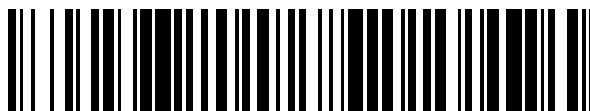


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 526 119**

51 Int. Cl.:

A61K 31/397 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

A61P 25/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.08.2009 E 09807933 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.11.2014 EP 2326325**

54 Título: **Derivado de azetidina para el tratamiento de neuropatías periféricas**

30 Prioridad:

18.08.2008 EP 08162517

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

07.01.2015

73 Titular/es:

**NOVARTIS AG (100.0%)
Lichtstrasse 35
4056 Basel, CH**

72 Inventor/es:

**LEPPERT, DAVID;
WALLSTROEM, ERIK y
NUESSLEIN-HILDESHEIM, BARBARA**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 526 119 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

Derivado de azetidina para el tratamiento de neuropatías periféricas

Campo de la Invención

La presente invención se refiere a compuestos inmunosupresores y su uso en terapia.

- 5 La presente invención se define en las reivindicaciones adjuntas. Las cuestiones que no están abarcadas por el alcance de las reivindicaciones no forman parte de la presente invención.

Antecedentes de la Invención

10 Las neuropatías inflamatorias o mediadas inmunitariamente son un grupo diverso de enfermedades que incluyen neuropatías periféricas tales como el síndrome de Guillain-Barré (GBS), la polirradiculoneuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (CIDP), la neuropatía motriz multifocal con bloqueo de la conducción (MMN) y la neuropatía periférica desmielinizante paraproteínica (PDN). La patogénesis de las neuropatías inflamatorias todavía está bajo investigación.

Se analiza a continuación un número de neuropatías periféricas desmielinizantes.

15 Por lo tanto, las neuropatías periféricas incluyen síndrome de Guillain-Barré, que es una polineuropatía autoinmunitaria aguda que afecta al sistema nervioso periférico, habitualmente desencadenada por un proceso infeccioso agudo. Hay varios tipos de GBS, siendo la forma más común la polineuropatía desmielinizante inflamatoria aguda (AIDP). Frecuentemente, el GBS es grave y habitualmente se exhibe como una parálisis ascendente apreciada por debilidad en las piernas que se extiende hasta los miembros superiores y la cara junto con una pérdida completa de los reflejos osteotendinosos. La respuesta de las células T supresoras se reduce sugiriendo una reacción inmunológica mediada por células dirigida a los nervios periféricos.

20 La neuropatía motriz multifocal es un trastorno muscular progresivo caracterizado por debilidad muscular en las manos, con diferencias de un lado del cuerpo al otro en los músculos específicos implicados. Los síntomas también incluyen atrofia muscular progresiva, calambres musculares y contracciones involuntarias o fasciculaciones de los músculos de las piernas. Se sabe que la neuropatía motriz multifocal es un trastorno mediado inmunitariamente.

25 La neuropatía desmielinizante paraproteínica es una causa principal de neuropatía desmielinizante de comienzo tardío, muy similar a la CIDP aunque más crónica. Principalmente afecta a personas de 60 años y más. Los pacientes tienen muchos síntomas contra los que luchar y tiende a ser una enfermedad a largo plazo.

30 La polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (CIDP) se caracteriza por una debilidad progresiva y una función sensorial deteriorada en las piernas y los brazos. Estos síntomas están causados por daño a la envuelta de mielina de los nervios periféricos. A menudo, se presenta con síntomas que incluyen fasciculaciones o entumecimiento (que empieza en los dedos de los pies o de las manos), debilidad de los brazos y las piernas, pérdida de reflejos osteotendinosos, fatiga y sensaciones anormales. La prevalencia de la CIDP es de aproximadamente 2 a 4 por 100.000. La patogénesis es incierta pero puede implicar mecanismos mediados por células tanto T como B.

35 La evolución de la CIDP varía ampliamente entre individuos. Algunos pueden tener un brote de CIDP seguido por una recuperación espontánea, mientras que otros pueden tener muchos brotes con recuperación parcial entre recaídas. La CIDP conduce a incapacidad grave en un número considerable de pacientes. Los tratamientos actuales se dirigen a modular la respuesta inmunitaria para alcanzar una remisión y mantener el estado funcional.

40 WO 2004/103306 y US 2005/0014728 describen compuestos útiles en el tratamiento de enfermedades o trastornos mediados por interacciones linfocíticas.

WO2008/000419 divulga ácido 1-(4-[1-(4-ciclohexil-3-trifluorometilbenciloxiimino)-etil]-2-etil-bencil)-azetidín-3-carboxílico para el tratamiento o la prevención en la neovascularización asociada con una enfermedad desmielinizante, tal como el síndrome de Guillain-Barré y la esclerosis múltiple.

45 COMI G Y COLS.: Treatment of chronic inflammatory demyelinating polineuropathy, ITALIAN JOURNAL OF NEUROLOGICAL SCIENCES 1998 IT, vol. 19, SUPPL. nº 5., 1998, páginas 261-269, ISSN: 0392-0461 divulga una inmunoglobulina intravenosa (IVIg), esteroides, intercambio de plasma e inmunosupresores para el tratamiento de la CIDP (polirradiculoneuropatía desmielinizante inflamatoria crónica), la PDM (neuropatía periférica desmielinizante paraproteínica) y la MMN (neuropatía motriz multifocal con bloqueo de la conducción).

Compendio de la Invención

En un aspecto de la invención se proporciona ácido 1-{4-[1-(4-ciclohexil-3-trifluorometil-benciloxiimino)-etil]-2-etil-bencil}-azetidín-3-carboxílico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para el uso en el tratamiento de una neuropatía periférica desmielinizante seleccionada de polirradiculoneuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (CIDP), neuropatía motriz multifocal con bloqueo de la conducción (MMN) y neuropatía periférica desmielinizante paraproteínica (PDN).

También se proporciona una formulación farmacéutica según la reivindicación 2.

Breve descripción de las Figuras

La Fig 1A muestra la variación de la puntuación neurológica con el nº de días desde la inmunización para ratas con EAN tratadas con vehículo de agua y vehículo de CMC.

La Fig 1B muestra la variación de la puntuación neurológica con el nº de días desde la inmunización para ratas con EAN tratadas con suspensiones de compuesto A de una concentración de 3 y 10 mg/kg.

La Fig 2A muestra la variación en el peso corporal con el nº de días desde la inmunización para ratas con EAN tratadas con vehículo de agua y vehículo de CMC.

La Fig 2B muestra la variación en el peso corporal con el nº de días desde la inmunización para ratas con EAN tratadas con suspensiones de compuesto A de una concentración de 3 y 10 mg/kg..

Descripción de Diversas RealizacionesDefiniciones

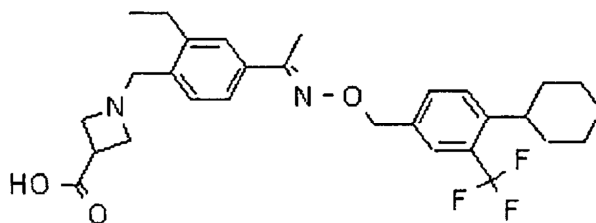
En esta memoria descriptiva, a menos que se defina otra cosa:

Farmacéuticamente aceptable

El término "farmacéuticamente aceptable", según se usa en la presente, incluye una referencia a los compuestos, los materiales, las composiciones y/o las formas de dosificación que son, dentro del alcance del juicio médico razonable, adecuados para el uso en contacto con los tejidos de seres humanos o animales sin toxicidad, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación excesivos, acorde con una relación beneficio/riesgo razonable. Este término incluye aceptabilidad con propósitos tanto humanos como veterinarios.

Compuesto

La solicitud se refiere al compuesto ácido 1-{4-[1-(4-ciclohexil-3-trifluorometil-benciloxiimino)-etil]-2-etilbencil}-azetidín-3-carboxílico:



El compuesto de la invención puede estar en la forma de sales farmacéuticamente aceptables. Las sales farmacéuticamente aceptable de la presente divulgación se pueden sintetizar a partir del compuesto originario que contiene un resto básico o ácido mediante métodos químicos convencionales.

Generalmente, tales sales se pueden preparar haciendo reaccionar las formas de ácido o base libre de estos compuestos con una cantidad estequiometría de la base o el ácido apropiado en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de los dos; generalmente, se prefieren medios no acuosos como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetonitrilo. Listas de sales adecuadas se encuentran en Remington's Pharmaceutical Sciences, 17^a ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., EE. UU., 1985, p. 1418, cuya divulgación se incorpora por la presente mediante referencia; véase también Stahl y cols., Eds, "Handbook of Pharmaceutical Salts Properties Selection and Use", Verlag Helvetica Chimica Acta and Wiley-VCH, 2002.

Así, la divulgación incluye sales farmacéuticamente aceptables del compuesto divulgado en las que el compuesto originario se modifica formando sales de ácido o base del mismo, por ejemplo, las sales atóxicas convencionales o las sales de amonio cuaternario que se forman, p. ej., a partir de ácidos o bases inorgánicos u orgánicos. Ejemplos de tales sales de adición de ácido incluyen acetato, adipato, alginato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, butirato, citrato, canforato, canforsulfonato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, fumarato, glucoheptanoato, glicerofosfato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, hidrocloruro, hidrobromuro, hidroyoduro, 2-hidroxietanosulfonato, lactato, maleato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, oxalato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, picrato, pivalato, propionato, succinato, tartrato, tiocianato, tosilato y undecanoato. Sales de base incluyen sales amónicas, sales de metales alcalinos tales como sales sódicas y potásicas, sales de metales alcalinotérreos tales como sales cálcicas y magnésicas, sales con bases orgánicas tales como sales de dicitlohexilamina, N-metil-D-glucamina, y sales con aminoácidos tales como arginina, lisina, etc. Además, los grupos que contienen nitrógeno básico se pueden cuaternizar con agentes tales como haluros de alquilo inferior, tales como cloruro, bromuros y yoduros de metilo, etilo, propilo y butilo; diaquilsulfatos como dimetil-, dietil-, dibutilsulfato; y diamilsulfatos, haluros de cadena larga tales como cloruros, bromuros y yoduros de decilo, laurilo, miristilo y estearilo, haluros de aralquilo como bromuros de bencilo y fenetilo y otros.

Síntesis

El compuesto se puede sintetizar como se describe posteriormente.

Administración y Formulaciones Farmacéuticas

El compuesto de la invención normalmente se administrará oralmente, intravenosamente, subcutáneamente, bucalmente, rectalmente, dérmicamente, nasalmente, traquealmente, bronquialmente, mediante cualquier otra vía parenteral, como un aerosol oral o nasal o a través de inhalación. El compuesto se puede administrar en la forma de preparaciones farmacéuticas que comprenden un compuesto activo bien como un compuesto libre o, por ejemplo, una sal de adición de ácido o base orgánico o inorgánico atóxica farmacéuticamente aceptable, en una forma de dosificación farmacéuticamente aceptable. Dependiendo del trastorno y el paciente que se va a tratar y la vía de administración, las composiciones se pueden administrar en dosis variables.

Típicamente, por lo tanto, el compuesto farmacéutico de la invención se puede administrar oralmente o parenteralmente ("parenteralmente", según se usa en la presente, se refiere a modos de administración que incluyen inyección e infusión intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, intraesternal, subcutánea e intraarticular) a un paciente. En el caso de los animales superiores, tales como seres humanos, el compuesto se puede administrar solo como una alternativa a la administración como composiciones en combinación con diluyentes, excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables.

Los niveles de dosificación reales de los ingredientes activos en las composiciones farmacéuticas de esta invención se pueden variar a fin de obtener una cantidad del compuesto o los compuestos activos que sea eficaz para alcanzar la respuesta terapéutica deseada para un paciente particular, las composiciones y el modo de administración. El nivel de dosificación seleccionado dependerá de la actividad del compuesto particular, la vía de administración, la gravedad de la afección que se trate y la afección y el historial médico previo del paciente que se trate. Sin embargo, está dentro de la experiencia de la técnica empezar con dosis del compuesto a niveles inferiores a los requeridos para alcanzar el efecto terapéutico deseado e incrementar gradualmente la dosificación hasta que se alcance el efecto deseado.

En el tratamiento, la prevención, el control, la mejora o el alivio de un síntoma de una neuropatía periférica, un nivel de dosificación apropiado será generalmente de aproximadamente 0,01 a 500 mg por kg de peso corporal del paciente por día que se pueden administrar en dosis individuales o múltiples. El nivel de dosificación puede ser de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 250 mg/kg por día; p. ej. de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 100 mg/kg por día. Un nivel de dosificación adecuado puede ser aproximadamente de 0,01 a 250 mg/kg por día, aproximadamente de 0,05 a 100 mg/kg por día, o aproximadamente de 0,1 a 50 mg/kg por día. Dentro de este intervalo la dosificación puede ser de 0,05 a 0,5, de 0,5 a 5 o de 5 a 50 mg/kg por día. Para la administración oral, las composiciones se pueden proporcionar en la forma de comprimidos que contienen de 1,0 a 1.000 miligramos del ingrediente activo, particularmente 1,0, 5,0, 10,0, 15,0, 20,0, 25,0, 50,0, 75,0, 100,0, 150,0, 200,0, 250,0, 300,0, 400,0, 500,0, 600,0, 750,0, 800,0, 900,0 o 1.000,0 miligramos del ingrediente activo. Los compuestos se pueden administrar en un régimen de 1 a 4 veces al día, preferiblemente una o dos veces al día. El régimen de dosificación se puede ajustar para proporcionar la respuesta terapéutica óptima.

Las composiciones farmacéuticas de esta invención para inyección parenteral comprenden adecuadamente soluciones, dispersiones, suspensiones o emulsiones acuosas o no acuosas estériles farmacéuticamente aceptables así como polvos estériles para reconstitución en soluciones o dispersiones inyectables estériles justo antes de usar. Ejemplos de portadores, diluyentes, disolventes o vehículos acuosos y no acuosos adecuados incluyen agua, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol) y mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales (tales como aceite de oliva) y ésteres orgánicos inyectables tales como oleato de etilo. Se puede mantener una

fluidez apropiada, por ejemplo, mediante el uso de materiales de revestimiento tales como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de las dispersiones y mediante el uso de tensioactivos.

5 Estas composiciones también pueden contener adyuvantes tales como conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes dispersantes. La prevención de la acción de microorganismos se puede asegurar mediante la inclusión de diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabén, clorobutanol o ácido fenolsorbico. También puede ser deseable incluir agentes isotónicos tales como azúcares o cloruro sódico, por ejemplo. La absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable se puede llevar a cabo mediante la inclusión de agentes (por ejemplo monoestearato de aluminio y gelatina) que retrasan la absorción.

10 En algunos casos, a fin de prolongar el efecto del fármaco, es deseable frenar la absorción del fármaco a partir de una inyección subcutánea o intramuscular. Esto se puede efectuar mediante el uso de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo con escasa solubilidad en agua. La velocidad de absorción del fármaco depende entonces de su velocidad de disolución que, a su vez, puede depender del tamaño de los cristales y la forma cristalina. Alternativamente, la absorción retardada de una forma de fármaco administrada parenteralmente se efectúa disolviendo o suspendiendo el fármaco en un vehículo oleoso.

15 Las formas de depósito inyectables se elaboran adecuadamente formando matrices microencapsuladas del fármaco en polímeros biodegradables, por ejemplo poliláctido-poliglicólido. Dependiendo de la relación del fármaco al polímero y la naturaleza del polímero particular empleado, se puede controlar la velocidad de liberación del fármaco. Ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). Las formulaciones inyectables de depósito también se pueden preparar atrapando el fármaco en liposomas o microemulsiones que son compatibles con los tejidos corporales. Las formulaciones inyectables se pueden esterilizar, por ejemplo, mediante filtración a través de un filtro que retiene bacterias o incorporando agentes esterilizantes en la forma de composiciones sólidas estériles que se pueden disolver o dispersar en agua estéril u otros medios inyectables estériles justo antes de usar.

25 Formas de dosificación sólidas para la administración oral incluyen cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos y gránulos. En tales formas de dosificación sólidas, el compuesto activo típicamente se mezcla con al menos un excipiente o portador inerte farmacéuticamente aceptable tal como citrato sódico o fosfato dicálcico y/o uno o más: a) cargas o extendedores tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y ácido silícico; b) aglutinantes tales como carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y goma arábiga; c) humectantes tales como glicerol; d) agentes desintegrantes tales como agar-agar, carbonato cálcico, almidón de patata o tapioca, ácido algínico, ciertos silicatos y carbonato sódico; e) agentes retardadores de la disolución tales como parafina; f) aceleradores de la absorción tales como compuestos de amonio cuaternario; g) agentes humectantes tales como alcohol cetílico y monoestearato de glicerol; h) absorbentes tales como caolín y arcilla bentonítica y i) lubricantes tales como talco, estearato cálcico, estearato magnésico, polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato sódico y mezclas de los mismos. En el caso de las cápsulas, los comprimidos y las píldoras, la forma de dosificación también puede comprender agentes tamponadores. También se pueden emplear composiciones sólidas de un tipo similar como cargas en cápsulas de gelatina rellenas blandas y duras usando excipientes tales como lactosa o azúcar de la leche así como polietilenglicol de alto peso molecular, por ejemplo.

40 Adecuadamente, las formulaciones orales contienen un auxiliar de disolución. El auxiliar de disolución no está limitado en cuanto a su identidad con tal de que sea farmacéuticamente aceptable. Ejemplos incluyen agentes de superficie no iónicos, tales como ésteres de ácido graso de sacarosa, ésteres de ácido graso de glicerol, ésteres de ácido graso de sorbitán (p. ej. trioleato de sorbitán), polietilenglicol, aceite de ricino hidrogenado polioxietilénico, ésteres de ácido graso de polioxietilensorbitán, éteres alquílicos de polioxietileno, éteres alquílicos de metoxipolioxietileno, éteres alquifenílicos de polioxietileno, ésteres de ácido graso de polietilenglicol, polioxietilentalquilaminas, polioxietilentalquiltioéteres, copolímeros de polioxietileno-polioxipropileno, ésteres de ácido graso de polioxietilenglicerol, ésteres de ácido graso de pentaeritritol, ésteres de ácido monograso de propilenglicol, ésteres de ácido monograso de polioxietilpropilenglicol, ésteres de ácido graso de polioxietilensorbitol, alquilolamidas de ácido graso y óxidos de alquilamina; ácido biliar y sales del mismo (p. ej. ácido quenodesoxicólico, ácido cólico, ácido desoxicólico, ácido deshídrocólico y sales del mismo, y un conjugado del mismo con glicina o taurina); agentes de superficie iónicos, tales como laurilsulfato sódico, jabones de ácido graso, alquilsulfonatos, alquilsulfatos, eterfosfatos, sales de ácido graso de aminoácidos básicos; jabón de trietanolamina y sales de alquilamonio(cuaternario); y agentes de superficie anfóteros, tales como betaínas y sales de ácidos aminocarboxílicos.

55 Las formas de dosificación sólidas de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos se pueden preparar con revestimientos y coberturas tales como revestimientos entéricos y otros revestimientos bien conocidos en la técnica de formulación farmacéutica. Opcionalmente, pueden contener agentes opacificantes y también pueden ser de una composición tal que liberen el ingrediente o los ingredientes activos solamente, o preferentemente, en una cierta parte del tracto intestinal y/o de manera retardada. Ejemplos de composiciones de imbibición incluyen sustancias poliméricas y ceras.

El compuesto activo también puede estar en forma microencapsulada, si es apropiado, con uno o más de los

susodichos excipientes.

El compuesto activo puede estar en forma finamente dividida, por ejemplo puede estar micronizado.

5 Formas de dosificación líquidas para la administración oral incluyen emulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además de los compuestos activos, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyentes inertes usados comúnmente en la técnica tales como agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, dimetilformamida, aceites (en particular, aceites de semillas de algodón, cacahuete, maíz, germen de trigo, oliva, ricino y sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfurílico, polietilenglicoles y ésteres de ácido graso se sorbitán y mezclas de los mismos. Aparte de 10 diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, agentes edulcorantes, saborizantes y perfumantes. Las suspensiones, además de los compuestos activos, pueden contener agentes de suspensión tales como alcoholes isoestearílicos etoxilados, ésteres de polioxietilensorbitol y sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto y mezclas de los mismos.

15 Las composiciones para administración rectal o vaginal son preferiblemente supositorios que se pueden preparar mezclando los compuestos de esta invención con excipientes o portadores no irritantes adecuados tales como manteca de cacao, polietilenglicol o una cera para supositorios que son sólidos a temperatura ambiente pero líquidos a la temperatura corporal y por lo tanto se funden en la cavidad rectal o vaginal y liberan el compuesto activo.

20 El compuesto de la presente invención también se puede administrar en la forma de liposomas. Como se sabe en la técnica, los liposomas se derivan generalmente de fosfolípidos u otras sustancias lipídicas. Los liposomas están formados por cristales líquidos hidratados mono- o multilaminares que están dispersados en un medio acuoso. Se puede usar cualquier lípido atóxico, fisiológicamente aceptable y metabolizable capaz de formar liposomas. Las presentes composiciones en forma de liposomas pueden contener, además de un compuesto de la presente 25 invención, estabilizantes, conservantes, excipientes y similares. Los lípidos preferidos son los fosfolípidos y las fosfatidilcolinas (lecitinas), tanto naturales como sintéticos. Métodos para formar liposomas se conocen en la técnica, por ejemplo, Prescott, Ed., *Methods in Cell Biology*, Volumen XIV, Academic Press, Nueva York, N.Y. (1976), p 33 y siguientes.

30 Ventajosamente, el compuesto de la invención puede ser oralmente activo, tener un comienzo de actividad rápido y una baja toxicidad.

El compuesto de la invención puede tener la ventaja de ser más eficaz, menos tóxico, de acción más prolongada, tener una gama de actividad más amplia, ser más potente, producir menos efectos secundarios, absorberse más fácilmente que, o tener otras propiedades farmacológicas útiles distintas a, los compuestos conocidos en la técnica anterior.

35 **Terapias de combinación**

El compuesto de la invención se puede administrar en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales. Según esto, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un agente adicional. La invención también proporciona un producto que comprende un compuesto de la invención y un agente; como una preparación combinada para el uso simultáneo, separado o secuencial en terapia.

40 En particular, una composición o un producto de la invención puede comprender además un agente terapéutico seleccionado de, por ejemplo, un compuesto de la divulgación se puede administrar en combinación con un agente útil para tratar una neuropatía periférica, por ejemplo una neuropatía periférica desmielinizante; como ejemplos de tales segundos agentes se pueden mencionar un inmunosupresor (p. ej., ciclosporina A, ciclosporina G, FK-506, ABT-281, ASM981, rapamicina, 40-O-(2-hidroxi)etil-rapamicina, corticosteroides, ciclofosfamida, azatioprina, 45 metotrexato, leflunomida, mizoribina, micofenolato de mofetilo o 15-desoxiespergualina), un esteroide (p. ej., prednisona o hidrocortisona), una inmunoglobulina, o interferón tipo 1. El compuesto de la divulgación y el segundo agente se pueden administrar simultáneamente o consecutivamente. Cuando el compuesto de la divulgación y el segundo agente se administran simultáneamente, se pueden formular en una sola composición o en composiciones separadas.

50 **Uso**

El compuesto de la invención puede ser útil en la terapia de una variedad de neuropatías periféricas, particularmente neuropatías desmielinizantes crónicas. Por lo tanto, el compuesto de la divulgación puede ser útil en la terapia de una o más de polirradiculoneuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (CIDP), neuropatía motriz multifocal con

bloqueo de la conducción (MMN) y neuropatía periférica desmielinizante paraproteínica (PDN). En particular, la neuropatía es CIDP. La eficacia de los compuestos puede variar entre pacientes.

5 El término "terapia" incluye un tratamiento para aliviar uno o más síntomas de una neuropatía periférica o para retrasar el avance de tal enfermedad, p. ej. previniendo o frenando la desmielinización, p. ej. la desmielinización periférica; también incluye un tratamiento para curar tal enfermedad, para poner a un sujeto en un estado funcional y/o para mantener a un sujeto en un estado funcional, o para prolongar el tiempo hasta la recaída.

10 El uso terapéutico del compuesto puede incluir el uso profiláctico para prevenir, controlar o reducir la gravedad de una neuropatía periférica que el sujeto tiene riesgo de sufrir, así como el tratamiento para controlar o reducir la gravedad de una enfermedad existente. El compuesto se puede administrar antes del comienzo de los síntomas; se puede administrar después del comienzo de los síntomas. Se puede administrar a un sujeto con riesgo de sufrir una neuropatía periférica.

Por lo tanto, los tratamientos para los que se pueden usar los compuestos pueden mejorar, mantener o retrasar el deterioro de la condición médica y/o la comodidad de un paciente que tiene, se sospecha que tiene o con riesgo de tener una neuropatía periférica.

15 Ejemplo

Los siguientes Ejemplos ilustran la invención.

Ejemplo 1 (síntesis del compuesto A)

Ácido 1-{4-[1-(4-ciclohexil-3-trifluorometil-benciloxiimino)-etil]-2-etil-bencil}-azetidín-3-carboxílico (compuesto A)

20 Se añade O-(4-ciclohexil-3-trifluorometil-bencil)-oxima de 1-(3-etil-4-hidroximetil-fenil)-etanona (1 eq.) a una suspensión de MnO₂ (10 eq.) en dioxano. La mezcla resultante se somete a reflujo durante 10 minutos. Después de la filtración y la concentración, el residuo se disuelve en MeOH y se trata con ácido azetidín-3-carboxílico (2 eq.) y Et₃N (1,5 eq.). La mezcla resultante se calienta a 50°C durante 30 minutos. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, se añade NaBH₃CN (3 eq.) en porciones. La purificación mediante LCMS preparativa da como resultado
25 ácido 1-{4-[1-(4-ciclohexil-3-trifluorometil-benciloxiimino)-etil]-2-etil-bencil}-azetidín-3-carboxílico; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 1,24 (t, 3H), 1,30-1,60 (m, 5H), 1,74-1,92 (m, 5H), 2,28 (s, 3H), 2,79 (q, 2H), 2,92 (m, 1H), 3,68 (m, 1H), 4,32 (m, 4H), 4,51 (s, 2H), 5,22 (s, 2H), 7,38 (d, 1H), 7,50-7,68 (m, 5H). MS: (ES⁺): 517,3 (M+1)⁺.

Ejemplo 2 (efecto supresor del compuesto A sobre la neuritis autoinmunitaria experimental)

30 Ratas Lewis macho (8-10 semanas, 180-200 g, Elevage-Janvier, Francia) se alojaron bajo un ciclo de 12 h de luz-12 h de oscuridad y con acceso libre a alimento y agua. Todos los procedimientos con animales estaban de acuerdo con un protocolo aprobado por el Local Administration District Official Committee.

Se realizaron todos los esfuerzos para minimizar el número de animales y su sufrimiento.

Inducción de EAN

35 Para la inducción de EAN, las ratas se inmunizaron mediante inyección subcutánea en ambas almohadillas de las patas traseras con 100 ml de un inóculo que contenía 100 mg de péptido P2 57-81 neuritogénico sintético (GeneScript Corporation, Scotch Plains, NJ, EE. UU. de A.). El péptido se disolvió en solución salina tamponada con fosfato (PBS) (2 mg/ml) y a continuación se emulsionó con un volumen igual de adyuvante de Freund completo (CFA) que contenía 2 mg/ml de mycobacterium tuberculosis para dar una concentración final de 1 mg/ml.

40 Las puntuaciones clínicas de EAN se evaluaron todos los días como sigue: 0 = normal, 1 = reducción del tono de la cola, 2 = cola claudicante, deterioro del enderezamiento, 3 = ausencia de enderezamiento, 4 = marcha atáxica, 5 = paretis leve de las patas traseras, 6 = paraparetis moderada, 7 = paraparetis intensa o paraplegia de las patas traseras, 8 = tetraparetis, 9 = moribunda y 10 = muerta (Zhang y cols., 2009A).

Tratamiento con compuesto A

45 El compuesto A se probó separadamente a dos concentraciones de suspensión (3 y 10 mg/kg, suspendidos en carboximetilcelulosa al 1% (CMC, Blanose, Hercules-Aqualon, Düsseldorf, Alemania)). Las suspensiones de compuesto A se administraron intragástricamente inmediatamente después de la inducción y a continuación una vez al día hasta el Día 22 (5 ratas por grupo). Para las ratas con EAN de referencia, se administró el mismo volumen de CMC al 1% en agua.

Inmunohistoquímica

Para evaluar la infiltración de células inflamatorias y los cambios patológicos en el SNP, se sacrificaron cinco ratas tratadas con compuesto A (a ambas concentraciones) y cinco ratas con EAN de referencia del Día 16. Las ratas fueron anestesiadas profundamente con éter y se perfundieron intracárdicamente con paraformaldehído al 4% en PBS, a 4°C. Los nervios ciáticos izquierdo y derecho se extirparon rápidamente y se posfijaron en formaldehído al 4% durante la noche a 4°C. Los nervios ciáticos se cortaron en dos segmentos de igual longitud, se embebieron en parafina, se seccionaron (3 µm) y se montaron en portaobjetos cubiertos con silano.

Después del desparafinado, se hirvieron (en un horno de microondas de 600 W) secciones transversales de los nervios ciáticos durante 15 min. en tampón de citrato (2,1 g de citrato sódico/l, pH 6). La peroxidasa endógena se inhibió con H₂O₂ al 1% en metanol durante 15 min. Las secciones se incubaron con suero porcino normal al 10% (Biochrom, Berlín, Alemania) para bloquear la unión no específica de inmunoglobulinas y a continuación con los siguientes anticuerpos monoclonales: W3/13 (1:50; Serotec, Oxford, Reino Unido) para linfocitos T, OX22 (1:200; Serotec, Oxford, Reino Unido) para células B, ED1 para macrófagos activados (1:100; Serotec, Oxford, Reino Unido). La unión de los anticuerpos a las secciones de tejido se visualizó con fragmentos de anticuerpo secundario F(ab)₂ de IgG biotinilados (antirratón de conejo o anticabra de conejo; 1:400; DAKO, Hamburgo, Alemania). Posteriormente, las secciones se incubaron con un complejo de estreptavidina-avidina-biotina (DAKO, Hamburgo, Alemania), seguido por revelado con sustrato de diaminobencidina (DAB) (Fluka, Neu-Ulm, Alemania). Finalmente, las secciones se tiñeron por contraste con Hemalum de Maier.

Para evaluar los datos de inmunotinción, se calcularon los porcentajes de áreas de inmunoreactividad (IR) con respecto a áreas de secciones transversales de nervio ciático. Se capturaron imágenes de las secciones transversales de nervio ciático bajo 50 aumentos usando Nikon Coolscope (Nikon, Düsseldorf, Alemania) con parámetros fijados. Las imágenes se analizaron usando MetaMorph Offline 7.1 (Molecular Devices, Toronto, Canadá). Las áreas de IR se seleccionaron mediante segmentación del umbral de color y todos los parámetros se fijaron para todas las imágenes. Las áreas de secciones transversales de nervio ciático se seleccionaron manualmente. Para cada rata con EAN, se analizaron cuatro secciones transversales de los niveles radicular y medio de ambos lados. Los resultados se daban como medias aritméticas de los porcentajes de áreas de IR con respecto a áreas de secciones transversales de nervio ciático y errores estándar de las medias (SEM).

La tinción Luxol Fast Blue (LFB) habitual se aplicó para mostrar la mielina. Los cambios histológicos entre ratas con EAN tratadas con Compuesto A y de referencia se compararon mediante un método semicuantitativo establecido. Brevemente, se analizaron cuatro secciones transversales del nivel radicular y medio de ambos lados de ratas con EAN. Todas las áreas perivasculares presentes en las secciones transversales fueron evaluadas por dos observadores que desconocían el tratamiento, y el grado de alteración patológica se clasificó semicuantitativamente sobre la siguiente escala: 0 = área perivascular normal; 1 = infiltrado celular leve adyacente al vaso; 2 = infiltración celular más desmielinización en proximidad inmediata con el vaso; y 3 = infiltración celular y desmielinización a través de la sección. Los resultados se daban como la puntuación histológica media (Hartung y cols., 1988).

Evaluación y análisis estadístico

Se realizó la prueba de la t para datos independientes para comparar la diferencia entre las ratas con EAN tratadas con Compuesto A y de referencia (Graph Pad Prism 4.0 para Windows). Para todos los análisis estadísticos, los niveles de significación se fijaron a $p < 0,05$.

40 Resultados

Tratamiento supresor de EAN mediante el Compuesto A

Se indujo EAN mediante una inyección subcutánea de péptido P2 sintético neurotóxico. Para el tratamiento supresor, se administraron oralmente CMC al 1% en agua (el grupo de referencia) o compuesto A inmediatamente después de la inmunización y a continuación una vez al día hasta el Día 22. Los primeros signos neurológicos (reducción del tono de la cola) de las ratas con EAN de referencia se observaron el Día 9 (puntuación clínica media: $0,20 \pm 0,13$). La gravedad neurológica de la EAN se incrementaba rápidamente en el grupo de referencia con una puntuación máxima el Día 13 (puntuación neurológica media: $4,80 \pm 0,51$). Posteriormente, la gravedad de la EAN disminuía lentamente y las ratas se recuperaban completamente el Día 22 (puntuaciones clínicas medias: 0 ± 0). En las ratas con EAN tratadas con compuesto A se observaban signos neurológicos muy reducidos el Día 14, con puntuaciones máximas el Día 15 y la recuperación completa de las ratas se observaba el Día 19. Por lo tanto, el tratamiento con compuesto A casi prevenía el desarrollo de los signos clínicos de la EAN, retrasaba drásticamente su comienzo, disminuía la gravedad neurológica y acortaba la duración de la EAN muy eficazmente con relación al vehículo de agua/CMC (Fig 1A y 1B).

Una característica adicional de la EAN es la pérdida de peso progresiva después del comienzo de la enfermedad. En

5 las ratas con EAN de referencia y tratadas con Compuesto A, se observaba un aumento de peso lento y continuo hasta el comienzo de la EAN (Día 9). Posteriormente, las ratas con EAN de referencia mostraban una pérdida de peso significativa durante el período de enfermedad neurológica desde el Día 10 hasta el 18 después de la inmunización, seguida por un aumento de peso durante el período de recuperación (Fig 2A). En contraste, se observaba un nivel de pérdida de peso reducido en la suspensión de compuesto A inferior del Día 11 al 16 en ratas con EAN tratadas mediante el compuesto A en el máximo del ataque de la enfermedad, indicando de nuevo una evolución mucho menos grave. Este efecto era más pronunciado en la suspensión de dosificación superior, con una pequeña pérdida de peso entre los días 11 y 12, seguida por un aumento de peso (Fig 2B).

Efectos del tratamiento supresor con compuesto A sobre los cambios patológicos en nervios ciáticos con EAN

10 La infiltración de diferentes tipos de células inflamatorias en nervios ciáticos de ratas con EAN de referencia o tratadas con Compuesto A el Día 16 (n = 5) se analizó mediante inmunohistoquímica. Se observó infiltración de células T (W3/13⁺), células B (OX22⁺) y macrófagos (ED1⁺) en los nervios ciáticos de las ratas con EAN de referencia. Las células infiltrantes predominantes eran macrófagos, cuyas áreas de IR ocupaban aproximadamente 2% de las áreas totales de nervio ciático en secciones transversales. Estos resultados se muestran en la Tabla 1

15 posteriormente.

Tabla 1

Compuesto de prueba	Área de inmunorreactividad/área de nervios ciáticos (%) para macrófagos (ED1⁺)	Área de inmunorreactividad/área de nervios ciáticos (%) para células T (W3/13⁺)	Área de inmunorreactividad/área de nervios ciáticos (%) para células B (OX22⁺)
Vehículo Agua	2,1	0,6	0,25
Vehículo CMC	2,2	0,56	0,91
Compuesto A (3 mg/kg)	0,20	0,08	0,025
Compuesto A (10 mg/kg)	0,11	0,04	0,021

En los nervios ciáticos de ratas con EAN, el compuesto A suprimía significativamente la infiltración de células T, células B y macrófagos.

20 En los nervios ciáticos, las puntuaciones histológicas medias medidas por tinción LFB eran notablemente inferiores en las ratas con EAN tratadas con Compuesto A. Estos resultados se muestran en la Tabla 2 posteriormente.

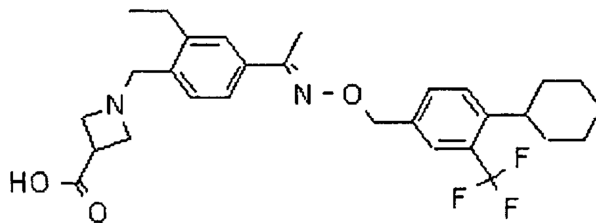
Tabla 2

Composición de prueba	Puntuación histológica media
Vehículo agua	1,78
Vehículo CMC	1,75
Compuesto A (3 mg/kg)	0,51
Compuesto A (10 mg/kg)	0,25

25 Estos resultados demuestran que el tratamiento supresor con Compuesto A casi prevenía la EAN e inhibía la paraparesis a través de una reducción sustancial de la infiltración de linfocitos y macrófagos en los nervios periféricos junto con una disminución de la desmielinización local.

REIVINDICACIONES

1. El compuesto ácido 1-{4-[1-(4-ciclohexil-3-trifluorometil-benciloxiimino)-etil]-2-etil-bencil}-azetidín-3-carboxílico:



- 5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el uso en el tratamiento de una neuropatía periférica desmielinizante seleccionada de polirradiculoneuropatía desmielinizante inflamatoria crónica, neuropatía motriz multifocal con bloqueo de la conducción o neuropatía periférica desmielinizante paraproteinémica.
- 10 2. Una formulación farmacéutica que comprende ácido 1-{4-[1-(4-ciclohexil-3-trifluorometil-benciloxiimino)-etil]-2-etilbencil}-azetidín-3-carboxílico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en combinación con al menos un agente terapéutico adicional para el uso en el tratamiento de un paciente que tiene una neuropatía periférica desmielinizante seleccionada de polirradiculoneuropatía desmielinizante inflamatoria crónica, neuropatía motriz multifocal con bloqueo de la conducción o neuropatía periférica desmielinizante paraproteinémica.
- 15 3. Una formulación que comprende ácido 1-{4-[1-(4-ciclohexil-3-trifluorometil-benciloxiimino)-etil]-2-etil-bencil}-azetidín-3-carboxílico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para el uso según la reivindicación 2, en la que el al menos un agente terapéutico adicional se selecciona de un inmunosupresor, un esteroide, una inmunoglobulina o interferón tipo 1.
- 20 4. Una formulación que comprende ácido 1-{4-[1-(4-ciclohexil-3-trifluorometil-benciloxiimino)-etil]-2-etil-bencil}-azetidín-3-carboxílico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para el uso según la reivindicación 3, en la que el inmunosupresor se selecciona de ciclosporina A, ciclosporina G, FK-506, ABT-281, ASM981, rapamicina, 40-O-(2-hidroxi)etil-rapamicina, un corticosteroide, ciclofosfamida, azatioprina, metotrexato, leflunomida, mizoribina, micofenolato de mofetilo o 15-desoxiespergualina.
5. Una formulación que comprende ácido 1-{4-[1-(4-ciclohexil-3-trifluorometil-benciloxiimino)-etil]-2-etil-bencil}-azetidín-3-carboxílico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para el uso según la reivindicación 3 o 4, en la que el esteroide es prednisona o hidrocortisona.
- 25 6. El compuesto ácido 1-{4-[1-(4-ciclohexil-3-trifluorometil-benciloxiimino)-etil]-2-etil-bencil}-azetidín-3-carboxílico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para el uso según la reivindicación 1 para la coadministración simultánea, separada o secuencial con al menos un agente terapéutico adicional como el definido en una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5.

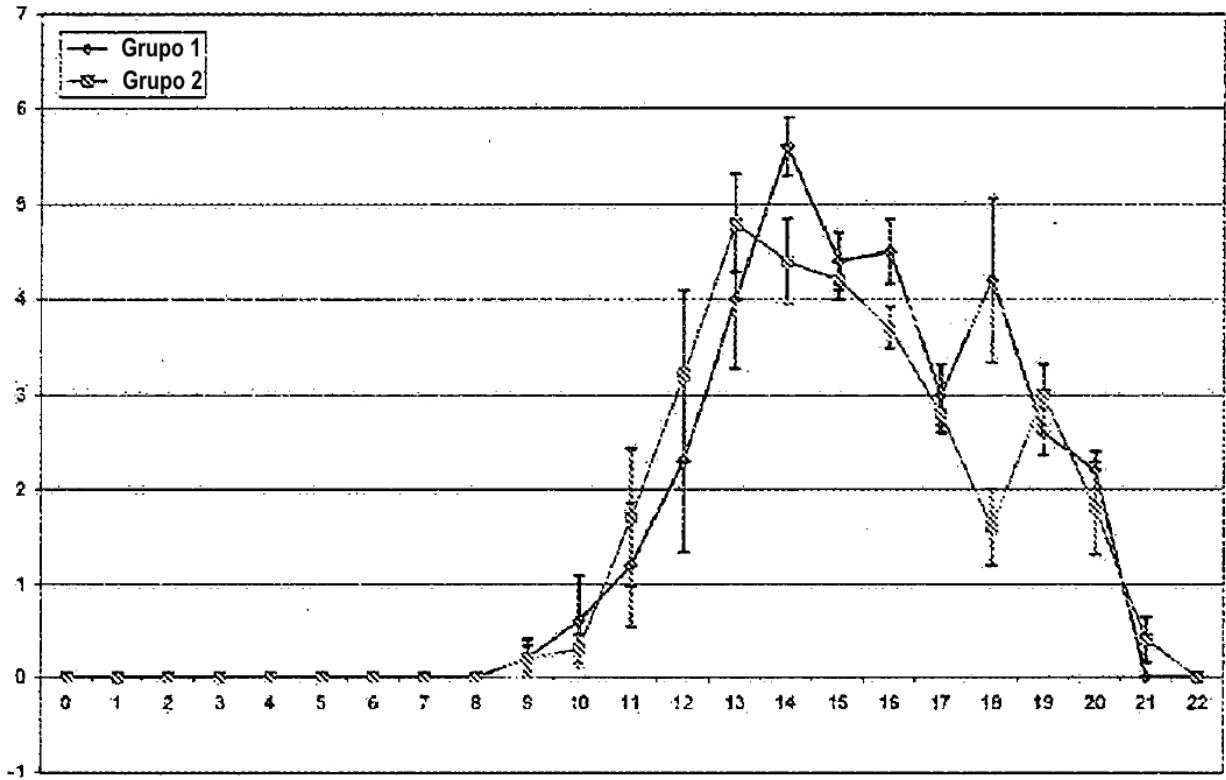


Figura 1A – Puntuación neurológica frente a nº de días después de la inmunización para ratas con EAN tratadas con vehículo de agua (grupo 1) y vehículo de CMC (grupo 2).

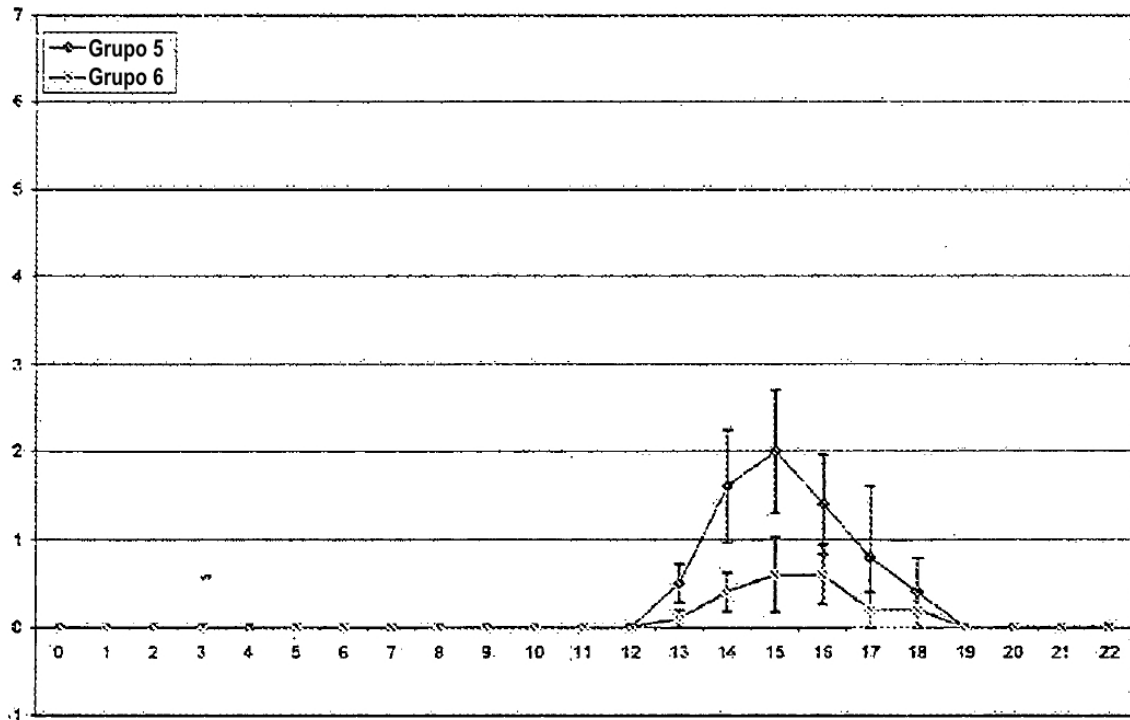


Figura 1B – Puntuación neurológica frente a nº de días después de la inmunización para ratas con EAN tratadas con suspensión de compuesto A de 3 mg/kg (grupo 5) y suspensión de compuesto A de 10 mg/kg (grupo 6).

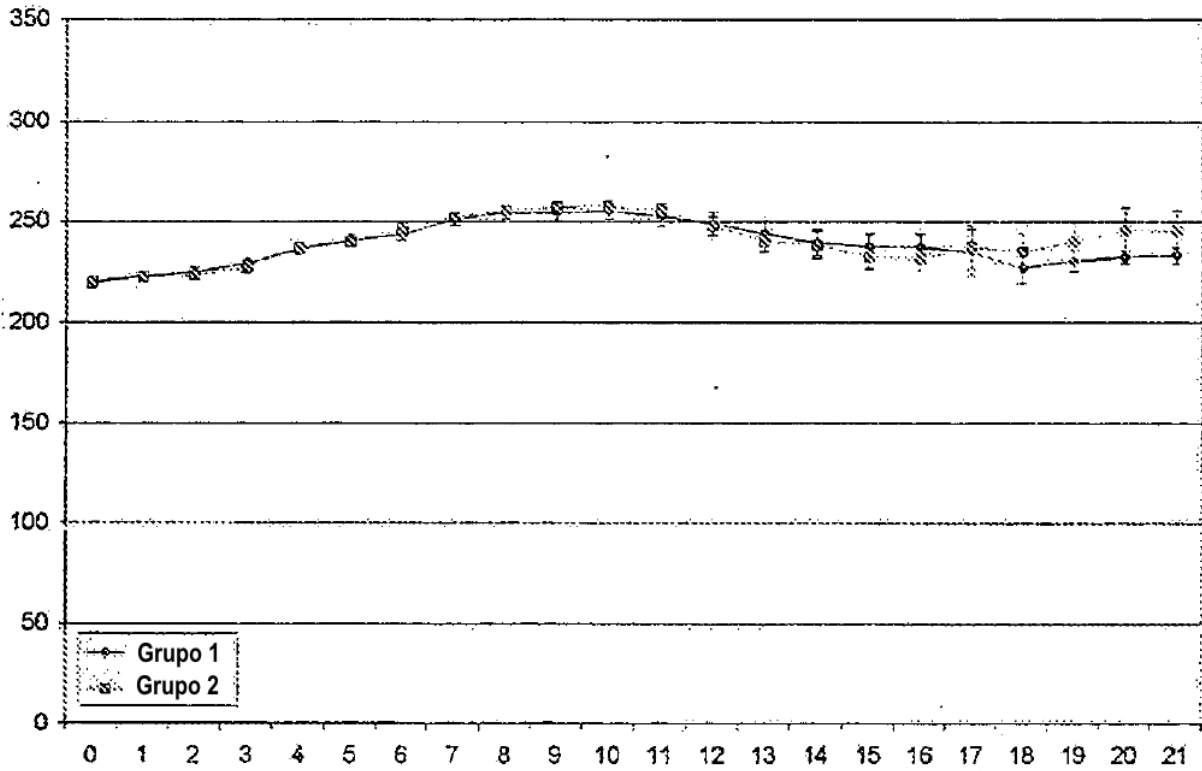


Figura 2A - Peso frente al nº de días después de la inmunización para ratas con EAN tratadas con vehículo de agua (grupo 1) y vehículo de CMC (grupo 2).

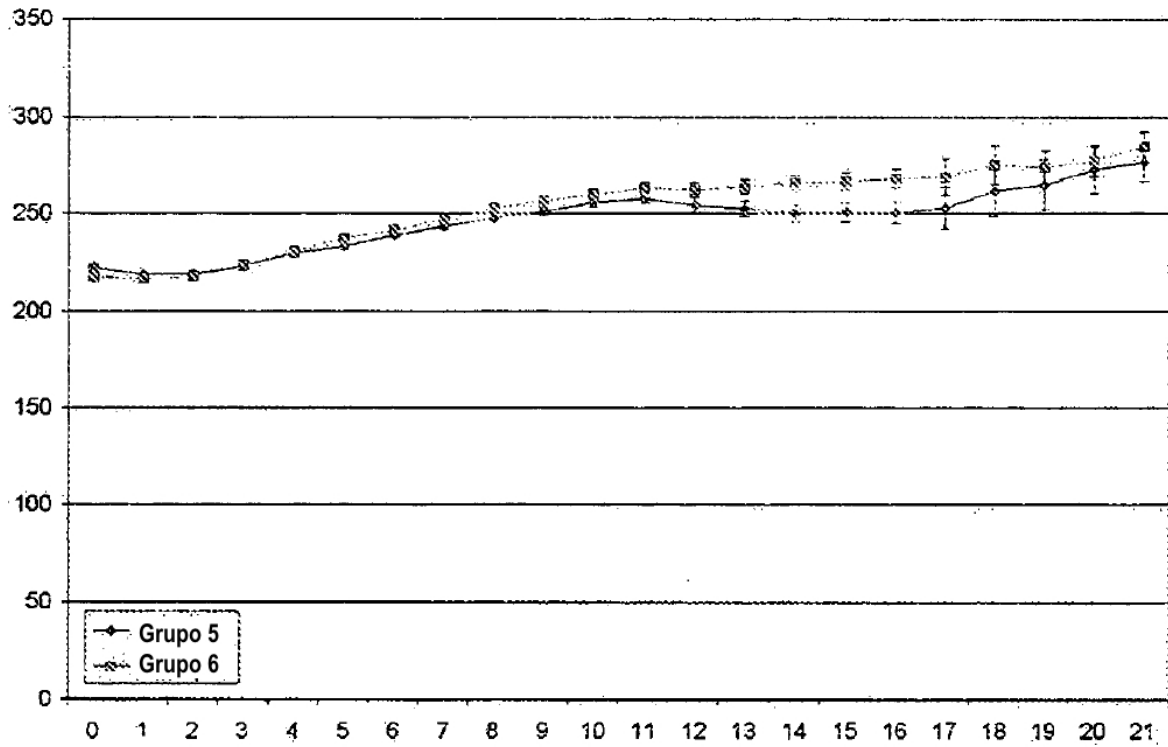


Figura 2B - Peso frente al nº de días después de la inmunización para ratas con EAN tratadas con con suspensión de compuesto A de 3 mg/kg (grupo 5) y suspensión de compuesto A de 10 mg/kg (grupo 6).