- La expresión “fibrillas de amiloide” significa agregados de proteínas que comparten rasgos estructurales específicos. Las técnicas histopatológicas generalmente identifican las estructuras por birrefringencia verde manzana cuando se tiñen con rojo Congo y se observan bajo luz polarizada.
- En un aspecto de la invención, los compuestos de la invención como se definen en las reivindicaciones, cuando se administran, pueden inhibir, regular y/o modular la inhibición inducida por LDDA de la potenciación a largo plazo de células neuronales. La frase “potenciación a largo plazo” es un incremento en la fortaleza de una sinapsis química que dura desde minutos hasta varios días. Se sabe que es uno de los mecanismos principales mediante el cual se forman y se almacenan las memorias en el cerebro.
- Una “célula neuronal” o “neurona” es una célula que transmite y procesa señales en el cerebro o en otras partes del sistema nervioso. Además, una célula neuronal, tal como se emplea en la invención, se pueden aislar del tejido cerebral de animales y cultivarse en cultivos tisulares. Las células aisladas pueden estar compuestas de una estirpe celular neuronal creada, seleccionada de, por ejemplo, pero sin limitarse a, MC65; HCN-2; SH-SY5Y, SK-N-AS, SK-N-FI; SK-N-DZ; H19-7/IGF-IR; QNR/D; QNR/K2; C8-D30; C8-S; C8-D1A; OLGA-PH-J/92; Daoy; RSC96; SW10; RT4-D6P2T; RN33B, PC-12; DBRTG-05MG; C8-B4; SK-N-SH; B35; R3[33-10ras3]; Neuro-2A; y HCN-1A, o cualesquiera de las variantes genéticas, químicas y/o bioquímicas modificadas de las mismas. Las células aisladas también pueden estar compuestas de células primarias y/o astrocitos aislados a partir de tejidos neuronales seleccionados de, por ejemplo, pero sin limitarse a, hipocampo; cerebelo; corteza cerebral; hipotálamo; mesencéfalo; médula espinal; cuerpo estriado; lóbulo frontal; lóbulo temporal; lóbulo parietal; lóbulo occipital y cualesquiera de las variantes genéticas, químicas y/o bioquímicas modificadas de los mismos. La célula animal aislada y cultivada puede estar compuesta de una célula madre neural o de cualquiera de las variantes

diferenciadas, genéticas, químicas y/o bioquímicas modificadas de las mismas.

Tal como se emplea en la presente memoria, la expresión “tejido neuronal” se refiere a cualquier porción del sistema nervioso central, incluyendo, pero sin limitarse a, el cerebro o la médula espinal. El tejido neuronal puede estar compuesto de, al menos en parte, células neuronales.

Los compuestos son especialmente útiles para las personas que tienen una situación de riesgo genético conocido de enfermedad de Alzheimer. Dichas personas incluyen aquellos que tienen parientes que han sido diagnosticados con la enfermedad, y aquellos cuyo riesgo se determina por análisis de marcadores genéticos o bioquímicos. Los marcadores genéticos de riesgo para la enfermedad de Alzheimer incluyen mutaciones en el gen APP, particularmente mutaciones en la posición 717 y las posiciones 670 y 671 denominadas mutaciones de Hardy y Swedish, respectivamente. Otros marcadores de riesgo son las mutaciones en los genes de presenilina, PS1 y PS2, y ApoE4, antecedentes familiares de enfermedad de Alzheimer, hipercolesterolemia o aterosclerosis. Los individuos que padecen actualmente la enfermedad de Alzheimer pueden reconocerse por la demencia característica, así como la presencia de factores de riesgo descritos anteriormente. Además, se dispone de una serie de pruebas de diagnóstico para la identificación de individuos que tienen la enfermedad de Alzheimer. Éstas incluyen la medida de concentraciones de CSF tau y  $A\beta_{1-42}$ . Los individuos que padecen la enfermedad de Alzheimer también pueden diagnosticarse por los criterios ADRDA o el procedimiento descrito en la presente memoria.

En pacientes asintomáticos, el tratamiento puede comenzar a cualquier edad (por ejemplo, a los 10, 20, 30 años). Normalmente, sin embargo, no es necesario comenzar el tratamiento hasta que un paciente alcanza los 40, 50, 60 o 70 años. El tratamiento por lo general conlleva múltiples dosificaciones durante un período de tiempo. El tratamiento se puede controlar analizando la presencia de LDDA a lo largo del tiempo.

El término “paciente” se refiere a animales, incluyendo mamíferos, seres humanos y mamíferos no humanos. En determinadas formas de realización, un paciente es un animal, particularmente un animal seleccionado de una especie de mamífero, incluyendo ratas, conejos, ganado bovino, ovino, porcino, felino, canino, murino, equino, y primates, particularmente seres humanos.

“Tratar” o “tratamiento” de una enfermedad incluye: (1) prevenir la enfermedad, es decir, hacer que los síntomas clínicos de la enfermedad no se desarrollen en un paciente que puede estar expuesto o predispuesto a la enfermedad pero que todavía no experimenta ni presenta síntomas de la enfermedad, (2) inhibir la enfermedad, es decir, detener o reducir el desarrollo de la enfermedad o de sus síntomas clínicos; o (3) aliviar la enfermedad, es decir, provocar la regresión de la enfermedad o de sus síntomas clínicos.

El término “padecer”, en cuanto que está relacionado con el término “tratamiento”, se refiere a un paciente o individuo que ha sido diagnosticado con una enfermedad o está predispuesto a ella. De un paciente también puede decirse que está “en situación de riesgo de padecer” una enfermedad. Este paciente no ha desarrollado aún la patología característica de la enfermedad, sin embargo se sabe que está predispuesto a la enfermedad debido a los antecedentes familiares, estando genéticamente predispuesto a desarrollar la enfermedad, o diagnosticado con una enfermedad o trastorno que los predispone a desarrollar la enfermedad que se va a tratar.

Además de la enfermedad de Alzheimer, se conocen varias otras enfermedades que están relacionadas con la formación de  $A\beta_{1-42}$ , que incluyen, pero no se limitan a, síndrome de Down, apoplejía y deterioro cognitivo leve. Es concebible que al igual que la enfermedad de Alzheimer, el tratamiento de pacientes que padecen o están en situación de riesgo de padecer estas enfermedades es posible debido a los mecanismos paralelos de las enfermedades.

La expresión “placa senil” o “formación de la placa senil” se refiere al depósito extracelular de amiloide en la materia gris del cerebro. Los depósitos están relacionados con estructuras neuronales degenerativas. Se entiende que la placa senil es diferente de los LDDA y se distingue de los mismos.

Asimismo, la sobreexpresión de  $A\beta_{1-42}$  está relacionada con la demencia relacionada con isquemia focal y la degeneración neuronal. Se cree que la sobreexpresión de  $A\beta_{1-42}$  provoca acumulación de los LDDA, provocando de ese modo neurotoxicidad. El tratamiento de un paciente que padece o está en situación de riesgo de padecer una de estas enfermedades mediante la administración de uno o más de los compuestos descritos en la presente memoria mejorará la neurotoxicidad de  $A\beta_{1-42}$  sobreexpresado.

En las aplicaciones terapéuticas, una composición farmacéutica que contiene uno o más compuestos como se definen en las reivindicaciones se administra a un paciente que se sospecha o que ya padece dicha enfermedad relacionada con la acumulación de LDDA, en la que dichos compuestos se administran en una cantidad suficiente para curar, o al menos detener parcialmente, los síntomas de la enfermedad (bioquímicos, histológicos y/o del comportamiento), incluyendo sus complicaciones y fenotipos patológicos intermedios en el desarrollo de la enfermedad. En aplicaciones profilácticas, una composición farmacéutica que contiene uno o más compuestos como se definen en las reivindicaciones se administra a un paciente sensible a, o de otro modo en situación de riesgo de, una enfermedad relacionada con la acumulación de LDDA, en la que dichos compuestos se administran en una

cantidad suficiente para eliminar o reducir el riesgo, disminuir la gravedad, o retrasar el comienzo de la enfermedad. Esto incluye los síntomas bioquímicos, histológicos y/o del comportamiento de la enfermedad, sus complicaciones y fenotipos patológicos intermedios que se presentan durante el desarrollo de la enfermedad.

5 La "cantidad terapéuticamente eficaz" variará dependiendo del compuesto, la enfermedad y su gravedad y la edad, peso, etc., del paciente que va a ser tratado, todo lo cual está dentro de la experiencia del médico adjunto. Se contempla que una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más de los compuestos descritos en la presente memoria alterará la formación de LDDA (incluyendo el inhibir o invertir la formación de los LDDA) en el paciente en comparación con la unión de los LDDA en ausencia de tratamiento. Como tal, se reduce el deterioro de la  
10 potenciación a largo plazo y la subsiguiente formación de la memoria. Una cantidad terapéuticamente eficaz es distinguible de una cantidad que tiene un efecto biológico (una "cantidad biológicamente eficaz"). Un compuesto de la presente invención puede tener uno o más efectos biológicos *in vitro* o incluso *in vivo*, tal como la reducción en la formación de LDDA en cierta medida. Un efecto biológico, sin embargo, puede no dar lugar a cualquier efecto terapéutico clínicamente medible como se describió anteriormente tal como se determina por métodos dentro de la  
15 experiencia del médico adjunto.

La administración del compuesto como se define en las reivindicaciones reduce o elimina el deterioro cognitivo leve en pacientes que aún no han desarrollado la patología de Alzheimer característica. En las formas de realización particulares, una cantidad terapéuticamente eficaz está destinada a indicar la cantidad de uno o más compuestos como se definen en las reivindicaciones administrados o suministrados al paciente que lo más probable es que produzca la respuesta deseada al tratamiento.

Una "cantidad eficaz" es una cantidad de uno o más de los compuestos como se definen en las reivindicaciones que trata la enfermedad mediada por LDDA. Preferentemente, los compuestos de la presente invención disminuirán la formación de LDDA ya sea *in vitro* o *in vivo* en al menos 10%, 25%, 40%, 60%, 80%, 90% o 95% en comparación con la referencia.

## B. Compuestos

30 Los compuestos útiles en la presente memoria son sustancialmente puros, no peptídicos, y tienen un peso molecular inferior a 1000. En una forma de realización, los compuestos contienen preferentemente uno o más y cualquier combinación de las siguientes características: (1) potencia baja o submicromolar cuando se prueban en el ensayo de TERF descrito en la presente memoria, (2) no se agregan, (3) poca o ninguna toxicidad neuronal cuando se administran a un paciente, (4) solubilidad favorable en un ambiente acuoso, (5) tratables químicamente; (6)  
35 características dependientes de la dosis, (7) unión reversible a la proteína A $\beta$ ; (8) capaces de unirse al monómero  $\beta$  amiloide; (9) capaces de unirse a oligómeros  $\beta$  amiloides solubles.

En una forma de realización de la invención, los compuestos como se definen en las reivindicaciones que se usan para el tratamiento de pacientes son adecuados para administración oral. En esta forma de realización, el compuesto cumple la regla del cinco de Lipinski, que proporciona un criterio para evaluar la semejanza de fármacos. La regla establece que, en general, un fármaco activo por vía oral tiene: no más de 5 dadores de enlaces de hidrógeno (grupos OH y NH); no más de 10 aceptores de enlaces de hidrógeno (principalmente N y O); un peso molecular inferior a 500 g/mol; y un coeficiente de reparto log P inferior a 5.

### 1. Selección de compuestos

Un método preferido de selección de compuestos implica analizar los compuestos con transferencia de energía por resonancia fluorescente (TERF). La TERF se ha utilizado para medir, detectar, identificar, ensayar, analizar y caracterizar diversas interacciones y procesos en sistemas biológicos (véase, por ejemplo, Mitra *et al.* (1996) Gene  
50 173:13-17; De Angelis (1999) Physiol Genomics. 21:93-99; Latif y Graves (2000) Thyroid 10(5):407-412; Rye (2001) Methods 24(3):278-288; Kenworthy (2001) Methods 24(3):289-296; Periasamy (2001) J. Biomed Opt. 6(3):287-291; Truong e Ikura (2001) Curr. Opin. Struct. Biol. 11(5):573-578; Zhang *et al.* (2002) Nat. Rev. Mol. Cell. Biol. 3(12):906-918; Sitte y Freissmuth (2003) Eur. J. Pharmacol. 479:229-236; Milligan (2004) Eur. J. Pharm. Sci. 21(4): 397-405; Herman *et al.* (2004) Methods Mol. Biol. 261:351-370; Roda *et al.* (2004) Trends Biotechnol. 22(6):295-303; Wallrabe y Periasamy (2005) Curr. Opin. Biotechnol. 16(1):19-27; Milligan y Bouvier (2005) FEBS J. 272(12):2914-2915; referencias en cualquiera de los anteriores).

Los métodos de TERF, protocolos, técnicas, ensayos y similares se describen en general y específicamente en numerosas patentes y solicitudes de patente, incluyendo: patente US n° 6.908.769; patente US n° 6.824.990; patente US n° 6.762.280; patente US n° 6.689.574; patente US n° 6.661.909; patente US n° 6.642.001; patente US n° 6.639.078; patente US n° 6.472.156; patente US n° 6.456.734; patente US n° 6.376.257; patente US n° 6.348.322; patente US n° 6.323.039; patente US n° 6.291.201; patente US n° 6.280.981; patente US n° 5.914.245; patente US n° 5.651.035; referencias en cualquiera de los anteriores.

65 Asimismo, la polarización fluorescente (PF) también se ha utilizado para medir, detectar, identificar, ensayar, analizar y caracterizar diversas interacciones y procesos en sistemas biológicos (véase, por ejemplo, Lundblad *et al.*

(1996) Mol. Endocrinol. 10(6):607-612; Nasir y Jolley (1999) Comb. Chem. High Throughput Screen. 2(4):177-190; Park y Raines (2004) Methods Mol. Biol. 261:161-166; referencias en cualquiera de los anteriores).

Los métodos, protocolos, técnicas, ensayos y similares de polarización fluorescente (PF) se describen en general y específicamente en numerosas patentes y solicitudes de patente, incluyendo: patente US nº 6.794.158; patente US nº 6.632.613; patente US nº 6.630.295; 6.596.546; patente US nº 6.569.628; 6.555.326; patente US nº 6.511.815; patente US nº 6.448.018; patente US nº 6.432.632; patente US nº 6.331.392; patente US nº 6.326.142; patente US nº 6.284.544; patente US nº 6.207.397; patente US nº 6.171.807; patente US nº 6.066.505; patente US nº 5.976.820; patente US nº 5.804.395; patente US nº 5.756.292; patente US nº 5.445.935; patente US nº 5.427.960; patente US nº 5.407.834; patente US nº 5.391.740; patente US nº 5.315.015; patente US nº 5.206.179; patente US nº 5.070.025; patente US nº 5.066.426; patente US nº 4.952.691; patente US nº 4.863.876; patente US nº 4.751.190; patente US nº 4.681.859; patente US nº 4.668.640; patente US nº 4.614.823; patente US nº 4.585.862; patente US nº 4.510.251; patente US nº 4.476.229; patente US nº 4.429.230; patente US nº 4.420.568; patente US nº 4.203.670; referencias en cualquiera de los anteriores.

Las TERF y PF se han utilizado en el campo de la investigación amiloide (véase, por ejemplo, patente US nº 6.927.401; patente US nº 6.906.104; patente US nº 6.905.827; patente US nº 6.881.546; patente US nº 6.864.290; patente US nº 6.864.103; patente US nº 6.858.383; patente US nº 6.846.813; patente US nº 6.828.106; patente US nº patente US nº 6.803.188; patente US nº 6.770.448; patente US nº 6.713.276; patente US nº 6.600.017; patente US nº 6.515.113; patente US nº 6.495.664; patente US nº 6.323.039; patente US nº 6.294.330; patente US nº 6.280.981; patente US nº 6.197.928; patente US nº 5.981.200; Kim y Lee (2004) Biochem. Biophys. Res. Commun. 316(2):393-397; Bacskai *et al.* (2003) J. Biomed. Opt. 8(3):368-375; Gorman, PM *et al.* (2003) J. Mol. Biol. 325(4):743-757; Garzón-Rodrequez *et al.* (1997) J. Biol. Chem. 272(34):21037-21044; Lindgren *et al.* (2005) Biophys. J. 88(6):4200-4212; Lewis *et al.* (2004) Neurobiol. Aging 25(9):1175-1185; Leissring *et al.* (2003) J. Biol. Chem. 278(39):37314-37320; Taylor *et al.* (2003) J. Protein Chem. 22(1):31-40; Allsop *et al.* (2001) Biochem. Soc. Symp. 67:1-14; Allsop *et al.* (2001) Biochem. Biophys. Res. Commun. 285(1):58-63; Huang *et al.* (2000) J. Biol. Chem. 275(46):36436-36440; referencias en cualquiera de los anteriores).

## 2. Aplicaciones de la TERF al descubrimiento de compuestos

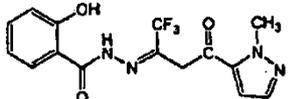
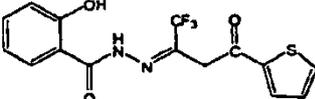
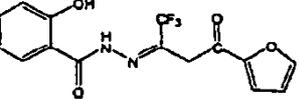
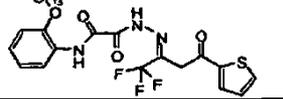
El ensayo TERF del Ejemplo 1 se utilizó en una variedad de bibliotecas de compuestos comercialmente disponibles para evaluar la inhibición de la unión específica de LDDA de cada compuesto. Se identificaron compuestos líder, y se obtuvieron otras bibliotecas de compuestos. Además, se llevaron a cabo relaciones de actividad con la estructura alrededor de los compuestos líder, dando lugar a mejoras aún mayores en la actividad.

## 3. Compuestos para utilización en la invención

Se presentan a continuación en la Tabla 1 compuestos para su utilización en la presente invención.

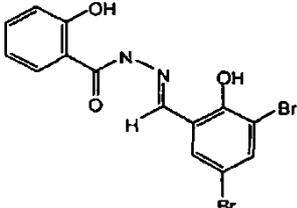
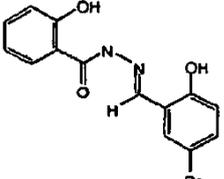
También se proporcionan en la tabla los valores  $Cl_{50}$  de los compuestos según se someten a prueba, utilizando el ensayo descrito en el Ejemplo 1. En cada caso, los compuestos mencionados estaban comercialmente disponibles o su síntesis se describe en los Ejemplos de esta solicitud. También hay que señalar que los siguientes compuestos pueden presentar estereoisomería (es decir, isómeros E y Z), y la invención contempla la utilización de cualquier isómero y mezclas de los mismos.

Tabla 1. Compuestos

Nº	Estructura del compuesto	Nombre del compuesto	$Cl_{50}$ ( $\mu$ M)	Fuente
1.		[3-oxo-3-(1-metil-1H-pirazol-5-il)-1-trifluorometil-prop-(Z)-iliden]-hidrazida del ácido 2-hidroxi-benzoico	17,7	deCODE
2.		[3-oxo-3-tiofen-2-il-1-trifluorometil-prop-(Z)-iliden]-hidrazida del ácido 2-hidroxi-benzoico	26,0	deCODE
3.		[3-oxo-3-furan-2-il-1-trifluorometil-prop-(Z)-iliden]-hidrazida del ácido 2-hidroxi-benzoico	13,5	deCODE
4.		N-(2-Metoxi-fenil)-2-oxo-2-{N'-[3-oxo-3-tiofen-2-il-1-trifluorometil-prop-(Z)-iliden]-hidrazino}-acetamida	3,9	deCODE

Nº	Estructura del compuesto	Nombre del compuesto	Cl <sub>50</sub> (µM)	Fuente
5.		Éster etílico del ácido 2-[[1-(2-hidroxi-3-metoxi-fenil)-met-(E)-ilidenhidrazinooxalil]-amino]-6-metil-4,5,6,7-tetrahydro-benzo[b]tiofen-3-carboxílico	3,5	Aldrich
6.		Éster etílico del ácido 2-[[1-(2-hidroxinaftalen-1-il)-met-(E)-ilidenhidrazinooxalil]-amino]-6-metil-4,5,6,7-tetrahydro-benzo[b]tiofen-3-carboxílico	4,4	Aldrich
7.		Éster etílico del ácido 2-[[1-(2-hidroxifenil)-met-(E)-ilidenhidrazinooxalil]-amino]-6-metil-4,5,6,7-tetrahydro-benzo[b]tiofen-3-carboxílico	1,1	Aldrich
8.		2-(3-etil-5-hidroxi-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-N-(2-metoxifenil)-2-oxoacetamida	7,0	ChemDiv
9.		2-(5-hidroxi-3-propil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-N-(2-metoxifenil)-2-oxoacetamida	6,4	ChemDiv
10.		2-(5-hidroxi-3-isopropil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-N-(2-metoxifenil)-2-oxoacetamida	24,3	ChemDiv
11.		2-(5-hidroxi-3-isobutil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-N-(2-metoxifenil)-2-oxoacetamida	3,2	ChemDiv
12.		(5-hidroxi-3-propil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)(2-hidroxifenil)metanona	8,5	ChemDiv
13.		N-(4-bromofenil)-2-(3-etil-5-hidroxi-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-2-oxoacetamida	17,0	ChemDiv
14.		2-(5-hidroxi-3-propil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-2-oxo-N-fenetilacetamida	34,4	ChemDiv
15.		N-(4-bromofenil)-2-(5-hidroxi-3-propil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-2-oxoacetamida	7,8	ChemDiv

Nº	Estructura del compuesto	Nombre del compuesto	Cl <sub>50</sub> (µM)	Fuente
16.		2-(3-butyl-5-hidroxi-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-2-oxo-N-fenetilacetamida	38,8	ChemDiv
17.		2-(5-hidroxi-3-isobutil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-2-oxo-N-fenetilacetamida	41,3	ChemDiv
18.		N-(4-bromofenil)-2-(5-hidroxi-3-pentil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-2-oxoacetamida	11,6	ChemDiv
19.		2-(5-hidroxi-3-pentil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-N-(4-metoxifenil)-2-oxoacetamida	8,7	ChemDiv
20.		2-(5-hidroxi-3-isopentil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-2-oxo-N-fenetilacetamida	17,0	ChemDiv
21.		2-(5-hidroxi-3-isopentil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-N-(4-metoxifenil)-2-oxoacetamida	6,4	ChemDiv
22.		2-(3-hexil-5-hidroxi-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-N-(4-metoxifenil)-2-oxoacetamida	8,2	ChemDiv
23.		2-(3-ciclohexil-5-hidroxi-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-N-(2-metoxifenil)-2-oxoacetamida	29,1	ChemDiv
24.		(E)-2-hidroxi-N'-((2-hidroxi-naftalen-1-il)metil)benzohidrazida	26,8	deCODE
25.		(E)-2-hidroxi-N'-((1-hidroxi-naftalen-2-il)metil)benzohidrazida	3,8	deCODE

N°	Estructura del compuesto	Nombre del compuesto	Cl <sub>50</sub> (μM)	Fuente
26.		(E)-N'-(3,5-dibromo-2-hidroxiciliden)-2-hidroxicilidrazida	5,8	deCODE
27.		(E)-N'-(5-bromo-2-hidroxiciliden)-2-hidroxicilidrazida	19,3	deCODE

### C. Pruebas y administración

Las dosis eficaces de las composiciones de la presente invención, para el tratamiento de las enfermedades descritas anteriormente, varían dependiendo de diferentes factores, incluyendo medios de administración, estado fisiológico del paciente, si el paciente es un ser humano o un animal, de otras medicaciones administradas, y de si el tratamiento es profiláctico o terapéutico. Normalmente, el paciente es un ser humano, pero en determinadas formas de realización, un paciente es un animal, particularmente un animal seleccionado de una especie de mamífero, incluyendo ratas, conejos, ganado bovino, ganado ovino, ganado porcino, canino, felino, murino, equino y primates.

Los compuestos pueden administrarse en múltiples ocasiones, en las que los intervalos entre las dosis individuales pueden ser a diario, semanalmente, mensualmente o anualmente. Los intervalos también pueden ser irregulares, como se indica midiendo las concentraciones en sangre de proteína Aβ<sub>1-42</sub> o LDDA, o complejos de LDDA en el paciente. Alternativamente, pueden administrarse uno o más de los compuestos de la invención como una formulación de liberación sostenida, en cuyo caso se requiere administración menos frecuente. La dosis y frecuencia pueden variar dependiendo de la semivida de los compuestos de la invención. En aplicaciones terapéuticas, se requiere a veces una dosis relativamente alta a intervalos relativamente cortos hasta que la evolución de la enfermedad se reduce o termina, y preferentemente hasta que el paciente presenta mejora parcial o completa de los síntomas de la enfermedad. Posteriormente, puede administrarse al paciente un régimen profiláctico.

La administración de una composición farmacéutica de los compuestos como se definen en las reivindicaciones puede llevarse a cabo por una variedad de vías, incluyendo, pero sin limitarse a, oral, tópica, pulmonar, rectal, subcutánea, intradérmica, intranasal, inyección intracraneal, intramuscular, intraocular, o intrarticular, y similares. La vía de administración más típica es la oral, aunque otras vías pueden ser igualmente eficaces.

Opcionalmente pueden administrarse uno o más compuestos como se definen en las reivindicaciones en combinación con otros agentes biológicos o químicos que son al menos parcialmente eficaces en el tratamiento de una enfermedad relacionada con Aβ<sub>1-42</sub>. Un ejemplo de dicho agente es, pero no se limita a, anticuerpos dirigidos contra Aβ<sub>1-42</sub>, tal como se describe en la solicitudes internacionales n<sup>os</sup> WO 2003/253673, WO 2006/014478, patente US n<sup>o</sup> 2.489.195, publicación US n<sup>o</sup> 2007-0048312, y la solicitud US 11/571.532.

Los compuestos como se definen en las reivindicaciones se pueden administrar a un paciente en una cantidad suficiente para inhibir, regular y/o modular la formación de LDDA neurotóxicos o la actividad de tales ligandos en dicho paciente. Un médico experto sería capaz de determinar fácilmente las cantidades apropiadas de los compuestos descritos en la presente memoria para inhibir, regular y/o modular de forma eficaz la formación de LDDA neurotóxicos o la actividad de tales ligandos en dicho paciente. Las cantidades contempladas de los compuestos descritos en la presente memoria incluyen, por ejemplo, pero no se limitan a, de aproximadamente 0,05 a 2000 mg/m<sup>2</sup>/día de un compuesto o de más de un compuesto.

Como se expuso anteriormente, los compuestos como se definen en las reivindicaciones pueden administrarse, por ejemplo, pero no se limitan a, por vía oral, tópica, pulmonar, rectal, subcutánea, intradérmica, intranasal, intracraneal, intramuscular, intraocular, o intraarterial, y similar. El vehículo o excipiente o mezcla de excipientes puede ser un disolvente o un medio de dispersión que contiene, por ejemplo, pero no se limitan a, diversos disolventes polares o apolares, mezclas adecuadas de los mismos, o aceites. Como se emplea en la presente memoria, "vehículo" o "excipiente" significa un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable, e incluye cualquiera y todos los disolventes, agentes o medios dispersantes, recubrimiento(s), agentes antimicrobianos, agentes iso/hipo/hipertónicos, agentes modificadores de la absorción, y similares. La utilización de dichas sustancias y de los agentes para sustancias farmacéuticamente activas es bien conocida en la técnica. Además, se puede incorporar también en la composición final otro principio activo o principio activo complementario.

Las enfermedades que se tratan por los compuestos como se definen en las reivindicaciones incluyen enfermedad de Alzheimer, síndrome de Down, apoplejía, deterioro cognitivo leve, demencia relacionada con isquemia focal, y degeneración neuronal.

5

#### D. Formulaciones farmacéuticas y vías de administración

Cuando se emplean como productos farmacéuticos, los compuestos de la presente invención se administran normalmente en forma de composiciones farmacéuticas. Estos compuestos se pueden administrar por varias vías, incluyendo la oral, tópica, pulmonar, rectal, subcutánea, intradérmica, intranasal, intracraneal, intramuscular, intraocular, o inyección intraarticular. Estos compuestos son eficaces como composiciones tanto inyectables como orales. Tales composiciones se preparan de una manera bien conocida en la técnica farmacéutica, y comprenden por lo menos un compuesto activo.

La presente invención también incluye composiciones farmacéuticas que contienen, como principio activo, uno o más de los compuestos como se definen en las reivindicaciones, relacionados con vehículos farmacéuticamente aceptables. Al preparar las composiciones de esta invención, el principio activo normalmente se mezcla con un excipiente, se diluye con un excipiente o está contenido dentro de dicho vehículo que puede estar en forma de cápsula, bolsita, papel u otro recipiente. El excipiente empleado es normalmente un excipiente adecuado para la administración a los pacientes. Cuando el excipiente sirve como diluyente, puede ser un material sólido, semisólido, o líquido, que actúa como un vehículo, portador o medio para el principio activo. Por consiguiente, las composiciones pueden estar en forma de comprimidos, píldoras, polvos, pastillas, sobres, sellos, elixires, suspensiones, emulsiones, disoluciones, jarabes, aerosoles (en forma sólida o en un medio líquido), ungüentos que contienen, por ejemplo, hasta 10% en peso del compuesto activo, cápsulas de gelatina blandas y duras, supositorios, disoluciones inyectables estériles, y polvos envasados estériles.

En la preparación de una formulación, puede ser necesario moler el compuesto activo para proporcionar el tamaño de partículas apropiado antes de combinarlo con los demás ingredientes. Si el compuesto activo es sustancialmente insoluble, normalmente se muele hasta un tamaño de partículas inferior a 200 mesh. Si el compuesto activo es sustancialmente soluble en agua, el tamaño de partículas se ajusta normalmente mediante molienda para proporcionar una distribución sustancialmente uniforme en la formulación, por ejemplo aproximadamente 40 mesh.

Algunos ejemplos de excipientes adecuados incluyen lactosa, dextrosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidones, goma arábica, fosfato de calcio, alginatos, tragacanto, gelatina, silicato de calcio, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona, celulosa, agua, jarabe y metilcelulosa. Las formulaciones pueden incluir además: agentes lubricantes tales como talco, estearato de magnesio y aceite mineral; agentes humectantes; agentes emulsionantes y de suspensión; agentes conservantes tales como hidroxibenzoatos de metilo y de propilo; agentes edulcorantes; y agentes aromatizantes. Las composiciones de la invención pueden formularse de manera que proporcionen una liberación rápida, mantenida o retardada del principio activo tras la administración al paciente empleando procedimientos conocidos en la técnica.

La administración de agentes terapéuticos mediante formulación intravenosa se conoce bien en la industria farmacéutica. Una formulación intravenosa debe poseer ciertas cualidades, aparte de ser sólo una composición en la que el agente terapéutico es soluble. Por ejemplo, la formulación debería favorecer la estabilidad general del principio o principios activos; también, la preparación de la formulación debe ser rentable. Todos estos factores determinan en última instancia el éxito y la utilidad global de una formulación intravenosa.

Otros aditivos accesorios que pueden incluirse en formulaciones farmacéuticas de los compuestos de la presente invención son los siguientes: disolventes: etanol, glicerol, propilenglicol; estabilizantes: ácido etilendiamintetraacético (EDTA), ácido cítrico; conservantes antimicrobianos: alcohol bencílico, metilparabeno, propilparabeno; agentes tamponantes: ácido cítrico/citrato de sodio, tartrato ácido de potasio, tartrato ácido de sodio, ácido acético/acetato sódico, ácido maleico/maleato sódico, ftalato ácido de sodio, ácido fosfórico/fosfato dibásico de potasio, ácido fosfórico/fosfato ácido disódico; y modificadores de tonicidad: cloruro de sodio, manitol y dextrosa.

La presencia de un tampón puede ser necesaria para mantener el pH acuoso en el intervalo de aproximadamente 4 a aproximadamente 8, y más preferentemente en un intervalo de aproximadamente 4 a aproximadamente 6. El sistema de tampón es generalmente una mezcla de un ácido débil y una sal soluble del mismo, por ejemplo citrato sódico/ácido cítrico, o la sal monocatiónica o dicatiónica de un ácido dibásico, por ejemplo tartrato ácido de potasio; tartrato ácido de sodio, ácido fosfórico/fosfato diácido de potasio y ácido fosfórico/fosfato ácido disódico.

La cantidad de sistema tampón utilizado depende de (1) el pH deseado, y (2) la cantidad de fármaco. Generalmente, la cantidad de tampón usada se encuentra en una relación molar de 0,5:1 a 50:1 de tampón:fármaco (en la que los moles de tampón se consideran los moles combinados de los ingredientes tampón, por ejemplo citrato de sodio y ácido cítrico) de formulación para mantener un pH en el intervalo de 4 a 8 y, en general, se utiliza una relación molar 1:1 a 10:1 de tampón (combinado) a fármaco presente.

65

Un tampón útil en la invención es el citrato de sodio/ácido cítrico en el intervalo de 5 a 50 mg por ml de citrato de sodio a 1 a 15 mg por ml de ácido cítrico, suficiente para mantener un pH acuoso de 4 a 6 de la composición.

5 El agente tamponante también puede estar presente para evitar la precipitación del fármaco mediante la formación de complejo metálico soluble con iones metálicos disueltos, por ejemplo Ca, Mg, Fe, Al, Ba, que pueden lixiviarse de envases de vidrio o tapones de caucho, o estar presentes en el agua de grifo normal. El agente puede actuar como un agente complejante competitivo con el fármaco y producir un complejo metálico soluble que conduce a la presencia de partículas no deseadas.

10 Además, puede ser necesaria la presencia de un agente, por ejemplo cloruro de sodio, en una cantidad de aproximadamente 1 a 8 mg/ml, para ajustar la tonicidad al mismo valor de la sangre humana para evitar la hinchazón o contracción de los eritrocitos en la administración de la formulación intravenosa, que conduce a efectos secundarios indeseables tales como náuseas o diarrea y posiblemente a trastornos sanguíneos relacionados. En general, la tonicidad de la formulación coincide con la de la sangre humana que está en el intervalo de 282 a 15 288 mOsm/kg, y en general es de 285 mOsm/kg, que es equivalente a la presión osmótica correspondiente a una disolución al 0,9% de cloruro de sodio.

La formulación intravenosa puede administrarse por inyección intravenosa directa, bolo i.v., o se puede administrar por infusión mediante adición a una disolución de infusión apropiada tal como inyección de cloruro sódico al 0,9% u 20 otra disolución de infusión compatible.

Las composiciones pueden formularse en forma de dosis unitaria oral. La expresión "formas de dosis unitarias" se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias para un paciente, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, junto con un 25 excipiente farmacéutico adecuado.

El compuesto activo es eficaz en un amplio intervalo de dosis, y se administra generalmente en una cantidad farmacéuticamente eficaz. Debe entenderse, sin embargo, que la cantidad del compuesto realmente administrada será determinada por un médico, a partir de las circunstancias relevantes, incluyendo la afección que ha de tratarse, 30 la vía de administración elegida, el compuesto real administrado, la edad, peso y respuesta de cada paciente, la gravedad de los síntomas del paciente, y similares.

Para preparar composiciones sólidas tales como comprimidos, el principio activo principal se mezcla con un excipiente farmacéutico para formar una composición de preformulación sólida que contiene una mezcla homogénea de un compuesto de la presente invención. Cuando se hace referencia a estas composiciones de preformulación como homogéneas, significa que el principio activo se dispersa uniformemente por toda la composición de manera que la composición puede subdividirse fácilmente en formas farmacéuticas unitarias igualmente eficaces tales como comprimidos, píldoras y cápsulas. Esta preformulación sólida se subdivide a continuación en formas farmacéuticas unitarias del tipo descrito anteriormente que contienen de, por ejemplo, 0,05 a aproximadamente 2000 mg del principio activo de la presente invención. 40

Los comprimidos o píldoras para su utilización como se define en las reivindicaciones pueden estar recubiertos o se pueden combinar de otro modo para proporcionar una forma farmacéutica que proporcione la ventaja de una acción prolongada. Por ejemplo, el comprimido o píldora puede constar de un componente para administración interna y un 45 componente para administración externa, estando este último en forma de una envoltura sobre el primero. Los dos componentes pueden estar separados por una capa entérica que sirve para resistir la disgregación en el estómago y permitir que el componente interno pase intacto al duodeno o que se retrase su liberación. Una variedad de materiales pueden utilizarse para dichas capas o recubrimientos entéricos, incluyendo dichos materiales una serie de ácidos poliméricos y mezclas de ácidos poliméricos con materiales tales como goma laca, alcohol cetílico y 50 acetato de celulosa.

Las formas líquidas en las que se pueden incorporar las nuevas composiciones de la presente invención como se define en las reivindicaciones para la administración por vía oral o por inyección incluyen jarabes adecuadamente aromatizados con disoluciones acuosas, suspensiones acuosas u oleosas, y emulsiones aromatizadas con aceites comestibles tales como aceite de semilla de algodón, aceite de sésamo, aceite de coco, o aceite de cacahuete, así como elixires y vehículos farmacéuticos similares. 55

Las composiciones para inhalación o insuflación incluyen disoluciones y suspensiones en disolventes acuosos u orgánicos, farmacéuticamente aceptables, o mezclas de los mismos, y polvos. Las composiciones líquidas o sólidas pueden contener excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados como se ha descrito anteriormente. Preferentemente, las composiciones se administran por la vía respiratoria oral o nasal para un efecto local o general. Las composiciones en disolventes preferentemente farmacéuticamente aceptables se pueden nebulizar mediante el uso de gases inertes. Las disoluciones nebulizadas pueden inhalarse directamente desde el dispositivo nebulizador, o el dispositivo nebulizador puede estar acoplado a una mascarilla facial o a una máquina de respiración a presión positiva intermitente. Las composiciones en disolución, suspensión o polvo pueden administrarse, preferentemente por vía oral o nasal, desde dispositivos que suministran la formulación de una manera apropiada. 60 65

Los siguientes ejemplos de formulación ilustran las composiciones farmacéuticas que se contemplan de la presente invención como se define en las reivindicaciones.

5 **Ejemplo 1 de formulación**

Se preparan cápsulas de gelatina duras que contienen los siguientes ingredientes:

Ingrediente	Cantidad (mg/cápsula)
Principio activo	30,0
Almidón	305,0
Estearato de magnesio	5,0

10 Los ingredientes anteriores se mezclan y se rellenan en cápsulas de gelatina duras en cantidades de 340 mg

**Ejemplo 2 de formulación**

Se prepara una fórmula de comprimido utilizando los siguientes ingredientes:

15

Ingrediente	Cantidad (mg/comprimido)
Principio activo	25,0
Celulosa, microcristalina	200,0
Dióxido de silicio coloidal	10,0
Ácido esteárico	5,0

Los componentes se mezclan y comprimen para formar comprimidos, pesando cada uno 240 mg.

**Ejemplo 3 de formulación**

20

Se prepara una formulación de inhalador de polvo seco que contiene los siguientes componentes:

Ingrediente	% en peso
Principio activo	5
Lactosa	95

El principio activo se mezcla con la lactosa, y la mezcla se añade a un dispositivo de inhalación de polvo seco.

25

**Ejemplo 4 de formulación**

Se preparan comprimidos, conteniendo cada uno 30 mg de principio activo, de la forma siguiente:

Ingrediente	Cantidad (mg/comprimido)
Principio activo	30,0 mg
Almidón	45,0 mg
Celulosa microcristalina	35,0 mg
Polivinilpirrolidona (como disolución al 10% en agua esterilizada)	4,0 mg
Carboximetil almidón sódico	4,5 mg
Estearato de magnesio	0,5 mg
Talco	1,0 mg

30

El principio activo, el almidón y la celulosa se pasan a través de un tamiz de malla US nº 20, y se mezcla a fondo. La disolución de polivinilpirrolidona se mezcla con los polvos resultantes, que se pasan a continuación a través de un tamiz de malla US nº 16. Los gránulos producidos de este modo se secan entre 50°C y 60°C y se pasan a través de un tamiz de malla US nº 16. El carboximetil almidón sódico, el estearato de magnesio y el talco se pasan previamente a través de un tamiz de malla US nº 30, se añaden a continuación a los gránulos que, después de mezclar, se comprimen en una máquina de comprimidos para producir comprimidos que pesan cada uno 120 mg.

35

**Ejemplo 5 de formulación**

40 Se preparan cápsulas, que contienen cada una 40 mg de medicamento, de la forma siguiente:

Ingrediente	Cantidad (mg/cápsula)
Principio activo	40,0 mg
Almidón	109,0 mg
Estearato de magnesio	1,0 mg
Total	150,0 mg

El principio activo, el almidón y estearato de magnesio se mezclan, se pasan a través de un tamiz de malla US nº 20, y se rellenan en cápsulas de gelatina duras en cantidades de 150 mg.

5 **Ejemplo 6 de formulación**

Se preparan supositorios, que contienen cada uno 25 mg de principio activo, de la forma siguiente:

Ingrediente	Cantidad
Principio activo	25 mg
Glicéridos de ácidos grasos saturados hasta	2000 mg

10 El principio activo se pasa por un tamiz de malla US nº 60 y se pone en suspensión en los glicéridos de ácidos grasos saturados previamente fundidos utilizando el calor mínimo necesario. La mezcla se vierte luego en un molde de supositorios de 2,0 g de capacidad nominal y se deja enfriar.

15 **Ejemplo 7 de formulación**

Se preparan suspensiones, que contienen cada una 50 mg de medicamento por cada 5,0 ml de dosis, de la forma siguiente:

Ingrediente	Cantidad
Principio activo	50,0 mg
Goma de xantano	4,0 mg
Carboximetilcelulosa de sodio (11%)	
Celulosa microcristalina (89%)	50,0 mg
Sacarosa	1,75 g
Benzoato sódico	10,0 mg
Aroma y color	c.s.
Agua purificada hasta	5,0 ml

20 El principio activo, la sacarosa y la goma de xantano se mezclan, se pasan a través de un tamiz de malla US nº 10, y a continuación se mezclan con una disolución previamente preparada de celulosa microcristalina y carboximetilcelulosa de sodio en agua. El benzoato de sodio, el saborizante y el colorante se diluyen con algo de agua y se añaden con agitación. A continuación se añade agua suficiente para producir el volumen requerido.

25 **Ejemplo 8 de formulación**

Ingrediente	Cantidad (mg/cápsula)
Principio activo	5,0 mg
Almidón	407,0 mg
Estearato de magnesio	3,0 mg
Total	425,0 mg

30 El principio activo, el almidón y el estearato de magnesio se mezclan, se pasan a través de un tamiz de malla US nº 20 y se rellenan en cápsulas de gelatina duras en cantidades de 425,0 mg.

35 **Ejemplo 9 de formulación**

Una formulación subcutánea se puede preparar de la forma siguiente:

Ingrediente	Cantidad
Principio activo	5,0 mg
Aceite de maíz	1,0 ml

40 **Ejemplo 10 de formulación**

Una formulación intravenosa puede prepararse de la forma siguiente:

Ingrediente	Cantidad
Principio activo	250 mg
Solución salina isotónica	1000 ml

Otra formulación emplea dispositivos de administración transdérmica ("parches"). Dichos parches transdérmicos pueden utilizarse para proporcionar infusión continua o discontinua de los compuestos de la presente invención en cantidades controladas. La construcción y utilización de parches transdérmicos para la administración de agentes

farmacéuticos es bien conocida en la técnica. Véase, por ejemplo, la patente US nº 5.023.252, publicada el 11 de junio 1991. Dichos parches pueden construirse para la administración continua, pulsátil o según demanda de agentes farmacéuticos.

5 Frecuentemente, será deseable o necesario introducir la composición farmacéutica en el cerebro, ya sea directa o indirectamente. Las técnicas directas implican normalmente la colocación de un catéter de suministro de fármaco en el sistema ventricular del anfitrión para evitar la barrera hematoencefálica. Uno de dichos sistemas de suministro implantable empleado para el transporte de factores biológicos a regiones anatómicas específicas del cuerpo se describe en la patente US nº 5.011.472.

10 Las técnicas indirectas normalmente implican formular las composiciones para proporcionar la latencia del fármaco mediante la conversión de fármacos hidrófilos en fármacos liposolubles. La latencia se consigue generalmente mediante el bloqueo de los grupos hidroxilo, carbonilo, sulfato y amina primaria presentes en el fármaco para hacer al fármaco más liposoluble y susceptible al transporte a través de la barrera hematoencefálica. Alternativamente, el suministro de fármacos hidrófilos se puede potenciar por infusión intraarterial de disoluciones hipertónicas, que pueden abrir transitoriamente la barrera hematoencefálica.

15 Otras formulaciones adecuadas para su utilización en la presente invención se pueden encontrar en Remington's Pharmaceutical Sciences, Mace Publishing Company, Filadelfia, PA., 17ª ed. (1985).

20 Como se expuso anteriormente, los compuestos descritos en la presente memoria son adecuados para su uso en una variedad de sistemas de suministro de fármacos descritos anteriormente. Además, con el fin de mejorar la semivida en el suero *in vivo* del compuesto administrado, los compuestos pueden encapsularse, introducirse en la luz de liposomas, prepararse como un coloide, o pueden emplearse otras técnicas convencionales que proporcionan una semivida prolongada de los compuestos en el suero. Una variedad de procedimientos están disponibles para preparar liposomas, como se describe en, por ejemplo, Szoka, *et al.*, patentes US nº 4.235.871, nº 4.501.728 y nº 4.837.028.

25 En aplicaciones profilácticas, las composiciones se administran a un paciente en situación de riesgo de desarrollar la EA (determinado por ejemplo por cribado genético o rasgo familiar) en una cantidad suficiente para inhibir la aparición de los síntomas de la enfermedad. Una cantidad adecuada para lograr esto se define como "dosis profilácticamente eficaz". Las cantidades eficaces para esta utilización dependerán del criterio del médico responsable, dependiendo de factores tales como la edad, el peso y el estado general del paciente.

30 Como se expuso anteriormente, los compuestos como se definen en las reivindicaciones administrados a un paciente están en forma de composiciones farmacéuticas descritas anteriormente. Estas composiciones pueden esterilizarse mediante técnicas de esterilización convencionales, o pueden filtrarse de forma esterilizante. Las disoluciones acuosas resultantes pueden ser envasadas para uso como tales, o liofilizadas, combinándose la preparación liofilizada con un vehículo acuoso estéril antes de la administración. El pH de las preparaciones del compuesto por lo general estará entre 3 y 11, más preferentemente entre 5 y 9, y aún más preferentemente entre 7 y 8. Debe entenderse que el empleo de algunos de los excipientes, vehículos o estabilizantes anteriores darán como resultado la formación de sales farmacéuticas.

35 Los siguientes ejemplos sintéticos y biológicos se proporcionan para ilustrar la presente invención y no deben interpretarse en modo alguno como limitantes del alcance de la presente invención. A menos que se indique lo contrario, todas las temperaturas están en grados Celsius.

## EJEMPLOS

40 La invención se pondrá más claramente de manifiesto haciendo referencia a los siguientes ejemplos.

En estos ejemplos y en otras partes, las abreviaturas tienen los siguientes significados:

45  $\mu$ l = microlitro  
 50 g = gramo  
 h = hora  
 Hz = hercio  
 M = Molar  
 mg = miligramos  
 55 min = minuto  
 ml = mililitro  
 mM = milimolar  
 mm = milímetros  
 mmol = milimolar  
 60 mol = moles  
 MS = espectroscopia de masas

N = Normal  
 nm = nanómetros  
 $\mu$ M = micromolar  
 DMSO = dimetilsulfóxido

5

### Ejemplo 1

#### Ensayo de TERF

10 La Transferencia de Energía por Resonancia Fluorescente (TERF) (o Förster) es una transferencia de energía no radiactiva, dependiente de la distancia, en la que la desexcitación de un fluoróforo (donante) se acopla a la excitación de otro fluoróforo (aceptor). La TERF se produce si (1) el cuanto de energía emitida por un fluoróforo donante corresponde a la energía de excitación de un fluoróforo aceptor, (2) las orientaciones de los dipolos de transición donante y aceptor son casi paralelas, y (3) el espectro de emisión fluorescente del donante solapa al espectro de absorción del aceptor.

15

En este ensayo, la formación de oligómeros de  $A\beta_{1-42}$  se monitoriza por TERF utilizando conjugados N terminales de fluoresceína- $A\beta_{1-42}$  como fluoróforo donante como aceptor (fluoresceína-fluoresceína  $R_0 \sim 45 \text{ \AA}$ ). Los monómeros  $A\beta_{1-42}$  que se ensamblan en especies oligoméricas dan como resultado una disminución de la fluorescencia a medida que los péptidos  $A\beta_{1-42}$  marcados con fluoresceína llegan a estar próximos entre sí y aumenta la eficacia de TERF. La inhibición del ensamblaje de  $A\beta_{1-42}$  se observa como la ausencia o atenuación de extinción de la fluoresceína.

20

Los ensayos de TERF y PF se llevan a cabo en placas de microtitulación negras, opacas, Corning Non-Binding Surface, de 384 pocillos, y el tampón de ensayo consiste en MOPS-Tris 50 mM (pH 8,0) con  $MgCl_2$  100 mM. El volumen de ensayo, que contiene FITC- $A\beta(1-42)$  0,2  $\mu$ M y  $A\beta(1-42)$  0,8  $\mu$ M, es de 50  $\mu$ l, y la temperatura es 37°C. El ensamblaje de LDDA se monitoriza en un lector de placas Tecan GENios Pro, excitándose a una longitud de onda de 485 nm y detectando la emisión a una longitud de onda de 515 nm. Los huellas cinéticas se recogen registrando la intensidad de fluorescencia y las lecturas de polarización cada cinco minutos durante un periodo de alrededor de tres a alrededor de seis horas. Las reacciones de referencia negativa, que no se ensamblan apreciablemente en LDDA durante este tiempo, carecen de  $MgCl_2$ , pero contienen todos los demás componentes tamponantes y peptídicos. Las reacciones de referencia positiva contienen todos los componentes del tampón en ausencia de reactivos de anticuerpos o pequeñas moléculas añadidos. Para la prueba de inhibición del ensamblaje de LDDA, el compuesto no peptídico se incubó con la mezcla de péptidos a seis concentraciones, desde aproximadamente 30  $\mu$ M disminuyendo hasta aproximadamente 0,05  $\mu$ M.

25

30

35

Utilizando el ensayo descrito anteriormente con las condiciones de: monómero total  $A\beta_{1-42}$  1 mM;  $MgCl_2$  100 mM; y compuesto de ensayo A que oscila de 0,05 a 3 mM, el compuesto de ensayo A presenta inhibición dependiente de la dosis del ensamblaje del oligómero  $A\beta_{1-42}$ , como se muestra en la figura 1. El compuesto de ensayo A aparece como compuesto 7 en la Tabla 1. Además, el compuesto B de ensayo ensayado a una concentración de 30  $\mu$ M muestra sólo inhibición parcial del ensamblaje a concentraciones muy altas (figura 1). Los ejemplos de otros compuestos que tienen un peso molecular inferior a 1000 y actividad necesaria como los analizados en este ensayo se encuentran en la Tabla 1.

40

### 45 Ejemplo 2

#### Ejemplo comparativo de supuesto bloqueador del ensamblaje de $A\beta$

Utilizando el ensayo de TERF descrito anteriormente, se probaron varios compuestos originalmente desarrollados como bloqueadores de fibrillas amiloides para el bloqueo del ensamblaje del monómero de  $A\beta_{1-42}$  en oligómeros de  $A\beta$ . Los compuestos probados incluyen, Alzhemed™ (Neurochem), escilo-inositol conocido también como AZD-103 (Ellipsis), SP-235 (Samaritan), benzofuranos (GE), 9-acridinonas (Warner-Lambert), ciclodextrinas (University of Illinois, Chicago), RS-406 (Sankyo), Clioquinol (Prana) y Curcumina (UCLA/UCI). Se utilizaron las condiciones de ensayo estándar TERF descritas en el Ejemplo 1. La incapacidad del compuesto Alzhemed para inhibir el ensamblaje del monómero de  $A\beta_{1-42}$  en oligómeros de  $A\beta$  se muestra en la figura 2. Estos resultados son representativos de todos los compuestos mencionados anteriormente, que fueron desarrollados originalmente como bloqueadores de fibrillas amiloides.

55

### 60 Ejemplo 3

#### Modelo de rata de relación cíclica de palanca alternante

#### Introducción

65 Se probaron preparaciones de los LDDA de  $A\beta_{1-42}$  y un compuesto terapéutico potencial conforme al modelo de rata de relación cíclica de palanca alternante (ALCR) de EA. Este modelo muy sensible ha sido capaz de detectar

deficiencias cognitivas debidas a la inyección directa de oligómeros de A $\beta$  procedentes de células en el cerebro de rata. En este estudio, se probó una inyección directa de los LDDA preparados a partir de A $\beta$ <sub>1-42</sub> sintético y un supuesto compuesto terapéutico según el procedimiento ALCR.

- 5 La prueba ALCR ha demostrado ser mucho más sensible que los procedimientos previamente publicados para medir los efectos de los fármacos sobre la función cognitiva. En esta tarea, las ratas tienen que aprender una secuencia compleja de requisitos de presión de la palanca a fin de conseguir refuerzos de comida en una cámara experimental con dos palancas. Los sujetos deben alternar entre dos palancas, cambiando a la otra palanca después de presionar la primera palanca lo suficiente para obtener recompensa de comida. El número exacto de presiones necesarias para cada recompensa de comida cambia, aumentando en primer lugar desde 2 respuestas por pelete de comida hasta 56 presiones por pelete de comida, volviendo a reducir a continuación a 2 respuestas por pelete. Los valores intermedios se basan en la función cuadrática,  $x^2-x$ . Un ciclo es una secuencia completa ascendente y descendente de estos requisitos de presión de la palanca (por ejemplo, 2, 6, 12, 20, 30, 42, 56, 56, 42, 30, 20, 12, 6 y 2 presiones por recompensa de comida). Se presentaron seis de dichos ciclos completos durante cada sesión diaria. Se puntúan los errores cuando el sujeto persevera en una palanca después de presionar lo suficiente para obtener la recompensa de comida, es decir, sin alternar (error de perseverancia), o cuando un sujeto cambia de palanca antes de completar el requisito de respuesta en esa palanca (error de estrategia).

#### Materiales y procedimientos

- 20 Se disuelve polvo de A $\beta$ <sub>1-42</sub> sintético en 1,1,1,3,3,3-hexafluoroisopropanol (HFIP) para proporcionar una disolución de A $\beta$ <sub>1-42</sub> en HFIP de aproximadamente 1 mM, y se deja incubar a temperatura ambiente durante aproximadamente 1 h. La disolución resultante se enfría en hielo durante unos 5 a 10 minutos, a continuación se distribuye en alícuotas en tubos eppendorf para proporcionar aproximadamente 50  $\mu$ l de disolución por tubo. Los tubos se colocan a continuación en una campana de extracción de humos y se deja reposar toda la noche para permitir que el HFIP se evapore bajo una corriente lenta de nitrógeno. Para eliminar las trazas finales de HFIP, los tubos se someten a dos ciclos de Speedvac de 15 min a temperatura ambiente y aproximadamente 15 a 25 pulg Hg de vacío. Las películas resultantes de péptido A $\beta$ <sub>1-42</sub> monomerizado se almacenan sobre desecante a -80°C hasta su utilización.

- 30 Un tubo de péptido A $\beta$ <sub>1-42</sub> monomerizado se calienta hasta la temperatura ambiente y el péptido A $\beta$ <sub>1-42</sub> se disuelve en DMSO anhidro para proporcionar una disolución madre del péptido en DMSO, que contiene aproximadamente 10  $\mu$ M a aproximadamente 100  $\mu$ M de péptido A $\beta$ <sub>1-42</sub> en DMSO.

- 35 Se añaden 2  $\mu$ l de una disolución madre 20 mM del compuesto de ensayo en DMSO anhidro hasta aproximadamente 998  $\mu$ l de medio basal neural (exento de rojo fenol, Gibco 12348-017) para proporcionar una disolución del compuesto en medio basal neural que contiene 40  $\mu$ M de compuesto de ensayo en medio basal neural.

- 40 Para el tratamiento sólo con péptido A $\beta$ <sub>1-42</sub>, se añade la disolución madre del péptido en DMSO a la disolución de medio basal neuronal a 37°C para obtener la concentración requerida de monómero del péptido A $\beta$ <sub>1-42</sub>, para que la concentración máxima de DMSO sea del 1% o inferior, y el tubo se agita con vórtice durante 30 a 60 segundos, se centrifuga brevemente en una microcentrifugadora y se incuba a 37°C durante 15 min antes del comienzo de las inyecciones.

- 45 Para el tratamiento con péptido A $\beta$ <sub>1-42</sub> más el compuesto de ensayo, se añade la disolución madre del péptido en DMSO a la disolución de medio basal neuronal a 37°C para obtener la concentración requerida de monómero del péptido A $\beta$ <sub>1-42</sub>, para que la concentración máxima de DMSO sea del 1% o inferior, y el tubo se agita con vórtice durante 30 a 36 segundos, se centrifuga brevemente en una microcentrifugadora y se incuba a 37°C durante 15 min antes del comienzo de las inyecciones.

- 50 Para las inyecciones de referencia, la disolución del compuesto en medio basal neural se incuba a 37°C durante 15 min antes del comienzo de las inyecciones.

- 55 Ratas: Se entrenan ratas bajo ALCR hasta que sus índices de error son estables. Una vez que las ratas están situadas en el procedimiento ALCR final, las sesiones de entrenamiento se llevan a cabo 7 días cada semana hasta el final del estudio.

- 60 Intervención quirúrgica: Todas las ratas reciben una sola cánula de calibre 28, que está permanentemente fija al cráneo, y dirigida al ventrículo lateral. La mitad de las ratas reciben la cánula en el ventrículo derecho y la otra mitad reciben la cánula en el ventrículo izquierdo. Se deja a las ratas 5 días para que se recuperen de la intervención quirúrgica antes de reanudar los entrenamientos.

- 65 Inyección del material de ensayo y pruebas ALCR: Se realizan pruebas aproximadamente cada cuatro días. Los animales recibieron una inyección de 20  $\mu$ l de disoluciones de referencia, de péptido o de péptido más compuesto a través de la cánula implantada durante aproximadamente 3 a 4 minutos. Se realizan pruebas con los animales aproximadamente 3 horas después de la inyección.

Análisis del índice de error: Todos los índices de error menores se compararán con los índices de error de referencia que consisten en por lo menos 3 días sin tratamiento contiguos en el tiempo a la inyección. La prueba de la t de Student de inferencia estadística se utilizó para el análisis de los efectos.

5

Resultados

Se descubrió un aumento significativo en el índice de error de perseverancia entre los índices de error de referencia y los índices de error producidos por la concentración requerida de los LDDA de  $A\beta_{1-42}$  (Tabla 2). El compuesto de ensayo C no aumentó los índices de error cuando se administró solo. Cuando el compuesto de ensayo C se combinó con los LDDA de  $A\beta_{1-42}$ , el compuesto eliminó el aumento de los errores de perseverancia. Por lo tanto, el compuesto de ensayo C rescató errores producidos por la concentración requerida de los LDDA de  $A\beta_{1-42}$ . El compuesto de ensayo C aparece como compuesto 24 en la Tabla 1.

15

Tabla 2. Tasa de error ALCR

Inyectado	Errores de estrategia			Errores de perseverancia		
	Media	SEM	Valor de p	Media	SEM	Valor de p
LDDA de $A\beta_{1-42}$	1,02	0,07	NS	1,33	0,16	0,045
Compuesto de ensayo C	0,96	0,07	NS	0,95	0,15	NS
LDDA de $A\beta_{1-42}$ + Compuesto de ensayo C	1,00	0,08	NS	0,92	0,10	NS

Tasa de error de referencia ecualizada a 1,00. NS representa diferencia estadísticamente no significativa.

## REIVINDICACIONES

1. Compuesto seleccionado de entre el grupo que consiste en:

- 5 [3-oxo-3-(1-metil-1H-pirazol-5-il)-1-trifluorometil-prop-(Z)-iliden]-hidrazida del ácido 2-hidroxi-benzoico;  
 [3-oxo-3-tiofen-2-il-1-bifluorometil-prop-(Z)-iliden]-hidrazida del ácido 2-hidroxi-benzoico;  
 [3-oxo-3-furan-2-il-1-trifluorometil-prop-(Z)-iliden]-hidrazida del ácido 2-hidroxi-benzoico;
- 10 N-(2-Metoxi-fenil)-2-oxo-2-{N'-[3-oxo-3-tiofen-2-il-1-trifluorometil-prop-(Z)-iliden]-hidrazino}-acetamida;  
 Éster etílico del ácido 2-[[1-(2-hidroxi-3-metoxi-fenil)-met-(E)-iliden-hidrazinooxalil]-amino]-6-metil-4,5,6,7-tetrahydro-benzo[b]tiofen-3-carboxílico,
- 15 Éster etílico del ácido 2-[[1-(2-hidroxinaftalen-1-il)-met-(E)-iliden-hidrazinooxalil]-amino]-6-metil-4,5,6,7-tetrahydro-benzo[b]tiofen-3-carboxílico;
- 20 Éster etílico del ácido 2-[[1-(2-hidroxifenil)-met-(E)-iliden-hidrazinooxalil]-amino]-6-metil-4,5,6,7-tetrahydro-benzo[b]tiofeno-3-carboxílico;
- 2-(3-etil-5-hidroxi-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-N-(2-metoxifenil)-2-oxoacetamida;
- 2-(5-hidroxi-3-propil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-N-(2-metoxifenil)-2-oxoacetamida;
- 25 2-(5-hidroxi-3-isopropil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-N-(2-metoxifenil)-2-oxoacetamida;
- 2-(5-hidroxi-3-isobutil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-N-(2-metoxifenil)-2-oxoacetamida;
- 30 (5-hidroxi-3-propil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)(2-hidroxifenil)metanona;
- N-(4-bromofenil)-2-(3-etil-5-hidroxi-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-2-oxoacetamida;
- 2-(5-hidroxi-3-propil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-2-oxo-N-fenilacetamida;
- 35 N-(4-bromofenil)-2-(5-hidroxi-3-propil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-2-oxoacetamida;
- 2-(3-butil-5-hidroxi-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-2-oxo-N-fenilacetamida;
- 40 2-(5-hidroxi-3-isobutil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-2-oxo-N-fenilacetamida;
- N-(4-bromofenil)-2-(5-hidroxi-3-pentil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-2-oxoacetamida;
- 2-(5-hidroxi-3-pentil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-N-(4-metoxifenil)-2-oxoacetamida;
- 45 2-(5-hidroxi-3-isopentil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-2-oxo-N-fenilacetamida;
- 2-(5-hidroxi-3-isopentil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-N-(4-metoxifenil)-2-oxoacetamida;
- 50 2-(3-hexil-5-hidroxi-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-N-(4-metoxifenil)-2-oxoacetamida;
- 2-(3-ciclohexil-5-hidroxi-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-N-(2-metoxifenil)-2-oxoacetamida;
- (E)-2-hidroxi-N'-((2-hidroxinaftalen-1-il)metilen)benzohidrazida;
- 55 (E)-2-hidroxi-N'-((1-hidroxinaftalen-2-il)metilen)benzohidrazida;
- (E)-N'-(3,5-dibromo-2-hidroxibenciliden)-2-hidroxibenzohidrazida; y
- 60 (E)-N'-(5-bromo-2-hidroxibenciliden)-2-hidroxibenzohidrazida

para su utilización en un procedimiento para mejorar la función cognitiva en un paciente que presenta una función cognitiva disminuida debido a neurotoxicidad por LDDA.

65 2. Compuesto para su utilización según la reivindicación 1, en el que la función cognitiva disminuida en un paciente es debida a sufrir o al riesgo de sufrir una enfermedad asociada con la formación y/o actividad de LDDA.

3. Compuesto para su utilización según la reivindicación 2, en el que la enfermedad se selecciona de entre el grupo que consiste en enfermedad de Alzheimer, síndrome de Down, apoplejía y deterioro cognitivo leve.
- 5 4. Compuesto para su utilización según la reivindicación 1, en el que el compuesto se administra en un cantidad de aproximadamente 0,05 miligramos a aproximadamente 1000 miligramos, una o más veces al día.
5. Compuesto para su utilización según la reivindicación 4, en el que el compuesto se administra en una composición farmacéutica, que comprende además un excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 10 6. Compuesto para su utilización según la reivindicación 1, en el que la función cognitiva disminuida en un paciente es debida a una enfermedad asociada con fibrillas amiloides insolubles, placas seniles y/u ovillos.
- 15 7. Compuesto para su utilización según la reivindicación 1, en el que la función cognitiva disminuida en un paciente es debida a una enfermedad asociada con la sobreexpresión de la proteína A $\beta$ <sub>1-42</sub>.
8. Compuesto para su utilización según la reivindicación 7, en el que la enfermedad se selecciona de entre el grupo que consiste en demencia asociada con isquemia focal y degeneración neuronal.
- 20 9. Compuesto seleccionado de entre el grupo que consiste en:
- [3-oxo-3-(1-metil-1H-pirazol-5-il)-1-trifluorometil-prop-(Z)-iliden]-hidrazida del ácido 2-hidroxi-benzoico;
- [3-oxo-3-tiofen-2-il-1-trifluorometil-prop-(Z)-iliden]-hidrazida del ácido 2-hidroxi-benzoico;
- 25 [3-oxo-3-furan-2-il-1-trifluorometil-prop-(Z)-iliden]-hidrazida del ácido 2-hidroxi-benzoico;
- N-(2-Metoxi-fenil)-2-oxo-2-[N'-[3-oxo-3-tiofen-2-il-trifluorometil-prop-(Z)-iliden]-hidrazino]-acetamida;
- 30 Éster etílico del ácido 2-[[1-(2-hidroxi-3-metoxi-fenil)-met-(E)-iliden-hidrazinoxalil]-amino]-6-metil-4,5,6,7-tetrahydro-benzo[b]tiofen-3-carboxílico;
- 35 Éster etílico del ácido 2-[[1-(2-hidroxinaftalen-1-il)-met-(E)-iliden-hidrazinoxalil]-amino]-6-metil-4,5,6,7-tetrahydro-benzo[b]tiofen-3-carboxílico;
- Éster etílico del ácido 2-[[1-(2-hidroxifenil)-met-(E)-iliden-hidrazinoxalil]-amino]-6-metil-4,5,6,7-tetrahydro-benzo[b]tiofeno-3-carboxílico;
- 40 2-(3-etil-5-hidroxi-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-N-(2-metoxifenil)-2-oxoacetamida;
- 2-(5-hidroxi-3-propil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-N-(2-metoxifenil)-2-oxoacetamida;
- 2-(5-hidroxi-3-isopropil-5-(bifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-N-(2-metoxifenil)-2-oxoacetamida;
- 45 2-(5-hidroxi-3-isobutil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-N-(2-metoxifenil)-2-oxoacetamida;
- (5-hidroxi-3-propil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)(2-hidroxifenil)metanona;
- 50 N-(4-bromofenil)-2-(3-etil-5-hidroxi-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-2-oxoacetamida;
- 2-(5-hidroxi-3-propil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-2-oxo-N-fenilacetamida;
- N-(4-bromofenil)-2-(5-hidroxi-3-propil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-2-oxoacetamida;
- 55 2-(3-butil-5-hidroxi-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-2-oxo-N-fenilacetamida;
- 2-(5-hidroxi-3-isobutil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-2-oxo-N-fenilacetamida;
- 60 N-(4-bromofenil)-2-(5-hidroxi-3-pentil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-2-oxoacetamida;
- 2-(5-hidroxi-3-pentil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-N-(4-metoxifenil)-2-oxoacetamida;
- 2-(5-hidroxi-3-isopentil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-2-oxo-N-fenilacetamida;
- 65 2-(5-hidroxi-3-isopentil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-N-(4-metoxifenil)-2-oxoacetamida;

2-(3-hexil-5-hidroxi-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-N-(4-metoxifenil)-2-oxoacetamida;  
 2-(3-ciclohexil-5-hidroxi-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-N-(2-metoxifenil)-2-oxoacetamida;  
 5 (E)-2-hidroxi-N'-((2-hidroxinaftalen-1-il)metilen)benzohidrazida;  
 (E)-2-hidroxi-N'-((1-hidroxinaftalen-2-il)metilen)benzohidrazida;  
 (E)-N'-(3,5-dibromo-2-hidroxibenciliden)-2-hidroxibenzohidrazida; y  
 10 (E)-N'-(5-bromo-2-hidroxibenciliden)-2-hidroxibenzohidrazida

para su utilización en un procedimiento para tratar un paciente que sufre función cognitiva disminuida debido a sufrir o al riesgo de sufrir una enfermedad seleccionada de entre el grupo que consiste en enfermedad de Alzheimer, síndrome de Down, apoplejía, deterioro cognitivo leve, demencia asociada con isquemia focal y degeneración neuronal.

10. Compuesto para su utilización según la reivindicación 9, en el que el compuesto se administra en un cantidad de aproximadamente 0,05 miligramos a aproximadamente 1000 miligramos, una o más veces al día.

11. Compuesto para su utilización según la reivindicación 10, en el que el compuesto se administra en una composición farmacéutica, que comprende además un excipiente farmacéuticamente aceptable.

12. Compuesto para su utilización según la reivindicación 9, en el que dicho compuesto se selecciona de entre el grupo que consiste en:

N-(2-Metoxi-fenil)-2-oxo-2-{N'-[3-oxo-3-tiofen-2-il-1-trifluorometil-prop-(Z)-iliden]-hidrazino}-acetamida;  
 30 Éster etílico del ácido 2-[[1-(2-hidroxi-3-metoxi-fenil)-met-(E)-iliden-hidrazinooxalil]-amino]-6-metil-4,5,6,7-tetrahidro-benzo[b]tiofen-3-carboxílico;  
 Éster etílico del ácido 2-[[1-(2-hidroxinaftalen-1-il)-met-(E)-iliden-hidrazinooxalil]-amino]-6-metil-4,5,6,7-tetrahidro-benzo[b]tiofen-3-carboxílico;  
 35 Éster etílico del ácido 2-[[1-(2-hidroxifenil)-met-(E)-iliden-hidrazinooxalil]-amino]-6-metil-4,5,6,7-tetrahidro-benzo[b]tiofen-3-carboxílico;  
 2-(5-hidroxi-3-isobutil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-N-(2-metoxifenil)-2-oxoacetamida; y  
 40 (E)-2-hidroxi-N'-((1-hidroxinaftalen-2-il)metilen)benzohidrazida.

13. Compuesto para su utilización según la reivindicación 12, en el que dicho compuesto es éster etílico del ácido 2-[[1-(2-hidroxifenil)-met-(E)-iliden-hidrazinooxalil]-amino]-6-metil-4,5,6,7-tetrahidro-benzo[b]tiofen-3-carboxílico.

14. Composición para su utilización en un procedimiento para mejorar la función cognitiva en un paciente que presenta una función cognitiva disminuida debido a neurotoxicidad por LDDA, en la que la composición comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto seleccionado de entre el grupo que consiste en

[3-oxo-3-(1-metil-1H-pirazol-5-il)-1-trifluorometil-prop-(Z)-iliden]-hidrazida del ácido 2-hidroxi-benzoico;  
 50 [3-oxo-3-tiofen-2-il-1-trifluorometil-prop-(Z)-iliden]-hidrazida del ácido 2-hidroxi-benzoico;  
 [3-oxo-3-furan-2-il-1-trifluorometil-prop-(Z)-iliden]-hidrazida del ácido 2-hidroxi-benzoico;  
 55 N-(2-Metoxi-fenil)-2-oxo-2-{N'-[3-oxo-3-tiofen-2-il-1-trifluorometil-prop-(Z)-iliden]-hidrazino}-acetamida;  
 Éster etílico del ácido 2-[[1-(2-hidroxi-3-metoxi-fenil)-met-(E)-iliden-hidrazinooxalil]-amino]-6-metil-4,5,6,7-tetrahidro-benzo[b]tiofen-3-carboxílico;  
 60 Éster etílico del ácido 2-[[1-(2-hidroxinaftalen-1-il)-met-(E)-iliden-hidrazinooxalil]-amino]-6-metil-4,5,6,7-tetrahidro-benzo[b]tiofen-3-carboxílico;  
 Éster etílico del ácido 2-[[1-(2-hidroxifenil)-met-(E)-iliden-hidrazinooxalil]-amino]-6-metil-4,5,6,7-tetrahidro-benzo[b]tiofen-3-carboxílico;  
 65 2-(3-etil-5-hidroxi-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-N-(2-metoxifenil)-2-oxoacetamida;

- 2-(5-hidroxi-3-propil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-N-(2-metoxifenil)-2-oxoacetamida;
- 5 2-(5-hidroxi-3-isopropil)-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-N-(2-metoxifenil)-2-oxoacetamida;
- 2-(5-hidroxi-3-isobutil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-N-(2-metoxifenil)-2-oxoacetamida;
- (5-hidroxi-3-propil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)(2-hidroxifenil)metanona;
- 10 N-(4-bromofenil)-2-(3-etil-5-hidroxi-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-2-oxoacetamida;
- 2-(5-hidroxi-3-propil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-2-oxo-N-fenetilacetamida;
- 15 N-(4-bromofenil)-2-(5-hidroxi-3-propil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)2-oxoacetamida;
- 2-(3-butil-5-hidroxi-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-2-oxo-N-fenetilacetamida;
- 2-(5-hidroxi-3-isobutil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-2-oxo-N-fenetilacetamida;
- 20 N-(4-bromofenil)-2-(5-hidroxi-3-pentil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-2-oxoacetamida;
- 2-(5-hidroxi-3-pentil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-N-(4-metoxifenil)-2-oxoacetamida;
- 25 2-(5-hidroxi-3-isopentil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-2-oxo-N-fenetilacetamida;
- 2-(5-hidroxi-3-isopentil-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-N-(4-metoxifenil)-2-oxoacetamida;
- 2-(3-hexil-5-hidroxi-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-N-(4-metoxifenil)-2-oxoacetamida;
- 30 2-(3-ciclohexil-5-hidroxi-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)-N-(2-metoxifenil)-2-oxoacetamida;
- (E)-2-hidroxi-N'-((2-hidroxinaftalen-1-il)metilen)benzohidrazida;
- (E)-2-hidroxi-N'-((1-hidroxinaftalen-2-il)metilen)benzohidrazida;
- 35 (E)-N'-(3,5-dibromo-2-hidroxibenciliden)-2-hidroxibenzohidrazida; y
- (E)-N'-(5-bromo-2-hidroxibenciliden)-2-hidroxibenzohidrazida.
- 40 15. Composición para su utilización según la reivindicación 14, en la que la composición comprende además un excipiente farmacéuticamente aceptable.

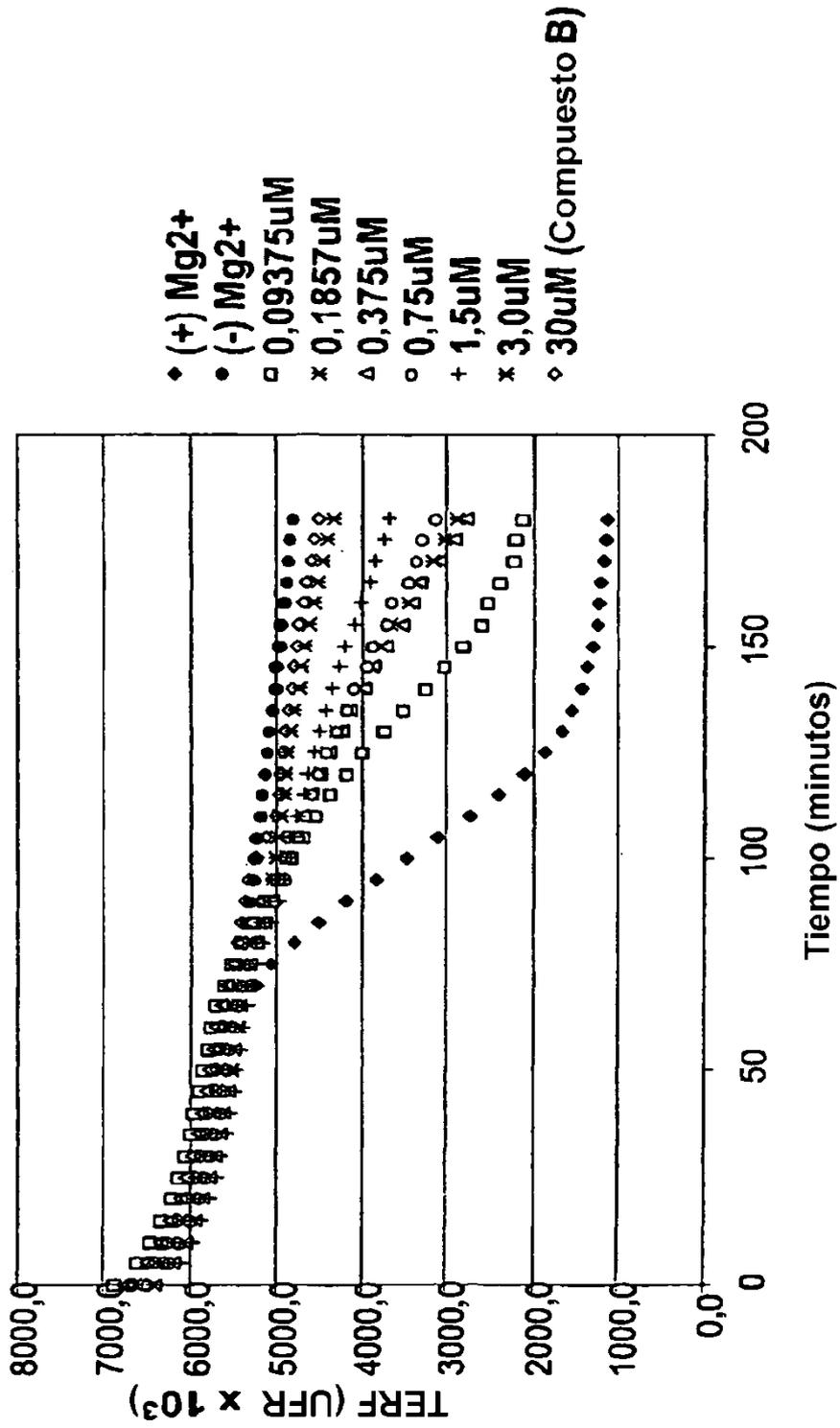


FIG.1

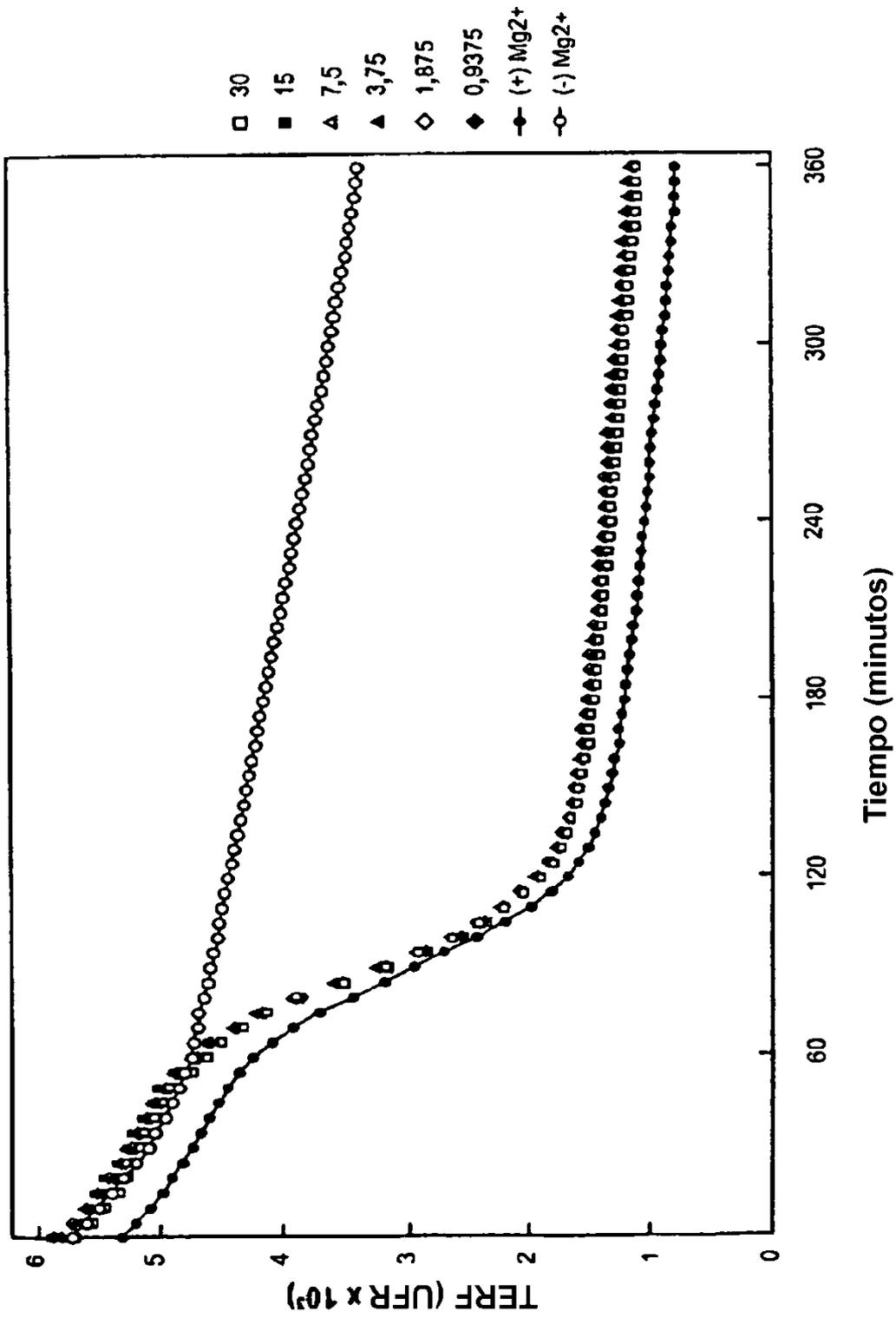


FIG. 2