(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 485 540**

(21) Número de solicitud: 201330171

(51) Int. Cl.:

A61K 31/175 (2006.01)

(12) SOLICITUD DE PATENTE A1

(22) Fecha de presentación:

11.02.2013

(43) Fecha de publicación de la solicitud:

13.08.2014

(71) Solicitantes:

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID (33.3%)
Ciudad Universitaria de Cantoblanco, Einstein, 3
28049 Madrid ES;
UNIVERSITY OF BERGEN (33.3%) y
UNIVERSITY OF MICHIGAN (33.3%)

(72) Inventor/es:

PÉREZ GONZÁLEZ, Belén;
RUIZ DESVIAT, Lourdes;
JORGE FINNIGAN, Ana;
UGARTE PÉREZ, Magdalena;
MARTÍNEZ RUIZ, Aurora;
UNDERHAUG, Jarl y
BARNEJEE, Ruma

(74) Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

(54) Título: **Compuestos útiles en el tratamiento de la aciduría metilmalónica**

(57) Resumen:

Compuestos útiles en el tratamiento de la aciduría metilmalónica.

La presente invención se refiere al uso de una chaperona química o farmacológica que contiene al menos un grupo arilo para la preparación de un medicamento para el tratamiento y/o la prevención de la aciduría metilmalónica, así como a una composición farmacéutica particularmente útil en dicho tratamiento.

ES 2 485 540 A1

DESCRIPCIÓN

COMPUESTOS ÚTILES EN EL TRATAMIENTO DE LA ACIDURÍA METILMALÓNICA

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención se engloba dentro del campo de la medicina, más particularmente, se relaciona con el tratamiento de la aciduría metilmalónica (AMM).

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

Las enfermedades metabólicas hereditarias (EMH), también denominadas metabolopatías o errores congénitos del metabolismo (ECM), son enfermedades genéticas que se caracterizan por la alteración de una proteína (enzima, transportador o cofactor) que produce el bloqueo de un proceso metabólico con distintas consecuencias: acumulación del sustrato, déficit del producto o activación de rutas alternativas.

Entre dichas enfermedades se encuentran los defectos genéticos del metabolismo intracelular de las cobalaminas y de procesos relacionados. La vitamina B_{12} o cobalamina es un micronutriente esencial que los mamíferos deben tomar de la dieta y procesar mediante un complejo metabolismo para poder obtener metilcobalamina o adenosilcobalamina, que sirven de cofactores activos a las enzimas metionina sintasa (MS, EC 2.1.1.13) en el citoplasma y metilmalonil-CoA mutasa (MUT E.C. 5.4.99.2) en la mitocondria. Básicamente, la vitamina B_{12} se toma de la dieta y entra en la célula mediante un receptor específico, sigue la vía lisosomal y en el citoplasma se une a la proteína codificada por el gen MMACHC (Hannibal, et al., 2009) para después ser o bien metilada a metilcobalamina en el citoplasma o transportada a la mitocondria y ser adenosilada mediante una reacción de reducción, proceso en el que intervienen dos proteínas adicionales, ATP:cobalamina adenosiltransferasa (ATR) y la MMAA (Banerjee, et al., 2009).

El estudio de los defectos congénitos del metabolismo intracelular de las cobalaminas ha permitido la identificación de nueve grupos de complementación, denominados *cblA-J* y *mut*. En concreto, los defectos en la apoenzima metionina sintasa o en la síntesis del cofactor activo metilcobalamina (grupos de complementación *cblDvariante1*, *E* y *G*) causan homocistinuria aislada, mientras que defectos en la síntesis de adenosilcobalamina (grupos

cblA, *B* y *Dvariante2*) o en la apoenzima MUT (grupo *mut*) provocan la aparición de aciduria metilmalónica aislada. Los defectos en el metabolismo común a los dos cofactores causan la aciduria metilmalónica combinada con homocistinuria (grupos *cblC*, *D, F y J*) (Banerjee, et al., 2009; Coelho, et al., 2012). Se han identificado los genes responsables de los diferentes grupos de complementación.

La proteína ATR es un homotrímero codificado por el gen MMAB (aciduria metilmalónica aislada tipo *cblB*) (Dobson, et al., 2002; Schubert y Hill, 2006). El producto final, adenosilcobalamina, es el cofactor activo de la metilmalonil-CoA mutasa (MUT) codificada por el gen MUT. MUT es la última enzima de la vía de oxidación del propionato, la ruta metabólica en la que el ácido propiónico que se genera como resultado del catabolismo de los aminoácidos ramificados, de la cadena lateral del colesterol así como de la β-oxidación de los ácidos grasos, se convierte en succinil-CoA via L-metilmalonil-CoA para que pueda entrar en el ciclo de Krebs y ser totalmente catabolizado (Fowler, et al., 2008).

Por tanto, la aciduría metilmalónica o acidemia metilmalónica (AMM) recoge un grupo de EMH de los aminoácidos ramificados que está causado por la incapacidad de convertir L-metilmalonil-CoA en succinil-CoA en la vía del propionato, y se caracteriza por el acúmulo de ácido metilmalónico en fluidos fisiológicos.

El tratamiento actual para los pacientes con aciduria metilmalónica aislada o combinada con homocistinuria en ambos casos es la restricción proteica de la dieta y suplementos de aminoácidos artificiales no propionogénicos, carnitina y en algunos casos B_{12}. El 40% de los *cblB* reponden bioquímicamente a B_{12} *y*, se les suplementa con el cofactor (Fowler, et al., 2008). A pesar de que la restricción de metabolitos propiogénicos puede reducir la acumulación de metabolitos tóxicos, ni los efectos clínicos ni bioquímicos son siempre favorables, llegando a producir afectaciones neurológicas severas no reversibles ya que la acumulación de metabolitos intermediarios sigue produciéndose. En algunos casos se plantea como terapia el transplante de hígado.

Por consiguiente, el problema del tratamiento de la aciduría metilmalónica está todavía lejos de ser resuelto satisfactoriamente y por tanto sigue existiendo la necesidad de desarollar nuevas terapias para el tratamiento de dicha enfermedad.

COMPENDIO DE LA INVENCIÓN

Los autores de la presente invención han encontrado una serie de compuestos que son capaces de actuar como chaperonas químicas/farmacológicas de proteínas que, a causa de mutaciones, no se pliegan correctamente dando lugar a la aparación de aciduría metilmalónica. Así, se ha observado, por ejemplo, que dichos compuestos estabilizan en general de manera específica y a bajas concentraciones la proteína ATR normal, aumentando además significativamente la actividad/estabilidad de proteínas mutantes, tanto *in vitro* utilizando proteínas recombinantes como *ex vivo* en fibroblastos de pacientes.

Por tanto, en un aspecto la invención se refiere al uso de una chaperona química/farmacológica que tiene la fórmula general (I) (también denominado compuesto de la invención) para la preparación de un medicamento para el tratamiento y/o la prevención de la aciduría metilmalónica.

En otro aspecto, la invención se dirige a un compuesto de la invención para su uso en el tratamiento y/o la prevención de la aciduría metilmalónica.

En otro aspecto, la invención se dirige a un compuesto de la invención para el tratamiento y/o la prevención de la aciduría metilmalónica.

En otro aspecto, la invención se dirige a un medicamento o composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de la invención y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable, especialmente para su uso en el tratamiento y/o la prevención de la aciduría metilmalónica.

Otro aspecto de la invención es un método para el tratamiento y/o la prevención de la aciduría metilmalónica, que comprende administrar al paciente que necesita de un tratamiento o prevención de este tipo una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención.

Estos aspectos y realizaciones preferidas de los mismos, también se definen adicionalmente más adelante en el presente documento en la descripción detallada, así como en las reivindicaciones.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1: Gráfica de fluorimetría de barrido diferencial para el compuesto 5. Se representa la fluorescencia a 610nm de ATR silvestre (“*wild-type”)* purificada *vs* temperatura (ºC). En gris se muestra la curva de ATR incubada con DMSO, en negro la ATR incubada con el compuesto 5 La temperatura de *melting* (T_m) se calcula como la temperatura a la que se alcanza el 50% de la fluorescencia máxima. ΔTm resulta de la diferencia entre la T_m en presencia de compuesto y la T_m en presencia de DMSO.

Figura 2: Efecto del compuesto 5 sobre la estabilidad de la proteína ATR silvestre y p.I96T. Se indujo la expresión de ATR p.I96T en presencia de DMSO, se calculó la vida media relativa y este dato se tomó como referencia (valor 1). Se procedió de igual modo con el compuesto 5 a 80 μM y se referenciaron al valor de DMSO. ** = p-valor < 0,01; *** =p-valor <0,005; **** =p-valor <0,0005.

Figura 3: Efecto del compuesto 5 sobre la actividad específica de ATR silvestre purificada. Se ensayaron concentraciones de 40 y 80 μM de compuesto 5 o su equivalente de DMSO.

Figura 4: Efecto *ex vivo* del compuesto 5. La línea celular estable deficiente (“*knock-out”)* con genotipo p.I96T/p.S174fs se creció en presencia de 40 y 80 μM del compuesto 5 durante 72 horas y se midió la actividad de la vía metabólica. Se indica el control intra-ensayo y la medida de controles del laboratorio (inter-ensayo). Los ensayos se realizan por triplicado. ** = p-valor < 0.05.

Figura 5: Efecto del compuesto 5 sobre la estabililidad de la proteína ATR en un ratón silvestre (“*wild-type”)*. Se muestra el efecto del compuesto 5 sobre la ATR de hígado y cerebro de ratón.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

El conocimiento sobre mutaciones que producen proteínas inestables ha permitido el desarrollo de estrategias terapéuticas específicas, siendo una de las que está ganando más fuerza la estabilización de la proteína mutante mediante compuestos con actividad chaperona (Calvo, et al., 2010; Martinez, et al., 2008; Pey, et al., 2008).

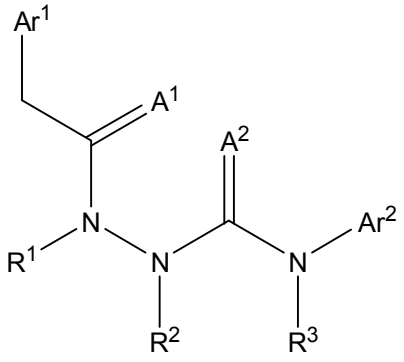
Es necesario puntualizar la diferencia entre las chaperonas moleculares y las chaperonas químicas/farmacológicas. Las primeras son estructuras multiproteicas encargadas de ayudar a que una proteína adquiera su correcta conformación tridimensional actuando durante su síntesis mediante procesos catalíticos específicos que conllevan gasto de energía (Hartl and Hayer-Hartl, 2009). Sin embargo las chaperonas químicas/farmacológicas son sustancias químicas que estabilizan una proteína por unión a la misma (Stevens, et al., 2010).

Las chaperonas químicas y farmacológicas son compuestos orgánicos de pequeño tamaño, tipo osmolitos, capaces de unirse y estabilizar una proteína. En el caso de que estabilicen una proteína mediante uniones inespecíficas o por fenómenos físico-químicos como *molecular crowding* se las denomina chaperonas químicas, y en general requieren encontrarse a altas concentraciones para poder ejercer su efecto. Por el contrario, si se unen de modo selectivo a una proteína (o un pequeño número de ellas) se utiliza el término chaperona farmacológica, entendiendo, por tanto, que es una molécula con bajo peso molecular capaz de estabilizar específicamente una proteína a concentraciones relativamente bajas (Loo y Clarke, 2007; Martinez, et al., 2008; Stevens, et al., 2010). La chaperona ejerce su acción estabilizando la forma nativa de la proteína diana y/o facilitando el plegamiento de sus formas no nativas hacia las nativas evitando así que agreguen o que sean degradadas por el sistema de control de calidad celular (Bucciantini, et al., 2002; Hiller, et al., 1996; Pey, et al., 2008; Schubert, et al., 2000).

Las chaperonas químicas/farmacológicas pueden resultar útiles como tratamiento de enfermedades conformacionales en las que hay una pérdida o ganancia de función como consecuencia de una proteína inestable, habiéndose demostrado este potencial en el tratamiento de varias enfermedades genéticas (Calvo, et al., 2010; Maegawa, et al., 2007; Pey, et al., 2008; Tropak, et al., 2007; Wiseman y Balch, 2005).

Los presentes inventores, tras llevar a cabo una extensa investigación, han encontrado una serie de compuestos que responden a la fórmula (I) útiles para la preparación de medicamentos dirigidos al tratamiento y/o la prevención de aciduría metilmalónica en mamíferos, incluyendo el hombre, gracias a su capacidad para actuar como chaperonas quimicas/farmacológicas de proteínas cuyo plegamiento incorrecto da lugar a la aparición de dicha enfermedad. Los compuestos de la presente invención se unen a dicha proteína y ayudan a que las proteínas mutadas plieguen correctamente, recuperando por tanto la actividad protéica normal.

El compuesto de la invención tiene una fórmula general (I):



Fórmula (I)

en la que

Ar^1 y Ar^2 representan independientemente un grupo arilo;

A^1 y A^2 representan independientemente un átomo de oxígeno o de azufre; y

R^1, R^2 y R^3 se seleccionan independientemente entre H y un grupo protector de amino;

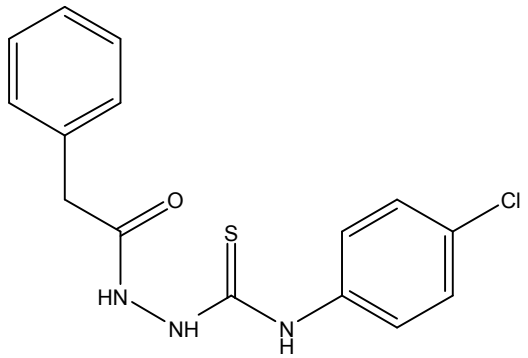
o una sal, isómero, profármaco o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En los compuestos de fórmula general (I), preferentemente el grupo arilo es fenilo opcionalmente sustituido, como por ejemplo fenilo sustituido por al menos un átomo de halógeno, tal como cloro. Dicha sustitución o sustituciones puede ser en posiciones orto, meta o para. En una realización aún más preferida, Ar^1 es fenilo y Ar^2 es fenilo sustituido por cloro, estando dicho cloro preferentemente en posición para.

En ciertas realizaciones, A^1 y A^2 son distintos en la fórmula general (I). De manera preferida, A^1 es un átomo de oxígeno y A^2 es un átomo de azufre.

En la fórmula general (I), R^1, R^2 y R^3 pueden ser hidrógeno, o bien, los grupos amino NR^1, NR^2 y NR^3 pueden estar sustituidos de manera independiente por un grupo protector de amino, como por ejemplo un grupo alquilo opcionalmente sustituido, tal como metilo.

En una realización especialmente preferida, el compuesto de fórmula general (I) es el compuesto 5:



Compuesto 5

o una sal, isómero, profármaco o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En realizaciones preferidas adicionales, se combinan las preferencias descritas anteriormente para los diferentes sustituyentes. La presente invención también se refiere a tales combinaciones de substituciones preferidas en la fórmula general anterior.

"**Grupo protector de amino**" se refiere a un grupo que bloquea las funciones NR^1, NR^2 y/o NR^3 para reacciones posteriores y que se puede eliminar en condiciones controladas. Los grupos protectores de amino son bien conocidos en la técnica y son grupos protectores representativos los grupos alquilo sustituido o no sustituido; los carbamatos, p. ej., carbamatos de fórmula –C(=O)OR''; amidas, p. ej. amidas de fórmula –C(=O)R'', tales como acetatos sustituidos o no sustituidos; o restos sililo de fórmula $–Si(R'')_3$; en los que cada uno de los grupos R'' representan de forma independiente un grupo seleccionado del grupo constituido por alquilo sustituido o no sustituido, alquenilo sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido y arilalquilo sustituido o no sustituido. Ejemplos de grupos protectores de amino apropiados y sus condiciones de eliminación pueden encontrarse en textos de referencia, como por ejemplo, Greene y Wuts' "Protective Groups in Organic Synthesis", John Wiley & Sons, Inc., New York, 4th Ed., 2007.

"**Alquilo**" se refiere a un radical de cadena hidrocarbonada lineal o ramificada que consiste en de 1 a 12 átomos de carbono, que no contiene ninguna insaturación, y que se une al resto de la molécula mediante un enlace sencillo, por ejemplo, metilo, etilo, n-propilo, i-propilo, n-butilo, t-butilo, n-pentilo, etc. Radicales alquilo preferidos tienen desde 1 hasta 6 átomos de carbono. En ciertas realizaciones, radicales alquilo preferidos tienen desde 1 hasta 4 átomos de carbono.

"**Alquenilo**" se refiere a un radical de cadena hidrocarbonada lineal o ramificada que consiste en de 2 a 12 átomos de carbono, que contiene al menos una insaturación, y que se

une al resto de la molécula mediante un enlace sencillo. Radicales alquenilo preferidos tienen desde 2 hasta 6 átomos de carbono.

"**Arilo**" se refiere a radicales de uno solo y de múltiples anillos aromáticos, incluyendo radicales de múltiples anillos que contienen grupos arilo separados y/o condensados. Grupos arilo típicos contienen desde 1 hasta 3 anillos separados o condensados y desde 6 hasta aproximadamente 18 átomos de carbono de anillo, tales como radical fenilo, naftilo, indenilo, fenantrilo o antracilo. Radicales arilo preferidos tienen desde 6 hasta 10 átomos de carbono de anillo.

"**Arilalquilo**" se refiere a un grupo arilo, tal como se ha definido anteriormente, unido al resto de la molécula a través de un grupo alquilo, tal como se ha definido anteriormente, tal como bencilo y fenetilo.

Los grupos mencionados anteriormente pueden sustituirse en una o más posiciones disponibles con uno o más grupos adecuados tales como OR', =O, SR', SOR', SO_2R', OSO_2R', OSO_3R', NO_2, NHR', $N(R')_2$, =N-R', N(R')COR', $N(COR')_2$, $N(R')SO_2R'$, N(R')C(=NR')N(R')R', CN, halógeno, COR', COOR', OCOR', OCOOR', OCONHR', $OCON(R')_2$, CONHR', $CON(R')_2$, CON(R')OR', $CON(R')SO_2R'$, $PO(OR')_2$, PO(OR')R', PO(OR')(N(R')R'), alquilo C_1-C_{12} sustituido o no sustituido, alquenilo C_2-C_{12} sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, en los que cada uno de los grupos R' se selecciona independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, OH, NO_2, NH_2, SH, CN, halógeno, COH, CO-alquilo, COOH, alquilo C_1-C_{12} sustituido o no sustituido, alquenilo C_2-C_{12} sustituido o no sustituido, y arilo sustituido o no sustituido. Cuando tales grupos están a su vez sustituidos, pueden elegirse los sustituyentes de la lista anterior.

"**Halógeno**", "halo" o "hal" se refiere a bromo, cloro, yodo o flúor.

El término "**sal**" debe entenderse como cualquier forma de un compuesto activo usado según esta invención en la que dicho compuesto está en forma iónica o está cargado y acoplado a un contraión (un catión o anión) o está en disolución. Esta definición también incluye sales de amonio cuaternario y complejos de la molécula activa con otras moléculas e iones, particularmente, complejos formados por medio de interacciones iónicas. La definición incluye en particular "sales farmacológicamente aceptables".

La expresión "**sales farmacéuticamente aceptables**" en el contexto de esta invención

significa cualquier sal que se tolera fisiológicamente (significando normalmente que no es tóxica, particularmente, como resultado del contraión) cuando se usa de manera apropiada para un tratamiento, aplicado o usado, particularmente, en seres humanos y/o mamíferos. Estas sales fisiológicamente aceptables pueden estar formadas con aniones o ácidos y, en el contexto de esta invención, se entiende que son sales formadas por al menos un compuesto usado según la invención, normalmente protonado, por ejemplo en nitrógeno, tal como un catión y al menos un anión fisiológicamente tolerado, particularmente cuando se usan en seres humanos y/o mamíferos. Esta definición incluye específicamente en el contexto de esta invención una sal formada por un ácido fisiológicamente tolerado, es decir, sales de un compuesto activo específico con ácidos orgánicos e inorgánicos fisiológicamente tolerados, particularmente cuando se usan en seres humanos y/o mamíferos. Ejemplos de este tipo de sales son los formados con: ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido metanosulfónico, ácido fórmico, ácido acético, ácido oxálico, ácido succínico, ácido málico, ácido tartárico, ácido mandélico, ácido fumárico, ácido láctico o ácido cítrico.

El término "**solvato**" según esta invención debe entenderse que significa cualquier forma del compuesto activo según la invención en la que dicho compuesto está unido mediante un enlace no covalente a otra molécula (normalmente un disolvente polar), incluyendo especialmente hidratos y alcoholatos, como por ejemplo, metanolato. Un solvato preferido es el hidrato.

Los compuestos de la invención pueden estar en forma cristalina o bien como compuestos libres o bien como solvatos y está previsto que ambas formas estén dentro del alcance de la presente invención. Los métodos de solvatación se conocen generalmente dentro de la técnica. Solvatos adecuados son solvatos farmacéuticamente aceptables. En una realización particular, el solvato es un hidrato.

Cualquier compuesto que es un profármaco de un compuesto aquí descrito está también dentro del alcance de la invención. El término "**profármaco**" se usa en su sentido más amplio y abarca los derivados que se convierten *in vivo* en los compuestos de la invención. Los ejemplos de profármacos incluyen, pero no se limitan a, derivados y metabolitos de los compuestos de la invención que incluyen restos biológicamente hidrolizables tales como amidas biológicamente hidrolizables, ésteres biológicamente hidrolizables, carbamatos biológicamente hidrolizables, carbonatos biológicamente hidrolizables, ureidos biológicamente hidrolizables y análogos de fosfato biológicamente hidrolizables.

Preferiblemente, profármacos de compuestos con grupos funcionales carboxilo son los ésteres alquílicos inferiores del ácido carboxílico. Los ésteres de carboxilato se forman convenientemente esterificando cualquiera de los restos de ácido carboxílico presentes en la molécula. Pueden prepararse profármacos normalmente usando métodos bien conocidos, tales como los descritos por Burger "Medicinal Chemistry and Drug Discovery 6ª ed. (Donald J. Abraham ed., 2001, Wiley), "Design and Applications of Prodrugs" (H. Bundgaard ed., 1985, Harwood Academic Publishers) y Krogsgaard-Larsen *et al*. "Textbook of Drug design and Discovery" Taylor & Francis (abril de 2002).

Los compuestos de la presente invención pueden incluir enantiómeros dependiendo de la presencia de centros quirales o isómeros dependiendo de la presencia de enlaces múltiples (por ejemplo Z, E). Los isómeros, enantiómeros o diastereoisómeros individuales y las mezclas de los mismos entran dentro del alcance de la presente invención.

Además, cualquier compuesto mencionado en el presente documento puede existir como tautómeros. Específicamente, el término tautómero se refiere a uno de dos o más isómeros estructurales de un compuesto que existen en equilibrio y se convierten fácilmente de una forma isómerica a otra. Parejas tautoméricas comunes son amina-imina, amida-ácido imídico, ceto-enol, lactama-lactima, etc.

A menos que se indique lo contrario, los compuestos de la invención también pretenden incluir formas marcadas isotópicamente es decir compuestos que difieren sólo en la presencia de uno o más átomos enriquecidos isotópicamente. Por ejemplo, compuestos que tienen las presentes estructuras excepto por la sustitución de al menos un átomo de hidrógeno por un deuterio o tritio, o la sustitución de al menos un carbono por carbono enriquecido con ^{13}C o ^{14}C, o la sustitución de al menos un nitrógeno por nitrógeno enriquecido con ^{15}N están dentro del alcance de esta invención.

Los compuestos de la invención están preferiblemente en forma farmacéuticamente aceptable o sustancialmente pura. Con forma farmacéuticamente aceptable quiere decirse, entre otras cosas, que tiene un nivel farmacéuticamente aceptable de pureza excluyendo aditivos farmacéuticos normales tales como diluyentes y portadores, y que no incluye materiales considerados tóxicos a niveles normales de dosificación. Los niveles de pureza para la sustancia farmacológica preferiblemente son superiores al 50%, más preferiblemente superiores al 70%, lo más preferiblemente superiores al 90%. En una realización preferida, es superior al 95%.

La expresión “sales, solvatos, profármacos farmacéuticamente aceptables” se refiere a cualquier sal, éster, solvato farmacéuticamente aceptable, o cualquier otro compuesto que, tras la administración puede proporcionar (directa o indirectamente) un compuesto tal como se describe en el presente documento. Sin embargo, se apreciará que sales no farmacéuticamente aceptables también entran dentro del alcance de la invención dado que pueden ser útiles en la preparación de sales farmacéuticamente aceptables. La preparación de sales profármacos y derivados puede llevarse a cabo mediante métodos conocidos en la técnica.

Para proporcionar una descripción más concisa, no se cualifican algunas de las expresiones cuantitativas proporcionadas en el presente documento con el término “aproximadamente”. Se entiende que, ya se use el término “aproximadamente” de manera explícita o no, cualquier cantidad dada en el presente documento pretende referirse al valor dado real, y también pretende referirse a la aproximación a tal valor dado que se deduciría razonablemente basándose en los conocimientos habituales de la técnica, incluyendo equivalentes y aproximaciones debidos a las condiciones experimentales y/o de medición para tal valor dado.

Los compuestos de la invención están disponibles comercialmente y/o se pueden preparan por métodos convencionales conocidos en el estado de la técnica. Así por ejemplo, algunos compuestos de la invención forman parte de la librería *MyriaScreen Diversity Collection* (Sigma-Aldrich).

Los inventores han demostrado que los compuestos de la invención estabilizan la proteína ATR, en general de manera específica y a bajas concentraciones, aumentando además significativamente la estabililidad de una proteína mutante. Adicionalmente, se ha comprobado que la actividad residual medida como incorporación de propionato a proteínas precipitables ha aumentado en las células de un paciente con el genotipo p.S174fs/p.I96T. Asímismo, se ha observado un aumento de la cantidad de proteína ATR en hígado y cerebro, tras tratamiento con dichos compuestos.

Por tanto, la presente invención propone el uso de dichos compuestos como chaperonas químicas o farmacológicas para la preparación de un medicamento para el tratamiento y/o la prevención de la aciduría metilmalónica. Según una realización particular, la invención se dirige al uso de un compuesto de la invención para el tratamiento y/o la prevención de

aciduría metilmalónica tipo *cblB*.

Con esta invención se proporcionan medicamentos o composiciones farmacéuticas, particularmente para su uso en el tratamiento y/o la prevención de aciduría metilmalónica, preferiblemente tipo *cblB*, que comprenden un compuesto de la invención y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Ejemplos de composiciones farmacéuticas incluyen cualquier composición sólida (comprimidos, píldoras, cápsulas, gránulos, etc.) o líquida (disoluciones, suspensiones o emulsiones) para administración oral, tópica o parenteral.

El término “excipiente” se refiere a componentes de un compuesto farmacológico distintos del principio activo (definición obtenida de la Agencia Europea del Medicamento - AEM). Incluyen preferiblemente un “portador, adyuvante y/o vehículo”. Los portadores son formas en las que se incorporan sustancias para mejorar la administración y la eficacia de los fármacos. Se usan portadores de fármacos en sistemas de administración de fármacos tales como la tecnología de liberación controlada para prolongar las acciones del fármaco *in vivo*, disminuir el metabolismo del fármaco y reducir la toxicidad del fármaco. También se usan portadores en diseños para aumentar la eficacia de la administración del fármaco a los sitios diana de acciones farmacológicas (U.S. National Library of Medicine. National Institutes of Health). Adyuvante es una sustancia añadida a una formulación de productos farmacológicos que afecta a la acción del principio activo de una manera previsible. Vehículo es un excipiente o una sustancia, preferiblemente sin acción terapéutica, usada como medio para proporcionar volumen para la administración de medicamentos (Stedman’s Medical Spellchecker, © 2006 Lippincott Williams & Wilkins). Tales portadores, adyuvantes o vehículos farmacéuticos pueden ser líquidos estériles, tales como agua y aceites, incluyendo los del petróleo o de origen animal, vegetal o sintético, tales como aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo y similares, excipientes, disgregantes, agentes humectantes o diluyentes. Se describen portadores farmacéuticos adecuados en “Remington’s Pharmaceutical Sciences” por E.W. Martin. La selección de estos excipientes y las cantidades que van a usarse dependerán de la forma de aplicación de la composición farmacéutica.

En el sentido utilizado en esta descripción “cantidad terapéuticamente eficaz” se refiere a la cantidad de principio activo calculada para producir el efecto deseado y estará determinada generalmente, entre otros motivos, por las propias características del principio activo

utilizado y el efecto terapéutico que va a obtenerse. Así, la dosificación diaria para seres humanos y animales puede variar dependiendo de factores que tienen su base en la respectiva especie u otros factores, tales como edad, sexo, peso o grado de enfermedad y etc. La dosificación diaria para seres humanos puede estar preferiblemente en el intervalo de desde 1 hasta 2000 miligramos, preferiblemente de 1 a 1500 miligramos, más preferiblemente de 1 a 1000 miligramos de principio activo que va administrarse durante una o varias tomas al día.

Las formulaciones se pueden preparar según métodos convencionales tales como los que se describen en las Farmacopeas Española, Europea o de Estados Unidos de América, o en textos de referencia similares, por ejemplo “Tratado de Farmacia Galénica”, de C. Faulí i Trillo, 10 Edición, 1993, Luzán 5, S.A. de Ediciones.

Los compuestos y composiciones de esta invención pueden usarse con otros fármacos para proporcionar una terapia de combinación. Los otros fármacos pueden formar parte de la misma composición, o pueden proporcionarse como una composición aparte para la administración al mismo tiempo o en un tiempo diferente.

Tal como se usa en el presente documento, los términos “tratar”, “que trata” y “tratamiento” incluyen en general la erradicación, eliminación, inversión, alivio, modificación o control de aciduría metilmalónica en un sujeto.

Tal como se usa en el presente documento, los términos “prevención”, “que previene”, “preventivo”, “prevenir” y profilaxis se refieren a la capacidad de una sustancia dada para evitar, minimizar o dificultar la aparición o el desarrollo de aciduría metilmalónica en un sujeto.

El término “sujeto” o “paciente” en el contexto de la invención incluye a cualquier animal, en particular, animales vertebrados, preferentemente mamíferos, tales como ratones, ratas, caballos, cerdos, conejos, gatos, ovejas, perros, vacas, y seres humanos. En una realización preferida, el mamífero es un cerdo o un ser humano. En otra realización aún más preferida, el mamífero es el ser humano.

La invención se describe a continuación mediante los siguientes ejemplos que deben ser considerados como meramente ilustrativos y no limitativos de la misma.

EJEMPLOS

Ejemplo 1. Efecto estabilizador sobre la proteína ATR del compuesto 5 mediante análisis por fluorescencia

Se ha analizado un conjunto de 2000 compuestos de la librería *MyriaScreen Diversity Collection* (Sigma-Aldrich) midiendo la estabilización inducida por la unión de los diferentes ligandos (potenciales chaperonas farmacológicas) a la proteína ATR purificada mediante un sistema de alto rendimiento (Niesen, et al., 2007). Para ello se ha monitorizado la desnaturalización térmica del trímero de ATR en presencia del fluoróforo extrínseco SYPRO Orange (Sigma-Aldrich) detectando los cambios de fluorescencia a 610nm con el equipo LightCycler A480 (Roche).

Para su obtención y purificación la proteína humana ATR se ha expresado en *E.coli* (BL21Star^{TM}DE3 de Invitrogen) y purificado siguiendo el método descrito previamente (Leal, et al., 2004). Básicamente las bacterias se transformaron con el plásmido pET4.1 portador del cDNA de MMAB (carente de secuencia líder) silvestre (“*wild-type”)*. Cinco horas tras la inducción de la expresión de ATR con IPTG 1 mM, los cultivos se han recolectado por centrifugación (6000 rpm durante 10 minutos) y se han mantenido a -70ºC hasta su uso. En ese momento se ha resuspendido el pellet en 50 mM $K_3PO_4^-$; 300 mM NaCl; 1 mM DTT; 1 mM EDTA; 0,5 g/L DNasa I; 0,3 g/L lisozima e inhibidor de proteasas 1x Complete, Mini, EDTA-free Protease Inhibitor Cocktail (Roche) durante 1 hora. Después se han sonicado y centrifugado a 13000 rpm durante 20 minutos. Se ha cuantificado la concentración de proteína del sobrenadante mediante el método de Bradford y se ha diluido hasta una concentración final de 1 mg/ml.

Los extractos crudos de ATR silvestre (“*wild-type”)* resultantes del procedimiento anterior se han sometido a precipitación con 30% de sulfato amónico, diálisis y posterior intercambio catiónico en columnas HiTrap Sepharose Q column (GE Healthcare). Posteriormente se ha procedido a aislar la fracción trimérica utilizando cromatografía de exclusión molecular en *buffer* TrisHCl pH 8 con una columna HiLoad Superdex 200 60/10 (GE Healthcare) previa centrifugación de 20 minutos, 4ºC a 10000 g.

Se han preparado disoluciones de ATR trimérica 0,086 mg/mL (3,2 μM ATR monomérica) en 20 mM NaHepes, 200 mM NaCl, pH 7,0 y 5x SYPRO Orange, dispensando 50 μL de esta mezcla en placas p96 (LightCycler Multiwell Plate 96, Roche). Posteriormente se ha adicionado manualmente a cada pocillo 1 μL de ligando procedente de *MyriaScreen*

Diversity Collection library (Sigma-Aldrich) que previamente se ha disuelto en DMSO. La concentración final de ligando es de 0,04 mg/ml y de DMSO de 2%. Las placas se han incubado durante 30 minutos a temperatura ambiente y se ha procedido a analizarlas en el equipo LightCycler A480 de Roche. Experimentos control con DMSO se han realizado de manera rutinaria con cada placa.

La desnaturalización térmica se ha monitorizado midiendo el aumento de la intensidad de la fluorescencia emitida por el SYPRO Orange ($\lambda_{exitación}$ = 465nm, $\lambda_{emisión}$ = 610nm) cuando entra en contacto con las regiones hidrofóbicas de la proteína, que se exponen como consecuencia de la desnaturalización de la misma. La desnaturalización se ha conseguido incrementando la temperatura de modo gradual desde los 20ºC hasta los 95ºC a una tasa de 2ºC/minuto. Las curvas de fluorescencia *versus* temperatura que se han obtenido se han ajustado a una curva sigmoidal con un parámetro de asimetría, se han normalizado y analizado con un programa desarrollado para tal fin. El valor T_m se ha calculado como el valor de temperatura en la que el 50% de las moléculas de proteína se encuentran en estado desnaturalizado.

Tal como muestra la figura 1, la unión del compuesto 5 tiene un efecto estabilizador ya que confiere a la proteína resistencia a la desnaturalización térmica, desplazando la curva hacia la derecha y por tanto incrementando el valor de T_m.

Ejemplo 2. Efecto del compuesto 5 sobre la estabilidad en lisados de bacterias que expresan la proteína ATR

Se ha inducido la expresión de ATR en cultivos de E.coli en presencia de 40 u 80 µM de ligando (compuesto 5) y se ha procedido al análisis de la estabilidad (experimentos realizados por duplicado para 40 µM o triplicado para 80 µM). En paralelo y como control, se ha expresado la proteína en presencia del volumen equivalente del vehículo en el que está disuelto (concentración final DMSO 0,1% ó 0,2%).

Se ha analizado su efecto sobre la estabilidad de ATR mediante la expresión de ATR silvestre (“*wild-type”)* así como del mutante de plegamiento p.I96T (Jorge-Finnigan et al. 2010) en presencia de 40 y/o 80 µM. Los resultados han indicado que el compuesto ensayado (compuesto 5) aumentan la estabilidad de la proteína silvestre, validándose así los resultados obtenidos mediante las técnicas físico-químicas (Tabla 1).

Tabla 1. Efecto del compuesto 5 seleccionado sobre la proteína ATR silvestrey p.I96T[a]

	Silvestre (*"Wild-type"*)		p.Ile96Thr	
	40 µM	80 µM	40 µM	80 µM
DMSO[b]	1.0	1.0	1.0	1.0
Compuesto 5	ND	1.4±1.0	1.6±1.2	**3±1** (**)

[a] Los datos fueron obtenidos con extractos de bacterias a los que se les ha añadido de 40 or 80 µM del compuesto 5.
[b] Los datos representan una media ± SD de al menos dos determinaciones independientes. En todos los casos se tomaron como referencia control el dato de estabilidad tras añadir DMSO (valor de estabilidad=1).
En negrita y subrayado los datos mas sigificativos
ND=no determinado
**p-value<0.01

Ejemplo 3. Efecto del compuesto 5 sobre la actividad de la proteína ATR recombinante purificada

Con el propósito de averiguar si el compuesto 5 es inhibidor de la actividad ATR, se ha analizado su efecto sobre la actividad *in vitro* de ATR silvestre ("*wild-type")* purificada. Los resultados indicaron que el compuesto 5 no inhibia a la enzima silvestre a una concentración de 80 µM, aunque tampoco potenció significativamente su actividad específica con la proteína purificada. La actividad específica de ATR silvestre purificada se ha analizado en presencia de concentraciones crecientes de ligando (0-100 µM), estudiando en paralelo la actividad específica en presencia del volumen equivalente de DMSO. La actividad se ha medido siguiendo el protocolo descrito previamente (Johnson, et al., 2001). Básicamente 1 mL de 200 mM Tris-HCl pH 8.0, 10 mM KCl, 5 mM $MgCl_2$, 10 mM ATP y 60 µM OHCbl (Sigma-Aldrich) se ha dispensado en cubetas anaeróbicas, se ha incubado a 37ºC durante 5 minutos y se han añadido 30 µL de citrato(III) de titanio. La reacción se ha iniciado con la adición de 10 µg de proteína pura y se ha monitorizado la variación de la absorbancia a 388 nm. Se han empleado procedimientos anaeróbicos en la preparación de la mezcla de reacción, la proteína pura y el citrato(III) de titanio.

Ejemplo 4. Efecto del compuesto 5 en la recuperación funcional de la vía de oxidación del propionato de un paciente MMA tipo *cblB*

Se ha ensayado el efecto del compuesto 5 sobre la fibroblastos inmortalizados con el vector pBABE. Los fibroblastos proceden de un paciente con aciduria metilmalónica tipo *cblB*, portador de la mutación *missense* p.I96T (c.287T>C) y del cambio c. 584G>A (genotipo p.I96T/p.S174fs).

Las células se han incubado durante 72 horas en presencia del compuesto 5 (40 y 80 μM) y posteriormente se analizó la ruta de oxidación del propionato como medida indirecta de la actividad de ATR. La oxidación del propionato se ha realizado incubando los fibroblastos control y del paciente con 1 μCi/mL de [^{14}C]-propionato durante 18 h tras las cuales se han precipitado las proteínas con TCA 5% y se han resuspendido en NaOH 0,5 N y líquido de centelleo según descrito (Finnigan et al, 2010). La cuantificación de la radiactividad se ha realizado en contadores de centelleo líquido RackBeta 1219 (LBK Wallak), y los datos obtenidos se han estandarizado con respecto a la concentración de proteína medida por el método de Lowry.

Los resultados han mostrado que los cultivos tratados con 40 y 80 μM de compuesto 5 durante 72 horas incrementaron su actividad llegando a una actividad en el rango de los controles (Figura 4).

Ejemplo 5: Efecto del compuesto 5 sobre ATR en hígado y cerebro de ratones

Finalmente, se ha analizado el efecto del compuesto 5 en ratones silvestres (“*wild-type”)*. Dos grupos de ratones C57BL/6 fueron tratados oralmente durante 12 dias con 0.25 mg/Kg/dia o 5 mg/Kg/dia en 10% DMSO/9% de glucosa y un grupo de ratones solo con 10% DMSO/9% glucosa. Después del tratamiento los ratones se sacrificaron y se analizó la proteína ATR en extractos totales de hígado y cerebro. No se observaron efectos como perdida de peso, automutilación, tumores, movimientos anormales etc. Los resultados muestran un aumento de la proteína ATR dependiente de la dosis en hígado y cerebro.

Referencias bibliográficas:

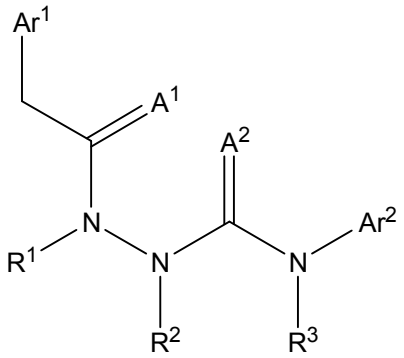
- Hannibal, L., et al., *Processing of alkylcobalamins in mammalian cells: A role for the MMACHC (cblC) gene product.* Mol Genet Metab, 2009. **97**(4): p. 260-6.
- Banerjee, R., C. Gherasim, y D. Padovani, *The tinker, tailor, soldier in intracellular B12 trafficking.* Curr Opin Chem Biol, 2009. **13**(4): p. 477-84.
- Coelho, D. et al., *Mutations in ABCD4 cause a new inborn error of vitamin B(12) metabolism*, 2012.. Nat Genet **44**(10): p. 1152-5
- Dobson, C.M., et al., *Identification of the gene responsible for the cblB complementation group of vitamin B12-dependent methylmalonic aciduria.* Hum Mol Genet, 2002. **11**(26): p. 3361-9.
- Schubert, H.L. y C.P. Hill, *Structure of ATP-Bound Human ATP:Cobalamin Adenosyltransferase.* Biochemistry, 2006. **45**(51): p. 15188-96.

- Fowler, B., J.V. Leonard, y M.R. Baumgartner, *Causes of and diagnostic approach to methylmalonic acidurias.* J Inherit Metab Dis, 2008. **31**(3): p. 350-60.
- Calvo, A.C., et al., *Effect of pharmacological chaperones on brain tyrosine hydroxylase and tryptophan hydroxylase 2.* J Neurochem, 2010, **114**(3): p. 853-63.
- Martinez, A., et al., *Rescuing proteins of low kinetic stability by chaperones and natural ligands phenylketonuria, a case study*. Prog Mol Biol Transl Sci, 2008. 83: p. 89-134.
- Pey, A.L., et al., *Identification of pharmacological chaperones as potential therapeutic agents to treat phenylketonuria.* J Clin Invest, 2008. **118**(8): p. 2858-67.
- Hartl FU, Hayer-Hartl M. *Converging concepts of protein folding in vitro and in vivo.* Nat Struct Mol Biol, 2009. **16**(6): p. 574-81.
- Stevens, R.C., et al., *Rescue of misfolded proteins and stabilization by small molecules*. Methods Mol Biol, 2010. 648: p. 313-24.
- Loo TW, Clarke DM. *Chemical and pharmacological chaperones as new therapeutic agents.* Expert Rev Mol Med, 2007. **9**(16): p. 1-18.
- Bucciantini M, et al.,*Inherent toxicity of aggregates implies a common mechanism for protein misfolding diseases*. Nature 2002. 416(6880): p. 507-11.
- Hiller MM, et al., *ER degradation of a misfolded luminal protein by the cytosolic ubiquitin-proteasome pathway*. Science, 1996. **273**(5282): p. 1725-8.
- Schubert U, et al., *Rapid degradation of a large fraction of newly synthesized proteins by proteasomes*. Nature 2000. **404**(6779): p. 770-4.
- Maegawa, G.H., et al., *Pyrimethamine as a potential pharmacological chaperone for late-onset forms of GM2 gangliosidosis*.J Biol Chem, 2007. **282**(12): p. 9150-61.
- Tropak, M.B., et al., *High-throughput screening for human lysosomal beta-N-Acetyl hexosaminidase inhibitors acting as pharmacological chaperones*. Chem Biol., 2007. **14**(2): p. 153-64.
- Wiseman RL, Balch WE.. *A new pharmacology – drugging stressed folding pathways. Trends in Molecular Medicine,* 2005. **11**(8): p. 347-350.
- Niesen, F.H., H. Berglund, y M. Vedadi, *The use of differential scanning fluorimetry to detect ligand interactions that promote protein stability.* Nat Protoc, 2007. **2**(9): p. 2212-21.
- Leal, N.A., et al., *Human ATP:Cob(I)alamin adenosyltransferase and its interaction with methionine synthase reductase.* J Biol Chem, 2004. **279**(46): p. 47536-42.
- Jorge-Finnigan, A., et al., *Functional and structural analysis of five mutations identified in methylmalonic aciduria cblB type.* Hum Mutat, 2010. **31**(9): p. 1033-42.

- Johnson, C.L., et al., *Functional genomic, biochemical, and genetic characterization of the Salmonella pduO gene, an ATP:cob(I)alamin adenosyltransferase gene.* J Bacteriol, 2001. **183**(5): p. 1577-84.

REIVINDICACIONES

1. Uso de una chaperona química/farmacológica que tiene la fórmula general (I):



Fórmula (I)

en la que

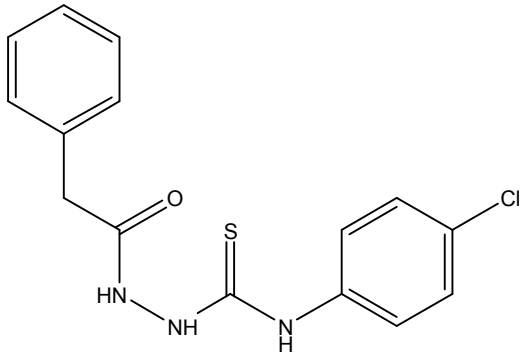
Ar^1 y Ar^2 representan independientemente un grupo arilo;

A^1 y A^2 representan independientemente un átomo de oxígeno o de azufre; y

R^1, R^2 y R^3 se seleccionan independientemente entre H y un grupo protector de amino;

o una sal, isómero, profármaco o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, para la preparación de un medicamento para el tratamiento y/o la prevención de la aciduría metilmalónica.

2. Uso según la reivindicación 1 en el que Ar^1 es fenilo y Ar^2 es fenilo sustituido por cloro.
3. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2 en el que A^1 es un átomo de oxígeno y A^2 es un átomo de azufre.
4. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en el que R^1, R^2 y R^3 son hidrógeno.
5. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en el que el compuesto de fórmula general (I) es



o una sal, isómero, profármaco o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

6. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en el que la aciduría metilmalónica es aciduría metilmalónica tipo *cblB.*

7. Composición farmacéutica que comprende al menos una chaperona química/farmacológica según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

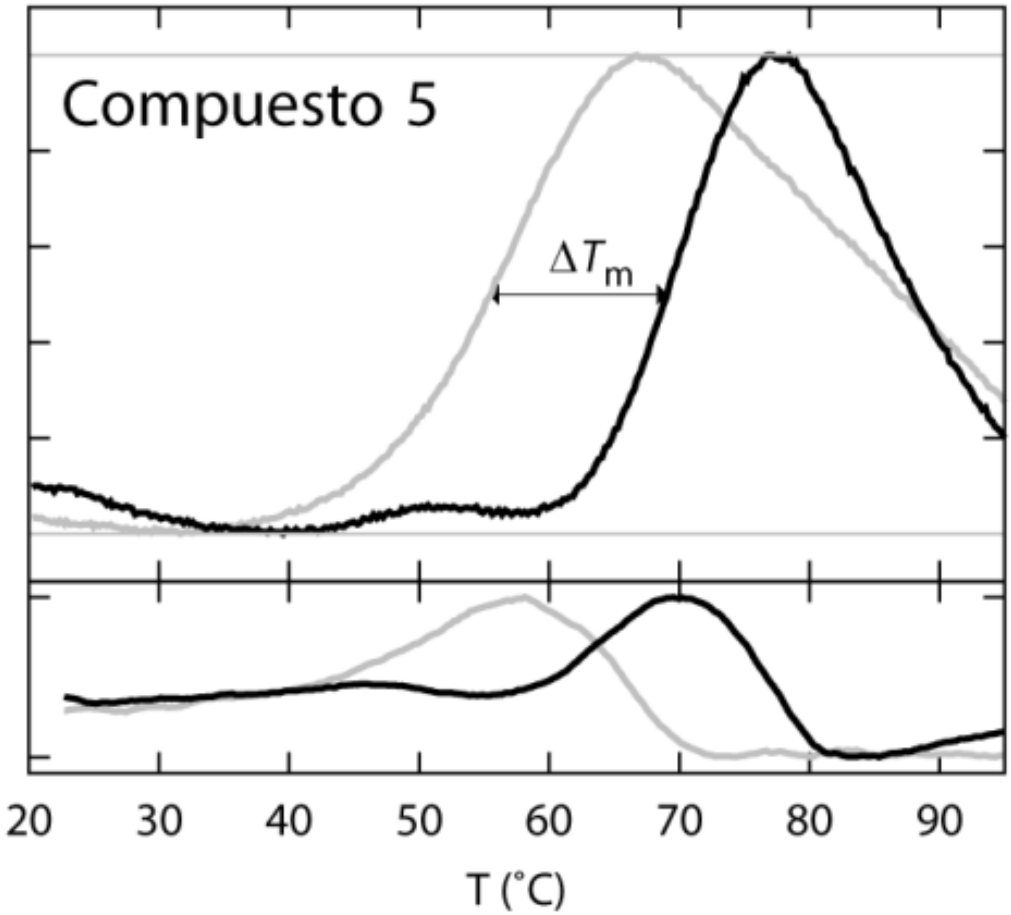


FIG. 1

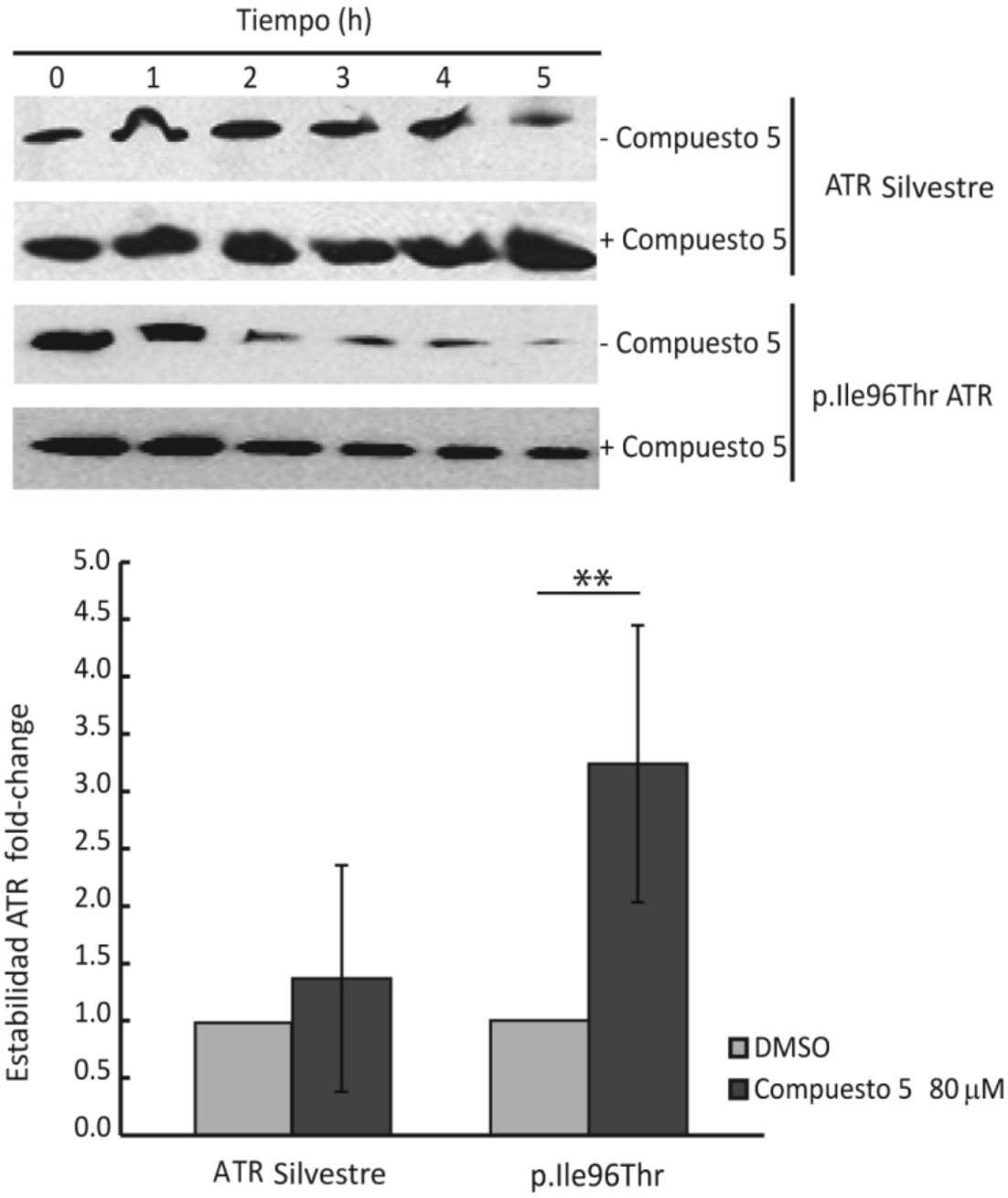

Tiempo (h)
0
1
2
3
4
5
- Compuesto 5
+ Compuesto 5
ATR Silvestre
- Compuesto 5
+ Compuesto 5
p.Ile96Thr ATR
Estabilidad ATR fold-change
5.0
4.5
4.0
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
**
DMSO
Compuesto 5 80 μM
ATR Silvestre
p.Ile96Thr

FIG.2

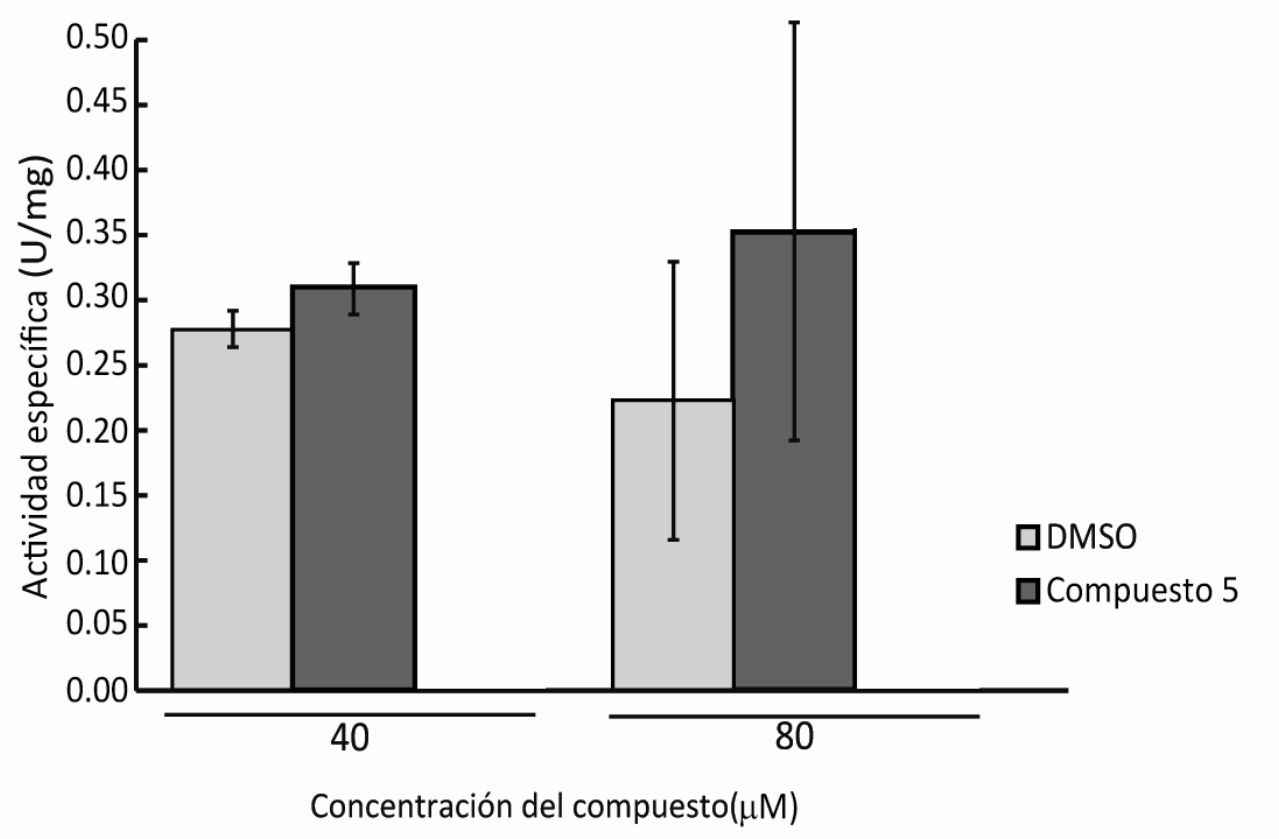

0.50
0.45
0.40
0.35
0.30
0.25
0.20
0.15
0.10
0.05
0.00
Actividad específica (U/mg)
DMSO
Compuesto 5
40
80
Concentración del compuesto(μM)

FIG. 3

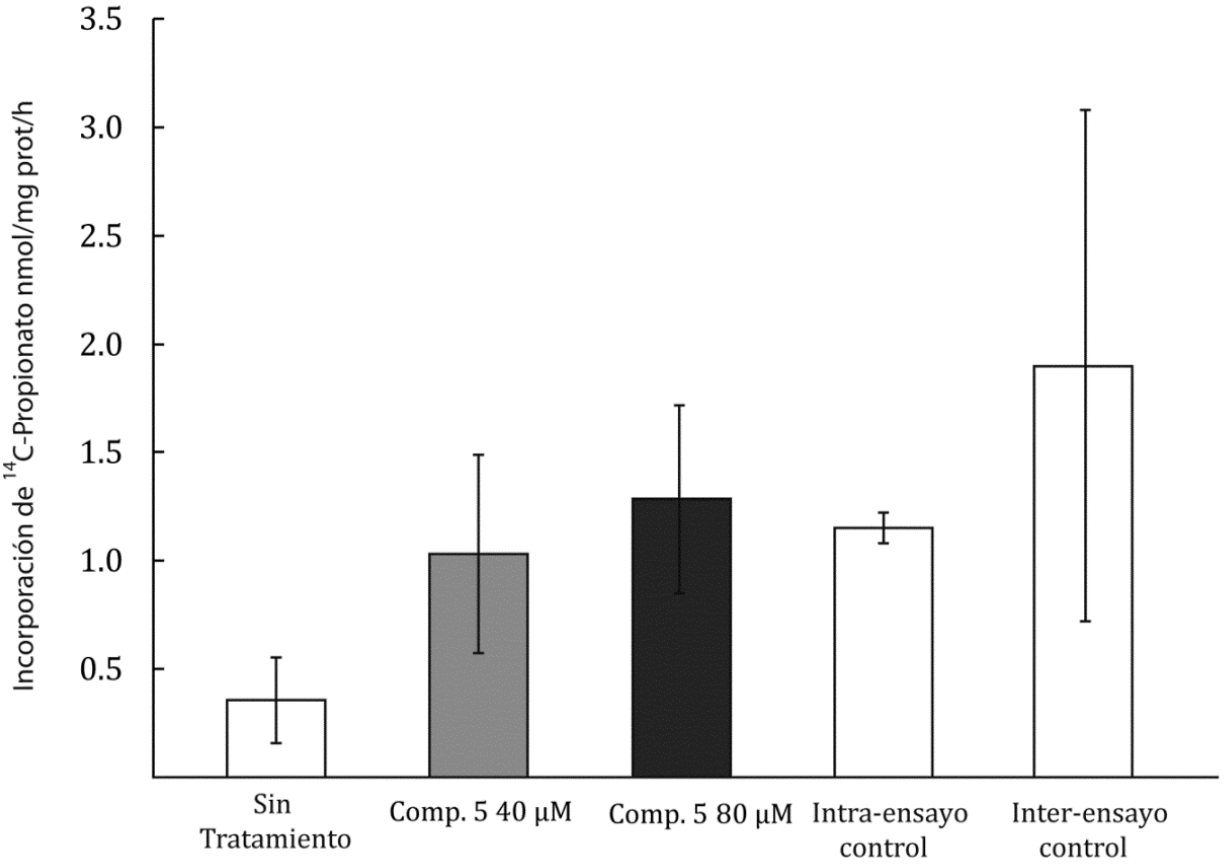

Incorporación de ^{14}C-Propionato nmol/mg prot/h
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
Sin Tratamiento
Comp. 5 40 µM
Comp. 5 80 µM
Intra-ensayo control
Inter-ensayo control

FIG. 4

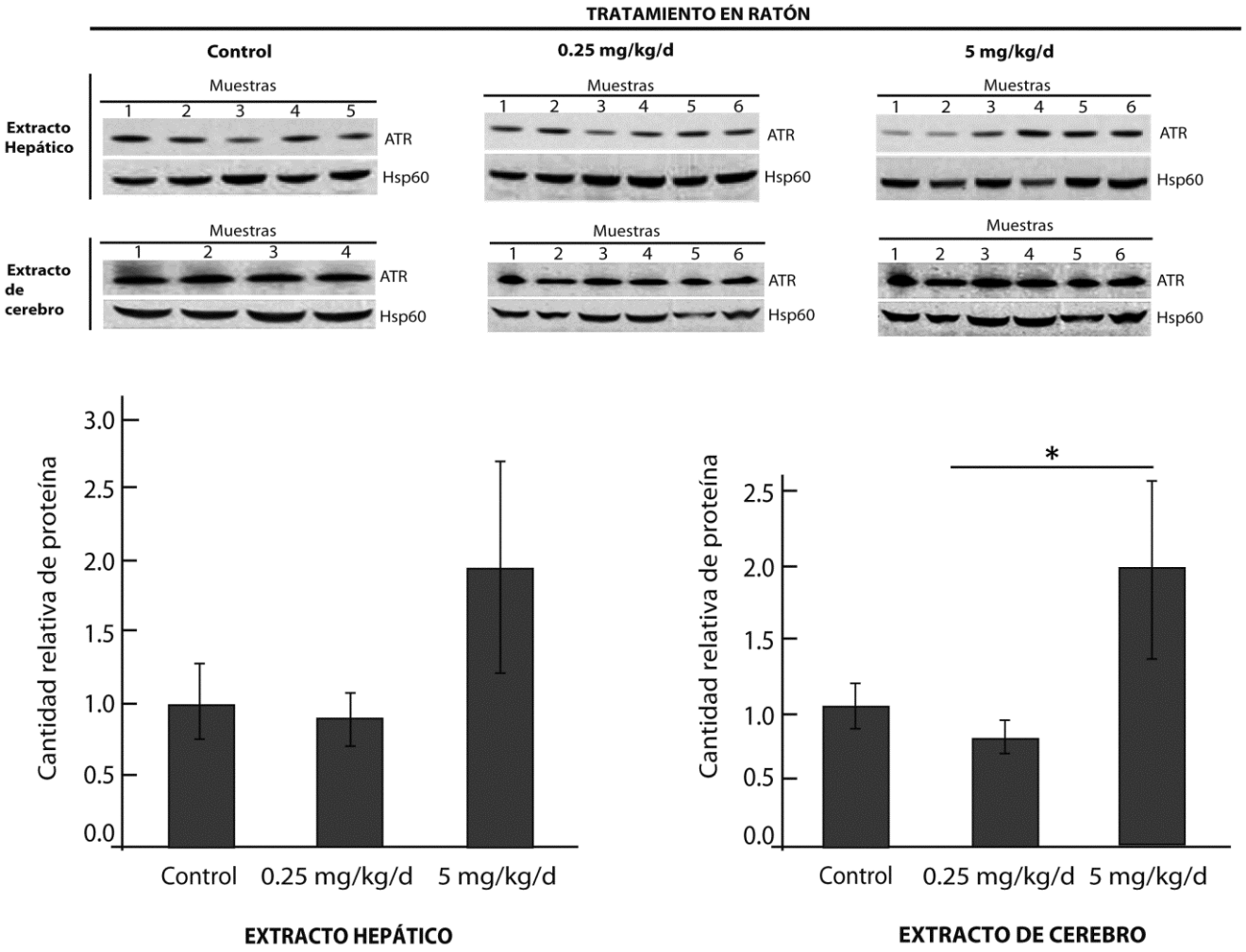

TRATAMIENTO EN RATÓN
Control
0.25 mg/kg/d
5 mg/kg/d
Extracto Hepático
Extracto de cerebro
Muestras
ATR
Hsp60
Cantidad relativa de proteína
Control
0.25 mg/kg/d
5 mg/kg/d
EXTRACTO HEPÁTICO
EXTRACTO DE CEREBRO
*

FIG. 5

OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(21) N.º solicitud: 201330171

(22) Fecha de presentación de la solicitud: 11.02.2013

(32) Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

(51) **Int. Cl. :** ***A61K31/175*** (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	(56) Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	JORGE-FINNIGAN A et al. POTENTIAL PHARMACOLOGYCAL CHAPERONE THERAPY FOR ISOLATED METHYLMALONIC ACIDURIA cbIB TYPE. Journal of Inherited Metabolic Disease Agosto 2010 (08.2010) VOL: 33 No: Suppl. 1 Págs: S40 ISSN 0141-8955, resumen.	1-7
A	KUCUKGUZEL G et al. Synthesis and biological activity of 4-thiazolidinones, thiosemicarbazides derived from diflunisal hydrazide. EUROPEAN JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, 20060301 EDITIONS SCIENTIFIQUE ELSEVIER, PARIS, FR 01.03.2006 VOL: 41 No: 3 Págs: 353-359 ISSN 0223-5234 Doi: doi:10.1016/j.ejmech.2005.11.005, página 355, compuesto 4 a-g.	1-7
A	ABU-SAFIEH KAYED A et al. 4-(4-Chloro-phen-yl)-1-(2-hydr-oxy-2,2-di-phenyl-acet-yl)thio-semicarbazide. Acta crystallographica. Section E, Structure reports online England 2008 VOL: 64 No: Pt 12 Págs: o2305 ISSN 1600-5368 (Electronic) Doi: doi:10.1107/S1600536808035964 pubmed: 21581282. página 02305.	1-7

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia
Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría
A: refleja el estado de la técnica
O: referido a divulgación no escrita
P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud
E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones ☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe	Examinador	Página
04.06.2014	H. Aylagas Cancio	1/4

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A61K

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, EMBASE, MEDLINE, BIOSIS, NPL, XPESP, XPESP2, REGISTRY, HCAPLUS

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 04.06.2014

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones	1-7	**SI**
	Reivindicaciones		**NO**
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones	1-7	**SI**
	Reivindicaciones		**NO**

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	JORGE-FINNIGAN A et al. POTENTIAL PHARMACOLOGYCAL CHAPERONE THERAPY FOR ISOLATED METHYLMALONIC ACIDURIA cbIB TYPE. Journal of Inherited Metabolic Disease AGOSTO 2010 (08.2010) VOL: 33 No: Suppl. 1 Págs: S40 ISSN 0141-8955, resumen.	31.07.2010
D02	KUCUKGUZEL G et al. Synthesis and biological activity of 4-thiazolidinones, thiosemicarbazides derived from diflunisal hydrazide. EUROPEAN JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, 20060301 EDITIONS SCIENTIFIQUE ELSEVIER, PARIS, FR 01.03.2006 VOL: 41 No: 3 Págs: 353-359 ISSN 0223-5234 Doi: doi:10.1016/j.ejmech.2005.11.005, página 355, compuesto 4 a-g.	01.03.2006

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

La presente solicitud se refiere al uso de una chaperona química/farmacológica de fórmula general I y específicamente el compuesto 5 descrito en la descripción (ver página 8) y en la reivindicación 6, para la preparación de un medicamento para el tratamiento y/o la prevención de la aciduría metilmalónica.

En el documento D1 se cita la utilización de chaperonas en la aciduría metilmalónica. No se dispone de información en el resumen sobre los compuestos utilizados.

El documento D2 se refiere a compuestos de estructuras derivadas (ver compuestos 4 a-g de la página 355) de las de los compuestos reivindicados en la presente solicitud. Dichos compuestos presentan actividad antimicrobiana.

Por lo tanto, a la vista de los documentos citados, en ninguno de ellos se citan los compuestos referidos en la presente solicitud.

En consecuencia, la materia correspondiente a las reivindicaciones 1-7 de la presente solicitud tiene novedad y actividad inventiva según los artículos 6.1 y 8.1 de la L.P.