

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 711 842**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/56** (2006.01)

**A61K 31/565** (2006.01)

**A61K 31/575** (2006.01)

**A61P 25/00** (2006.01)

**A61P 7/10** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.04.2015 PCT/CN2015/076528**

87 Fecha y número de publicación internacional: **29.10.2015 WO15161747**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.04.2015 E 15783742 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.01.2019 EP 3135288**

54 Título: **Neuroprotector e indicación del mismo**

30 Prioridad:

**25.04.2014 CN 201410170263**

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

**07.05.2019**

73 Titular/es:

**GUANGZHOU CELLPROTEK PHARMACEUTICAL  
CO., LTD. (100.0%)  
G401-415 3 Lanyue Road International Business  
Incubator Guangzhou Science City  
Guangzhou, Guangdong 510663, CN**

72 Inventor/es:

**YIN, WEI;  
CHEN, JIESI;  
YAN, GUANGMEI;  
LU, BINGZHENG;  
ZHU, WENBO;  
HU, HAIYAN;  
QIU, PENGXIN;  
HUANG, YIJUN y  
ZHANG, JINGXIA**

74 Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

**ES 2 711 842 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

Neuroprotector e indicación del mismo

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a un nuevo uso farmacéutico del compuesto 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -triol y análogos del mismo.

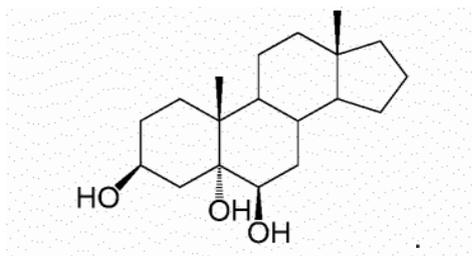
10 **Antecedentes**

La presión atmosférica y la presión parcial de oxígeno disminuyen a medida que aumenta la altitud. El bajo nivel de presión parcial de oxígeno en el aire inspirado da como resultado la disminución de la presión parcial de oxígeno en la sangre arterial, la disminución del contenido de oxígeno y el suministro insuficiente de oxígeno a los tejidos. Esta condición, que se llama hipoxia hipobárica (HH), ocurre principalmente en áreas de elevada altitud y, por lo tanto, también se conoce como hipoxia de elevada altitud.

La hipoxia hipobárica aguda ocurre cuando se alcanza un área con una altitud de más de 2.500 metros. Si uno no puede aclimatarsse a tal cambio ambiental, él o ella puede sufrir sucesivamente cefalea de elevada altitud (HAH) y enfermedad aguda de montaña (AMS). Además, la AMS puede desarrollarse además en edema cerebral de elevada altitud (HACE) y edema pulmonar de elevada altitud (HAPE). Un gran número de informes han demostrado que las características clínicas causadas por males de altura incluyen síntomas neurológicos como dolor de cabeza, polilogia, insomnio, alteraciones en la marcha, capacidad mental disminuida, somnolencia, entumecimiento mental y ataxia.

Las terapias actuales para el mal de altura se centraron principalmente en la mejora del suministro de oxígeno y las citoquinas o respuestas inflamatorias. Un fármaco representativo del primero es la acetazolamida, un inhibidor de la anhidrasa carbónica. Los fármacos a modo de ejemplo de este último incluyen glucocorticoides y algunos antioxidantes (Wright A, Brearey S, Imray C. High hopes at high altitudes: pharmacotherapy for acute mountain sickness and high-altitude cerebral and pulmonary oedema. Expert Opin Pharmacother enero de 2008; 9(1):119-27). No ha habido ningún informe sobre el uso de un agente neuroprotector para el tratamiento de males de altura.

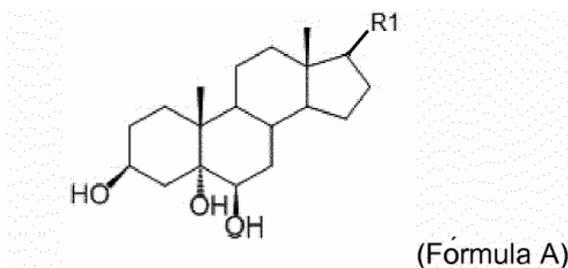
La patente china número ZL 2010 1 0224173.3 de Sun Yat-Sen University desveló un agente neuroprotector recientemente descubierto, 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -triol, que tiene una fórmula de:



Los presentes inventores descubrieron de manera sorpresiva que 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -triol y sus análogos podrían mejorar significativamente las puntuaciones neurológicas en individuos con tratamiento de hipoxia hipobárica y proteger al cerebro de la lesión patológica causada por la hipoxia hipobárica. Estos compuestos son prospectivos para su uso en profilaxis o tratamiento de males de altura causados por hipoxia hipobárica.

**Sumario**

Un objetivo de la presente invención es proporcionar el uso de un compuesto esteroide de 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -trihidroxilo que tenga la fórmula A o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la preparación de una composición farmacéutica para la profilaxis o el tratamiento de un mal de altura causado por hipoxia hipobárica:



en la que R1 es H, un alquilo o alqueno terminal lineal o ramificado que tiene de 1-5 átomos de carbono o  $\text{CH}(\text{CH}_3)(\text{CH}_2)_3\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ .

5 En una realización, R1 es H, y el compuesto es 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -triol (también abreviado como YC-6 en la presente memoria).

En una realización, el mal de altura es un mal agudo de altura causado por hipoxia hipobárica aguda de elevada altura.

10 En otra realización, el mal de altura es un edema cerebral de elevada altitud y particularmente un angioedema cerebral de elevada altitud.

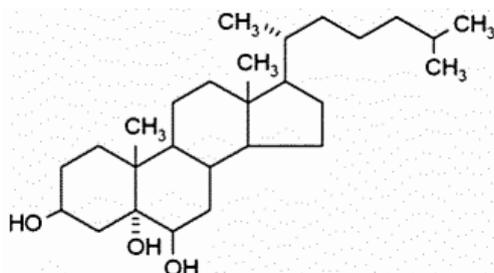
En otra realización, el mal de altura es la lesión neuronal, específicamente la lesión de degeneración neuronal, incluidos las lesiones neuronales causadas por hipoxia hipobárica aguda de elevada altitud e hipoxia hipobárica crónica de elevada altitud.

En otra realización, la composición farmacéutica comprende además un componente adicional para la profilaxis o el tratamiento de un mal de altura causado por hipoxia hipobárica, tal como inhibidores de la anhidrasa carbónica (p. ej., acetazolamida), glucocorticoides o antioxidantes.

20 En la presente invención, un modelo de hipoxia hipobárica de primates no humanos ha demostrado que 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -triol mejora de manera significativa las puntuaciones neurológicas en los grupos de tratamiento de hipoxia hipobárica y protege el cerebro de la lesión patológica causada por la hipoxia hipobárica, lo que indica efectos de profilaxis o tratamiento contra el edema cerebral de elevada altitud (AMS) y el edema pulmonar de elevada altitud (HACE).

Investigaciones adicionales revelan que el aumento del contenido de agua cerebral causado por la hipoxia hipobárica es bloqueado de manera efectiva por 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -triol. El edema cerebral vasogénico y la degeneración vacuolar neuronal causada por la hipoxia hipobárica se reducen por 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -triol por medio de un análisis patológico con microscopía electrónica y tinción con HE.

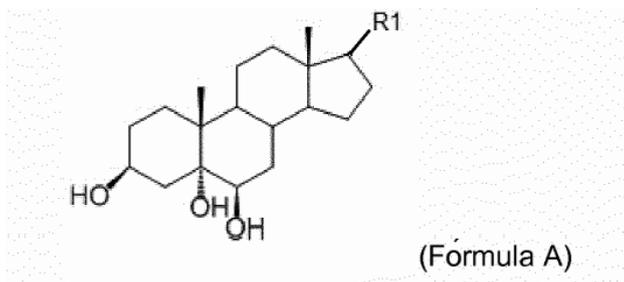
35 En otra realización, R1 es  $-\text{CH}(\text{CH}_3)(\text{CH}_2)_3\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ , por lo que el compuesto es colestano-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triol (Compuesto I). La patente china n.º ZL 200810198703.4 de la Sun Yat-sen University desveló que el Compuesto I también era protector de neuronas. De manera similar, se descubrió que el compuesto también podría reducir de manera efectiva el edema cerebral vasogénico y la degeneración vacuolar neuronal causada por la hipoxia hipobárica. El Compuesto I tiene la fórmula de:



40 La patente china n.º ZL 201110061235.8 desveló los efectos de protección de las neuronas de otros compuestos en la fórmula A. También se halló que estos compuestos fueron eficaces para reducir el edema cerebral vasogénico causado por hipoxia hipobárica, bloqueando el incremento del contenido de agua en el cerebro y protegiéndolo de la degeneración vacuolar neuronal causada por la hipoxia hipobárica.

45 En las realizaciones en las que R1 es  $-\text{CHCH}_2\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$  o  $-\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$ , el compuesto es 17-propilideno-androstano-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triol (Compuesto II), 17-isopropil-androstano-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triol (Compuesto III), o 17-butil-androstano-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triol (Compuesto IV), respectivamente.

Otro objetivo de la presente invención es proporcionar un método para la profilaxis o el tratamiento de un mal de altura causado por hipoxia hipobárica, que comprende administrar a un sujeto en necesidad del mismo una cantidad eficaz de un compuesto esteroide de 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -trihidroxi que tiene la fórmula A o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



en la que R1 es H, un alquilo o alqueniilo terminal lineal o ramificado que tiene de 1-5 átomos de carbono o  $\text{CH}(\text{CH}_3)(\text{CH}_2)_3\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ .

5 En una realización, R1 es H, y el compuesto es 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -triol (también abreviado como YC-6 en la presente memoria). En otra realización, R1 es  $-\text{CH}(\text{CH}_3)(\text{CH}_2)_3\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ , el compuesto es, por lo tanto, colestano-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triol (Compuesto I). En otras realizaciones, R1 es  $-\text{CHCH}_2\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$  o  $-\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$ , el compuesto es 17-propiliden-androstano-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triol (Compuesto II), 17-isopropil-androstano-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triol (Compuesto III), o 17-butil-androstano-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triol (Compuesto IV), respectivamente.

En realizaciones de la invención, el mal de altura se selecciona entre un grupo que consiste en un mal agudo de altura, edema cerebral de elevada altitud, lesión neuronal causado por hipoxia hipobárica aguda y lesión neuronal causado por hipoxia hipobárica crónica.

15 En realizaciones de la invención, el sujeto es un mamífero, por ejemplo un ser humano.

5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -triol y sus análogos pertenecen estructuralmente a los esteroides de 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -trihidroxilo y son eficaces en proteger neuronas. Los presentes inventores descubrieron que esos compuestos eran eficaces en la profilaxis o el tratamiento de un mal de altura causado por hipoxia hipobárica.

### Breve descripción de los dibujos

25 Fig. 1: La puntuación neurológica se mejoró significativamente en *Macaca fascicularis* por 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -triol después de la exposición a hipoxia hipobárica aguda. \*P<0,05, grupo de tratamiento con 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -triol versus control con disolvente.

30 Fig. 2: El edema vasogénico del tejido de la corteza cerebral en *Macaca fascicularis* causado por hipoxia hipobárica aguda se redujo con 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -triol (microscopio electrónico de transmisión, 3900x). Con: control común; H/R+V: control de disolvente; H/R+YC-6: grupo de tratamiento con 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -triol. Las flechas gruesas indican vasos capilares en el tejido cortical del lóbulo frontal y las flechas delgadas indican espacios de Virchow-Robin (VRS).

35 Fig. 3: La degeneración de las neuronas de la corteza cerebral en *Macaca fascicularis* causada por hipoxia hipobárica aguda se redujo con 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -triol (tinción HE, 400x). Con: control común; H/R+V: control de disolvente; H/R+YC-6: grupo de tratamiento con 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -triol. Las flechas indican neuronas sometidas a degeneración.

### Descripción detallada de la invención

40 La presente invención se describirá con más detalle en referencia a ejemplos específicos. Debe entenderse que el alcance de la invención no estará limitado por los ejemplos.

### Verificación del nuevo uso de 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -triol

#### 1. Animales

50 Se usó 17 *Macaca fascicularis* machos sanos, de 6 a 6,5 años de edad, con un peso de 6,8-7,5 kg. El uso de animales de laboratorio está aprobado por el Comité de cuidado y uso de animales de laboratorio y el comité de ética animal experimental. El esquema experimental cumple con las normas relativas a la protección de los animales, el bienestar de los animales y los principios éticos. Los 17 *Macaca fascicularis* se agruparon al azar en 3 grupos (Tabla 1).

Tabla 1. Agrupación de animales

Grupo	Tratamiento
1 (n = 6)	Control común: normoxia normoxárica

Grupo	Tratamiento
2 (n = 5)	Control de disolvente: solución salina de glucosa (simula hipoxia aguda de elevada altitud a 7.500 m de altitud)
3 (n = 6)	Tratamiento con 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -trio: 10 mg/kg de 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -trio (simulan hipoxia aguda de elevada altitud a 7.500 m de altitud)

## 2. Principio de aparatos y parámetros

5 El grupo de cámara de baja presión es una plataforma utilizada para simular entornos de meseta de baja temperatura y baja presión. El sistema puede manipularse para simular un entorno de baja presión con una altitud inferior a 10.000 metros y cualquier temperatura superior a -30 °C. La velocidad ascendente: 3 m/segundo (0 a 6.000 m); velocidad descendente: 2 m/segundo (6.000 m a 7.500 m); temperatura constante: 22 °C; velocidad media de la circulación del aire: 150 m<sup>3</sup>/h.

## 10 3. Modelización de la hipoxia hipobárica aguda en *Macaca fascicularis* y administración de fármacos

(1) Se simuló una altitud de 7.500 metros mediante la manipulación de la cámara de baja presión para causar hipoxia aguda en *Macaca fascicularis*.

15 Los *Macaca fascicularis* criados en el alojamiento de los animales de laboratorio fueron etiquetados y transferidos a la cámara de baja presión. Los *Macaca fascicularis* se alimentaron durante 1 día más en la cámara a fin de adaptarlos al entorno experimental. La presión en la cámara de baja presión se ajustó para simular altitudes de 3.000, 4.500 y 6.000 metros, manteniéndose en cada altitud durante 30 minutos, seguido de una simulación de una altitud de 7.000 metros durante 24 horas. Los animales fueron tratados con fármacos individualmente a dosis predeterminadas. Después del tratamiento a 7.500 metros durante 48 horas, la altitud se redujo a 6.000 metros a una velocidad de 3 m/s. Los animales se sometieron a anestesia con ketamina, se sacrificaron, se diseccionaron y se sometieron a muestreo. Las muestras fueron fijadas. Los animales agrupados en controles comunes se criaron en un alojamiento de animales a una altitud de 350 m antes de la evaluación y posterior sacrificio.

25 (2) A los animales en el grupo de tratamiento con 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -trio se les administró una inyección intravenosa de 10 ml de solución de 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ , de 5,6 $\beta$ -trio en solución salina de glucosa en una dosificación de 10 mg/kg antes de la simulación, después de 30 min a 3.000 metros, y después de 30 min a 4.500 metros, respectivamente. Los animales en el grupo de control con disolvente recibieron 10 ml de solución salina de glucosa a través de inyección intravenosa.

30 (3) A los animales en el grupo de tratamiento con 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -trio se les administró una inyección de músculo esquelético en 5 puntos diferentes con una formulación de liberación sostenida de 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -trio en una dosificación de 30 mg/kg después de 30 min a 6.000 metros. A los modelos de hipoxia aguda de meseta se les administraron 10 ml de solución salina de glucosa mediante inyección intravenosa.

35 (4) A los animales en el grupo de tratamiento con 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -trio se les administró mediante inyección intravenosa 10 ml de inyección de 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ , 5,6 $\beta$ -trio en solución salina de glucosa en una dosificación de 10 mg/kg después de 24 horas a 7.500 metros, y además por medio de una inyección de músculo esquelético en 5 puntos diferentes con formulación de liberación sostenida de 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -trio en una dosificación de 30 mg/kg. A los modelos de hipoxia aguda de meseta se les administraron 10 ml de solución salina de glucosa mediante inyección intravenosa.

## 4. Índice de evaluación

### 45 4.1 Puntuaciones neurológicas

Los animales se mantuvieron a una altitud simulada de 7.500 metros durante 24 horas antes de descender a 6.000 metros a una velocidad de 3 m/s. Las puntuaciones neurológicas se evaluaron y registraron de acuerdo con un método notificado (Zhu *et al*, An improved method of neurological score for non-human primates, Chinese Journal of Comparative Medicine, 2011, 21(9):58-62). La puntuación neurológica fue evaluada y registrada por dos observadores entrenados que no estaban al tanto de la agrupación ni participaban en la administración del fármaco. La puntuación se obtuvo como valor medio.

### 55 4.2 Medición del contenido de agua en el cerebro del hemisferio izquierdo

El contenido de agua en el cerebro se midió de acuerdo con un método notificado (Patir H, Sarada SK, Singh S, Mathew T, Singh B, Bansal A. Quercetin as a prophylactic measure against high altitude cerebral edema. Free Radic Biol Med, 15 de agosto de 2012; 53(4):659-68). Los animales se mantuvieron a una altitud simulada de 7.500 metros durante 48 horas en la cámara de baja presión y los animales del control común fueron narcotizados y sacrificados por técnicos que no estaban al tanto del grupo ni participaban en la administración del fármaco. Se extrajeron

rápidamente los cerebros de los animales y se midieron los pesos en húmedo de los hemisferios izquierdos. Los hemisferios izquierdos se colocaron luego en un horno de secado a 60 °C, y se midieron sus pesos diariamente a una hora fija hasta que no se observó cambio de peso alguno. Los pesos finales fueron registrados. El contenido de agua en el cerebro = (peso en húmedo del hemisferio izquierdo - peso en seco del hemisferio izquierdo)/peso en húmedo del hemisferio izquierdo x 100 %.

#### 4.3 Microscopía electrónica de transmisión del tejido cortical del lóbulo frontal

Los tejidos corticales de los lóbulos frontales de los animales se extrajeron y cortaron para proporcionar pedazos cerebrales de 1 mm<sup>3</sup>, que se fijaron en un líquido estacionario de glutaraldehído al 2,5 % para preparar secciones ultrafinas. La morfología de las neuronas y la estructura de los vasos sanguíneos se observaron por microscopía electrónica de transmisión.

#### 4.4 Tinción con HE del tejido cortical del lóbulo frontal

Los tejidos corticales de los lóbulos frontales de los animales se extrajeron y cortaron para proporcionar bloques de 1 cm<sup>3</sup>, que se fijaron en paraformaldehído al 4 %. La inclusión en parafina, el corte y la tinción con hematoxilina-eosina se llevaron a cabo de acuerdo con los procedimientos de tinción convencionales con HE, seguidos de la observación con microscopio.

#### 4.5 Estadística

Los resultados se indicaron como media  $\pm$  desviación típica y se analizaron estadísticamente mediante el software SigmaPlot. P <0,05 indica significancia estadística.

Los resultados demostraron que la función neurológica de *Macaca fascicularis* en un entorno de hipoxia hipobárica estaba significativamente protegida por 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -triol. Los animales que permanecieron a una altitud simulada de 6.000 metros durante 30 minutos en la cámara de baja presión redujeron significativamente sus acciones y actividades, y también sus reacciones ante la intimidación y el estímulo. Después de ascender la altitud simulada a 7.500 metros durante 24 horas, los *Macaca fascicularis* en el control de disolventes mostraron una inhibición significativa de la conciencia, acciones y actividades muy reducidas y disfunción en su sistema de movimiento y sistema de detección, con una puntuación neurológica de 31,6  $\pm$  4,2. Por el contrario, la puntuación neurológica de los animales en el grupo de tratamiento con 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -triol fue de 20,5  $\pm$  5,7 (P <0,01), lo que indica que su función neurológica estaba protegida de manera efectiva (Fig. 1).

El aumento del contenido de agua en el cerebro de *Macaca fascicularis* en un entorno de hipoxia hipobárica se redujo significativamente con 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -triol. Como se mostró por el contenido de agua en el cerebro calculado, el contenido de agua en el cerebro de *Macaca fascicularis* en el control común fue de 76,155 %. Por el contrario, después del tratamiento en la altitud simulada de 7.500 metros durante 48 horas en la cámara de baja presión, el contenido de agua en el cerebro de *Macaca fascicularis* en el control de disolvente se incrementó a 76,714 % (P <0,05). En una situación en la que se administró 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -triol antes de ascender a 7.500 metros y se administró 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -triol de nuevo después de mantenerse a 7.500 metros durante 24 horas, el contenido de agua en el cerebro de *Macaca fascicularis* se redujo a 76,283 % (P <0,05), lo que demuestra que la administración de 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -triol puede inhibir el aumento del contenido de agua en el cerebro de *Macaca fascicularis* en un entorno de hipoxia hipobárica aguda (Tabla 2).

Tabla 2. Influencia de 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -triol en el contenido de agua en el cerebro de *Macaca fascicularis* en un entorno de hipoxia hipobárica

Grupo	Contenido de agua en el cerebro (%)
Control común	76,155 $\pm$ 0,302
Control de disolvente	76,714 $\pm$ 0,262
Tratamiento con 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -triol	76,283 $\pm$ 0,235 #

#: Comparado con control común, P <0,05;  
\* Comparado con el control de disolvente, P <0,05.

El edema vasogénico causado por hipoxia hipobárica se redujo con 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -triol. Como se observó en el microscopio electrónico de transmisión, los vasos capilares en el tejido cortical del lóbulo frontal de *Macaca fascicularis* en el control de disolventes mostraron un espacio Virchow-Robin (VRS) significativamente ensanchado en su exterior en comparación con el control común, lo que indica una grave pérdida de edema vasogénico. Sin embargo, el tejido cerebral de *Macaca fascicularis* tratados con 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -triol mostró un espacio de Virchow-Robin que tiende a ser normal, lo que indica que no se produjo un edema vasogénico significativo (Fig. 2).

La degeneración vacuolar neuronal causada por la hipoxia hipobárica se redujo con 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -triol. Como se observó después de la tinción con HE, el tejido cortical del lóbulo frontal en el control del disolvente mostró una estructura significativamente relajada, con un líquido edematoso alrededor del vaso y que oprime el lumen, y

también mostró una degeneración neuronal en parte con somas contraídas y núcleo picnótico, lo que indica una degeneración vacuolar (indicada por flechas). El grupo de tratamiento con 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -triol no mostró edema vasogénico significativo, y redujo la degeneración vacuolar neuronal similar al control común, lo que demuestra que 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -triol protegió las neuronas en el entorno de hipoxia hipobárica (Fig. 3).

5

### **Composición farmacéutica**

En las realizaciones se usaron inyecciones y suspensiones de liberación sostenida de 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -triol. Sin embargo, las preparaciones para la profilaxis o el tratamiento de los males de altura causados por la hipoxia hipobárica incluyen, entre otros, inyecciones, suspensiones de liberación sostenida, cápsulas orales, supositorios, implantes subdérmicos y emplastos que se pueden unir.

10

(1) Preparación de la inyección de 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -triol (YC-6)

15 Preparación de solución de HP- $\beta$ -CD al 20 %: se agregaron 20,0 g de HP- $\beta$ -CD con 80 ml de solución salina normal, y luego se agitó para disolver. Se añadió solución salina normal para proporcionar una solución de 100 ml. La solución se sometió a filtración refinada con una membrana microporosa de 0,22  $\mu$ m y luego se llenó por separado en tubos de centrifuga de 15 ml que acto seguido se sellaron y almacenaron a 4 °C.

20 Preparación de 2 mg/ml de solución de YC-6: Se agregaron 6,0 g de HP- $\beta$ -CD con 24 ml de agua desionizada y luego se agitó para disolver. Se añadieron 0,060 g de YC-6 a la solución de HP- $\beta$ -CD anterior, que luego se agitó para disolver. Se agregaron 0,270 g de cloruro de sodio y luego se agitó para disolver. Se añadió agua desionizada para proporcionar una solución de 30 ml. La solución se sometió a filtración refinada con una membrana microporosa de 0,22  $\mu$ m y luego se llenó por separado en tubos Eppendorf de 1,5 ml que posteriormente se sellaron y almacenaron a 4 °C para su uso posterior. La dosificación de administración en uso para la solución es de 10 ml/kg, lo que equivale a una dosificación de 20 mg/kg para el fármaco.

25

(2) Preparación de suspensiones de liberación sostenida de 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -triol (YC-6)

30 Las suspensiones de liberación sostenida se prepararon con: 12,5 g de YC-6, 30 ml de glicerina, 50 g de HP- $\beta$ -CD, 0,48 g de CMC-Na, que se agregaron con agua para una inyección de 250 ml.

Preparación de 0,8 % de solución de CMC-Na: Se agregaron 0,8 g de CMC-Na en 90 ml de agua a 90 °C varias veces, con agitación hasta que se agregó y disolvió por completo. La solución se dejó enfriar a temperatura ambiente y luego se añadió agua para proporcionar una solución de 100 ml. La solución se agitó después y se sometió a centrifugación a 3000 rpm durante 15 min. El sobrenadante se separó para su uso posterior.

35

Preparación de solución de HP- $\beta$ -CD al 40 %: Se agregaron 80 g de HP- $\beta$ -CD en aproximadamente 100 ml de agua, que luego se agitó y se disolvió. Se añadió agua para proporcionar una solución de 200 ml para su uso posterior.

40

Aproximadamente 12,5 g de YC-6 se colocaron en un recipiente a moler. Se agregaron 30 ml de glicerina y la mezcla se molió para proporcionar un lubricante blanco como una pasta. Se añadieron gradualmente 125 ml de solución acuosa de HP- $\beta$ -CD al 40 % mientras se molía. Se agregaron 60 ml de 0,8 % de CMC-Na mientras se trituraba para evitar la generación de demasiadas burbujas. La reacción se transfirió a un matraz volumétrico que se llenó con agua para inyección para proporcionar una solución de 250 ml, seguido de agitación.

45

### **Verificación del nuevo uso de análogos de 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -triol**

Los experimentos anteriores para el modelo de *Macaca fascicularis* en hipoxia hipobárica aguda se repitieron en las mismas condiciones, excepto que el YC-6 se reemplazó con los compuestos anteriores I, II, III y IV. Como lo demuestran los resultados, de manera similar, la función neurológica de *Macaca fascicularis* tratados con los compuestos II, III y IV se protegió eficazmente, con un aumento inhibido del contenido de agua en el cerebro y sin angioedema significativo. Se puede apreciar que los análogos de 5 $\alpha$ -androstano-3 $\beta$ ,5,6 $\beta$ -triol, especialmente el compuesto I y el compuesto que tiene la fórmula A, especialmente los compuestos II, III y IV, son útiles en la profilaxis o el tratamiento de los males de altura causados por hipoxia hipobárica.

50

55

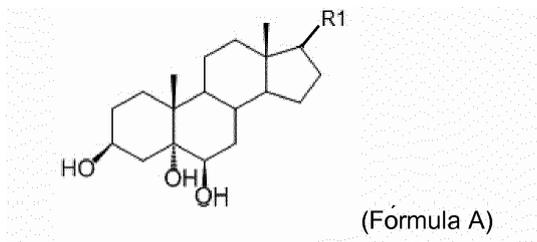
Queda entenderse que los ejemplos anteriores son simplemente realizaciones preferibles de la presente invención, y el alcance de la invención no estará limitado por los ejemplos. Un experto en la materia puede realizar variaciones o modificaciones basadas en la divulgación de la presente invención sin apartarse del alcance de las reivindicaciones.

60

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto esteroide de 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -trihidroxiolo que tiene la fórmula A o una sale farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en la profilaxis o el tratamiento de un mal de altura causado por hipoxia hipobárica:

5



en la que R1 es H, un alquilo alqueniolo terminal lineal o ramificado que tiene de 1 a 5 átomos de carbono, o CH(CH<sub>3</sub>)(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.

10

2. El compuesto esteroide de 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -trihidroxiolo que tiene la fórmula A o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso de la reivindicación 1, en el que R1 es H.

3. El compuesto esteroide de 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -trihidroxiolo que tiene la fórmula A o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso de la reivindicación 1, en el que R1 se selecciona entre un grupo que consiste en -CHCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -CH(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub> y -CH(CH<sub>3</sub>)(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.

15

4. El compuesto esteroide de 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -trihidroxiolo que tiene la fórmula A o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso de la reivindicación 1, en el que el mal de altura es un mal de altura agudo.

20

5. El compuesto esteroide de 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -trihidroxiolo que tiene la fórmula A o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso de la reivindicación 1, en el que la afección del mal de altura comprende un edema cerebral de elevada altitud.

25

6. El uso de la reivindicación 5, en el que el edema cerebral de elevada altitud es un edema vasogénico.

7. El compuesto esteroide de 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -trihidroxiolo que tiene la fórmula A o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso de la reivindicación 1, en el que la afección del mal de altura comprende lesión neuronal.

30

8. El compuesto esteroide de 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -trihidroxiolo que tiene la fórmula A o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso de la reivindicación 7, en el que la lesión neuronal es causada por hipoxia hipobárica aguda de elevada altitud.

35

9. El compuesto esteroide de 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -trihidroxiolo que tiene la fórmula A o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso de la reivindicación 7, en el que la lesión neuronal es causada por hipoxia hipobárica crónica de elevada altitud.

40

10. El compuesto esteroide de 3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -trihidroxiolo que tiene la fórmula A o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso de la reivindicación 1, en el que la composición farmacéutica comprende además un componente adicional para la profilaxis o el tratamiento de un mal de altura causado por hipoxia hipobárica.

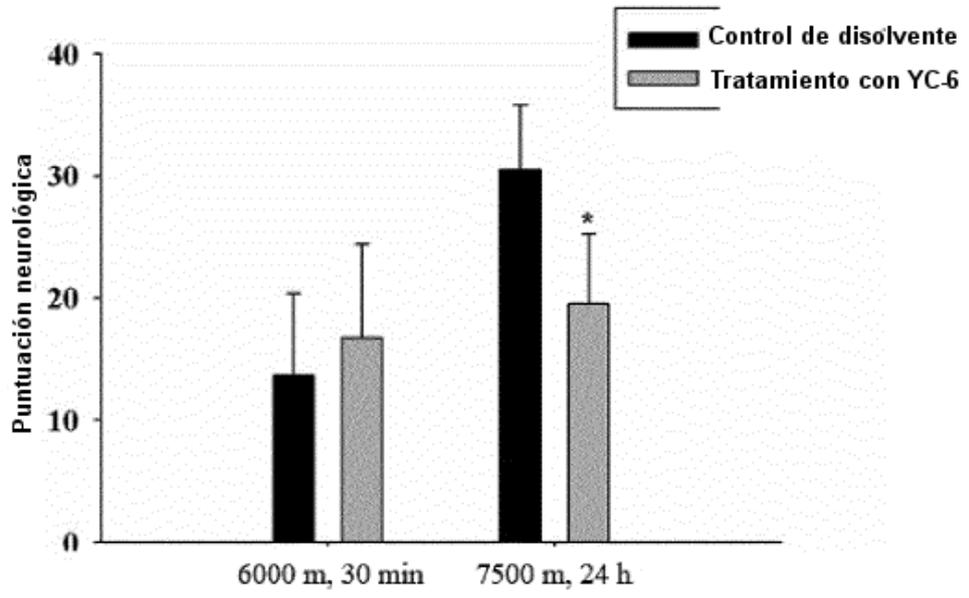


Fig. 1

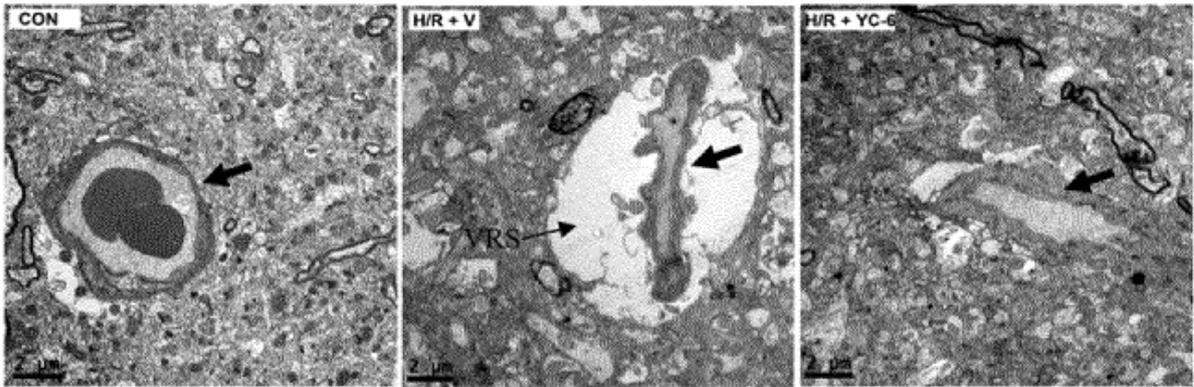


Fig. 2

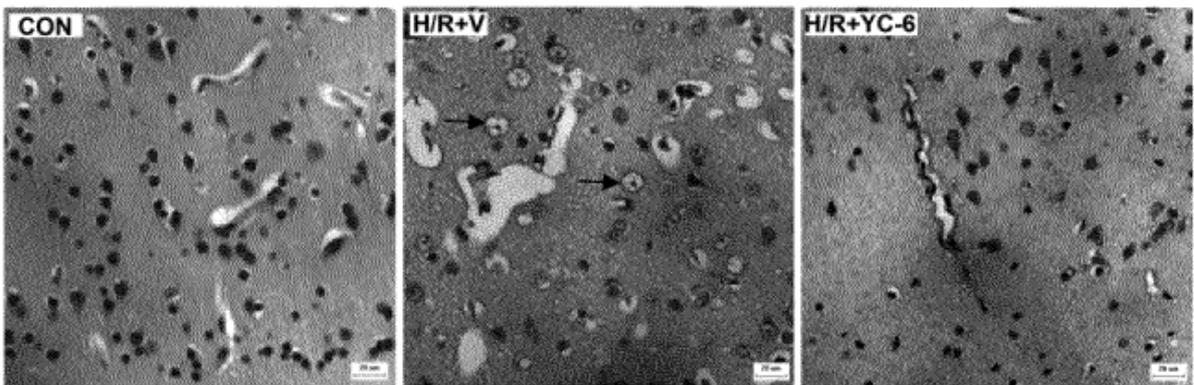


Fig. 3