

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 434 493**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/422** (2006.01)

**C07D 263/34** (2006.01)

**C07D 413/04** (2006.01)

**C07D 413/14** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.03.2003 E 03708595 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.10.2013 EP 1491194**

54 Título: **Regulador del VDAC**

30 Prioridad:

**14.03.2002 JP 2002070754**

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

**16.12.2013**

73 Titular/es:

**TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED (50.0%)**

**1-1, Doshomachi 4-chome, Chuo-ku  
Osaka, JP y**

**TOKYO INSTITUTE OF TECHNOLOGY (50.0%)**

72 Inventor/es:

**SUGIYAMA, YASUO;  
HAZAMA, MASATOSHI y  
IWAKAMI, NORIHISA**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**ES 2 434 493 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

Regulador del VDAC

**Campo técnico**

5 La presente invención se refiere a un regulador del VDAC, un supresor de la apoptosis o un mejorador de la función mitocondrial.

La presente divulgación también se refiere a un método para seleccionar un agente para la profilaxis o el tratamiento de una enfermedad del sistema nervioso.

**Técnica precedente**

10 El VDAC, esto es, el canal aniónico dependiente del voltaje, también se denomina porina mitocondrial y representa un papel importante en la regulación del metabolismo energético de la mitocondria en células eucarióticas. Además, se sabe que el VDAC representa un papel esencial en la fuga de citocromo c desde la mitocondria y la apoptosis en células de mamífero (The Journal of Cell Biology, Volumen 152, pp. 237-250 (2001)).

Entre tanto, el compuesto representado por la fórmula (I), que se utiliza como el ingrediente activo en la presente invención, se describe en el documento W001/14372 como un promotor de la producción/secreción de neurotrofina.

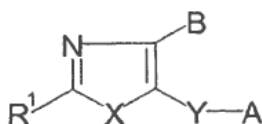
15 Sin embargo, no hay constancia de que este compuesto se utilice como un regulador del VDAC, un supresor de la apoptosis o un mejorador de la función mitocondrial.

**Divulgación de la invención**

Un objetivo de la presente invención es proporcionar un regulador del VDAC, un supresor de la apoptosis o un mejorador de la función mitocondrial.

20 Otro objetivo de la presente divulgación es proporcionar un método para seleccionar un agente para la profilaxis o el tratamiento de una enfermedad del sistema nervioso.

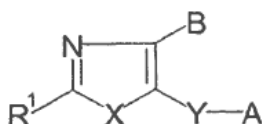
Los presentes inventores estudiaron en busca de un regulador del VDAC, un supresor de la apoptosis o un mejorador de la función mitocondrial y encontraron que un compuesto representado por la fórmula (I):



25 en la que R<sup>1</sup> es un grupo imidazolilo que puede estar sustituido con un grupo alquilo C<sub>1-10</sub>; A es un grupo fenoxi sustituido con un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono; B es un grupo fenilo que puede estar sustituido con un átomo de halógeno; X es un átomo de oxígeno; e Y es un grupo alquileo C<sub>1-4</sub> [en lo sucesivo abreviado a veces en la presente memoria como Compuesto (I)] posee una excelente acción reguladora del VDAC, acción supresora de la apoptosis y acción mejoradora de la función mitocondrial, lo que daba como resultado la  
30 terminación de la presente invención.

Según esto, la presente invención se refiere a

1) Un compuesto representado por la fórmula (I):



35 en donde R<sup>1</sup> es un grupo imidazolilo que puede estar sustituido con un grupo alquilo C<sub>1-10</sub>; A es un grupo fenoxi sustituido con un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono; B es un grupo fenilo que puede estar sustituido con un átomo de halógeno; X es un átomo de oxígeno; e Y es un grupo alquileo C<sub>1-4</sub>, o una de sus sales, para la utilización en la profilaxis o el tratamiento de la retinitis pigmentosa, el sida, la hepatitis fulminante, una enfermedad mielodisplásica o una enfermedad hepática.

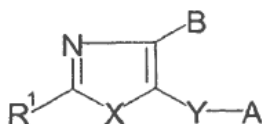
2) El compuesto según la reivindicación 1, en donde Y es -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-,

40 3) El compuesto según la reivindicación 1, en donde el compuesto representado por la fórmula (I) es 4-(4-clorofenil)-2-(2-metil-1-imidazolil)-5-[3-(2-metilfenoxi)propil]oxazol.

4) El compuesto según la reivindicación 1, en donde la enfermedad mielodisplástica es anemia aplástica.

5) El compuesto según la reivindicación 1, en donde la enfermedad hepática es hepatitis alcohólica, hepatitis B o hepatitis C.

6) Utilización de un compuesto representado por la fórmula (I):



5

en donde R<sup>1</sup> es un grupo imidazolilo que puede estar sustituido con un grupo alquilo C<sub>1-10</sub>; A es un grupo fenoxi sustituido con un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono; B es un grupo fenilo que puede estar sustituido con un átomo de halógeno; X es un átomo de oxígeno; e Y es un grupo alquileo C<sub>1-4</sub>, o una de sus sales, para la producción de un medicamento para la utilización en la profilaxis o el tratamiento de la retinitis pigmentosa, el sida, la hepatitis fulminante, una enfermedad mielodisplástica o una enfermedad hepática.

10

7) Utilización según la reivindicación 6, en donde Y es -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-.

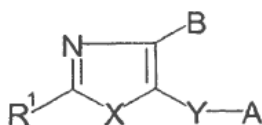
8) Utilización según la reivindicación 6, en donde el compuesto representado por la fórmula (I) es 4-(4-clorofenil)-2-(2-metil-1-imidazolil)-5-[3-(2-metilfenoxi)propil]oxazol.

9) Utilización según la reivindicación 6, en donde la enfermedad mielodisplástica es anemia aplástica.

10) Utilización según la reivindicación 6, en donde la enfermedad hepática es hepatitis alcohólica, hepatitis B o hepatitis C.

15

11) Un compuesto representado por la fórmula (I):



20

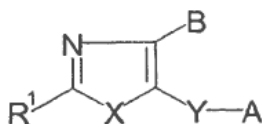
en donde R<sup>1</sup> es un grupo imidazolilo que puede estar sustituido con un grupo alquilo C<sub>1-10</sub>; A es un grupo fenoxi sustituido con un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono; B es un grupo fenilo que puede estar sustituido con un átomo de halógeno; X es un átomo de oxígeno; e Y es un grupo alquileo C<sub>1-4</sub>, o una de sus sales, para la utilización en la profilaxis o el tratamiento de la degeneración pigmentaria de la retina, la disfunción hepática o la anemia sideroblástica.

12) El compuesto según la reivindicación 11, en donde Y es -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-.

13) El compuesto según la reivindicación 11, en donde el compuesto representado por la fórmula (I) es 4-(4-clorofenil)-2-(2-metil-1-imidazolil)-5-[3-(2-metilfenoxi)propil]oxazol.

25

14) Utilización de un compuesto representado por la fórmula (I):



30

en donde R<sup>1</sup> es un grupo imidazolilo que puede estar sustituido con un grupo alquilo C<sub>1-10</sub>; A es un grupo fenoxi sustituido con un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono; B es un grupo fenilo que puede estar sustituido con un átomo de halógeno; X es un átomo de oxígeno; e Y es un grupo alquileo C<sub>1-4</sub>, o una de sus sales, para la producción de un medicamento para la utilización en la profilaxis o el tratamiento de la degeneración pigmentaria de la retina, la disfunción hepática o la anemia sideroblástica.

15) Utilización según la reivindicación 14, en donde Y es -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-.

16) Utilización según la reivindicación 14, en donde el compuesto representado por la fórmula (I) es 4-(4-clorofenil)-2-(2-metil-1-imidazolil)-5-[3-(2-etilfenoxi)propil]oxazol.

35

**Breve descripción de los dibujos**

La Figura 1 muestra los resultados del análisis por SDS-PAGE de una proteína eluida de proteína derivada de neuroblastoma humano utilizando el Compuesto (5). En la figura, el Carril 1 muestra una banda de proteína eluida con un tampón que no contiene Compuesto (5), y el Carril 2 muestra una banda de proteína eluida con un tampón que contiene Compuesto (5).

La Figura 2 muestra los resultados de la transferencia Western con anticuerpo anti-VDAC1 para detectar una banda de proteína de aproximadamente 32 kDa eluida de proteína derivada de neuroblastoma humano utilizando el Compuesto (5). En la figura, el Carril 1 muestra una banda de proteína total, y el Carril 2 muestra una banda de proteína que se une a Compuesto (5).

**Mejores modos para la realización de la invención**

En referencia a la fórmula (I), como ejemplos del "átomo de halógeno" representado por  $R^1$ , se pueden mencionar flúor, cloro, bromo y yodo. Se prefieren particularmente el flúor y el cloro.

En referencia a la fórmula (I), el grupo representado por  $R^1$  es imidazolilo (p. ej., 1-imidazolilo, 2-imidazolilo, 4-imidazolilo, 5-imidazolilo y similares).

El grupo representado por  $R^1$  está opcionalmente sustituido con un grupo alquilo que tiene de 1 a 10 átomos de carbono, por ejemplo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo, t-butilo, pentilo, isopentilo, neopentilo, t-pentilo, 1-etilpropilo, hexilo, isohexilo, 1,1-dimetilbutilo, 2,2-dimetilbutilo, 3,3-dimetilbutilo, 2-etilbutilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo y similares.

En referencia a la fórmula (I),  $R^1$  es un grupo imidazolilo opcionalmente sustituido. Como ejemplos preferibles de  $R^1$ , se pueden mencionar grupos imidazolilo que pueden estar sustituidos con un grupo alquilo  $C_{1-10}$ .

En referencia a la fórmula (I), A es un grupo fenoxi sustituido con un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono.

En referencia a la fórmula (I), B es un grupo fenilo opcionalmente sustituido. Se prefiere particularmente un grupo fenilo que puede estar sustituido con un átomo de halógeno.

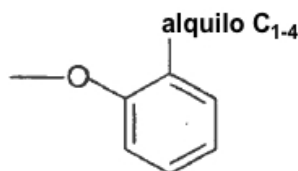
En la presente, como ejemplos de los átomos de halógeno, se pueden mencionar flúor, cloro, bromo, yodo y similares.

En referencia a la fórmula (I), X representa un átomo de oxígeno.

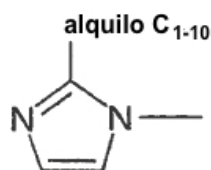
En referencia a la fórmula (I), Y es un grupo alquilenos que tiene de 1 a 4 átomos de carbono. Como ejemplos específicos preferibles de Y, por ejemplo, se pueden mencionar  $-(CH_2)_3-$  y  $-(CH_2)_4-$ .

Como Compuesto (I), son preferibles los siguientes compuestos.

Compuestos de la fórmula (I), en donde A es un grupo fenoxi sustituido con un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, más preferiblemente un grupo representado por la fórmula:



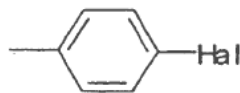
en donde alquilo  $C_{1-4}$  representa metilo, etilo, propilo, isopropilo o similares, preferiblemente metilo o similares;  $R^1$  es un grupo imidazolilo opcionalmente sustituido, más preferiblemente un grupo imidazolilo que puede estar sustituido con un grupo alquilo  $C_{1-10}$ , de forma particularmente preferible un grupo representado por la fórmula:



en donde alquilo  $C_{1-10}$  representa metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, pentilo, hexilo o similares, preferiblemente

un alquilo C<sub>1-4</sub> tal como metilo, etilo, propilo o isopropilo, más preferiblemente metilo o similares;

B es un grupo fenilo opcionalmente sustituido, preferiblemente un grupo fenilo que puede estar sustituido con un átomo de halógeno, más preferiblemente un grupo representado por la fórmula:



5 en donde Hal representa un átomo de halógeno tal como flúor, cloro, bromo o yodo, preferiblemente cloro;

X es un átomo de oxígeno; e

Y es un alquileo C<sub>1-4</sub> tal como -CH<sub>2</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>- o -(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-, de forma particularmente preferible -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-.

Como ejemplos específicos preferibles del compuesto representado por la fórmula (I), por ejemplo, se pueden mencionar los Compuestos (1) a (7) mostrados posteriormente y similares.

10 (1) 4-(4-clorofenil)-5-[3-(2-metoxifenoxi)propil]-2-(2-metil-1-imidazolil)oxazol

(2) 3-[3-[4-(4-clorofenil)-2-(2-metil-1-imidazolil)-5-oxazolil]propil]-1-metil-2,4-imidazolidindiona

(3) 4-(4-clorofenil)-5-[3-(3-metoxifenoxi)propil]-2-(2-metil-1-imidazolil)oxazol

(4) 4-(4-clorofenil)-5-[3-(4-metoxifenoxi)propil]-2-(2-metil-1-imidazolil)oxazol

(5) 4-(4-clorofenil)-2-(2-metil-1-imidazolil)-5-[3-(2-metilfenoxi)propil]oxazol

15 (6) 4-(4-clorofenil)-2-(2-metil-1-imidazolil)-5-[3-(3-metilfenoxi)propil]oxazol

(7) 5-[3-(4-cloro-2-metilfenoxi)propil]-4-(4-clorofenil)-2-(2-metil-1-imidazolil)oxazol

Estos compuestos se abrevian a veces posteriormente en la presente memoria simplemente como Compuesto (1), Compuesto (2) y similares.

20 La sal del Compuesto (I) es preferiblemente una sal farmacéuticamente aceptable; como ejemplos de tales sales, se pueden mencionar una sal con una base inorgánica, una sal con una base orgánica, una sal con un ácido inorgánico, una sal con un ácido orgánico, una sal con un aminoácido básico o ácido y similares.

Como ejemplos preferibles de la sal con una base inorgánica, se pueden mencionar sales de metal alcalino tales como una sal sódica y una sal potásica; sales de metal alcalinotérreo tales como una sal cálcica y una sal magnésica; y una sal de aluminio, una sal amónica y similares.

25 Como ejemplos preferibles de la sal con una base orgánica, se pueden mencionar sales con, por ejemplo, trimetilamina, trietilamina, piridina, picolina, etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, dicitohexilamina, N,N'-dibenciletilendiamina y similares.

Como ejemplos preferibles de la sal con un ácido inorgánico, se pueden mencionar sales con, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido nítrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico y similares.

30 Como ejemplos preferibles de la sal con un ácido orgánico, se pueden mencionar sales con, por ejemplo, ácido fórmico, ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido fumárico, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido maleico, ácido cítrico, ácido succínico, ácido málico, ácido metanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido p-toluenosulfónico y similares.

35 Como ejemplos preferibles de la sal con un aminoácido básico, se pueden mencionar sales con, por ejemplo, arginina, lisina, ornitina y similares.

Como ejemplos preferibles de la sal con un aminoácido ácido, se pueden mencionar sales con, por ejemplo, ácido aspártico, ácido glutámico y similares.

40 El Compuesto (I) o una de sus sales se puede producir mediante un método conocido de por sí. Como ejemplos de tales métodos, se pueden mencionar métodos descritos en los documentos WO 01/14372, JP-A-58-183676 (EP-A 92239), JP-A-59-190979, JP-A-9-323983 (WO 97/36882) y similares o métodos basados en los mismos.

El Compuesto (I) de la presente invención se puede utilizar como un profármaco; en la presente, un profármaco del Compuesto (I) se refiere a un compuesto capaz de convertirse en el Compuesto (I) o una de sus sales mediante una acción de una enzima, el jugo gástrico o similares bajo condiciones fisiológicas in vivo, esto es, un compuesto capaz

- de convertirse en el Compuesto (I) durante una oxidación, reducción, hidrólisis enzimática o similares, o un compuesto capaz de convertirse en el Compuesto (I) durante la hidrólisis o similar por jugo gástrico o similares. Como el profármaco de Compuesto (I), se pueden mencionar compuestos derivados por acilación, alquilación o fosforilación del grupo amino del Compuesto (I) (por ejemplo, compuestos derivados por eicosanoilación, alanilación, pentilaminocarbonilación, (5-metil-2-oxo-1,3-dioxolen-4-il)metoxicarbonilación, tetrahidrofuranilación, pirrolidilmetilación, pivaloiloximetilación o terc-butilación del grupo amino del Compuesto (I) y similares); compuestos derivados por acilación, alquilación, fosforilación o boración del grupo hidroxilo del Compuesto (I) (por ejemplo, compuestos derivados por acetilación, palmitoilación, propanoilación-pivaloilación, succinilación, fumarilación, alanilación o dimetilaminometilcarbonilación del grupo hidroxilo del Compuesto (I) y similares); y compuestos derivados por esterificación o amidación del grupo carboxilo del Compuesto (I) (por ejemplo, compuestos derivados por etilesterificación, fenilesterificación, carboximetilesterificación, dimetilaminometilesterificación, pivaloiloximetilesterificación, etoxicarboniloxietilesterificación, ftalidilesterificación, (5-metil-2-oxo-1,3-dioxolen-4-il)metilesterificación, ciclohexiloxicarbonilesterificación o metilamidación del grupo carboxilo del Compuesto (I) y similares). Estos compuestos se pueden producir a partir del Compuesto (I) mediante un método conocido de por sí.
- 5 El profármaco del Compuesto (1) puede ser uno capaz de convertirse en el Compuesto (I) bajo condiciones fisiológicas según se describe en las páginas 163 a 198 en "Iyakuhin No Kaihatsu (Development of Drugs)", vol. 7, Bunshi Sekkei (Molecular Designing), publicado por Hirokawa Shoten, 1990.
- 10 El Compuesto (I) puede ser un hidrato y puede estar marcado con un isótopo (p. ej.,  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{125}\text{I}$  y similares) y similares.
- 20 El Compuesto (I), una de sus sales o uno de sus profármacos (en lo sucesivo abreviado a veces en la presente memoria como el compuesto de la presente invención) tiene poca toxicidad y se puede administrar con seguridad a mamíferos (p. ej., seres humanos, ratones, ratas, conejos, perros, gatos, bóvidos, caballos, cerdos, monos y similares).
- 25 Aunque el regulador de VDAC, el inhibidor de la apoptosis o el mejorador de la función mitocondrial de la presente invención (estos se abrevian a veces en lo sucesivo en la presente memoria como el agente de la presente invención) puede ser el propio compuesto de la presente invención, generalmente se obtienen formulando una preparación según la invención conocida de por sí, utilizando el compuesto de la presente invención y un vehículo farmacológicamente aceptable.
- 30 Como ejemplos del VDAC en el regulador del VDAC, se pueden mencionar VDAC-1, VDAC-2, VDAC-3 y similares. Además, el regulador del VDAC es capaz de regular (normalizar mediante promoción o inhibición) una función del VDAC (p. ej., transporte de solutos implicados en la producción de energía en la mitocondria, el metabolismo de los glicolípidos, la apoptosis, la homeostasis de Ca intracelular y similares; y la interacción con factores tales como hexocinasa y Bax). El regulador del VDAC es preferiblemente un inhibidor del VDAC.
- 35 En referencia al mejorador de la función mitocondrial, como ejemplos de la función mitocondrial, se pueden mencionar funciones de canal (p. ej. VDAC), el metabolismo de glicolípidos, la producción de energía, la regulación de la apoptosis, una función tamponadora de Ca y similares. El mejorador de la función mitocondrial de la presente invención es capaz de estabilizar (normalizar o suprimir cambios anormales en) el potencial de membrana y la actividad respiratoria de la mitocondria mejorando las susodichas funciones mitocondriales.
- 40 Como el vehículo farmacológicamente aceptable, se emplean diversas sustancias portadoras orgánicas o inorgánicas utilizadas convencionalmente como materiales farmacéuticos; como ejemplos específicos de los mismos, se pueden mencionar excipientes, lubricantes, aglutinantes y desintegrantes en preparaciones sólidas; disolventes, solubilizantes, agentes de suspensión, agentes isotonzantes, tampones y agentes emolientes en preparaciones líquidas, y similares. Al formular una preparación, se pueden utilizar, según sea necesario, aditivos farmacéuticos tales como antisépticos, antioxidantes, agentes colorantes y edulcorantes.
- 45 Como ejemplos preferibles de los excipientes, se pueden mencionar lactosa, sacarosa, D-manitol, D-sorbitol, almidón, almidón pregelatinizado, dextrina, celulosa cristalina, hidroxipropilcelulosa poco sustituida, carboximetilcelulosa sódica, goma arábiga, pululano, anhídrido silícico ligero, silicato de aluminio sintético, aluminometasilicato magnésico, xilitol, sorbitol, eritritol y similares.
- 50 Como ejemplos preferibles de los lubricantes, se pueden mencionar estearato magnésico, estearato cálcico, talco, sílice coloidal, polietilenglicol 6.000 y similares.
- Como ejemplos preferibles de los aglutinantes, se pueden mencionar almidón pregelatinizado, azúcar común, gelatina, goma arábiga, metilcelulosa, carboximetilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, celulosa cristalina, sacarosa, D-manitol, trehalosa, dextrina, pululano, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, polivinilpirrolidona y similares.
- 55 Como ejemplos preferibles de los desintegrantes, se pueden mencionar lactosa, sacarosa, almidón, carboximetilcelulosa, carboximetilcelulosa cálcica, croscarmelosa sódica, carboximetilalmidón sódico, hidroxipropilcelulosa poco sustituida, anhídrido silícico ligero, carbonato cálcico y similares.

Como ejemplos preferibles de los disolventes, se pueden mencionar agua para inyección, solución salina fisiológica, solución de Ringer, alcohol, propilenglicol, polietilenglicol, aceite de sésamo, aceite de maíz, aceite de oliva, aceite de semillas de algodón y similares.

5 Como ejemplos preferibles de los solubilizantes, se pueden mencionar polietilenglicol, propilenglicol, D-manitol, trehalosa, benzoato de bencilo, etanol, trisaminometano, colesterol, trietanolamina, carbonato sódico, citrato sódico, salicilato sódico, acetato sódico y similares.

10 Como ejemplos preferibles de los agentes de suspensión, se pueden mencionar tensioactivos, por ejemplo esteariltrietaolamina, laurilsulfato sódico, ácido laurilaminopropiónico, lecitina, cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, monoestearato de glicerol; polímeros hidrófilos, por ejemplo, poli(alcohol vinílico), polivinilpirrolidona, carboximetilcelulosa sódica, metilcelulosa, hidroximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa e hidroxipropilcelulosa; polisorbatos, aceite de ricino hidrogenado polioxietilénico y similares.

Como ejemplos preferibles de los agentes isotonzantes, se pueden mencionar cloruro sódico, glicerol, D-manitol, D-sorbitol, glucosa, xilitol, fructosa y similares.

15 Como ejemplos preferibles de los tampones, se pueden mencionar soluciones tamponadoras de fosfatos, acetatos, carbonatos, citratos y similares.

Como ejemplos preferibles de los agentes emolientes, se pueden mencionar propilenglicol, hidrocloreuro de lidocaína, alcohol bencílico y similares.

Como ejemplos preferibles de los antisépticos, se pueden mencionar ésteres de para-hidroxibenzoato, clorobutanol, alcohol bencílico, alcohol fenílico, ácido deshidroacético, ácido sórbico y similares.

20 Como ejemplos preferibles de los antioxidantes, se pueden mencionar sulfitos, ascorbatos y similares.

25 Como ejemplos preferibles de los agentes colorantes, se pueden mencionar tintes de alquitrán coloreados solubles en agua (p. ej., colorantes alimentarios tales como Food Color Red No. 2 y No. 3, Food Color Yellow No. 4 y No. 5 y Food Color Blue No. 1 y No. 2), colorantes de laca insolubles en agua (p. ej., sales de aluminio de los susodichos colorantes de alquitrán comestibles solubles en agua), colorantes naturales (p. ej.,  $\beta$ -caroteno, clorofila, óxido de hierro rojo y similares) y similares.

Como ejemplos preferibles de los edulcorantes, se pueden mencionar sacarina sódica, glicirricinato dipotásico, aspartamo, estevia y similares.

30 Como ejemplos de la forma de dosificación del agente de la presente invención, se pueden mencionar preparaciones orales tales como comprimidos (incluyendo comprimidos sublinguales y comprimidos que se desintegran intraoralmente), cápsulas (incluyendo cápsula blandas y microcápsulas), gránulos, polvos, pastillas para chupar, jarabes, emulsiones y suspensiones; y preparaciones parenterales tales como inyecciones (p. ej. inyecciones subcutáneas, inyecciones intravenosas, inyecciones intramusculares, inyecciones intraperitoneales, infusiones de goteo y similares), preparaciones externas (p. ej., preparaciones transdérmicas, pomadas y similares), supositorios (p. ej. supositorios rectales, supositorios vaginales y similares), pellas, preparaciones transnasales, preparaciones transpulmonares (inhalantes) y gotas oculares. Estas preparaciones pueden ser preparaciones de liberación controlada (p. ej., microcápsulas de liberación sostenida y similares) tales como preparaciones de liberación rápida o preparaciones de liberación sostenida.

40 Estas preparaciones se pueden producir según métodos utilizados convencionalmente en el campo de la tecnología de fabricación farmacéutica, por ejemplo, métodos descritos en la Farmacopea Japonesa, y similares. El contenido del compuesto de la presente invención en el agente de la presente invención varía, por ejemplo, de 0,1 a 100% en peso.

Métodos para producir las preparaciones orales y las preparaciones parenterales se describen específicamente a continuación.

45 Las preparaciones orales se producen añadiendo, al ingrediente activo, por ejemplo, un excipiente (p. ej., lactosa, sacarosa, almidón, D-manitol, xilitol, sorbitol, eritritol, celulosa cristalina, anhídrido silícico ligero y similares), un desintegrante (p. ej., carbonato cálcico, almidón, carboximetilcelulosa, carboximetilcelulosa cálcica, hidroxipropilcelulosa poco sustituida, croscarmelosa sódica, carboximetilalmidón sódico, anhídrido silícico ligero y similares), un aglutinante (p. ej., almidón pregelatinizado, goma arábiga, carboximetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, polivinilpirrolidona, celulosa cristalina, metilcelulosa, sacarosa, D-manitol, trehalosa, dextrina y similares), un lubricante (p. ej., talco, estearato magnésico, estearato cálcico, sílice coloidal, polietilenglicol 6.000 y similares) y similares, y llevando a cabo moldeado por compresión,

50 Por otra parte, con el propósito de enmascarar el sabor o impartir una propiedad entérica o de liberación sostenida, las preparaciones orales se pueden revestir mediante un método conocido de por sí. Como ejemplos del agente de revestimiento, se utilizan polímeros entéricos (p. ej., acetato-ftalato de celulosa, copolímero de ácido metacrílico L,

5 copolímero de ácido metacrílico LD, copolímero de ácido metacrílico S, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, acetato-succinato de hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa y similares), polímeros solubles en jugo gástrico (p. ej., poli(dietilaminoacetato de vinilacetal), copolímero de metacrilato de aminoalquilo E y similares), polímeros solubles en agua (p. ej., hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa y similares), polímeros insolubles en agua (p. ej., etilcelulosa, copolímero de metacrilato de aminoalquilo RS, copolímero de acrilato de etilo/metacrilato de metilo y similares), cera y similares. Cuando se lleva a cabo el revestimiento, plastificantes tales como polietilenglicol, agentes de protección ligera tales como óxido de titanio y sesquióxido de hierro se pueden utilizar junto con el susodicho agente de revestimiento.

10 Las inyecciones se producen disolviendo, suspendiendo o emulsionando el ingrediente activo en un disolvente acuoso (p. ej. agua destilada, solución salina fisiológica, solución de Ringer y similares) o un disolvente oleoso (p. ej., aceites vegetales tales como aceite de oliva, aceite de sésamo, aceite de semillas de algodón y aceite de maíz; propilenglicol, macrogol, tricaprilina y similares) o similares, junto con un dispersante (p. ej., Tween 80 (fabricado por Atlas Powder Company, EE. UU. de A.), HCO 60 (fabricado por Nikko Chemicals), polietilenglicol, carboximetilcelulosa, alginato sódico y similares), un conservante (p. ej. metilparabeno, propilparabeno, alcohol bencílico, clorobutanol, fenol y similares), un agente isotonzante (p. ej., cloruro sódico, glicerol, D-sorbitol, D-manitol, xilitol, glucosa, fructosa y similares) y similares.

15 Cuando se desee, se pueden utilizar aditivos tales como solubilizantes (p. ej., salicilato sódico, acetato sódico, polietilenglicol, propilenglicol, D-manitol, trehalosa, benzoato de bencilo, etanol, trisaminometano, colesterol, trietanolamina, carbonato sódico, citrato sódico y similares), agentes de suspensión (p. ej., tensioactivos tales como esteariltriectanolamina, laurilsulfato sódico, ácido laurilaminopropiónico, lecitina, cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio y monoestearato de glicerilo; polímeros hidrófilos tales como poli(alcohol vinílico), polivinilpirrolidona, carboximetilcelulosa sódica, metilcelulosa, hidroximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa e hidroxipropilcelulosa, y similares), agentes tamponadores (p. ej., soluciones tamponadoras de fosfatos, acetatos, carbonatos, citratos y similares), estabilizantes (p. ej., albumina de suero humana y similares), agentes emulgentes (p. ej., propilenglicol, hidrocloreuro de lidocaína, alcohol bencílico y similares), antisépticos (p. ej., ésteres de ácido p-hidroxibenzoico, clorobutanol, cloruro de benzalconio, alcohol bencílico, alcohol fenetílico, ácido deshidroacético, ácido sórbico y similares) y similares.

20 Las preparaciones externas se producen elaborando el ingrediente activo como una composición sólida, semisólida o líquida. Por ejemplo, la susodicha composición sólida se produce utilizando el ingrediente activo como tal, o añadiendo un excipiente (p. ej., lactosa, D-manitol, almidón, celulosa cristalina, sacarosa y similares), un espesante (p. ej., gomas naturales, derivados de celulosa, polímeros de ácido cítrico y similares) y similares, y mezclándolos y pulverizándolos. La susodicha composición líquida se produce casi del mismo modo que en el caso de las inyecciones. La composición semisólida es preferiblemente un gel acuoso u oleoso o una pomada. Además, cada una de estas composiciones puede contener un regulador del pH (p. ej., ácido fosfórico, ácido cítrico, ácido clorhídrico, hidróxido sódico y similares), un antiséptico (p. ej., ésteres de ácido p-hidroxibenzoico, clorobutanol, cloruro de benzalconio, alcohol bencílico, alcohol fenetílico, ácido deshidroacético, ácido sórbico y similares) y similares.

30 Los supositorios se producen elaborando el ingrediente activo como una composición sólida, semisólida o líquida oleosa o acuosa. Como ejemplos de la base oleosa utilizada para la producción de dicha composición, se pueden mencionar glicéridos de ácidos grasos [p. ej., manteca de cacao, Witepsols (fabricados por Huels Aktiengesellschaft, Alemania) y similares], triglicéridos de ácidos grasos intermedios [p. ej., miglioles (fabricados por Huels Aktiengesellschaft, Alemania) y similares], aceites vegetales (p. ej., aceite de sésamo, aceite de soja, aceite de semillas de algodón y similares) y similares. Como ejemplos de la base acuosa, se pueden mencionar polietilenglicoles, propilenglicol y similares. Además, como ejemplos de la base de gel acuosa, se pueden mencionar gomas naturales, derivados de celulosa, polímeros vinílicos, polímeros de ácido acrílico y similares.

35 El agente de la presente invención se puede utilizar como un agente para la profilaxis o el tratamiento del sida, la hepatitis fulminante, enfermedades mielodisplásticas (p. ej. anemia aplásica y similares), enfermedades hepáticas (p. ej. hepatitis alcohólica, hepatitis B, hepatitis C y similares) y retinitis pigmentosa.

40 Por otra parte, el agente de la presente invención también se puede utilizar para la profilaxis secundaria y la supresión del desarrollo de las diversas enfermedades susodichas.

45 Por otra parte, el mejorador de la función mitocondrial de la presente invención también es útil como un agente para la profilaxis o el tratamiento de enfermedades o síntomas diversos asociados con anomalías de la función mitocondrial seleccionadas de degeneración pigmentaria de la retina, disfunción hepática y anemia sideroblástica.

50 Aunque la dosis del agente de la presente invención varía dependiendo del sujeto de la administración, la ruta de administración, los síntomas y similares, cuando el agente de la presente invención se administra oralmente a un adulto, su dosis como la cantidad del compuesto de la presente invención, que es el ingrediente activo, por dosis, es generalmente aproximadamente de 0,05 a 500 mg/kg de peso corporal, preferiblemente aproximadamente de 0,5 a 100 mg/kg de peso corporal. Es deseable que esta dosis se administre de una vez a tres veces al día.



Por ejemplo, aunque no según la presente invención, cuando el agente de la presente invención se administra oralmente a un paciente adulto con síndrome de Down, su dosis como la cantidad del compuesto de la presente invención, que es el ingrediente activo, por dosis, es generalmente aproximadamente de 0,05 a 50 mg/kg de peso corporal, preferiblemente aproximadamente de 0,2 a 4 mg/kg de peso corporal. Es deseable que esta dosis se administre de una a tres veces al día.

El agente de la presente invención se puede utilizar en combinación con un fármaco (en lo sucesivo abreviado a veces en la presente memoria como fármaco concomitante) tal como un agente terapéutico para la diabetes, un agente terapéutico para complicaciones diabéticas, un agente terapéutico para la hiperlipidemia, un agente hipotensor, un agente antiobesidad, un diurético, un agente quimioterapéutico, un agente inmunoterapéutico, un mejorador de la caquexia, un agente que actúa sobre los nervios periféricos y centrales, un agente terapéutico para las úlceras y un agente antiinflamatorio. El fármaco concomitante puede ser un compuesto de bajo peso molecular, y también puede ser una proteína, un polipéptido o un antibiótico de alto peso molecular o una vacuna y similares.

En tales ocasiones, los momentos de administración del agente de la presente invención y el fármaco concomitante no están limitados; estos se pueden administrar al sujeto de la administración simultáneamente o a intervalos de tiempo.

La forma de dosificación del fármaco concomitante no está particularmente limitada, con tal de que el agente de la presente invención y el fármaco concomitante se combinen en el momento de la administración. Como ejemplos de tales forma de dosificación, se pueden mencionar 1) la administración de una sola preparación obtenida formulando simultáneamente el agente de la presente invención y el fármaco concomitante como una preparación, 2) la administración simultánea de dos tipos de preparaciones obtenidas formulando separadamente el agente de la presente invención y el fármaco concomitante como preparaciones diferentes a través de la misma vía de administración, 3) la administración de dos tipos de preparaciones obtenidas formulando separadamente el agente de la presente invención y el fármaco concomitante como preparaciones diferentes a través de la misma vía de administración con un intervalo de tiempo, 4) la administración simultánea de dos tipos de preparaciones obtenidas formulando separadamente el agente de la presente invención y el fármaco concomitante como preparaciones diferentes a través de vías de administración diferentes, 5) la administración de dos tipos de preparaciones obtenidas formulando separadamente el agente de la presente invención y el fármaco concomitante como preparaciones diferentes a través de vías de administración diferentes con un intervalo de tiempo (por ejemplo, administración del agente de la presente invención y el fármaco concomitante en este orden, o administración en el orden inverso) y similares.

La dosis del fármaco concomitante se puede seleccionar apropiadamente basándose en la dosis empleada clínicamente.

Además, la relación del mezcladura del agente de la presente invención y el fármaco concomitante se puede seleccionar apropiadamente según el sujeto de la administración, la vía de administración, la enfermedad elegida como objetivo, los síntomas, la combinación y similares. Por ejemplo, cuando el sujeto de la administración es un ser humano, el fármaco concomitante se puede utilizar en de 0,01 a 100 partes en peso por parte en peso del agente de la presente invención.

Como el agente terapéutico para la diabetes, se pueden mencionar preparaciones de insulina (p. ej., preparaciones de insulina animal extraídas del páncreas bovino o porcino; preparaciones de insulina humana sintetizadas mediante manipulación genética utilizando *Escherichia coli* o una levadura; insulina-cinc; protamina-insulina-cinc; fragmentos o derivados de insulina (p. ej., INS-1 y similares) y similares), sensibilizadores frente a insulina (p. ej., hidrocloreuro de pioglitazona, troglitazona, rosiglitazona o su maleato, Reglixane, (JTT-501), Netoglitazone (MCC-555), YM-440, GI-262570, KRP-297, FK-614, CS-011, compuestos descritos en el documento W099/58510 (por ejemplo, ácido (E)-4-[4-(5-metil-2-fenil-4-oxazolimetoxi)benciloxiimino]-4-fenilbutírico), Tesaglitazar (AZ-242), Ragaglitazar (NN-622), BMS-298585, ONO-5816, BM-13-1258, LM-4156, MBX-102, LY-519818, MX-6054, LY-510929 y similares), inhibidores de  $\alpha$ -glucosidasa (p. ej., voglibosa, acarbosa, miglitol, emiglitalo y similares), agentes de biguanida (p. ej., fenformina, metformina, buformina y similares), agentes de sulfonilurea (p. ej., tolbutamida, glibenclamida, gliclacida, clorpropamida, tolazamida, acetohexamida, gliclopiramida, glimepirida y similares) y otros secretagogos de insulina (p. ej., repaglinida, senaglinida, mitiglinida o su hidrato de sal cálcica, GLP-1, nateglinida y similares) inhibidores de dipeptidilpeptidasa IV (p. ej., NVP-DPP-278, PT-100, P32/98, LAF237 y similares), agonistas  $\beta$ 3 (p. ej., CL-316243, SR-58611-A, UL-TG-307, AJ-9677, AZ40140 y similares), agonistas del receptor de GLP-1 [p. ej., GLP-1, NN-2211, AC-2993 (exendina-4), BIM-51077, Aib(8,35)hGLP-1(7,37)NH<sub>2</sub> y similares], agonistas de amilina (p. ej., pramlintida y similares), inhibidores de fosfotirosina-fosfatasa (p. ej., ácido vanádico y similares), inhibidores de la gluconeogénesis (p. ej. inhibidores de glucógeno-fosforilasa, inhibidores de glucosa-6-fosfatasa, antagonistas de glucagón y similares), inhibidores de SGLT (cotransportador de sodio-glucosa) (p. ej., T-1095 y similares), y similares.

Como el agente terapéutico para las complicaciones diabéticas, se pueden mencionar inhibidores de aldosa reductasa (p. ej., tolrestat, epalrestat, zenarestat, zopolrestat, fidarestat (SNK-860), minalrestat (ARI-509), CT-112 y similares), factores neurotróficos (p. ej., NGF, NT-3 y similares), inhibidores de AGE (p. ej., ALT-945, pimagedina,

piratoxatina, bromuro de fenaciltiazolio (ALT-766), EXO-226 y similares), eliminadores de oxígeno activo (p. ej., ácido tióctico y similares), vasodilatadores cerebrales (p. ej., tiopurida y similares) y similares.

5 Como el agente terapéutico para la hiperlipidemia, se pueden mencionar compuestos de estatina que son inhibidores de la síntesis de colesterol (p. ej., pravastatina, simvastatina, lovastatina, atorvastatina, fluvastatina, cerivastatina o sus sales (p. ej., sal sódica y similares) y similares), inhibidores de eucaleno-sintasa (p. ej., compuestos descritos en el documento W097/10224, por ejemplo, ácido N-[[[(3R,5S)-1-(3-acetoxi-2,2-dimetilpropil)-7-cloro-5-(2,3-dimetoxifenil)-2-oxo-1,2,3,5-tetrahidro-4,1-benzoxazepin-3-il]acetil]piperidin-4-acético y similares), compuestos de fibrato que poseen acción reductora de triglicéridos (p. ej., bezafibrato, clofibrato, simfibrato, clonofibrato y similares) y similares.

10 Como el agente hipotensor, se pueden mencionar inhibidores de la enzima conversiva de angiotensina (p. ej., captopril, enalapril, delapril y similares), antagonistas de angiotensina II (p. ej., losartán, candesartán-cilexetil y similares), antagonistas del calcio, (p. ej., manidipino, nifedipino, amlodipino, efonidipino, nicardipino y similares), clonidina y similares.

15 Como ejemplos del agente antiobesidad, se pueden mencionar fármacos antiobesidad que actúan sobre el sistema nervioso central (p. ej., dexfenfluramina, fenfluramina, fentermina, sibutramina, anfepiramina, dexanfetamina, mazindol, fenilpropanolamina, clobenzorex; antagonistas del receptor de MCH (p. ej., SB-568849; SNAP-7941; compuestos incluidos en los documentos WO01/82925 y WO01/87834; y similares); antagonistas de neuropéptido Y (p. ej., CP-422935 y similares); antagonistas de receptores de cannabinoides (p. ej., 5R-141716, SR-147778 y similares); antagonistas de grelina; inhibidores de 11 $\beta$ -hidroxiesteroide-deshidrogenasa (p. ej., BVT-3498 y similares) y similares), inhibidores de lipasa pancreática (p. ej., orlistat, ALT-962 y similares), agonistas  $\beta$ 3 (p. ej., CL-316243, SR-58611-A, UL-TG-307, AJ-9677, AZ40140 y similares), péptidos anorexígenos (p. ej., leptina, CNTF (factor neurotrófico ciliar) y similares), agonistas de colecistoquinina (p. ej., lintitript, FPL-15849 y similares) y similares.

25 Como ejemplos de los derivados de xantina diuréticos (p. ej., salicilato sódico-teobromina, salicilato cálcico-teobromina y similares), se pueden mencionar preparaciones de tiacida (p. ej., etiácida, ciclopentiácida, triclorometiácida, hidrocloreotiácida, hidroflumetiácida, bencilhidrocloreotiácida, penfluticida, politiácida, meticlotiácida y similares), preparaciones antialdosterona (p. ej., espirolactona, triamtereno y similares), inhibidores de carbonato-deshidratasa (p. ej., acetazolamida y similares), preparaciones de clorobenzenosulfonamida (p. ej., clortalidona, mefrusida, indapamida y similares), azosemida, isosorbida, ácido etacrínico, piretanida, bumetanida, furosemida y similares.

30 Como ejemplos del agente quimioterapéutico, se pueden mencionar agentes alquilantes (p. ej., ciclofosfamida, ifosfamida y similares), antagonistas metabólicos (p. ej., metotrexato, 5-fluorouracilo o sus derivados, y similares), antibióticos antitumorales (p. ej., mitomicina, adriamicina y similares), agentes antitumorales derivados de plantas (p. ej., vincristina, vindesina, Taxol y similares), cisplatino, carboplatino, etoposida y similares. De estos, son preferibles derivados de 5-fluorouracilo tales como Furtulon y Neo-Furtulon.

35 Como ejemplos del agente inmunoterapéutico, se pueden mencionar componentes microbianos o bacterianos (p. ej., derivados del péptido muramílico, Picibanil y similares), polisacáridos que poseen actividad inmunopotenciadora (p. ej., lentinano, esquizoflano, cresina y similares), citocinas obtenidas mediante tecnología de manipulación genética (p. ej., interferones, interleucinas (IL) y similares), factores estimulantes de colonias (p. ej., factor estimulante de colonias de granulocitos, eritropoyetina y similares) y similares; de estos, son preferibles interleucinas tales como IL-1, IL-2 e IL-12.

40 Como ejemplos del mejorador de la caquexia, se pueden mencionar inhibidores de ciclooxigenasa (p. ej., indometacina y similares) [Cancer Research, vol. 49, pp. 5.935-5.939, 1989], derivados de progesterona (p. ej., acetato de megestrol) [Journal of Clinical Oncology, vol. 12, pp. 213-225, 1994], glucocorticoides (p. ej., dexametasona y similares), productos farmacéuticos de metoclopramida, productos farmacéuticos de tetrahidrocanabinol (las referencias son las mismas que las susodichas), mejoradores del metabolismo de las grasas (p. ej., ácido eicosapentaenoico y similares) (British Journal of Cancer, vol. 68, pp. 314-318, 1993], hormonas del crecimiento, IGF-1, anticuerpos contra el factor inductor de caquexia TNF- $\alpha$ , LIF, IL-6 u oncostatina M, y similares.

45 Como ejemplos del agente que actúa sobre los nervios periféricos y centrales, se pueden mencionar inhibidores de acetilcolinesterasa (p. ej., tacrina, donepecilo, rivastigmina, galantamina y similares), agonistas del receptor de dopamina (p. ej., L-dopa, apomorfina y similares), inhibidores de la captación de monoaminas (p. ej., tramadol), agonistas del receptor de GABA (p. ej., Gabapentin), ligandos del receptor de acetilcolina (p. ej., ABT-594), agonistas del receptor de acetilcolina muscarínicos (p. ej., Arecoline-DDS), agonistas del receptor de acetilcolina nicotínicos (p. ej., GTS-21), agonistas del receptor de AMPA (p. ej., AMPALEX), inhibidores de monoamina oxidasa (p. ej., ELDEPRYLTD), inhibidores de la secreción de proteína amiloide  $\beta$ /la coagulación (p. ej., ALZHEMED), promotores de la diferenciación/regeneración nerviosa (p. ej., Xaliproden), fármacos terapéuticos para la demencia cerebrovascular (p. ej., Memantine), fármacos terapéuticos para el ataque isquémico cerebral transitorio (p. ej., PLAVIX), antioxidantes (p. ej., RADICUT), antagonistas de ácido glutámico (p. ej., MAXIPROST), fármacos terapéuticos para el trastorno bipolar (p. ej., valproato sódico), fármacos terapéuticos para la esquizofrenia (p. ej.,

Olanzapine); inhibidores de COMT (p. ej., Tolcapone) y similares.

Como ejemplos del agente terapéutico para las úlceras, se pueden mencionar preparaciones de prostaglandina (p. ej., prostaglandina E1), preparaciones de factores de crecimiento (p. ej., PDGF) y similares.

5 Como ejemplos del agente antiinflamatorio, se pueden mencionar fármacos antiinflamatorios no esteroideos (p. ej., leflunomida), fármacos antiinflamatorios no esteroideos (p. ej., aspirina, acetaminofeno, indometacina), inhibidores de COX-2 (p. ej. VIOXX) y similares.

10 Por otra parte, también se pueden utilizar inhibidores de la glucación (p. ej., ALT-711 y similares), promotores de la regeneración nerviosa (p. ej., Y-128, VX853, prosaptida y similares), antidepresivos (p. ej., desipramina, amitriptilina, imipramina), antiépilépticos (p. ej., lamotrigina), antiarrítmicos (p. ej., mexiletina), antagonistas del receptor de endotelina (p. ej., ABT-627), analgésicos narcóticos (p. ej., morfina), agonistas de receptores  $\alpha^2$  (p. ej., clonidina), analgésicos focales (p. ej., capsaicina), inhibidores de proteína cinasa C (p. ej., LY-333531), fármacos ansiolíticos (p. ej., benzodiazepina), inhibidores de fosfodiesterasa (p. ej., sildenafil), agentes terapéuticos para la osteoporosis (p. ej., alfacalcidol, calcitriol, elcatonina, calcitonina de salmón, estriol, ipriflavona, pamidronato disódico, hidrato de alendronato sódico, incadronato disódico y similares), agentes terapéuticos para la incontinencia urinaria o la polaquiuria (p. ej., hidrocloreuro de flavoxato, hidrocloreuro de oxibutinina, hidrocloreuro de propiverina y similares), vitaminas (p. ej., vitamina B1, vitamina B12), creatina, calnitina, ácido aminoetilsulfónico (Taurin (nombre registrado)) y similares en combinación con el agente de la presente invención,

20 Utilizando el agente de la presente invención y el fármaco concomitante susodicho en combinación, se pueden obtener excelentes efectos, por ejemplo, un efecto de potenciación de la acción del agente de la presente invención o el fármaco concomitante; un efecto de reducción de la acción del agente de la presente invención o el fármaco concomitante; un efecto de reducción de los efectos secundarios del agente de la presente invención o el fármaco concomitante; y similares.

25 El fármaco concomitante es preferiblemente una preparación de insulina, un sensibilizador frente a la insulina, un inhibidor de  $\alpha$ -glucosidasa, un agente de biguanida, un secretagogo de insulina, un inhibidor de aldosa-reductasa, un fármaco antiinflamatorio no esteroideo, un antidepresivo y similares.

Aunque no según la presente invención, un agente para la profilaxis o el tratamiento del síndrome de Down puede comprender un regulador del VDAC.

30 En la presente, el regulador del VDAC significa un fármaco que regula (normaliza mediante promoción o inhibición) una función del VDAC y puede ser cualquiera de un péptido, una proteína y un compuesto no peptídico. En la presente, como ejemplos de VDAC, se pueden mencionar VDAC-1, VDAC-2, VDAC-3 y similares. Como la función del VDAC, se pueden mencionar el transporte de solutos implicados en la producción de energía en la mitocondria, el metabolismo de los glucolípidos, la apoptosis, la homeostasis de Ca intracelular y similares; la interacción con factores tales como hexocinasa y Bax; y similares.

35 El regulador del VDAC es preferiblemente un compuesto no peptídico; como ejemplos específicos del mismo, se pueden mencionar el Compuesto (I), una de sus sales o uno de sus profármacos y similares mencionados anteriormente. Además, el regulador del VDAC es preferiblemente un fármaco que inhibe la susodicha función del VDAC.

El regulador del VDAC tiene poca toxicidad y se puede administrar con seguridad a mamíferos (p. ej., seres humanos, ratones, ratas, conejos, perros, gatos, bóvidos, caballos, cerdos, monos y similares).

40 El agente para la profilaxis o el tratamiento del síndrome de Down se puede formular generalmente como una preparación del mismo modo que el susodicho agente de la presente invención utilizando el regulador del VDAC y un vehículo farmacológicamente aceptable, y su forma de dosificación es la misma que en el caso del agente de la presente invención. Además, el agente para la profilaxis o el tratamiento del síndrome de Down también se puede utilizar en combinación con los diversos fármacos concomitantes susodichos.

45 Aunque la dosis del agente para la profilaxis o el tratamiento del síndrome de Down varía dependiendo del sujeto de la administración, la vía de administración, los síntomas y similares, cuando dicho agente para la profilaxis o el tratamiento se administra oralmente a un adulto, su dosis como la cantidad del regulador del VDAC, que es el ingrediente activo, por dosis, es generalmente aproximadamente de 0,05 a 500 mg/kg de peso corporal, preferiblemente aproximadamente de 0,5 a 100 mg/kg de peso corporal. Es deseable que esta dosis se administre de una a tres veces al día.

Un método para seleccionar un agente para la profilaxis o el tratamiento de una enfermedad del sistema nervioso puede comprender utilizar VDAC (en lo sucesivo a veces abreviado en la presente memoria como el método de selección de la presente invención).

55 En la presente, como ejemplos de VDAC, se pueden mencionar VDAC-1, VDAC-2, VDAC-3 y similares. Además, como enfermedades del sistema nervioso, se pueden mencionar las mismas que se mencionan anteriormente.

El método de selección de la presente invención se lleva a cabo específicamente:

- 1) determinando la capacidad de unión de un compuesto de prueba al VDAC;
- 2) comparando una función del VDAC en presencia y en ausencia de un compuesto de prueba; y similares.

El VDAC utilizado en el método de selección de la presente invención se puede derivar de cualquiera de células de mamífero (p. ej., seres humanos, ratones, ratas, conejos, perros, gatos, bóvidos, caballos, cerdos, monos y similares) (por ejemplo, hepatocitos, esplenocitos, neurocitos, células gliales, células  $\beta$  pancreáticas, mielocitos, células mesangiales, células de Langerhans, células epidérmicas, células epiteliales, células calciformes, células endoteliales, células de los músculos lisos, fibroblastos, fibrocitos, miocitos, adipocitos, inmunocitos (p. ej., macrófagos, células T, células B, células "asesinas" naturales, células cebadas, neutrófilos, basófilos, eosinófilos, monocitos), megacariocitos, células sinoviales, condrocitos, osteocitos, osteoblastos, osteoclastos, células de la glándula mamaria, hepatocitos o células intersticiales, o células precursoras, células madre o células cancerosas de estas células, y similares) o todos los tejidos en los que están presentes estas células, por ejemplo, el cerebro, diversas porciones del cerebro (p. ej., el bulbo olfativo, el núcleo amigdalino, un núcleo basal, el hipocampo, el tálamo, el hipotálamo, la corteza cerebral, la médula oblongada, el cerebelo), la médula espinal, la pituitaria, el estómago, el páncreas, el riñón, el hígado, las gónadas, el tiroides, la vesícula biliar, la médula ósea, la glándula suprarrenal, la piel, los músculos, el pulmón, el tracto gastrointestinal (p. ej., el intestino grueso, el intestino delgado), los vasos sanguíneos, el corazón, el timo, el bazo, la glándula submandibular, la sangre periférica, la próstata, los testículos, el ovario, la placenta, el útero, el hueso, las articulaciones, los músculos esqueléticos, y similares.,

El VDAC se puede obtener a partir de las células o los tejidos de mamífero susodichos, utilizando un método de purificación de proteínas conocido de por sí. Específicamente, homogeneizando un tejido o células de mamífero y separando y purificando la fracción soluble mediante cromatografías tales como cromatografía en fase inversa y cromatografía de intercambio iónico, se puede obtener el VDAC.

Además, el VDAC también se puede producir según un método de síntesis de péptidos conocido.

Como ejemplos del compuesto de prueba, se pueden mencionar péptidos, proteínas, compuestos no peptídicos, productos de fermentación, un extracto de células, un extracto de plantas, un extracto de tejido animal y similares; estos pueden ser cualquiera de nuevos compuestos o compuestos conocidos.

La capacidad de unión del compuesto de prueba a VDAC, por ejemplo, se puede determinar uniendo el compuesto de prueba marcado a mitocondria aislada de tejido de mamífero, en presencia o ausencia de un compuesto de prueba no marcado, determinando la radiactividad de la mitocondria después de lavar utilizando un método conocido de por sí y calculando la unión específica.

Además, la capacidad de unión del compuesto de prueba a VDAC también se puede determinar uniendo el compuesto de prueba marcado a VDAC purificado o VDAC incorporado en una membrana lipídica, en presencia o ausencia de un compuesto de prueba no marcado, llevando a cabo ultrafiltración, determinando la radiactividad de la membrana de ultrafiltración después de lavar utilizando un método conocido de por sí y calculando la unión específica. Aquí, en lugar de ultrafiltración, se puede llevar a cabo filtración utilizando un material que adsorbe proteína, tal como un filtro de vidrio.

Como ejemplos de los marcadores susodichos, se pueden mencionar isótopos (p. ej.,  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$  y similares) y similares.

En el método de selección descrito anteriormente, el compuesto de prueba que se une a VDAC, esto es, un compuesto que inhibe VDAC, es útil como un agente para la profilaxis o el tratamiento de una enfermedad del sistema nervioso.

Como funciones del VDAC, se pueden mencionar las mencionadas anteriormente, y dichas funciones se pueden determinar, por ejemplo, examinando si la sustancia de referencia puede atravesar o no el VDAC. Dicha sustancia de referencia puede ser cualquiera, con tal de que sea capaz de atravesar el VDAC; como ejemplos específicos de la misma se pueden mencionar azúcar común, citocromo c y similares, marcados con un isótopo (p. ej.,  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$  y similares).

El método de selección que comprende comparar una función del VDAC se puede llevar a cabo, por ejemplo, cultivando células que tienen VDAC, en copresencia de una sustancia de referencia y en presencia o ausencia del compuesto de prueba, y determinando a continuación la cantidad de la sustancia de referencia acumulada en las células.

Como ejemplos del mamífero, se pueden mencionar seres humanos, ratones, ratas, conejos, perros, gatos, bóvidos, caballos, cerdos, monos y similares.

Como el regulador del VDAC, se pueden mencionar los mencionados como el ingrediente activo en el susodicho agente para la profilaxis o el tratamiento del síndrome de Down.

Como la enfermedad del sistema nervioso, se pueden mencionar las mismas que se mencionaron anteriormente.

El regulador del VDAC tiene poca toxicidad y se puede administrar con seguridad a un mamífero.

5 El regulador del VDAC generalmente se puede formular como una preparación del mismo modo que el agente susodicho para la profilaxis o el tratamiento del síndrome de Down utilizando un vehículo farmacológicamente aceptable y su forma de dosificación, dosis y similares son las mismas que en el caso del agente para la profilaxis o el tratamiento del síndrome de Down. Además, el regulador del VDAC también se puede utilizar en combinación con los diversos fármacos concomitantes susodichos.

La presente invención se describe en lo sucesivo con más detalle por medio de ejemplos, ejemplos de referencia y ejemplos experimentales, pero no está limitada por los mismos.

10 Como los diversos materiales farmacéuticos utilizados en los ejemplos, se utilizaron artículos de acuerdo con la Farmacopea Japonesa XIV.

**Ejemplos**

Ejemplo 1 (producción de cápsulas)

|       |                             |       |
|-------|-----------------------------|-------|
| 1)    | Compuesto (5)               | 30 mg |
| 2)    | Celulosa finamente dividida | 10 mg |
| 3)    | Lactosa                     | 19 mg |
| 4)    | Estearato magnésico         | 1 mg  |
| Total |                             | 60 mg |

15 Como las células que tienen VDAC, se pueden mencionar las susodichas células de mamífero.

20 Como medios para el cultivo de las células, por ejemplo, se puede utilizar un medio MEM que contiene aproximadamente de 5 a 20% de suero de ternero fetal [Science, vol. 122, 501 (1952)], medio DMEM [Virology, vol. 8, 396 (1959)], medio RPMI 1640 [The Journal of the American Medical Association, vol. 199, 519 (1967)], medio 199 [Proceeding of the Society for the Biological Medicine, vol. 73, 1 (1950)] y similares. El pH del medio es preferiblemente aproximadamente de 6 a 8. El cultivo se lleva a cabo generalmente a aproximadamente de 30°C a 40°C durante aproximadamente de 0,1 a 96 horas (preferiblemente aproximadamente de 0,5 a 48 horas). Se pueden llevar a cabo aireación y agitación, según sea necesario.

La determinación de la cantidad de la sustancia de referencia se lleva a cabo utilizando un estuche de ensayo conocido y similares según un método conocido de por sí.

25 En el método de selección descrito anteriormente, un compuesto que regula (promueve o inhibe) una función del VDAC, particularmente un compuesto que inhibe una función del VDAC, es útil como un agente para la profilaxis o el tratamiento de una enfermedad del sistema nervioso,

30 Por ejemplo, se pueden seleccionar respectivamente un compuesto de prueba que incrementa una función del VDAC en aproximadamente 20% o más, preferiblemente 30% o más, más preferiblemente aproximadamente 50% o más, como un compuesto que promueve una función del VDAC; y un compuesto de prueba que disminuye una función del VDAC en aproximadamente 20% o más, preferiblemente 30% o más, más preferiblemente aproximadamente 50% o más, como un compuesto que inhibe una función del VDAC.

Un método para prevenir o tratar una enfermedad del sistema nervioso en un mamífero puede comprender administrar un regulador del VDAC a dicho mamífero.

35 1), 2), 3) y 4) se mezclan y se cargan en una cápsula de gelatina.

Ejemplo 2 (producción de comprimidos)

|                   |                              |       |
|-------------------|------------------------------|-------|
| 1)                | Compuesto (5)                | 30 g  |
| 2)                | Lactosa                      | 50 g  |
| 3)                | Almidón de maíz              | 15 g  |
| 4)                | Carboximetilcelulosa cálcica | 44 g  |
| 5)                | Estearato magnésico          | 1 g   |
| 1.000 comprimidos |                              | 140 g |

5 Las cantidades totales de 1), 2) y 3) y 30 g de 4) se amasan con agua; después de secar a vacío, se lleva a cabo granulación. Esta mezcla granular se mezcla con 14 g de 4) y 1 g de 5) y la mezcla resultante se forma como comprimidos utilizando una máquina de formación de comprimidos. Se obtienen 1.000 comprimidos que contienen 30 mg de Compuesto (5) por comprimido.

Ejemplo 3 (producción de cápsulas)

|       |                             |       |
|-------|-----------------------------|-------|
| 1)    | Compuesto (5)               | 30 mg |
| 2)    | Celulosa finamente dividida | 10 mg |
| 3)    | Lactosa                     | 19 mg |
| 4)    | Estearato magnésico         | 1 mg  |
| Total |                             | 60 mg |

1), 2), 3) y 4) se mezclan y se cargan en una cápsula de gelatina.

10 Ejemplo 4 (producción de comprimidos)

|                   |                              |       |
|-------------------|------------------------------|-------|
| 1)                | Compuesto (5)                | 30 g  |
| 2)                | Lactosa                      | 50 g  |
| 3)                | Almidón de maíz              | 15 g  |
| 4)                | Carboximetilcelulosa cálcica | 44 g  |
| 5)                | Estearato magnésico          | 1 g   |
| 1.000 comprimidos |                              | 140 g |

Las cantidades totales de 1), 2) y 3) y 30 g de 4) se amasan con agua; después de secar a vacío, se lleva a cabo granulación. Esta mezcla granular se mezcla con 14 g de 4) y 1 g de 5) y la mezcla resultante se forma como comprimidos utilizando una máquina de formación de comprimidos. Se obtienen 1.000 comprimidos que contienen 30 mg de Compuesto (5) por comprimido.

15 Ejemplo 5 (producción de comprimidos revestidos con película)

[Producción de un agente de revestimiento]

Se disolvieron 209,6 g de hidroxipropilmetilcelulosa 2910 (TC-5) y 42,0 g de Macrogol 6000 (polietilenglicol 6.000) en 2.520 g de agua purificada. En la solución obtenida se dispersaron 28,0 g de óxido de titanio y 0,4 de sesquióxido de hierro amarillo, para dar un agente de revestimiento.

20 [Producción de comprimidos simples]

Después de que 62,5 g de Compuesto (5), 3.738 g de lactosa y 750,0 g de almidón de maíz se mezclaran uniformemente en una secadora granuladora de lecho fluidizado (FD-5S, POWREX Corporation), se llevó a cabo la granulación en la secadora, mientras se pulverizaba una solución acuosa de 150 g de hidroxipropilcelulosa (HPCL) disuelta en la misma, y posteriormente se llevó a cabo el secado en la secadora granuladora de lecho fluidizado.

Los gránulos obtenidos se trituraron con un tamiz troquelador de 1,5 mm de diámetro utilizando una pulverizadora Power-Mill (P-3, Showa Machinery Co., Ltd.) para dar un polvo pulverizado.

- 5 A 4.136 g del polvo pulverizado se añadieron 220 g de croscarmelosa sódica y 44 g de estearato magnésico, y estos se mezclaron en una mezcladora de tambor (TM-15, Showa Machinery Co., Ltd.) para dar gránulos para formación de comprimidos. Los gránulos obtenidos se formaron como comprimidos (presión de formación de comprimidos: 7 KN/troquel) con 200 mg de peso con un tamiz troquelador de 8,5 mm de diámetro utilizando una máquina de formación de comprimidos giratoria (Correct 19K, Kikusui Seisakusho Co., Ltd.).

[Producción de comprimidos revestidos con película]

- 10 El agente de revestimiento susodicho se pulverizó sobre los comprimidos simples obtenidos en una máquina de revestimiento Driacoater (DRC-500, fabricada por POWREX) para dar 190.00 comprimidos revestidos con película de la siguiente prescripción que contienen 2,5 mg de Compuesto (5) por comprimido.

Prescripción de comprimidos simples (composición por comprimido)

|       |                       |          |
|-------|-----------------------|----------|
| 1)    | Compuesto (5)         | 2,5 mg   |
| 2)    | Lactosa               | 149,5 mg |
| 3)    | Almidón de maíz       | 30,0 mg  |
| 4)    | Croscarmelosa sódica  | 10,0 mg  |
| 5)    | Hidroxipropilcelulosa | 6,0 mg   |
| 6)    | Estearato magnésico   | 2,0 mg   |
| Total |                       | 200,0 mg |

Prescripción de comprimidos revestidos con película (composición por comprimido)

|       |                                 |          |
|-------|---------------------------------|----------|
| 1)    | Comprimido simple               | 200,0 mg |
|       | (Ingredientes de la película)   |          |
| 2)    | Hidroxipropilmetilcelulosa 2910 | 5,24 mg  |
| 3)    | Macrogol 6000                   | 1,05 mg  |
| 4)    | Óxido de titanio                | 0,7 mg   |
| 5)    | Sesquióxido de hierro amarillo  | 0,01 mg  |
| Total |                                 | 207,0 mg |

Ejemplo 6 (producción de comprimidos revestidos con película)

- 15 Del mismo modo que en el Ejemplo 5, excepto que las cantidades de Compuesto (5) y lactosa utilizadas eran 375,0 g y 3.425 g, respectivamente, se obtenían 19.000 comprimidos revestidos con película de la siguiente prescripción que contenía 15 mg de Compuesto (5) por comprimido.

Prescripción de comprimidos simples (composición por comprimido)

|       |                       |          |
|-------|-----------------------|----------|
| 1)    | Compuesto (5)         | 15,0 mg  |
| 2)    | Lactosa               | 137,0 mg |
| 3)    | Almidón de maíz       | 30,0 mg  |
| 4)    | Croscarmelosa sódica  | 10,0 mg  |
| 5)    | Hidroxipropilcelulosa | 6,0 mg   |
| 6)    | Estearato magnésico   | 2,0 mg   |
| Total |                       | 200,0 mg |

Prescripción de comprimidos revestidos con película (composición por comprimido)

|       |                                  |          |
|-------|----------------------------------|----------|
| 1)    | Comprimido simple                | 200,0 mg |
|       | (Ingredientes de la película)    |          |
| 2)    | Hidroxipropilmetilcelulosa 2.910 | 5,24 mg  |
| 3)    | Macrogol 6.000                   | 1,05 mg  |
| 4)    | Óxido de titanio                 | 0,7 mg   |
| 5)    | Sesquióxido de hierro amarillo   | 0,01 mg  |
| Total |                                  | 207,0 mg |

Ejemplo 7 (producción de comprimidos revestidos con película)

5 Del mismo modo que en el Ejemplo 5, excepto que las cantidades de Compuesto (5) y lactosa utilizadas eran 1.500,0 g y 2.300 g, respectivamente, se obtuvieron 19.000 comprimidos revestidos con película de la siguiente prescripción que contenía 60 mg de Compuesto (5) por comprimido.

Prescripción de comprimidos simples (composición por comprimido)

|       |                       |          |
|-------|-----------------------|----------|
| 1 )   | Compuesto (5)         | 60,0 mg  |
| 2)    | Lactosa               | 92,0 mg  |
| 3)    | Almidón de maíz       | 30,0 mg  |
| 4)    | Croscarmelosa sódica  | 10,0 mg  |
| 5)    | Hidroxipropilcelulosa | 6,0 mg   |
| 6)    | Estearato magnésico   | 2,0 mg   |
| Total |                       | 200,0 mg |

Prescripción de comprimidos revestidos con película (composición por comprimido)

|       |                                  |          |
|-------|----------------------------------|----------|
| 1)    | Comprimido simple                | 200,0 mg |
|       | (Ingredientes de la película)    |          |
| 2)    | Hidroxipropilmetilcelulosa 2.910 | 5,24 mg  |
| 3)    | Macrogol 6.000                   | 1,05 mg  |
| 4)    | Óxido de titanio                 | 0,7 mg   |
| 5)    | Sesquióxido de hierro amarillo   | 0,01 mg  |
| Total |                                  | 207,0 mg |

10

Ejemplo de referencia 1 (ejemplo de producción de partículas de látex de tipo grupo carboxilo)

15 Partículas de látex producidas según el método descrito en la Patente Japonesa nº 3086427 (JP-B-3086427) (partículas de SG-EGDE) se sometieron a tratamiento con amoníaco para escindir de ese modo el grupo epoxi superficial e introducir un grupo amino. Después de que las partículas obtenidas se lavaran con agua, se dispersaron en dimetilformamida, y se añadieron trietilamina de 10% de volumen y una cantidad en exceso de anhídrido succínico. La mezcla obtenida se agitó a temperatura normal durante 12 horas o más para introducir un grupo carboxilo al resto de grupo amino de la superficie de la partícula, para producir de ese modo partículas de látex de tipo grupo carboxilo.



## Ejemplo de referencia 2 (ejemplo de producción de Compuesto A)

Una mezcla de metanosulfonato de 3-[4-(4-clorofenil)-2-(2-metil-1-imidazolil)-5-oxazolil]propilo (395 mg), 4-hidroxibenzoato de metilo (225 mg), carbonato potásico (276 mg) y N,N-dimetilformamida (10 ml) se agitó a 90°C durante 2 horas. La mezcla de reacción se vertió en agua y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato magnésico anhidro y se concentró. La sustancia oleosa amarilla obtenida se disolvió en tetrahidrofurano (30 ml), se añadió poco a poco a 0°C hidruro de litio y aluminio (80 mg) y se llevó a cabo agitación a 0°C durante 1 hora. Se añadió decahidrato de sulfato sódico (1,0 g) a la mezcla de reacción y se llevó a cabo agitación a temperatura ambiente durante 30 minutos, después de lo cual se llevó a cabo filtración. El filtrado se concentró y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice. A partir de la fracción eluida con acetato de etilo, se obtuvo alcohol 4-((3-[4-(4-clorofenil)-2-(2-metil-1-imidazolil)-5-oxazolil]propil)oxi)benzílico (304 mg, rendimiento 72%) como una sustancia oleosa incolora.

NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  1,77 (1H, t, J = 5,5 Hz), 2,15-2,3 (2H, m), 2,73 (3H, s), 3,15 (2H, t, J = 7 Hz), 4,04 (2H, t, J = 7 Hz), 4,61 (2H, d, J = 5,5 Hz), 6,82 (2H, d, J = 9 Hz), 6,97 (1H, d, J = 1,5 Hz), 7,26 (2H, d, J = 9 Hz), 7,34 (2H, d, J = 9 Hz), 7,41 (1H, d, J = 1,5 Hz), 7,60 (2H, d, J = 9 Hz).

Una mezcla de alcohol 4-((3-[4-(4-clorofenil)-2-(2-metil-1-imidazolil)-5-oxazolil]propil)oxi)benzílico (1,90 g), cloruro de tionilo (0,95 g) y tetrahidrofurano (10 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. La mezcla de reacción se concentró, se vertió en agua y se extrajo con acetato de etilo. La capa de acetato de etilo se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato magnésico anhidro y se concentró. El residuo se disolvió en N,N-dimetilformamida (10 ml), se añadió diformilimida sódica (1,0 g) y la solución se agitó a 60°C durante la noche. La mezcla de reacción se vertió en agua y se extrajo con acetato de etilo. La capa de acetato de etilo se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato magnésico anhidro y se concentró. Después de que el residuo se sometiera a cromatografía de barrido en gel de sílice, la fracción obtenida se concentró. La sustancia oleosa obtenida se disolvió en una mezcla de solución de ácido clorhídrico-ácido acético (10 ml) y etanol (30 ml) y se agitó durante la noche. La mezcla de reacción se concentró y el sólido obtenido se recrystalizó en etanol-éter dietílico para dar dihidrocloruro de 4-{3-[4-(4-clorofenil)-2-(metil-1-imidazolil)-5-oxazolil]propiloxi}benzilamina (que contiene 0,25 moléculas de etanol y 1 molécula de agua por molécula del compuesto) (en lo sucesivo abreviado a veces en la presente memoria como compuesto A) como un cristal prismático incoloro higroscópico (750 mg, 32%).

Análisis elemental (C<sub>23</sub>H<sub>25</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>Cl<sub>3</sub>, 0,25 etanol, 1 H<sub>2</sub>O):

Calc.: C, 55,04; H, 6,77; 4,29

Encontrado: C, 55,07; H, 6,92; N, 4:25.

## Ejemplo Experimental 1: Identificación de la proteína de unión al Compuesto (5)

Después de que 5 mg de partículas de látex de tipo grupo carboxilo obtenidas en el Ejemplo de Referencia 1 se dispersaran en dioxano, se añadieron 23 mg de N-hidroxisuccinimida y 38 mg de carbodiimida soluble en agua, y se hicieron reaccionar a temperatura ambiente (aproximadamente de 20 a 25°C, se aplica lo mismo posteriormente) durante 2 horas. Después de que las partículas inmovilizadas con succinimida obtenidas se lavaran con metanol, se hicieron reaccionar con Compuesto A 4 mM (derivado aminado del Compuesto (5)) en 0,5 ml de solución tamponadora de acetato sódico 0,2 M (pH 5,3) a temperatura ambiente durante 1 hora para de ese modo inmovilizar el Compuesto A sobre las partículas. Se añadió solución acuosa 1 M de etanolamina-ácido clorhídrico (pH 8,5) a las partículas obtenidas, y se hicieron reaccionar a temperatura ambiente durante 2 horas para bloquear de ese modo grupos sin reaccionar en las partículas inmovilizadas con succinimida, después de lo cual las partículas se lavaron con metanol al 50% y agua para dar partículas inmovilizadas con Compuesto A. Las partículas inmovilizadas con Compuesto A se dispersaron en agua para obtener una concentración de 10 mg/ml y se almacenaron bajo refrigeración.

Entre tanto, se extrajo proteína de la fracción nuclear de neuroblastoma humano SK-N-SH (ATCC) según el método de Dignam, J. D. et al. (Nucleic Acids Res. 11, 1475-1489 (1983)), y se disolvió en tampón de 0,05TGEMN (Tris-HCl/glicerol/EDTA (ácido etilendiaminotetraacético)/MgCl<sub>2</sub>/NP-40) [cloruro sódico 50 mM, Tris-HCl 10 mM (pH 7,5), glicerol al 10% (p/v), EDTA 0,2 mM, MgCl<sub>2</sub> 1 mM, NP-40 (nonilfenoxipolietoxietanol) al 0,1%] (que contiene como aditivos recientemente añadidos DTT (ditiotreitól) 0,5 mM, APMSF (fluoruro de 4-amidinofenilmetanosulfonilo) 0,5 mM, 1 µg/ml de leupeptina y 1 µg/ml de pepstatina A) para obtener una concentración de 0,73 mg/ml. 0,15 ml de esta solución de proteína y 0,3 mg de las susodichas partículas inmovilizadas con Compuesto A se mezclaron y se incubaron a 4°C durante 3 horas para unir de ese modo la proteína que se une a Compuesto A al Compuesto A sobre la superficie de las partículas.

Posteriormente, se llevó a cabo centrifugación (15.000 x g, 5 minutos), el sobrenadante se retiró y las partículas obtenidas se lavaron con tampón de 0,05TGEMN. Las partículas después del lavado se dispersaron en 0,1 ml de un tampón de 0,05TGEMN que contenía 0,3 µl de DMF (Figura 1, Carril 1) o en 0,1 ml de tampón de 0,05TGEMN que contenía Compuesto (5) 300 µM y 0,3 µl de DMF (Figura 1, Carril 2), y se incubaron a 4°C durante 1,5 horas. Después de la centrifugación (15.000 x g, 5 minutos), el sobrenadante que contenía proteína se analizó mediante SDS-PAGE.

Después de la SDS-PAGE, el gel se tiñó utilizando un estuche de tinción de plata (Wako Pure Chemical), y se identificaron una banda de proteína de aproximadamente 32 kDa y una banda de proteína de aproximadamente 30 kDa, que se eluyeron selectivamente mediante el Compuesto (5) (Figura 1).

5 Se llevaron a cabo los mismos procedimientos de SDS-PAGE que se mencionan anteriormente, el gel obtenido se tiñó con CBB (Coomassie Brilliant Blue), la banda deseada se cortó y se llevó a cabo espectrometría de masas (TOF-MS, Shimadzu Corporation) del componente proteínico del gel. Como resultado, las bandas descritas anteriormente resultaron corresponder al canal aniónico dependiente del voltaje (VDAC)-1 y VDAC-3, respectivamente. Además, la banda de proteína de aproximadamente 32 kDa se identificó como VDAC-1 mediante el método de inmunotransferencia descrito posteriormente (Figura 2).

10 En primer lugar, células SK-N-SH (ATCC) se rompieron mediante ultrasonidos en tampón 0,1TGEMN [cloruro sódico 100 mM, Tris-HCl 10 mM (pH 7,5), glicerol al 10% (p/v), EDTA 0,2 mM, MgCl<sub>2</sub> 1 mM, NP-40 al 0,1%] (que contenía como aditivos recientemente añadidos DTT 0,5 mM, APMSF 0,5 mM, 1 µg/ml de leupeptina y 1 µg/ml de pepstatina A) para dar 1,43 mg/ml de solución de proteína. 0,1 ml de esta solución de proteína se añadieron a 0,3 mg de las susodichas partículas inmovilizadas con compuesto A en un tubo de Eppendorf de 1,5 ml, y se llevó a cabo  
15 incubación durante la noche a 4°C, para unir de ese modo la proteína que se une a compuesto A al Compuesto A sobre la superficie de las partículas.

Después de la centrifugación (15.000 x g, 5 minutos), el sobrenadante se retiró y las partículas obtenidas se lavaron con tampón de 0,1TGEMN tres veces. Cada una de una suspensión de las partículas después del lavado en tampón de SDS-PAGE (New England Biolabs) (97,5 µl) (Figura 2, Carril 2) y una solución mixta de 5 µl de la solución de  
20 proteína descrita anteriormente y 10 µl de tampón de SDS-PAGE (Figura 2, Carril 1) se hirvió durante 5 minutos. Después de que cada una de la suspensión y la solución mixta se centrifugara a 15.000 rpm durante 5 minutos, 15 µl del sobrenadante se sometieron a electroforesis. Después de la electroforesis, el gel obtenido se sometió a transferencia Western sobre una membrana de nailon según un método convencional, y utilizando anticuerpo anti-Porin 31HL (529536, Calbiochem), previamente diluido hasta 5 µg/ml, se llevó a cabo la detección de una banda de  
25 anticuerpo secundario (anti-IgG de ratón-AP conjugado, Bio-Rad), previamente diluido 5.000 veces, y fluido de detección de NBT/BCIP (Promega).

#### Ejemplo experimental 2: Acción supresora de fugas de citocromo c

El efecto del Compuesto (5) sobre la función del VDAC se evaluó determinando la cantidad de fuga de citocromo c en el citoplasma de células PC12.

30 Células PC12, precultivadas en un DMEM (medio de Eagle modificado de Dulbecco) que contiene 10% de FCS (suero de ternero fetal), se sembraron en un plato de cultivo de 10 cm de diámetro (Falcon) y se cultivaron hasta que se volvían casi confluentes. Después de que el plato de cultivo se lavara con DMEM, se añadió un DMEM que contenía 0,5% de FCS (grupo de 0,5% de FCS) o un DMEM que contenía 0,5% de FCS y 0,3 µmol/l de Compuesto  
35 (5) (grupo de 0,5% de FCS + Compuesto (5)), y las células se cultivaron adicionalmente durante 16 horas. Se recuperaban las células suspendidas en el caldo de cultivo y las células que se adherían al plato de cultivo, separadas mediante tratamiento con tripsina-EDTA. Las células recuperadas, después de lavarse con PBS, se enfriaron con hielo en una solución de digitonina [10 mmol/l de HEPES, 0,3 mol/l de manitol, 0,1% (p/v) de BSA, 100 µmol/l de digitonina] (100 µl) durante 5 minutos para extraer proteína citoplásmica. Después de que la proteína citoplásmica obtenida se centrifugara a 8.500 x g durante 5 minutos, se analizaron 12 µl del sobrenadante utilizando  
40 un estuche de ensayo [estuche de ELISA de citocromo c (MBL) y BCL-II (Pierce), respectivamente] para determinar su contenido de citocromo c y su contenido de proteína. Posteriormente, se calculó el contenido de citocromo c por cantidad unitaria de proteína total y este se tomó como la cantidad de fuga de citocromo c (ng/mg). Los resultados se muestran en la Tabla 1

Tabla 1

|                                      | Cantidad de fuga de citocromo c (ng/mg) |
|--------------------------------------|---|
| grupo de 0,5% de FCS                 | 19,4                                    |
| grupo de 0,5% de FCS + Compuesto (5) | 7,0                                     |

45 Según se muestra anteriormente, resultaba que el Compuesto (5) disminuía la cantidad de fuga de citocromo c. Esto es, el Compuesto (5) suprimía la acción de fuga de citocromo c, que es una función de VDAC.

#### Ejemplo experimental 3

50 Se evaluó la acción supresora de la apoptosis del Compuesto (5) determinando el contenido de nucleosomas en células PC12.

5 Células PC12, precultivadas en DMEM que contenía 10% de FCS, se sembraron en una placa de cultivo de 24 pocillos para obtener una concentración de  $6 \times 10^4$  células/pocillo, y se cultivaron durante 24 horas. Después de que la placa de cultivo se lavara con DMEM, se añadió un DMEM que contenía 0,5% de FCS (grupo de 0,5% de FCS) o un DMEM que contenía 0,5% de FCS y 0,3  $\mu\text{mol/l}$  de Compuesto (5) (grupo de 0,5% de FCS + Compuesto (5)), y las células se cultivaron adicionalmente durante 24 horas. Además, como un grupo de control, se llevaron a cabo los mismos procedimientos utilizando un DMEM que contenía 10% de FCS (grupo de 10% de FCS). Se recuperaron las células suspendidas en el caldo de cultivo y las células que se adherían a la placa de cultivo, separadas mediante tratamiento con tripsina-EDTA. Según el protocolo de un estuche para ensayos de apoptosis con detección de nucleosomas como una referencia (Cell Death Detection ELISA, Roche), las células recuperadas se suspendieron en 500  $\mu\text{l}$  de la solución citolítica unida a dicho estuche de ensayo. Después de que la suspensión se enfriara con hielo durante 30 minutos, se centrifugó a 15.000 rpm durante 10 minutos y se recuperaron 400  $\mu\text{l}$  del sobrenadante. Dicho sobrenadante se diluyó 2 veces y se sometió a ELISA para determinar su contenido de nucleosomas. Posteriormente, tomando el contenido de nucleosomas en el grupo de 10% de FCS como 100%, se calculó el porcentaje en cada grupo. Los resultados se muestran en la Tabla 2.

15 Tabla 2

|                                      | Contenido de nucleosomas ( %) |
|--------------------------------------|-------------------------------|
| grupo de 10% de FCS                  | 100                           |
| grupo de 0,5% de FCS                 | 422                           |
| grupo de 0,5% de FCS + Compuesto (5) | 176                           |

Según se muestra anteriormente, resultaba que el contenido de nucleosomas se incrementaba a medida que la concentración de FCS durante el cultivo celular disminuía desde 10% hasta 0,5%, y que este incremento era suprimido por el Compuesto (5). Esto es, el Compuesto (5) suprimía la apoptosis inducida por escasez de suero.

20 Ejemplo experimental 4

La acción de incremento de la actividad respiratoria de la mitocondria del Compuesto (5) se evaluó utilizando Alamar Blue.

25 Después de que células PC12, precultivadas en DMEM que contenía 10% de suero de ternero fetal (FCS), se suspendieron en el mismo medio para obtener una concentración de  $2 \times 10^5$  células/ml, la suspensión obtenida se sembró en una placa de cultivo de 96 pocillos para obtener una concentración de 0,1 ml/pocillo y se cultivaron durante 24 horas. Después de que dicha placa de cultivo se lavara con DMEM, se añadió una solución obtenida diluyendo Compuesto (5) en DMEM libre de FCS para obtener una concentración de 3  $\mu\text{mol/l}$ , y se llevó a cabo cultivo durante 3 horas [grupo con adición de Compuesto (5)].

30 Entre tanto, células P12 se cultivaron del mismo modo, excepto que no se añadía Compuesto (5) [grupo sin adición de Compuesto (5)], o se añadía B-27 (nombre comercial, Life Science), que es un suplemento para el cultivo de nervios, en una concentración de 10% en lugar de la solución de Compuesto (5) [grupo con adición de B-27].

35 Posteriormente, se añadieron a cada pocillo de la placa de cultivo 10  $\mu\text{l}$  de solución de Alamar Blue (Alamar Biosciences), que es un indicador de la actividad respiratoria mitocondrial; se determinó la fluorescencia justo después de la adición y después de que la placa se dejara reposar en una incubadora con  $\text{CO}_2$  al 5% a  $37^\circ\text{C}$  durante 10 minutos utilizando un Fluoroscan (Flow Laboratories) [longitud de onda de excitación (Ex.): 538 nm, longitud de onda de emisión (Em.): 590 nm], y se obtuvo su variación.

Por otra parte, tomando la variación de fluorescencia en el grupo con adición de B-27 como 100%, se calcularon los valores relativos de variación de fluorescencia en el grupo con adición de Compuesto (5) y el grupo sin adición de Compuesto (5).

40 Como resultado, la variación de fluorescencia se incrementaba hasta  $126,7\% \pm 15,7\%$  (media  $\pm$  desviación estándar,  $n = 7$ ) en el grupo con adición de Compuesto (5) y disminuía hasta  $73,2\% \pm 1,9\%$  (media  $\pm$  desviación estándar,  $n = 7$ ) en el grupo sin adición de Compuesto (5). Además, la variación de fluorescencia en el grupo con adición de Compuesto (5) se incrementaba significativamente ( $p < 0,001$ , prueba de la t) en comparación con la variación de fluorescencia en el grupo sin adición de Compuesto (5). Esto demostraba que el Compuesto (5) posee una acción de incremento de la actividad respiratoria mitocondrial.

45 Ejemplo experimental 5

La acción estabilizadora del potencial de la membrana mitocondrial del Compuesto (5) se evaluó utilizando Rodamin 123 (nombre comercial, Molecular Probe).

5 Después de que células PC12, precultivadas en un DMEM que contiene 10% de suero de ternero fetal (FCS), se suspendieran en el mismo medio para obtener una concentración de  $2 \times 10^5$  células/ml, la suspensión obtenida se sembró en una placa de cultivo de 96 pocillos para obtener una concentración de 0,1 ml/pocillo y se cultivaron durante 24 horas. Después de que dicha placa de cultivo se lavara con DMEM, se añadió una solución obtenida diluyendo Compuesto (5) en DMEM libre de FCS para obtener una concentración de 3  $\mu\text{mol/l}$ , y se llevó a cabo cultivo durante 4 horas [grupo con adición de Compuesto (5)].

Entre tanto, células PC12 se cultivaron del mismo modo, excepto que no se añadía Compuesto (5) [grupo sin adición de Compuesto (5)], o se añadía 10% de FCS en lugar de la solución de Compuesto (5) (grupo con adición de FCS).

10 Posteriormente, se añadió Rodamin 123 (nombre comercial, Molecular Probe), que es un indicador del potencial de membrana mitocondrial, a cada pocillo de la placa para obtener una concentración de 1  $\mu\text{mol/l}$ ; se determinó la fluorescencia justo después de la adición y después de que la placa se dejara reposar en una incubadora con  $\text{CO}_2$  al 5% a 37°C durante 10 minutos utilizando un Fluoroscán (Flow Laboratories) [longitud de onda de excitación (Ex.): 485 nm, longitud de onda de emisión (Em.): 538 nm], y se obtuvo su variación.

15 Por otra parte, tomando la variación de fluorescencia en el grupo con adición de FCS como 100%, se calcularon los valores relativos de variación de fluorescencia en el grupo con adición de Compuesto (5) y el grupo sin adición de Compuesto (5).

20 Como resultado, la variación de fluorescencia ascendía anormalmente hasta  $131,2\% \pm 12,9\%$  (media  $\pm$  desviación estándar,  $n = 8$ ) en el grupo sin adición de Compuesto (5) pero mostraba solo un ligero ascenso hasta  $110,0\% \pm 8,0\%$  (media  $\pm$  desviación estándar,  $n = 8$ ) en el grupo con adición de Compuesto (5). Además, la variación de fluorescencia en el grupo con adición de Compuesto (5) disminuía significativamente ( $p < 0,001$ , prueba de la t) en comparación con la variación de fluorescencia en el grupo sin adición de Compuesto (5). Esto demostraba que el Compuesto (5) posee una acción estabilizante del potencial de membrana mitocondrial.

#### Aplicabilidad industrial

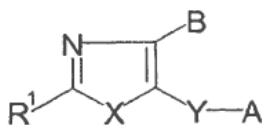
25 El regulador del VDAC de la presente invención está libre de efectos secundarios y se puede utilizar, aunque no según la presente invención, como agente para la profilaxis o el tratamiento del síndrome de Down y similares.

Además, la función supresora de la apoptosis y mejoradora de la función mitocondrial de la presente invención están libres de efectos secundarios y se pueden utilizar, aunque no según la presente invención, como un agente para la profilaxis o el tratamiento de una enfermedad del sistema nervioso y similares.

30 Por otra parte, según el método de selección divulgado en la presente memoria, es posible seleccionar un agente para la profilaxis o el tratamiento de una enfermedad del sistema nervioso que tiene un excelente efecto y que está libre de efectos secundarios.

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto representado por la fórmula (I):



5 en donde R<sup>1</sup> es un grupo imidazolilo que puede estar sustituido con un grupo alquilo C<sub>1-10</sub>; A es un grupo fenoxi sustituido con un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono; B es un grupo fenilo que puede estar sustituido con un átomo de halógeno; X es un átomo de oxígeno; e Y es un grupo alquileo C<sub>1-4</sub>, o una de sus sales, para la utilización en la profilaxis o el tratamiento de la retinitis pigmentosa, el sida, la hepatitis fulminante, una enfermedad mielodisplásica o una enfermedad hepática.

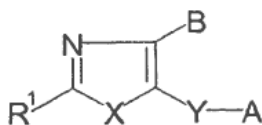
2. El compuesto según la reivindicación 1, en donde Y es -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-.

10 3. El compuesto según la reivindicación 1, en donde el compuesto representado por la fórmula (I) es 4-(4-clorofenil)-2-(2-metil-1-imidazolil)-5-[3-(2-metilfenoxi)propil]oxazol.

4. El compuesto según la reivindicación 1, en donde la enfermedad mielodisplásica es anemia aplástica.

5. El compuesto según la reivindicación 1, en donde la enfermedad hepática es hepatitis alcohólica, hepatitis B o hepatitis C.

15 6. Utilización de un compuesto representado por la fórmula (I):



20 en donde R<sup>1</sup> es un grupo imidazolilo que puede estar sustituido con un grupo alquilo C<sub>1-10</sub>; A es un grupo fenoxi sustituido con un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono; B es un grupo fenilo que puede estar sustituido con un átomo de halógeno; X es un átomo de oxígeno; e Y es un grupo alquileo C<sub>1-4</sub>, o una de sus sales, para la producción de un medicamento para la utilización en la profilaxis o el tratamiento de la retinitis pigmentosa, el sida, la hepatitis fulminante, una enfermedad mielodisplásica o una enfermedad hepática.

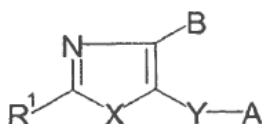
7. Utilización según la reivindicación 6, en donde Y es -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-.

8. Utilización según la reivindicación 6, en donde el compuesto representado por la fórmula (I) es 4-(4-clorofenil)-2-(2-metil-1-imidazolil)-5-[3-(2-metilfenoxi)propil]oxazol.

25 9. Utilización según la reivindicación 6, en donde la enfermedad mielodisplásica es anemia aplástica.

10. Utilización según la reivindicación 6, en donde la enfermedad hepática es hepatitis alcohólica, hepatitis B o hepatitis C.

11. Un compuesto representado por la fórmula (I):

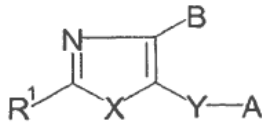


30 en donde R<sup>1</sup> es un grupo imidazolilo que puede estar sustituido con un grupo alquilo C<sub>1-10</sub>; A es un grupo fenoxi sustituido con un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono; B es un grupo fenilo que puede estar sustituido con un átomo de halógeno; X es un átomo de oxígeno; e Y es un grupo alquileo C<sub>1-4</sub>, o una de sus sales, para la utilización en la profilaxis o el tratamiento de la degeneración pigmentaria de la retina, la disfunción hepática o la anemia sideroblástica.

35 12. El compuesto según la reivindicación 11, en donde Y es -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-.

13. El compuesto según la reivindicación 11, en donde el compuesto representado por la fórmula (I) es 4-(4-clorofenil)-2-(2-metil-1-imidazolil)-5-[3-(2-metilfenoxi)propil]oxazol.

14. Utilización de un compuesto representado por la fórmula (I):

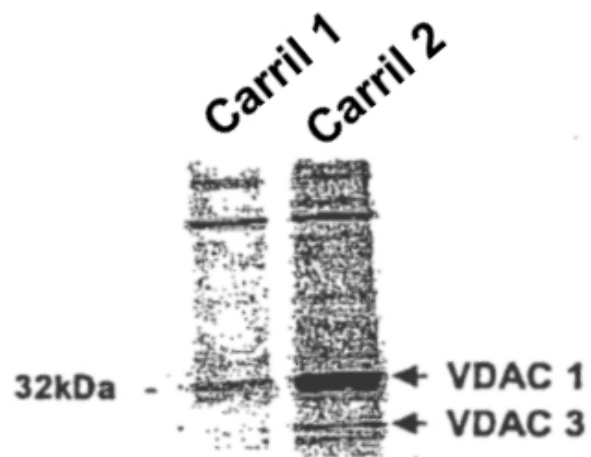


5 en donde R<sup>1</sup> es un grupo imidazolilo que puede estar sustituido con un grupo alquilo C<sub>1-10</sub>; A es un grupo fenoxi sustituido con un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono; B es un grupo fenilo que puede estar sustituido con un átomo de halógeno; X es un átomo de oxígeno; e Y es un grupo alquileo C<sub>1-4</sub>, o una de sus sales, para la producción de un medicamento para la utilización en la profilaxis o el tratamiento de la degeneración pigmentaria de la retina, la disfunción hepática o la anemia sideroblástica.

15. Utilización según la reivindicación 14, en donde Y es -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-.

10 16. Utilización según la reivindicación 14, en donde el compuesto representado por la fórmula (I) es 4-(4-clorofenil)-2-(2-metil-1-imidazolil)-5-[3-(2-etilfenoxi)propil]oxazol.

**FIG. 1**



**FIG. 2**

