

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 610 206**

21 Número de solicitud: 201531358

51 Int. Cl.:

**A61K 31/5415** (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION

B1

22 Fecha de presentación:

**23.09.2015**

43 Fecha de publicación de la solicitud:

**26.04.2017**

Fecha de concesión:

**31.01.2018**

45 Fecha de publicación de la concesión:

**07.02.2018**

56 Se remite a la solicitud internacional:

**PCT/ES2016/070649**

73 Titular/es:

**CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES  
CIENTÍFICAS (CSIC) (100.0%)  
C/ Serrano, nº 117  
28006 Madrid (Madrid) ES**

72 Inventor/es:

**MARTÍNEZ GIL, Ana;  
GIL AYUSO-GONTAN, Carmen;  
CAMPILLO MARTÍN, Nuria;  
SANCHEZ BARRENA, M<sup>a</sup> José;  
MANSILLA APARICIO, Alicia y  
FERRÚS GAMERO, Alberto**

74 Agente/Representante:

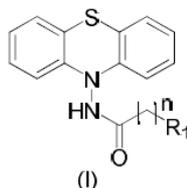
**PONS ARIÑO, Ángel**

54 Título: **AMINOFENOTIAZINAS PARA LA MODULACIÓN DEL NÚMERO DE SINAPSIS**

57 Resumen:

Aminofenotiazinas para la modulación del número de sinapsis.

La presente invención se refiere al uso de un grupo de compuestos con núcleo de fenotiazina con la siguiente fórmula general (I):



para el tratamiento de enfermedades del sistema nervioso central que presentan anomalías en la sinapsis, tales como autismo o síndrome de frágil X. Los compuestos de la invención intervienen en la interacción de las proteínas NCS1 y Ric8 implicadas en el proceso de sinaptogénesis.

ES 2 610 206 B1

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP 11/1986.

**Aminofenotiazinas para la modulación del número de sinapsis**

**DESCRIPCIÓN**

5 La presente invención se engloba en el sector de la química farmacéutica y se refiere al uso de un grupo de compuestos con núcleo de fenotiazina para el tratamiento de enfermedades del sistema nervioso central que presentan anomalías en el número de sinapsis. Los compuestos de la invención intervienen en la interacción de las proteínas NCS1 y Ric8 implicadas en el proceso de regulación del número de  
10 sinapsis y la probabilidad de liberación de neurotransmisor.

**ESTADO DE LA TÉCNICA**

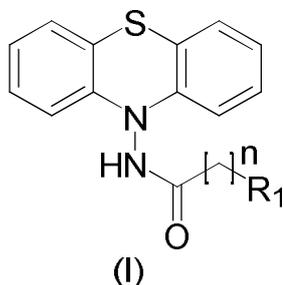
La sinaptogénesis es un proceso madurativo activo que comprende la formación de un  
15 locus liberador de neurotransmisores en la neurona pre sináptica y un campo receptor post sináptico asociado, así como la alineación precisa de las especializaciones pre sinápticas y post sinápticas. El adecuado balance entre sinapsis excitatorias e inhibitoras es básico durante el desarrollo de los circuitos neuronales. Las mutaciones en los genes que regulan este balance causan diversos trastornos del neurodesarrollo  
20 como autismo, epilepsia, síndrome de Angelman, síndrome del cromosoma X frágil y síndrome de Rett. Estas mutaciones pueden originar desviaciones en el número normal de sinapsis y en sus propiedades funcionales.

En el documento WO2009/156535 se describen un grupo de hidrazidas entre las que  
25 se encuentra el compuesto FD44 y su uso terapéutico para el tratamiento de enfermedades del SNC donde se produce un déficit o disfunción de la neurotransmisión colinérgica como por ejemplo Alzheimer, Parkinson o Huntington.

En los documentos WO0192240 y *European Journal of Medicinal Chemistry* 45 (2010)  
30 6152-6158 se describe una serie de fenotiazinas N-sustituidas y su uso para el tratamiento de Alzheimer.

**DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION**

En un primer aspecto, la presente invención se refiere a la utilización de un compuesto de fórmula (I):

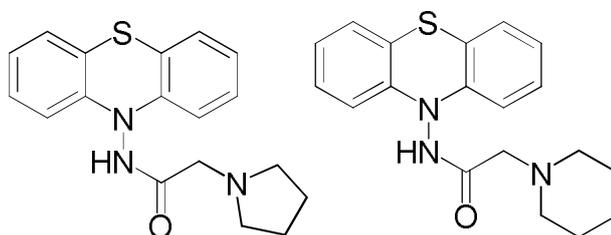


- 5 donde  $R_1$  se selecciona de entre alquilo  $C_1$ - $C_4$ , heterociclo, arilo, heteroarilo,  $-COOH$ ,  $-NR_2R_3$ , siendo  $R_2$  y  $R_3$  independientemente seleccionados de entre H, alquilo o arilo, y  $n$  es un valor de entre 1 a 4, o cualquiera de sus sales, isómeros o solvatos farmacéuticamente aceptables,
- para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades del
- 10 sistema nervioso central que presentan anomalías en la sinapsis.

En una realización preferida,  $n$  es 1.

- En otra realización preferida,  $R_1$  es heterociclo. En una realización más preferida,  $R_1$
- 15 se selecciona de entre piperidina o pirrolidina.

En otra realización preferida, el compuesto de fórmula (I) se selecciona de entre los siguientes compuestos:



20

- En otra realización preferida, las enfermedades del sistema nervioso central que presentan anomalías en la sinapsis se seleccionan de entre autismo, síndrome de frágil X, déficit de atención, epilepsia, síndrome de Angelman, síndrome de Rett o
- 25 esquizofrenia.

En una realización más preferida, la enfermedad del sistema nervioso central que presenta anomalías en la sinapsis es el autismo.

- 5 En otra realización más preferida, la enfermedad del sistema nervioso central que presenta anomalías en la sinapsis es el síndrome de frágil X.

El complejo proteico formado por el sensor de calcio neuronal 1 (NCS-1) y el factor de intercambio de guanilos Ric8 regula el número de sinapsis y la probabilidad de liberación de neurotransmisores, por lo que puede considerarse una diana terapéutica para el tratamiento de las enfermedades en las que la sinapsis se vea afectada. La identidad estructural entre NCS-1 y Frq2 (su proteína homóloga en *Drosophila*) es muy alta, habiéndose reportado una interacción específica entre Frq2 y Ric8. A partir de los datos estructurales de la superficie de interacción entre Frq2 y Ric-8 obtenidos a partir de su complejo cristalino, se han identificado por cribado virtual un conjunto de fenotiazinas con fórmula (I) capaces de modular esta interacción. Por tanto, estas fenotiazinas pueden ser consideradas como candidatos a fármacos para el tratamiento de diversas sinaptopatías.

20 El término "alquilo" se refiere, en la presente invención, a radicales de cadenas hidrocarbonadas, lineales o ramificadas, que tienen de 1 a 10 átomos de carbono, preferiblemente 1 a 6 y más preferiblemente 1 a 4, y que se unen al resto de la molécula mediante un enlace sencillo, por ejemplo, propilo, etilo, metilo, isopropilo, undecanoilo, heptadecanoilo, octadecanoilo, etc. Estos radicales alquilo pueden estar 25 opcionalmente sustituidos en una o más posiciones por uno o más grupos tales como hidroxilo, aminas, amidas, oxo, ciano, halógenos, arilo, etc.

El término "arilo" se refiere, en la presente invención, a anillos aromáticos sencillos o múltiples, que tienen de entre 5 a 18 eslabones en los que se ha eliminado un protón del anillo. Preferentemente el grupo arilo tiene de 5 a 7 átomos de carbono. Los grupos arilo son por ejemplo, pero sin limitarse a fenilo, naftilo, difenilo, indenilo, fenantrilo o antracilo. Los radicales arilo pueden estar opcionalmente sustituidos por uno o más sustituyentes tales como alquilo, hidroxilo, aminas, amida, ciano halógenos, etc.

El término “heterociclo” se refiere, en la presente invención, a cadenas hidrocarbonadas cíclicas que tienen de 3 a 7 átomos de carbono, y que se unen al resto de la molécula mediante un enlace sencillo, en las que al menos un átomo de carbono de la cadena principal ha sido sustituido por O, N ó S. Pueden estar saturados o insaturados aunque preferiblemente están saturados como por ejemplo piperidina, pirrolidina, tetrahidrofurano, tetrahidrotiofeno, etc. Estos radicales heterociclo pueden estar opcionalmente sustituidos en una o más posiciones por uno o más grupos tales como hidroxilo, aminas, amidas, oxo, ciano, halógenos, arilo, etc.

10

Los compuestos de la presente invención representados por la fórmula (I), y más concretamente, los compuestos específicos pertenecientes a esta fórmula general anteriormente descrita pueden incluir isómeros, dependiendo de la presencia de enlaces múltiples (por ejemplo, Z, E), incluyendo isómeros ópticos o enantiómeros, dependiendo de la presencia de centros quirales. Los isómeros, enantiómeros o diastereoisómeros individuales y las mezclas de los mismos caen dentro del alcance de la presente invención. Los enantiómeros o diastereoisómeros individuales, así como sus mezclas, pueden separarse mediante técnicas convencionales.

20 Los compuestos de la invención pueden estar en forma cristalina como compuestos libres o como solvatos y se pretende que ambas formas estén dentro del alcance de la presente invención. En este sentido, el término “solvato”, tal como aquí se utiliza, incluye tanto solvatos farmacéuticamente aceptables, es decir, solvatos del compuesto de fórmula (I) que pueden ser utilizados en la elaboración de un medicamento, como solvatos farmacéuticamente no aceptables, los cuales pueden ser útiles en la preparación de solvatos o sales farmacéuticamente aceptables. La naturaleza del solvato farmacéuticamente aceptable no es crítica siempre y cuando sea farmacéuticamente aceptable. En una realización particular, el solvato es un hidrato. Los solvatos pueden obtenerse por métodos convencionales de solvatación bien conocidos por los técnicos en la materia.

30

Para su aplicación en terapia, los compuestos de fórmula (I), sus isómeros, sales o solvatos, se encontrarán, preferentemente, en una forma farmacéuticamente aceptable o sustancialmente pura, es decir, que tiene un nivel de pureza farmacéuticamente

aceptable excluyendo los aditivos farmacéuticos normales tales como diluyentes y portadores, y no incluyendo material considerado tóxico a niveles de dosificación normales. Los niveles de pureza para el principio activo son preferiblemente superiores al 50%, más preferiblemente superiores al 70%, más preferiblemente superior al 90%. En una realización preferida, son superiores al 95% del compuesto de fórmula (I), o de sus isómeros, sales o solvatos.

A menos que se indique lo contrario, los compuestos de la invención también incluyen compuestos que difieren sólo en la presencia de uno o más átomos isotópicamente enriquecidos. Por ejemplo, compuestos que tienen dicha estructura, a excepción de la sustitución de un hidrógeno por un deuterio o por tritio, o la sustitución de un carbono por un carbono enriquecido en  $^{13}\text{C}$  o  $^{14}\text{C}$  o un nitrógeno enriquecido en  $^{15}\text{N}$ , están dentro del alcance de esta invención.

Los compuestos de fórmula (I) para uso terapéutico se preparan en forma sólida o suspensión acuosa, en un diluyente farmacéuticamente aceptable. Estos preparados pueden ser administrados por cualquier vía de administración apropiada, para lo cual dicho preparado se formulará en la forma farmacéutica adecuada a la vía de administración elegida. Por ejemplo, los compuestos de fórmula (I) se combinarán con excipientes como el almidón o la lactosa o coadyuvantes como las ciclodextrinas así como cualquier tipo de transportadores farmacéuticos conocidos por un experto en la materia para la preparación de formulaciones sólidas o líquidas. En una realización particular, la administración del compuesto de fórmula (I) proporcionado por esta invención se efectúa por vía oral, tópica, rectal o parenteral (incluyendo subcutánea, intraperitoneal, intradérmica, intramuscular, intravenosa, etc.). Una revisión de las distintas formas farmacéuticas de administración de medicamentos y de los excipientes necesarios para la obtención de las mismas puede encontrarse, por ejemplo, en el "Tratado de Farmacia Galénica", C. Faulí i Trillo, 1993, Luzán 5, S.A. Ediciones, Madrid, u en otros habituales o similares de las Farmacopeas española, europeas o estadounidense.

Los compuestos descritos en la presente invención, sus sales farmacéuticamente aceptables, y solvatos, así como las composiciones farmacéuticas que los contienen pueden ser utilizados junto con otros fármacos adicionales para proporcionar una

terapia de combinación. Dichos fármacos adicionales pueden formar parte de la misma composición farmacéutica o, alternativamente, pueden ser proporcionados en forma de una composición separada para su administración simultánea o no a la de la composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), o un isómero, solvato o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

Otro aspecto de la invención se refiere a un método de modular el número de sinapsis que comprende la administración de una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula (I) como descrito anteriormente.

En el sentido utilizado en esta descripción, la expresión "cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a la cantidad suficiente de compuesto activo para producir el efecto deseado en el que los síntomas de la enfermedad son atenuados. La dosis no debe ser utilizada en proporciones que causen efectos colaterales indeseados, cuya valoración clínica les haga adversos y no tratables terapéuticamente. Generalmente la dosis variará con la edad, condición, sexo y extensión de la enfermedad en el paciente así como con la vía y frecuencia de administración y podrá ser determinada en cada caso.

El uso de los compuestos de la invención es compatible con su uso en protocolos en que los compuestos de la fórmula (I), o sus mezclas se usan por sí mismos o en combinaciones con otros tratamientos o cualquier procedimiento médico.

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos y figuras se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

30

## **BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS**

**FIG. 1.** Muestra los resultados de los ensayos de coinmunoprecipitación (coIP) entre NCS1 y Ric8a humanos. Panel izquierdo = Precipitación con anti-V5 que está unido a

Ric8a, seguido de inmunodetección en Western blot de NCS1 con un anticuerpo específico. Panel derecho = Precipitación con anti-NCS1, seguido de inmunodetección de Ric8a en Western blot con anticuerpo anti-V5. Paneles inferiores = Input de carga en los geles correspondientes (1/10 del lisado de proteínas previo a la  
5 inmunoprecipitación)

**FIG. 2.** Muestra los resultados de ensayos de inmunoprecipitación en células HEK293 transfectadas con V5-Ric8a y NCS1 humanos y en presencia o no de los compuestos. El carril DMSO representa un control positivo de la interacción.

10

**FIG. 3.- A)** Volumen de la placa neuromuscular normalizado con respecto al wild type. Wt DMSO = larvas wild type crecidas en medio con el vehículo DMSO (200 micromolar), wt FD44 = larvas crecidas en medio con FD44 disuelto en DMSO (200 micromolar), dFMRPmutDMSO = larvas mutante para el gen *fmr1* crecidas en medio con DMSO, dFMRPmut FD44 = larvas mutante crecidas en medio con FD44 (200 micromolar). **B)** Mismos genotipos computando el número de sinapsis (puntos inmunopositivos para el anticuerpo monoclonal nc82). **C)** Mismos genotipos computando el número de ramas colaterales. **D)** Imágenes representativas de cada genotipo. Cada imagen es un apilamiento de todos los planos confocales.

20

**FIG. 4.** (A) Representación de la estructura cristalográfica del complejo NCS-1/FD44. La molécula de FD44 se muestra en modo bastón. El mapa 2Fo-Fc de la molécula pequeña se muestra a  $1\sigma$ . (B) Representación la superficie molecular electrostática de NCS-1 unido a FD44 donde se observa el entorno hidrófobo de FD44. (C) Detalle de los aminoácidos en contacto con FD44. La mayoría de las interacciones son de Van der Waals, excepto el puente de Hidrógeno, mediado por una molécula de agua de T92 (con líneas discontinuas negras) y tres enlaces de hidrógeno débiles donde un átomo de C es el donador de hidrógeno y un átomo de O el aceptor. (D) Zoom de la cavidad donde FD44 se une.

30

## EJEMPLOS

A continuación se ilustrará la invención mediante unos ensayos realizados por los inventores, que pone de manifiesto la efectividad del producto de la invención.

**Ejemplo 1. Cribado virtual en Frq2**

El compuesto FD44 fue identificado mediante un ensayo virtual (“*screening virtual*”) empleando la quimioteca propia del grupo y la estructura NCS-1 Humana (código pdb 1g8i, Bourne et al., 2001 *J Biol Chem.* 13;276(15):11949-55.) y de Drosophila (código pdb 4by4, Romero-Pozuelo et al., 2014. *J Cell Sci.* 127, 4246-4259). El “*screening virtual*” se llevó a cabo con el programa Glide (Maestro Version 9.4.047, Schrodinger® Software).

10 Las moléculas, 32 fenotiazinas, fueron extraídas de la quimioteca del grupo. Estas moléculas fueron preparadas empleando el módulo Ligprep wizard de Maestro (Schrödinger® Software Modules). Se añadieron los hidrógenos y se minimizaron empleando el campo de fuerza OPLS\_2005. Por último, se generaron 10 conformaciones para cada ligando usando Glide. Después de preparar la quimioteca y

15 la proteína, se definió una gradilla (grid) centrada en el aminoácido Arg94. Los estudios de docking se realizaron con el Módulo de precisión estándar (SP) de Glide. Los posibles modos de unión generados se clasificaron tanto empleando la función de puntuación “scoring function Gscore” generada por Glide como en función de las interacciones que se establecieron con el residuo clave Arg 94. Para el análisis de las

20 interacciones de los complejos de proteína-ligando se empleó el módulo Liginteractions implementado en Maestro (Maestro Versión 9.4.047, Schrödinger® Software).

**Ejemplo 2: Conservación en humanos de la interacción entre NCS1 y Ric8a.**

25 Para comprobar si la interacción que se había detectado previamente (Romero-Pozuelo J et al. *The guanine-exchange factor Ric8a binds to the Ca<sup>2+</sup> sensor NCS-1 to regulate synapse number and neurotransmitter release.* *J Cell Sci.* 2014 Oct 1;127(Pt 19):4246-59) entre las proteínas de Drosophila Frq2 y Ric8a, se ensayó la co-immunoprecipitación de sus equivalentes humanos, NCS1 y Ric8a. Ric8a humano fue

30 subclonado en nV5pCDNA3.1. El constructo NCS1 fue subclonado en pCDNA3.1. Las co-transfecciones se realizaron en células HEK293 usando el reactivo Superfect® (Qiagen®) y lisadas 48h después. Antes de su clarificación, los lisados se incubaron con el respectivo compuesto a 4°C durante la noche (12 h) con y sin anticuerpos anti-V5 (Invitrogen®) o anti-NCS1 (Cell Signalling Technology®) tal como se indica en cada

experimento. Como control negativo, se efectuaron inmunoprecipitaciones con un anticuerpo no relacionado. Se utilizaron los siguientes anticuerpos y diluciones con los Western blots: conejo anti-NCS1 (1:1000) y ratón anti-V5 (1:2000). Tras la co-transfección de células HEK293 de ambos constructos, los datos muestran que los  
 5 homólogos humanos conservan la interacción (Fig. 1). La inmunoprecipitación Ric8a arrastra NCS1 y viceversa. Estos datos muestran que el modelo de *Drosophila* puede utilizarse como modelo *in vivo* de la interacción de NCS-1 y Ric8.

**Ejemplo 3: Ensayos de interferencia sobre la interacción NCS1/Ric8a *in vitro*.**

10 Con el fin de evaluar la capacidad del derivados FD44 para inhibir la interacción entre NCS1 y Ric8a humanos, se transfectaron células HEK293 con una versión de Ric8a marcada con el epítipo V5 y con NCS1, incubándose el lisado celular con el producto a ensayar. Los datos (Fig. 2), indican que FD44 inhibe eficientemente esta interacción.

15 **Ejemplo 4: Efectos sinápticos de FD44.**

El efecto de FD44 sobre el numero de sinapsis *in vivo* se determinó utilizando *Drosophila* transgénicas para el gen *fmr1*, administrando FD44 en la ingesta.

El mutante en el gen *fmr1* corresponde a *Fmr1*<sup>Δ50M</sup> # BL-6930 y el wild type corresponde a la estirpe Canton-S, todos provenientes del repositorio Bloomington  
 20 *Drosophila* Stock Center. El compuesto FD44 fue disuelto en DMSO y añadido al medio de cultivo de *Drosophila* en fase fluida para asegurar su distribución homogénea resultando en una concentración final de 200 micromolar. Una vez enfriado el medio, los viales fueron utilizados normalmente para puesta de huevos y crecimiento de larvas a 25°C hasta alcanzar el estadio LIII avanzado.

25

Alcanzado el estadio de larva III avanzada, los animales fueron procesados quirúrgicamente para exponer las junturas neuromusculares (NMJ) siguiendo el procedimiento descrito (Martin-Peña et al., *Age-independent synaptogenesis by phosphoinositide 3 kinase*. J Neurosci. 2006 Oct 4;26(40):10199-208). El anticuerpo  
 30 nc82 es un monoclonal específico para la proteína Bruchpilot de *Drosophila* perteneciente a la familia CAST de vertebrados y constituyente de la especialización presináptica. Fue obtenido del *Drosophila* Hybridoma Bank (DSHB). El anticuerpo anti-HRP, producido en conejo, marca la membrana neuronal y fue obtenido de Jackson ImmunoResearch. Se analizó un NMJ por larva hasta un total de 8-12 larvas por

genotipo para evitar artefactos de crecimiento. Las secciones confocales seriadas de 1 micrómetro de espesor fueron analizadas y cuantificadas con el programa Imaris®.

Para medir los efectos de FD44 administrado vía ingesta, se utilizó la juntura neuromuscular correspondiente a la moto-neurona 6/7 del segmento abdominal larvario A3. Las preparaciones larvianas fueron teñidas con anticuerpo nc82 para visualizar las sinapsis y con anti-HRP para visualizar la membrana del axón. Finalmente, el número de sinapsis fue medido en imágenes obtenidas en el microscopio confocal y cuantificadas mediante software Imaris®. Los datos muestran (Fig. 1) que el volumen total de la moto-neurona está significativamente aumentado en el caso del mutante *fmr1* tal como se había descrito previamente (Morales et al., *Drosophila fragile X protein, DFXR, regulates neuronal morphology and function in the brain. Neuron. 2002* 34(6):961-72). Además, la administración de FD44 o el diluyente, DMSO, resultan inocuas para el control *wild type* (Fig. 3A). Sin embargo, la administración de FD44 al mutante, revierte el volumen neuronal de proyección hasta los niveles normales de los controles (Fig. 3A). El número de sinapsis experimenta el mismo efecto de exceso en el mutante y reversión en el mutante que ha ingerido FD44 (Fig. 3B). Finalmente, el número de ramas colaterales no muestra cambio alguno en los diferentes genotipos y tipos de ingesta, indicando que la neuritogénesis no está afectada ni por el mutante ni por FD44 (Fig. 3C). Es decir, el mutante y el tratamiento afectan al crecimiento axonal y la sinaptogénesis pero no a la neuritogénesis. Este hecho supone una ventaja para FD44 de cara a un potencial tratamiento ya que no debería de causar efectos colaterales, probablemente perjudiciales, al modificar las ramificaciones (neuritas) que podrían haber establecido conexiones anormales. Imágenes representativas de los principales genotipos se muestran en Fig. 3D.

#### **Ejemplo 5: interacción del compuesto FD44 con la proteína NCS1**

La proteína de *Drosophila* NCS-1 (Frq2) purificada se dializó con agua y se concentró a 10 mg ml<sup>-1</sup> utilizando un concentrador con una membrana de corte de 10 kDa (Vivaspin®). Se añadieron 0,3 mg de FD44 a 250 µl de muestra de proteína y se incubó 16 horas a 4 °C. La fracción insoluble del compuesto se separó por centrifugación. Los experimentos preliminares de cristalización se realizaron usando el robot de cristalización Innovadine® y kits de cristalización comerciales (Molecular Dimensions®, Qiagen®, Hampton Research® y Jena Bioscience®). La mezcla de 1 µl

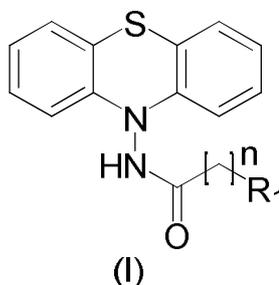
de proteína previamente incubada con FD44, con 1µl de la solución A11 del Proplex (0,1 M Hepes pH 7,5 y 25% w / v de PEG 2.000 MME) a la que previamente se le había añadido 1.7 mM de FD44, dio lugar a monocristales de calidad. Estos cristales se crioprotegieron con una solución que contenían 15% de glicerol, 0,1  
5 M Hepes pH 7,5, 25% w/v de PEG 2.000 MME y 0,5 mM FD44. y posteriormente fueron enfriados en nitrógeno líquido. En el sincrotrón ALBA (línea de luz BL13) se recogió un conjunto de datos que iba a una resolución máxima de 1,6 Å y pertenecían al grupo espacial P2<sub>1</sub>2<sub>1</sub>2<sub>1</sub>. Los datos se procesaron con XDS y la estructura se resolvió utilizando el método de reemplazamiento molecular con Phaser  
10 y usando como modelo de partida la estructura de la apoproteína. Se encontró una molécula en la unidad asimétrica. La estructura fue refinada con Phenix.

En la figura 4 se muestra la estructura cristalográfica del complejo NCS-1 con FD44. Este complejo explica la actividad biológica de FD44: el compuesto se inserta en la  
15 parte N-terminal de la alargada hendidura hidrofóbica que presenta la proteína, y estabiliza la hélice C-terminal H10 dentro de la misma. Todo esto hace que esta hendidura hidrofóbica, superficie de interacción para Ric8, se quede absolutamente bloqueada e inaccesible.

20

## REIVINDICACIONES

1. Uso de un compuesto de fórmula (I):



5

donde  $R_1$  se selecciona de entre alquilo  $C_1-C_4$ , heterociclo  $C_3-C_6$ , arilo, heteroarilo,  $-COOH$ ,  $-NR_2R_3$ , siendo  $R_2$  y  $R_3$  independientemente seleccionados de entre H, alquilo o arilo, y  $n$  es un valor de entre 1 a 4, o cualquiera de sus sales, isómeros o solvatos farmacéuticamente aceptables,

para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades del sistema nervioso central que presentan anomalías en la sinapsis.

10

2. Uso del compuesto según la reivindicación anterior donde  $n$  es 1.

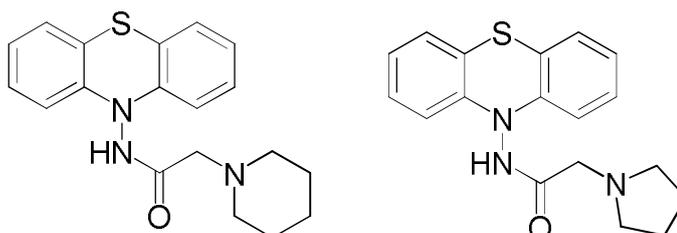
15

3. Uso de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones anteriores donde  $R_1$  es heterociclo.

4. Uso según la reivindicación anterior donde  $R_1$  se selecciona de entre piperidina o pirrolidina.

20

5. Uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores donde el compuesto de fórmula (I) se selecciona de entre los siguientes compuestos:



25

6. Uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores donde las enfermedades del sistema nervioso central que presentan anomalías en la sinapsis se seleccionan de entre autismo, síndrome de frágil X, déficit de atención, epilepsia, síndrome de Angelman, síndrome de Rett o esquizofrenia.

5

7. Uso según la reivindicación anterior donde la enfermedad del sistema nervioso central que presenta anomalías en la sinapsis es el autismo.

8. Uso según la reivindicación 6 donde la enfermedad del sistema nervioso central que presenta anomalías en la sinapsis es el síndrome de frágil X.
- 10

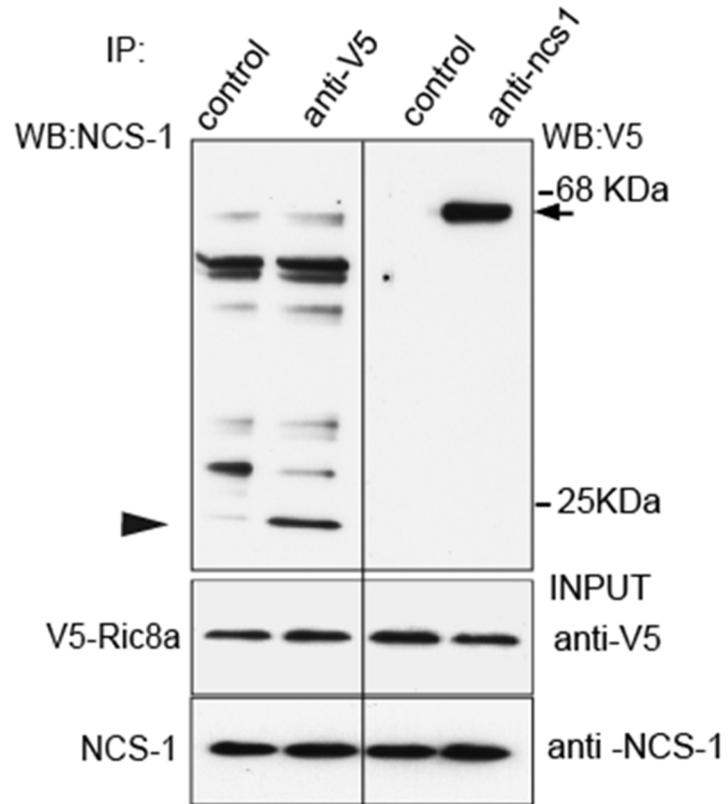


FIG. 1

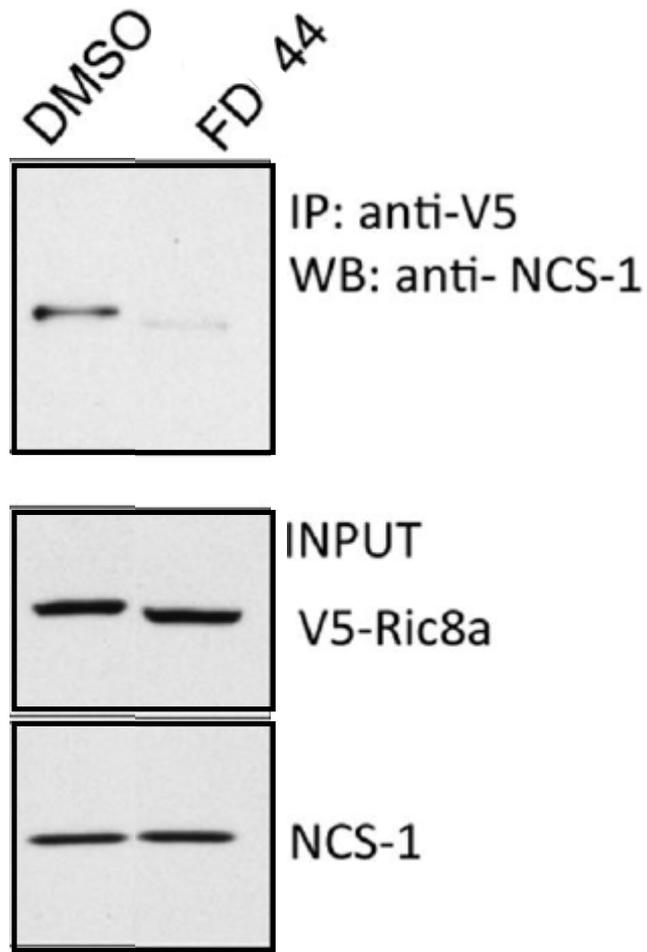


FIG. 2

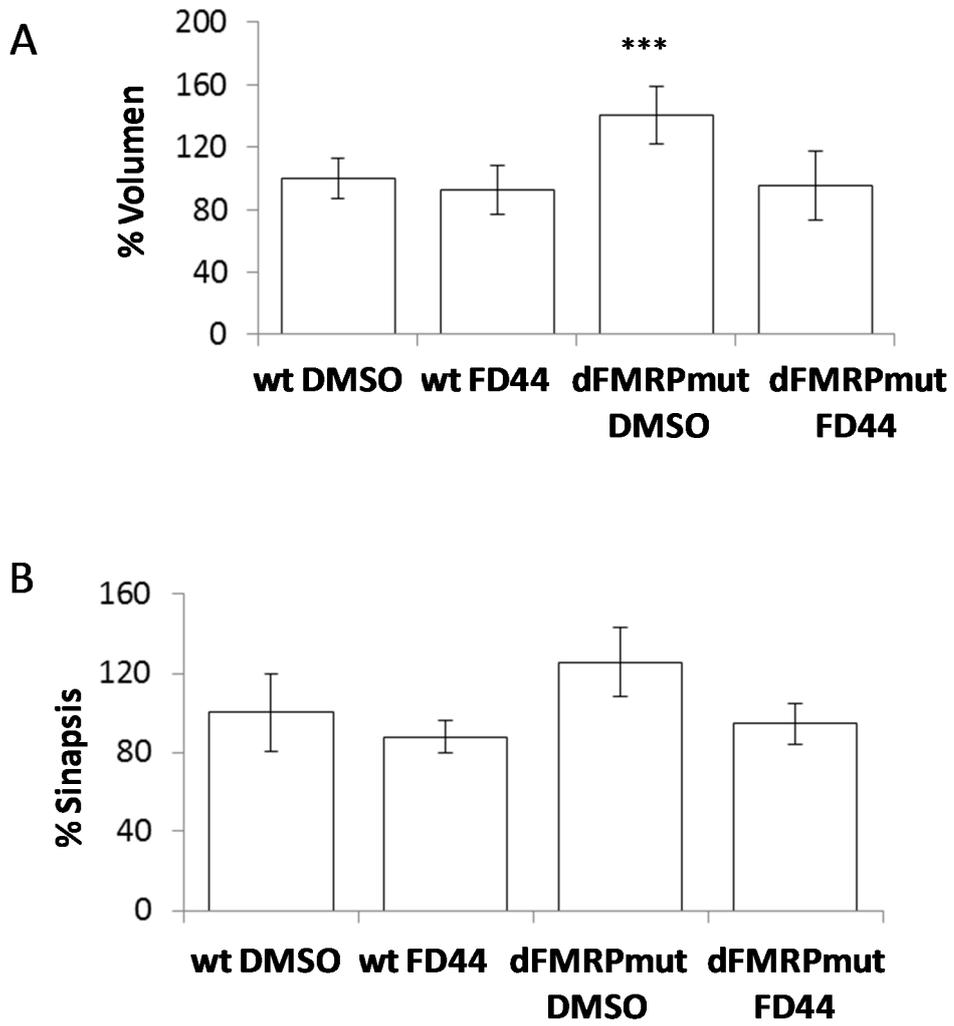
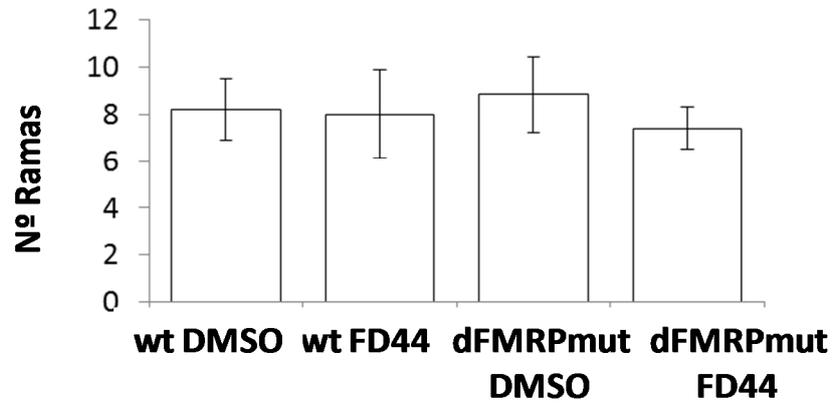


FIG. 3.

C



D

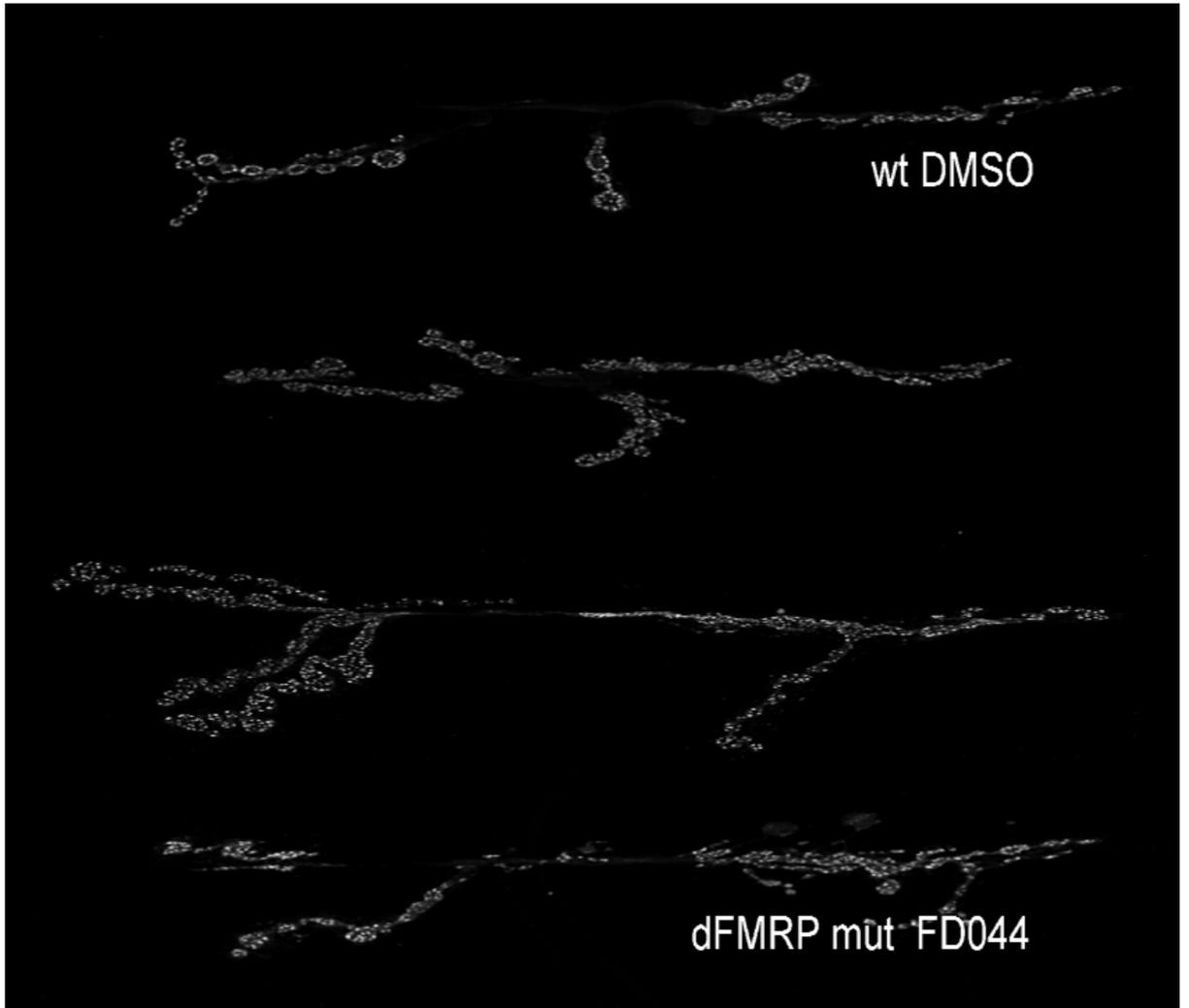


FIG. 3 cont.

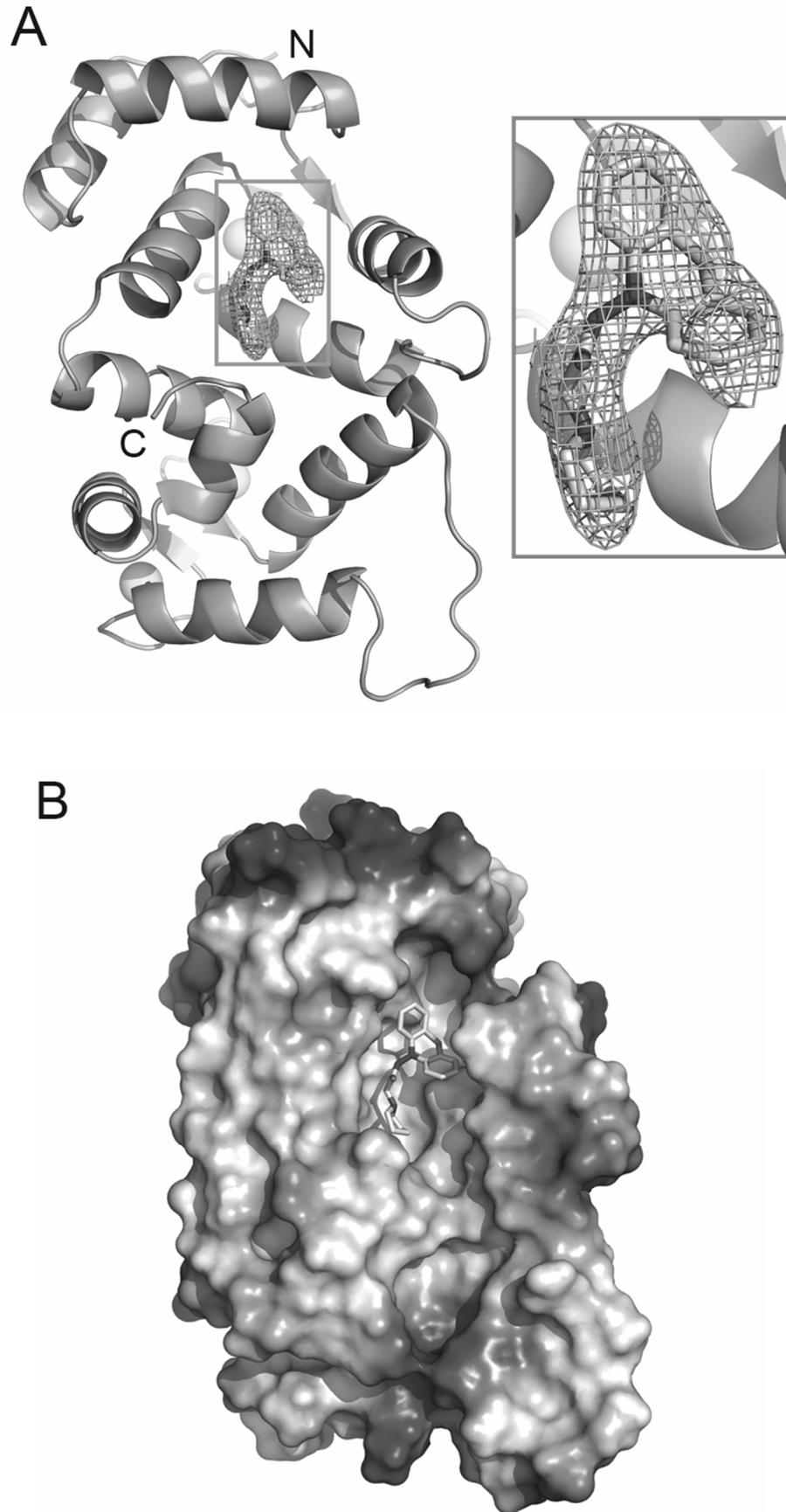


FIG. 4

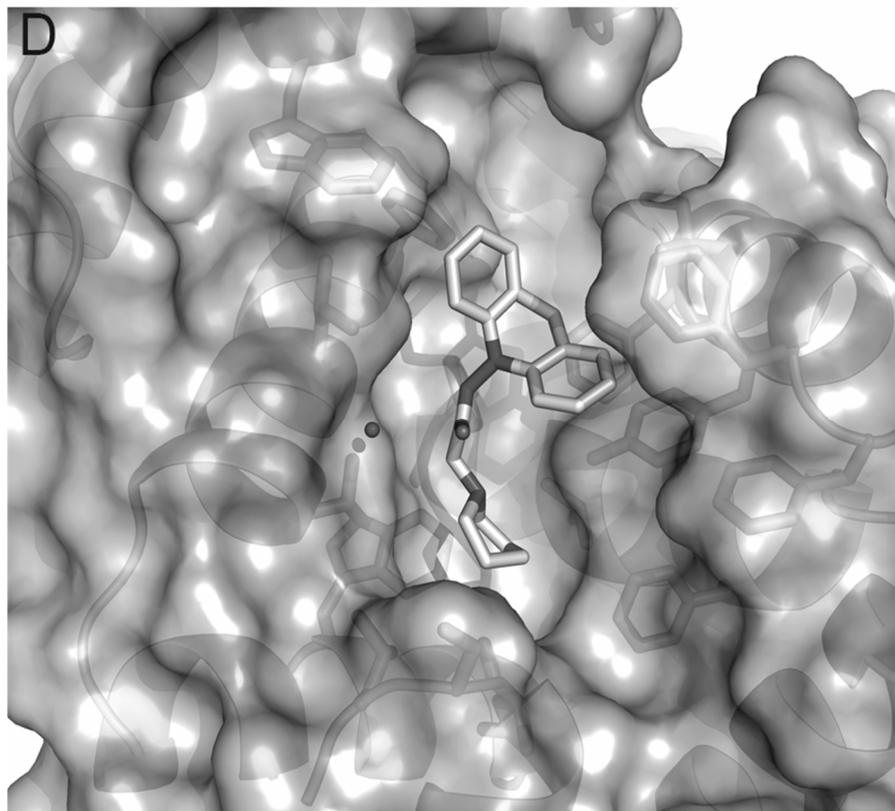
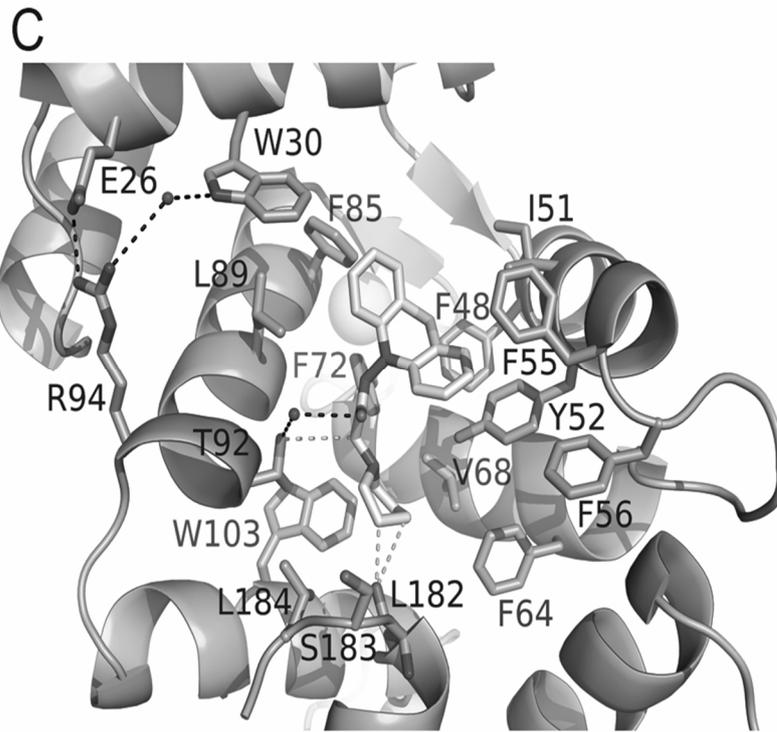


FIG. 4 cont.