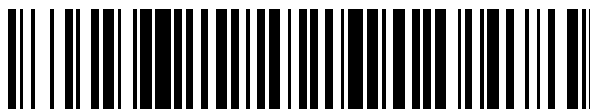


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 721 001**

51 Int. Cl.:

A61K 31/404 (2006.01)

A61K 31/405 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

C07D 491/048 (2006.01)

C07D 209/44 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.01.2015** **PCT/US2015/013754**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.08.2015** **WO15116923**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.01.2015** **E 15743281 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.01.2019** **EP 3099296**

54 Título: **Derivado de isoindolina, y composiciones y métodos para tratar una enfermedad neurodegenerativa**

30 Prioridad:

31.01.2014 US 201461934528 P

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

26.07.2019

73 Titular/es:

COGNITION THERAPEUTICS, INC. (100.0%)
2403 Sidney Street, Suite 261
Pittsburgh, PA 15203, US

72 Inventor/es:

RISHTON, GILBERT;
CATALANO, SUSAN, M. y
LOOK, GARY, C.

74 Agente/Representante:

MIR PLAJA, Mireia

ES 2 721 001 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 isoindolina, y composiciones y métodos para tratar una enfermedad neurodegenerativa

5 Descripción

[0001] Esta solicitud se está presentando como solicitud internacional PCT el 30 de enero de 2015, y reivindica el beneficio de prioridad con respecto a la solicitud provisional de Estados Unidos n.º 61/934.528, presentada el 31 de enero de 2014.

10

Campo técnico

15

[0002] Se proporcionan compuestos novedosos de isoindolina que se unen al receptor sigma-2, composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos, y métodos para inhibir o restablecer la pérdida de sinapsis en células neuronales, modular un cambio del tráfico de membrana en células neuronales, y tratar un declive cognitivo y enfermedades y trastornos neurodegenerativos.

Antecedentes

20

[0003] Existen solamente cinco medicaciones aprobadas actualmente por la FDA para el tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer (AD). Cuatro de ellas son inhibidores de la colinesterasa: tacrina (COGNEX®; Sciele), donepezilo (ARICEPT®; Pfizer), rivastigmina (EXELON®; Novartis), y galantamina (RAZADYNE®; Ortho-McNeil-Janssen). El donepezilo, la rivastigmina y la galantamina son sucesores con respecto a la tacrina, un compuesto de primera generación raramente recetado debido al potencial de hepatotoxicidad; los mismos son aproximadamente igual de eficaces a la hora de proporcionar una mejora sintomática de la cognición y la función en todos los estadios de la AD. La quinta medicación aprobada es la memantina (NAMENDA®; Forest), un antagonista del receptor N-metil-D-aspartato del glutamato, dependiente del uso y de baja afinidad, que ofrece beneficios similares, pero solamente en la AD de moderada a severa. Los efectos clínicos de estos compuestos son reducidos y temporales, y los datos disponibles en la actualidad no son concluyentes a la hora de apoyar su uso como agentes modificadores de la enfermedad. Véase, por ejemplo, de Kerchner et al, 2010, *Bapineuzumab*, Expert Opin Biol Ther., 10(7):1121-1130. Claramente, se requieren planteamientos alternativos para el tratamiento de la AD.

25

30

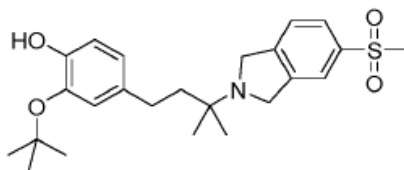
[0004] Se proporcionan ciertos compuestos de isoindolina que actúan como antagonistas funcionales del receptor sigma-2 e inhiben los efectos nocivos de oligómeros de Aβ solubles. En algunas realizaciones, se usan compuestos y composiciones de isoindolina antagonistas del receptor sigma-2 para tratar o prevenir una disfunción sináptica en un sujeto.

35

Sumario

40

[0005] El alcance de la presente invención queda definido por las reivindicaciones adjuntas, las cuales se refieren (i) a un compuesto de fórmula



45

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, (ii) a una composición que comprende un compuesto de la fórmula anterior o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable, (iii) a un compuesto de la fórmula anterior, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en un método de tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, preferentemente en donde la sal farmacéuticamente aceptable se selecciona del grupo consistente en sales clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, nitrato, sulfato, bisulfato, fosfato, fosfato ácido, isonicotinato, acetato, lactato, salicilato, citrato, tartrato, pantotenato, bitartrato, ascorbato, succinato, maleato, gentisinato, fumarato, gluconato, glucaronato, sacarato, formiato, benzoato, glutamato, metanosulfonato, etanosulfonato, bencenosulfonato, p-toluensulfonato y pamoato, y (iv) a una composición para su uso en un método de inhibición del declive cognitivo en un sujeto que presenta, o se encuentra en riesgo de presentar, declive cognitivo, que comprende inhibir un efecto de beta amiloide en una célula neuronal, que comprende un compuesto de la fórmula anterior o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable, en donde el compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se encuentra en una cantidad eficaz para inhibir la unión de oligómeros de beta amiloide en dicha célula, preferentemente en donde el declive cognitivo está asociado a un efecto de oligómeros de beta amiloide en neuronas centrales, o para su uso en un método de tratamiento de un deterioro cognitivo leve en la enfermedad de Alzheimer. El compuesto de la fórmula anterior se corresponde con el Compuesto de Ejemplos 62 de la

50

55

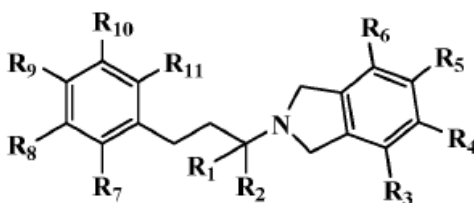
presente exposición. La descripción más genérica de la invención y la exposición de la sección Ejemplos en relación con otros Compuestos de Ejemplo se proporciona con fines ilustrativos.

[0006] Se proporcionan compuestos novedosos de isoindolina que se unen al receptor sigma-2, composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos, y método para inhibir o restablecer una pérdida de sinapsis en células neuronales, modular o un cambio del tráfico de membrana en células neuronales, y tratar un declive cognitivo y enfermedades y trastornos neurodegenerativos.

[0007] En algunas realizaciones, compuestos de isoindolina y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos de acuerdo con la Fórmula I y/o la Fórmula II, o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas, presentan actividad antagonista para el receptor sigma-2, y también presentan otros aspectos de un fenotipo terapéutico particular, y, por lo tanto, inhiben efectos nocivos de péptidos y oligómeros de beta-amiloide ("Abeta", "Aβ") solubles y otras especies solubles de los mismos en células neuronales, según se define posteriormente, y, consecuentemente, se pueden usar para tratar afecciones, incluyendo enfermedades y trastornos, asociadas a una patología inducida por oligómeros de Abeta, tales como la enfermedad de Alzheimer.

[0008] Los oligómeros de Abeta solubles se comportan como ligandos farmacológicos reversibles que se unen a receptores específicos e interfieren con vías de señalización críticas para una plasticidad sináptica normal, dando como resultado finalmente una pérdida de espinas y sinapsis. Se ha descubierto que los compuestos de isoindolina según la Fórmula I, según se proporciona en la presente, que se unen al receptor sigma-2 y que se comportan como antagonistas neuronales funcionales son competidores farmacológicos con los oligómeros de Abeta. Por lo tanto, los compuestos de isoindolina antagonistas del sigma-2, según se describe en la presente, pueden reducir o prevenir efectos de los oligómeros de Abeta, tales como una toxicidad celular inducida por Abeta. Se excluyen ciertos compuestos de la técnica anterior. Se proporcionan también métodos para inhibir efectos de oligómeros de Abeta u otras especies de Abeta solubles en una célula neuronal y, de manera más general, patologías beta amiloides, que comprenden hacer entrar en contacto la célula con un antagonista del sigma-2 de acuerdo con la Fórmula I y/o Fórmula II, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas realizaciones, se proporcionan métodos para tratar los primeros estadios de la enfermedad de Alzheimer, que comprenden administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista funcional del sigma-2 de acuerdo con la Fórmula I y/o la Fórmula II, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

[0009] En una realización, se proporciona un compuesto aislado, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de acuerdo con la Fórmula I:



I

en donde:

R₁ y R₂ se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H, alquilo C₁-C₆, o CH₂OR'; en donde R' = H ó alquilo C₁-C₆;

R₃, R₄, R₅ y R₆ se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H, alquilo C₁-C₆, OH, OCH₃, OCH(CH₃)₂, OCH₂CH(CH₃)₂, OC(CH₃)₃, O(alquilo C₁-C₆), OCF₃, OCH₂CH₂OH, O(alquilo C₁-C₆)OH, O(haloalquilo C₁-C₆), F, Cl, Br, I, CF₃, CN, NO₂, NH₂, haloalquilo C₁-C₆, hidroxialquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆ alquilo C₁-6, arilo, heteroarilo, cicloalquilo C₃-7, heterocicloalquilo, alquilarilo, heteroarilo, CO₂R', C(O)R', NH(alquilo C₁-4), N(alquilo C₁-4)₂, NH(cicloalquilo C₃-7), NHC(O)(alquilo C₁-4), CONR'₂, NC(O)R', NS(O)_nR', S(O)_nNR'₂, S(O)_nR', C(O)O(alquilo C₁-4), OC(O)N(R')₂, C(O)(alquilo C₁-4), y C(O)NH(alquilo C₁-4); donde n=0, 1 ó 2; R' son independientemente, cada uno de ellos, H, CH₃, CH₂CH₃, alquilo C₃-C₆, haloalquilo C₁-C₆; o arilo, alquilarilo, piperacín-1-ilo, piperidin-1-ilo, morfolinilo, heterocicloalquilo, heteroarilo, alcoxi C₁-6, NH(alquilo C₁-4), o NH(alquilo C₁-4)₂ opcionalmente sustituido, en donde el grupo opcionalmente sustituido se selecciona de alquilo C₁-C₆ o acilo C₂-7;

o R₃ y R₄, junto con el átomo de C al cual están unidos, forman un cicloalquilo, arilo, heteroarilo o heterocicloalquilo de 4, 5, 6, 7 u 8 miembros, que está sustituido opcionalmente con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de OH, amino, halo, alquilo C₁-6, haloalquilo C₁-6, alcoxi C₁-6, haloalcoxi C₁-6, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloalquilo y heterocicloalquilo, y R₃ y R₄ ó R₃ y R₄ se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de un enlace, C, N, S y O; ó R₃ y R₄ se enlazan juntos para formar un grupo -O-C₁₋₂ metileno-O-;

o R_4 y R_5 , junto con el átomo de C al que están unidos, forman un cicloalquilo, arilo, heteroarilo o heterocicloalquilo de 4, 5, 6, 7 u 8 miembros que está opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de OH, amino, halo, alquilo C_{1-6} , haloalquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , haloalcoxi C_{1-6} , arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloalquilo, y heterocicloalquilo, y R^3 y R^4 ó R^4 y R^5 se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de un enlace, C, N, S, y O; ó R^4 y R_5 están enlazados juntos para formar un grupo -O- C_{1-2} metileno-O;

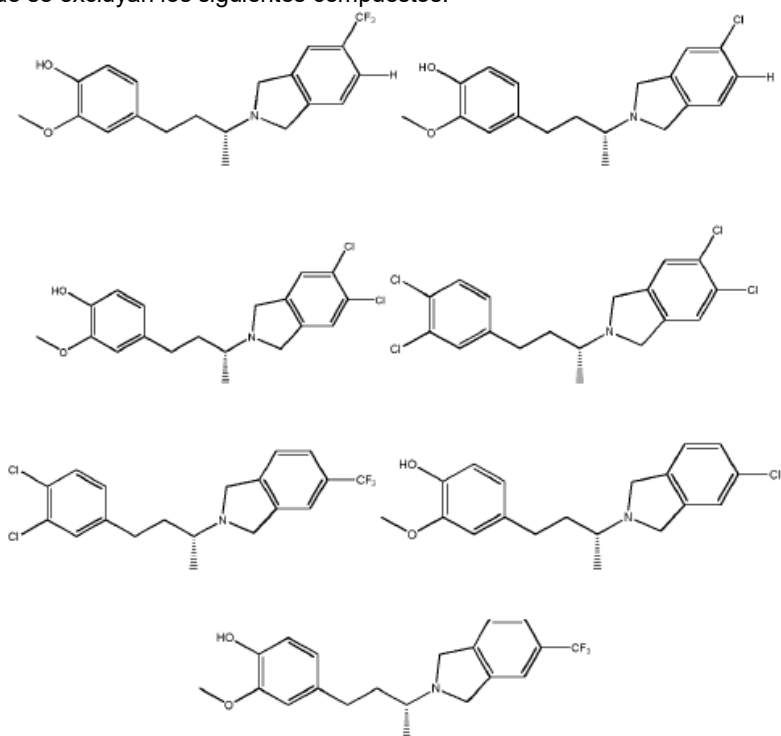
R_7 , R_8 , R_9 , R_{10} , y R_{11} se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H, alquilo C_{1-6} , OH, OCH_3 , $OCH(CH_3)_2$, $OCH_2CH(CH_3)_2$, $OC(CH_3)_3$, O(alquilo C_{1-6}), OCF_3 , OCH_2CH_2OH , O(alquilo C_{1-6})OH, O(haloalquilo C_{1-6}), $O(CO)R'$, F, Cl, Br, I, CF_3 , CN, NO_2 , NH_2 , haloalquilo C_{1-6} , hidroxialquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , alquilo C_{1-6} , arilo, heteroarilo, cicloalquilo C_{3-7} , heterocicloalquilo, alquilarilo, heteroarilo, CO_2R' , $C(O)R'$, NH (alquilo C_{1-4}), N (alquilo $C_{1-4})_2$, NH (cicloalquilo C_{3-7}), $NHC(O)$ (alquilo C_{1-4}), $CONR'_2$, $NC(O)R'$, $NS(O)_nR'$, $S(O)_nNR'_2$, $S(O)_nR'$, $C(O)O$ (alquilo C_{1-4}), $OC(O)N(R')_2$, $C(O)$ (alquilo C_{1-4}) y $C(O)NH$ (alquilo C_{1-4}); donde $n=0, 1$ ó 2 ; R' son independientemente, cada uno de ellos, H, CH_3 , CH_2CH_3 , alquilo C_{3-6} , haloalquilo C_{1-6} , arilo, alquilarilo, piperacín-1-ilo, piperidín-1-ilo, morfolínilo, heterocicloalquilo, heteroarilo, alcoxi C_{1-6} , NH (alquilo C_{1-4}), o NH (alquilo $C_{1-4})_2$;

o R_7 y R_8 , junto con los átomos de N ó C a los que están unidos forman un grupo cicloalquilo, arilo, heterocicloalquilo, o heteroarilo de 4, 5, 6, 7 u 8 miembros que está sustituido opcionalmente con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de OH, amino, halo, alquilo C_{1-6} , haloalquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , haloalcoxi C_{1-6} , arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloalquilo y heterocicloalquilo, y R^9 y R^{10} se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de un enlace, C, N, S y O; ó R_7 y R_8 están enlazados juntos para formar un grupo -O- C_{1-2} metileno-O;

o R_8 y R_9 , junto con los átomos de N ó C a los que están unidos forman un grupo cicloalquilo, arilo, heterocicloalquilo, o heteroarilo de 4, 5, 6, 7 u 8 miembros que está sustituido opcionalmente con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de OH, amino, halo, alquilo C_{1-6} , haloalquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , haloalcoxi C_{1-6} , arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloalquilo y heterocicloalquilo, y R^9 y R^{10} se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de un enlace, C, N, S y O; ó R_8 y R_9 están enlazados juntos para formar un grupo -O- C_{1-2} metileno-O;

en donde cada uno del O, alquilo C_{1-6} , haloalquilo C_{1-6} , heteroarilo, arilo, heteroarilo, heterocicloalquilo y cicloalquilo está sustituido independientemente de manera opcional con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de OH, amino, halo, alquilo C_{1-6} , haloalquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , haloalcoxi C_{1-6} , arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloalquilo y heterocicloalquilo;

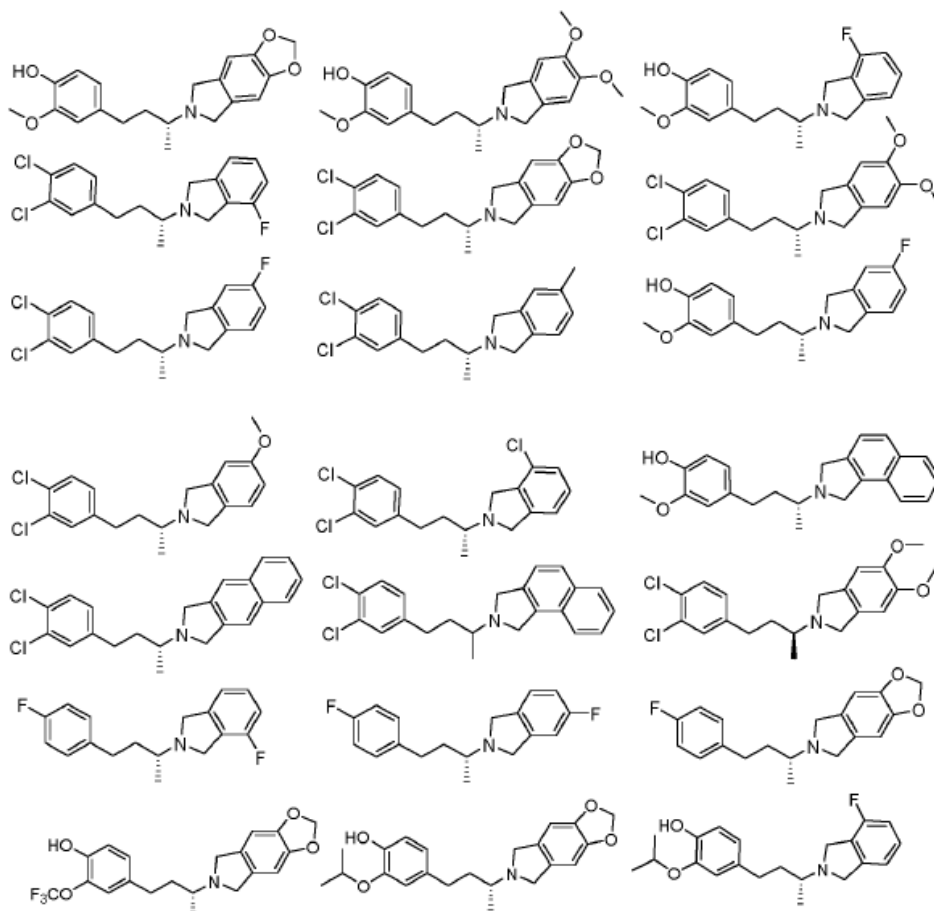
con la condición de que se excluyan los siguientes compuestos:

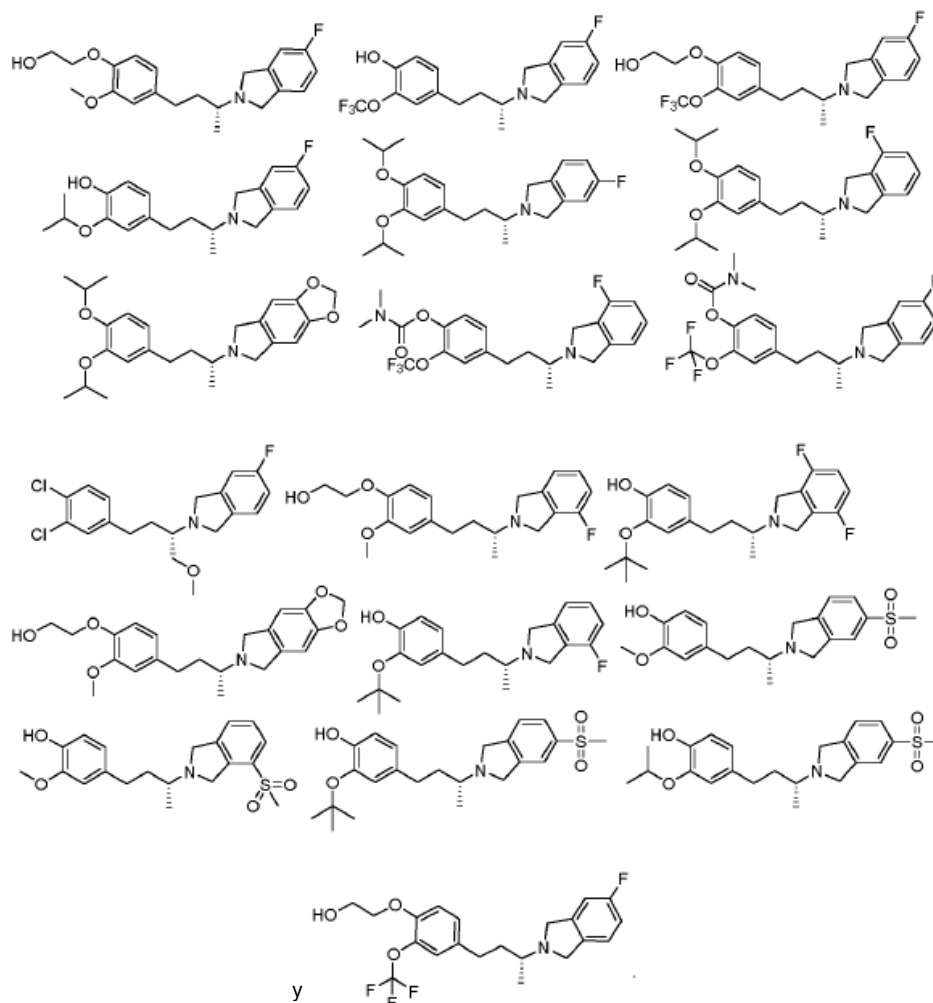


[0010] En otra realización, se proporciona un compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de acuerdo con la Fórmula I, en donde R_1 y R_2 se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H ó CH_3 ; R_3 , R_4 , R_5 y R_6 se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H, alquilo C_1-C_6 , OH, OCH_3 , O(alquilo C_1-C_6), O(haloalquilo C_1-C_6), F, Cl, CF_3 , arilo, heteroarilo, cicloalquilo C_{3-7} , CO_2R , $C(O)R'$, $OC(O)N(R')_2$, $CONR'_2$, $NC(O)R'$, $NS(O)_nR'$, $S(O)_nNR'_2$, $S(O)_nR'$; donde $n=0, 1, \text{ ó } 2$; R' son independientemente, cada uno de ellos, H, CH_3 , CH_2CH_3 , alquilo C_3-C_6 , haloalquilo C_1-C_6 ; o piperacín-1-ilo, piperidin-1-ilo, morfolinilo, heterocicloalquilo o arilo opcionalmente sustituido, en donde el grupo opcionalmente sustituido se selecciona de alquilo C_1-C_6 o acilo C_2-C_7 ; o R_3 y R_4 , junto con el átomo de C al que están unidos, forman un arilo, o cicloalquilo C_{3-7} de 5 ó 6 miembros; o R_4 y R_5 , junto con el átomo de C al que están unidos, forman un cicloalquilo C_{3-7} , o un arilo de 5 ó 6 miembros; o R_3 y R_4 están enlazados juntos para formar un grupo $-O-C_{1-2}$ metileno-O-; o R_4 y R_5 están enlazados juntos para formar un grupo $-O-C_{1-2}$ metileno-O-; y R_7 , R_8 , R_9 , R_{10} y R_{11} se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H, OH, CH_3 , CH_2CH_3 , F, Cl, CF_3 , OCF_3 , haloalquilo C_1-C_6 , OCH_3 , O(alquilo C_1-C_6), OC_2CH_2OH , O(alquilo C_1-C_6)OH, arilo, heteroarilo, cicloalquilo C_{3-7} , alquilarilo, CO_2R' , $CONR'_2$, $S(O)_nNR'_2$, $S(O)_nR'$, $C(O)O$ (alquilo C_{1-4}), $OC(O)N(R')_2$, y $C(O)NH$ (alquilo C_{1-4}); donde $n=0, 1 \text{ ó } 2$; R' son independientemente, cada uno de ellos, H, alquilo C_1-C_6 , haloalquilo C_1-C_6 , arilo, alquilarilo o alcoxi C_{1-6} .

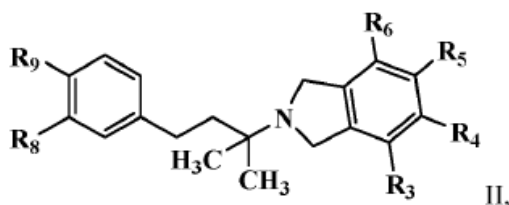
[0011] En otra realización, se proporciona un compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de acuerdo con la Fórmula I, en donde R_7 , R_{10} , R_{11} son, cada uno de ellos, H; R_3 y R_4 se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H, F, Cl, $S(O)_nR'$, $C(O)R'$, en donde $n=2$, y R' se selecciona de CH_3 , piperacín-1-ilo, piperidin-1-ilo, morfolinilo; R_8 se selecciona de OH, OCH_3 , $OCH(CH_3)_2$, $OCH_2CH(CH_3)_2$ u $OC(CH_3)_3$, y R_9 es OH.

[0012] En otra realización, se proporciona un compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, seleccionado del grupo consistente en:





5 **[0013]** En otra realización, se proporciona un compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de acuerdo con la Fórmula II:



10 en donde R_3 , R_4 , R_5 y R_6 se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H, Cl, F, OH, CH_3 , alquilo C_{1-6} , OCH_3 , $OCH(CH_3)_2$, $OCH_2CH(CH_3)_2$, $OC(CH_3)_3$, alquilo OC_{1-6} , arilo, heteroarilo, heterocicloalquilo, CO_2R' , $CONR'_2$, $NC(O)R'$, $NS(O)_nR'$, $S(O)_nNR'_2$, $S(O)_nR'$, $C(O)R'$, $OC(O)N(R')_2$, o $C(O)NH$ (alquilo C_{1-4}), en donde $n=0, 1$ ó 2 ; y R' son independientemente, cada uno de ellos, H, alquilo C_1-C_6 , haloalquilo C_1-C_6 ; o arilo, alquilarilo, piperidin-1-ilo, piperidin-1-ilo, morfolinilo, heterocicloalquilo, heteroarilo, alcoxi C_{1-6} , NH (alquilo C_{1-4}) o NH (alquilo C_{1-4})₂ sustituido opcionalmente, en donde el grupo sustituido opcionalmente se selecciona de alquilo C_1-C_6 o acilo C_2-C_7 ;

15 ó R_3 y R_4 , junto con el átomo de C al que están unidos, forman un arilo de 6 miembros; ó R_3 y R_4 están enlazados juntos para formar un grupo -O- C_{1-2} metileno-O-; ó R_4 y R_5 , junto con el átomo de C al que están unidos, forman un arilo de 6 miembros; ó R_4 y R_5 están enlazados juntos para formar un grupo -O- C_{1-2} metileno-O-; y

20 R_8 y R_9 se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H, Cl, F, OH, CH_3 , alquilo C_{1-6} , OCH_3 , $OCH(CH_3)_2$, $OCH_2CH(CH_3)_2$, $OC(CH_3)_3$, $O(CO)R'$, alquilo OC_{1-6} , arilo, heteroarilo, heterocicloalquilo, CO_2R' , $CONR'_2$, $NC(O)R'$, $NS(O)_nR'$, $S(O)_nNR'_2$, $S(O)_nR'$, $OC(O)N(R')_2$, o $C(O)NH$ (alquilo C_{1-4});

ó R_8 y R_9 , junto con los átomos de N ó C a los que están unidos, forman un grupo cicloalquilo, arilo, heterocicloalquilo o heteroarilo de 4, 5, 6, 7 u 8 miembros que está sustituido opcionalmente con 1, 2, 3, 4 ó 5

sustituyentes seleccionados independientemente de OH, amino, halo, alquilo C₁₋₆, haloalquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, haloalcoxi C₁₋₆, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloalquilo y heterocicloalquilo, y R⁹ y R¹⁰ se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de un enlace, C, N, S y O; ó R₈ y R₉ están enlazados juntos para formar un grupo -O-C₁₋₂ metileno-O-.

5

[0014] En otra realización, se proporciona un compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable, según la Fórmula II, en donde por lo menos uno de R₃, R₄, R₅ y R₆ no es H; y por lo menos uno de R₈ y R₉ no es H.

10

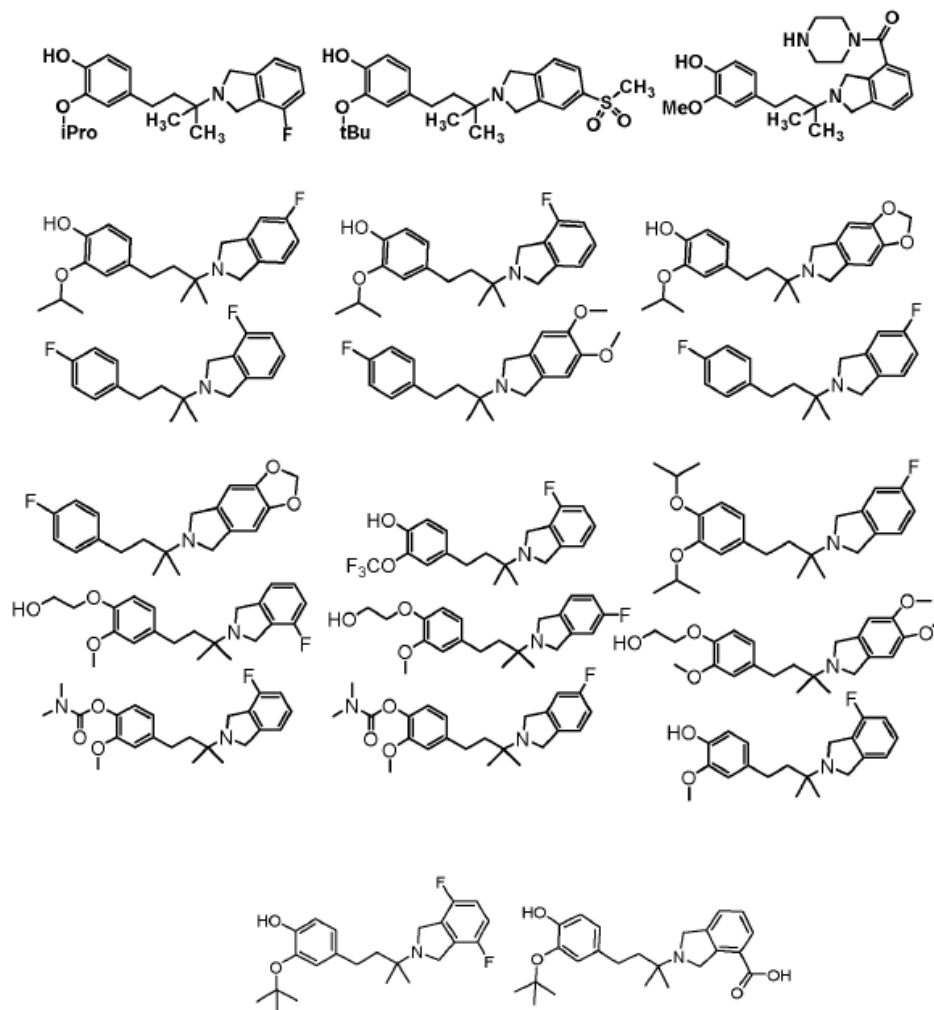
[0015] En otra realización, se proporciona un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable según la fórmula II, en donde R₇, R₁₀, R₁₁ son, cada uno de ellos, H; R₃ y R₄ se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H, F, Cl, S(O)_nR', C(O)R', en donde n=2, y R' se selecciona de CH₃, o piperacín-1-ilo, piperidin-1-ilo o morfolinilo opcionalmente sustituido, en donde el grupo opcionalmente sustituido se selecciona de alquilo C₁₋₆ o acilo C₂₋₇; R₈ se selecciona de OH, Cl, OCH₃, OCH(CH₃)₂, OCH₂CH(CH₃)₂, u OC(CH₃)₃; y R₉ es OH ó Cl.

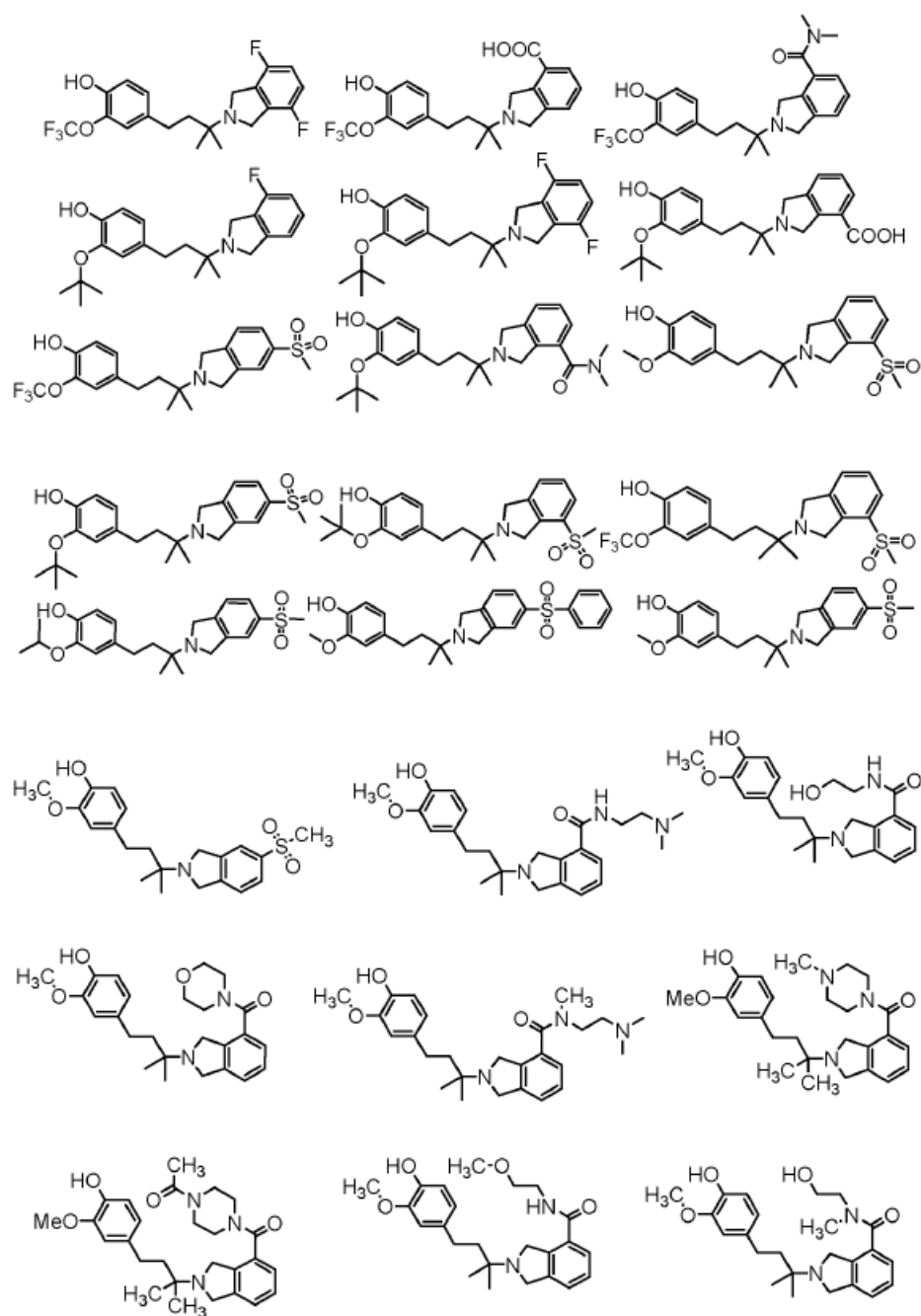
15

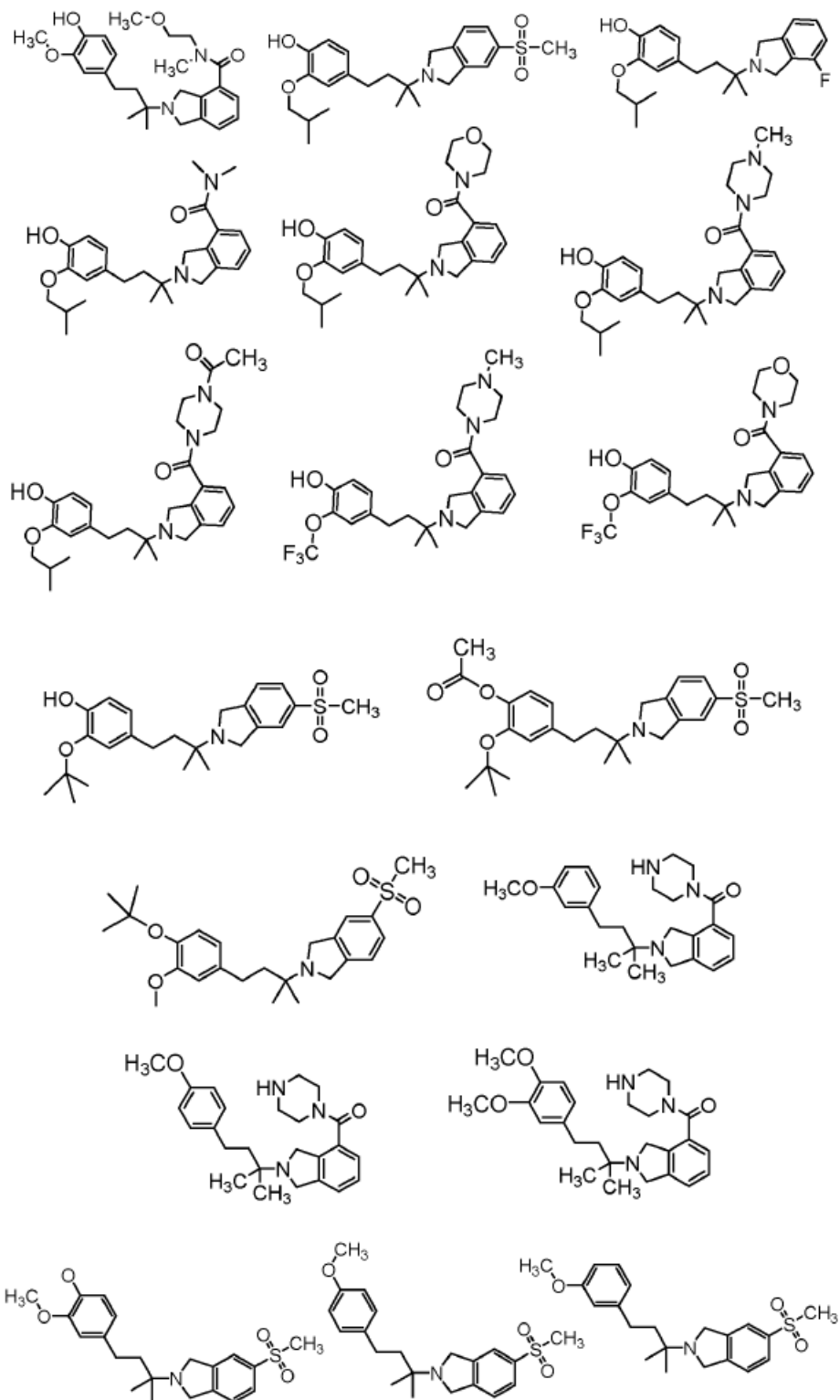
[0016] En otra realización, se proporciona un compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable, según la Fórmula II, en donde R₃ y R₄ se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H, F, Cl, S(O)_nR', C(O)R', en donde n=2, y R' se selecciona de CH₃, piperacín-1-ilo, piperidin-1-ilo o morfolinilo; R₅ y R₆ son, cada uno de ellos, H; R₈ se selecciona de OH, OCH₃, OCH(CH₃)₂, OCH₂CH(CH₃)₂ u OC(CH₃)₃; y R₉ es OH.

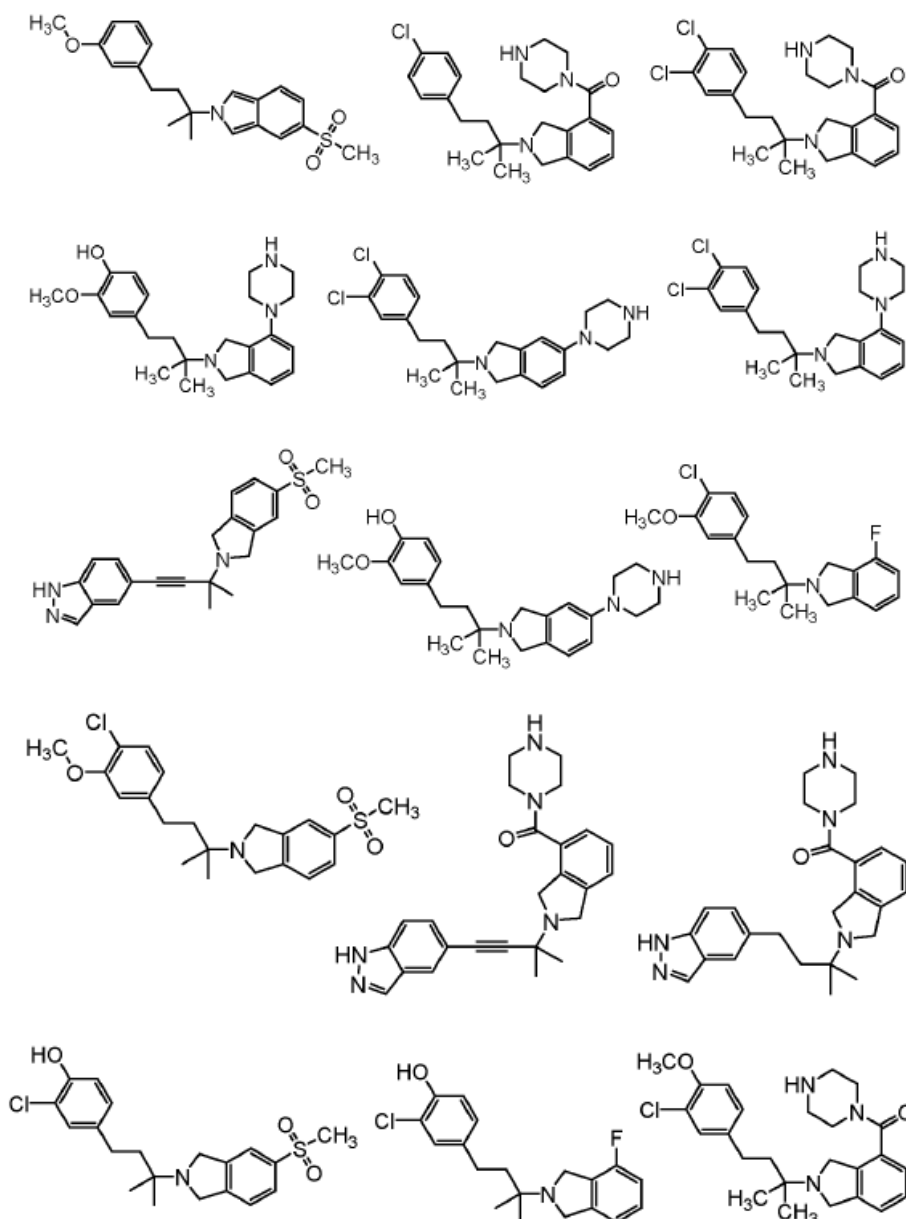
20

[0017] En otra realización, un compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se selecciona del grupo consiste en

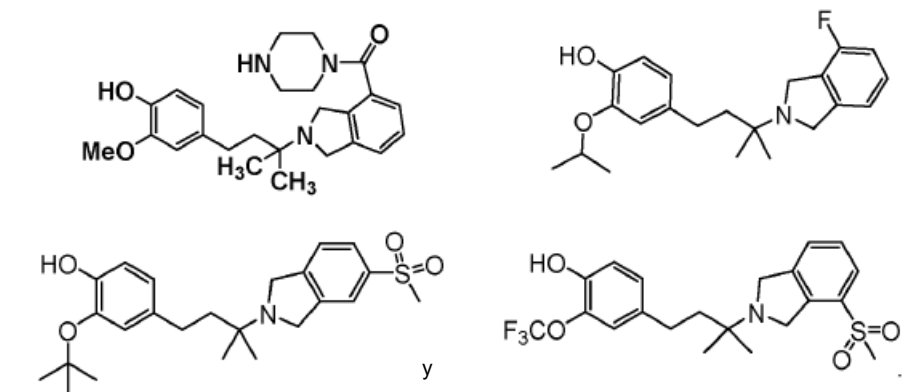




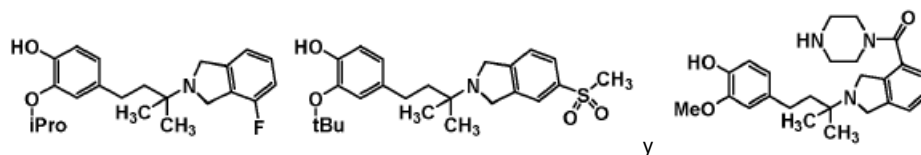




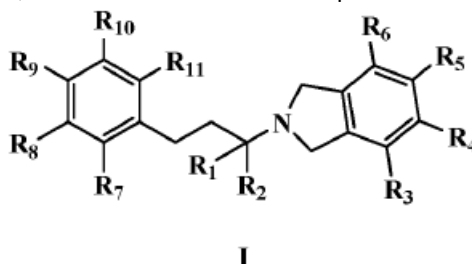
[0018] En otra realización, se proporciona un compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, seleccionado del grupo consistente en:



[0019] En otra realización, se proporciona un compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, seleccionada del grupo consistente en:



[0020] En otra realización, se proporciona una composición para inhibir un efecto de beta amiloide en una célula neuronal, que comprende un compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según la Fórmula I:



en donde:

R^1 y R^2 se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H, alquilo C_1-C_6 , o CH_2OR' ; en donde $R' = H$ ó alquilo C_1-C_6 ;

R_3 , R_4 , R_5 y R_6 se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H, alquilo C_1-C_6 , OH, OCH_3 , $OCH(CH_3)_2$, $OCH_2CH(CH_3)_2$, $OC(CH_3)_3$, O(alquilo C_1-C_6), OCF_3 , OCH_2CH_2OH , O(alquilo C_1-C_6)OH, O(haloalquilo C_1-C_6), F, Cl, Br, I, CF_3 , CN, NO_2 , NH_2 , haloalquilo C_1-C_6 , hidroxialquilo C_1-C_6 , alcoxi C_1-C_6 alquilo C_1-C_6 , arilo, heteroarilo, cicloalquilo C_3-7 , heterocicloalquilo, alquilarilo, heteroarilo, CO_2R' , $C(O)R'$, $NH(alquilo C_{1-4})$, $N(alquilo C_{1-4})_2$, $NH(cicloalquilo C_{3-7})$, $NHC(O)(alquilo C_{1-4})$, $CONR'_2$, $NC(O)R'$, $NS(O)_nR'$, $S(O)_nNR'_2$, $S(O)_nR'$, $C(O)R'$, $C(O)O(alquilo C_{1-4})$, $OC(O)N(R')_2$, $C(O)(alquilo C_{1-4})$, y $C(O)NH(alquilo C_{1-4})$; donde $n=0, 1$ ó 2 ; R' son independientemente, cada uno de ellos, H, CH_3 , CH_2CH_3 , alquilo C_3-C_6 , haloalquilo C_1-C_6 ; o arilo, alquilarilo, piperacín-1-ilo, piperidín-1-ilo, morfolinilo, heterocicloalquilo, heteroarilo, alcoxi C_{1-6} , $NH(alquilo C_{1-4})$, o $NH(alquilo C_{1-4})_2$ opcionalmente sustituido, en donde el grupo opcionalmente sustituido se selecciona de alquilo C_1-C_6 o acilo C_{2-7} ;

o R_3 y R_4 , junto con el átomo de C al cual están unidos, forman un cicloalquilo, arilo, heteroarilo o heterocicloalquilo de 4, 5, 6, 7 u 8 miembros, que está sustituido opcionalmente con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de OH, amino, halo, alquilo C_{1-6} , haloalquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , haloalcoxi C_{1-6} , arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloalquilo y heterocicloalquilo, y R^3 y R^4 ó R^4 y R^5 se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de un enlace, C, N, S y O; ó R_3 y R_4 se enlazan juntos para formar un grupo $-O-C_{1-2}$ metileno-O-;

o R_4 y R_5 , junto con el átomo de C al que están unidos, forman un cicloalquilo, arilo, heteroarilo o heterocicloalquilo de 4, 5, 6, 7 u 8 miembros que está opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de OH, amino, halo, alquilo C_{1-6} , haloalquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , haloalcoxi C_{1-6} , arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloalquilo, y heterocicloalquilo, y R_3 y R^4 ó R^4 y R^5 se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de un enlace, C, N, S, y O; ó R^4 y R_5 están enlazados juntos para formar un grupo $-O-C_{1-2}$ metileno-O-;

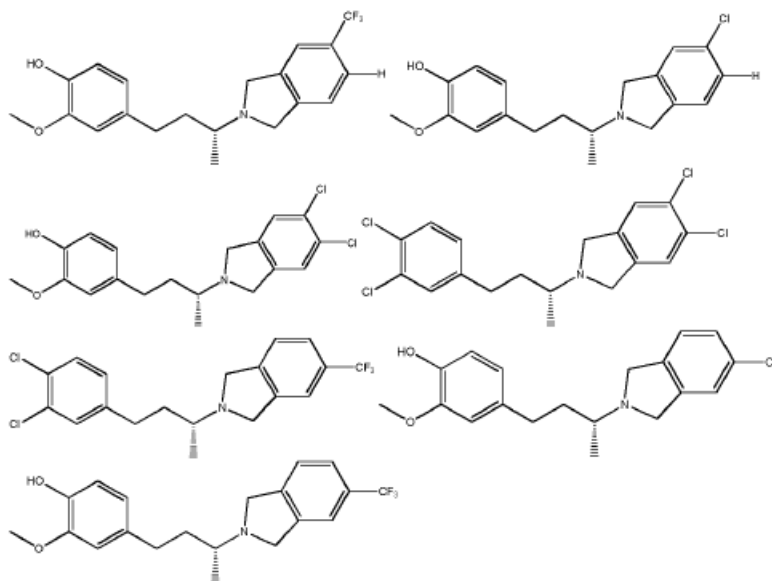
R_7 , R_8 , R_9 , R_{10} , y R_{11} se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H, alquilo C_1-C_6 , OH, OCH_3 , $OCH(CH_3)_2$, $OCH_2CH(CH_3)_2$, $OC(CH_3)_3$, O(alquilo C_1-C_6), OCF_3 , OCH_2CH_2OH , O(alquilo C_1-C_6)OH, O(haloalquilo C_1-C_6), F, Cl, Br, I, CF_3 , CN, NO_2 , NH_2 , haloalquilo C_1-C_6 , hidroxialquilo C_1-C_6 , alcoxi C_{1-6} alquilo C_{1-6} , arilo, heteroarilo, cicloalquilo C_{3-7} , heterocicloalquilo, alquilarilo, heteroarilo, CO_2R' , $C(O)R'$, $NH(alquilo C_{1-4})$, $N(alquilo C_{1-4})_2$, $NH(cicloalquilo C_{3-7})$, $NHC(O)(alquilo C_{1-4})$, $CONR'_2$, $NC(O)R'$, $NS(O)_nR'$, $S(O)_nNR'_2$, $S(O)_nR'$, $C(O)O(alquilo C_{1-4})$, $OC(O)N(R')_2$, $C(O)(alquilo C_{1-4})$ y $C(O)NH(alquilo C_{1-4})$; donde $n=0, 1$ ó 2 ; R' son independientemente, cada uno de ellos, H, CH_3 , CH_2CH_3 , alquilo C_3-C_6 , haloalquilo C_1-C_6 , arilo, alquilarilo, piperacín-1-ilo, piperidín-1-ilo, morfolinilo, heterocicloalquilo, heteroarilo, alcoxi C_{1-6} , $NH(alquilo C_{1-4})$, o $NH(alquilo C_{1-4})_2$;

o R_7 y R_8 , junto con los átomos de N ó C a los que están unidos forman un grupo cicloalquilo, arilo, heterocicloalquilo, o heteroarilo de 4, 5, 6, 7 u 8 miembros que está sustituido opcionalmente con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de OH, amino, halo, alquilo C_{1-6} , haloalquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , haloalcoxi C_{1-6} , arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloalquilo y heterocicloalquilo, y R^9 y R^{10} se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de un enlace, C, N, S y O; ó R_7 y R_8 están enlazados juntos para formar un grupo $-O-C_{1-2}$ metileno-O-;

o R_8 y R_9 , junto con los átomos de N ó C a los que están unidos forman un grupo cicloalquilo, arilo, heterocicloalquilo, o heteroarilo de 4, 5, 6, 7 u 8 miembros que está sustituido opcionalmente con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de OH, amino, halo, alquilo C_{1-6} , haloalquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , haloalcoxi C_{1-6} , arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloalquilo y heterocicloalquilo, y R^9 y R^{10} se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de un enlace, C, N, S y O; ó R_8 y R_9 están enlazados juntos para formar un grupo $-O-C_{1-2}$ metileno-O-;

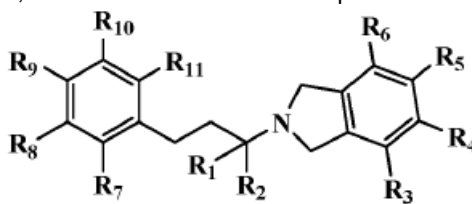
en donde cada uno del O, alquilo C_{1-6} , haloalquilo C_{1-6} , heteroarilo, arilo, heteroarilo, heterocicloalquilo y cicloalquilo está sustituido independientemente de manera opcional con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de OH, amino, halo, alquilo C_{1-6} , haloalquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , haloalcoxi C_{1-6} , arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloalquilo y heterocicloalquilo;

con la condición de que se excluyan los siguientes compuestos:



en donde el compuesto o sal del mismo está presente en la composición en una cantidad eficaz para inhibir la unión de oligómeros de beta amiloide en dicha célula; y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

[0021] En otra realización, se proporciona una composición para inhibir un efecto de beta amiloide en una célula neuronal, que comprende un compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según la Fórmula I:



I

en donde R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 , R_9 , R_{10} y R_{11} son tal como se ha definido en la presente, con la condición de que, cuando R_1 , R_3 , R_6 , R_7 , R_{10} , y R_{11} son, cada uno de ellos, H; R_2 es CH_3 ; R_8 es OCH_3 ó Cl; y R_9 es OH ó Cl; entonces R_4 no es Cl ó CF_3 , y R_5 no es Cl ó CF_3 , y

en donde el compuesto o sal del mismo está presente en la composición en una cantidad eficaz para inhibir la unión de oligómeros de beta amiloide en dicha célula; y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

[0022] En otra realización, se proporciona una composición que comprende un compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable, del mismo, según la Fórmula I, en donde

R_1 y R_2 se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H, o CH_3 ;

R_3 , R_4 , R_5 y R_6 se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H, alquilo C_{1-6} , OH, OCH_3 , O(alquilo C_{1-6}), O(haloalquilo C_{1-6}), F, Cl, CF_3 , arilo, heteroarilo, cicloalquilo C_{3-7} , CO_2R' , $C(O)R'$, $OC(O)N(R')_2$, $CONR'_2$, $NC(O)R'$,

$NS(O)_nR'$, $S(O)_nNR'_2$, $S(O)_nR'$; en donde $n=0$, 1 ó 2; R' son independientemente, cada uno de ellos, H, CH_3 , CH_2CH_3 , alquilo C_3-C_6 , haloalquilo C_1-C_6 , piperacín-1-ilo, piperidin-1-ilo, morfolinilo, heterocicloalquilo o arilo;

ó R_3 y R_4 , junto con el átomo de C al que están unidos, forman un arilo o cicloalquilo C_{3-7} de 5 ó 6 miembros; o

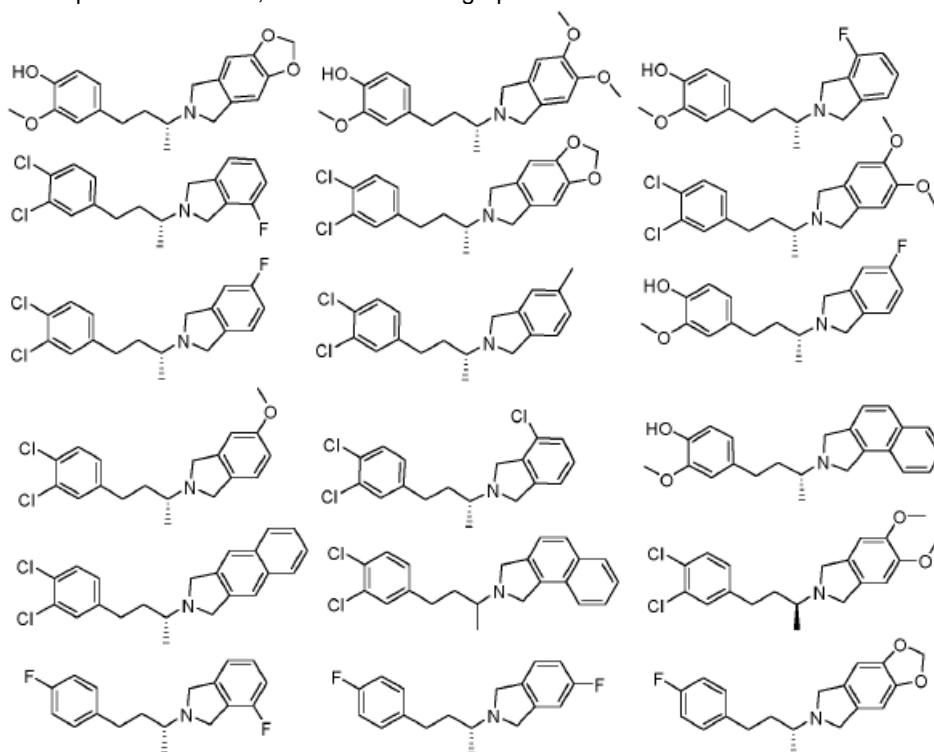
R_4 y R_5 , junto con el átomo de C al que están unidos, forman un cicloalquilo C_{3-7} , o un arilo de 5 ó 6 miembros; o

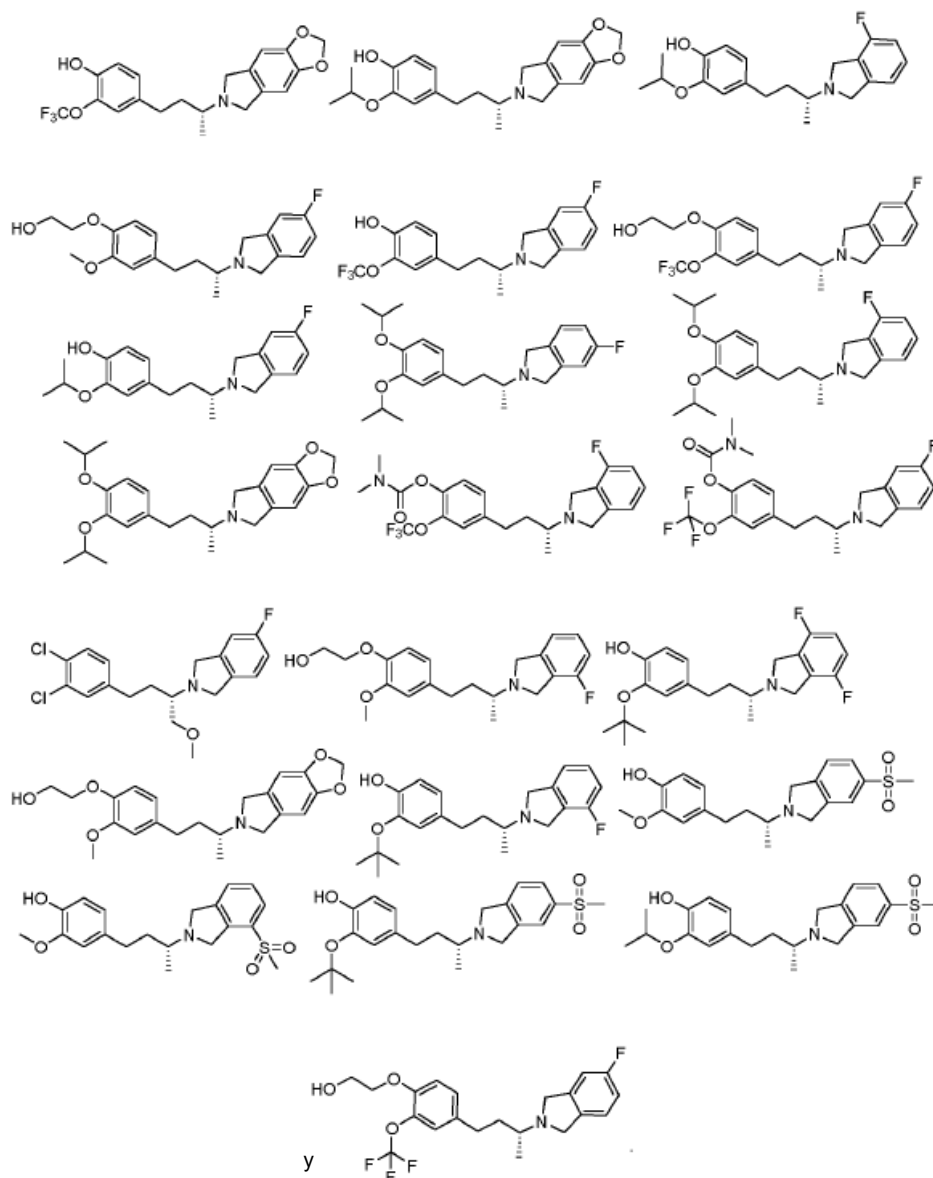
R_3 y R_4 están enlazados juntos para formar un grupo $-O-C_{1-2}$ metileno-O-; ó R_4 y R_5 están enlazados juntos para formar un grupo $-O-C_{1-2}$ metileno-O-; y

R_7 , R_8 , R_9 , R_{10} y R_{11} se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H, OH, CH_3 , CH_2CH_3 , F, Cl, CF_3 , OCF_3 , haloalquilo C_1-C_6 , OCH_3 , O(alquilo C_1-C_6), OCH_2CH_2OH , O(alquilo C_1-C_6)OH, arilo, heteroarilo, cicloalquilo C_{3-7} , alquilarilo, CO_2R' , $CONR'_2$, $S(O)_nNR'_2$, $S(O)_nR'$, $C(O)O$ (alquilo C_{1-4}), $OC(O)N(R')_2$, y $C(O)NH$ (alquilo C_{1-4}); donde $n=0$, 1 ó 2; R' son independientemente, cada uno de ellos, H, alquilo C_1-C_6 , haloalquilo C_1-C_6 , arilo, alquilarilo, o alcoxi C_{1-6} ; y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

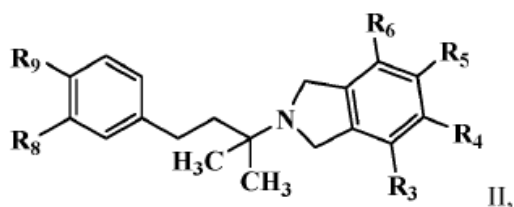
[0023] En otra realización, se proporciona una composición que comprende un compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según la Fórmula I, y un vehículo farmacéuticamente aceptable, en donde R_7 , R_{10} , R_{11} son, cada uno de ellos, H; R_3 y R_4 se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H, F, Cl, $S(O)_nR'$, $C(O)R'$, en donde $n=2$, y R' se selecciona de CH_3 , piperacín-1-ilo, piperidin-1-ilo, morfolinilo; R_8 se selecciona de OH, OCH_3 , $OCH(CH_3)_2$, $OCH_2CH(CH_3)_2$ u $OC(CH_3)_3$; y R_9 es OH; y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

[0024] En otra realización, se proporciona una composición que comprende un compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según la Fórmula I, y un vehículo farmacéuticamente aceptable, en donde el compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se selecciona del grupo consiste en:





[0025] En otra realización, se proporciona una composición que comprende un compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según la Fórmula II:



en donde R₃, R₄, R₅ y R₆ se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H, Cl, F, OH, CH₃, alquilo C₁₋₆, OCH₃, OCH(CH₃)₂, OCH₂CH(CH₃)₂, OC(CH₃)₃, alquilo OC₁₋₆, arilo, heteroarilo, heterocicloalquilo, CO₂R', CONR'₂, NC(O)R', NS(O)_nR', S(O)_nNR'₂, S(O)_nR', C(O)R', OC(O)N(R')₂, o C(O)NH(alquilo C₁₋₄), en donde n=0, 1 ó 2; y R' son independientemente, cada uno de ellos, H, alquilo C₁₋₆, haloalquilo C₁₋₆ o arilo, alquilarilo, piperacín-1-ilo, piperidin-1-ilo, morfolinilo, heterocicloalquilo, heteroarilo, alcoxi C₁₋₆, NH(alquilo C₁₋₄) o NH(alquilo C₁₋₄)₂ sustituido opcionalmente, en donde el grupo sustituido opcionalmente se selecciona de alquilo C₁₋₆ o acilo C₂₋₇;

ó R₃ y R₄, junto con el átomo de C al que están unidos, forman un arilo de 6 miembros; ó R₃ y R₄ están enlazados juntos para formar un grupo -O-C₁₋₂ metileno-O-; ó R₄ y R₅, junto con el átomo de C al que están unidos, forman un arilo de 6 miembros; ó R₄ y R₅ están enlazados juntos para formar un grupo -O-C₁₋₂ metileno-O-; y

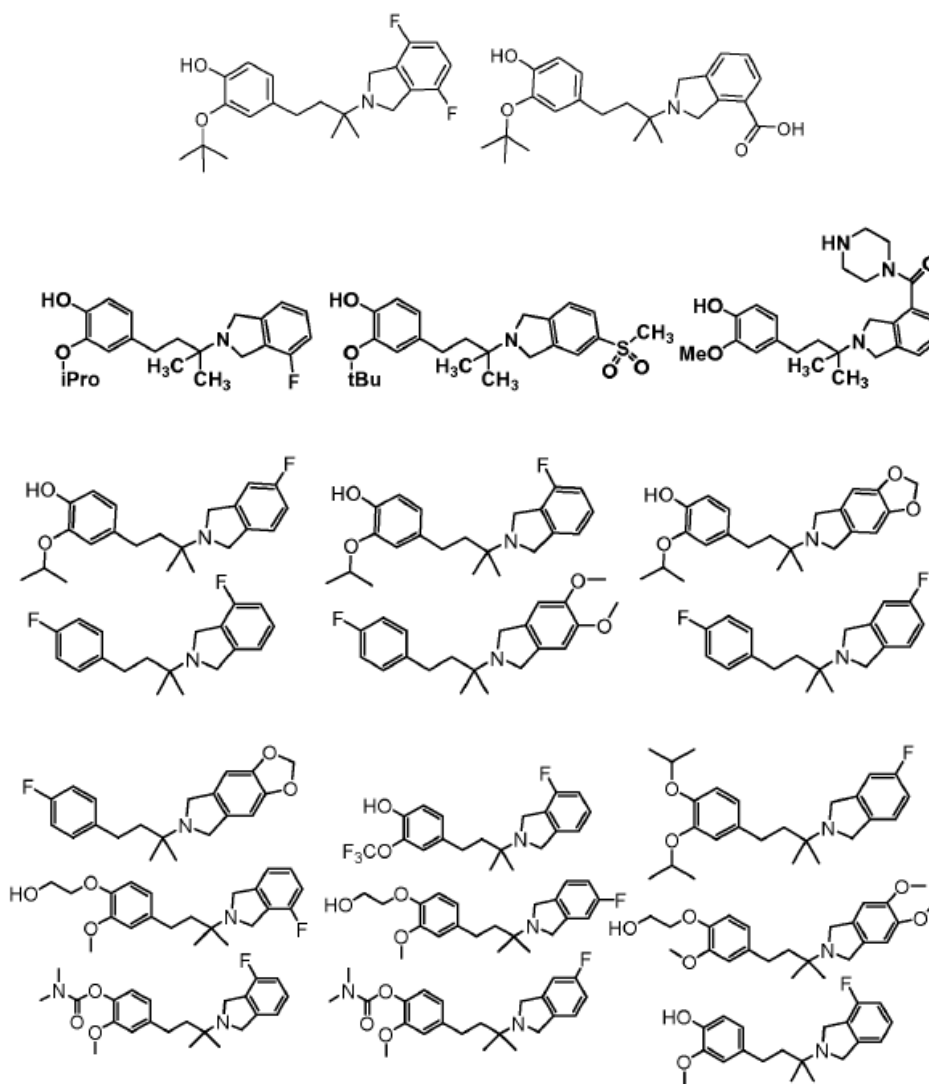
R_8 y R_9 se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H, Cl, F, OH, CH_3 , alquilo C_{1-6} , OCH_3 , $OCH(CH_3)_2$, $OCH_2CH(CH_3)_2$, $OC(CH_3)_3$, alquilo OC_{1-6} , arilo, heteroarilo, heterocicloalquilo, CO_2R' , $CONR'_2$, $NC(O)R'$, $NS(O)_nR'$, $S(O)_nNR'_2$, $S(O)_nR'$, $OC(O)N(R')_2$, o $C(O)NH$ (alquilo C_{1-4}); y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

5

[0026] En otra realización, se proporciona una composición que comprende un compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según la Fórmula II, en donde R_3 y R_4 se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H, F, Cl, $S(O)_nR'$, $C(O)R'$, en donde $n=2$, y R' se selecciona de CH_3 , piperacín-1-ilo, piperidin-1-ilo, o morfolinilo; R_5 y R_6 son, cada uno de ellos, H, R_8 se selecciona de OH, OCH_3 , $OCH(CH_3)_2$, $OCH_2CH(CH_3)_2$ u $OC(CH_3)_3$; y R_9 es OH; y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

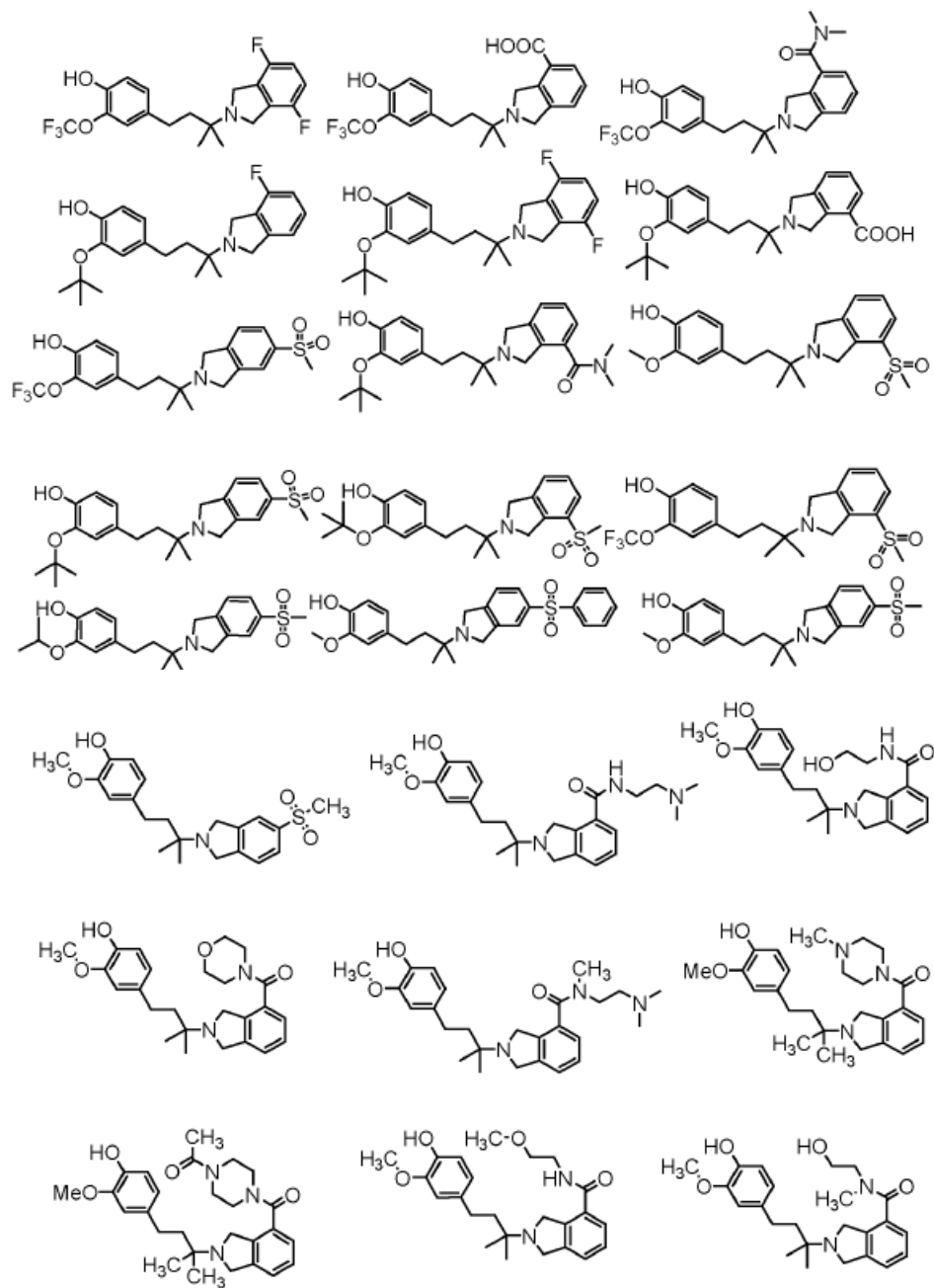
10

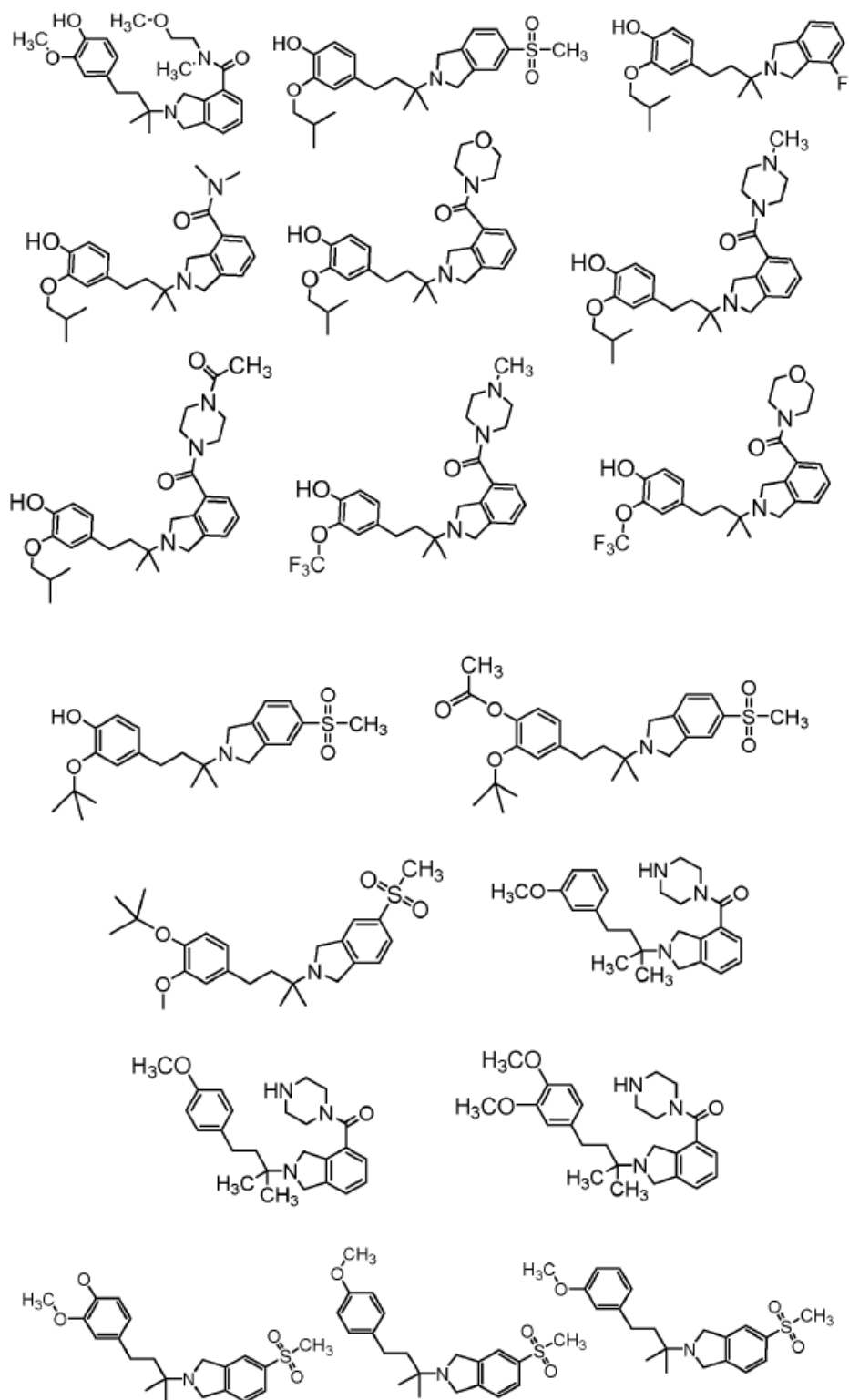
[0027] En una realización adicional, se proporciona una composición que comprende un compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable, en donde el compuesto o sal se selecciona del grupo consistente en:

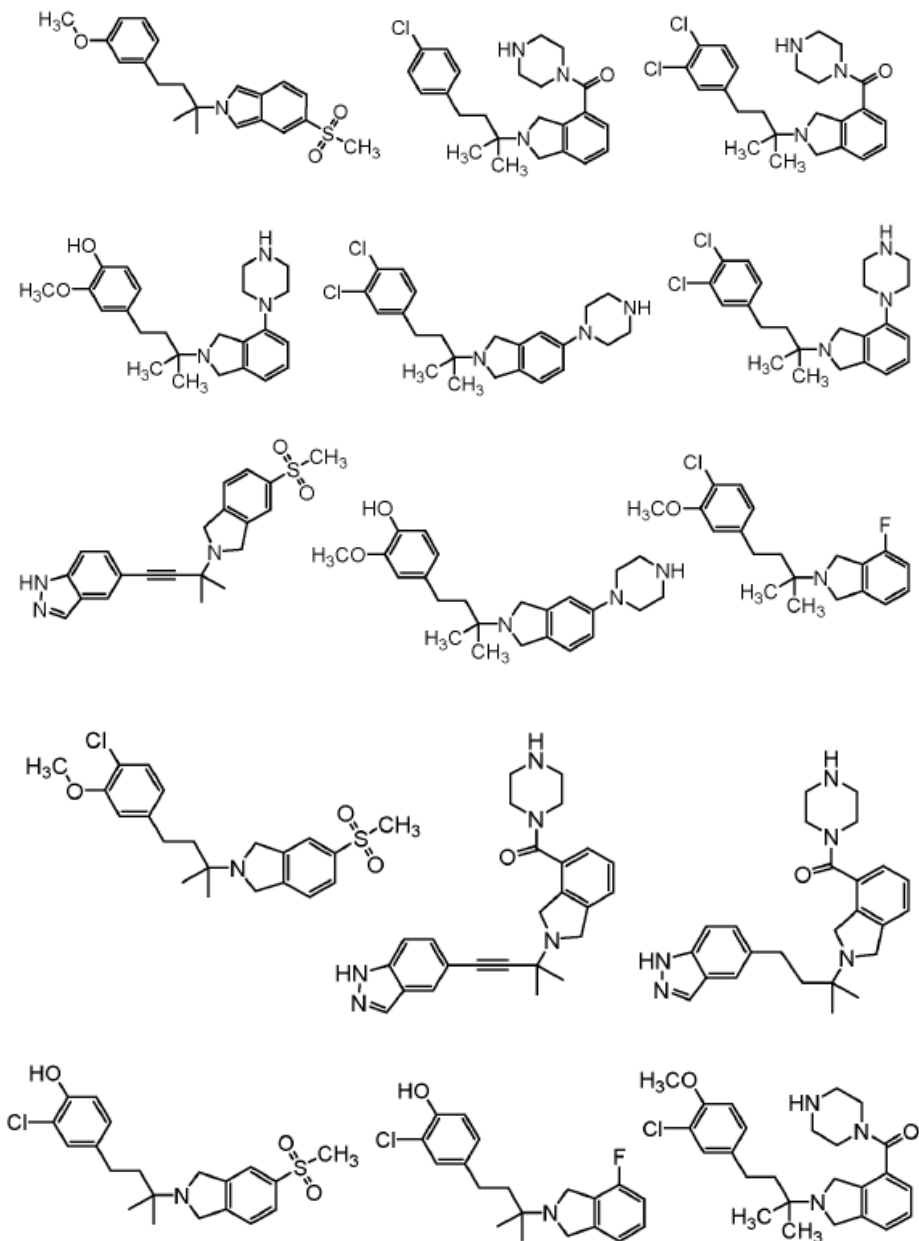


15

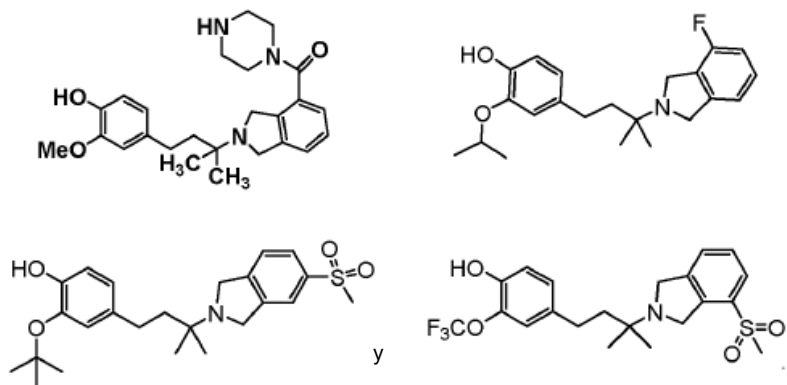
20



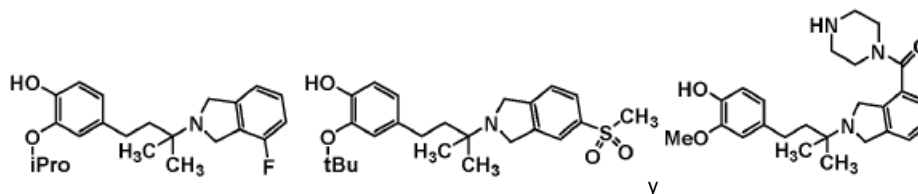




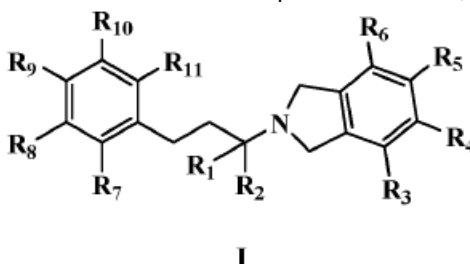
5



[0029] En una realización adicional, se proporciona una composición que comprende un compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable, en donde el compuesto o sal se selecciona del grupo consistente en:



5 [0030] En una realización, se proporciona un método/uso para inhibir un efecto de beta amiloide en una célula neuronal, que comprende administrar una cantidad eficaz de una composición que comprende un compuesto antagonista selectivo del receptor sigma-2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según la fórmula I:



en donde:

R₁ y R₂ se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H, alquilo C₁₋₆, o CH₂OR'; en donde R' = H ó alquilo C₁₋₆;

R₃, R₄, R₅ y R₆ se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H, alquilo C₁₋₆, OH, OCH₃, OCH(CH₃)₂, OCH₂CH(CH₃)₂, OC(CH₃)₃, O(alquilo C₁₋₆), OCF₃, OCH₂CH₂OH, O(alquilo C₁₋₆)OH, O(haloalquilo C₁₋₆), F, Cl, Br, I, CF₃, CN, NO₂, NH₂, haloalquilo C₁₋₆, hidroxialquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆ alquilo C₁₋₆, arilo, heteroarilo, cicloalquilo C₃₋₇, heterocicloalquilo, alquilarilo, heteroarilo, CO₂R', C(O)R', NH(alquilo C₁₋₄), N(alquilo C₁₋₄)₂, NH(cicloalquilo C₃₋₇), NHC(O)(alquilo C₁₋₄), CONR'₂, NC(O)R', NS(O)_nR', S(O)_nNR'₂, S(O)_nR', C(O)R', C(O)O(alquilo C₁₋₄), OC(O)N(R')₂, C(O)(alquilo C₁₋₄), y C(O)NH(alquilo C₁₋₄); donde n=0, 1 ó 2; R' son independientemente, cada uno de ellos, H, CH₃, CH₂CH₃, alquilo C₃₋₆, haloalquilo C₁₋₆; o arilo, alquilarilo, piperacín-1-ilo, piperidin-1-ilo, morfolinilo, heterocicloalquilo, heteroarilo, alcoxi C₁₋₆, NH(alquilo C₁₋₄), o NH(alquilo C₁₋₄)₂ opcionalmente sustituido, en donde el grupo opcionalmente sustituido se selecciona de alquilo C₁₋₆ o acilo C₂₋₇;

o R₃ y R₄, junto con el átomo de C al cual están unidos, forman un cicloalquilo, arilo, heteroarilo o heterocicloalquilo de 4, 5, 6, 7 u 8 miembros, que está sustituido opcionalmente con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de OH, amino, halo, alquilo C₁₋₆, haloalquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, haloalcoxi C₁₋₆, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloalquilo y heterocicloalquilo, y R₃ y R₄ ó R₄ y R₅ se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de un enlace, C, N, S y O; ó R₃ y R₄ se enlazan juntos para formar un grupo -O-C₁₋₂ metileno-O-;

o R₄ y R₅, junto con el átomo de C al que están unidos, forman un cicloalquilo, arilo, heteroarilo o heterocicloalquilo de 4, 5, 6, 7 u 8 miembros que está opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de OH, amino, halo, alquilo C₁₋₆, haloalquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, haloalcoxi C₁₋₆, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloalquilo, y heterocicloalquilo, y R₃ y R₄ ó R₄ y R₅ se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de un enlace, C, N, S, y O; ó R₄ y R₅ están enlazados juntos para formar un grupo -O-C₁₋₂ metileno-O-;

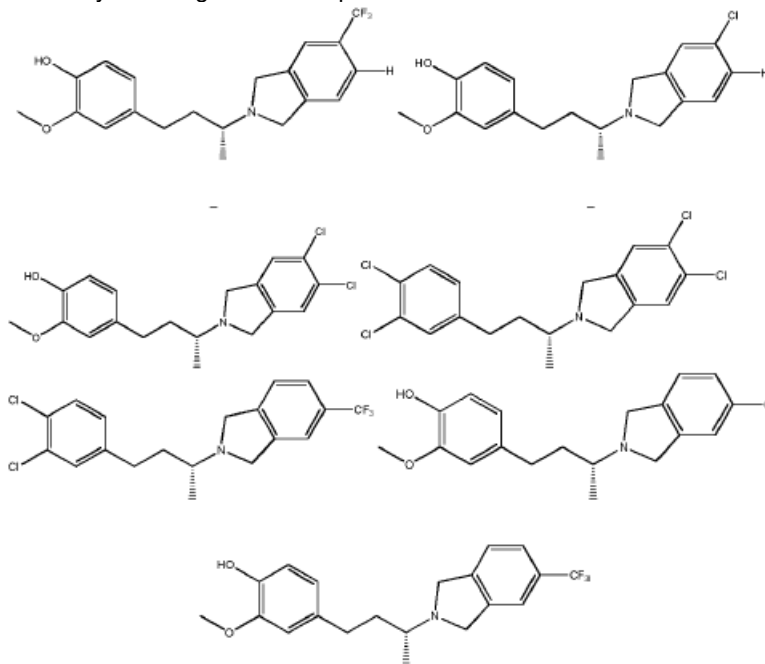
R₇, R₈, R₉, R₁₀, y R₁₁ se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H, alquilo C₁₋₆, OH, OCH₃, OCH(CH₃)₂, OCH₂CH(CH₃)₂, OC(CH₃)₃, O(alquilo C₁₋₆), OCF₃, OCH₂CH₂OH, O(alquilo C₁₋₆)OH, O(haloalquilo C₁₋₆), F, Cl, Br, I, CF₃, CN, NO₂, NH₂, haloalquilo C₁₋₆, hidroxialquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆ alquilo C₁₋₆, arilo, heteroarilo, cicloalquilo C₃₋₇, heterocicloalquilo, alquilarilo, heteroarilo, CO₂R', C(O)R', NH(alquilo C₁₋₄), N(alquilo C₁₋₄)₂, NH(cicloalquilo C₃₋₇), NHC(O)(alquilo C₁₋₄), CONR'₂, NC(O)R', NS(O)_nR', S(O)_nNR'₂, S(O)_nR', C(O)O(alquilo C₁₋₄), OC(O)N(R')₂, C(O)(alquilo C₁₋₄) y C(O)NH(alquilo C₁₋₄); donde n=0, 1 ó 2; R' son independientemente, cada uno de ellos, H, CH₃, CH₂CH₃, alquilo C₃₋₆, haloalquilo C₁₋₆; o arilo, alquilarilo, piperacín-1-ilo, piperidin-1-ilo, morfolinilo, heterocicloalquilo, heteroarilo, alcoxi C₁₋₆, NH(alquilo C₁₋₄), o NH(alquilo C₁₋₄)₂ opcionalmente sustituido, en donde el grupo opcionalmente sustituido se selecciona de alquilo C₁₋₆ o acilo C₂₋₇;

o R_7 y R_8 , junto con los átomos de N ó C a los que están unidos forman un grupo cicloalquilo, arilo, heterocicloalquilo, o heteroarilo de 4, 5, 6, 7 u 8 miembros que está sustituido opcionalmente con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de OH, amino, halo, alquilo C_{1-6} , haloalquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , haloalcoxi C_{1-6} , arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloalquilo y heterocicloalquilo, y R^9 y R^{10} se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de un enlace, C, N, S y O; ó R_7 y R_8 están enlazados juntos para formar un grupo -O- C_{1-2} metileno-O-;

o R_8 y R_9 , junto con los átomos de N ó C a los que están unidos forman un grupo cicloalquilo, arilo, heterocicloalquilo, o heteroarilo de 4, 5, 6, 7 u 8 miembros que está sustituido opcionalmente con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de OH, amino, halo, alquilo C_{1-6} , haloalquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , haloalcoxi C_{1-6} , arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloalquilo y heterocicloalquilo, y R^9 y R^{10} se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de un enlace, C, N, S y O; ó R_8 y R_9 están enlazados juntos para formar un grupo -O- C_{1-2} metileno-O-;

en donde cada uno del O, alquilo C_{1-6} , haloalquilo C_{1-6} , heteroarilo, arilo, heteroarilo, heterocicloalquilo y cicloalquilo está sustituido independientemente de manera opcional con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de OH, amino, halo, alquilo C_{1-6} , haloalquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , haloalcoxi C_{1-6} , arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloalquilo y heterocicloalquilo;

con la condición de que se excluyan los siguientes compuestos:



en donde el compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se encuentra una cantidad eficaz para inhibir la unión de oligómeros de beta amiloide en dicha célula; y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

[0031] En otra realización, se proporciona un método/uso para inhibir un efecto de beta amiloide en una célula neuronal, que comprende administrar una cantidad eficaz de una composición que comprende un compuesto antagonista selectivo del receptor sigma-2, o una sal farmacéuticamente aceptable mismo, según la fórmula I, en donde el compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra en una cantidad también eficaz para inhibir déficits de tráfico de membrana en dicha célula, estando asociados dichos efectos de tráfico de membrana a la exposición de dicha célula a oligómeros de beta amiloide solubles.

[0032] En otra realización, se proporciona un método/uso para inhibir un efecto de beta amiloide en una célula neuronal, que comprende administrar una cantidad eficaz de una composición que comprende un compuesto antagonista selectivo del receptor sigma-2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según la fórmula I, en donde el compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra en una cantidad eficaz para inhibir tanto la unión del oligómero como la pérdida de sinapsis asociados a la exposición de la célula a un oligómero de beta amiloide soluble, en dicha célula.

[0033] En otra realización, se proporciona un método/uso para inhibir un efecto de beta amiloide en una célula neuronal, que comprende administrar una composición que comprende una cantidad eficaz de un compuesto según la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable, en donde el compuesto, o

sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra en una cantidad eficaz para inhibir un efecto cognitivo mediado por oligómeros de beta amiloide solubles. En un aspecto, el efecto cognitivo es un declive cognitivo según se somete a prueba en un modelo animal de declive cognitivo. En otro aspecto, el declive cognitivo es un declive en el aprendizaje según se somete a prueba mediante un ensayo de miedo condicionado. En un aspecto adicional, el declive cognitivo es un declive en el aprendizaje y la memoria espaciales según se somete a prueba mediante una prueba de laberinto acuático de Morris. En otro aspecto, el declive cognitivo es un declive del aprendizaje y la memoria espaciales basados en el hipocampo según se somete a prueba en un modelo animal transgénico de la enfermedad de Alzheimer.

[0034] En otra realización, se proporciona un método/uso para inhibir un efecto de beta amiloide en una célula neuronal, que comprende administrar una composición que comprende una cantidad eficaz de un compuesto según la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

R_1 y R_2 se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H ó CH_3 ;

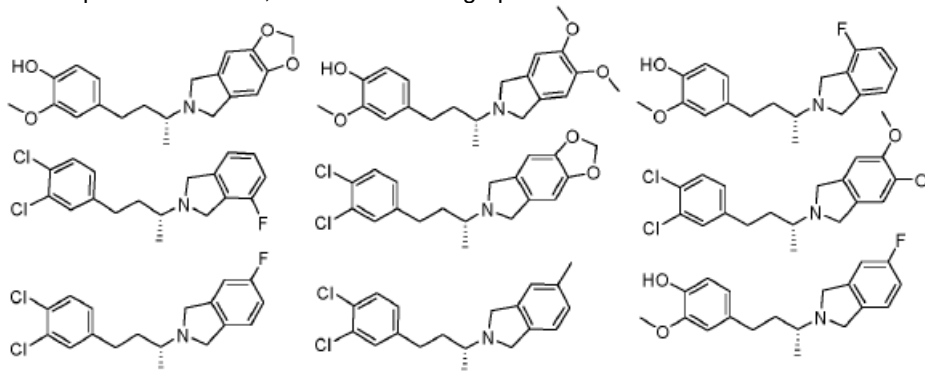
R_3 , R_4 , R_5 y R_6 se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H, alquilo C_1-C_6 , OH, OCH_3 , O(alquilo C_1-C_6), O(haloalquilo C_1-C_6), F, Cl, CF_3 , arilo, heteroarilo, cicloalquilo C_3-7 , CO_2R' , $C(O)R'$, $OC(O)N(R')_2$, $CONR'_2$, $NC(O)R'$, $NS(O)_nR'$, $S(O)_nNR'_2$, $S(O)_nR'$; donde $n=0$, 1 ó 2; R' son, cada uno de ellos, independientemente H, CH_3 , CH_2CH_3 , alquilo C_3-C_6 , haloalquilo C_1-C_6 , piperacín-1-ilo, piperidín-1-ilo, morfolínilo, heterocicloalquilo o arilo;

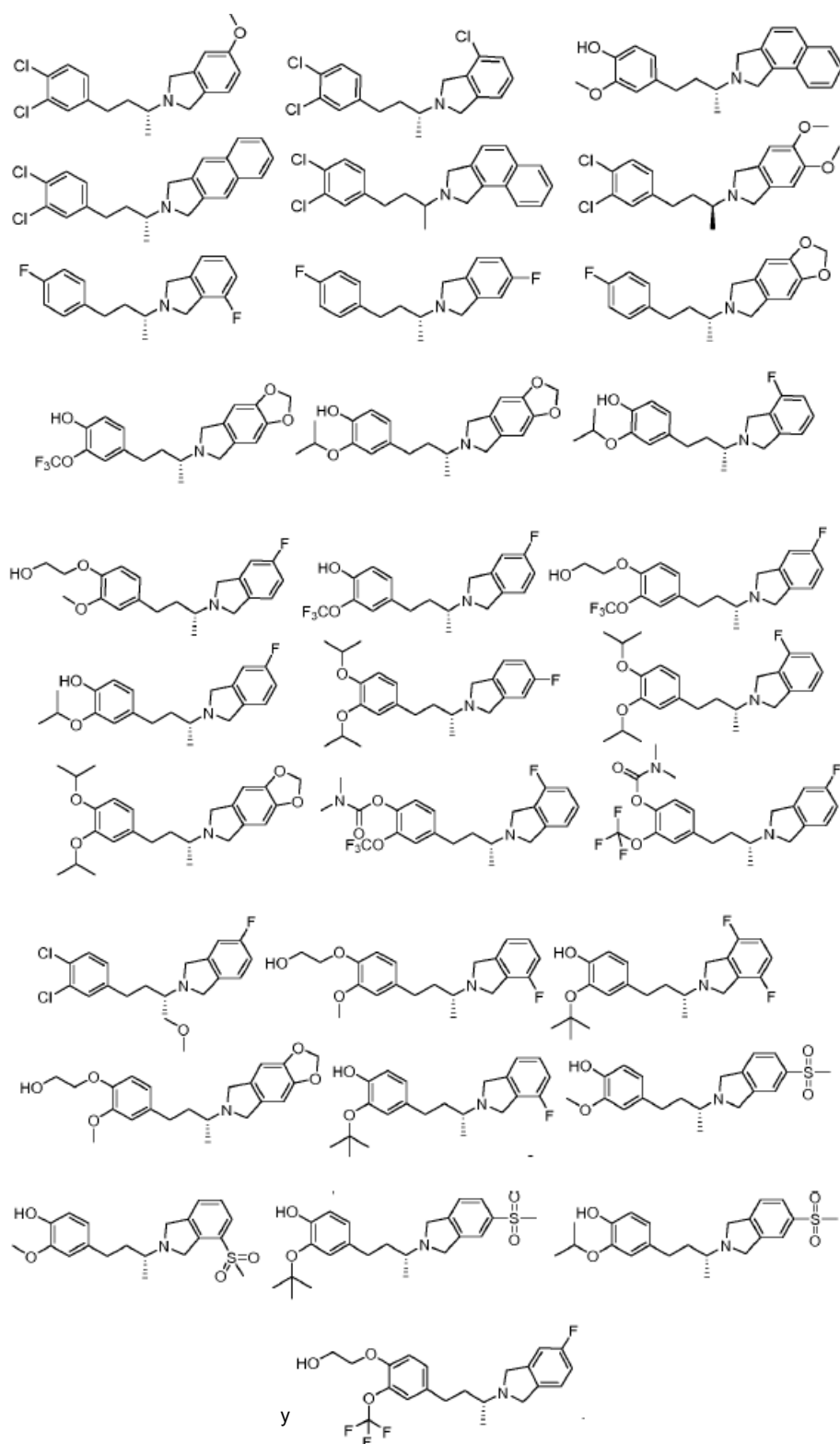
ó R_3 y R_4 , junto con el átomo de C al que están unidos, forman un arilo o cicloalquilo C_3-C_7 de 5 ó 6 miembros; ó R_4 y R_5 , junto con el átomo de C al que están unidos, forman un cicloalquilo C_3-7 , o un arilo de 5 ó 6 miembros, ó R_3 y R_4 están enlazados juntos para formar un grupo $-O-C_{1-2}$ metileno-O-; ó R_4 y R_5 están enlazados juntos para formar un grupo $-O-C_{1-2}$ metileno-O-; y

R_7 , R_8 , R_9 , R_{10} y R_{11} se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H, OH, CH_3 , CH_2CH_3 , F, Cl, CF_3 , OCF_3 , haloalquilo C_1-C_6 , OCH_3 , O(alquilo C_1-C_6), OCH_2CH_2OH , O(alquilo C_1-C_6)OH, arilo, heteroarilo, cicloalquilo C_3-7 , alquilarilo, CO_2R' , $CONR'_2$, $S(O)_nNR'_2$, $S(O)_nR'$, $C(O)O$ (alquilo C_{1-4}), $OC(O)N(R')_2$ y $C(O)NH$ (alquilo C_{1-4}); en donde $n=0$, 1 ó 2; R' son independientemente, cada uno de ellos, H, alquilo C_1-C_6 , haloalquilo C_1-C_6 , arilo, alquilarilo, o alcoxi C_{1-6} ; y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

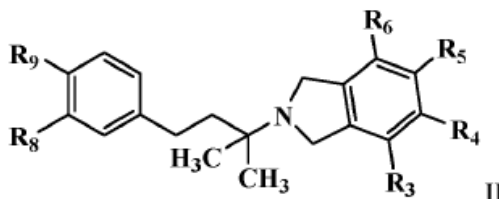
[0035] En otra realización, se proporciona un método/uso para inhibir un efecto de beta amiloide en una célula neuronal, que comprende administrar una composición que comprende una cantidad eficaz de un compuesto según la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde R_7 , R_{10} , R_{11} son, cada uno de ellos, H; R_3 y R_4 se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H, F, Cl, $S(O)_nR'$, $C(O)R'$, en donde $n=2$, y R' se selecciona de CH_3 o morfolínilo, piperidín-1-ilo, o piperacín-1-ilo opcionalmente sustituido, en donde el grupo opcionalmente sustituido se selecciona de alquilo C_1-C_6 ó acilo C_2-C_7 ; R_8 se selecciona de OH, OCH_3 , $OCH(CH_3)_2$, $OCH_2CH(CH_3)_2$, u $OC(CH_3)_3$; y R_9 es OH; y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

[0036] En otra realización, se proporciona un método/uso para inhibir un efecto de beta amiloide en una célula neuronal, que comprende administrar una composición que comprende una cantidad eficaz de un compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, seleccionado del grupo consistente en:





- 5 [0037] En otra realización, se proporciona un método/uso para inhibir un efecto de beta amiloide en una célula neuronal, que comprende administrar una composición que comprende una cantidad eficaz de un compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según la fórmula II:



en donde R₃, R₄, R₅ y R₆ se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H, Cl, F, OH, CH₃, alquilo C₁₋₆, OCH₃, OCH(CH₃)₂, OCH₂CH(CH₃)₂, OC(CH₃)₃, alquilo OC₁₋₆, arilo, heteroarilo, heterocicloalquilo, CO₂R', CONR'₂, NC(O)R', NS(O)_nR', S(O)_nNR'₂, S(O)_nR', C(O)R', OC(O)N(R')₂, o C(O)NH(alquilo C₁₋₄), en donde n=0, 1 ó 2; y R' son independientemente, cada uno de ellos, H, alquilo C₁₋₆, haloalquilo C₁₋₆ o arilo, alquilarilo, piperacin-1-ilo, piperidin-1-ilo, morfolinilo, heterocicloalquilo, heteroarilo, alcoxi C₁₋₆, NH(alquilo C₁₋₄) o NH(alquilo C₁₋₄)₂ opcionalmente sustituido, en donde el grupo opcionalmente sustituido se selecciona de alquilo C₁₋₆ o acilo C₂₋₇.

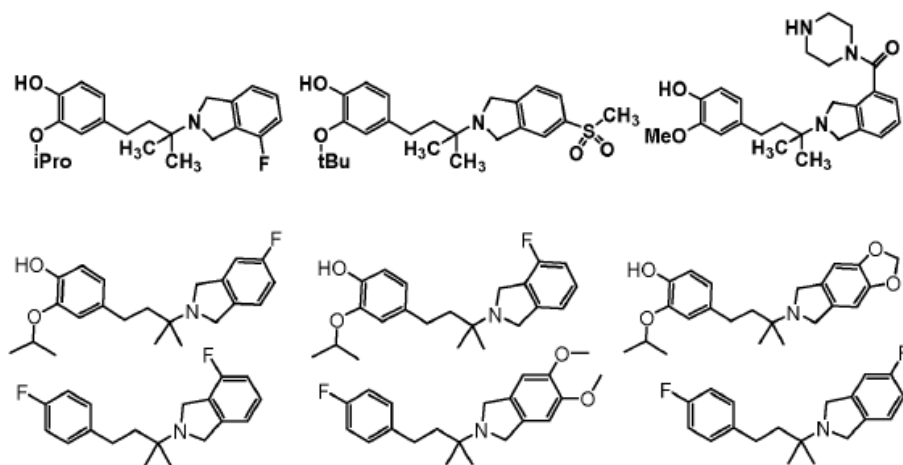
ó R₃ y R₄, junto con el átomo de C al que están unidos, forman un arilo de 6 miembros; ó R₃ y R₄ están enlazados juntos para formar un grupo -O-C₁₋₂ metileno-O-; ó R₄ y R₅, junto con el átomo de C al que están unidos, forman un arilo de 6 miembros; ó R₄ y R₅ están enlazados juntos para formar un grupo -O-C₁₋₂ metileno-O-; y

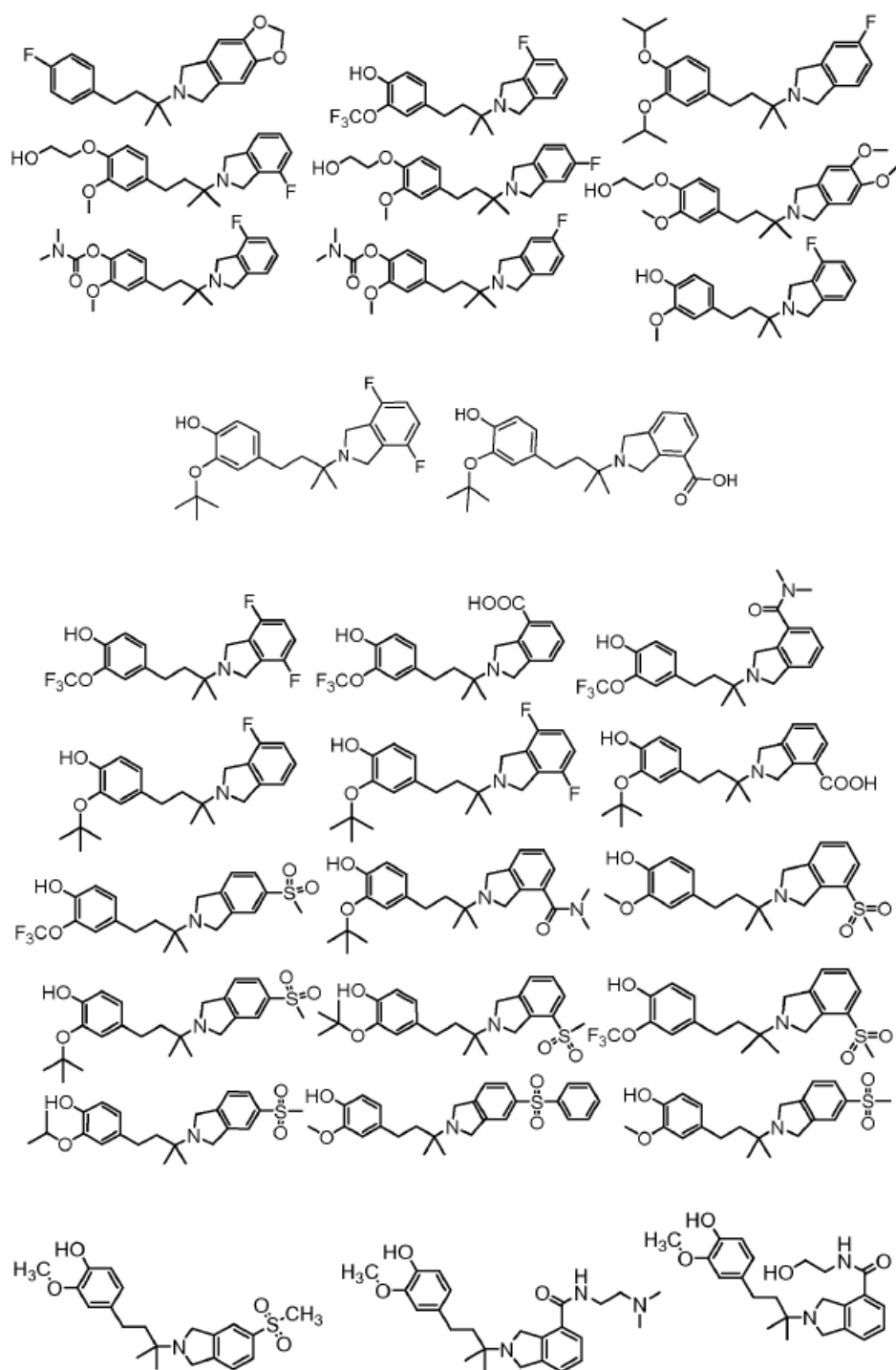
R₈ y R₉ se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H, Cl, F, OH, CH₃, alquilo C₁₋₆, OCH₃, OCH(CH₃)₂, OCH₂CH(CH₃)₂, OC(CH₃)₃, alquilo OC₁₋₆, arilo, heteroarilo, heterocicloalquilo, CO₂R', CONR'₂, NC(O)R', NS(O)_nR', S(O)_nNR'₂, S(O)_nR', OC(O)N(R')₂, o C(O)NH(alquilo C₁₋₄); y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

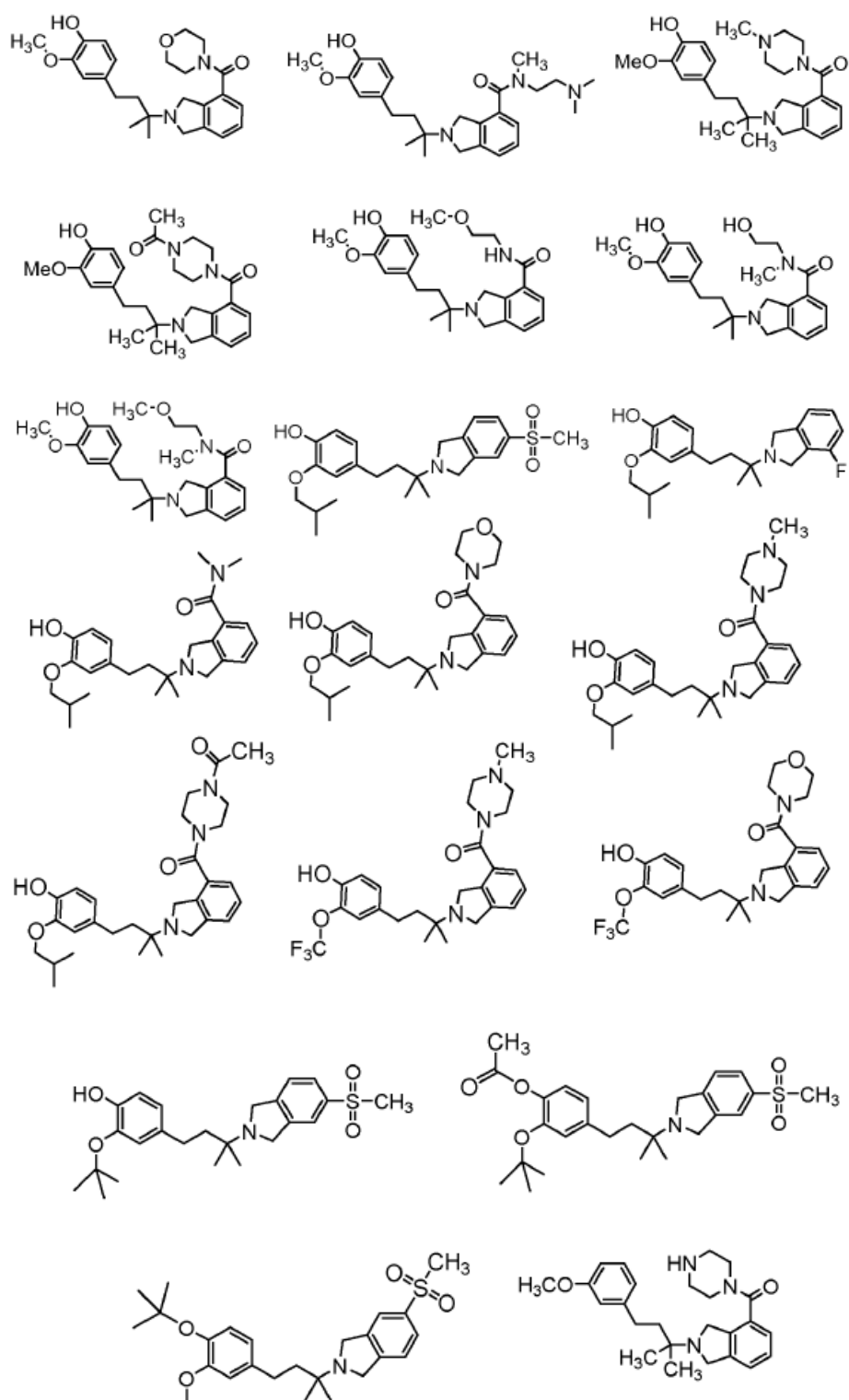
[0038] En otra realización, se proporciona un método/uso para inhibir un efecto de beta amiloide en una célula neuronal, que comprende administrar una composición que comprende una cantidad eficaz de un compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según la fórmula II, en donde por lo menos uno de R₃, R₄, R₅ y R₆ no es H; y por lo menos uno de R₈ y R₉ no es H.

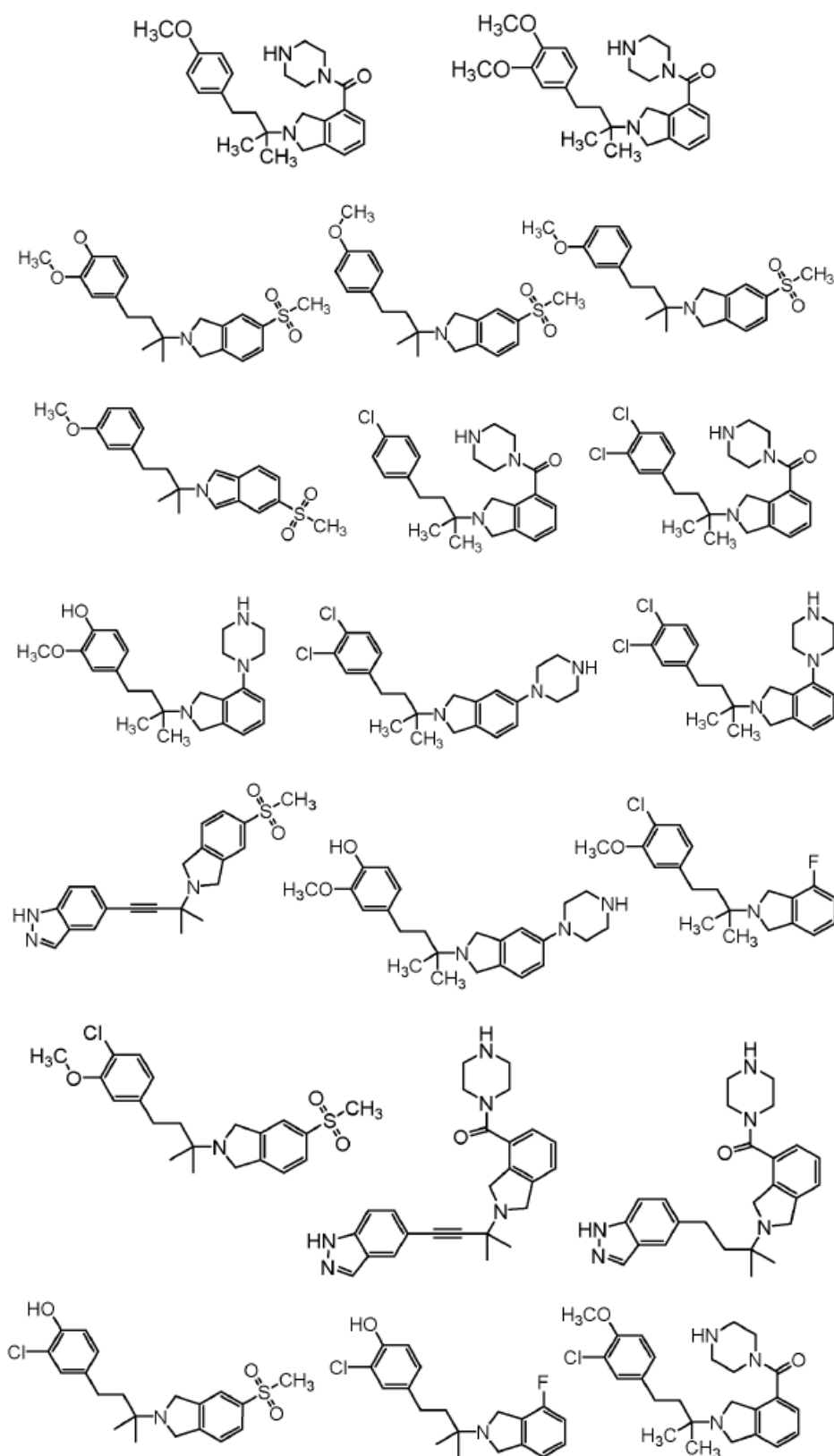
[0039] En otra realización, se proporciona un método/uso para inhibir un efecto de beta amiloide en una célula neuronal, que comprende administrar una composición que comprende una cantidad eficaz de un compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según la fórmula II, en donde R₃ y R₄ se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H, F, Cl, S(O)_nR', C(O)R', en donde n=2, y R' se selecciona de CH₃, piperacín-1-ilo, piperidin-1-ilo o morfolinilo; R₅ y R₆ son, cada uno de ellos, H; R₈ se selecciona de OH, OCH₃, OCH(CH₃)₂, OCH₂CH(CH₃)₂ u OC(CH₃)₃; y R₉ es OH.

[0040] En otra realización, se proporciona un método/uso para inhibir un efecto de beta amiloide en una célula neuronal, que comprende administrar una composición que comprende una cantidad eficaz de un compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y un vehículo farmacéuticamente aceptable, en donde el compuesto o sal del mismo, se selecciona del grupo consistente en:

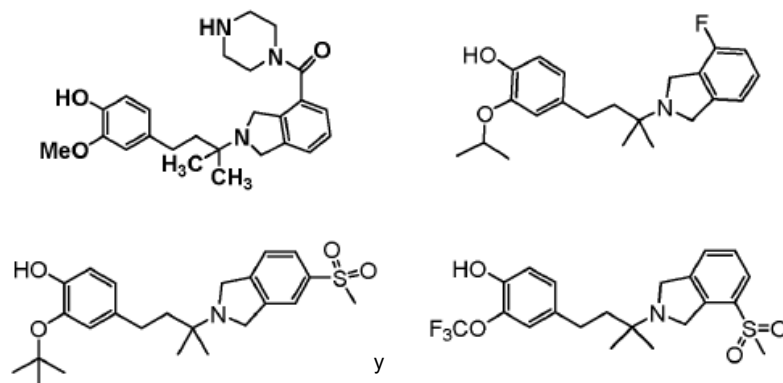




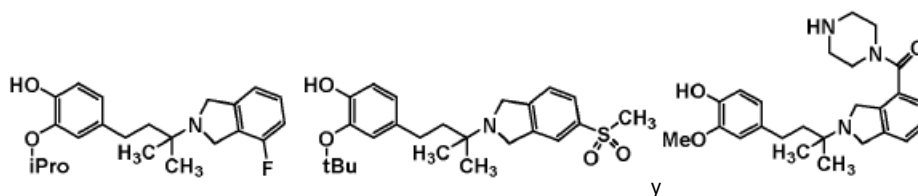




[0041] En otra realización, se proporciona un método/uso para inhibir un efecto de beta amiloide en una célula neuronal, que comprende administrar una composición que comprende una cantidad eficaz de un compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y un vehículo farmacéuticamente aceptable, en donde el compuesto, o sal del mismo, se selecciona del grupo consistente en:



[0042] En otra realización, se proporciona un método/uso para inhibir un efecto de beta amiloide en una célula neuronal, que comprende administrar una composición que comprende una cantidad eficaz de un compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y un vehículo farmacéuticamente aceptable, en donde el compuesto, o sal del mismo, se selecciona del grupo consistente en:



[0043] En otra realización, se proporciona un método/uso para inhibir la supresión de la potenciación a largo plazo en un sujeto que lo necesite, que comprende administrar, al sujeto, una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende un compuesto antagonista del receptor sigma-2, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según la Fórmula I y/o la Fórmula II; y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

[0044] En otra realización, se proporciona un método/uso para inhibir un declive cognitivo en un sujeto que presenta, o se encuentra en riesgo de presentar, declive cognitivo, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende un compuesto antagonista del receptor sigma-2, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de acuerdo con la Fórmula I y/o la Fórmula II; y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

[0045] En otra realización, se proporciona un método/uso para inhibir un declive cognitivo en un sujeto, asociado a un efecto de oligómeros de beta amiloide en neuronas centrales, que comprende administrar, al sujeto afectado con dicho declive cognitivo, una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición que comprende un compuesto antagonista del receptor sigma-2, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de acuerdo con la Fórmula I y/o la Fórmula II; y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

[0046] En otra realización, se proporciona un método/uso para el tratamiento de un deterioro cognitivo leve en la enfermedad de Alzheimer, en un sujeto que lo necesite, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición que comprende un compuesto antagonista del receptor sigma-2, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de acuerdo con la Fórmula I y/o la Fórmula II; y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

[0047] En una realización adicional, se proporcionan compuestos de isoindolina según la fórmula I y/o la fórmula II, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, que actúan como antagonistas del sigma-2 uniéndose a un receptor sigma-2 e inhibiendo la unión de oligómeros de A β a neuronas, y particularmente a sinapsis. En algunas realizaciones, el antagonista del sigma-2 compite con el oligómero de A β que se une a neuronas y específicamente a sinapsis, o, de otro modo, altera la capacidad del oligómero de A β de unirse a neuronas, por ejemplo, interfiriendo con la formación de oligómeros de A β o la unión a un oligómero de A β , o posiblemente interfiriendo con la capacidad del oligómero de A β de poner en marcha mecanismos de transducción de señales en relación con su unión a neuronas. En ciertas realizaciones, los antagonistas del sigma-2 inhiben, por tanto, un efecto patológico no letal del A β ("patología no letal de A β " o "patología no letal de beta amiloide"), que incluye un defecto en el tráfico de membrana, una disfunción sináptica, un defecto de memoria y aprendizaje en un animal, una reducción del número de sinapsis, un cambio en la longitud de las espinas dendríticas o la morfología de las espinas, o un defecto en la potenciación a largo plazo (LTP), entre otros.

[0048] En otras realizaciones, antagonistas del sigma-2, de isoindolina, que se proporcionan en la presente y que son activos en otros ensayos según se ilustra en este documento, poseen una capacidad de restablecer neuronas a un

estado normal o interferir con una disfunción sináptica inducida por oligómeros de A β . Sin ceñirse a restricciones teóricas, antagonistas del sigma-2 proporcionados en la presente interfieren con uno o más de una estructura de oligómeros de A β , la unión de oligómeros de A β a neuronas o mecanismos de señalización molecular inducidos por oligómeros de A β , lo cual es útil para contrarrestar los efectos no letales de oligómeros de A β y para tratar los primeros estadios de patologías asociadas a oligómeros de A β solubles.

[0049] En una realización, se proporcionan antagonistas del sigma-2 según la fórmula I y/o la fórmula II, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, que son antagonistas neuronales funcionales y se usan en un método de inhibición de la pérdida de sinapsis en una célula neuronal, estando asociada la pérdida a la exposición de la célula a uno o más oligómeros de Abeta u otros complejos de Abeta o, de manera más general, especies Abeta que incluyen péptidos de Abeta en forma monomérica u oligomérica u otra forma complejada soluble (según se define posteriormente), comprendiendo el método hacer entrar en contacto dicha célula con una cantidad de uno o más antagonistas del sigma-2 en una cantidad eficaz para rechazar o reducir dicha pérdida o para restablecer de manera parcial o completa el número de sinapsis en dicha célula a niveles pre-exposición.

[0050] En otra realización, se proporciona un método para modular un cambio del tráfico de membrana en una célula neuronal, estando asociado dicho cambio a la exposición de dicha célula a una o más especies Abeta, comprendiendo el método hacer entrar en contacto dicha célula con una cantidad de uno o más antagonistas del sigma-2 de acuerdo con la fórmula I y/o la fórmula II, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en una cantidad eficaz para rechazar o reducir dicho cambio de tráfico de membrana, o hacer que el mismo permanezca en o cerca de niveles observados antes de la exposición de dicha célula a dichas especies Abeta.

[0051] En otra realización, se proporcionan antagonistas del sigma-2 de acuerdo con la fórmula I y/o la fórmula II, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, que se usan en un método para tratar un declive cognitivo y que comprende administrar a un sujeto uno o más de los antagonistas del sigma-2 de la exposición.

[0052] En otra realización, se proporciona un método para tratar un declive cognitivo en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de uno o más antagonistas del sigma-2 de acuerdo con la fórmula I y/o la fórmula II, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

[0053] Todavía en otra realización, los antagonistas del sigma-2 de acuerdo con la fórmula I y/o la fórmula II, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, son antagonistas del sigma-2, neuronales, funcionales, usados en un método para tratar un declive cognitivo o trastorno neurodegenerativo o un defecto en la función y/o el número de sinapsis, que comprende administrar a un sujeto uno o más de los antagonistas del sigma-2 de la exposición.

[0054] Todavía en otra realización, se proporciona un método para tratar un declive cognitivo o trastorno neurodegenerativo o un defecto en la función y/o el número de sinapsis, en un sujeto, que comprende administrar a un sujeto uno o más de los antagonistas del sigma-2 de acuerdo con la fórmula I y/o la fórmula II, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, que son antagonistas del sigma-2, neuronales, funcionales.

[0055] En realizaciones adicionales, se proporcionan métodos que comprenden administrar uno o más antagonistas del receptor sigma-2 de acuerdo con la fórmula I y/o la fórmula II, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, a un sujeto que lo necesite, en una cantidad eficaz para inhibir una disfunción sináptica de una célula neuronal, inducida por oligómeros de beta amiloide; y/o para inhibir la supresión de la potenciación a largo plazo del hipocampo provocada por exposición de neuronas a oligómeros de Abeta.

Descripción detallada

[0056] Antes de describir de forma detallada compuestos, composiciones y métodos, debe entenderse que esta exposición no se limita a los procesos, composiciones o metodologías particulares descritos, en la medida en la que estos pueden variar. Debe entenderse también que la terminología usada en la descripción tiene la finalidad de describir solamente las versiones o realizaciones particulares, y no está destinada a limitar el alcance de la exposición el cual quedará limitado únicamente por las reivindicaciones adjuntas. A no ser que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente tienen el mismo significado que el entendido comúnmente por alguien con conocimientos habituales en la materia. Aunque, en la práctica o prueba de realizaciones de esta exposición, pueden usarse cualesquiera métodos y materiales similares o equivalentes a aquellos descritos en la presente, a continuación se describen los métodos, dispositivos y materiales preferidos.

[0057] Se aprecia, además, que ciertas características de la exposición, que, por motivos de claridad, se describen en el contexto de realizaciones independientes, también se pueden proporcionar en combinación en una única realización. A la inversa, varias características de la exposición que, por motivos de brevedad, se describen en el contexto de una única realización, también se pueden proporcionar por separado o en cualquier subcombinación adecuada.

Definiciones

- 5 **[0058]** Las fórmulas del singular “un”, “una”, “el” y “la” incluyen referencia a plurales a no ser que el contexto dictamine claramente lo contrario. Así, por ejemplo, una referencia a una “célula” es una referencia a una o más células y equivalentes de la misma conocidos por aquellos versados en la materia, y así sucesivamente.
- [0059]** Tal como se usa en la presente, el término “aproximadamente”, significa más o menos el 10 % de un valor dado. Por ejemplo, “aproximadamente el 50 %” significa en el intervalo del 45 % al 55 %.
- 10 **[0060]** “Ligando de sigma-2” se refiere a un compuesto que se une a un receptor sigma-2 e incluye agonistas, antagonistas, agonistas parciales, agonistas inversos y simplemente competidores para otros ligandos de este receptor o proteína.
- 15 **[0061]** El término “agonista” se refiere a un compuesto, cuya presencia da como resultado una actividad biológica de un receptor que es igual a la actividad biológica resultante por la presencia de un ligando, que se produce de forma natural, del receptor.
- 20 **[0062]** La expresión “agonista parcial” se refiere a un compuesto cuya presencia da como resultado una actividad biológica de un receptor que es del mismo tipo que la que resulta por la presencia de un ligando, que se produce de manera natural, del receptor, pero de una magnitud inferior.
- 25 **[0063]** El término “antagonistas”, se refiere a una entidad, por ejemplo, un compuesto, anticuerpo o fragmento, cuya presencia da como resultado una reducción de la magnitud de una actividad biológica de un receptor. En ciertas realizaciones, la presencia de un antagonista da como resultado una inhibición completa de una actividad biológica de un receptor. Tal como se usa en la presente, la expresión “antagonista del receptor sigma-2” se usa para describir un compuesto que actúa como un “antagonista funcional” en el receptor sigma-2 en la medida en la que bloquea efectos del Abeta, por ejemplo, una disfunción sináptica inducida por oligómeros de Abeta, por ejemplo, según se observa en un ensayo in vitro, tal como un ensayo de tráfico de membrana, o un ensayo de pérdida de sinapsis, o una activación, de la caspasa-3, por receptores sigma-2 con mediación de oligómeros de Abeta, o en un ensayo conductual, o en un paciente que lo necesite. El antagonista funcional puede actuar directamente inhibiendo la unión de, por ejemplo, un oligómero de Abeta a un receptor sigma-2, o indirectamente, interfiriendo con la señalización de aguas abajo resultante por la unión de oligómeros de Abeta al receptor sigma-2.
- 30 **[0064]** La expresión “compuesto antagonista del receptor sigma-2” se refiere a una molécula que se une a un receptor sigma-2 en una cantidad medible, y actúa como antagonista funcional con respecto a una disfunción sináptica inducida por oligómeros de efectos Abeta resultante por una unión a receptores sigma-2.
- 35 **[0065]** El término “selectividad” o “selectivo” se refiere a una diferencia en la afinidad de unión de un compuesto (K_i) para un receptor sigma, por ejemplo, un receptor sigma-2, en comparación con un receptor que no sea sigma. Los antagonistas del sigma-2 poseen una alta selectividad para un receptor sigma en neuronas sinápticas. La K_i para un receptor sigma-2 o para un receptor tanto sigma-2 como sigma-1 se compara con la K_i correspondiente a un receptor que no sea sigma. En algunas realizaciones, el antagonista selectivo del receptor sigma-2, o ligando del receptor sigma-1, tiene una afinidad de al menos 10 veces, 20 veces, 30 veces, 50 veces, 70 veces, 100 veces o 500 veces mayor, o más, para su unión a un receptor sigma en comparación con un receptor que no es sigma, según se evalúa mediante una comparación de valores de constante de disociación K_i de unión, o valores de IC_{50} , o constante de unión, en diferentes receptores. Para evaluar los valores de K_i o IC_{50} en diferentes receptores se puede usar cualquier protocolo de ensayo conocido, por ejemplo, monitorizando el desplazamiento competitivo con respecto a receptores, de un compuesto radiomarcado, con una constante de disociación conocida, por ejemplo, con el método de Cheng y Prusoff (1973) (*Biochem. Pharmacol.* 22, 3099-3108), o específicamente según se prevé en la presente. En algunas realizaciones, el compuesto antagonista del sigma-2 es un anticuerpo, o fragmento de unión activo del mismo, específico para la unión a un receptor sigma-2 en comparación con un receptor que no es sigma. En el caso de un anticuerpo, o fragmento, las constantes de unión en un receptor sigma-2, o fragmento, se pueden calcular y comparar con constantes de unión en un receptor que no es sigma mediante cualesquiera medios conocidos en la materia, por ejemplo, con el método de Beatty et al., 1987, *J Immunol Meth*, 100(1-2):173-179, o el método de Chalquest, 1988, *J. Clin. Microbiol.* 26(12): 2561-2563. El receptor que no es sigma se selecciona, por ejemplo, de un receptor M1-M4 muscarínico, un receptor de serotonina (5-HT), un receptor alfa adrenérgico, un receptor beta adrenérgico, un receptor opioide, un transportador de serotonina, un transportador de dopamina, un transportador adrenérgico, un receptor de dopamina, o un receptor NMDA.
- 40 **[0066]** En la presente solicitud, la expresión “alta afinidad” está destinada a significar un compuesto que presenta un valor de K_i inferior a 600 nM, 500 nM, 400 nM, 300 nM, 200 nM, inferior a 150 nM, inferior a 100 nM, inferior a 80 nM, inferior a 60 nM, o, preferentemente, inferior a 50 nM, en un ensayo de unión a receptores sigma, por ejemplo contra [3 H]-DTG, según dan a conocer Weber et al., *Proc. Natl. Acad. Sci (USA)* 83: 8784-8788 (1986), que mide la afinidad de unión de compuestos hacia sitios receptores tanto sigma-1 como sigma-2. Los ligandos de sigma especialmente

preferidos presentan valores de K_i inferiores a 150 nM, preferentemente inferiores a 100 nM, inferiores a aproximadamente 60 nM, inferiores a aproximadamente 10 nM, o inferiores a aproximadamente 1 nM contra [3 H]-DTG.

[0067] La expresión “fenotipo terapéutico” se usa para describir un patrón de actividad para compuestos en los ensayos in vitro, que es predictivo de eficacia conductual. Se dice que un compuesto que (1) se une selectivamente con una alta afinidad a un receptor sigma-2, y (2) actúa como antagonista funcional con respecto a efectos inducidos por oligómeros de Abeta en una neurona, tiene el “fenotipo terapéutico” si (i) bloquea o reduce déficits de tráfico de membrana inducidos por A β ; (ii) bloquea o reduce una pérdida de sinapsis inducida por A β y (iii) no afecta al tráfico o número de sinapsis en ausencia de oligómero de Abeta. Este patrón de actividad en los ensayos in vitro se denomina “fenotipo terapéutico” y es predictivo de eficacia conductual.

[0068] La expresión “perfil terapéutico” se usa para describir un compuesto que cumple el fenotipo terapéutico, y también tiene una buena penetrabilidad en el cerebro (la capacidad de atravesar la barrera hematoencefálica), una buena estabilidad plasmática y una buena estabilidad metabólica.

[0069] La expresión “propiedades de tipo fármaco” se usan en la presente para describir las características farmacocinéticas y de estabilidad de los ligandos del receptor sigma-2 tras administración; incluyendo penetrabilidad en el cerebro, estabilidad metabólica y/o estabilidad plasmática.

[0070] “Especies Abeta” o “A β ” incluirán composiciones que comprenden componentes que contienen péptidos amiloides solubles, tales como monómeros de Abeta, oligómeros de Abeta, o complejos de péptido Abeta (en forma monomérica, dimérica o polimérica) con otros péptidos o proteínas solubles así como otros ensamblajes de Abeta solubles, incluyendo cualquier producto procesado de proteína precursora de amiloide. Se sabe que los oligómeros de A β solubles son neurotóxicos. Se sabe incluso que los dímeros de A β_{1-42} perjudican la plasticidad sináptica en rodajas de hipocampo de ratón. En una de las teorías conocidas en la materia, los monómeros de A β_{1-42} nativos se consideran neuroprotectores, y, para la neurotoxicidad, se requiere una autoasociación de monómeros de A β en oligómeros de Abeta solubles. No obstante, se ha informado de que ciertos monómeros mutantes de A β (mutación *arctic* (E22G)) están asociados a la AD familiar. Véase, por ejemplo, de Giuffrida et al., *β -Amyloid monomers are neuroprotective*. *J. Neurosci.* 2009 29(34):10582-10587. Se dan a conocer ejemplos no limitativos de preparaciones que comprenden especies Abeta en la solicitud de patente de Estados Unidos n.º de serie 13/021.872; la publicación de patente de Estados Unidos 2010/0240868; la solicitud de patente internacional WO/2004/067561; la solicitud de patente internacional WO/2010/011947; la publicación de patente de Estados Unidos 20070098721; la publicación de patente de Estados Unidos 20100209346; la solicitud de patente internacional WO/2007/005359; la publicación de patente de Estados Unidos 20080044356; la publicación de patente de Estados Unidos 20070218491; el documento WO/2007/126473; la publicación de patente de Estados Unidos 20050074763; la solicitud de patente internacional WO/2007/126473, la solicitud de patente internacional WO/2009/048631, y la publicación de patente de Estados Unidos 20080044406.

[0071] “Administrar”, cuando se usa en combinación con los compuestos de la exposición, significa administrar un compuesto directamente en o sobre un tejido diana o administrar un compuesto de manera sistémica o local a un paciente u otro sujeto.

[0072] El término “animal” según se use en la presente incluye, aunque sin carácter limitativo, humanos y vertebrados no humanos, tales como animales salvajes, de experimentación, domésticos y de granja y animales de compañía.

[0073] Según se usa en la presente, los términos “sujeto”, “individuo”, y “paciente” se usan de manera intercambiable y se refieren a cualquier animal, incluyendo mamíferos, ratones, ratas, otros roedores, conejos, perros, gatos, cerdos, ganado bovino, ovejas, caballos, primates, primates no humanos, humanos, y similares.

[0074] Según se usa en la presente, la expresión “hacer entrar en contacto” se refiere a juntar o combinar moléculas (o una molécula con una estructura de orden superior, tal como una célula o membrana celular) de tal manera que las mismas se encuentren a una distancia que permita interacciones intermoleculares, tales como la interacción no covalente entre dos péptidos o una proteína y otra proteína u otra molécula, tal como una molécula pequeña. En algunas realizaciones, el contacto se produce en una solución en la cual las moléculas combinadas o contactadas se mezclan en un disolvente común y se deja que se asocien libremente. En algunas realizaciones, el contacto se puede producir en, o, de otra manera, dentro de, una célula o en un entorno libre de células. En algunas realizaciones, el entorno libre de células es el lisado producido a partir de una célula. En algunas realizaciones, un lisado celular puede ser un lisado de células completas, un lisado nuclear, un lisado citoplasmático, y combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, el lisado libre de células es un lisado obtenido a partir de una extracción nuclear y un aislamiento, en donde los núcleos de una población de células se extraen de las células y a continuación se lisan. En algunas realizaciones, los núcleos no se lisan, pero siguen considerándose un entorno libre de células. Las moléculas se pueden juntar por mezclado, tal como movimiento vorticial, agitación, y similares.

[0075] El término “mejora” se usa para significar que la exposición hace que cambien o bien las características y/o bien los atributos físicos del tejido al cual se está proporcionando, aplicando o administrando. El término “mejora” también se puede usar en combinación con un estado de enfermedad de tal manera que cuando se “mejora” un estado de una enfermedad, los síntomas o características físicas asociados al estado de la enfermedad se disminuyen, reducen, eliminan, retardan o rechazan.

[0076] El término “inhibir” incluye el bloqueo, rechazo de un cierto resultado o proceso, o el restablecimiento del resultado o proceso contrario. En términos de profilaxis o tratamiento por administración de un compuesto de la exposición, “inhibir” incluye proteger contra (de manera parcial o completa) o retardar la aparición de síntomas, aliviar síntomas, o proteger contra, disminuir o eliminar una enfermedad, afección o trastorno.

[0077] La expresión “inhibir déficits de tráfico” se refiere a la capacidad de bloquear déficits de tráfico de membrana inducidos por oligómeros de Ab solubles, en una célula, preferentemente una célula neuronal. Un compuesto capaz de inhibir déficits de tráfico tiene una $EC_{50} < 20 \mu M$, inferior a $15 \mu M$, inferior a $10 \mu M$, inferior a $5 \mu M$, y, preferentemente, inferior a $1 \mu M$ en el ensayo de tráfico de membrana, y, además, es capaz de una inhibición máxima de al menos un 50%, preferentemente al menos el 60%, y más preferentemente al menos el 70%, de los efectos de oligómeros de Abeta de déficits de tráfico de membrana inducidos por oligómeros de Abeta solubles, por ejemplo, según se describe en el Ejemplo 6.

[0078] La expresión “log P” se refiere al coeficiente de partición de un compuesto. El coeficiente de partición es la relación de concentraciones de compuesto no ionizado en cada una de dos fases de una solución, por ejemplo, octanol y agua. Para medir el coeficiente de partición de compuestos de soluto ionizables, el pH de la fase acuosa se ajusta de tal manera que la forma predominante del compuesto esté no ionizada. Al logaritmo de la relación de concentraciones del compuesto de soluto no ionizado en los disolventes se le denomina log P. Log P es una medida de la lipofilicidad. Por ejemplo,

$$\log P_{\text{oct/agu}} = \log ([\text{soluto}]_{\text{octanol}}/[\text{soluto}]_{\text{sin ionizar, agua}}).$$

[0079] En diversos lugares de la presente memoria descriptiva, los sustituyentes de compuestos de la exposición se dan a conocer en grupos o en intervalos. Específicamente, se pretende que realizaciones de la exposición incluyan toda y cada una de las subcombinaciones individuales de los miembros de dichos grupos e intervalos. Por ejemplo, la expresión “alquilo C_{1-6} ” está destinada específicamente a dar a conocer de manera individual, por ejemplo, metil(alquilo C_1), etil(alquilo C_2), alquilo C_3 , alquilo C_4 , alquilo C_5 y alquilo C_6 así como, por ejemplo, alquilo C_1-C_2 , alquilo C_1-C_3 , alquilo C_1-C_4 , alquilo C_2-C_3 , alquilo C_2-C_4 , alquilo C_3-C_6 , alquilo C_4-C_5 , y alquilo C_5-C_6 .

[0080] Para compuestos de la exposición en los que una variable aparece más de una vez, cada variable puede ser una fracción diferente seleccionada del grupo de Markush que define la variable. Por ejemplo, cuando se describe una estructura que tiene dos grupos R que están presentes simultáneamente en el mismo compuesto, entonces los dos grupos R pueden representar fracciones diferentes seleccionadas del grupo de Markush definido para R.

[0081] La expresión “de n miembros”, donde n es un entero, describe típicamente el número de átomos que forman un anillo en una fracción, en donde el número de átomos que forman un anillo es n. Por ejemplo, piridina es un ejemplo de un anillo heteroarilo de 6 miembros y tiofeno es un ejemplo de un grupo heteroarilo de 5 miembros.

[0082] Tal como se usa en la presente, el término “alquilo” pretende referirse a un grupo hidrocarburo saturado que es de cadena lineal o ramificado. Los grupos alquilo de ejemplo incluyen, aunque sin carácter limitativo, metilo (Me), etilo (Et), propilo (por ejemplo, n-propilo e isopropilo), butilo (por ejemplo, n-butilo, isobutilo, t-butilo), pentilo (por ejemplo, n-pentilo, isopentilo, neopentilo), y similares. Un grupo alquilo puede contener de 1 a aproximadamente 20, de 2 a aproximadamente 20, de 1 a aproximadamente 10, de 1 a aproximadamente 8, de 1 a aproximadamente 6, de 1 a aproximadamente 4, o de 1 a aproximadamente 3 átomos de carbono. El término “alquilenilo” se refiere a un grupo de enlace alquilo bivalente, un ejemplo de alquilenilo es el metileno (CH_2).

[0083] Tal como se usa en la presente, “alquenilo” se refiere a un grupo alquilo que tiene uno o más enlaces carbono-carbono dobles. Los ejemplos de grupos alquenilo incluyen, aunque sin carácter limitativo, etenilo, propenilo, ciclohexenilo y similares. El término “alquenilenilo” se refiere a un grupo alquenilo de enlace bivalente.

[0084] Tal como se usa en la presente, “alquinilo” se refiere a un grupo alquilo que tiene uno o más enlaces carbono-carbono triples. Los ejemplos de grupos alquinilo incluyen, aunque sin carácter limitativo, etinilo, propinilo y similares. El término “alquinilenilo” se refiere a un grupo alquinilo de enlace bivalente.

[0085] Tal como se usa en la presente, “haloalquilo” se refiere a un grupo alquilo que tiene uno o más sustituyentes halógenos seleccionados de F, Cl, Br y/o I. Los grupos haloalquilo de ejemplo incluyen, aunque sin carácter limitativo, CF_3 , C_2F_5 , CHF_2 , CCl_3 , $CHCl_2$, C_2Cl_5 , CH_2CF_3 , y similares.

[0086] Tal como se usa en la presente, “arilo” se refiere a hidrocarburos aromáticos monocíclicos o policíclicos (por ejemplo, que tienen 2, 3, ó 4 anillos fusionados) tales como, por ejemplo, fenilo, naftilo, antraceno, fenantreno, indanilo, indenilo y similares. En algunas realizaciones, los grupos arilo tienen de 6 a aproximadamente 20 átomos de carbono. En algunas realizaciones, los grupos arilo tienen de 6 a aproximadamente 10 átomos de carbono.

[0087] Tal como se usa en la presente, “cicloalquilo” se refiere a hidrocarburos cíclicos no aromáticos que incluyen grupos alquilo, alqueno y alquino ciclados que contienen hasta 20 átomos de carbono que forman el anillo. Los grupos cicloalquilo pueden incluir sistemas anulares mono- o policíclicos (por ejemplo, que tienen 2, 3 ó 4 anillos fusionados), así como sistemas anulares espiro. Un grupo cicloalquilo puede contener de 3 a aproximadamente 15, de 3 a aproximadamente 10, de 3 a aproximadamente 8, de 3 a aproximadamente 6, de 4 a aproximadamente 6, de 3 a aproximadamente 5, o de 5 a aproximadamente 6 átomos de carbono que forman el anillo. Los átomos de carbono que forman el anillo de un grupo cicloalquilo se pueden sustituir opcionalmente con oxo o sulfido. Los ejemplos de grupos cicloalquilo incluyen, aunque sin carácter limitativo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclopentenilo, ciclohexenilo, ciclohexadienilo, cicloheptatrienilo, norbornilo, norpinilo, norcarnilo, adamantilo, y similares. En la definición de cicloalquilo se incluyen también fracciones que tienen uno o más anillos aromáticos fusionados (es decir, que tienen un enlace en común con) al anillo cicloalquilo, por ejemplo, derivados benzo o tienilo de pentano, penteno, hexano, y similares (por ejemplo, 2,3-dihidro-1H-indeno-1-ilo, ó 1H-inden-2(3H)-ona-1-ilo). Preferentemente, “cicloalquilo” se refiere a grupos alquilo ciclados que contienen hasta 20 átomos de carbono que forman el anillo. Los ejemplos de cicloalquilo incluyen, preferentemente, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, adamantilo y similares.

[0088] Tal como se usa en la presente, grupos “heteroarilo” se refieren a un heterociclo aromático que tiene hasta 20 átomos que forman el anillo y que tienen por lo menos un miembro heteroátomo en el anillo (átomo que forma el anillo) tal como azufre, oxígeno o nitrógeno. En algunas realizaciones, el grupo heteroarilo tiene por lo menos uno o más átomos heteroátomos que forman el anillo, seleccionados independientemente, cada uno de ellos, de azufre, oxígeno, y nitrógeno, los grupos heteroarilo incluyen sistemas monocíclicos y policíclicos (por ejemplo, que tienen 2, 3 ó 4 anillos fusionados). Los ejemplos de grupos heteroarilo incluyen sin carácter limitativo, piridilo, pirimidinilo, piracinilo, piridacínilo, triacínilo, furilo, quinolilo, isoquinolilo, tienilo, imidazolilo, tiazolilo, indolilo, pirrilo, oxazolilo, benzofurilo, benzotienilo, benzotiazolilo, isoxazolilo, pirazolilo, triazolilo, tetrazolilo, indazolilo, 1,2,4-tiadiazolilo, isotiazolilo, benzotienilo, purinilo, carbazolilo, bencimidazolilo, indolinilo y similares. En algunas realizaciones, el grupo heteroarilo tiene de 1 a aproximadamente 20 átomos de carbono, y, en realizaciones adicionales, de aproximadamente 1 a aproximadamente 5, de aproximadamente 1 a aproximadamente 4, de aproximadamente 1 a aproximadamente 3, de aproximadamente 1 a aproximadamente 2, átomos de carbono como átomos que forman el anillo. En algunas realizaciones, el grupo heteroarilo contiene de 3 a aproximadamente 14, de 3 a aproximadamente 7, o de 5 a 6 átomos que forman el anillo. En algunas realizaciones, el grupo heteroarilo tiene de 1 a aproximadamente 4, de 1 a aproximadamente 3, ó de 1 a 2 heteroátomos.

[0089] Tal como se usa en la presente, “heterocicloalquilo” se refiere a heterociclos no aromáticos que tienen hasta 20 átomos que forman el anillo, incluyendo grupos alquilo, alqueno y alquino ciclados en donde uno o más de los átomos de carbono que forman el anillo está sustituido por un heteroátomo tal como un átomo de O, N ó S. Los grupos heterocicloalquilo pueden ser mono o policíclicos (por ejemplo, sistemas tanto fusionados como espiro). Los grupos “heterocicloalquilo” de ejemplo incluyen morfolino, tiomorfolino, piperacínilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidrotienilo, 2,3-dihidrobenzofurilo, 1,3-benzodioxol, benzo-1,4-dioxano, piperidinilo, pirrolidinilo, isoxazolidinilo, isotiazolidinilo, pirazolidinilo, oxazolidinilo, tiazolidinilo, imidazolidinilo, pirrolidin-2-ona-3-ilo, y similares. Los átomos de carbono y heteroátomos que forman el anillo de un grupo heterocicloalquilo pueden estar sustituidos opcionalmente por oxo o sulfido. Por ejemplo, un átomo de S que forma el anillo puede estar sustituido por 1 ó 2 oxo [es decir, formar un S(O) ó S(O)₂]. Como otro ejemplo, un átomo de C que forma el anillo puede estar sustituido por oxo (es decir, formar carbonilo). En la definición de heterocicloalquilo se incluyen también fracciones que tienen uno o más anillos aromáticos fusionados (es decir, que tienen un enlace en común con) al anillo heterocíclico no aromático, por ejemplo, piridinilo, tiofenilo, ftalimidilo, naftalimidilo, y derivados benzo de heterociclos, tales como grupos indolina, isoindolina, isoindolin-1-ona-3-ilo, 4,5,6,7-tetrahidrotieno[2,3-c]piridin-5-ilo, 5,6-dihidrotieno[2,3-c]piridin-7(4H)-ona-5-ilo, y 3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona-3-ilo. Los átomos de carbono y heteroátomos que forman el anillo del grupo heterocicloalquilo pueden estar sustituidos opcionalmente con oxo o sulfido. En algunas realizaciones, el grupo heterocicloalquilo tiene de 1 a aproximadamente 20 átomos de carbono, y, en realizaciones adicionales, de aproximadamente 3 a aproximadamente 20 átomos de carbono. En algunas realizaciones, el grupo heterocicloalquilo contiene de 3 a aproximadamente 14, de 3 a aproximadamente 7, ó de 5 a 6 átomos que forman el anillo. En algunas realizaciones, el grupo heterocicloalquilo tiene de 1 a aproximadamente 4, de 1 a aproximadamente 3, ó de 1 a 2 heteroátomos. En algunas realizaciones, el grupo heterocicloalquilo contiene de 0 a 3 enlaces dobles. En algunas realizaciones, el grupo heterocicloalquilo contiene de 0 a 2 enlaces triples.

[0090] Tal como se usa en la presente, “halo” o “halógeno” incluye fluoro, cloro, bromo y yodo.

[0091] Tal como se usa en la presente, “alcoxi” se refiere a un grupo -O-alquilo. Los ejemplos de grupos alcoxi incluyen metoxi, etoxi, propoxi (por ejemplo, n-propoxi e isopropoxi), t-butoxi y similares.

- 5 **[0092]** Tal como se usa en la presente, “haloalcoxi” se refiere a un grupo -O-haloalquilo. Un grupo haloalcoxi de ejemplo es OCF_3 . Tal como se usa en la presente, “trihalometoxi” se refiere a un grupo metoxi que tiene tres sustituyentes halógenos. Los ejemplos de grupos trihalometoxi incluyen, aunque sin carácter limitativo, $-\text{OCF}_3$, $-\text{OCClF}_2$, $-\text{OCCl}_3$, y similares.
- [0093]** Tal como se usa en la presente, “arilalquilo” se refiere a un alquilo C_{1-6} sustituido por arilo y “cicloalquilalquilo” se refiere a alquilo C_{1-6} sustituido por cicloalquilo.
- 10 **[0094]** Tal como se usa en la presente, “heteroarilalquilo” se refiere a un grupo alquilo C_{1-6} sustituido por un grupo heteroarilo, y “heterocicloalquilalquilo” se refiere a un alquilo C_{1-6} sustituido por heterocicloalquilo.
- [0095]** Tal como se usa en la presente, “amino” se refiere a NH_2 .
- 15 **[0096]** Tal como se usa en la presente, “alquilamino” se refiere a un grupo amino sustituido por un grupo alquilo.
- [0097]** Tal como se usa en la presente, “dialquilamino” se refiere a un grupo amino sustituido por dos grupos alquilo.
- 20 **[0098]** Tal como se usa aquí, $\text{C}(\text{O})$ se refiere a $\text{C}(=\text{O})$.
- [0099]** Tal como se usa en la presente, la expresión “opcionalmente sustituido” significa que la sustitución es opcional y, por lo tanto, incluye átomos y fracciones tanto no sustituido como sustituidos. Un átomo o fracción “sustituido” indica que cualquier hidrógeno en el átomo o fracción designados se puede sustituir con una selección del grupo sustituyente indicado, siempre que no se supere la valencia normal del átomo o fracción designado, y que la sustitución da como resultado un compuesto estable. Por ejemplo, si un grupo metilo (es decir, CH_3) está opcionalmente sustituido, entonces 25 3 átomos de hidrógeno en el átomo de carbono se pueden sustituir con grupos sustituyentes, según se indique.
- [0100]** Tal como se usa en la presente, un “efecto” de beta amiloide, por ejemplo, un “efecto no letal de beta amiloide”, o “efecto de oligómero de Abeta”, se refiere a un efecto, particularmente un efecto no letal, sobre una célula con la que entra en contacto una especie de Abeta. Por ejemplo, se ha observado que cuando se hace entrar en contacto una célula neuronal con un oligómero de beta amiloide (“Abeta”) soluble, los oligómeros se unen a un subconjunto de sinapsis en un subconjunto de células neuronales in vitro. Esta unión se puede cuantificar en un ensayo que mide la unión de oligómeros de Abeta in vitro, por ejemplo. Otro de los efectos documentados de las especies de Abeta es una reducción del número de sinapsis, del cual se ha notificado que es de aproximadamente un 18% en el hipocampo humano (Scheff et al, 2007) y se puede cuantificar (por ejemplo, en un ensayo que mide el número de sinapsis). Como otro ejemplo, se ha observado que, cuando se hace entrar en contacto una célula neuronal con un oligómero de beta amiloide (“Abeta”), se modula el tráfico de membrana y de allí sucede una alteración del tráfico de membrana. Esta anomalía se puede visualizar con muchos ensayos, que incluyen, aunque sin carácter limitativo, un ensayo MTT. Por ejemplo, sales de tetrazolio amarillas son incorporadas mediante endocitosis por células y las sales se reducen a formazán púrpura insoluble por parte de enzimas situadas dentro de vesículas en la vía endosómica. El nivel de formazán púrpura es un reflejo del número de células activamente metabolizadoras en el cultivo, y, la reducción en la cantidad de formazán, se toma como una medición de la muerte celular o toxicidad metabólica en el cultivo. Cuando, a través de un microscopio, se observan células que se hacen entrar en contacto con una sal de tetrazolio amarilla, en primer lugar el formazán púrpura es visible en vesículas intracelulares que llenan la célula. Con el tiempo, las vesículas experimentan exocitosis y el formazán precipita en forma de cristales con forma de agujas en la superficie exterior de la membrana plasmática en la medida en la que el formazán insoluble queda expuesto al entorno del medio acuoso. Todavía otros efectos de las especies de Abeta incluyen declive cognitivo, tal como un declive en la capacidad de formar recuerdos nuevos y pérdida de memoria que se puede medir en ensayos usando modelos animales *in vivo*. En algunas realizaciones, un efecto de Abeta se selecciona de disfunción sináptica inducida por oligómeros de Abeta, por ejemplo, según se observa en un ensayo in vitro, tal como un ensayo de tráfico de membrana, o un ensayo de pérdida de sinapsis, o una activación de caspasa-3, por receptores sigma-2 con mediación de oligómeros de Abeta, o una disfunción neuronal inducida por Abeta, una reducción, mediada por Abeta, en la potenciación a largo plazo (LTP), o en declive cognitivo en un ensayo conductual, o en un paciente que lo necesite.
- 55 **[0101]** En algunas realizaciones, se dice que un compuesto de prueba es eficaz para tratar un declive cognitivo o una enfermedad asociada al mismo, cuando puede inhibir un efecto asociado a especies de oligómeros de Abeta solubles, en una célula neuronal, en más de aproximadamente un 10%, preferentemente en más de un 15%, y, preferentemente, en más de un 20%, en comparación con un control negativo. En algunas realizaciones, se dice que un agente de prueba es eficaz cuando puede inhibir un efecto mediado por un producto procesado de proteínas precursoras de amiloides, en más de aproximadamente un 10%, preferentemente en más de un 15%, y, preferentemente, en más de un 20%, en comparación con un control positivo. Por ejemplo, tal como se muestra en los Ejemplos Posteriores, la inhibición de la unión de oligómeros de Abeta en solamente un 18% inhibe completamente la reducción de sinapsis. Por ejemplo, véanse las FIGs. 3C y 3D. Aunque la presente memoria descriptiva se centra en la inhibición de efectos no letales de especies de Abeta, tales como anomalías en el metabolismo neuronal y reducción del número de sinapsis, se revela
- 60

que los mismos están en correlación con la función cognitiva y se espera, además, que, con el tiempo, den como resultado una reducción (en comparación con sujetos no tratados) de síntomas medibles, aguas abajo, de la patología amiloide, especialmente síntomas clínicos tales como 1) acumulación de fibrillas o placas medida con agentes de formación de imágenes de amiloides, tales como fluorbetapir, PittB o cualquier otro agente para formación de imágenes, 2) pérdida de sinapsis o muerte celular según se miden por hipometabolismo de glucosa detectado con FDG-PET, ó 3) cambios de la expresión proteica o cantidad de metabolitos en el cerebro o cuerpo detectables por formación de imágenes o detección de proteínas/metabolitos en fluido cerebroespinal, biopsias cerebrales o plasma obtenidos de pacientes mediante ELISA, (tales como cambios en los niveles y relaciones de Abeta 42, tau fosforilada, tau total medida con ELISA, o patrones de cambios de expresión proteica detectables en un panel ELISA (véase la referencia: Wyss-Coray T. et al. *Modeling of pathological traits in Alzheimer's disease based on systemic extracellular signaling proteome*. Mol Cell Proteomics 8 de julio de 2011), 4) anomalías cerebrovasculares según se miden con la presencia de edema vascular o microhemorragias detectables por MRI y cualesquiera otros síntomas detectables mediante técnicas de formación de imágenes, y 5) pérdida cognitiva según se mide con cualquier test de cognición administrado, tal como ADAS-Cog, MMSE, CBIC o cualquier otro instrumento de test cognitivo.

[0102] Tal como se usa en la presente, la expresión “una célula neuronal” se puede usar para referirse a una única célula o a una población de células. En algunas realizaciones, la célula neuronal es una célula neuronal primaria. En algunas realizaciones, la célula neuronal es una célula neuronal inmortalizada o transformada o una célula madre. Una célula neuronal primaria es una célula neuronal que no se puede diferenciar en otros tipos de células neuronales, tales como las células gliales. Una célula madre es aquella que se puede diferenciar en neuronales y otros tipos de células neuronales, tal como la glía. En algunas realizaciones, ensayos utilizan una composición que comprende por lo menos una célula neuronal libre de células gliales. En algunas realizaciones, la composición comprende menos de aproximadamente un 30%, un 25%, un 20%, un 15%, un 10%, un 5%, o un 1% de células gliales, de las cuales se sabe que asimilan y acumulan Abeta. La célula neuronal primaria se puede obtener a partir de cualquier área del cerebro de un animal. En algunas realizaciones, la célula neuronal es una célula del hipocampo o cortical. La presencia de células gliales se puede determinar por cualquier método. En algunas realizaciones, se detectan células gliales por la presencia de GFAP y pueden detectarse neuronas mediante tinción positiva con anticuerpos dirigidos contra MAP2.

[0103] La expresión “farmacéuticamente aceptable” se refiere a composiciones y entidades moleculares que se consideran, en general, como seguras y atóxicas. En particular, los vehículos, diluyentes u otros excipientes farmacéuticamente aceptables usados en las composiciones farmacéuticas de esta exposición son fisiológicamente tolerables, compatibles con otros ingredientes, y, típicamente, no producen una reacción alérgica u otra reacción adversa similar (por ejemplo, malestar gástrico, vértigos y similares) cuando se administran a un paciente. Preferentemente, tal como se usa en la presente, la expresión “farmacéuticamente aceptable” significa aprobado por una agencia reguladoras del gobierno federal o estatal o incluido en la Farmacopea de Estados Unidos u otra farmacopea reconocida de manera general para su uso en animales, y, más particularmente, en humanos. La expresión “sal(es) farmacéuticamente aceptable(s)”, según se usa en la presente, incluye aquellas sales de compuestos de la exposición que son seguras y eficaces para su uso en mamíferos y que poseen la actividad biológica deseada. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales de grupos ácidos o básicos presentes en compuestos de la exposición o en compuestos identificados de acuerdo con los métodos de la exposición. Las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables incluyen, aunque sin carácter limitativo, sales clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, nitrato, sulfato, bisulfato, fosfato, fosfato ácido, isonicotinato, acetato, lactato, salicilato, citrato, tartrato, pantotenato, bitartrato, ascorbato, succinato, maleato, genticinato, fumarato, gluconato, glucaronato, sacarato, formiato, benzoato, glutamato, metanosulfonato, etanosulfonato, bencensulfonato, p-toluensulfonato y pamoato (es decir, 1,1'-metilen-bis-(2-hidroxi-3-naftoato)). Ciertos compuestos de la exposición pueden formar sales farmacéuticamente aceptables con diversos aminoácidos. Las sales básicas adecuadas incluyen, aunque sin carácter limitativo, sales de aluminio, calcio, litio, magnesio, potasio, sodio, cinc, hierro y dietanolamina. También se forman sales de adición de bases farmacéuticamente aceptables, con aminas, tales como aminas orgánicas. Ejemplos de aminas adecuadas son N,N'-dibenciletildiamina, cloroprocaína, colina, dietanolamina, diciclohexilamina, etilendiamina, N-metilglucamina y procaína.

[0104] Tal como se usa en la presente, el término “terapéutico” significa un agente utilizado para tratar, combatir, enmendar, ofrecer protección contra o mejorar una afección o enfermedad no deseada de un sujeto.

[0105] Tal como se usa en la presente, la expresión “cantidad eficaz” se refiere a una cantidad que da como resultado una inhibición medible de por lo menos un síntoma o parámetro de un trastorno o proceso patológico específico. Por ejemplo una cantidad de un ligando de sigma-2 de la exposición que proporciona una reducción de sinapsis que se puede medir como menor, en presencia de un oligómero de Abeta, cumple los requisitos de cantidad eficaz ya que reduce un proceso patológico incluso si no se modifican síntomas clínicos de la patología amiloide, al menos inmediatamente.

[0106] Una “cantidad terapéuticamente eficaz” o “cantidad eficaz” de un compuesto o composición de la exposición es una cantidad predeterminada que confiere un efecto terapéutico al sujeto tratado, con una relación razonable de beneficio/riesgo aplicable a cualquier tratamiento médico. El efecto terapéutico puede ser objetivo (es decir, medible

mediante algún test o marcador) o subjetivo (es decir, el sujeto da una indicación de o percibe un efecto o el médico observa un cambio). Una cantidad eficaz de un compuesto de la exposición puede situarse en términos generales en el intervalo de aproximadamente 0,01 mg/Kg a aproximadamente 500 mg/Kg, aproximadamente 0,1 mg/Kg a aproximadamente 400 mg/Kg, aproximadamente 1 mg/Kg a aproximadamente 300 mg/Kg, aproximadamente 0,05 a aproximadamente 20 mg/Kg, aproximadamente 0,1 mg/Kg a aproximadamente 10 mg/Kg, ó aproximadamente 10 mg/Kg a aproximadamente 100 mg/Kg. El efecto contemplado en la presente incluye un tratamiento tanto médico terapéutico como/o profiláctico, según resulte apropiado. Evidentemente, la dosis específica de un compuesto administrado de acuerdo con esta exposición, para obtener efectos terapéuticos y/o profilácticos se determinará por la circunstancias particulares que rodean el caso, incluyendo, por ejemplo, el compuesto administrado, la vía de administración, la coadministración de otros ingredientes activos, la afección que se esté tratando, la actividad del compuesto específico utilizado, la composición específica utilizada, la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo y la diente del paciente; el tiempo de administración, la vía de administración, y la tasa de excreción del compuesto específico utilizado y la duración del tratamiento. La cantidad eficaz administrada será determinada por el médico teniendo en cuenta las circunstancias pertinentes anteriores y el ejercicio sensato del criterio médico. Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de esta exposición es, típicamente, una cantidad tal que, cuando la misma se administra en una composición de excipiente fisiológicamente tolerable, es suficiente para lograr una concentración local o concentración sistémica eficaz en el tejido. La dosis diaria total de los compuestos de esta exposición administrada a un humano u otro animal en dosis únicas o divididas, puede situarse en cantidades, por ejemplo, de 0,01 mg/Kg a aproximadamente 500 mg/Kg, aproximadamente 0,1 mg/Kg a aproximadamente 400 mg/Kg, aproximadamente 1 mg/Kg a aproximadamente 300 mg/Kg, aproximadamente 10 mg/Kg a aproximadamente 100 mg/Kg, o, más habitualmente, de 0,1 a 25 mg/Kg de peso corporal por día. Las composiciones monodosis pueden contener dichas cantidades o submúltiplo de las mismas para llegar a la dosis diaria. En general, los regímenes de tratamiento de acuerdo con la exposición comprenden la administración, a un paciente que necesita dicho tratamiento, incluirán, habitualmente, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 5.000 mg, de 10 mg a aproximadamente 2.000 mg del(de los) compuesto(s), de 20 a 1.000 mg, preferentemente de 20 a 500 mg, y, con la mayor preferencia, aproximadamente 50 mg, de un compuesto de acuerdo con la Fórmula I y/o la Fórmula II, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, por día en monodosis o dos múltiples.

[0107] Los términos “tratar”, “tratado” o “tratando”, según se usan en la presente, se refieren tanto a un tratamiento terapéutico como a medidas profilácticas o preventivas, en donde el objetivo es proteger contra (de manera parcial o completa) o ralentizar (por ejemplo, disminuir o postponer la aparición de) una enfermedad, trastorno o afección fisiológica no deseada, u obtener resultados clínicos beneficiosos o deseados, tales como una inhibición, en el declive, o un restablecimiento, parcial o total, de un parámetro, valor, función o resultado que había resultado o resultaría anómalo. A efectos de esta exposición, los resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyen, aunque sin carácter limitativo, el alivio de síntomas; la disminución del alcance o vigor o velocidad de desarrollo de la afección, trastorno o enfermedad; la estabilización (es decir, no empeoramiento) del estado de la afección, trastorno o enfermedad; el retardo de la aparición o entretardamiento de la progresión de la afección, trastorno o enfermedad; la mejora del estado de la afección, trastorno o enfermedad; y la remisión (ya sea parcial o total), se traduzca o no en una disminución inmediata de los síntomas clínicos reales, o potenciación o mejora de la afección, trastorno o enfermedad. El tratamiento busca provocar una respuesta clínicamente significativa sin niveles excesivos de efectos secundarios. El tratamiento incluye, también, prolongar la supervivencia en comparación con la supervivencia esperada si no se recibe el tratamiento.

[0108] Hablando en términos generales, el término “tejido” se refiere a cualquier agregación de células especializadas de manera similar las cuales se reúnen en la ejecución de una función particular.

[0109] Tal como se usa en la presente, “declive cognitivo” puede ser cualquier cambio negativo en la función cognitiva de un animal. Por ejemplo, declive cognitivo, incluye, aunque sin carácter limitativo, pérdida de memoria (por ejemplo, pérdida de memoria conductual), no conseguir la adquisición de recuerdos nuevos, confusión, alteración del juicio, cambios de personalidad, desorientación, o cualquier combinación de los mismos. Un compuesto que es eficaz para tratar un declive cognitivo puede ser, por lo tanto, eficaz restableciendo la potenciación neuronal de largo plazo (LTP) o la depresión neuronal de largo plazo (LTD) o un equilibrio de la plasticidad sináptica medido electrofisiológicamente; inhibiendo, tratado y/o remitiendo una neurodegeneración; inhibiendo, tratado y/o remitiendo una amiloidosis general; inhibiendo, tratado, remitiendo uno o más de producción de amiloides, ensamblaje de amiloides, agregación de amiloides y unión de oligómeros de amiloides; inhibiendo, tratado y/o remitiendo un efecto no letal de una o más de especies Abeta en una célula neuronal (tal como una pérdida o disfunción de sinapsis y un tráfico de membrana anómalo); y cualquier combinación de los mismos. Adicionalmente, ese compuesto también puede ser eficaz en el tratamiento de enfermedades y trastornos neurodegenerativos relacionados con Abeta, que incluyen, aunque sin carácter limitativo, demencia, incluyendo, aunque sin carácter limitativo, Enfermedad de Alzheimer (AD), que incluye la enfermedad de Alzheimer leve, síndrome de Down, demencia vascular (angiopatía amiloide cerebral e ictus), demencia con cuerpos de Lewy, demencia por VIH, Deterioro Cognitivo Leve (MCI); Deterioro de Memoria Asociado a la Edad (AAMI); Declive Cognitivo Relacionado con la Edad (ARCD), Enfermedad de Alzheimer Preclínica (PCAD); y Deterioro Cognitivo sin Demencia (CIND).

[0110] Tal como se usa en la presente, la expresión “ligando natural” se refiere a un ligando presente en un sujeto, que se puede unir a una proteína, receptor, lípido de membrana u otro elemento de unión *in vivo* o que se replica *in vitro*. El ligando natural puede ser de origen sintético, pero también puede estar presente de forma natural y sin intervención humana en el sujeto. Por ejemplo, se sabe que los oligómeros de Abeta existen en sujeto humanos. Por lo tanto, los oligómeros de Abeta que se encuentran en un sujeto se considerarían ligandos naturales. La unión de oligómeros de Abeta a un elemento de unión se puede replicar *in vitro* usando técnicas recombinantes o sintéticas, pero el oligómero de Abeta seguiría considerándose un ligando natural con independencia de cómo se prepare o fabrique el oligómero de Abeta. Una molécula pequeña sintética que puede unirse también al mismo elemento de unión no es un ligando natural si la misma no existe en un sujeto. Por ejemplo, los compuestos de isoindolina que se describen en este documento no están presentes normalmente en un sujeto, y, por lo tanto, no se considerarían ligandos naturales.

Beta amiloide humano

[0111] La sobreproducción y acumulación de beta amiloide es una característica patológica de la enfermedad de Alzheimer. El beta amiloide (Abeta) humano es el componente principal de depósitos de placas amiloides insolubles encontrados en el cerebro de pacientes con enfermedad de Alzheimer. Las placas están compuestas por agregados fibrilares de Abeta. Las fibrillas beta amiloides se han asociado a los estadios avanzados de la enfermedad de Alzheimer.

[0112] El sello distintivo, en cuanto a cognición, de la enfermedad de Alzheimer (AD) precoz es una extraordinaria capacidad de formar recuerdos nuevos. La pérdida de memoria precoz se considera un fallo de sinapsis provocado por oligómeros de A β solubles. Estos oligómeros bloquean la potenciación de largo plazo, paradigma experimental típico de la plasticidad sináptica, y están llamativamente altos en tejido cerebral de AD y modelos de AD transgénicos. Se ha planteado como hipótesis que la pérdida de memoria precoz aparece por un fallo de sinapsis antes de la muerte de las neuronas y que el fallo de sinapsis se deriva de acciones de oligómeros de A β solubles más que fibrillas. Lacor et al., *Synaptic targeting by Alzheimer's-related amyloid β oligomers*, J. Neurosci. 2004, 24(45):10191-10200.

[0113] El Abeta es un producto de escisión de una proteína integral de membrana, (APP), que se encuentra concentrada en la sinapsis de neuronas. En los cerebros y tejidos de pacientes con Alzheimer están presentes formas solubles de Abeta, y su presencia está en correlación con la progresión de la enfermedad. Yu et al., 2009, *Structural characterization of a soluble amyloid beta-peptide oligomer*, Biochemistry, 48(9):1870-1877. Se ha demostrado que los oligómeros de β amiloides solubles inducen cambios en sinapsis neuronales que bloquean el aprendizaje y la memoria.

[0114] Oligómeros de A β solubles, más pequeños, interfieren con una serie de vías de señalización críticas para una plasticidad sináptica normal, dando como resultado finalmente la pérdida de espinas y sinapsis. Selkoe et al., 2008, *Soluble oligomers of the amyloid beta-protein impair synaptic plasticity and behavior*, Behav Brain Res 192(1): 106-113. El Alzheimer comienza y persiste como una enfermedad de la plasticidad sináptica.

[0115] Se cree que la presencia de oligómeros de A β solubles es responsable del declive cognitivo precoz en el cerebro enfermo pre-Alzheimer. Se sabe que los oligómeros de beta amiloide se unen en sinapsis neuronales y que los receptores sigma-2 están presentes en cantidades significativas en neuronas y la glía.

Receptores sigma-2

[0116] Los receptores sigma son proteínas chaperonas/adaptadoras multifuncionales que participan en varios complejos de señalización proteicos distintos de una manera que está en relación con el tejido y el estado. El receptor sigma-2 se expresa en el cerebro y diversos tejidos periféricos en niveles bajos. (Walker et al., 1990 *Sigma receptors: biology and function*. Pharmacol. Rev. 42:355-402). Los receptores sigma-2 están presentes en el córtex y el hipocampo humano. El receptor sigma-2 también se validó previamente como biomarcador para la proliferación de células tumorales. (Mach et al., *Sigma-2 receptors as potential biomarkers of proliferation in breast cancer*. Cancer Res. 57:156-161, 1997).

[0117] Los receptores sigma-2 están implicados en muchas vías de señalización, tales como la unión a hemo, el metabolismo del Citocromo P450, la síntesis del colesterol, la señalización de progesterona, la apoptosis y el tráfico de membrana. Para la señalización de los oligómeros en la AD únicamente es relevante un subconjunto de vías de señalización/sitios de unión de receptores sigma. Actualmente no hay disponible ningún *knock-out* para el receptor sigma-2, y las mutaciones humanas en la secuencia del sigma-2 no se han estudiado en un contexto de neurodegeneración.

[0118] Un receptor sigma-2 se identificó recientemente como el componente 1 de membrana receptor de progesterona (PGRMC1) en hígado de rata mediante el uso de una sonda de fotoafinidad WC-21, que marca de manera irreversible receptores sigma-2 en hígado de rata. Xu et al. *Identification of the PGRMC1 protein complex as the putative sigma-2 receptor binding site*. Nature Communications 2, número de artículo 380, 5 de julio de 2011. El PGRMC1 (componente 1 de membrana receptor de progesterona) se identificó como el componente de 25 kDa crítico de la actividad de receptores sigma-2 en agosto de 2011 por parte de Xu et al. El PGRMC1 es una proteína transmembrana de paso único

sin ninguna homología con la proteína sigma-1; los miembros de la familia incluyen PGRMC2 y neudesina. El PGRMC1 contiene un dominio de unión a hemo, de tipo citocromo b5. El PGRMC1 es una proteína transmembrana de paso único sin ninguna homología con la proteína S1; los miembros de la familia incluyen el PGRMC2 y la neudesina. El PGRMC1 contiene un dominio de unión a hemo, de tipo citocromo b5. Los ligandos endógenos del PGRMC1 incluyen progesterona/esteroides, metabolitos del colesterol, glucocorticoides, y hemo. El PGRMC1 funciona como chaperona/adaptador asociado a diferentes complejos proteicos en diferentes ubicaciones subcelulares (Cahill 2007. *Progesterone receptor membrane component 1: an integrative review*. J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 105:16-36). El PGRMC1 se une a hemo con actividad reductora, se compleja con proteína CYP450 (reacciones redox reguladas), se asocia con PAIRBP1 y media el bloqueo de apoptosis por progesterona, y se asocia con Insic-1 y SCAP para inducir una transcripción genética relacionada con SRE como respuesta a un colesterol bajo. El homólogo de *C. elegans* VEM1 se asocia con UNC-40/DCC para mediar el guiado axonal. El PGRMC1 contiene dos secuencias diana de SH2, una secuencia diana de SH3, un sitio de tirosina quinasa, dos sitios quinasa acidófilos (CK2), y sitios de unión consenso para ERK1 y PDK1. El PGRMC1 contiene varias secuencias ITAM implicadas en el tráfico de membrana (transporte vesicular, endocitosis, dependiente de clatrina, de depresiones que contienen calveolina).

[0119] Los agentes terapéuticos con receptores sigma-2 han llegado a ensayos clínicos de la Fase II en humanos para otras indicaciones del CNS, pero no para el tratamiento de la AD. Muchos de los ligandos del receptor sigma-2 no son muy selectivos y tienen una alta afinidad para otros receptores del CNS que no son sigma. Por ejemplo, Cyr-101/MT-210 (Cyrenaic Pharmaceuticals; Mitsubishi) es un antagonista del receptor sigma-2 en ensayos clínicos de fase IIa en relación con la esquizofrenia, pero presenta múltiples interacciones de otros receptores incluyendo en 5HT2a, ADRA1, e histamina H1. Siramesina (Lundbeck, Forest Lu28179) es un agonista del receptor sigma-2 que estaba previamente en ensayos clínicos en relación con la ansiedad, pero se desechó. Ligandos del receptor sigma-1 se encuentran en ensayos clínicos para diversas indicaciones del CNS. El diclorhidrato de cutamesina (AGY SA4503, M's Science Corp.) es un agonista del receptor sigma-1 que se encontraba en ensayos clínicos de fase II en relación con el ictus, y en ensayos de la fase II en relación con la depresión. Anavex 2-73 es un agonista del receptor sigma-1 que también actúa en receptores colinérgicos muscarínicos como antagonista de M2/3, agonista de M1 y es un antagonista con respecto a diversos canales iónicos (NMDAR, Na⁺, Ca⁺⁺). Anavex 2-73 entró en ensayos clínicos de la fase IIa para pacientes con AD y deterioro cognitivo leve. No existen ensayos clínicos previos con agentes terapéuticos de ligandos del receptor sigma-2 altamente selectivos en AD.

Antagonistas del sigma-2

[0120] Aunque sin imponer límites teóricos, se propone que el receptor sigma-2 es un receptor para oligómeros de Abeta en neuronas. En la bibliografía se han propuesto diversos receptores para oligómeros de Abeta solubles, que incluyen una proteína priónica, un receptor insulina, un receptor betaadrenérgico y RAGE (Receptor para Productos Finales de Glicación Avanzada). Laurén, J. et al, 2009, Nature, 457(7233): 1128-1132; Townsend, M. et al, J. Biol. Chem. 2007, 282:33305-33312; Sturchler, E. et al, 2008, J. Neurosci. 28(20):5149-5158, de hecho, muchos investigadores creen que un oligómero de Abeta puede unirse a más de una proteína receptora. Sin imponer límites teóricos, y sobre la base de las evidencias aportadas en este documento, los presentes inventores postulan un receptor adicional para oligómeros de Abeta situados (no necesariamente de manera exclusiva) en neuronas.

[0121] Sin imponer límites teóricos, los oligómeros de Abeta son agonistas del receptor sigma que se unen a complejos proteicos sigma y provocan un tráfico aberrante y pérdida de sinapsis. Se demuestra en la presente que ligandos del sigma-2 de alta afinidad y que antagonizan esta interacción y/o la función del receptor sigma en neuronas competirán, o interferirán de otra manera, con oligómeros de Abeta y devolverán las respuestas neuronales a un estado normal. Dichos ligandos se consideran antagonistas funcionales del receptor sigma-2 y se les hace referencia como tales o, de manera más simple, como antagonistas del receptor sigma-2 o antagonistas del sigma-2.

[0122] En algunas realizaciones, el antagonista del receptor-2 según la Fórmula I/y/o la Fórmula II, o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas, actúa como antagonista funcional en una célula neuronal con respecto a la inhibición de la pérdida de sinapsis inducida por oligómeros de Aβ solubles, y la inhibición de déficits inducidos por oligómeros de Aβ solubles en un ensayo de tráfico de membrana; la manifestación de una alta afinidad en un receptor sigma-2; así como la presentación de una alta selectividad para uno o más receptores sigma en comparación con cualquier otro receptor que no sea sigma; y la manifestación de buenas propiedades de tipo fármaco.

[0123] En algunas realizaciones, un antagonista funcional del receptor sigma-2 que cumpla ciertos criterios de ensayo in vitro detallados en la presente manifestará eficacia conductual, o se preverá su eficacia conductual, en uno o más modelos animales conductuales relevantes según se dé a conocer en esta memoria descriptiva. En algunas realizaciones, la eficacia conductual se determina a 10 mg/kg por vía oral, o menos.

[0124] En algunas realizaciones, la exposición proporciona una plataforma de ensayo in vitro predictiva de eficacia conductual para ligandos del receptor sigma-2 de alta afinidad. De acuerdo con la plataforma de ensayo in vitro, el ligando se une con alta afinidad a un receptor sigma-2; actúa como antagonista funcional con respecto a efectos inducidos por oligómeros de Abeta en una neurona; inhibe la pérdida de sinapsis, inducida por oligómeros de Abeta, en

una neurona central o reduce la unión de oligómeros de Abeta a neuronas para inhibir la pérdida de sinapsis; y no afecta al tráfico o al número de sinapsis en ausencia de oligómero de Abeta. A este patrón de actividad en los ensayos en vitro se le denomina “fenotipo terapéutico”. La capacidad de un antagonista del receptor sigma-2 para bloquear efectos de oligómeros de Abeta en neuronas maduras sin afectar a la función normal en ausencia de oligómeros de Abeta cumple los criterios correspondientes al fenotipo terapéutico. Se da a conocer, ahora, que un antagonista selectivo del sigma-2, que tiene un fenotipo terapéutico, puede bloquear una disfunción sináptica inducida por oligómeros de Abeta.

[0125] En algunas realizaciones, se proporcionan antagonistas selectivos del sigma-2, de alta afinidad, que presentan el fenotipo terapéutico que también posee las siguientes características las cuales son adecuadas como candidatos terapéuticos para tratar una disfunción sináptica inducida por oligómeros de Abeta en un paciente que lo necesite: alta afinidad en receptores sigma; alta selectividad para receptor sigma en comparación con otros receptores del CNS que no son sigma; afinidad mayor para un receptor sigma-2, o afinidad comparable, por ejemplo, dentro de un orden de magnitud, en receptores sigma-2 y sigma-1; selectividad para receptores sigma en contraposición a otros receptores relevantes en el sistema nervioso central y buenas propiedades de tipo fármaco. Las propiedades de tipo fármaco incluyen penetrabilidad aceptable en el cerebro (la capacidad de cruzar la barrera hematoencefálica), buena estabilidad en plasma y buena estabilidad metabólica, por ejemplo, según se mide por exposición a microsomas hepáticos. Sin imponer límites teóricos, los antagonistas del receptor sigma-2 de alta afinidad compiten con oligómeros de Abeta, y/o detienen la señalización patológica de receptores sigma, que conduce a la enfermedad de Alzheimer.

[0126] En algunas realizaciones, el antagonista de la exposición puede unirse con mayor afinidad al receptor sigma-1 que a un receptor sigma-2, pero debe seguir comportándose como antagonista neuronal funcional con respecto al bloque o la inhibición de un efecto inducido por oligómeros de Abeta (efecto Abeta).

[0127] En algunas realizaciones, un antagonista del sigma-2 que presenta el fenotipo terapéutico que posee también las siguientes características es adecuado como candidato terapéutico para tratar una disfunción sináptica inducida por oligómeros de Abeta en un paciente que lo necesite: alta afinidad en receptores sigma; alta selectividad para receptores sigma en comparación con otros receptores del CNS que no son sigma; alta afinidad para un receptor sigma-2, o afinidad comparable en receptores sigma-2 y sigma-1; y buenas propiedades de tipo fármaco. Las propiedades de tipo fármaco incluyen alta penetrabilidad en el cerebro, estabilidad plasmática, y estabilidad metabólica.

[0128] En algunas realizaciones, en los estudios de actividad de unión, un valor de IC₅₀ o Ki de como mucho aproximadamente 600 nM, 500 nM, 400 nM, 300 nM, 200 nM, 150 nM, 100 nM, preferentemente, como mucho, aproximadamente 75 nM, preferentemente, como mucho, aproximadamente 60 nM, preferentemente, como mucho, aproximadamente 40 nM, más preferentemente, como mucho 10 nM, con la mayor preferencia como mucho 1 nM, indica una alta afinidad de unión con respecto a los sitios de unión de receptores sigma.

[0129] En algunas realizaciones, un antagonista del receptor sigma-2 con una alta afinidad (preferentemente Ki inferior a aproximadamente 600 nM, 500 nM, 400 nM, 300 nM, 200 nM, 150 nM, 100 nM, 70 nM, 60 nM, 50 nM, 30 nM ó 10 nM) en receptores sigma-2 que tienen una selectividad para receptores sigma mayor de aproximadamente 20 veces, 30 veces, 50 veces, 70 veces, o preferentemente mayor de 100 veces, en comparación con otros receptores del CNS o diana que no son sigma, y tienen buenas propiedades de tipo fármaco incluyendo penetrabilidad en el cerebro y buena estabilidad metabólica y/o plasmática, y que poseen el fenotipo terapéutico, se prevé que tendrán eficacia conductual y se pueden usar para tratar una disfunción sináptica inducida por oligómeros de Abeta en un paciente que lo necesite.

[0130] Tal como se usa en la presente, el término “penetrabilidad en el cerebro” se refiere a la capacidad de un fármaco, anticuerpo o fragmento, de cruzar la barrera hematoencefálica. En algunas realizaciones, para determinar o predecir la penetrabilidad en el cerebro se puede usar un estudio farmacocinético (pK) animal, por ejemplo, un estudio farmacocinético/de la barrera hematoencefálica en ratones. En algunas realizaciones, pueden administrarse varias concentraciones de fármaco, por ejemplo, a 3, 10 y 30 mg/kg, por ejemplo por vía oral durante 5 días, y se miden varias propiedades pK, por ejemplo, en un modelo animal. En algunas realizaciones, se determinan niveles plasmáticos y cerebrales relacionados con la dosis. En algunas realizaciones, la C_{max} cerebral > 100, 300, 600, 1.000, 1.300, 1.600 ó 1.900 ng/mL. En algunas realizaciones, una buena penetrabilidad en el cerebro se define como una relación de cerebro/plasma de > 0,1, > 0,3, > 0,5, > 0,7, > 0,8, > 0,9, preferentemente > 1, y más preferentemente > 2, > 5, ó > 10. En otras realizaciones, una penetrabilidad buena en el cerebro se define como mayor que aproximadamente 0,1%, 1%, 5%, mayor que aproximadamente 10%, y, preferentemente, mayor que aproximadamente el 15% de una dosis administrada que cruza la barrera hematoencefálica BBB después de un periodo de tiempo predeterminado. En ciertas realizaciones, la dosis se administra oralmente (por vía oral). En otras realizaciones, la dosis se administra intravenosamente (i.v.), antes de medir propiedades pK. En el Ejemplo 7 se describen ensayos farmacocinéticos y la penetrabilidad cerebral.

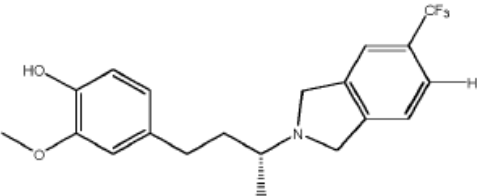
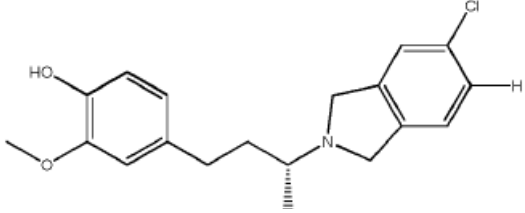
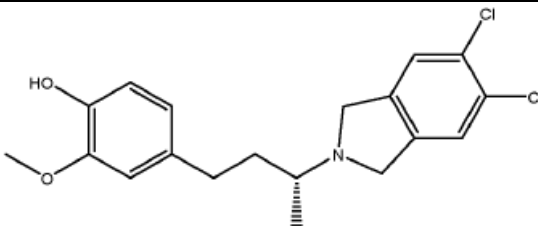
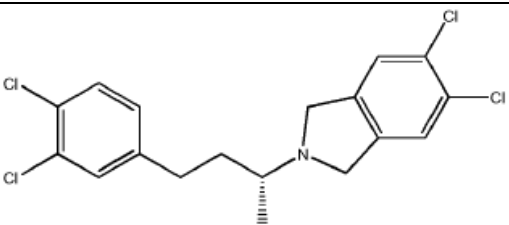
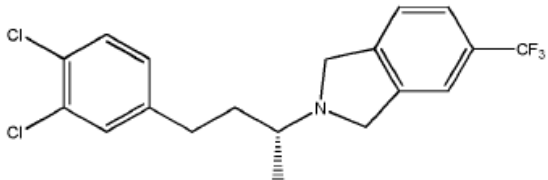
[0131] Tal como se usa en la presente, la expresión “estabilidad plasmática” se refiere a la degradación de compuestos en plasma, por ejemplo, por enzimas tales como hidrolasas y esterasas. Puede utilizarse cualquiera de una variedad de ensayos in vitro. Se incuban fármacos en plasma durante varios periodos de tiempo. El porcentaje del compuesto

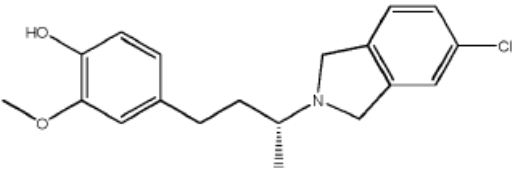
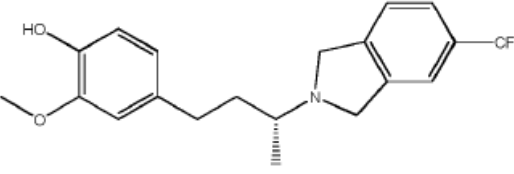
parental (analito) que queda en cada instante de tiempo refleja la estabilidad plasmática. Unas características de estabilidad eficiente pueden tender a presentar una baja biodisponibilidad. Una buena estabilidad plasmática puede definirse como superior al 50% de analito que queda después de 30 minutos, superior al 50% de analito que queda después de 45 minutos, y, preferentemente, superior al 50% de analito que queda después de 60 minutos.

[0132] Tal como se usa en la presente, la expresión “estabilidad metabólica” se refiere a la capacidad del compuesto de sobrevivir a un metabolismo de primer paso (degradación o conjugación intestinal y hepática de un fármaco administrado oralmente). Esto se puede evaluar, por ejemplo, in vitro por exposición de los compuestos a microsomas hepáticos de ratón o humanos. En algunas realizaciones, una buena estabilidad metabólica se refiere a un $t_{1/2} > 5 \text{ min} > 10 \text{ min}, > 15 \text{ minutos}, > 20 \text{ minutos}$, y, preferentemente, $> 30 \text{ min}$, tras exposición de un compuesto a microsomas hepáticos de ratón o humanos. En algunas realizaciones, una buena estabilidad metabólica se refiere a una Tasa de Aclaramiento Intrínseca (Cl_{int}) $< 300 \text{ uL/min/mg}$, preferentemente $\leq 200 \text{ uL/min/mg}$, y, más preferentemente, $\leq 100 \text{ uL/min/mg}$.

[0133] En algunas realizaciones, se excluyen ciertos compuestos de la técnica anterior. En algunas realizaciones, los compuestos descritos en la Tabla 1 se dan a conocer en el documento WO2013/029057 y/o WO2013/029060, y se desestiman con respecto a composiciones o métodos proporcionados en la presente.

Tabla 1. Compuestos desestimados.

Compuesto desestimado	Referencia
	CogRx; Rishton, Catalano WO2013/029060, Tabla 1B, págs. 81-94; WO2013/029067, pág. 48.
	CogRx; Rishton, Catalano WO2013/029060, Tabla 1B, pags. 81-94; WO2013/029067, pag. 47.
	CogRx; Rishton, Catalano WO2013/029060, Tabla 1B, pags. 81-94; WO2013/029067, pag. 48.
	CogRx; Rishton, Catalano WO2013/029060, Tabla 1B, pags. 81-94; WO2013/029067, pag. 182.
	CogRx; Rishton, Catalano WO2013/029060, Tabla 1B, pags. 81-94; WO2013/029067, pag. 55, 184.

Compuesto desestimado	Referencia
	CogRx; Rishton, Catalano WO2013/029060, Tabla 1B, pags. 81-94; WO2013/029067, pag. 47.
	CogRx; Rishton, Catalano WO2013/029060, Tabla 1B, pags. 81-94; WO2013/029067, pag. 48.

[0134] Compuestos de isoindolina proporcionados en la presente actúan como antagonistas funcionales selectivos del sigma-2, de alta afinidad, que presentan el fenotipo terapéutico, y buenas propiedades de tipo fármaco, y, por lo tanto, se pueden usar para tratar una disfunción sináptica inducida por oligómeros de Abeta.

[0135] En ciertas realizaciones, se proporcionan las composiciones que comprenden compuestos de isoindolina de fórmula I como antagonistas funcionales selectivos del sigma-2 que tienen una alta afinidad de unión a los receptores sigma. En algunas realizaciones, los receptores sigma incluyen los subtipos tanto sigma-1 como sigma-2. Véase Hellewell, S. B. y Bowen, W. D., Brain Res. 527: 224-253 (1990); y Wu, X.-Z. et al., J. Pharmacol. Exp. Ther. 257: 351-359 (1991). Weber et al., Proc. Natl. Acad. Sci (USA) 83: 8784-8788 (1986), da a conocer un ensayo de unión a receptores sigma que cuantifica la afinidad de unión de un ligando putativo para ambos sitios sigma (contra ³H-DTG, el cual marca ambos sitios con aproximadamente la misma afinidad). Alternativamente, para marcar selectivamente el sitio de unión sigma-1 en un ensayo de unión puede usarse [³H]pentozocina. Para marcar selectivamente el sitio sigma-2 en un ensayo de unión se usa una mezcla de [³H]DTG y (+)pentazocina no marcada. La exposición se refiere también a composiciones que comprenden ciertos ligandos que son selectivos para los receptores sigma-1 y sigma-2 y actúan como antagonistas funciones del sigma-2, así como al uso de estas composiciones para tratar una disfunción sináptica inducida por oligómeros de Abeta. El descubrimiento de dichos ligandos los cuales son selectivos para uno de los dos subtipos de receptor sigma puede ser un factor importante en la identificación de compuestos que son eficaces en el tratamiento de trastornos del sistema nervioso central con efectos secundarios mínimos.

[0136] En algunas realizaciones, compuestos de isoindolina de Fórmula (I) presentan actividad antagonista frente a sigma-2, alta afinidad para el receptor sigma-2, y la capacidad de bloquear la unión de oligómeros de Abeta solubles o una disfunción sináptica inducida por oligómeros de Abeta.

[0137] En algunas realizaciones, los antagonistas del sigma-2 se diseñan para potenciar la capacidad de cruzar la barrera hematoencefálica.

[0138] En algunas realizaciones, el compuesto específico antagonista del receptor sigma-2 bloquea la unión entre oligómeros de Abeta solubles y un receptor sigma-2.

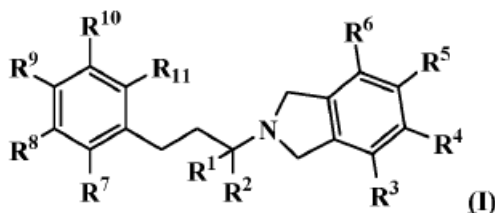
[0139] En algunas realizaciones, el compuesto antagonista del sigma-2 presenta una alta afinidad para el receptor sigma-2.

Ligandos del receptor sigma-2 para su selección como antagonistas del receptor sigma-2

[0140] En algunas realizaciones, los antagonistas del receptor sigma-2 para su uso en la presente exposición se seleccionan de entre compuestos ligandos del receptor sigma-2 que cumplen también criterios de selección adicionales. Se utilizan criterios adicionales para seleccionar antagonistas del receptor sigma-2 para su uso en la presente exposición, de entre ligandos del receptor sigma-2. Los criterios de selección adicionales incluyen: actuar como antagonista funcional en una célula neuronal con respecto a la inhibición de una pérdida de sinapsis inducida por oligómeros de Aβ solubles, e inhibición de déficits inducidos por oligómeros de Aβ solubles en un ensayo de tráfico de membrana; tener una alta selectividad para uno o más receptores sigma en comparación con cualquier otro receptor que no sea sigma; presentar una alta afinidad en un receptor sigma-2; y presentar buenas propiedades de tipo fármaco que incluyen buena penetrabilidad en el cerebro, buena estabilidad metabólica y buena estabilidad plasmática. En algunas realizaciones, el antagonista del receptor sigma-2 se selecciona, además, sobre la base de que presente una o más de las siguientes propiedades adicionales: no afecta al tráfico o número de sinapsis en ausencia de oligómero de Abeta; no induce actividad caspasa-3 en una célula neuronal; inhibe la inducción de actividad caspasa-3 por un agonista del receptor sigma-2; y/o reduce u ofrece protección contra la toxicidad neuronal en una célula neuronal, provocada por un agonista del receptor sigma-2.

[0141] En algunas realizaciones, ciertos compuestos de ligandos del receptor sigma-2 sujetos a otros criterios de selección se seleccionan de compuestos descritos en la presente y se pueden sintetizar de acuerdo con los métodos descritos en la presente o en el documento WO 2011/014880 (solicitud n.º PCT/US2010/044136), el documento WO 2010/118055 (solicitud n.º PCT/US2010/030130), la solicitud n.º PCT/US2011/026530, el documento WO 2012/106426 (la solicitud n.º PCT/US2012/023483), el documento WO 2013/029057 (solicitud n.º PCT/US2012/052572), y el documento WO 2013/029060 (solicitud n.º PCT/US2012/052578). Posteriormente se describen de forma detallada opciones adicionales para preparar estos compuestos.

[0142] En algunas realizaciones, el ligando del sigma-2 comprende un compuesto de Fórmula I:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

R¹ y R² se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H, alquilo C₁-C₆, o CH₂OR'; en donde R' = H ó alquilo C₁-C₆;

R₃, R₄, R₅ y R₆ se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H, alquilo C₁-C₆, OH, OCH₃, OCH(CH₃)₂, OCH₂CH(CH₃)₂, OC(CH₃)₃, O(alquilo C₁-C₆), OCF₃, OCH₂CH₂OH, O(alquilo C₁-C₆)OH, O(haloalquilo C₁-C₆), F, Cl, Br, I, CF₃, CN, NO₂, NH₂, haloalquilo C₁-C₆, hidroxialquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆ alquilo C₁-C₆, arilo, heteroarilo, cicloalquilo C₃-7, heterocicloalquilo, alquilarilo, heteroarilo, CO₂R', C(O)R', NH(alquilo C₁-4), N(alquilo C₁-4)₂, NH(cicloalquilo C₃-7), NHC(O)(alquilo C₁-4), CONR'₂, NC(O)R', NS(O)_nR', S(O)_nNR'₂, S(O)_nR', C(O)O(alquilo C₁-4), OC(O)N(R')₂, C(O)(alquilo C₁-4), y C(O)NH(alquilo C₁-4); donde n=0, 1 ó 2; R' son independientemente, cada uno de ellos, H, CH₃, CH₂CH₃, alquilo C₃-C₆, haloalquilo C₁-C₆; o arilo, alquilarilo, piperacín-1-ilo, piperidin-1-ilo, morfolinilo, heterocicloalquilo, heteroarilo, alcoxi C₁-6, NH(alquilo C₁-4), o NH(alquilo C₁-4)₂ opcionalmente sustituido, en donde el grupo opcionalmente sustituido se selecciona de alquilo C₁-C₆ o acilo C₂-7;

o R₃ y R₄, junto con el átomo de C al cual están unidos, forman un cicloalquilo, arilo, heteroarilo o heterocicloalquilo de 4, 5, 6, 7 u 8 miembros, que está sustituido opcionalmente con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de OH, amino, halo, alquilo C₁-6, haloalquilo C₁-6, alcoxi C₁-6, haloalcoxi C₁-6, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloalquilo y heterocicloalquilo, y R₃ y R₄, ó R₄ y R₅, se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de un enlace, C, N, S y O; ó R₃ y R₄ se enlazan juntos para formar un grupo -O-C₁₋₂ metileno-O-;

o R₄ y R₅, junto con el átomo de C al que están unidos, forman un cicloalquilo, arilo, heteroarilo o heterocicloalquilo de 4, 5, 6, 7 u 8 miembros que está opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de OH, amino, halo, alquilo C₁-6, haloalquilo C₁-6, alcoxi C₁-6, haloalcoxi C₁-6, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloalquilo, y heterocicloalquilo, y R₃ y R₄, ó R₄ y R₅, se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de un enlace, C, N, S, y O; ó R₄ y R₅ están enlazados juntos para formar un grupo -O-C₁₋₂ metileno-O-;

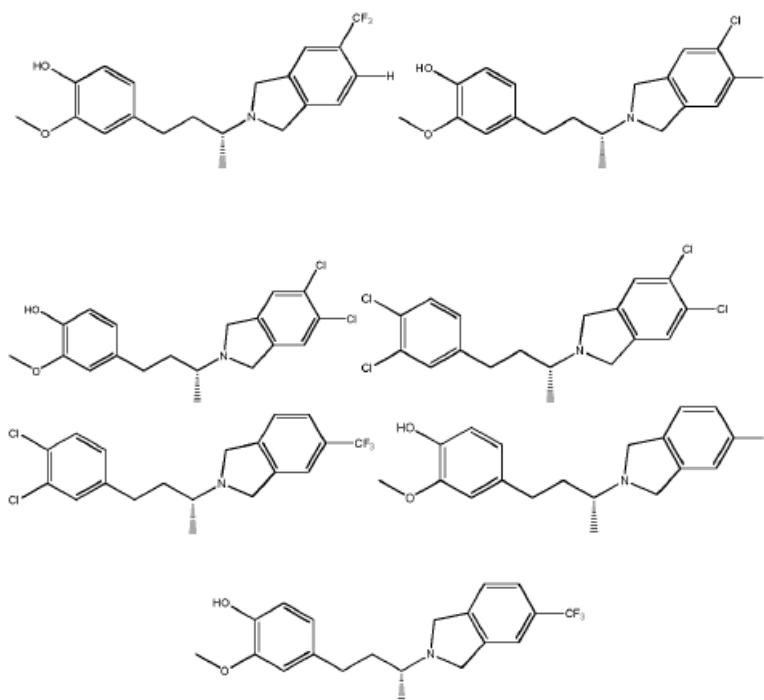
R₇, R₈, R₉, R₁₀, y R₁₁ se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H, alquilo C₁-C₆, OH, OCH₃, OCH(CH₃)₂, OCH₂CH(CH₃)₂, OC(CH₃)₃, O(alquilo C₁-C₆), OCF₃, OCH₂CH₂OH, O(alquilo C₁-C₆)OH, O(haloalquilo C₁-C₆), F, Cl, Br, I, CF₃, CN, NO₂, NH₂, haloalquilo C₁-C₆, hidroxialquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-6 alquilo C₁-6, arilo, heteroarilo, cicloalquilo C₃-7, heterocicloalquilo, alquilarilo, heteroarilo, CO₂R', C(O)R', NH(alquilo C₁-4), N(alquilo C₁-4)₂, NH(cicloalquilo C₃-7), NHC(O)(alquilo C₁-4), CONR'₂, NC(O)R', NS(O)_nR', S(O)_nNR'₂, S(O)_nR', C(O)O(alquilo C₁-4), OC(O)N(R')₂, C(O)(alquilo C₁-4) y C(O)NH(alquilo C₁-4); donde n=0, 1 ó 2; R' son independientemente, cada uno de ellos, H, CH₃, CH₂CH₃, alquilo C₃-C₆, haloalquilo C₁-C₆, arilo, alquilarilo, piperacín-1-ilo, piperidin-1-ilo, morfolinilo, heterocicloalquilo, heteroarilo, alcoxi C₁-6, NH(alquilo C₁-4), o NH(alquilo C₁-4)₂;

o R₇ y R₈, junto con los átomos de N ó C a los que están unidos forman un grupo cicloalquilo, arilo, heterocicloalquilo, o heteroarilo de 4, 5, 6, 7 u 8 miembros que está sustituido opcionalmente con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de OH, amino, halo, alquilo C₁-6, haloalquilo C₁-6, alcoxi C₁-6, haloalcoxi C₁-6, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloalquilo y heterocicloalquilo, y R₉ y R₁₀ se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de un enlace, C, N, S y O; ó R₇ y R₈ están enlazados juntos para formar un grupo -O-C₁₋₂ metileno-O-;

o R_8 y R_9 , junto con los átomos de N ó C a los que están unidos forman un grupo cicloalquilo, arilo, heterocicloalquilo, o heteroarilo de 4, 5, 6, 7 u 8 miembros que está sustituido opcionalmente con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de OH, amino, halo, alquilo C_{1-6} , haloalquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , haloalcoxi C_{1-6} , arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloalquilo y heterocicloalquilo, y R^9 y R^{10} se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de un enlace, C, N, S y O; ó R_8 y R_9 están enlazados juntos para formar un grupo -O- C_{1-2} metileno-O-;

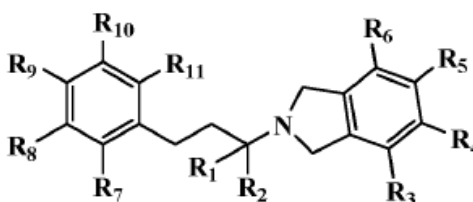
en donde cada uno del O, alquilo C_{1-6} , haloalquilo C_{1-6} , heteroarilo, arilo, heteroarilo, heterocicloalquilo y cicloalquilo está sustituido independientemente de manera opcional con 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes seleccionados independientemente de OH, amino, halo, alquilo C_{1-6} , haloalquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , haloalcoxi C_{1-6} , arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloalquilo y heterocicloalquilo;

con la condición de que se excluyan los siguientes compuestos:



[0143] En algunas realizaciones, el ligando del sigma-2 comprende una mezcla racémica o un enantiómero de compuesto de Fórmula I, en donde R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 , R_9 , R_{10} y R_{11} son tal como se ha descrito anteriormente.

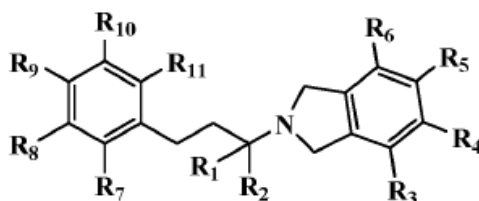
[0144] En algunas realizaciones, se proporciona un compuesto aislado según la Fórmula I:



I

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 , R_9 , R_{10} y R_{11} son tal como se define en la presente, con la condición de que cuando R_1 , R_3 , R_6 , R_7 , R_{10} y R_{11} son, cada uno de ellos, H; R_2 es CH_3 ; R_8 es OCH_3 ó Cl; y R_9 es OH ó Cl; entonces R_4 no es Cl ó CF_3 y R_5 no es Cl ó CF_3 .

[0145] En otras realizaciones, se proporciona un compuesto aislado, o composición del mismo, o método que comprende la administración de, según la Fórmula I:

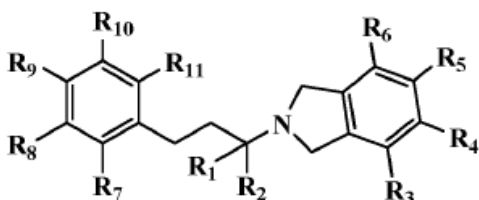


I

5

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 , R_9 , R_{10} y R_{11} son tal como se define en la presente, con la condición de que un compuesto según la Fórmula I en donde R_1 , R_3 , R_6 , R_7 , R_{10} y R_{11} son, cada uno de ellos, H; R_2 es CH_3 ; R_8 es OCH_3 ó Cl ; y R_9 es OH ó Cl ; R_4 es Cl ó CF_3 , y R_5 es Cl ó CF_3 , no es un compuesto preferido.

[0146] En otra realización, se proporciona una composición farmacéutica para inhibir un efecto beta amiloide sobre una célula neuronal, que comprende un compuesto según la Fórmula I:



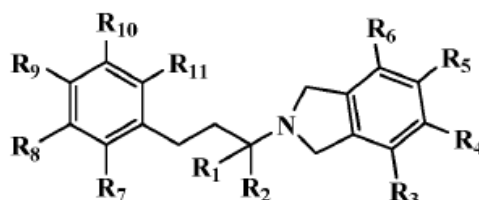
I

10

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable, en donde R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 , R_9 , R_{10} y R_{11} son tal como se define en la presente, con la condición de que cuando R_1 , R_3 , R_6 , R_7 , R_{10} y R_{11} son, cada uno de ellos, H; R_2 es CH_3 ; R_8 es OCH_3 ó Cl ; y R_9 es OH ó Cl ; entonces R_4 no es Cl ó CF_3 , y R_5 no es Cl ó CF_3 .

15

[0147] En otra realización, se proporciona un método/uso para inhibir un efecto beta amiloide en una célula neuronal, que comprende administrar una cantidad eficaz de una composición que comprende un compuesto antagonista selectivo del receptor sigma-2 según la fórmula I:



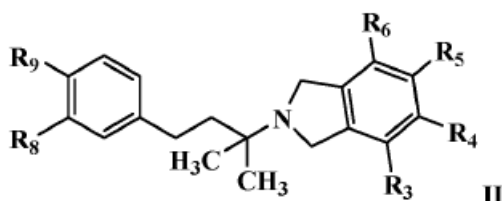
I

20

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable, en donde R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 , R_9 , R_{10} y R_{11} son tal como se define en la presente, con la condición de que, cuando R_1 , R_3 , R_6 , R_7 , R_{10} y R_{11} son, cada uno de ellos, H; R_2 es CH_3 ; R_8 es OCH_3 ó Cl ; y R_9 es OH ó Cl ; entonces R_4 no es Cl ó CF_3 , y R_5 no es Cl ó CF_3 , y en donde el compuesto o sal del mismo está presente en la composición en una cantidad eficaz para inhibir la unión de oligómeros de beta amiloide en dicha célula; y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

25

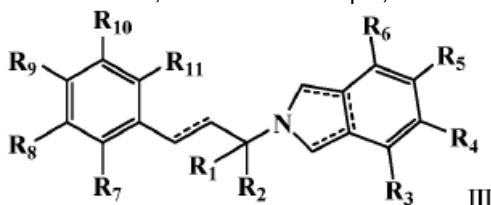
[0148] En algunas realizaciones, el ligando sigma-2 comprende una mezcla racémica o un enantiómero de compuesto de Fórmula II:



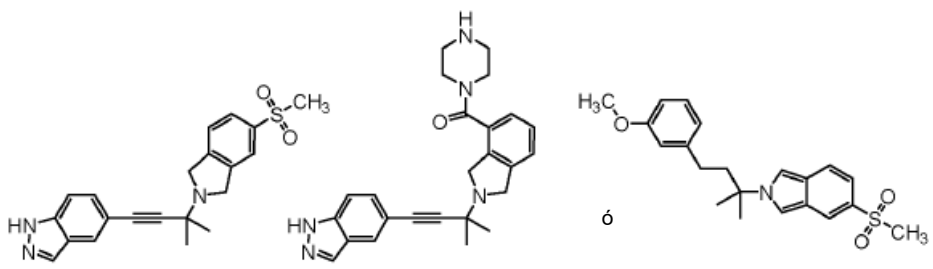
II

en donde R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_8 y R_9 son tal como se describe en la presente.

[0149] En otra realización, se proporciona un compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según la Fórmula III, en donde R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 , R_9 , R_{10} y R_{11} son tal como se proporciona en la presente y en donde ----- se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de un enlace simple, doble o triple.



5 [0150] En algunos aspectos, un compuesto según la Fórmula III se selecciona de:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 [0151] En algunas realizaciones, el ligando del sigma-2 comprende una mezcla racémica o un enantiómero de un compuesto de Fórmula I, en donde R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_8 y R_9 son tal como se describe en la presente.

[0152] En algunas realizaciones, el ligando del sigma-2 es un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable de Fórmula I, en donde R_8 y R_9 se seleccionan independientemente de OH, alcoxi C_{1-6} , e hidroxi alcoxi C_{1-6} .

15 [0153] En algunas realizaciones, el ligando del sigma-2 es un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable de Fórmula I, en donde R_8 y R_9 se seleccionan independientemente de OH, y NH (alquilo C_{1-4}).

[0154] En algunas realizaciones, el ligando del sigma-2 es un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable de Fórmula I, en donde R_8 y R_9 se seleccionan independientemente de H, halo, haloalquilo C_{1-6} , y haloalcoxi C_{1-6} .

20 [0155] En algunas realizaciones, el ligando del sigma-2 es un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable de Fórmula I, en donde R_8 y R_9 se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de OH, halo, alcoxi C_{1-6} y haloalcoxi C_{1-6} , y R_1 y R_2 son independientemente, cada uno de ellos, alquilo C_{1-6} .

25 [0156] En algunas realizaciones, el ligando del sigma-2 es un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable de Fórmula I, en donde R_1 y R_2 son, cada uno de ellos, metilo.

[0157] En algunas realizaciones, el ligando del sigma-2 es un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable de Fórmula I, en donde uno de R_1 y R_2 es metilo y el otro es H.

30 [0158] En algunas realizaciones, el ligando del sigma-2 es un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable de Fórmula I, en donde R_8 y R_9 se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de OH y alcoxi C_{1-6} , y R_1 y R_2 son independientemente, cada uno de ellos, metilo.

35 [0159] En algunas realizaciones, el ligando del sigma-2 es un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable de Fórmula I, en donde R_8 y R_9 se seleccionan independientemente de H, halo, y haloalquilo C_{1-6} , y R_1 y R_2 son, cada uno de ellos, metilo.

40 [0160] En algunas realizaciones, el ligando del sigma-2 es un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable de Fórmula I, en donde R^8 y R^9 se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H, halo y halo alquilo C_{1-6} .

[0161] En algunas realizaciones, el ligando del sigma-2 es un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable de Fórmula I, en donde R_7 y R_{11} son, cada uno de ellos, H.

45 [0162] En algunas realizaciones, el ligando del sigma-2 comprende una mezcla racémica o un enantiómero de un compuesto de Fórmula I, en donde R_3 , R_4 , R_5 , y R_6 se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H, halo, alquilo C_{1-6} , halo alquilo C_{1-6} y alcoxi C_{1-6} .

[0163] En algunas realizaciones, el ligando del sigma-2 es un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable de Fórmula I, en donde R_3 , R_4 y R_5 se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H, halo, alquilo C_{1-6} , halo alquilo C_{1-6} y alcoxi C_{1-6} .

[0164] En algunas realizaciones, el ligando del sigma-2 es un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable de Fórmula I, en donde R_3 , R_4 , R_5 y R_6 se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H, halo, $S(O)_nR'$, $C(O)OR'$, $C(O)N(R')_2$, y $C(O)R'$; donde $n=2$; R' son independientemente, cada uno de ellos, H, CH_3 , CH_2CH_3 , alquilo C_3-C_6 , haloalquilo C_1-C_6 u opcionalmente arilo, alquilarilo, piperacino, piperidinilo, morfolinilo, heterocicloalquilo y heteroarilo sustituidos con alquilo C_{1-6} ó acilo C_2-C_7 .

[0165] En algunas realizaciones, el ligando del sigma-2 es un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable de Fórmula I, en donde R_3 , R_4 y R_5 se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H, halo, $S(O)_nR'$, y $C(O)R'$, donde $n=2$; R' son independientemente, cada uno de ellos, CH_3 , CH_2CH_3 , alquilo C_3-C_6 , arilo, piperacino-1-ilo, piperidin-1-ilo, y morfolinil-4-ilo.

[0166] En algunas realizaciones, el ligando del sigma-2 es un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable de Fórmula I, en donde R_3 , R_4 y R_5 se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H, halo, $S(O)_nR'$, y $C(O)R'$; donde $n=2$; R' son independientemente, cada uno de ellos, CH_3 , CH_2CH_3 , alquilo C_3-C_6 , arilo, piperacino-1-ilo, piperidin-1-ilo, y morfolinil-4-ilo; R_8 y R_9 se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de OH, halo, alcoxi C_{1-6} y haloalcoxi C_{1-6} ; y R_1 y R_2 son, cada uno de ellos, metilo.

[0167] En algunas realizaciones, el ligando del sigma-2 es un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable de Fórmula 1, en donde R_3 y R_4 ó R_4 y R_5 junto con el átomo de C al que están unidos forman un cicloalquilo de 6 miembros, o un anillo heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo.

[0168] En algunas realizaciones, el ligando del sigma-2 es un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable de Fórmula 1, en donde R_3 y R_4 ó R_4 y R_5 son O, y están enlazados juntos para formar un grupo-O- C_{1-2} metileno-O-.

[0169] En algunas realizaciones, el ligando del sigma-2 es un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable de Fórmula 1, en donde R^2 y R^3 se seleccionan independientemente de H, OH, halo, alcoxi C_{1-6} y haloalquilo C_{1-6} .

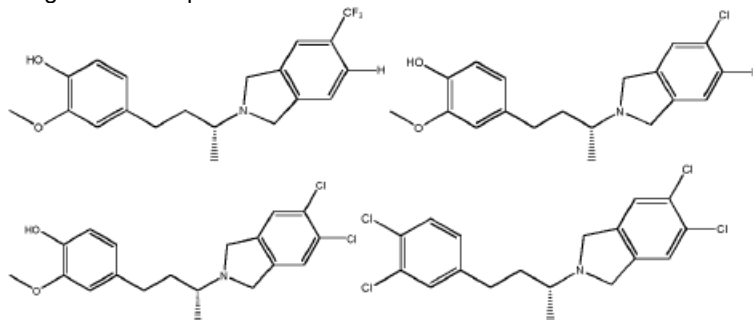
[0170] En algunas realizaciones, el ligando del sigma-2 es un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable de Fórmula 2, en donde R_3 y R_4 se seleccionan independientemente de H, Cl, F, -OMe, -CF₃, $S(O)_nR'$ y $C(O)R'$; donde $n=2$; R' son independientemente, cada uno de ellos, H, CH_3 , CH_2CH_3 , alquilo C_3-C_6 , arilo, piperacino-1-ilo, piperidin-1-ilo, y morfolinil-4-ilo; R_8 y R_9 se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de OH y alcoxi C_{1-6} .

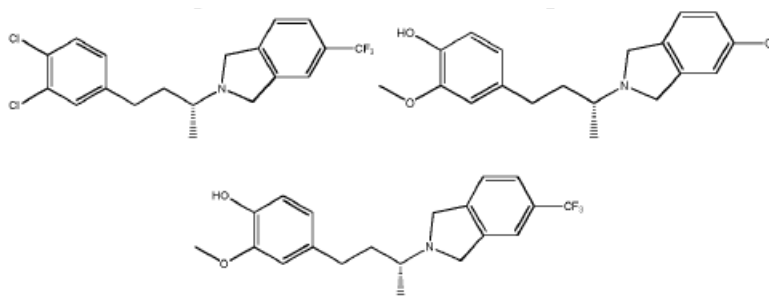
[0171] En algunas realizaciones, el ligando del sigma-2 es un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable de Fórmula 1, en donde R^2 y R^3 se seleccionan independientemente de H, OH, Cl, F, -OMe, y -CF₃, en donde R^7 y R^8 se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H y alquilo C_{1-6} , en donde R^9 es H, y en donde R^5 y R^6 se seleccionan independientemente, cada uno de ellos, de H y haloalquilo C_{1-6} .

[0172] Sales preferidas para su uso en la exposición incluyen las sales clorhidrato de los compuestos anteriores.

[0173] Estos se han sintetizado de acuerdo con métodos generales proporcionados en la presente y ejemplos de síntesis específicos con cualesquiera etapas adicionales que se sitúan claramente dentro de los conocimientos habituales en la materia. Varios de estos compuestos se han sometido a prueba en diversos ensayos según se detalla en la presente y se ha observado que los mismos son activos. Los compuestos sometidos a prueba también presentan un aumento de la biodisponibilidad por referencia a compuestos dados a conocer en el documento WO 2010/110855.

[0174] En algunas realizaciones, cada una de las fórmulas generales anteriores puede contener una condición de eliminar uno o más de los siguientes compuestos:





[0175] Los compuestos según la Fórmula I y/o la Fórmula II se han sintetizado de acuerdo con métodos generales proporcionados en la presente y ejemplos de síntesis específicos, situándose claramente dentro de los conocimientos habituales de la materia cualesquiera etapas adicionales. Varios de estos compuestos se han sometido a prueba en diversos ensayos según se detalla en la presente y se ha observado que los mismos son activos. Los compuestos sometidos a prueba también presentan un incremento de la biodisponibilidad por referencia a compuestos que se dan a conocer en el documento WO 2010/110855.

[0176] Tal como se usa en la presente, la expresión “grupo aceptor de enlaces de hidrógeno” se refiere a un grupo capaz de aceptar un enlace de hidrógeno. Los ejemplos de grupos aceptores de enlaces de hidrógeno son conocidos e incluyen, aunque sin carácter limitativo, grupos alcoxi, grupos oxazolidin-2-ona, -O-C(O)-N-; -C(O)-N-; -O-; el heteroátomo (por ejemplo, oxígeno) de un cicloheteroalquilo; -N-SO₂- y similares. Los grupos se pueden enlazar en cualquiera de las dos direcciones y se pueden conectar a otro carbono o heteroátomo. Un grupo aceptor de enlaces de hidrógeno también puede estar presente en o cerca de un grupo alifático hidrófobo. Por ejemplo, un grupo tetrahidrofurano comprende tanto un grupo aceptor de enlaces de hidrógeno como un grupo alifático hidrófobo. El oxígeno presente en el anillo del tetrahidrofurano actúa como aceptor de enlaces de hidrógeno y los carbonos del anillo de tetrahidrofurano actúan como grupo alifático hidrófobo.

[0177] Tal como se usa en la presente, la expresión “grupo alifático hidrófobo” se refiere a una cadena de carbonos o anillo de carbonos. La cadena de carbonos puede estar presente en un cicloheteroalquilo, pero el grupo alifático hidrófobo no incluye el heteroátomo. El ejemplo de tetrahidrofurano proporcionado anteriormente es uno de estos ejemplos, aunque hay muchos otros. En algunas realizaciones, el grupo alifático hidrófobo es un alquilo C1-C6 opcionalmente sustituido, cicloalquilo, o carbonos C1-C6 de un heterocicloalquilo. Un “grupo alifático hidrófobo” no es un grupo aromático hidrófobo.

[0178] Tal como se usa en la presente, la expresión “grupo ionizable positivo”, se refiere a un átomo o un grupo de átomos presente en una estructura que se puede cargar positivamente bajo ciertas condiciones, tales como condiciones biológicas presentes en solución o en una célula. En algunas realizaciones, el grupo ionizable positivo es un nitrógeno. En algunas realizaciones, el grupo ionizable positivo es un nitrógeno presente en un anillo cicloheteroalquilo. Por ejemplo, en un grupo piperacina, los dos nitrógenos se considerarían dos grupos ionizables positivos. No obstante, en algunas realizaciones, los carbonos enlazados a un grupo ionizable positivo no se consideran un grupo alifático hidrófobo. En algunas realizaciones, el grupo ionizable positivo es un anillo que contiene nitrógeno. Los ejemplos de anillos que contienen nitrógeno incluyen, aunque sin carácter limitativo, piperadina, triacinano, tetracinano, y similares. En algunas realizaciones con respecto al grupo ionizable positivo, un anillo que contiene nitrógeno comprende 1, 2, 3 ó 4 nitrógenos. En algunas realizaciones, el grupo ionizable positivo no es el nitrógeno presente en un grupo -N-SO₂-.

[0179] En algunas realizaciones, un grupo comprende tanto un aceptor de enlaces de hidrógeno como un grupo ionizable positivo. Por ejemplo, un grupo morfolina comprende tanto un aceptor de enlaces de hidrógeno en el grupo oxígeno como un grupo ionizable positivo en el nitrógeno.

[0180] Tal como se usa en la presente, la expresión “donador de enlaces de hidrógeno” se refiere a un grupo que es capaz de donar un enlace de hidrógeno. Los ejemplos de un grupo donador de enlace de hidrógeno incluyen, aunque sin carácter limitativo, -OH, y similares.

Sales, solvatos, estereoisómeros, derivados, profármacos y metabolitos activos de los compuestos novedosos.

[0181] La exposición abarca, además, sales, solvatos, estereoisómeros, profármacos y metabolitos activos de los compuestos de cualquiera de las formas anteriores.

[0182] El término “sales” puede incluir sales de adición de ácido o sales de adición de bases libres. Preferentemente, las sales son farmacéuticamente aceptables. Los ejemplos de ácidos que se pueden utilizar para formar sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables incluyen, aunque sin carácter limitativo, sales derivadas de ácidos inorgánicos atóxicos tales como nítrico, fosfórico, sulfúrico, o bromhídrico, yodhídrico, fluorhídrico, fosforoso, así como sales derivadas de ácidos orgánicos atóxicos, tales como ácidos mono- y dicarboxílicos alifáticos, ácidos alcanicos fenil-

- sustituidos, ácidos hidroxialcanoicos, ácidos alcanodióicos, ácidos aromáticos, ácidos sulfónicos alifáticos y aromáticos, y ácidos acético, maleico, succínico o cítrico. Los ejemplos no limitativos de dichas sales incluyen napadisilato, besilato, sulfato, piro sulfato, bisulfato, sulfito, bisulfito, nitrato, fosfato, monohidrogenfosfato, dihidrogenfosfato, metafosfato, pirofosfato, cloruro, bromuro, yoduro, acetato, trifluoroacetato, propionato, caprilato, isobutirato, oxalato, malonato, succinato, suberato, sebacato, fumarato, maleato, mandelato, benzoato, clorobenzoato, metilbenzoato, dinitrobenzoato, ftalato, bencenosulfonato, toluensulfonato, fenilacetato, citrato, lactato, maleato, tartrato, metanosulfonato y similares. Se contemplan también sales de aminoácidos, tales como arginato y similares y gluconato, galacturonato (véase, por ejemplo, Berge, et al. "*Pharmaceutical Salts*," J. Pharma. Sci. 1977;66:1).
- [0183]** Las sales de adición de ácido de los compuestos de cualquiera de las formas anteriores se pueden preparar haciendo entrar en contacto la forma de base libre con una cantidad suficiente del ácido deseado para producir la sal según la manera convencional. La forma de base libre se puede regenerar haciendo entrar en contacto la forma de sal con una base y aislando la base libre según la manera convencional. Las formas de base libre difieren algo de sus formas de sal respectivas en ciertas propiedades físicas, tales como solubilidad en disolventes polares, pero, por lo demás, las sales son equivalentes a su base libre respectiva a efectos de esta exposición.
- [0184]** Se incluyen también sales tanto totales como parciales, es decir, sales con 1, 2 ó 3, preferentemente, 2, equivalentes de base por mol de ácido de un, por ejemplo, compuesto de fórmula I o sal, con 1, 2 ó 3 equivalentes, preferentemente 1 equivalente, de ácido por mol de base de cualquiera de los compuestos de las fórmulas anteriores.
- [0185]** A efectos de aislamiento o purificación, también es posible usar sales no aceptables farmacéuticamente. No obstante, terapéuticamente solo se usan las sales atóxicas, farmacéuticamente aceptables, y, por lo tanto, las mismas son las preferidas.
- [0186]** Las sales de adición de base farmacéuticamente aceptables se forman con metales o aminas, tales como metales alcalinos y alcalinotérreos o aminas orgánicas. Los ejemplos de metales usados como cationes son sodio, potasio, magnesio, calcio y similares. Los ejemplos de aminas adecuadas son N,N'-dibenciletilendiamina, cloroprocaina, colina, dietanolamina, diciclohexilamina, etilendiamina, N-metilglucamina y procaina.
- [0187]** Las sales de adición de base de dichos compuestos ácidos se preparan haciendo entrar en contacto la forma de ácido libre con una cantidad suficiente de la base deseada para producir la sal según la manera convencional. La forma de ácido libre se puede regenerar haciendo entrar en contacto la forma de sal con un ácido y aislando el ácido libre.
- [0188]** Los compuestos de la exposición pueden tener un centro tanto básico como ácido y, por lo tanto, pueden encontrarse en forma de *zwitteriones* o sales internas.
- [0189]** De manera típica, una sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de cualquiera de las formas anteriores se puede preparar fácilmente usando un ácido o base deseado según resulte adecuado. La sal puede precipitar desde la solución y se puede recoger por filtración o se puede recuperar por evaporación del disolvente. Por ejemplo, una solución acuosa de un ácido, tal como ácido clorhídrico se puede adicionar a una suspensión acuosa de un compuesto de cualquiera de las fórmulas anteriores, y la mezcla resultante se puede evaporar a sequedad (liofilizar) para obtener la sal de adición de ácido en forma de un sólido. Alternativamente, un compuesto de cualquiera de las fórmulas anteriores se puede disolver en un disolvente adecuado, por ejemplo, un alcohol, tal como isopropanol, y el ácido se puede adicionar en el mismo disolvente u otro disolvente adecuado. A continuación, la sal de adición de ácido resultante se puede precipitar directamente, o por adición de un disolvente menos polar, tal como diisopropil éter o hexano, y se puede aislar por filtración.
- [0190]** Aquellos versados en la materia de la química orgánica apreciarán que muchos compuestos orgánicos pueden formar complejos con disolventes en los cuales se hacen reaccionar o desde los cuales precipitan o cristalizan. Estos complejos se conocen como "solvatos". Por ejemplo, un complejo con agua se conoce como "hidrato". Los solvatos del compuesto de la exposición se sitúan dentro del alcance de la misma. Las sales del compuesto de cualquiera de las formas anteriores pueden formar solvatos (por ejemplo, hidratos) y la exposición también incluye todos estos solvatos. El significado del vocablo "solvatos" es ampliamente conocido para aquellos versados en la materia como compuesto formado por interacción de un disolvente y un soluto (es decir, solvatación). Las técnicas para la preparación de solvatos están bien establecidas en la materia (véase, por ejemplo, Brittain. *Polymorphism in Pharmaceutical solids*. Marcel Decker, New York, 1999.).
- [0191]** La exposición abarca, también, N-óxidos de los compuestos de fórmulas I. El término N-óxido significa que, para heterociclos que contienen un átomo de N sp^2 , por otro lado no sustituido, el átomo de N puede ser portador de un átomo de O enlazado de manera covalente, es decir, $-N \rightarrow O$. Los ejemplos de dichos heterociclos sustituidos con N-óxido incluye N-óxidos de piridilo, N-óxidos de pirimidilo, N-óxidos de piracinilo y N-óxidos de pirazolilo.
- [0192]** Los compuestos de cualquiera de las fórmulas anteriores pueden tener uno o más centros quirales y, en función de la naturaleza de los sustituyentes individuales, también pueden tener isómeros geométricos. A los isómeros que

difieren en la disposición de sus átomos en el espacio se les denomina "estereoisómeros". A los estereoisómeros que no son imágenes especulares uno con respecto al otro se les denomina "diastereómeros" y a aquellos que son imágenes especulares no superponibles uno con respecto al otro se les denomina "enantiómeros". Cuando un compuesto tiene un centro quiral, es posible un par de enantiómeros. Un enantiómero se puede caracterizar por la configuración absoluta de su centro asimétrico y se describe por las reglas de secuenciación de R- y S- de Cahn y Prelog. O por la manera en la cual la molécula hace girar el plano de luz polarizada y se designa como dextrógiro o levógiro (es decir, como isómero (+) o (-) respectivamente). Un compuesto quiral puede existir o bien como un enantiómero individual o bien como una mezcla de enantiómeros. A una mezcla que contiene proporciones iguales de los enantiómeros se le denomina "mezcla racémica". Una mezcla que contiene porciones desiguales de los enantiómeros se describe de manera que tiene un "exceso enantiomérico" (ee) del compuesto o bien R o bien S. El exceso de un enantiómero en una mezcla se describe normalmente con un valor de % de exceso enantiomérico (% ee) determinado por la fórmula:

$$\% ee = (R) - (S) / (R) + (S)$$

[0193] La relación de enantiómeros también se puede definir por la "pureza óptica" en donde el grado con el que la mezcla de enantiómeros hace girar la luz polarizada plana se compara con los compuestos R y S ópticamente puros individuales. La pureza óptica se puede determinar usando la siguiente fórmula:

$$\text{Pureza óptica} = \text{enant}_{\text{mayoritario}} / (\text{enant}_{\text{mayoritario}} + \text{enant}_{\text{minoritario}})$$

[0194] Los compuestos también pueden ser un enantiómero (+) o (-) sustancialmente puro de los compuestos descritos en la presente. En algunas realizaciones, una composición que comprende un enantiómero sustancialmente puro comprende por lo menos un 90, un 91, un 92, un 93, un 94, un 95, un 96, un 97, un 98 ó un 99% de un enantiómero. En algunas realizaciones, una composición que comprende un enantiómero sustancialmente puro es por lo menos un 99,5% de un enantiómero. En algunas realizaciones, la composición comprende solamente un enantiómero de un compuesto descrito en la presente.

[0195] La exposición abarca todos los isómeros individuales de los compuestos de cualquiera de las fórmulas anteriores. La descripción o denominación de un compuesto particular en la memoria descriptiva y las reivindicaciones está destinada a incluir tanto enantiómeros individuales como mezclas, racémicas o de otro tipo, de los mismos. Los métodos para la determinación de la estereoquímica y la resolución o síntesis estereotáctica de estereoisómeros son bien conocidos en la materia. Específicamente, se muestra un centro quiral en los compuestos de cualquiera de las fórmulas anteriores el cual da origen a un conjunto de enantiómeros. Puede haber presencia de centros quirales adicionales en función de los sustituyentes.

[0196] Para muchas aplicaciones, se prefiere llevar a cabo síntesis estereoselectivas y/o someter el producto de la reacción a etapas de purificación adecuadas con el fin de producir materiales de manera sustancial ópticamente puros. Los procedimientos de síntesis estereoselectivos adecuados para producir materiales ópticamente puros son bien conocidos en la materia, igual que lo son los procedimientos para purificar mezclas racémicas en fracciones ópticamente puras. Aquellos versados en la materia reconocerán, además, que los compuestos de la exposición pueden existir en formas polimórficas en donde un compuesto es capaz de cristalizar en formas diferentes. Los métodos adecuados para identificar y separar polimorfismos son conocidos en la materia.

[0197] Los diastereómeros difieren tanto en las propiedades físicas como en la reactividad química. Una mezcla de diastereómeros se puede separar en pares enantioméricos sobre la base de la solubilidad, la cristalización fraccionada o las propiedades cromatográficas, por ejemplo, cromatografía en capa fina, cromatografía de columna o HPLC.

[0198] La purificación de mezclas complejas de diastereómeros en enantiómeros requiere típicamente dos etapas. En una primera etapa, la mezcla de diastereómeros se resuelve en pares enantioméricos, según se ha descrito anteriormente. En una segunda etapa, los pares enantioméricos se purifican adicionalmente en composiciones enriquecidas para uno u otro enantiómero, o, más preferentemente, se resuelven en composiciones que comprenden enantiómeros puros. La resolución de enantiómeros requiere, típicamente, una reacción o interacción molecular con un agente quiral, por ejemplo, matriz de columna o disolvente. La resolución se puede lograr, por ejemplo, convirtiendo la mezcla de enantiómeros, por ejemplo, una mezcla racémica, en una mezcla de diastereómeros mediante reacción con un enantiómero puro de un segundo agente, por ejemplo, un agente de resolución. A continuación, los dos productos diastereoméricos resultantes se pueden separar. A continuación, los diastereómeros separados se reconvierten en los enantiómeros puros invirtiendo la transformación química inicial.

[0199] La resolución de enantiómeros también se puede lograr por diferencias en su unión no covalente a una sustancia quiral, por ejemplo, por cromatografía sobre adsorbentes homoquirales. La unión no covalente entre enantiómeros y el adsorbente cromatográfico establece complejos diastereoméricos, conduciendo a un fraccionamiento diferencial de los estados móvil y de unión en el sistema cromatográfico. Por lo tanto, los dos enantiómeros se mueven a través del sistema cromatográfico, por ejemplo, una columna, a velocidades diferentes, permitiendo su separación.

- 5 **[0200]** Las columnas de resolución quiral son bien conocidas en la materia y están disponibles comercialmente (por ejemplo, en MetaChem Technologies Inc., una división de ANSYS Technologies, Inc., Lake Forest, CA). Los enantiómeros se pueden analizar y purificar usando, por ejemplo, fases estacionarias quirales (CSPs) para la HPLC. Típicamente, las columnas de HPLC quiral contienen una forma de un compuesto enantiomérico inmovilizado en la superficie de un material de relleno de sílice.
- 10 **[0201]** D-fenilglicilina y L-leucina son ejemplos de CSPs de Tipo I y usan combinaciones de interacciones π - π , enlaces de hidrógeno, interacciones dipolo-dipolo, e interacciones estéricas para lograr un reconocimiento quiral. Para su resolución en una columna de Tipo I, los enantiómeros de analitos deben contener una funcionalidad complementaria a la de la CSP de manera que el analito experimente interacciones esenciales con la CSP. Preferentemente, la muestra debería contener uno de los siguientes grupos funcionales: ácido π o base π , donador y/o aceptor de enlaces de hidrógeno, o un dipolo amida. En ocasiones, se usa la derivatización para adicionar los sitios interactivos a aquellos compuestos que carecen de los mismos. Los derivados más comunes conllevan la formación de amidas a partir de aminas y ácidos carboxílicos.
- 20 **[0202]** La MetaChiral ODM™ es un ejemplo de una CSP II. Los mecanismos principales para la formación de complejos soluto-CSP es a través de interacciones atractivas, aunque los complejos de inclusión también juegan un papel importante. Los enlaces de hidrógeno, las interacciones π - π , y el apilamiento de dipolos son importantes para la resolución quiral en la MetaChiral™ ODM. También puede ser necesaria la derivatización cuando la molécula del soluto no contiene los grupos requeridos para interacciones soluto-columna. La derivatización, habitualmente a bencilamidas, puede ser necesaria para algunas moléculas fuertemente polares, como aminas y ácidos carboxílicos, que, de otro modo, interaccionarían fuertemente con la fase estacionaria a través de interacciones estereo no específicas.
- 25 **[0203]** Cuando proceda, los compuestos de cualquiera de las formas anteriores se pueden separar en pares diastereoméricos, por ejemplo, mediante separación por cromatografía en columna o TLC en gel de sílice. A estos pares diastereoméricos se les hace referencia, en la presente, como diastereómero con R_f TLC superior; y diastereómero con R_f TLC inferior. Los diastereómeros se pueden enriquecer, además, para un enantiómero particular o se pueden resolver en un enantiómero único usando métodos bien conocidos en la técnica, tales como los correspondientes que se describen en la presente.
- 30 **[0204]** La configuración relativa de los pares diastereoméricos se puede deducir por la aplicación de modelos o reglas teóricos (por ejemplo, regla de Cram, modelo de Felkin-Ahn) o usando modelos tridimensionales más fiables generados mediante programas de química computacionales. En muchos casos, estos métodos pueden predecir qué diastereómero es el producto energéticamente favorecido de una transformación química. Como alternativa, la configuración relativa de los pares diastereoméricos se puede determinar indirectamente descubrimiento las configuraciones absolutas de un enantiómero individual en uno (o ambos) del(de los) par(es) diastereomérico(s).
- 40 **[0205]** La configuración absoluta de los centros estereogénicos se puede determinar mediante un método muy bien conocido para aquellos versados en la materia (por ejemplo, difracción de rayos X, dicroísmo circular). La determinación de la configuración absoluta puede ser útil, también, para confirmar la predictibilidad de modelos teóricos y puede servir para ampliar el uso de estos modelos a moléculas similares preparadas mediante reacciones con mecanismos análogos (por ejemplo, reducciones de cetonas y aminación reductora de cetonas por hidruros).
- 45 **[0206]** La exposición también puede abarcar estereoisómeros del tipo Z-E, y mezclas de los mismos debido a sustituyentes R₂-R₃ en el enlace doble no unido directamente al anillo. Se encuentran estereoisómeros Z-E adicionales cuando m no es 1 y m y n son diferentes. Las reglas prioridad de Cahn-Ingold-Prelog se aplican para determinar si los estereoisómeros debidos a la posición respectiva en el plano del enlace doble de los sustituyentes enlazados doblemente son Z ó E. El estereoisómero se designa como Z (*zusammen* = juntos) si los 2 grupos de mayor prioridad están dispuestos en el mismo lado de un plano de referencia que pasa a través del enlace C=C. El otro estereoisómero se designa como E (*entgegen* = opuesto).
- 50 **[0207]** Una mezcla de estereoisómeros de tipo E-Z se puede separar (y/o caracterizar) en sus componentes usando métodos clásicos de purificación que se basan en las diferentes propiedades químico-físicas de estos compuestos. En estos métodos se incluyen la cristalización fraccionada, cromatografía llevada a cabo mediante técnicas de presión baja, media o alta, la destilación fraccionada, y cualquier otro método muy bien conocido para aquellos versados en la materia.
- 55 **[0208]** La exposición abarca, también, profármacos de los compuestos de cualquiera de las fórmulas anteriores, es decir, compuestos que liberan un fármaco activo de acuerdo con cualquiera de las fórmulas anteriores *in vivo* cuando se administran a un sujeto mamífero. Un profármaco es un compuesto farmacológicamente activo, o, más típicamente, inactivo, que se convierte en un agente farmacológicamente activo mediante una transformación metabólica. Profármacos de un compuesto de cualquiera de las fórmulas anteriores se preparan modificando grupos funcionales presentes en el compuesto de cualquiera de las fórmulas anteriores de tal manera que las modificaciones se pueden

escindir *in vivo* para liberar el compuesto parental. *In vivo*, un profármaco experimenta fácilmente cambios químicos bajo condiciones fisiológicas (por ejemplo, enzima(s) de origen natural los hidroliza(n) o actúa(n) sobre ellos) dando como resultado la liberación del agente farmacológicamente activo. Los profármacos incluyen compuestos de cualquiera de las fórmulas anteriores en donde un grupo hidroxilo, amino o carboxi se enlaza a cualquier grupo que se puede escindir *in vivo* para regenerar, respectivamente, el grupo hidroxilo, amino o carboxi libre. Los ejemplos de profármacos incluyen, aunque sin carácter limitativo, ésteres (por ejemplo, derivados acetato, formiato y benzoato) de compuesto de cualquiera de las fórmulas anteriores o cualquier otro derivado que, tras llevarse al pH fisiológico o a través de acción enzimática, se convierte en el fármaco parental activo. En la técnica se describen procedimientos convencionales para la selección y la preparación de derivados de profármacos adecuados (véase, por ejemplo, Bundgaard. *Design of Prodrugs*. Elsevier, 1985).

[0209] Los profármacos se pueden administrar de la misma manera que el ingrediente activo en el cual se convierten o se pueden aplicar en forma de reservorio, por ejemplo, un parche transdérmico, u otro reservorio que está adaptado para permitir, mediante provisión de un enzima u otro reactivo apropiado) la conversión de un profármaco en el ingrediente activo de manera lenta con el paso del tiempo, y la entrega del ingrediente activo al paciente.

[0210] A no ser que se indique específicamente, la expresión “ingrediente activo” debe entenderse como referente a un compuesto de cualquiera de las fórmulas anteriores que se definen en la presente.

[0211] La exposición también abarca metabolitos. “Metabolito” de un compuesto dado a conocer en la presente es un derivado de un compuesto que se forma cuando el compuesto se metaboliza. La expresión “metabolito activo” se refiere a un derivado biológicamente activo de un compuesto que se forma cuando el compuesto se metaboliza. El término “metabolizado” se refiere a la suma de los procesos por los cuales una sustancia particular se hace cambiar en el cuerpo vivo, en resumen, todos los compuestos presentes en el cuerpo son manipulados por enzimas en el interior del cuerpo con el fin de obtener energía y/o para eliminarlos del cuerpo. Enzimas específicos producen alteraciones estructurales específicas en el compuesto. Por ejemplo, el citocromo P450 cataliza una variedad de reacciones de oxidación y reducción mientras que las uridina difosfato glucuroniltransferasas catalizan la transferencia de una molécula de ácido glucurónico activada a alcoholes aromáticos, alcoholes alifáticos, ácidos carboxílicos, aminas y grupos sulfhidrilo libres. Puede obtenerse información adicional sobre el metabolismo en *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 9ª Edición, McGraw-Hill (1996), páginas 11 a 17. Los metabolitos de los compuestos dados a conocer en la presente se pueden identificar o bien por administración de compuestos a un hospedador y análisis de muestras de tejido del hospedador, o bien por incubación de compuestos con células hepáticas *in vitro* y análisis de los compuestos resultantes. Ambos métodos son bien conocidos en la materia.

35 **Uso de los antagonistas del receptor sigma-2**

[0212] En algunas realizaciones, la exposición proporciona métodos de inhibición del declive del número de sinapsis o de las anomalías del tráfico de membrana asociados a la exposición de una célula neuronal a especies de Abeta, mediante la administración de un antagonista del receptor sigma-2. La exposición proporciona, también métodos para tratar un declive cognitivo y/o una enfermedad neurodegenerativa, por ejemplo, enfermedad de Alzheimer o deterioro cognitivo leve (MCI) en un paciente, que comprenden administrar, al paciente, un antagonista del sigma-2 descrito en la presente, por ejemplo, aquellos cubiertos por cualquiera de las fórmulas descritas en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. En algunas realizaciones, el método de inhibición, o tratamiento, de un declive cognitivo y/o una enfermedad neurodegenerativa, por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer, comprende inhibir, o tratar, uno o más síntomas del declive cognitivo seleccionados del grupo consistente en pérdida de memoria, confusión, alteración del juicio, cambios de personalidad, desorientación y pérdida de habilidades lingüísticas. En algunas realizaciones, el método comprende inhibir, o tratar, enfermedades o trastornos o afecciones mediadas por o asociadas a oligómeros de Abeta (véase el párrafo 002). En algunas realizaciones, el método de inhibición, o tratamiento, de un declive cognitivo y/o una enfermedad neurodegenerativa, por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer, comprende uno o más de: (i) restablecimiento de la potenciación de largo plazo (LTP), la depresión de largo plazo (LTD) o la plasticidad sináptica detectable por mediciones electrofisiológicas o cualquiera de los otros cambios negativos de la función cognitiva según se ha mencionado en la definición del término anteriormente; y/o (ii) inhibición, o tratamiento, de una neurodegeneración; y/o en (iii) inhibición, o tratamiento, de amiloidosis general; y/o (iv) inhibición, o tratamiento, de uno o más de producción de amiloides, ensamblaje de amiloides, agregación de amiloides, y unión de oligómeros de amiloides, y depósito de amiloides; y/o (v) inhibición, tratamiento, y/o remisión de un efecto, en especial un efecto no letal, de uno o más de oligómeros de Abeta en una célula neuronal. En algunas realizaciones, el método de inhibición, tratamiento y/o remisión de un declive cognitivo y/o una enfermedad neurodegenerativa, por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer, comprende inhibir, tratar y/o remitir uno o más de producción de amiloides, ensamblaje de amiloides, la actividad/efecto de uno o más de oligómeros de Abeta en una célula neuronal, agregación de amiloides, unión de amiloides, y depósito de amiloides. En algunas realizaciones, el método de inhibición, tratamiento y/o remisión de un declive cognitivo y/o una enfermedad neurodegenerativa, por ejemplo, enfermedad de Alzheimer, comprende inhibir, tratar y/o remitir uno o más de la actividad/efecto de uno o más de oligómeros de Abeta en una célula neuronal.

[02113] En algunas realizaciones, la actividad/efecto de uno o más de oligómeros de Abeta en una célula neuronal, agregación de amiloides y unión de amiloides es el efecto de oligómeros de Abeta en el tráfico de membrana o el número de sinapsis. En algunas realizaciones, el antagonista del sigma-2 inhibe el efecto de oligómeros de Abeta en el tráfico de membrana o el número de sinapsis o la unión de oligómeros de Abeta.

[02114] En algunas realizaciones, la exposición proporciona métodos de tratamiento de una enfermedad proteopática asociada a la toxicidad por oligómeros de Abeta, específicamente efectos no letales de oligómeros de Abeta. En algunas realizaciones, el método comprende hacer entrar en contacto a un sujeto, con dicha enfermedad proteopática, con un antagonista del sigma-2 de la exposición o una composición que contiene el mismo y que se une al receptor sigma-2.

[02115] En algunas realizaciones, la enfermedad proteopática es una proteopatía del CNS, caracterizada por un aumento de la proteína Abeta. Tal como MCI, Síndrome de Down, degeneración macular o enfermedad de Alzheimer, y similares.

[02116] En algunas realizaciones, la exposición proporciona métodos de tratamiento de uno o más de deterioro cognitivo leve (MCI), o demencia, administrando un antagonista del sigma-2 de acuerdo con la exposición. En algunas realizaciones, la exposición proporciona métodos de tratamiento del MCI, y la demencia.

[02117] En algunas realizaciones, la exposición proporciona métodos de tratamiento de un individuo con un antagonista de sigma-2 de acuerdo con la exposición, para restablecer, de manera parcial o total, las células del sujeto a un fenotipo normal en términos de funciones afectadas negativamente por especies de Abeta, tales como oligómeros de Abeta. Son ejemplos de las mismas una reducción del número de sinapsis y anomalías del tráfico de membrana, las cuales se pueden medir mediante diversos métodos incluyendo los ensayos descritos en la presente. El fenotipo normal puede ser, por ejemplo, un tráfico de membrana normal. En algunas realizaciones, el fenotipo normal es una capacidad cognitiva normal. El fenotipo "normal" se puede determinar comparando los resultados de un sujeto con una muestra de sujetos normales. La muestra puede ser tan pequeña como 1 sujeto ó 1 muestra puede ser más de 10 muestras o sujetos y la norma es un valor medio que se calcula sobre la base de una pluralidad de sujetos.

[02118] En algunas realizaciones, el método comprende administrar, a un sujeto afectado con declive cognitivo o con una enfermedad neurodegenerativa, un compuesto o composición que se une a una proteína sigma-2 e inhibe una patología beta-amiloide. En algunas realizaciones, la patología beta-amiloide es un defecto del tráfico de membrana, una reducción del número de sinapsis, una reducción del número de espinas dendríticas, un cambio en la morfología de las espinas dendríticas, un cambio de la LTP, un cambio de la LTD, un defecto en medidas de memoria y aprendizaje en un animal, o cualquier combinación de los mismos, y similares. Los usos anteriores son el resultado de evidencias aducidas por los inventores de la manera siguiente:

[02119] Evaluación de la eficacia conductual: los déficits de memoria inducidos por oligómeros de Abeta en miedo acondicionado en ratones constituyen un modelo establecido en el laboratorio del doctor Ottavio Arancio de la Universidad de Columbia (Puzzo 2008). Varias compañías farmacéuticas usan este mismo modelo en sus esfuerzos por realizar descubrimientos. El condicionamiento del miedo contextual es un modelo aceptado de formación de memoria asociativa que está en correlación con la función cognitiva humana y, específicamente, la creación de recuerdos nuevos (Delgado 2006). Se inyectan oligómeros de Abeta en el hipocampo de animales de tipo salvaje inmediatamente antes de un entrenamiento de condicionamiento, y se evalúa la memoria mediante la conducta de congelamiento después de 24 horas. Este sistema de modelo se seleccionó debido a que la administración de oligómeros intrahipocampo permite una evaluación comparativa rápida de la actividad del compuesto y de la toxicidad colateral (*off-target*).

[0220] También se pueden someter a prueba compuestos in vivo en dos modelos transgénicos de Alzheimer para mostrar el efecto del compuesto en la reversión de la pérdida de memoria asociada a oligómeros de Abeta. Estos estudios conductuales demostraron, en conjunto, que compuestos antagonistas del sigma-2 provocan una mejora en el aprendizaje y la memoria en dos tareas conductuales diferentes, con dos modelos diferentes de enfermedad de Alzheimer, en ambos géneros y tras una administración de corto o largo plazo, y demuestran que los ensayos in vitro están en correlación con la actividad in vivo.

[0221] Tal como se describe en la presente, la evidencia sugiere que la reducción, mediada por oligómeros de Abeta, de la expresión de receptores de la superficie neuronal, mediada por el tráfico de membrana, constituye la base para la inhibición oligomérica de medidas electrofisiológicas de la plasticidad sináptica (LTP) y, por lo tanto, del aprendizaje y la memoria (véase Kamenetz F, Tomita T, Hsieh H, Seabrook G, Borchelt D, Iwatsubo T, Sisodia S, Malinow R. *APP processing and synaptic function*. Neuron. 27 de marzo de 2003; 37(6):925-37; y Hsieh H, Boehm J, Sato C, Iwatsubo T, Tomita T, Sisodia S, Malinow R. *AMPA removal underlies Abeta oligomer-induced synaptic depression and dendritic spine loss*. Neuron. 7 de diciembre de 2006;52(5):831-43). La medición de cambios de la tasa de tráfico de membrana inducidos por oligómeros, a través de cambios morfológicos de formazán se han usado en líneas celulares para descubrir fármacos que bloquean los oligómeros de Abeta [Maezawa I, Hong HS, Wu HC, Battina SK, Rana S, Iwamoto T, Radke GA, Pettersson E, Martin GM, Hua DH, Jin LW. *A novel tricyclic pyrone compound ameliorates cell death associated with intracellular amyloid-beta oligomeric complexes*. J Neurochem. Julio de 2006;98(1):57-67; Liu Y,

- Schubert D. *Cytotoxic amyloid peptides inhibit cellular 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) reduction by enhancing MTT formazan exocytosis*. J Neurochem. Diciembre de 1997;69(6):2285-93; Liu Y, Dargusch R, Banh C, Miller CA, Schubert D. *Detecting bioactive amyloid beta peptide species in Alzheimer's disease*. J Neurochem. Noviembre de 2004;91(3):648-56; Liu Y, Schubert D. *Treating Alzheimer's disease by inactivating bioactive amyloid beta peptide*. Curr Alzheimer Res. Abril de 2006 ;3(2):129-35; Rana S, Hong HS, Barrigan L, Jin LW, Hua DH. *Syntheses of tricyclic pyrones and pyridinones and protection of Abeta-peptide induced MC65 neuronal cell death*. Bioorg Med Chem Lett. 1 de febrero de 2009;19(3):670-4. Publicación electrónica 24 de diciembre de 2008; y Hong HS, Maezawa I, Budamagunta M, Rana S, Shi A, Vassar R, Liu R, Lam KS, Cheng RH, Hua DH, Voss JC, Jin LW. *Candidate antiAbeta fluorene compounds selected from analogs of amyloid imaging agents*. Neurobiol Aging. 18 de noviembre de 2008. (Publicación electrónica previa a su impresión)] que reducen los niveles cerebrales de Abeta en roedores in vivo [Hong HS, Rana S, Barrigan L, Shi A, Zhang Y, Zhou F, Jin LW, Hua DH. *Inhibition of Alzheimer's amyloid toxicity with a tricyclic pyrone molecule in vitro and in vivo*. J Neurochem. Febrero de 2009;108(4):1097-1108]. Por consiguiente, las pruebas anteriores han demostrado relevancia en la identificación de compuestos para tratar la enfermedad de Alzheimer y el deterioro cognitivo leve precoces.
- [0222]** En algunas realizaciones, un compuesto de cualquiera de las fórmulas anteriores tiene un valor de IC₅₀ inferior a 100 µM, 50 µM, 20 µM, 15 µM, 5 µM, 1 µM, 500 nM, 100 nM, 50 nM, ó 10 nM con respecto a la inhibición de uno o más del efecto de oligómeros de Abeta en neuronas (tales como neuronas en el cerebro), ensamblaje de amiloides o alteración del mismo, y unión de amiloides (incluyendo oligómeros de amiloides) y depósito de amiloides. En algunas realizaciones, el compuesto tiene un valor de IC₅₀ inferior a 100 µM, 50 µM, 20 µM, 15 µM, 10 µM, 5 µM, 1 µM, 500 nM, 100 nM, 50 nM, ó 10 nM con respecto a la inhibición de la actividad/efecto de especies de Abeta, tales como oligómeros en neuronas (tales como neuronas del sistema nervioso central).
- [0223]** En algunas realizaciones, el porcentaje de inhibición por parte del compuesto de la exposición de uno o más de los efectos de especies de Abeta, tales como oligómeros en neuronas (tales como neuronas del cerebro), tales como unión de amiloides (incluyendo oligómeros de amiloides) a sinapsis, y anomalías en el tráfico de membrana mediadas por oligómeros de Abeta, se midió a una concentración de entre 10 nM y 10 µM. En algunas realizaciones, el porcentaje de inhibición medido es de aproximadamente el 1% a aproximadamente el 20%, de aproximadamente el 20% a aproximadamente el 50%, de aproximadamente el 1% a aproximadamente el 50%, o de aproximadamente el 1% a aproximadamente el 80%. La inhibición se puede evaluar, por ejemplo, cuantificando el número de sinapsis de una neurona antes y después de la exposición a una especie de beta amiloides o cuantificando el número de sinapsis en presencia tanto de un antagonista del sigma-2 como de la especie de Abeta, en donde el antagonista del sigma-2 es simultáneo con, o precede o sigue a, la exposición de la especie de Abeta. Como ejemplo alternativo, la inhibición se puede evaluar determinando el tráfico de membrana y comparando uno o más parámetros que miden la tasa y el alcance de la exocitosis, la tasa y el alcance de la endocitosis, u otros indicadores de metabolismo celular en presencia y ausencia de una especie de Abeta y en presencia y ausencia de un antagonista del sigma-2 de acuerdo con la exposición. Los presentes inventores han aducido evidencias en ensayos bioquímicos en relación con que compuestos de la exposición también inhiben la agregación de amiloides (no se muestran datos).
- [0224]** En algunas realizaciones, los compuestos descritos en la presente se unen específicamente a un receptor del sigma-2. Un compuesto que se une específicamente a un receptor específico hace referencia a un compuesto que tiene preferencia para un receptor con respecto a otro. Por ejemplo, aunque un compuesto puede ser capaz de unirse a un receptor tanto sigma-1 como sigma-2, puede decirse que un compuesto es específico de un receptor sigma-2 cuando el mismo se une con una afinidad de unión que al menos un 10% mayor que la del receptor sigma-1. En algunas realizaciones, la especificidad es al menos un 10, un 20, un 30, un 40, un 50, un 60, un 70, un 80, un 90, un 100, un 200, un 300, un 400, un 500 ó un 1.000% mayor para un elemento de unión (por ejemplo receptor) que un segundo elemento de unión.
- [0225]** En algunas realizaciones, la exposición proporciona métodos de medición del declive cognitivo, asociado a beta amiloides en un animal, usando un ligando del sigma-2 marcado. En algunas realizaciones, el método comprende hacer entrar en contacto el animal con un ligando de sigma-2 marcado de acuerdo con la exposición y medir la actividad o expresión del sigma-2. En algunas realizaciones, el método comprende comparar la actividad o expresión del sigma-2 en el animal, con un animal del cual se sabe que presenta un declive cognitivo inducido por beta-amiloide. Si la actividad o expresión es la misma que la del animal del cual se sabe que presenta declive cognitivo inducido por beta-amiloide, se dice que el animal tiene el mismo nivel de declive cognitivo. Los animales se pueden clasificar de acuerdo con las similitudes en la actividad o expresión conocida de varios estadios del declive cognitivo inducido por beta amiloide. Cualquiera de los ligandos de sigma-2 descritos en la presente se puede marcar de manera que el ligando de sigma-2 marcado se puede usar in vivo.
- [0226]** En la determinación de si un compuesto de cualquiera de las fórmulas anteriores y otros compuestos descritos como antagonistas del sigma-2 anteriormente, es eficaz en el tratamiento de las diversas afecciones descritas en la presente, pueden usarse ensayos *in vitro*. Los ensayos *in vitro* se han correlacionado con un efecto *in vivo* usando el Compuesto II. Por ejemplo, si un compuesto de Fórmulas III-IV que tiene similitud estructural con el compuesto II está activo, por ejemplo, en los ensayos *in vitro* descritos en la presente, el mismo también se puede usar *in vivo* para tratar

o mejorar las afecciones descritas en la presente, incluyendo inhibir o restablecer la pérdida de sinapsis, modular un cambio de tráfico de membrana en células neuronales, proteger contra o restablecer la pérdida de memoria, y tratar afecciones, enfermedades y trastorno de declive cognitivo, tales como el MCI y la enfermedad de Alzheimer. Los ensayos se basan, en parte, en los oligómeros de beta amiloide y su función en la unión a neuronas en la sinapsis y el efecto que tienen los oligómeros de beta amiloide en neuronas *in vitro*. En algunas realizaciones, un receptor de oligómeros de Abeta en neuronas que los presentes inventores creen que incluye una proteína sigma-2 se hace entrar en contacto con un ensamblaje de beta amiloide según se describe en la presente y un compuesto de acuerdo con la Fórmula I, II ó III que se une a la proteína sigma-2 inhibirá la unión del ensamblaje de beta amiloide al receptor. En ensayos competitivos de unión de radioligandos, los presentes inventores han revelado que los presentes compuestos son específicos del receptor sigma-2. Los inventores han revelado, también, que los compuestos de la exposición inhiben la unión de oligómeros de Abeta a su receptor, hasta el momento no identificado, en la superficie de neuronas. En algunas realizaciones, se proporcionan métodos para determinar la eficacia de un compuesto de ligando del sigma-2 de cualquiera de las fórmulas anteriores en la señalización neuronal. En algunas realizaciones, el método comprende hacer entrar en contacto una célula, tal como, aunque sin carácter limitativo, una neurona primaria, con un ligando de sigma-2 y medir la función neuronal. En algunas realizaciones, la célula se hace entrar en contacto *in vitro*. En algunas realizaciones, la célula se hace entrar en contacto *in vivo*. La actividad neuronal puede ser actividad de señalización, actividad eléctrica, la producción o liberación de proteínas sinápticas, y similares. Un antagonista de sigma-2 que potencia o restablece la señalización se identifica como compuesto que es eficaz en la modulación de la actividad neuronal. En algunas realizaciones, la célula se obtiene a partir de una muestra patológica. En algunas realizaciones, la célula se obtiene a partir de un sujeto que tiene una enfermedad neurodegenerativa. En algunas realizaciones, la enfermedad neurodegenerativa es MCI o Enfermedad de Alzheimer, y especialmente enfermedad de Alzheimer leve.

Ensayos de unión de receptores y cribado de compuestos

[0227] En algunas realizaciones, un compuesto de prueba se hace entrar en contacto con la célula o membrana celular para determinar si el compuesto de prueba se puede unir al receptor sigma-2. En algunas realizaciones, el compuesto de prueba se disuelve en un vehículo o soporte (*vehicle*), tal como, aunque sin carácter limitativo, dimetilsulfóxido. En algunas realizaciones, las células se cultivan hasta llegar a la confluencia. En algunas realizaciones, tras la confluencia, las células se pueden desprender mediante un raspado suave. En algunas realizaciones, las células se desprenden por tripsinización, o cualesquiera otros medios de desprendimiento adecuados.

[0228] En algunas realizaciones, la unión del compuesto de prueba al receptor sigma-2 se puede determinar, por ejemplo, mediante un ensayo competitivo de unión de radioligandos. Los ensayos de unión de radioligandos se pueden llevar a cabo sobre células intactas que expresan de manera estable receptores humanos o una fuente de tejido. El tejido o células desprendidos, por ejemplo, se pueden lavar, centrifugar, y/o resuspender en un tampón. El compuesto de prueba se puede radiomarcarse de acuerdo con cualquier método que incluye, aunque sin carácter limitativo, los correspondientes descritos en la presente. El radioligando se puede usar con una concentración fija de 0,1 μCi en ausencia y presencia de varias concentraciones (el intervalo puede ser, por ejemplo, 10^{10} - 10^3 M Ó 10^{11} - 10^4 M de fármacos competidores. Los fármacos se pueden adicionar al tejido o células (~, por ejemplo, 50.000 células) en un tampón y puede permitirse la incubación de los mismos. La unión no específica se puede determinar en presencia de activadores o inhibidores de amplio espectro o agonistas o antagonistas funcionales para cada subtipo de receptor (por ejemplo, para receptores sigma, en presencia de, por ejemplo, 10 μM de un ligando apropiado para cada receptor). Las reacciones se pueden terminar por filtración rápida, a lo cual le pueden seguir lavados con tampón helado dos veces. La radioactividad en los discos de filtro secado se puede medir usando cualquier método, que incluye, aunque sin carácter limitativo, un analizador de centelleo líquido. Las curvas de desplazamiento se pueden representar y los valores de K_i de los ligandos de prueba para los subtipos de receptor se pueden determinar usando, por ejemplo, GraphPad Prism (GraphPad Software Inc., San Diego, CA). El porcentaje de unión específica se puede determinar dividiendo la diferencia entre la unión total (desintegraciones por minuto) y la unión no específica (desintegraciones por minuto) por la unión total (desintegraciones por minuto).

[0229] En algunas realizaciones, para estudios de unión en líneas celulares o fuentes de tejido, se adicionaron con concentraciones variables de cada fármaco por duplicado en cada experimento, y los valores individuales de IC_{50} se determinaron usando, por ejemplo, el software GraphPad Prism. El valor de K_i de cada ligando se puede determinar de acuerdo con la ecuación descrita por Cheng y Prusoff (1973). Y los datos finales se pueden presentar como $\text{pK}_i \pm \text{S.E.M.}$, donde, en algunas realizaciones, el número de pruebas es aproximadamente 1-6.

[0230] En algunas realizaciones, el método comprende, además, determinar si un compuesto que se une a un receptor sigma-2 actúa como antagonista funcional en un receptor sigma-2 inhibiendo la neurotoxicidad inducida por oligómeros de A β solubles con respecto a la inhibición de la pérdida de sinapsis inducida por oligómeros de A β solubles, y la inhibición de déficits inducidos por oligómeros de A β solubles, en un ensayo de tráfico de membrana. En algunas realizaciones, el método determina, además, que el antagonista del receptor sigma-2 no afecta al tráfico o número de sinapsis en ausencia de oligómero de Abeta, no induce actividad caspasa-3 en una célula neuronal; inhibe la inducción de actividad caspasa-3 por un agonista de receptor sigma-2; y/o reduce u ofrece protección contra la toxicidad neuronal en una célula neuronal, provocada por un agonista de receptor sigma-2.

[0231] Las pruebas también pueden incluir un ensayo funcional para determinar el efecto del compuesto de prueba sobre la función del elemento de unión, el cual puede ser, aunque sin carácter limitativo, un receptor sigma-2. Pueden usarse diversas tecnologías de ensayo convencionales. Por ejemplo, pueden usarse métodos para medir la actividad de tipo antagonista o de tipo agonista funcional, de compuestos en células o tejidos vivos. Los métodos incluyen, aunque sin carácter limitativo, TR-FRET para determinar la concentración de cAMP y niveles de IP1, fluorescencia en tiempo real para monitorizar el flujo de calcio, espectroscopia dieléctrica celular para medir la modulación de la impedancia, contracción de íleon, o apoptosis de células tumorales. La especificidad del compuesto de prueba también se puede determinar, por ejemplo, determinando si un compuesto se une al receptor Sigma-1, al receptor Sigma-2, a ninguno de ellos, o a ambos. En Ganapathy, M. E. et al. (1999) J. Pharmacol. Exp. Ther., 289: 251-260, se describe un método para determinar si un compuesto de prueba se une a un receptor Sigma-1. En Bowen, W.D et al. (1993) Mol. Neuropharmacol., 3: 117-126, y también Xu, J. et al, Nature Communications, 2011, 2:380 DOI:10.1038/ncomms 1386 se describe un método para determinar si un compuesto de prueba se une a un receptor Sigma-1.

[0232] En varias realizaciones, la exposición proporciona protocolos de ensayo para la identificación de un ligando del receptor sigma-2, de alta afinidad, selectivo, que puede actuar como antagonista funcional en un receptor sigma-2 inhibiendo la neurotoxicidad inducida por oligómeros de A β solubles, con respecto a la inhibición de la pérdida de sinapsis inducida por oligómeros de A β solubles, que inhibe déficits inducidos por oligómeros de A β solubles, en un ensayo de tráfico de membrana, que no afecta al tráfico el número de sinapsis en ausencia de oligómero de Abeta; y que presenta menos propiedades de tipo fármaco según se describe en la presente, de tal manera que el compuesto antagonista del receptor sigma-2 de alta afinidad, selectivo, así identificado se puede usar para tratar in vivo una disfunción sináptica inducida por oligómeros de A β solubles.

[0233] En algunas realizaciones, la exposición proporciona métodos de determinación de si un sujeto debería tratarse con un antagonista sigma-2, en donde se sospecha que el sujeto presenta declive cognitivo o una enfermedad neurodegenerativa u otra afección, enfermedad o trastorno descritos en la presente. En algunas realizaciones, el método comprende hacer entrar en contacto una muestra obtenida a partir del paciente, con una antagonista de sigma-2, y determinar si el compuesto modulador de sigma-2 inhibe o mejora una patología beta-amiloide presente en la muestra, en donde una muestra que presenta inhibición a mejora de la patología beta-amiloide presente en la muestra indica que el sujeto debería tratarse con un antagonista de sigma-2.

[0234] Adicionalmente, la exposición incluye métodos para identificar antagonistas de sigma-2 que inhiben una reducción inducida por oligómeros de A β en el número de sinapsis, y similares. En algunas realizaciones, los métodos se pueden usar para identificar antagonistas de sigma-2 con vistas a tratar una patología beta-amiloide. En algunas realizaciones, los métodos se usa para determinar la eficacia de un tratamiento con el fin de tratar una patología beta-amiloide. En algunas realizaciones, la patología beta-amiloide es un defecto en el tráfico de membrana, la disfunción sináptica, la memoria y un defecto de aprendizaje en un animal, una reducción del número de sinapsis, un cambio de la longitud de las espinas dendríticas o la morfología de las espinas, un defecto en la LTP, o un aumento de la fosforilación de proteína Tau.

Beta amiloide según se usa en la presente exposición

[0235] β amiloide humano es el producto de escisión de una proteína de membrana integral, proteína precursora de amiloide (APP), que se encuentra concentrada en las sinapsis de neuronas. El β amiloide se autoasocia para formar ensamblajes metaestables, oligoméricos. En concentraciones superiores, el Abeta polimerizará y se ensamblará en fibrillas de forma lineal, facilitadas por el pH más bajo. En la actualidad, no está claro si las fibrillas se forman a partir de oligómeros. Se ha demostrado que los oligómeros de β amiloide provocan enfermedad de Alzheimer en modelos animales induciendo cambios de las sinapsis neuronales que bloquean el aprendizaje y la memoria, y las fibrillas de β amiloide se han asociado durante mucho tiempo a los estadios avanzados de enfermedad de Alzheimer en animales y humanos. De hecho, la hipótesis de trabajo actual para la enfermedad de Alzheimer, y que ha recibido una gran cantidad de apoyo, es que los ensamblajes de Abeta y, especialmente, los oligómeros de Abeta, se encuentran en el núcleo de la patología precoz asociada al Alzheimer así como de patologías asociadas a demencias menos graves, tales como MCI y AD leve. Cleary, James P. et al. "Natural oligomers of the amyloid- β protein specifically disrupt cognitive function." Nature Neuroscience Vol. 8 (2005): 79 - 84; Klyubin, I. et al. "Amyloid beta protein dimer-containing human CSF disrupts synaptic plasticity: prevention by systemic passive immunization." J Neurosci. Vol. 28 (2008): 4231-4237. No obstante, se conoce muy poco sobre cómo se forman los oligómeros y el estado estructural del oligómero. Por ejemplo, en la actualidad se desconoce el número de subunidades de amiloide β que se asocian para formar el oligómero, igual que la forma estructural de los oligómeros, o qué residuos se exponen. Hay evidencias que sugieren que es neuroactivo más de un estado estructural del oligómero. Reed, Jess D. et al. "MALDI-TOF mass spectrometry of oligomeric food polyphenols." Phytochemistry 66:18 (septiembre de 2005): 2248-2263; Cleary, James P. et al. "Natural oligomers of the amyloid- β protein specifically disrupt cognitive function." Nature Neuroscience Vol. 8 (2005): 79 - 84.

[0236] El amiloide β tiene afinidad para muchas proteínas que se encuentran en el cerebro, incluyendo ApoE y ApoJ. No obstante, no está claro si las chaperonas u otras proteínas forman asociaciones con la proteína que pueden afectar a su estado estructural y/o su neuroactividad.

[0237] Es probable que el péptido Abeta soluble juegue un papel clave durante los primeros estadios de la AD alterando la disfunción sináptica y procesos cognitivos. Por ejemplo, Origlia et al. mostraron que el Abeta soluble (Abeta 42) perjudica la potenciación de largo plazo (LTP) en la corteza entorrinal a través de la activación de p38MAPK mediada por el receptor neuronal para productos finales de glicación avanzada (RAGE). Origlia et al. 2008, *Receptor for advanced glycation end product-dependent activation of p38 mitogen-activated protein kinase contributes to amyloid-beta-mediated cortical synaptic dysfunction*. J. Neuroscience 28(13):3521-3530.

[0238] La disfunción sináptica está implicada en los primeros estadios de la enfermedad de Alzheimer. Se ha demostrado que los péptidos beta amiloide modifican la función sináptica. Puzzo et al informaron de que una forma fibrilar sintética del Abeta perjudica la última fase dependiente de la síntesis proteica de la LTP sin afectar a la primera fase de síntesis proteica. El informe es congruente con informes anteriores en los que los oligómeros de Abeta son altamente tóxicos para células y están implicados en la disfunción sináptica. Puzzo et al., 2006, *Curr Alzheimer's Res* 3(3):179-183. Se ha observado que el Abeta perjudica notablemente la potenciación de largo plazo (LTP) del hipocampo por diversas cascadas de segundos mensajeros que incluyen una cascada de óxido nítrico. NO/cGMP/cGK/CREB. Puzzo et al., *J Neurosci*. 2005. En algunas realizaciones, la exposición proporciona composiciones y métodos que comprenden antagonistas del receptor sigma-2 para inhibir una disfunción sináptica, inducida por oligómeros de beta amiloide, de una célula neuronal; e inhibir la supresión de la potenciación de largo plazo del hipocampo provocada por la exposición de neuronas a oligómeros de Abeta.

[0239] En la práctica de los métodos de cribado y de los ensayos de acuerdo con la exposición puede usarse cualquier forma de amiloide β , incluyendo monómeros, oligómeros, fibrillas de amiloide β , así como amiloide β asociado a proteínas ("complejos proteicos") y, de manera más general, ensamblajes de amiloides β . Por ejemplo, los métodos de cribado pueden utilizar diversas formas de oligómeros de amiloide β solubles según se da a conocer, por ejemplo, en la solicitud de patente de Estados Unidos n.º de serie 13/021.872; la publicación de patente de Estados Unidos 2010/0240868; la solicitud de patente internacional WO/2004/067561; la solicitud de patente internacional WO/2010/011947; la publicación de patente de Estados Unidos 20070098721; la publicación de patente de Estados Unidos 20100209346; la solicitud de patente internacional WO/2007/005359; la publicación de patente de Estados Unidos 20080044356; la publicación de patente de Estados Unidos 20070218491; el documento WO/2007/126473; la publicación de patente de Estados Unidos 20050074763; la solicitud de patente internacional WO/2007/126473, la solicitud de patente Internacional WO/2009/048631, y la publicación de patente de Estados Unidos 20080044406, la patente de Estados Unidos n.º 7.902.328 y la patente de Estados Unidos n.º 6.218.506.

[0240] Las formas de amiloide β , incluyendo monómeros u oligómeros de amiloide β se pueden obtener de cualquier fuente. Por ejemplo, en algunas realizaciones, monómeros de amiloide β y/o oligómeros de amiloide β disponibles comercialmente se pueden usar en la solución acuosa, y, en otras realizaciones, monómeros de amiloide β y/o oligómeros de amiloide β que se usan en la solución proteica acuosa se pueden aislar y purificar por parte del profesional cualificado usando un número ilimitado de técnicas conocidas. En general, los monómeros de amiloide β y/o oligómeros de amiloide β usados en la preparación de la solución acuosa de proteínas y amiloide β de varias realizaciones pueden ser solubles en la solución acuosa. Por lo tanto, tanto las proteínas de la solución acuosa como el amiloide β pueden ser solubles.

[0241] El amiloide β adicionado puede ser de cualquier isoforma. Por ejemplo, en algunas realizaciones, los monómeros de amiloide β pueden ser amiloide β 1-42, y, en otras realizaciones, los monómeros de amiloide β pueden ser amiloide β 1-40. Todavía en otras realizaciones, el amiloide β puede ser amiloide β 1-39 ó amiloide β 1-41. Por tanto, el amiloide β de varias realizaciones puede abarcar cualquier isoforma C-terminal de amiloide β . Todavía otras realizaciones incluyen amiloide β en el cual el extremo N-terminal se ha deshinchado, y, en algunas realizaciones, el extremo N-terminal de cualquiera de los isómeros C-terminal de amiloide β antes descritos puede ser el aminoácido 2, 3, 4, 5, ó 6. Por ejemplo, el amiloide β 1-42 puede abarcar amiloide β 2-42, amiloide β 3-42, amiloide β 4-42, o amiloide β 5-42 y mezclas de los mismos, y de manera similar, el amiloide β 1-40 puede abarcar amiloide β 2-40, amiloide β 3-40, amiloide β 4-40, o amiloide β 5-40.

[0242] Las formas de amiloide β usadas en diversas realizaciones pueden ser de tipo salvaje, es decir, que tienen una secuencia de aminoácidos que es idéntica a la secuencia de aminoácidos de amiloide β sintetizado *in vivo* por la mayor de la población, o, en algunas realizaciones, el amiloide β puede ser un amiloide β mutante. Las realizaciones no se limitan a ninguna variedad particular de amiloide β mutante. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el amiloide β introducido en la solución acuosa puede incluir una mutación conocida, tal como, por ejemplo, amiloide β que tenga la mutación "Dutch" (E22Q) o la mutación "Arctic" (E22G). Dichos monómeros mutados pueden incluir mutaciones que se producen de manera natural tales como, por ejemplo, formas de amiloide β aisladas de poblaciones de individuos que tienen predisposición a, por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer, formas familiares del amiloide β . En otras realizaciones, pueden producirse sintéticamente monómeros de amiloide β mutantes usando técnicas moleculares para

producir un amiloide β mutante con una mutación específica. Todavía en otras realizaciones, los monómeros de amiloide β mutantes pueden incluir mutaciones no identificadas previamente, tales como, por ejemplo, aquellos mutantes que se encuentran en mutantes de amiloide β generados de manera aleatoria. El término “amiloide β ” tal como se usa en la presente, está destinado a abarcar tanto formas de tipo salvaje del amiloide β así como cualquiera de las formas mutantes de amiloide β .

[0243] En algunas realizaciones, el amiloide β en la solución proteica acuosa puede ser de una única isoforma. En otras realizaciones, pueden combinarse varias isoformas C-terminales de amiloide β y/o varias isoformas N-terminales de amiloide β para formar mezclas de amiloide β que se pueden proporcionar en la solución proteica acuosa. Aún en otras realizaciones, el amiloide β se puede obtener a partir de proteína precursora de amiloide (APP) que se adiciona a la solución acuosa que contiene proteína y se escinde *in situ*, y en tales realizaciones, dentro de la solución pueden estar contenidas varias isoformas de amiloide β . Después de que se haya adicionado el amiloide β puede producirse, dentro de la solución acuosa, un deshilachamiento del extremo N-terminal y/o eliminación de aminoácidos C-terminales. Por lo tanto, las soluciones acuosas preparadas según se describe en la presente pueden incluir una variedad de isoformas de amiloide β incluso cuando, a la solución se adiciona inicialmente una única isoforma.

[0244] Los monómeros de amiloide β adicionados a la solución acuosa se pueden aislar de una fuente natural, tal como un tejido vivo, y, en otras realizaciones, el amiloide β se puede obtener a partir de una fuente sintética, tal como ratones transgénicos o células cultivadas. En algunas realizaciones, las formas de amiloide β , incluyendo monómeros, oligómeros o combinaciones de los mismos, se aíslan de sujetos normales y/o pacientes a los que se ha diagnosticado declive cognitivo o enfermedades asociadas al mismo, tales como, aunque sin carácter limitativo, enfermedad de Alzheimer. En algunas realizaciones, los monómeros, y oligómeros de amiloide β , o combinaciones de los mismos, son ensamblajes de Abeta que se han aislado de sujetos normales o pacientes enfermos. En algunas realizaciones, los ensamblajes de Abeta son de un alto peso molecular, por ejemplo, superior a 100 KDa. En algunas realizaciones, los ensamblajes de Abeta son de peso molecular intermedio, por ejemplo, de 10 a 100 KDa. En algunas realizaciones, los ensamblajes de Abeta son de menos de 100 kDa.

[0245] Los oligómeros de amiloide β de algunas realizaciones pueden estar compuestos por un número ilimitado de monómeros de amiloide β en congruencia con la definición usada comúnmente de “oligómero”. Por ejemplo, en algunas realizaciones, los oligómeros de amiloide β pueden incluir de aproximadamente 2 a aproximadamente 300, de aproximadamente 2 a aproximadamente 250, de aproximadamente 2 a aproximadamente 200 monómeros de amiloide β , y, en otras realizaciones, los oligómeros de amiloide β pueden estar compuestos por desde aproximadamente 2 a aproximadamente 150, desde aproximadamente 2 a aproximadamente 100, desde aproximadamente 2 a aproximadamente 50, o desde aproximadamente 2 a aproximadamente 25, monómeros de amiloide β . En algunas realizaciones, los oligómeros de amiloide β puede incluir 2 ó más monómeros. Los oligómeros de amiloide β de varias realizaciones, se pueden diferenciar de fibrillas de amiloide β y protofibrillas de amiloide β basándose en la confirmación de los monómeros. En particular, los monómeros de amiloide β de oligómeros de amiloide β son en general globulares consistiendo en hojas plegadas β , mientras que la estructura secundaria de los monómeros de amiloide β de fibrillas y protofibrillas es hojas β paralelas.

Identificación de sujetos que tienen o se encuentran en riesgo de tener enfermedad de Alzheimer

[0246] La enfermedad de Alzheimer (AD) se define histológicamente por la presencia de placas de β -amiloide (A β) extracelulares y ovillos neurofibrilares intraneuronales en la corteza cerebral. En la técnica se conocen varios biomarcadores diagnósticos y pronósticos, tales como formación de imágenes por resonancia magnética, tomografía de emisión monofotónica, FDG PET, PiB PET, tau CSF y análisis de Abeta, así como datos disponibles sobre la exactitud de su diagnóstico que se describen en Alves et al., 2012, *Alzheimer's disease: a clinical practice-oriented review*, Frontiers in Neurology, abril de 2012, vol 3, Artículo 63, 1-20.

[0247] El diagnóstico de la demencia, junto con la predicción de quién la desarrollará, se ha visto facilitado por la formación de imágenes por resonancia magnética y la tomografía por emisión de positrones (PET) usando [(18)F] fluorodesoxiglucosa (FDG). Estas técnicas no son específicas para la AD. Véase, por ejemplo, Vallabhajosula S. *Positron emission tomography radiopharmaceuticals for imaging brain Beta-amyloid*. Semin Nucl Med. Julio de 2011;41(4):283-99. Otro ligando de PET aprobado recientemente por la FDA para la formación de imágenes de placas neolíticas de amiloide de moderadas a frecuentes en pacientes con deterioro cognitivo es el Florbetapir F 18 por inyección (4-((1E)-2-(6-{2-(2-(2-(18F)fluoroetoxi)etoxi)etoxi}piridin-3-il)etenil)-N- metilbencenamina, AMYVID®, Lilly). El florbetapir se une específicamente a Abeta fibrilar, pero no a ovillos neurofibrilares. Véase, por ejemplo, Choi SR, et al., *Correlation of amyloid PET ligand florbetapir F 18 binding with A β aggregation and neuritic plaque deposition in postmortem brain tissue*. Alzheimer Dis Assoc Disord. Enero de 2012 ;26(1):8-16. El ligando de PET florbetapir tiene una baja especificidad con respecto a una evaluación visual cualitativa de las exploraciones PET. Camus et al., 2012, Eur J Nucl Med Mol Imaging 39:621-631. No obstante, muchas personas con placas neuríticas parecen normales desde el punto de vista cognitivo.

[0248] Marcadores del CF para la enfermedad de Alzheimer incluyen tau total, tau fosforilada y Abeta42. Véase, por ejemplo, Andreasen , Sjogren y Blennow, *World J Biol Psychiatry*, 2003, 4(4): 147-155. En numerosos estudios se han encontrado niveles CSF reducidos de la forma de 42 aminoácidos de Abeta (Abeta42) y niveles CSF incrementados de tau total en la AD. Adicionalmente, se conocen marcadores genéticos para mutaciones en el gen de APP que son útiles en la identificación de sujetos con riesgo de desarrollar AD. Véase, por ejemplo, Goate et al., *Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease*, *Nature*, 349, 704-706, 1991. En realizaciones, para identificar un sujeto que tiene o se encuentra en riesgo de tener enfermedad de Alzheimer puede utilizarse cualquier método diagnóstico o pronóstico conocido. Composiciones farmacéuticas que comprenden un antagonista del receptor sigma-2.

[0249] Los compuestos antagonistas del receptor sigma-2 proporcionados en la presente se pueden administrar en forma de composiciones farmacéuticas. Estas composiciones se pueden preparar de una manera ampliamente conocida en la técnica farmacéutica, y se pueden administrar por una variedad de vías, en función de si se desea un tratamiento local o sistémico y del área a tratar.

[0250] Así, otra realización de la exposición comprende composiciones farmacéuticas que comprenden un excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable, y una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto antagonista del receptor sigma-2 de la exposición, incluyendo un enantiómero, diastereómero, N-óxido o sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

[0251] Aunque es posible que un compuesto pueda administrarse en forma de la sustancia a granel, es preferible presentar el ingrediente activo en una formulación farmacéutica, por ejemplo, en donde el agente activo se encuentra en mezcla con un vehículo farmacéuticamente aceptable seleccionado en relación con la vía pretendida de administración y la práctica farmacéutica convencional.

[0252] Por consiguiente, en un aspecto, la exposición proporciona una composición farmacéutica que comprende por lo menos un compuesto, anticuerpo o fragmento, de cualquiera de las fórmulas anteriores, y otros compuestos descritos como antagonistas del receptor sigma-2 anteriormente descritos o un derivado farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, una sal o solvato) de los mismos, y, opcionalmente, un vehículo farmacéuticamente aceptable. En particular, la exposición proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de por lo menos un compuesto de cualquiera de las fórmulas anteriores o un derivado farmacéuticamente aceptable del mismo, y, opcionalmente, un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Combinaciones

[0253] Para las composiciones y métodos de la exposición, un compuesto de cualquiera de las fórmulas anteriores y otros compuestos descritos como antagonistas receptores del sigma-2 antes descritos se pueden usar en combinación con otras terapias y/o agentes activos.

[0254] En algunas realizaciones, el compuesto antagonista del sigma-2 se puede combinar con uno o más de un inhibidor de colinesterasa, un antagonista del receptor N-metil-D-aspartato (NMDA) del glutamato, un anticuerpo específico de beta-amiloide, un inhibidor de beta-secretasa 1 (BACE1, enzima de escisión de la proteína precursora de sitio beta amiloide 1), un modulador del factor de necrosis tumoral alfa (TNF alfa), una inmunoglobulina intravenosa (IVIG) o un antagonista de proteína priónica. En algunas realizaciones, el antagonista del receptor sigma-2 se combina con un inhibidor de colinesterasa seleccionado de tacrina (COGNEX®; Sciele), donepezilo (ARICEPT®; Pfizer), rivastigmina (EXELON®; Novartis), o galantamina (RAZADYNE®; Ortho-McNeil-Janssen). En algunas realizaciones, el antagonista del receptor sigma-2 se combina con un modulador del TNF alfa que es etanercept periespinal (ENBREL®, Amgen/Pfizer). En algunas realizaciones, el antagonista del receptor sigma-2 se combina con un anticuerpo específico de beta-amiloide seleccionado de bapineuzumab (Pfizer), solanezumab (Lilly), PF-04360365 (Pfizer), GSK933776 (GlaxoSmithKline), Gammagard (Baxter) u Octagam (Octapharma). En algunas realizaciones, el antagonista del receptor sigma-2 se combina con un antagonista de receptor NMDA que es memantina (NAMENDA®; Forest). En algunas realizaciones, el inhibidor de BACE1 es MK-8931 (Merck). En algunas realizaciones, el antagonista del receptor sigma-2 se combina con IVIG según se describe en Magga et al., *J Neuroinflamm* 2010, 7:90, *Human intravenous immunoglobulin provides protection against Ab toxicity by multiple mechanisms in a mouse model of Alzheimer's disease*, y Whaley et al., 2011, *Human Vaccines* 7:3, 349-356, *Emerging antibody products and Nicotiana manufacturing*. En algunas realizaciones, el antagonista del receptor sigma-2 se combina con un antagonista de proteína priónica según se da a conocer en el documento US 2010/0291090, de Strittmatter et al.

[0255] Por consiguiente, la exposición proporciona, en un aspecto adicional, una composición farmacéutica que comprende por lo menos un compuesto de cualquiera de las fórmulas anteriores o un derivado farmacéuticamente aceptable del mismo, un segundo agente activo, y, opcionalmente un vehículo farmacéuticamente aceptable.

[0256] Cuando se combinan en la misma formulación, se apreciará que los dos o más compuestos deben ser estables y compatibles entre sí y con los otros componentes de la formulación. Cuando se formulan por separado, se pueden

proporcionar en cualquier formulación adecuada, convenientemente de una de las maneras que se conoce para dichos compuestos en la técnica.

[0257] En la composición farmacéutica pueden proporcionarse conservantes, estabilizadores colorantes e incluso agentes saborizantes. Los ejemplos de conservantes incluyen benzoato sódico, ácido ascórbico y ésteres de ácido p-hidroxibenzoico. También pueden usarse antioxidantes y agentes de suspensión.

[0258] Con respecto a combinaciones que incluyen agentes biológicos, tales como fragmentos o anticuerpos monoclonales, se utilizarán excipientes adecuados para evitar la agregación y estabilizar el anticuerpo o fragmento en solución con baja endotoxina, generalmente para administración parenteral, por ejemplo, intravenosa. Por ejemplo, véase *Formulation and Delivery Issues for Monoclonal Antibody Therapeutics*, Daugherty et al., en *Current Trends in Monoclonal Antibody Development and Manufacturing*, Part 4, 2010, Springer, Nueva York, páginas 103-129.

[0259] Los compuestos de la exposición se pueden moler utilizando procedimientos de molienda conocidos, tales como molienda húmeda, para obtener un tamaño de partícula adecuado para la formación de comprimidos y para otros tipos de formulación. Mediante procesos conocidos en la técnica, por ejemplo, véase el documento WO 02/00196 (SmithKline Beecham), pueden prepararse preparaciones finamente divididas (nanopartículas de los compuestos de la exposición).

Vías de administración y formas de dosificación unitaria

[0260] Las vías de administración (aplicación) incluyen, aunque sin carácter limitativo, una o más de: oral (por ejemplo, en forma de un comprimido, cápsula, o en forma de una solución ingerible), tópica, mucosal (por ejemplo, en forma de un pulverizador nasal o aerosol para la inhalación), parenteral (por ejemplo, mediante una forma inyectable), gastrointestinal, intraespinal, intraperitoneal, intramuscular, intravenosa, intracerebroventricular, u otra administración de tipo *depot*, etcétera. La administración de un anticuerpo o fragmento será, generalmente, por medios parenterales.

[0261] Por lo tanto, las composiciones de la exposición incluyen aquellas en una forma especialmente formulada para el modo de administración. En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la exposición se formulan en una forma que es adecuada para aplicación oral. Por ejemplo, el compuesto CB y el compuesto CF son compuestos antagonistas del receptor sigma-2 que están biodisponibles oralmente en modelos animales y se han administrado oralmente una vez al día y presentan eficacia en un modelo de miedo condicionado, véase, por ejemplo, la Figura 12B. Los compuestos biodisponibles oralmente según se describe en la presente se pueden preparar en una formulación oral. En algunas realizaciones, el compuesto antagonista del sigma-2 es un compuesto biodisponible oralmente, adecuado para aplicación oral. En otras realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la exposición se formulan en una forma que es adecuada para aplicación parenteral. En algunas realizaciones, el compuesto antagonista del receptor sigma-2 es un anticuerpo o fragmento del mismo, en donde el anticuerpo o fragmento se formula en una composición parenteral. Por ejemplo, un anticuerpo anti-receptor sigma-2, tal como un anticuerpo anti-PGRMC1 que bloquea la unión de oligómeros de Abeta al receptor sigma-2, se puede formular para aplicación parenteral.

[0262] Los compuestos de la exposición se pueden formular para administración de cualquier manera adecuada para su uso en medicina humana o veterinaria, y, por lo tanto, la exposición incluye, dentro de su alcance, composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la exposición adaptado para su uso en medicina humana o veterinaria. Dichas composiciones se pueden presentar para su uso de una manera convencional con la ayuda de uno o más vehículos adecuados. Los vehículos aceptables para uso terapéutico son bien conocidos en la técnica farmacéutica, y se describen, por ejemplo, en *Remington's Pharmaceutical Sciences*, Mack Publishing Co. (A. R. Gennaro edit. 1985). La elección del vehículo farmacéutico se puede seleccionar con respecto a la vía de administración deseada y la práctica farmacéutica convencional. Las composiciones farmacéuticas pueden comprender, en calidad de vehículo, o de forma adicional a este último, cualquier(cualesquiera) aglutinante(s) lubricante(s) agente(s) de suspensión, agente(s) de recubrimiento y/o agente(s) solubilizante(s) adecuado(s).

[0263] Puede haber diferentes requisitos de composición/formulación en función de los diferentes sistemas de aplicación. Debe entenderse que no es necesario que todos los compuestos se administren por la misma vía. De manera similar, si la composición comprende más de un componente activo, entonces dichos componentes se pueden administrar por vías diferentes. A título de ejemplo, la composición farmacéutica de la exposición se puede formular para aplicarse usando una minibomba o por una vía mucosal, por ejemplo, en forma de un pulverizador nasal o aerosol para inhalación o una solución ingerible, o parenteralmente en la cual la composición se formula mediante una forma inyectable, para su aplicación, por ejemplo, por una vía intravenosa, intramuscular o subcutánea. Alternativamente, la formulación se puede diseñar para ser aplicada por múltiples vías.

[0264] La combinación de un compuesto proporcionado en la presente y una molécula de anticuerpo o fragmento de anticuerpo se puede formular y administrar mediante cualquiera de entre una serie de vías y se administran con una concentración que es terapéuticamente eficaz en la indicación o para la finalidad buscada. Para lograr este objetivo, los anticuerpos se pueden formular usando una variedad de excipientes aceptables conocidos en la técnica. Típicamente,

- los anticuerpos se administran por inyección, por ejemplo, inyección intravenosa. Los métodos para lograr esta administración son conocidos para aquellos con habilidades habituales en la técnica. Por ejemplo, Gokarn et al., 2008, J Pharm Sci 97(8):3051-3066, describen varias formulaciones autotamponadas de anticuerpo de alta concentración. Por ejemplo, anticuerpos monoclonales en formulación autotamponada a, por ejemplo, 50 mg/mL de mAb en sorbitol 5,25%, pH 5,0 ó 60 mg/mL de mAb en sorbitol 5%, polisorbato 20 0,01%, pH 5,2; o formulaciones tamponadas convencionales, por ejemplo, 50 mg/mL de mAb1 en sorbitol 5,25%, acetato, glutamato o succinato 25 ó 50 mM, con pH 5,0; ó 60 mg/mL en acetato o glutamato 10 mM, sorbitol 5,25%, polisorbato 20 0,01%, pH 5,2; otras formulaciones de menor concentración pueden utilizarse según se sabe en la técnica.
- [0265]** Debido a que los compuestos antagonistas del receptor sigma-2 preferidos, de la exposición, cruzan la barrera hematoencefálica, los mismos se pueden administrar en una variedad de métodos que incluyen, por ejemplo, métodos sistémicos (por ejemplo, por vía iv, SC, oral, mucosal, transdérmica) o localizados (por ejemplo, intracranealmente). Cuando el compuesto de la exposición se vaya a aplicar mucosalmente a través de la mucosa gastrointestinal, el mismo debería poder permanecer estable durante el tránsito a través del tracto gastrointestinal; por ejemplo, debería ser resistente a la degradación proteolítica, estable en un pH ácido y resistente a los efectos detergentes de la bilis. Por ejemplo, los compuestos antagonistas del sigma-2 seleccionados de los ligandos de sigma-2 y preparados para administración oral antes descritos se pueden recubrir con una capa de recubrimiento entérico. El material de la capa de recubrimiento entérico se puede dispersar o disolver o bien en agua o bien en un disolvente orgánico adecuado. Como polímeros de la capa de recubrimiento entérico, pueden usarse uno o más, por separado o combinados, de los siguientes; por ejemplo, soluciones o dispersiones de copolímeros de ácido metacrílico, acetato ftalato de celulosa, acetato butirato de celulosa, ftalato de hidroxipropil metilcelulosa, acetato succinato de hidroxipropil metilcelulosa, ftalato acetato de polivinilo, acetato trimelitato de celulosa, carboximetilcelulosa, goma laca, u otro(s) polímero(s) adecuado(s) de la capa de recubrimiento entérico. Por motivos medioambientales, puede que se prefiera a un proceso de recubrimiento acuoso. En dichos procesos acuosos, los más preferidos son los copolímeros de ácido metacrílico.
- [0266]** Cuando resulte adecuado, las composiciones farmacéuticas se pueden administrar por inhalación, mediante el uso de un parche dérmico, oralmente en forma de comprimidos que contengan excipientes, tales como almidón o lactosa, o en cápsulas u óvulos o bien de forma individual o en mezcla con excipientes, o en forma de elixires, soluciones o suspensiones que contengan agentes saborizantes o colorantes, o las mismas se pueden inyectar parenteralmente, por ejemplo, intravenosa, intramuscular o subcutáneamente. Para administración bucal o sublingual, las composiciones se pueden administrar en forma de comprimidos o trociscos, los cuales se pueden formular según una manera convencional.
- [0267]** Cuando la composición de la exposición se vaya a administrar parenteralmente, dicha administración incluye, sin limitaciones: administración intravenosa, intraarterial, intratecal, intraventricular, intracreatineal, intramuscular, o subcutánea del compuesto de la exposición; y/o usando técnicas de infusión. Los anticuerpos o fragmentos se administran, de manera típica, parenteralmente, por ejemplo, intravenosamente.
- [0268]** Las composiciones farmacéuticas adecuadas para inyección o infusión pueden presentarse en forma de una solución acuosa estéril, una dispersión o un polvo estéril que contiene el ingrediente activo, ajustado, si fuera necesario, para la preparación de dicha solución o dispersión estéril adecuada para infusión o inyección. Opcionalmente, esta preparación se puede encapsular en liposomas. En todos los casos, la preparación final debe ser estéril, líquida y estable bajo las condiciones de producción y almacenamiento. Para mejorar la estabilidad en almacenamiento, dichas preparaciones también pueden contener un conservante con el fin de evitar el crecimiento de microorganismos. La prevención de la acción de microorganismos se puede lograr mediante la adición de diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabeno, clorobutanol o ácido ascórbico. En muchos casos, se recomiendan sustancias isotónicas, por ejemplo, azúcares, tampones y cloruro de sodio para garantizar una presión osmótica similar a las correspondientes de los fluidos corporales, en particular la sangre. La absorción prolongada de dichas mezclas inyectables se puede lograr mediante la introducción de agentes de retardo de absorción, tales como monoestearato de aluminio o gelatina.
- [0269]** Las dispersiones se pueden preparar en un intermedio o vehículo líquido, tal como glicerina, polietilenglicoles líquidos, aceites de triacetina, y mezclas de los mismos. El intermedio o vehículo líquido puede ser un medio dispersivo líquido o disolvente que contenga, por ejemplo, agua, etanol, un poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol o similares), aceites vegetales, ésteres de glicerina atóxicos y mezclas adecuados de los mismos. Puede mantenerse una fluxibilidad adecuada mediante generación de liposomas, administración de un tamaño de partícula adecuado en el caso de dispersiones, o mediante la adición de surfactantes.
- [0270]** Para administración parenteral, el compuesto se usa, óptimamente, en forma de una solución acuosa estéril la cual puede contener otras sustancias, por ejemplo, suficientes sales o glucosa para conseguir que la solución sea isotónica con la sangre. Las soluciones acuosas, adecuadamente, deberían tamponarse (preferentemente a un pH de entre 3 y 9), si así fuera necesario. La preparación de formulaciones parenterales adecuadas bajo condiciones estériles se logra, fácilmente, mediante técnicas farmacéuticas convencionales, ampliamente conocidas para aquellos versados en la materia.

5 **[0271]** Pueden prepararse soluciones inyectables estériles mezclando un compuesto de las fórmulas I, con un disolvente apropiado y uno o más de los vehículos antes mencionados, seguido por un filtrado estéril. En el caso de polvos estériles adecuados para su uso en la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos de preparación preferibles incluyen secado al vacío y liofilización, los cuales proporcionan mezclas en polvo de los antagonistas del receptor sigma-2 y los excipientes deseados para la posterior preparación de soluciones estériles.

10 **[0272]** Los compuestos de acuerdo con la exposición se pueden formular para su uso en medicina humana o veterinaria por inyección (por ejemplo, por inyección de bolo intravenosa o infusión o vía intramuscular, o a través de vías intramusculares, subcutáneas o intratecales) y se pueden presentar en forma de dosis unitaria, en ampollas, u otros envases de dosis unitaria, o en envases multidosis, si fuera necesario con un conservante añadido. Las composiciones para la inyección pueden estar en forma de suspensiones, soluciones, o emulsiones, en soportes oleosos o acuosos, y pueden contener agentes de formulación, tales como agentes de suspensión, estabilizantes, solubilizantes y/o dispersantes. Alternativamente, el ingrediente activo puede estar en forma de polvo estéril para su reconstitución con un soporte adecuado, por ejemplo, agua apirógena, estéril, antes de su uso.

20 **[0273]** Los compuestos de la exposición se pueden administrar en forma de comprimidos, cápsulas, trociscos obtenidos por compresión, óvulos, elixires, soluciones o suspensiones, para aplicaciones de liberación inmediata, retardada, modificada, sostenida, pulsátil o controlada.

25 **[0274]** Los compuestos de la exposición también se pueden presentar para su uso humano o veterinario en una forma adecuada para administración oral o bucal, por ejemplo, en forma de soluciones, geles, jarabes o suspensiones, o un polvo seco para su reconstitución con agua u otro soporte adecuado antes de su uso. También pueden usarse composiciones sólidas, tales como comprimidos, cápsulas, trociscos, trociscos obtenidos por compresión, pastillas, píldoras, bolos, polvo, pastas, gránulos, *bullets* o preparaciones premezcladas. Pueden prepararse composiciones sólidas y líquidas para uso oral de acuerdo con métodos ampliamente conocidos en la técnica. Dichas composiciones también pueden contener uno o más vehículos y excipientes farmacéuticamente aceptables que pueden estar en forma sólida o líquida.

30 **[0275]** Los comprimidos pueden contener excipientes, tales como celulosa microcristalina, lactosa, citrato de sodio, carbonato de calcio, fosfato cálcico dibásico y glicina, desintegrantes, tales como almidón (preferentemente almidón de maíz, patata o tapioca), glicolato sódico de almidón, croscarmelosa sódica y ciertos silicatos complejos, y aglutinantes de granulación, tales como polivinipirrolidona, hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), hidroxipropilcelulosa (HPC), sacarosa, gelatina y goma arábiga.

35 **[0276]** Adicionalmente, pueden incluirse agentes lubricantes, tales como estearato de magnesio, ácido esteárico, behenato de glicerilo y talco.

40 **[0277]** Las composiciones se pueden administrar oralmente, en forma de comprimidos, micropartículas, minicomprimidos, cápsulas, sobres y soluciones o suspensiones orales, de liberación rápida o controlada, o polvos para la preparación de los mismos. Las preparaciones orales pueden incluir, opcionalmente, diversos vehículos y excipientes farmacéuticos convencionales, tales como aglutinantes, rellenos, tampones, lubricantes, deslizantes, colorantes, desintegrantes, aromatizantes, edulcorantes, surfactantes, agentes de desmoldeo, agentes antiadhesivos y recubrimientos. Algunos excipientes pueden tener múltiples funciones en las composiciones, por ejemplo, pueden actuar tanto de aglutinantes como de desintegrantes.

50 **[0278]** Los ejemplos de desintegrantes farmacéuticamente aceptables para composiciones orales útiles en la exposición incluyen, aunque sin carácter limitativo, almidón, almidón pregelatinizado, glicolato sódico de almidón, carboximetilcelulosa sódica, croscarmelosa sódica, celulosa microcristalina, alginatos, resinas, surfactantes, composiciones efervescentes, silicatos de aluminio acuosos y polivinilpirrolidona reticulada.

55 **[0279]** Los ejemplos de aglutinantes farmacéuticamente aceptables para composiciones orales útiles en la presente incluyen, aunque sin carácter limitativo, goma arábiga; derivados de celulosa, tales como metilcelulosa, carboximetilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa o hidroxietilcelulosa; gelatina, glucosa, dextrosa, xilitol, polimetacrilatos, polivinilpirrolidona, sorbitol, almidón, almidón pregelatinizado, tragacanto, resina de xantina, alginatos, silicato de magnesio-aluminio, polietilenglicol o bentonita.

60 **[0280]** Los ejemplos de rellenos farmacéuticamente aceptables para composiciones orales incluyen, aunque sin carácter limitativo, lactosa, anhidrolactosa, lactosa monohidrato, sacarosa, dextrosa, manitol, sorbitol, almidón, celulosa (particularmente, celulosa microcristalina), fosfato cálcico dihidro o anhidro, carbonato cálcico y sulfato cálcico.

[0281] Los ejemplos de lubricantes farmacéuticamente aceptables, útiles en las composiciones de la exposición, incluyen, aunque sin carácter limitativo, estearato de magnesio, talco, polietilenglicol, polímeros de óxido de etileno, laurilsulfato sódico, laurilsulfato de magnesio, oleato de sodio, estearilfumarato sódico, y dióxido de silicio coloidal.

- 5 **[0282]** Los ejemplos de aromatizantes farmacéuticamente aceptables adecuados para las composiciones orales incluyen, aunque sin carácter limitativo, aromas sintéticos y aceites aromáticos naturales, tales como extractos de aceites, flores, frutas (por ejemplo, plátano, manzana, guinda, melocotón) y combinaciones de los mismos, y aromas similares. Su uso depende de muchos factores, siendo el más importante la aceptabilidad organoléptica para la población que tomará las composiciones farmacéuticas.
- 10 **[0283]** Los ejemplos de colorantes aceptables farmacéuticamente adecuados para las composiciones orales incluyen, aunque sin carácter limitativo, colorantes sintéticos y naturales, tales como dióxido de titanio, beta-caroteno y extractos de piel de pomelo.
- 15 **[0284]** Los ejemplos de recubrimientos farmacéuticamente aceptables útiles para las composiciones orales, usados típicamente para facilitar que puedan ser tragados, modificar las propiedades de liberación, mejorar el aspecto y/o enmascarar el gusto de las composiciones, incluyen, aunque sin carácter limitativo, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, y copolímeros de acrilato-metacrilato.
- 20 **[0285]** Los ejemplos adecuados de edulcorantes farmacéuticamente aceptables para las composiciones orales incluyen, aunque sin carácter limitativo, aspartamo, sacarina, sacarina sódica, ciclamato de sodio, xilitol, manitol, sorbitol, lactosa y sacarosa.
- 25 **[0286]** Los ejemplos adecuados de tampones farmacéuticamente aceptables incluyen, aunque sin carácter limitativo, ácido cítrico, citrato de sodio, bicarbonato sódico, fosfato sódico dibásico, óxido de magnesio, carbonato cálcico e hidróxido de magnesio.
- 30 **[0287]** Los ejemplos adecuados de surfactantes farmacéuticamente aceptables incluyen, aunque sin carácter limitativo, laurilsulfato sódico y polisorbatos.
- 35 **[0288]** Composiciones sólidas de un tipo similar también pueden utilizarse como rellenos en cápsulas de gelatina. En relación con esto, los excipientes preferidos incluyen lactosa, almidón, una celulosa, azúcar de leche o polietilenglicoles de alto peso molecular. Para suspensiones acuosas y/o elixires, el agente se puede combinar con diversos agentes edulcorantes o saborizantes, sustancias colorantes o tintes, con agentes emulsionantes y/o de suspensión y con diluyentes, tales como agua, etanol, propilenglicol y glicerina, y combinaciones de los mismos.
- 40 **[0289]** Tal como se indica, los compuestos de la exposición se pueden administrar intranasalmente o por inhalación y se aplican convenientemente en forma de un inhalador de polvo seco o una presentación de pulverizador de aerosol desde un envase presurizado, bomba, pulverizador o nebulizador con el uso de un propelente adecuado, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, un hidrofluoroalcano, tal como 1,1,1,2-tetrafluoroetano (HFA 134AT) ó 1,1,1,2,3,3,3-heptafluoropropano (HFA 227EA), dióxido de carbono u otro gas adecuado. En el caso de aerosol presurizado, la unidad de dosificación se puede determinar proporcionando una válvula para entregar una cantidad dosificada. El envase presurizado, la bomba, el pulverizador o el nebulizador puede contener una solución o suspensión del compuesto activo, por ejemplo, usando una mezcla de etanol y el propelente como disolvente, que puede contener adicionalmente un lubricante, por ejemplo, trioleato de sorbitán.
- 45 **[0290]** Las cápsulas y cartuchos (realizados, por ejemplo, a partir de gelatina) para su uso en un inhalador o insuflador se pueden formular de manera que contengan una mezcla en polvo del compuesto y una base de polvo adecuada, tal como lactosa o almidón.
- 50 **[0291]** Para administración tópica por inhalación, los compuestos de acuerdo con la exposición se pueden aplicar para usarse en medicina humana o veterinaria a través de un nebulizador.
- 55 **[0292]** Las composiciones farmacéuticas de la exposición pueden contener desde un 0,01 a un 99% en peso por volumen del material activo. Para administración tópica, por ejemplo, la composición contendrá, en general, desde un 0,01-10%, más preferentemente un 0,01-1% del material activo.
- 60 **[0293]** Los compuestos también se pueden administrar en forma de sistemas de aplicación liposómica, tales como pequeñas vesículas unilamelares, grandes vesículas unilamelares y vesículas multilamelares. Los liposomas se pueden formar a partir de una variedad de fosfolípidos, tales como colesterol, estearilamina o fosfatidilcolinas.
- [0294]** La composición farmacéutica o forma de dosificación unitaria de la exposición se puede administrar de acuerdo con un régimen de dosificación y administración definido por pruebas rutinarias teniendo en cuenta las orientaciones que se han proporcionado anteriormente con el fin de obtener una actividad óptima al mismo tiempo que minimizando la toxicidad o efectos secundarios para un paciente particular. No obstante, dicho ajuste preciso del régimen terapéutico es rutinario considerando las orientaciones que se aportan en la presente.

[0295] La dosificación de los compuestos de la exposición puede variar de acuerdo con una variedad de factores, tales como afecciones patológicas subyacentes, la condición, el peso, el sexo y la edad del individuo, y el modo de administración. Una cantidad eficaz para tratar un trastorno se puede determinar fácilmente mediante métodos empíricos conocidos para aquellos con habilidades habituales en la materia, por ejemplo, estableciendo una matriz de dosificaciones y frecuencias de administración, y comparando un grupo de unidades o sujetos experimentales en cada punto de la matriz. La cantidad exacta a administrar a un paciente variará en función del estado y la severidad del trastorno y la condición física del paciente. Una mejora medible de cualquier síntoma o parámetro puede ser determinada por una persona versada en la materia o puede ser comunicada por el paciente al médico. Se entenderá que cualquier atenuación o mejora clínica o estadísticamente significativa de cualquier síntoma o parámetro de trastornos del tracto urinario se sitúa dentro del alcance de la exposición. Atenuación o mejora clínicamente significativa significa perceptible para el paciente y/o para el médico.

[0296] La cantidad del compuesto a administrar puede estar en el intervalo de entre aproximadamente 0,01 y aproximadamente 25 mg/kg/día, habitualmente entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 10 mg/kg/día y, con la mayor frecuencia, entre 0,2 y aproximadamente 5 mg/kg/día. Se entenderá que las formulaciones farmacéuticas de la exposición no tienen que contener necesariamente la cantidad completa del compuesto que es eficaz en el tratamiento del trastorno, en la medida en la que dichas cantidades eficaces se pueden lograr mediante la administración de una pluralidad de dosis divididas de dichas formulaciones farmacéuticas.

[0297] En una realización preferida de la exposición, los compuestos I se formulan en cápsulas o comprimidos, que contienen habitualmente de 10 a 200 mg de los compuestos de la exposición, y se administran, preferentemente, a un paciente con una dosis diaria total de 10 a 300 mg, preferentemente de 20 a 150 mg y, con la mayor preferencia, aproximadamente 50 mg.

[0298] Una composición farmacéutica para administración parenteral contiene de aproximadamente un 0,01% a aproximadamente un 100% en peso del compuesto activo de la exposición, sobre la base del 100% en peso de composición farmacéutica total.

[0299] En general, las formas de dosificación transdérmica contienen desde aproximadamente un 0,01% a aproximadamente un 100% en peso del compuesto activo con respecto al 100% del peso total de la forma de dosificación.

[0300] La composición farmacéutica o forma de dosificación unitaria se puede administrar en una dosis diaria única, o la dosificación diaria total se puede administrar en dosis divididas. Además, puede que sea deseable una coadministración o administración secuencial de otro compuesto para el tratamiento del trastorno. Con este fin, los principios activos combinados se formulan en una unidad de dosificación simple.

Síntesis de los compuestos

[0301] Los compuestos de fórmulas I y II, y enantiómeros, diastereómeros, N-óxidos y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se pueden preparar con los métodos generales que se expresan, por ejemplo, en el documento WO2013/029057, o según se describe a continuación en la presente, constituyendo dichos métodos un aspecto adicional de la exposición.

[0302] Aquellos versados en la materia apreciarán que puede que resulte deseable usar derivados protegidos de intermedios usados en la preparación de los compuestos. La protección y desprotección de grupos funcionales se puede llevar a cabo mediante métodos conocidos en la técnica (véase por ejemplo, de Green y Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*. John Wiley and Sons, Nueva York, 1999.). Los grupos hidroxilo o amino se pueden proteger con cualquier grupo hidroxilo- o amino- protector. Los grupos amino-protectores se pueden retirar mediante técnicas convencionales. Por ejemplo, los grupos acilo, tales como los grupos alcanilo, alcóxycarbonilo y aroilo, se pueden eliminar mediante solvolisis, por ejemplo, mediante hidrólisis bajo condiciones ácidas o básicas. Los grupos arilmetoxycarbonilo (por ejemplo, benciloxycarbonilo) se pueden escindir mediante hidrogenólisis en presencia de un catalizador, tal como paladio sobre carbón.

[0303] La síntesis de los compuestos diana se completa retirando cualesquiera grupos protectores que pueden estar presentes en los intermedios penúltimos usando técnicas convencionales, que son bien conocidas para aquellos versados en la materia. A continuación, los productos finales desprotegidos se purifican, según resulte necesario, usando técnicas convencionales, tales como cromatografía en gel de sílice, HPLC en gel de sílice y similares, o por recristalización.

Ejemplos de trabajo y de síntesis

[0304] Los Ejemplos 1 y 2 describen preparaciones de oligómeros de Abeta que se podrían usar para experimentos tales como los correspondientes que se describen en la presente. Las preparaciones particulares usadas en los ensayos

de tráfico de membrana y de unión de oligómeros/reducción de sinapsis, así como las correspondientes usadas en los ensayos in vivo que se describen posteriormente, se describen, cada una de ellas, en el ejemplo al que pertenecen.

Ejemplo 1: preparación de oligómeros de β amiloide

[0305] Se recrearon las condiciones en las que el β amiloide puede oligomerizar en tejido nervioso, un medio de proteínas solubles-acuosas con el cual puede asociarse, para identificar el estado estructural más relevante desde el punto de vista patológico, de las fibrillas y los oligómeros de β amiloide. Se prepararon proteínas solubles acuosas a partir de cerebro de rata por ultracentrifugación. Específicamente, al tejido de cerebro de rata en hielo se le adicionaron 5 volúmenes de tampón TBS (Tris-HCL 20 mM, pH 7,5, NaCl 34 mM y un cóctel inhibidor de proteasa completo (Santa Cruz) por gramo de cerebro de tejido. A continuación, se llevó a cabo una homogeneización tipo Dounce con una mano de mortero ajustada. Los tejidos cerebrales homogeneizados a continuación se centrifugaron a 150.000 x g durante 1 hora a 4° C (40.000 rpm Ty65). A continuación, el infranadante (entre la mielina flotante y medio centímetro por encima del pellet) se retiró, y se congelaron alícuotas a -75° C. A continuación, los pellets se resuspendieron en TBS al volumen original y se congelaron en alícuotas a -75° C. A esta mezcla se le adicionó β amiloide 1-42 humano monomérico, sintético, para proporcionar una concentración final de β amiloide 1,5 uM, y la solución se incubó durante 24 horas a 4° C. Se llevó a cabo una centrifugación de la mezcla a 5.800 g durante 10 minutos para eliminar ensamblajes fibrilares, y a continuación, se realizó una inmunoprecipitación usando columnas de centrifugación de agarosa conjugada con 6E10 (Pierce Chemical Company) durante 24 horas a 4° C. A continuación, los oligómeros de β amiloide eluidos se sometieron a un análisis espectroscópico de masas MALDI – Tof para identificar el contenido de la muestra.

[0306] El β amiloide se autoasociado en la solución que contenía proteína para formar ensamblajes de subunidades de pentámeros, de 5 subunidades, de 22.599 Da, y heptámeros, de 7 subunidades, de 31.950 Da. Otro pico en 49.291 Da puede que represente dodecámeros, de 12 subunidades, aunque esto no parece ser un peso molecular preciso para dodecámeros de β amiloide. En especial, no se observaron picos ni en 4.518 Da ni en 9.036 Da los cuales representarían monómeros y dímeros de β amiloide. No obstante, los picos en 9.882 Da y 14.731 Da podrían representar dímeros de β amiloide asociados a lípidos o proteínas de 786 Da (ó 2 x 393 Da) y trímeros de β amiloide asociados a lípidos o proteínas de 3 x 393 Da, respectivamente. Además, la presencia de un pico en 19.686 Da es indicativa de un estado de ensamblaje que implica, posiblemente, un complejo trimérico y un fragmento de β amiloide de rata de 4.954 Da. Por consiguiente, estos datos pueden reflejar la asociación de pequeños lípidos o proteínas a dímeros y trímeros de β amiloide que pueden dirigir el ensamblaje de estados conformacionales exclusivos de sistemas fisiológicos.

Ejemplo 2: preparación de oligómeros de beta amiloide

[0307] Una solución de β amiloide 1-42 humano monomérico 1,5 uM en una mezcla de proteínas solubles de cerebro de rata se incubó durante 24 horas a 4° C según se ha descrito en el Ejemplo 1. A continuación, esta solución se trató con trifluoro etanol (TFE) antes de sacar los espectros. En TFE, estructuras proteicas ensambladas y complejos proteicos enlazados de manera no covalente se disocian en proteínas desnaturalizadas, y se espera que los picos asociados a oligómeros ensamblados desaparezcan. La mayor parte de picos de proteínas observados en el Ejemplo 1 desaparecieron, incluyendo los picos de 9.822 Da, 14.731 Da, 31.950 Da, y 49.291 Da, identificados anteriormente. No obstante, se observó un pico abundante en 4.518 Da el cual representa un pico de monómero de β amiloide. Es evidente un pico en 4.954, 7 el cual puede representar un fragmento de Abeta más largo similar al β amiloide 1-46. Se observa un pico opcional en 7.086 Da el cual no estaba presente en la preparación descrita en Ejemplo 1, que puede representar monómeros de β amiloide asociados a una proteína enlazada de manera covalente de 2.550 Da.

Ejemplo 3: aislamiento de oligómeros de beta amiloide a partir de tejido cerebral humano con AD.

[0308] Extractos solubles en TBS: a partir de un banco de tejido cerebral de hospital se obtuvieron muestras de tejido de cerebro post mortem de pacientes humanos caracterizados por análisis histopatológico como enfermedad de Alzheimer (AD) en estadio de Braak V/VI. Especímenes de tejido con AD y normal, emparejados por edad y género, se diluyeron a 0,15 gm de tejido/ml en Tris-HCl 20 mM, NaCl 137 mM, pH 7,6 que contenía EDTA 1 mM y 1 mg/ml de cóctel inhibidor de proteasa completo (Sigma P8340) y los mismos se homogeneizaron. Se llevó a cabo una ultracentrifugación de los homogeneizados de tejido a 105.000 g durante 1 hora en una Ultracentrífuga Beckman optima XL-80K. Las fracciones solubles en TBS resultantes se sometieron a inmunodepleción usando columnas de proteína-A y proteína-G garosa (Pierce Chemical) y, a continuación, se fraccionaron por tamaño con filtros Amicon Ultra, con una NMWCO de 3, 10 y 100 kDa (Millipore Corporation).

[0309] Inmunoprecipitación: extractos solubles en TBS fraccionados por tamaño y sometidos a inmunodepleción se concentraron a aproximadamente 200 ul en los filtros Amicon Ultra de NMWCO adecuada. Los extractos solubles en TBS concentrados se diluyeron hasta 400 ul con tampón de muestra TBS (Pierce Chemical) y se centrifugaron durante 10 minutos a 5.800 g para eliminar fibrillas. A continuación, el sobrenadante resultante se inmunoprecipitó con perlas de

agarosa conjugada con 6E10, durante la noche, a 4 °C, seguido por una elución de antígenos usando tampones de elución Gentile de alta fuerza osmótica (Pierce Chemical) para aislar especies proteicas que contenían Abeta.

[0310] Espectrometría de masas MALDI: beta amiloide inmunoaislado se sometió a un análisis espectroscópico de masas usando un instrumento de Applied Biosystems (ABI) Voyager DE-Pro MALDI-Tof. Se analizaron muestras usando diversos tipos de matriz, tales como ácido α -Ciano-4-hidroxicinámico (CHCA), ácido Sinápico (SA), o 6-Aza-2-tiotimina (ATT) en función del intervalo de pesos moleculares objetivo del análisis. El instrumento se hizo funcionar en un modo lineal con iones positivos junto con un retardo de extracción variable. Los espectros no acumulados representaron 100 disparos de un "punto caliente" para adquisición, mientras que los espectros acumulados quedaron representados por 12 áreas independientes de cada punto con 200 disparos de láser para adquisición.

[0311] Análisis de datos: la adquisición y el análisis de datos se llevaron a cabo usando el paquete de software Data Explorer Voyager. El procesamiento convencional de los espectros de masas incluyó la suavización del espectro y funciones de resta de línea basal además de variaciones en la relación de señal/ruido.

[0312] ELISA para cuantificación de Ab: fracciones solubles en TBS inmunoprecipitadas se analizaron en relación con la concentración tanto de Abeta "total" como de oligómeros de Abeta usando una técnica de ELISA sándwich modificada. En resumen, placas de 96 pocillos Nunc MaxiSorp recubiertas con 6E10 y 4G8 se incubaron con muestras que contenían Abeta y, a continuación, se sondearon con anticuerpo de detección 4G8 Biotinilado. Una incubación con Estreptavidina-HRP (Rockland) seguida por un desarrollo de un sustrato de Tetrametil bencidina (TMB) permitió una detección colorimétrica (OD 450) de abeta en un lector de placas BioTek Synergy HT. Se usó Abeta 1-42 monomérico para la generación de una curva patrón y, junto con software GEN 5, se permitió la cuantificación de niveles de Abeta en las muestras inmunoprecipitadas.

Ejemplo 4: ensayo de unión a receptores

[0313] Se someten a prueba ciertos compuestos en relación con la interacción con varios receptores bloqueando la unión o acción de sus agonistas o antagonistas. Algunos compuestos se someten a prueba para comprobar si interaccionan directamente con proteínas de señalización o receptores celulares conocidos. Los compuestos se pueden someter a prueba en relación con la capacidad de desplazar la unión de agonistas o antagonistas conocidos de un receptor humano dado que se sobreexpresó en líneas celulares o se aisló de tejido. Los compuestos también se pueden someter a prueba en relación con la capacidad de bloquear la señalización de aguas abajo inducida por agonistas o antagonistas de un receptor humano dado. Se pueden someter a prueba compuestos en relación con la acción en 100 receptores conocidos, y es deseable que la actividad específica se produzca en solamente un pequeño subconjunto de receptores relevantes del CNS. Los compuestos que se unen al receptor sigma-2 con la afinidad más alta en comparación con otros receptores se etiquetan como ligandos selectivos del receptor sigma-2.

[0314] Usando el mismo protocolo, algunos compuestos para los cuales se aportan datos de tráfico de membrana en la Tabla 2 se someten a prueba en relación con el reconocimiento del receptor sigma-2. Ciertos compuestos preferidos de Fórmula I son ligandos del receptor sigma-2 selectivos, es decir, se unen de manera preferente al receptor sigma-2.

[0315] Ensayo de Unión de Radioligandos Competitivo.

[0316] Se llevaron a cabo ensayos de unión de radioligandos para receptores Sigma-1 y receptores Sigma-2 por parte de una organización de investigación por contrato mercantil. Para la unión a Sigma-1, se usaron varias concentraciones de compuestos de prueba desde 100 μ M a 1 nM para desplazar [3 H](+)pentazocina 8 nM de receptores endógenos en membranas de células Jurkat (Ganapathy ME et al. 1991, J Pharmacol. Exp. Ther. 289:251-260). Se usó Haloperidol 10 μ M para definir la unión no específica. Para receptores Sigma-2, se usaron varias concentraciones de compuestos de prueba desde 100 μ M a 1 nM para desplazar [3 H] 1,3-Di-(2-tolil)guanidina 5 nM de receptores endógenos en membranas de corteza cerebral de rata en presencia de (+)pentazocina 300 nM con el fin de enmascarar receptores Sigma-1. (Bowen WD, et al. 1993, Mol. Neuropharmacol 3:117-126). Se usó Haloperidol 10 μ M para definir la unión no específica. Las reacciones se terminaron mediante filtración rápida a través de filtros Whatman GF/C usando un recolector de células Brandel 12R, seguido por dos lavados con tampón helado. La radioactividad en los discos de filtro secos se midió usando un analizador de centelleo líquido (Tri-Carb 2900TR; PerkinElmer Life y Analytical Sciences). Se representaron las curvas de desplazamiento, y se determinaron los valores de K_i de los ligandos de prueba para los subtipos de receptor usando el GraphPad Prism (GraphPad Software Inc., San Diego, CA). El porcentaje de unión específica se determinó dividiendo la diferencia entre la unión total (desintegraciones por minuto) y la unión no específica (desintegraciones por minuto) por la unión total (desintegraciones por minuto).

[0317] Las afinidades para receptores Sigma-1 y Sigma-2 se obtienen, típicamente, a partir de estudios publicados usando homogeneizados de tejido cerebral con [3 H](+)pentazocina con el fin de medir el desplazamiento de receptores Sigma-1 y [3 H] 1,3-Di-(2-tolil)guanidina en presencia de (+)pentazocina 300 nM para medir el desplazamiento de los receptores Sigma-2.

[0318] Ensayo de Unión a Radioligandos Competitivo 2.

[0319] También se determinó la afinidad de compuestos ligandos del sigma-2 candidatos en receptores sigma-1 y sigma-2 mediante desplazamiento de diferentes ligandos del sigma-2 ó sigma-1 etiquetados y conocidos. Se efectuaron ensayos de filtración de acuerdo con el procedimiento previamente publicado (Xu, et al., 2005). Se disolvieron compuestos de prueba en *N,N*-Dimetilformamida (DMF), dimetilsulfóxido (DMSO) o etanol y, a continuación, los mismos se diluyeron en tampón de Tris-HCl 50 mM, pH 7,4, que contenía NaCl 150 mM y EDTA 100 mM. Se elaboraron homogeneizados de membrana a partir de cerebro de cobaya para el ensayo de unión a sigma-1 e hígado de rata para el ensayo de unión a sigma-2. Se diluyeron homogeneizados de membrana con tampón de Tris-HCl 50 mM, pH 8,8, y los mismos se incubaron a 25°C en un volumen total de 150 µl en placas de 96 pocillos, situándose las concentraciones de los radioligandos y los compuestos de prueba en un intervalo de 0,1 nM a 10 µM. Después de completarse la incubación, las reacciones se terminaron mediante la adición de 150 µL de tampón de lavado helado (Tris HCl 10 mM, NaCl 150 mM, pH 7,4) usando una pipeta de transferencia de 96 canales (Fisher Scientific, Pittsburgh, PA), y las muestras se recolectaron y filtraron rápidamente a través de una placa de filtro de fibra de vidrio de 96 pocillos (Millipore, Billerica, MA) que se había empapado previamente con 100 µL de tampón de Tris-HCl 50 mM. Cada filtro se lavó cuatro veces con 200 µL de tampón de lavado helado (Tris-HCl 10 mM, NaCl 150 mM, pH 7,4). Se usó un contador de centelleo líquido Wallac 1450 MicroBeta (Perkin Elmer, Boston, MA) para cuantificar la radioactividad unida.

[0320] Los ensayos de unión al receptor sigma-1 se efectuaron usando homogeneizados de membrana de cerebro de cobaya (~300 µg de proteína) y [³H](+)-pentazocina ~5 mM (34,9 Ci/mmol, Perkin Elmer, Boston, MA), el tiempo de incubación fue de 90 minutos a temperatura ambiente. Se determinó la unión no específica a partir de muestras que contenían 10 µM de haloperidol frío.

[0321] Los ensayos de unión al receptor sigma-2 se efectuaron usando homogeneizados de membrana de hígado de rata (~300 µg de proteína) y solamente radioligando altamente selectivo del sigma-2 [³H]RHM-1 ~2 nM (ningún otro bloqueante) (America Radiolabeled Chemicals Inc. St. Louis, MO), [³H]DTG ~10 nM (58,1 Ci/mmol, Perkin Elmer, Boston, MA), ó [³H]Haloperidol ~ 10 nM (America Radiolabeled Chemicals Inc., St. Louis, MO) en presencia de (+)-pentazocina 1 µM para bloquear sitios sigma-1, los tiempos de incubación fueron de 6 minutos para el [³H]RHM-1, 120 minutos para [³H]DTG y [³H]haloperidol a temperatura ambiente. Se determinó la unión no específica a partir de muestras que contenían 10 µM de haloperidol frío.

[0322] Se modelaron datos de los experimentos de inhibición competitivos usando un análisis de regresión no lineal para determinar la concentración de inhibidor que inhibe el 50% de la unión específica del radioligando (valor de IC₅₀). Se calcularon valores de la afinidad de unión, *K_i*, usando el método de Cheng y Prusoff. El valor de *K_d* usado para [³H](+)-pentazocina en cerebro de cobaya fue 7,89 nM, para [³H]RHM-1 y [³H]DTG en hígado de rata fueron, respectivamente, de 0,66 nM y 30,73 nM. Para garantizar la calidad se usó el compuesto patrón haloperidol. En la Tabla 2 se muestran datos de afinidad en el receptor sigma-2 para compuestos ejemplificativos de los Ejemplos 1 a 118.

[0323] En algunas realizaciones, compuestos de isoindolina según la fórmula I y/o la fórmula II, según se proporciona en la presente, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, presentan una afinidad de unión al receptor sigma-2 *K_i* no superior a 1.000 nM, no superior a 750 nM, no superior a 500 nM, no superior a 250 nM, no superior a 100 nM, no superior a 50 nM, no superior a 25 nM, o no superior a 10 nM, cuando se someten a prueba de acuerdo con el protocolo del ensayo de unión de receptor sigma-2 proporcionado en la presente.

Ejemplo 5: pérdida de memoria en ratones transgénicos: prueba de natación de Morris

[0324] Se someten a prueba compuestos seleccionados para determinar la capacidad de revertir la pérdida de memoria observada en modelos de ratones transgénicos mayores de enfermedad de Alzheimer, en donde se acumulan oligómeros con la edad. Para este estudio, se escogieron ratones hAPP que expresan las mutaciones Swedish (670/671) y London (717) de APP751 humana, bajo el control del promotor Thy-1 murino. Estos ratones presentan un aumento, dependiente de la edad, de la cantidad de Abeta, con placas que se desarrollan comenzando a entre 3 y 6 meses y presentan déficits cognitivos establecidos antes del 8º mes de edad. En este estudio, más que prevenir la aparición de déficits, se trataron déficits que ya estaban establecidos. Estos estudios se llevaron a cabo según un contrato de servicio por parte de científicos que eran ciegos ante las condiciones experimentales. Se infundió compuesto de prueba a 0,5 y 0,1 mg/kg/día durante un mes en ratones hembra de 8 meses de edad a través de una minibomba subcutánea, y se sometió a prueba el rendimiento cognitivo en el laberinto acuático de Morris, una prueba de memoria y aprendizaje espaciales basados en el hipocampo. Este modelo de ratón no presenta pérdida neuronal de manera que el restablecimiento de memoria no se puede atribuir a un rechazo de la apoptosis.

[0325] La velocidad de natación se analiza como parte de las mediciones de Morris para determinar si había algún déficit motor o motivacional. El soporte es una mezcla de DMSO 5%/Solutol 5%, solución salina 90%. Los animales transgénicos se tratan con una dosis baja (por ejemplo, 0,1 mg/kg/día) y una dosis alta (por ejemplo, 0,5 mg/kg/día) de compuestos. Se determina el valor medio de tres ensayos diarios en cada uno de cuatro días consecutivos. Típicamente, no se observan déficits motores o comportamientos anómalos significativos durante el transcurso del

estudio por debajo de los niveles de mortalidad esperados a esta edad. Además, se mantiene un grupo de animales centinela de los que se extraía sangre periódicamente para monitorizar niveles plasmáticos del compuesto.

[0326] Se toman mediciones de la latencia de escape de la prueba acuática de Morris. Típicamente, en el segundo día de la prueba se observa una diferencia significativa entre animales de tipo salvaje y transgénicos, siendo más rápido el aprendizaje del tipo salvaje que el de los transgénicos. Típicamente, si, este día, se observa una mejora significativa en el rendimiento transgénico con la dosis de compuesto mayor con respecto al soporte (*vehicle*), entonces se concluye que el compuesto administrado con la dosis mayor de, por ejemplo, 0,5 mg/kg/día, es capaz de mejorar el rendimiento cognitivo en modelos transgénicos de AD.

[0327] Típicamente, oligómeros de Abeta 42 provocan aproximadamente una disminución del 18% en el número de sinapsis; el 100% de esta pérdida se puede eliminar por medio de compuestos de prueba preferidos. Otros antagonistas del receptor sigma-2 también bloquean la pérdida de sinapsis. Los ligandos del receptor Sigma-2 de la técnica anterior, conocidos, NE-100 y haloperidol, eliminaron completamente la pérdida de sinapsis, mientras que el SM-21, un ligando del Sigma-1 selectivo era únicamente activo de manera débil en la eliminación de la pérdida de sinapsis (recuperación del 20%).

[0328] También pueden someterse a prueba Compuesto de Prueba usando un ensayo similar. El compuesto (por ejemplo, 1 mg/kg/día, N=8 ó 10 mg/kg/día, N=8) o soporte (*vehicle*) (DMSO 5%/Solutol 5%/solución salina 90%, N=15) se puede administrar de manera sistémica por dosificación subcutánea (minibomba Alzet) a, por ejemplo, ratones transgénicos hAPPSL macho de 9 meses de edad (por ejemplo, N=8) o miembros no transgénicos de la misma camada (por ejemplo, N=6) durante 20 días, y se puede evaluar el aprendizaje y la memoria espaciales de estos ratones en el laberinto acuático de Morris. Durante los cuatro días finales del tratamiento, se someten a prueba ratones para que encuentren la plataforma oculta en 3 ensayos/día. Un sistema de seguimiento computarizado cuantifica automáticamente la latencia de escape, o longitud nadando.

[0329] No se produce ninguna diferencia significativa en el rendimiento de animales transgénicos con respecto a animales no transgénicos en ningún día de la prueba (análisis restringido a estos 2 grupos; ANOVA de dos vías (genotipo y tiempo) con mediciones repetidas seguido por una prueba post-hoc de Bonferroni). Se espera que un análisis similar, cuando se restringen los grupos transgénicos (tratamiento y tiempo), con animales transgénicos tratados con 10 mg/kg/día de un Compuesto de Prueba, muestre que los animales tratados tienen una conducta significativamente mejor que animales transgénicos tratados con soporte (*vehicle*) después del primer día de las pruebas, cuando se analizan, por ejemplo, mediante la prueba t de Student. Se espera que los animales tratados con los compuestos de prueba presenten una conducta animal transgénica mejorada en comparación con el tratamiento con vehículo durante el periodo de prueba.

[0330] Los compuestos de prueba exitosos son capaces de revertir déficits de conducta establecidos en el aprendizaje y la memoria en animales transgénicos mayores, de una manera que es dependiente de la dosis.

Ejemplo 6: inhibición del efecto de oligómeros de Abeta en células neuronales en un ensayo de tráfico de membrana

[0331] Ligandos del sigma-2 proporcionados en la presente se sometieron a prueba en relación con su capacidad de inhibir un efecto beta amiloide sobre las células. En general, los ligandos del sigma-2 eran capaces de inhibir el efecto beta amiloide según se midió mediante un ensayo de tráfico de membrana/exocitosis (ensayo de MTT). Los resultados se indican en la Tabla 2. El razonamiento de este ensayo fue el siguiente:

[0332] Puesto que, en las primeras fases de la enfermedad de Alzheimer, predominan los déficits sináptico y de memoria, y no la muerte celular generalizada, los ensayos que miden estos cambios resultan en particular muy adecuados para descubrir inhibidores de molécula pequeña de la actividad oligomérica. El ensayo de MTT se usa frecuentemente como medida de la toxicidad en cultivos. Sales de tetrazolio amarillas experimentan endocitosis por parte de células y son reducidas a formazán púrpura insoluble en la vía endosómica. El nivel de formazán púrpura es un reflejo del número de células activamente metabolizantes en el cultivo, y la reducción de la cantidad de formazán se toma como una medida de la muerte celular o toxicidad metabólica en el cultivo. Cuando se observa a través de un microscopio, el formazán púrpura es visible en primer lugar en vesículas intracelulares que llenan la célula. Con el tiempo, las vesículas experimentan exocitosis y el formazán precipita en forma de cristales con forma de aguja en la superficie exterior de la membrana plasmática a medida que el formazán insoluble se expone al entorno del medio acuoso. Liu y Schubert ('97) descubrieron que células responden a niveles subletales de oligómeros de Abeta acelerando selectivamente la tasa de exocitosis de formazán reducido, aunque sin afectar a la tasa de endocitosis. Los inventores han reproducido estas observaciones en neuronas primarias maduras en cultivo y han cuantificado estos cambios morfológicos mediante microscopia y procesamiento de imágenes automatizados. En estas circunstancias, no se produce ningún cambio global en la cantidad total de formazán reducido, simplemente un cambio en su morfología que refleja cambio de la velocidad de su formación y/o de la expulsión desde la célula. Los inventores han confirmado hallazgos previos por los que este ensayo es sensible a niveles bajos de oligómeros que no provocan muerte celular

(Liu and Schubert '04, Hong et al., '07). De hecho, cantidades pequeñas de oligómeros que conducen a la inhibición de la LTP no conducen a la muerte celular (Tong et al., '04) y no se espera que las mismas hagan cambiar las cantidades totales de formazán en cultivo (o en rodajas de cerebro).

5 **[0333]** Evidencias aducidas por otros investigadores sugieren que la reducción, mediada por oligómeros de Abeta, en la expresión de receptores en la superficie neuronal mediada por el tráfico de membrana es la base para la inhibición oligomérica de medidas electrofisiológicas de la plasticidad sináptica (LTP) y, por lo tanto, el aprendizaje y la memoria (Kamenetz et al., '03, Hsieh et al., '06). La medición de cambios de tasa del tráfico de membrana inducidos por oligómeros por medio de cambios morfológicos de formazán se ha usado en líneas celulares para descubrir fármacos
10 bloqueantes de oligómeros de Abeta (Maezawa et al., '06, Liu y Schubert '97, '04, '06, Rana et al., '09, Hong et al., '08) que disminuyen los niveles cerebrales de Abeta en roedores en vivo (Hong et al., '09). En la bibliografía pueden encontrarse procedimientos similares para ensayos de exocitosis/ensayos de MTT. Véanse, por ejemplo, Liu Y, et. al., *Detecting bioactive amyloid beta peptide species in Alzheimer's disease*. J Neurochem. Noviembre de 2004;91(3):648-56; Liu Y, y Schubert D. "Cytotoxic amyloid peptides inhibit cellular 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) reduction by enhancing MTT formazan exocytosis." J Neurochem. Diciembre de 1997 ;69(6):2285-93; and Liu Y, y Schubert D. "Treating Alzheimer's disease by inactivating bioactive amyloid beta peptide" Curr. Alzheimer Res. Abril de 2006;3(2):129-35. Por lo tanto, el planteamiento es válido.

[0334] El presente ensayo de exocitosis se adoptó para su uso con cultivos neuronales primarios maduros desarrollados durante 3 semanas in vitro. Véase el documento WO 2001/106785. Los oligómeros de Abeta provocan una disminución, dependiente de la dosis, en la cantidad de vesículas intracelulares (puntos) llenas de formazán púrpura reducido, según se mide a través de procesamiento de imágenes usando un sistema de microscopía automatizado Cellomics VTI. Las fotomicrografías correspondientes a una célula neuronal cultivada expuesta solamente al vehículo muestran vesículas llenas de formazán; en donde una fotomicrografía de una célula neuronal expuesta a vehículo más oligómero de Abeta
25 muestra un número considerablemente menor de vesículas llenas de formazán y revela, en cambio, formazán que ha experimentado exocitosis y que, cuando se encuentra con el entorno extracelular, precipita en cristales. El incremento de la cantidad de oligómeros de Abeta da como resultado, finalmente, una toxicidad manifiesta. De este modo, la concentración de oligómeros de Abeta neuroactivos usados en el ensayo es mucho menor que la correspondiente que provoca muerte celular. Los inventores confirmaron que el ensayo es operativo mostrando que los efectos del oligómero de Abeta se bloquean tras la adición de anticuerpo anti-Abeta aunque el anticuerpo solo no tiene ningún efecto por sí mismo (no se muestran datos). Cuando se configura de esta manera, el ensayo puede detectar compuestos que inhiben efectos no letales de oligómero de Abeta, ya sea que estos compuestos actúen por medio de la alteración de oligómeros, la inhibición de la unión de oligómeros a neuronas, o la neutralización de mecanismos de acción de transducción de señales iniciados por la unión de oligómeros.

35 **[0335]** Los métodos usados para generar los resultados fueron los siguientes en el ensayo de Tráfico de Membrana/Exocitosis (MTT).

[0336] Neuronas primarias de hipocampo de embriones de ratas Sprague-Dawley E18 se sembraron, a concentraciones optimizadas, en placas de 384 pocillos en medio NB (Invitrogen). Las neuronas se mantuvieron en cultivos durante 3 semanas, alimentando dos veces por semana el medio NB con suplemento de N₂ (Invitrogen). Estas neuronas expresan el complemento completo de proteínas sinápticas característico de neuronas en el cerebro maduro, y presentan una red compleja de señalización eléctrica dependiente de la actividad. Las neuronas y el glía de dichos cultivos tienen redes de señalización molecular que presentan una alineación excelente con circuitos cerebrales intactos, y, por este motivo, se han usado durante más de dos décadas como sistema modelo para el aprendizaje y la memoria (Véase, por ejemplo, Kaech S, Banker G. *Culturing hippocampal neurons*. Nat Protoc. 2006;1(5):2406-15. Publicación electrónica 11 de enero de 2007; Véase también, Craig AM, Graf ER, Linhoff MW. *How to build a central synapse: clues from cell culture*. Trends Neurosci. Enero de 2006;29(1):8-20. Publicación electrónica 7 de diciembre de 2005. Revisión).

50 **[0337]** Se adicionó un compuesto de prueba a células, en concentraciones en un intervalo de 100 uM a 0,001 nM, seguido por la adición de vehículo o preparaciones de oligómeros de Abeta (concentración de proteína Abeta total 3 µM), y el mismo se incubó durante entre 1 y 24 h a 37 °C en CO₂ 5%. El reactivo de MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2il)-2,5difetil tetrazolio (Roche Molecular Biochemicals) se reconstituyó en solución salina tamponada con fosfato a 5 mg/mL. En cada pocillo se adicionaron 10 µL de reactivo de marcado de MTT y los mismos se incubaron a
55 37 °C durante 1 h, y a continuación se tomaron imágenes del mismo. Se valoró la exocitosis mediante microscopía y procesamiento de imágenes automatizados para cuantificar la cantidad de formazán que había experimentado endocitosis y exocitosis.

60 **[0338]** Se formateó cada placa de ensayo de manera que se someten a prueba compuestos con y sin oligómero de Abeta en cada placa. Este diseño elimina compuestos tóxicos o metabólicamente activos en etapas tempranas de la cascada de cribado (en el nivel del cribado primario). En primer lugar fue visible formazán reducido en vesículas intracelulares. La exocitosis final del formazán se aceleró por medio de oligómeros de Abeta. Las Figuras 1A y 1B son ejemplos de fotomicrografías de neuronas, la primera de vesículas intracelulares en las que se observa la primera vez el formazán y la segunda de una neurona cubierta con colorante púrpura insoluble que se ha extruido a través de

exocitosis. El colorante precipitó en el entorno acuoso del cultivo y formó cristales con forma de agujas en la superficie de la neurona.

[0339] En presencia de una concentración efectiva de Compuesto de Prueba Activo, se bloquean los cambios del tráfico de membrana y la célula es indistinguible con respecto a una neurona tratada con vehículo. Además, en algunos casos, este efecto del Compuesto de Prueba parecer ser independiente de si el Compuesto de Prueba se adiciona antes o después de la exposición de las células a oligómero de Abeta, lo cual indica un efecto terapéutico así como profiláctico. Una concentración adecuada de Compuesto de Prueba activo bloquea los efectos del tráfico de membrana del oligómero de Abeta observado en este ensayo. Dosis crecientes de compuestos antagonistas del receptor sigma-2, de alta afinidad, selectivos, interrumpen los efectos de los oligómeros y hacen que los cultivos tengan un aspecto más parecido al de cultivos tratados con vehículo.

[0340] Sobre la base de estos resultados, los compuestos antagonistas del receptor sigma-2, de alta afinidad, selectivos, que se dan a conocer en la presente y que son eficaces para inhibir la toxicidad de oligómeros de Abeta, resultan prometedores como modalidades terapéutica y (en estadios muy tempranos) profiláctica para el declive cognitivo relacionado con la toxicidad de oligómeros de beta amiloide, tal como el que se observa en la enfermedad de Alzheimer.

[0341] Se dosificaron oligómeros de Abeta sintéticos en el ensayo de tráfico de membrana, en donde el mismo presentó una EC₅₀ de 820 nM. Cada concentración de Abeta se sometió a prueba con respecto a varias concentraciones de cada Compuesto de Prueba antagonista del receptor sigma-2, de alta afinidad, selectivo. Los compuestos activos provocaron un desplazamiento hacia la derecha en la EC₅₀ de prácticamente dos órdenes de magnitud. Cuando los datos se ajustaron a modelos clásicos lineales y no lineales, los datos serán lineales con un análisis de Schild (pendiente de Hill nH de 1), lo cual indica que los compuestos del receptor sigma-2 presentan una verdadera competición farmacológica entre oligómeros y compuesto para dianas que median el tráfico de membrana.

[0342] Oligómeros de Abeta obtenidos de cerebros de pacientes con Alzheimer se pueden dosificar con respecto a Compuestos de Prueba, y también se espera que se manifieste un desplazamiento hacia la derecha por la exposición al compuesto. Específicamente, con dosis eficaces, los Compuestos de Prueba activos presentan competición farmacológica con oligómeros tanto sintéticos como obtenidos de pacientes humanos con Alzheimer. Efectivamente, los fármacos candidatos a compuesto antagonista del receptor sigma-2, de alta afinidad, selectivo, hacen que los oligómeros de Abeta sean menos sinaptotóxicos. Sin imponer límites teóricos, el mecanismo de acción más simple posible es que los compuestos del receptor sigma-2 actúen como antagonistas competitivos del receptor.

Controles experimentales:

[0343] Como controles positivos se usaron oligómeros de Abeta 1-42 elaborados de acuerdo con métodos publicados. [Véanse, por ejemplo Dahlgren et al., "Oligomeric and fibrillar species of amyloid-beta peptides differentially affect neuronal viability" J Biol Chem. 30 de agosto de 2002;277(35):32046-53. Publicación electrónica 10 de junio de 2002.; LeVine H 3º. "Alzheimer's beta-peptide oligomer formation at physiologic concentrations" Anal Biochem. 1 de diciembre de 2004;335(1):81-90; Shrestha et al., "Amyloid beta peptide adversely affects spine number and motility in hippocampal neurons" Mol Cell Neurosci. Noviembre de 2006;33(3):274-82. Publicación electrónica 8 de septiembre de 2006; Puzzo et al., "Amyloid-beta peptide inhibits activation of the nitric oxide/cGMP/cAMP-responsive element-binding protein pathway during hippocampal synaptic plasticity" J Neurosci. 20 de julio de 2005;25(29):6887-97; Barghorn et al., "Globular amyloid betapeptide oligomer - a homogenous and stable neuropathological protein in Alzheimer's disease" J Neurochem. Noviembre de 2005;95(3):834-47. Publicación electrónica 31 de agosto de 2005; Johansson et al., "Physicochemical characterization of the Alzheimer's disease-related peptides A beta 1-42 Arctic and A beta 1-42wt. FEBS J. junio de 2006;273(12):2618-30] así como oligómeros de Abeta obtenidos de cerebros (véanse, por ejemplo, Walsh et al., "Naturally secreted oligomers of amyloid beta protein potently inhibit hippocampal long-term potentiation in vivo. Nature (2002). 416, 535-539; Lesne et al., "A specific amyloid-beta protein assembly in the brain impairs memory. Nature. 16 de marzo de 2006;440(7082):352-7; Shankar et al., "Amyloid-beta protein dimers isolated directly from Alzheimer's brains impair synaptic plasticity and memory. Nat Med. Agosto de 2008;14(8):837-42. Publicación electrónica 22 de junio de 2008). Cabe indicar que, en este ensayo o como control, puede usarse cualquier preparación de oligómeros de Abeta, incluyendo preparaciones descritas en la bibliografía de patentes, y citadas anteriormente.

[0344] Se demostró que varias preparaciones diferentes de oligómeros de Abeta provocaban un efecto Abeta en el ensayo de tráfico de membrana, incluyendo en especial preparaciones de oligómeros aisladas del cerebro de pacientes con enfermedad de Alzheimer.

[0345] Se aislaron oligómeros de corteza prefrontal o hipocampo humano postmortem sin el uso de detergentes y los mismos se inhibieron el tráfico de membrana de una manera dependiente de la dosis con una K_d de 6 pMolar. Los oligómeros de Abeta obtenidos de pacientes humanos con enfermedad de Alzheimer (137 pM, segunda barra de la Fig. 1J) producen una inhibición estadísticamente significativa del tráfico de membrana en comparación con el vehículo (primera barra, Fig. 1J). El Compuesto II (tercera barra) elimina los déficits de tráfico de membrana inducidos por

oligómeros de Abeta obtenidos de cerebros con AD, pero no afecta al tráfico cuando se dosifica en ausencia de Abeta (cuarta barra, rayada). Los datos se promedian a partir de tres experimentos (n=3).

[0346] Aunque las potencias de diversas preparaciones de oligómeros de Abeta difieren (por ejemplo, los aislados de Alzheimer nativos son más potentes que cualquiera de las preparaciones sintéticas sometidas a prueba – no se muestran datos), los resultados son cualitativamente iguales: las patologías mediadas por oligómeros son contrarrestadas por composiciones de la exposición que comprenden un compuesto antagonista del receptor sigma-2.

Cultivos neuronales primarios

[0347] Se determina la densidad celular óptima sobre la base de la respuesta celular a oligómeros de Abeta usando el ensayo de exocitosis como indicador, y el análisis inmunohistoquímico de la proporción relativa de glía con respecto a neuronas en los cultivos. Los cultivos se monitorizan con una frecuencia semanal con inmunohistoquímica y una cuantificación basada en el procesamiento de imágenes para monitorizar el porcentaje de los cultivos que son neuronas con respecto a glía (células Gliales). Se rechazan los cultivos que contienen más de un 20% de glía (positivos para GFAP) con respecto a neuronas (tinción positiva con anticuerpos (policlonales de pollo) (Millipore) dirigidos contra MAP2 a 1:5.000 (variable de concentración)) a la edad de cribado de 21 días in vitro (21 DIV).

Preparaciones de oligómeros de Abeta

[0348] Se obtuvo péptido de amiloide 1-42 humano de una serie de proveedores comerciales, tales como California Peptide, con una elección de los lotes sujeta a un análisis de control de calidad. Los controles de calidad de las preparaciones oligoméricas consisten en análisis de tipo Western para determinar intervalos de tamaño de los oligómeros y concentraciones relativas, y el ensayo de MTT para confirmar una aceleración de la exocitosis sin toxicidad. Se monitorizó la toxicidad en cada ensayo basado en imágenes por medio de la cuantificación de la morfología nuclear visualizada con el colorante azul de unión de ADN DAP (Invitrogen). Se considera que los núcleos que se fragmentan están en apoptosis de fase tardía (Magno y Jorris '95) y la prueba se rechazó. También se rechazaron los lotes de péptidos que producían intervalos inhabituales de tamaño peptídico o toxicidad significativa a una concentración estándar de 1,5 μ M en neuronas.

[0349] Controles basados en placas – se consideró que la optimización del ensayo se había completado cuando las placas reformateadas lograban un mínimo de separación de dos veces estadísticamente significativa entre neuronas tratadas con vehículo y con oligómero de Abeta ($p < 0,01$, *prueba T de Student*, varianza desigual) de manera rutinaria, con no más de un 10% de CV entre placas.

Software y análisis estadísticos

[0350] La gestión y el análisis de los datos se lograron con el software de análisis de imágenes Cellomics VTI y el software de base de datos automatizado STORE. Debido al bajo rango dinámico y a la variabilidad neuronal entre pocillos después de tres semanas en cultivo, se realizan comparaciones estadísticas por medio de un análisis de Tukey-Kramer por pares para determinar la relevancia de la separación entre oligómeros de Abeta + compuesto con respecto a Abeta solo, y entre compuestos solo con respecto al vehículo. La capacidad de las neuronas primarias maduras de parecerse más fielmente a la red de transducción de señales mediada electrofisiológicamente, del cerebro adulto, justifica esta estrategia de cribado. El análisis de potencia se estableció para una serie de pocillos de cribado duplicados que minimizaban los falsos negativos (por ejemplo, N=4). Por su parte, compuestos de prueba de la composición revierten significativamente los efectos de oligómeros de Abeta sobre el tráfico de membrana, pero no afectan al metabolismo neuronal.

[0351] Compuestos seleccionados de acuerdo con las Fórmula I y/o la Fórmula II se dosificaron en el ensayo de MTT descrito en la presente antes de la adición de oligómeros de Abeta, y resultó que los mismos bloquearon los déficits de tráfico de membrana inducidos por oligómeros de Abeta con la EC_{50} indicada. Específicamente, estos resultados indican que los compuestos bloquean/remiten la actividad/efecto del oligómero de Abeta sobre el tráfico de membrana de células neuronales en concentraciones micromolares.

[0352] En la Tabla 2 se proporcionan Resultados Combinados para compuestos de la Fórmula I y/o la Fórmula II con respecto a log P, PSA (**A2**), el tráfico de membrana (μ M), la afinidad de receptores sigma-2, la estabilidad microsomal en microsomas de hígado de ratón (MLM) ($t_{1/2}$, min), la toxicidad in vitro por canal de potasio hERG (IC_{50} , nM), y el fenotipo neuronal.

Tabla 2: Ligandos del receptor sigma-2: lipofilicidad, capacidad de inhibir efectos de oligómeros de amiloide sobre el tráfico de membrana, unión a Receptores Sigma-2, estabilidad microsomal, y toxicidad in vitro.

Comp. Ej.	log P	psa (Å²)	Tráfico de membrana EC50 (uM)	Afinidad al Receptor Sigma-1, Ki (nM)	Afinidad al Receptor Sigma-2, Ki (nM)	Microsomas de hígado de ratón, MLM t1/2 (min)	Toxicidad in vitro, hERG IC50 (nM)	fenotipo neuronal
1	4,68	32,7	1 - > 20	31	25	11	430	Antagonista / inactivo
2	4,96	32,7	6,7 - 7,7		NA	28	710	Antagonista
3	5,29	32,7	3,8	23	240	21	NA	Neuroactivo
4	6,63	3,24	> 20,0	33	2,2	40	NA	Inactivo
5	6,96	3,24	> 20,0	56	2,7	53	NA	Inactivo
6	3,7	51,16	0,3		NA	20	980	Antagonista
7	3,76	51,16	NA	42	68	155	NA	NA
8	4,22	32,7	<0,25 - 0,4	41	79	16	7.000	Antagonista
9	5,89	3,24	0,22	17	3,6	12	6.700	Antagonista
10	5,37	21,7	0,5	1,4	5	8	41.000	Antagonista
11	5,43	21,7	0,7	14	0,44	61	290	Antagonista
12	5,89	3,24	0,4		NA	13	NA	Antagonista
13	6,26	3,24	0,3		NA	3	250	Antagonista
14	4,22	32,7	0,6		NA	20	2.400	Antagonista
15	5,59	12,47	0,5		NA	15	NA	Inactivo
16	6,35	3,24	> 20,0		NA	12	NA	Inactivo
17	5,07	32,7	0,3		NA	10	NA	Antagonista
18	6,74	3,24	NA	42	1,5	213	NA	NA
19	6,74	3,24	0,27	69	1,8	25	98.000	Antagonista Débil
20	5,43	21,7	0,067 - 0,6	0,57	0,67	43	660	antagonista / agonista
21	4,83	3,24	> 20,0	330	12	7	15.000	Inactivo
22	4,83	3,24	< 0,25	44	23	7	350	Antagonista
23	4,31	21,7	< 0,25	16	13	5	370	Antagonista
24	5,29	51,16	0,5	4,9	52	5	860	Antagonista
25	4,48	51,16	> 20,0	5,7	110	4	3.200	Inactivo/IA ACon
26	5	32,7	> 20,0	7,9	41	4	3.700	Inactivo
27	5,28	32,7	> 20,0	46	71	4	3.200	Inactivo/IA ACon
28	5,28	32,7	0,07 - 0,08	120	11	4	9.600	Antagonista
29	4,76	51,16	> 20,0	47	13	6	540	Inactivo/IA ACon
30	3,68	41,93	0,3	220	910	126	4.700	Antagonista
31	5,81	32,7	< 0,25	3,7	58	6	1.900	Antagonista
33	5,11	3,24	3,3	32	3,2	9	910	Antagonista
34	4,65	21,7	13	7,5	0,53	46	15	Antagonista
35	5,11	3,24	2,2	2,1	3,6	9	130	Antagonista
36	4,59	21,7	0,86	4,1	5,2	47	19	Antagonista
37	5	32,7	NA	9,1	140	5	480	NA
38	5,91	21,7	0,5	18	21	5	2.100	Neuroactivo
39	5,91	21,7	NA	62	21	4	3.200	NA
40	5,39	40,16	NA	7,8	8,9	6	350	NA
41	5,84	42,01	> 20,0	520	38	9	2.800	Inactivo/IA ACon
42	6,19	21,7	> 20,0	100	6,2	14	800	Agonista
43	5,84	42,01	NA	380	140	5	670	NA
44	3,96	41,93	NA	1.300	140	29	99	Antagonista
45	3,96	41,93	> 20,0	2.800	190	96	220	Inactivo
46	5,49	12,47	NA	94	160	5	1.600	Inactivo
47	3,44	60,39	NA	1.000	140	91	130	Inactivo
48	3,5	60,39	> 20,0	3.600	22	582	1.700	Inactivo
49	4,53	42,01	9,4	470	25	18	6.100	Antagonista

Comp. Ej.	log P	psa (Å²)	Tráfico de membrana EC50 (uM)	Afinidad al Receptor Sigma-1, Ki (nM)	Afinidad al Receptor Sigma-2, Ki (nM)	Microsomas de hígado de ratón, MLM t1/2 (min)	Toxicidad in vitro, hERG IC50 (nM)	fenotipo neuronal
50	4,53	42,01	NA	750	37	33	4.400	antagonista débil
51	3,68	41,93	NA	77	800	66	1.200	Neuroactivo
52	3,16	60,39	0,3	130	540	97	3.200	Antagonista
53	4,5	32,7	> 20,0	110	17	21	2.800	Inactivo
54	6	32,7	6,5	74	18	12	2.500	Antagonista
55	6,23	32,7	NA	360	310	34	100.000	NA
56	2,88	70	0,3	10.000	10.000	617	49.000	Antagonista Débil
57	5,14	53,01	> 20,0	700	95	26	5.000	Inactivo IAACON
58	5,56	32,7	5,6	240	32	16	12.000	Antagonista
59	4,71	53,01	NA	10.000	57	8	18.000	Inactivo
60A	5,42	32,7	> 20,0	410	1.600	5	100.000	Antagonista
60B	5,28	32,7	1,6	37	76	8	25.000	Antagonista
61	4,79	66,84	< 0,02	33	6,9	114	790	Antagonista
62	4,25	66,84	0,06	63	8,5	45	26.000	Antagonista
63	3,97	66,84	NA	17	380	31	11.000	Inactivo
64	3,2	66,84	NA	180	8,6	52	20.000	Inactivo
65	2,92	66,84	NA	1.300	190	41	26.000	Neuroactivo
66	4,25	66,84	NA	130	2,6	10	19.000	Inactivo
67	4,79	66,84	NA	55	8,1	39	44.000	Antagonista
68	2,92	66,84	NA	100	400	152	43.000	Inactivo
69	3,69	66,84	NA	27	76	75	9.500	Inactivo
70	3,97	66,84	NA	50	9	79	3.100	Inactivo
73	5,27	41,93	NA	22	140	NA	770	NA
74	5,7	32,7	0,3	2.300	550	21	100.000	Antagonista
75	2,34	70	> 20,0	10.000	> 10.000	508	100.000	Inactivo
76	2,88	65	0,87	10.000	2,6	115	76.000	Antagonista
77	3,2		0,1		NA	142	NA	Antagonista
78	3,25		8,8	10.000	10.000	450	110.000	Neuroactivo
79	2,74		100	10.000	460	144	11.000	Inactivo
80	3,44		100	10.000	1.400	45	7.400	Inactivo
81	3,48		100	10.000	10.000	88	10.000	Inactivo
82	3,5		100	10.000	10.000	27	52.000	Inactivo
83	2,73		100	10.000	10.000	336	10.000	Inactivo IAACON
84	3,39		100	10.000	10.000	163	6.600	NA
85	2,97			10.000	360	194	33.000	NA
86	3,61			10.000	10.000	19	5.100	NA
87	4,44			69	1,1	86	570	NA
88	5,75		0,36	96	1,3	28	2.800	Neuroactivo
89	4,9				NA	17	NA	NA
90	4,68				NA	9	NA	NA
91	4,75				NA	6	NA	NA
92	3,98				NA	7	NA	NA
93	4,98				NA	5	NA	NA
94	4,92				NA	14	NA	NA
95	4,85		1,7		100		NA	Antagonista
96	4,16		100		6,6	<1,75	NA	Inactivo
97	4,4				NA		NA	NA
98	3,43		0,35		10.000	29,35	NA	Antagonista/ Neuroactivo
99	3,43		0,2		1.200	93,3	NA	Antagonista/ Neuroactivo
100	3,27		1,1		10.000	156,24	NA	Antagonista
101	3,35		100		11	84,21	NA	Inactivo
102	3,5		100		1,8	20,35	NA	Inactivo

Comp. Ej.	log P	psa (Å²)	Tráfico de membrana EC50 (uM)	Afinidad al Receptor Sigma-1, Ki (nM)	Afinidad al Receptor Sigma-2, Ki (nM)	Microsomas de hígado de ratón, MLM t1/2 (min)	Toxicidad in vitro, hERG IC50 (nM)	fenotipo neuronal
103	3,5		100		1,4	15,2	NA	Inactivo
104	4,1		100		760		NA	Inactivo
105	4,19		2,6		180	106,23	NA	Neuroactivo
106	4,79		3,4		240	160,43	NA	Agonista
107	3,7		100		10.000	25,21	NA	Inactivo
108	5,6		100		15	1.236,31	NA	Inactivo
109	5,6		100		31	253,79	NA	Agonista
110	2,72		100		10.000	15,66	NA	Inactivo
111	3,69		100		740	27,01	NA	Inactivo
112	5,41		0,26		NA	NA	NA	Antagonista
113	4,11		5,3		NA	NA	NA	Antagonista
114	2,65		0,25		NA	NA	NA	Neuroactivo
115	2,91		100		NA	NA	NA	Inactivo
116	3,96		100		NA	NA	NA	Inactivo
117	4,81		1,2		NA	NA	NA	Antagonista
118	4,03		100		NA	NA	NA	Inactivo

NA= datos no disponibles todavía

[0353] Resultó que ciertos compuestos de la Tabla 2 bloquearon la aceleración, inducida por oligómeros de Abeta, de la hexocitosis con la EC₅₀ indicada. Por consiguiente, los compuestos de la Tabla 2 bloquearon significativamente cambios, mediados por oligómeros de Abeta, en el tráfico de membrana. Estos resultados indican que los compuestos bloquean/remiten la actividad/efecto del oligómero de Abeta sobre células neuronales y que, para bloquear las anomalías de tráfico de membrana inducidas por oligómeros de Abeta, pueden usarse ligandos del sigma-2.

[0354] Compuestos seleccionados de la Tabla 2 se dosificaron en el ensayo de tráfico de membrana y resultó que los mismos bloqueaban las anomalías de tráfico de membrana inducidas por oligómeros de Abeta con la EC₅₀ indicada. Por consiguiente, los compuestos de la Tabla 2 bloquearon significativamente cambios, mediados por oligómeros de Abeta, en el tráfico de membrana. Estos resultados indican que los compuestos bloquean/remiten la actividad/efecto del oligómero de Abeta sobre células neuronales, y que, como compuestos candidatos para bloquear las anomalías de tráfico de membrana inducidas por oligómeros de Abeta, pueden usarse ligandos del receptor sigma-2.

[0355] En algunas realizaciones, compuestos de isoindolina de acuerdo con la fórmula I y/o la fórmula II, según se proporciona en la siguiente, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, inhiben déficits de tráfico de membrana inducidos por oligómeros de Abeta, con una EC₅₀ no superior a 20 uM, no superior a 15 uM, no superior a 10 uM, no superior a 5 uM, no superior a 1 uM, no superior a 0,5 uM, cuando se someten a prueba de acuerdo con el protocolo del ensayo de tráfico de membrana que se proporciona en la presente.

[0356] Se espera que los compuestos incluidos por las fórmulas anteriores sean, también, ligandos del sigma-2, y, por lo tanto, también serán útiles en el bloqueo de la aceleración, inducida por oligómeros de Abeta, de la exocitosis.

Ejemplo 7. Estudios farmacocinéticos y de estabilidad metabólica.

[0357] Se llevó a cabo un primer estudio farmacocinético en microsomas de ratones (microsomas de hígado de ratón, MLM) por parte de una organización de investigación bajo contrato mercantil. Los estudios se llevaron a cabo de acuerdo con Obach, R. S et al. (1997) J. Pharmacol. Exp. Ther., 283: 46-58. La semivida (t_{1/2}) de los compuestos en el ensayo de MLM se muestra en la Tabla 2, y se situó en el intervalo de 3 a 617 minutos.

[0358] En algunas realizaciones, compuestos de isoindolina de acuerdo con la fórmula I y/o la fórmula II, según se proporcionan en la presente, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, presentan una semivida (t_{1/2}) en un ensayo con microsomas de hígado de ratón (MLM), según se proporciona en la presente, de por lo menos 5 minutos, por lo menos 10 minutos, por lo menos 25 minutos, por lo menos 50 minutos, por lo menos 100 minutos, o por lo menos 200 minutos.

[0359] Los resultados indican que varios de los compuestos sometidos a prueba presentaban una semivida sustancialmente mayor en microsomas de hígado de ratón. Este resultado augura una mayor biodisponibilidad después de la administración oral para estos compuestos. Los mismos compuestos se han sometido a prueba con el ensayo de tráfico de membrana descrito anteriormente y su actividad según se hace referencia a la misma en la presente.

[0360] Si la tasa de aclaramiento intrínseco del Compuesto de Prueba fue rápida, esto sugiere un metabolismo de primer paso sustancial. Para mejorar las propiedades farmacocinéticas, se diseñaron compuestos con el fin de potenciar

la estabilidad metabólica y mejorar las propiedades de tipo fármaco. Se llevaron a cabo experimentos de estabilidad microsomal y experimentos de estabilidad plasmática para determinar la estabilidad metabólica y hepática de compuestos candidatos. En algunas realizaciones, la estabilidad microsomal in vitro se normalizó al compuesto patrón CT010914.

[0361] Puede efectuarse in vivo un segundo estudio PK, y el mismo conlleva la medición de niveles plasmáticos y niveles cerebrales para compuestos de prueba administrados por varias vías y de una manera aguda o crónica, de la forma siguiente:

Optimización por HPLC-MS

[0362] Se prepara una solución de cada compuesto de prueba y la misma se infunde en el espectrómetro TSQ Quantum (Fisher Thermo Scientific) por medio de una bomba de jeringa a una velocidad constante. Se efectúa un análisis de MS (espectroscopia de masas) de barrido completo y se generan cromatogramas de corriente de iones totales y espectros de masas correspondientes para cada compuesto de prueba en modos de ionización tanto positivo como negativo. Los iones precursores para MS/MS se seleccionan del espectro de masas o bien positivo o bien negativo, en función de la abundancia de iones respectiva. Además, se lleva a cabo un análisis de MS/MS de iones producto con el fin de determinar la reacción de fragmentación seleccionada adecuada para su uso en el análisis cuantitativo. Los parámetros finales de monitorización de la reacción se seleccionan para maximizar la capacidad de cuantificar el compuesto de prueba cuando está presente dentro de una mezcla compleja de componentes. Tras la identificación de la transición SRM específica a usar para cada compuesto de prueba, los parámetros de detección se optimizan usando el protocolo automatizado en el espacio de trabajo de Optimización de Compuestos TSQ Quantum. Finalmente, se identifican las condiciones cromatográficas a utilizar para el análisis de LC/MS mediante inyección y separación del analito en una columna de LC adecuada y se lleva a cabo el ajuste de las condiciones del gradiente según sea necesario.

Formulación para dosificación IV:

[0363] En primer lugar, se evalúa la solubilidad del compuesto de prueba en solución salina tamponada con fosfato, pH 7,4 (PBS), mediante inspección visual. El PBS se usa como vehículo si el compuesto es soluble en la concentración diana. (Pueden evaluarse otros vehículos que sean compatibles con la dosificación IV si el compuesto no es completamente soluble en PBS). Dichos vehículos incluyen DMSO, polietilenglicol (PEG 400), Solutol HS 15, y Cremophor EL entre otros). En los experimentos notificados en la presente, se administra por IV un bolo individual, 10 mg/kg, de Compuesto de Prueba.

[0364] Formulación para la dosificación PO. En primer lugar se evalúa la solubilidad del compuesto de prueba en PBS. El PBS se usa como vehículo si el compuesto es soluble en la concentración diana (pueden usarse DMSO/Solutol HS 15/PBS (5/5/90, v/v/v), o DMSO/metilcelulosa 1% (5/95, v/v) si el compuesto de prueba no es completamente soluble en PBS a la concentración respectiva).

Linealidad en plasma

[0365] Alícuotas de plasma se enriquecen con los compuestos de prueba a las concentraciones especificadas. Las muestras enriquecidas se procesan usando precipitación con acetonitrilo y se analizan por HPLC-MS ó HPLC-MS/MS. Se construye una curva de calibración de área de pico con respecto a concentración. Se determina el intervalo lineal notificable del ensayo, junto con el límite de cuantificación inferior (LLQ).

Bioanálisis cuantitativo de muestras de plasma

[0366] Las muestras plasmáticas se procesan usando precipitación con acetonitrilo y se analizan por HPLC-MS ó HPLC-MS/MS. Se generó una curva de calibración plasmática. Alícuotas de plasma libre de fármaco se enriquecen con el compuesto de prueba a los niveles de concentración especificados. Las muestras plasmáticas enriquecidas se procesan junto con las muestras plasmáticas desconocidas usando el mismo procedimiento. Típicamente, las muestras plasmáticas procesadas (extractos secos) se almacenan congeladas (-20 °C) hasta el análisis de HPLC-MS ó HPLC-MS/MS. Los extractos secos se reconstituyen en un disolvente adecuado y, después de la centrifugación, se analizaron por HPLC-MS o HPLC-MS/MS. Se registran las áreas de pico, y se determinan las concentraciones del compuesto de prueba en las muestras plasmáticas desconocidas usando la curva de calibración respectiva. Se determina el intervalo lineal notificable del ensayo, junto con el límite inferior de cuantificación (LLQ).

[0367] Los animales usados en el estudio son, típicamente, ratones macho C57BL/6 que pesan entre 20 y 30 g cada uno de ellos, o ratas Sprague-Dawley que pesan entre 180 y 250 g. Se tratan tres animales para cada condición de administración y cada instante de tiempo, de manera que cada animal se somete a solamente una extracción de sangre. La administración subcutánea del compuesto se materializó por inyección intraperitoneal. La administración peroral se logra por sondaje gástrico. La administración intravenosa se realiza a través de un catéter yugular.

[0368] Tras la administración del compuesto en diversas concentraciones, se recolectan muestras plasmáticas a los, por ejemplo, 10, 30, 60, 120, 240, 360, 480 y 1.440 min.

5 **Recolección de muestras plasmáticas de ratones y ratas**

[0369] Los animales se sedan bajo anestesia inhalatoria general (isoflurano 3%) para la toma de sangre por punción cardíaca (ratones) o catéter yugular (ratas). Se recolectan alícuotas de sangre (300-400 µL) en tubos recubiertos con heparina de litio, las mismas se mezclan suavemente, y se mantienen en hielo y se centrifugan a 2.500 x g durante 15 minutos a 4°C, antes de 1 hora tras la recolección. A continuación, se recolecta el plasma y el mismo se mantiene congelado a -20 °C hasta el posterior procesamiento.

Diseño para dosificación de animales – PK in vivo – animales no canulados, no sometidos a ayuno

15 [0370]

Grupo 1: SC, n=3 animales por instante de tiempo (24 animales total) o

IV, n=3 animales por instante de tiempo (24 animales en total)

20

Grupo 2: PO, n=3 animales por instante de tiempo (24 animales en total)

Grupo 3: animales de control (para sangre libre de fármaco), n=5 ratones

25 Cada animal se somete a una extracción de sangre y una extracción de cerebro.

Recolección de muestras cerebrales de los animales

[0371] Inmediatamente después de la toma de sangre, los animales se decapitan y los cerebros completos se extraen rápidamente, se enjuagan con solución salina fría (NaCl, 0,9%, g/mL), se rompe la vasculatura superficial, se realiza un secado con gasa, se procede a un pesaje, los mismos se mantienen en hielo hasta un procesamiento posterior antes de una hora tras la recolección. Cada cerebro se homogeneiza en 1,5 mL de solución salina fría tamponada con fosfato, pH 7,4 (ratones =1,5 mL, ratas =), durante 10 segundos en hielo usando el Power Gen 125. A continuación, el homogeneizado cerebral de cada uno de los cerebros se almacena a -20 °C hasta el posterior procesamiento.

35

Linealidad en las muestras cerebrales

[0372] Alícuotas de homogeneizado de cerebro se enriquecen con el compuesto de prueba a las concentraciones especificadas. A cada alícuota del cerebro, se le adiciona un volumen igual de solución de Dextrano neutro (Peso molecular medio 65.000-85.000 de Sigma, número de catálogo D-1.390) 26% (g/mL) fría, para obtener una concentración final de Dextrano del 13%. El homogeneizado se centrifuga a 54.000 x g durante 15 minutos a 4°C. Posteriormente, los sobrenadantes se procesan usando precipitación con acetonitrilo y se analizan por HPLC-MS/MS. Se construye una curva de calibración del pico con respecto a la concentración. Se determina el intervalo lineal notificable del ensayo, junto con el límite inferior de cuantificación (LLQ).

45

Análisis cuantitativo de muestras cerebrales

[0373] A cada alícuota de homogeneizado del cerebro, se le adiciona un volumen igual de solución fría de Dextrano neutro (peso molecular medio 65.000-85.000 de Sigma, n.º de catálogo D-1.390) 26% (g/mL) para obtener una concentración final de Dextrano del 13%. El homogeneizado se centrifuga a 54.000 x g durante 15 minutos a 4°C. Posteriormente, los sobrenadantes se procesan usando precipitación con acetonitrilo y se analizan por HPLC-MS/MS. Se genera una curva de calibración para cerebro. Alícuotas de homogeneizado de cerebro libre de fármacos se enriquecen con el compuesto de prueba a niveles de concentración especificados. Las muestras de homogeneizado de cerebro enriquecido se procesan junto con las muestras de homogeneizado de cerebro desconocido usando el mismo procedimiento. Las muestras de cerebro procesadas se almacenan a -20 °C hasta el análisis de LC-MS/MS, momento en el cual se registran las áreas de pico, y se determinaron las concentraciones de compuesto de prueba en las muestras de cerebro desconocidas usando la curva de calibración respectiva. Se determinó el intervalo lineal notificable del ensayo junto con el límite inferior de cuantificación (LLQ).

60 **Penetrabilidad en el cerebro**

[0374] Se determinan, por LC-MS/MS, las concentraciones de compuesto de prueba en el cerebro (ng/g de tejido) y en plasma (ng/mL) así como la relación de la concentración en el cerebro y la concentración plasmática en cada instante de tiempo, y las mismas se notifican según se ha descrito anteriormente.

Farmacocinéticos

5 [0375] Se construyen representaciones de la concentración plasmática del compuesto con respecto al tiempo. Los parámetros farmacocinéticos fundamentales del compuesto tras la dosificación oral y SC (AUC_{last}, AUC_{INF}, T_{1/2}, T_{max}, y C_{max}) se obtienen a partir del análisis no compartimental (NCA) de los datos del plasma usando el WinNonlin (Pharsight). El análisis no compartimental no requiere la suposición de un modelo compartimental específico ni para el fármaco ni para el metabolito. El NCA permite la aplicación de la regla trapezoidal para mediciones del área bajo una curva de concentración plasmática-tiempo (Gabrielsson, J. y Weiner, D. *Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Data Analysis: Concepts and Applications*. Swedish Pharmaceutical Press. 1997).

Definiciones de términos notificados

15 [0376] Área Bajo la Curva (AUC) – medición de la cantidad total de fármaco que no ha sufrido cambios y que alcanza la circulación sistémica. El área bajo la curva es una medición geométrica que se calculó representando la concentración con respecto al tiempo y sumando las áreas incrementales de cada trapezoide.

20 [0377] WinNonlin tiene dos métodos computacionales para el cálculo del área: el método trapezoidal lineal y el método trapezoidal lineal-logarítmico. Puesto que el método trapezoidal lineal puede producir resultados sesgados en la parte descendente de la curva de concentración-tiempo y sobreestimar la AUC, el WinNonlin proporciona la opción lineal-logarítmica para el cálculo de la AUC. Por defecto, se usa el método trapezoidal logarítmico-lineal para medir el área post-T_{max} para el resto de la curva de concentración plasmática-tiempo.

25 AUC_{last}: área bajo la curva desde el instante de dosificación al instante de la última observación que fue mayor que el límite de cuantificación.

AUC_{INF}: Área bajo la curva desde el instante de dosificación con extrapolación al infinito.

30 C_{max} – Concentración plasmática máxima del fármaco obtenida después de la administración oral o no-IV de un fármaco entre el instante de la dosificación y el instante de tiempo observado final.

T_{max} – Tiempo en la concentración plasmática observada máxima (C_{max}) notificado en minutos después de la administración del fármaco.

35 T_{1/2} – Semivida de eliminación terminal de la dosificación tanto IV como no IV.

donde λ_z (z) es la constante de velocidad de primer orden asociada a la porción terminal (logarítmico-lineal) de la curva de concentración plasmática-tiempo, λ_z se estima por regresión lineal del tiempo con respecto a la concentración logarítmica.

40 [0378] Se espera que los resultados revelen que ciertos Compuestos de Prueba presentan una buena biodisponibilidad y una buena penetrabilidad en el cerebro cuando se administran a dosis en el intervalo de 0,1 a 0,5 mg/kg de manera aguda o crónica (diariamente durante 5 días). Los compuestos de prueba seleccionados se evalúan en relación con la biodisponibilidad oral de esta manera.

Ejemplo 8: ensayo de unión de oligómeros Abeta 1-42 y de pérdida de sinapsis

50 [0379] En este ensayo, se hace que oligómeros de Abeta entren en contacto con neuronas primarias maduras en cultivo, y se determinó su unión por inmunohistoquímica (anticuerpo anti-Abeta) y la misma se cuantificó por procesamiento de imágenes. La cantidad de Abeta en dendritas neuronales se valora contando el número de puntos marcados en la neuritis. Se sabe que los oligómeros de Abeta se unen, de forma saturable (K_d aproximadamente 400 nM; Laurén 2009) y con una alta afinidad, a un subconjunto de neuronas postsinápticas presentes en un porcentaje significativo (del 30 al 50%) de neuronas del hipocampo en cultivos primarios (Lacor et al, 2004; Lambert et al, 2007), y esto presenta una correlación adecuada con observaciones de unión de Abeta en cerebros de pacientes con Alzheimer (Lambert et al, 2007). Esta marcación se asocia a sinapsis, que se localizan conjuntamente con la proteína de andamiaje postsináptica PSD-95 (Lacor et al., '04). Se sabe también que los oligómeros de Abeta median la pérdida de sinapsis, notificada como del 18% en neuronas humanas del hipocampo en rodajas del cerebro (Scheff et al, 2007) y que inhiben la potenciación de largo plazo (LTP). El número de sinapsis también se puede cuantificar en este ensayo por inmunofluorescencia. En la bibliografía pueden encontrarse procedimientos similares para ensayos de unión. Véase, por ejemplo, Look GC, et. al. *Discovery of ADDL-targeting small molecule drugs for Alzheimer's disease*. Curr Alzheimer Res. Diciembre de 2007;4(5):562-7. Revisión.

[0380] La medición de la cantidad de Abeta unido a la superficie de neuronas puede usarse como un cribado secundario para identificar compuestos que actúan por medio de uno o más de los siguientes mecanismos: bloqueando efectos de

- Abeta por interferencia con la unión de oligómeros de Abeta a la superficie neuronal o efectuando alteraciones en los propios oligómeros (agonismo inverso o disociación oligomérica) o alteración de los receptores superficiales a los que se unen los oligómeros (modulación alostérica o antagonismo clásico de receptores). También puede diferenciar estos compuestos con respecto a compuestos que actúan en eventos de señalización de aguas abajo. Por consiguiente, este ensayo es relevante para estados patológicos caracterizados por efectos no letales de oligómeros de Abeta sobre neuronas, y forma parte de una cascada de cribado utilizada por los presentes inventores para identificar compuestos clínicamente relevantes. Los compuestos de prueba seleccionados que son activos en el ensayo de tráfico de membrana y en este ensayo de unión/pérdida de sinapsis se pueden someter a prueba en relación con su actividad en dos modelos transgénicos diferentes para la enfermedad de Alzheimer y también en un modelo inducido. Por consiguiente, el mismo, así como el ensayo de tráfico de membrana, es útil en la identificación de compuestos clínicamente relevantes y parece tener un valor predictivo para resultados in vivo. La validez predictiva de este ensayo se está confirmando al demostrar su capacidad de predecir propiedades de compuestos con la utilización de compuestos que se encuentran fuera del alcance de la exposición.
- [0381]** Se establece un cultivo neuronal primario de hipocampo como en el ensayo de tráfico de membrana anterior. A la placa se le adiciona el compuesto de prueba (a concentraciones de entre 10^{-8} a 30 micromolar) seguido por una adición de preparación que contiene oligómero de Abeta 1-42 a una concentración tal que se alcanza la unión con saturación. El pretratamiento con compuestos de prueba durante 1 h y la adición de oligómeros de Abeta o ningún oligómero (solo el vehículo) viene seguido por una incubación durante 23 horas adicionales.
- [0382]** Las placas se fijan con para formaldehído 3,7% en solución salina tamponada con fosfato durante 15 min. A continuación, las placas se lavan 3x con PBS durante 5 min cada una de ellas. Las placas se bloquean a temperatura ambiente durante 1 h en suero de cabra 5% y Triton X-100 0,5% en PBS. Anticuerpos primarios (policlonal anti-MAP 2), Millipore #AB5622 y monoclonal anti-Beta Amiloide 6E10, Covance #SIG-39300, a 1 microgramo/ml, y policlonal de conejo anti-sinaptofisina, Anaspec, a 0,2 microgramo/ml) se diluyeron 1:1.000 en suero de cabra 5% con PBS. Se incuban anticuerpos primarios durante la noche a 4 °C. A continuación, las placas se lavan 3x con PBS durante 5 min cada una de ellas. Anticuerpos secundarios (policlonal Alex Flor 488, Invitrogen #A11008 y monoclonal Alexa Flor 647, Invitrogen #A21235) se diluyen 1:1.000 en suero de cabra 5% con PBS. Se incuban anticuerpos secundarios a temperatura ambiente durante 1 h. Las placas se lavan una vez con PBS. A continuación, se aplica DAPI (4',6-diamidino-2-fenilindol, Invitrogen) a 0,03 ug/ul y el mismo se incubaba a temperatura ambiente durante 5 min, y a continuación se lavan con PBS.
- [0383]** Se espera que los resultados revelen que el oligómero de Abeta, preparado según se detalla posteriormente y dosificado a 3 ó 1 μ M en función de la preparación usada, unido a neuronas en sinapsis, se manifieste por medio de un colorante rojo. Se ha demostrado que, en humano con enfermedad de Alzheimer temprana, el número de sinapsis en el hipocampo se reduce en un 18% en comparación con individuos cognitivamente normales emparejados por edad (Scheff et al., '07), y este resultado también se puede visualizar en este ensayo mediante una regresión del 20% de puntos fluorescentes y, por lo tanto, del número de sinapsis. En presencia conjunta del compuesto de prueba seleccionado, se espera que la unión del Abeta se reduzca a niveles esencialmente de control, y la fluorescencia verde no se ve afectada lo cual indica un número de sinapsis no disminuido. Los oligómeros de Abeta 42 se unen a espinas postsinápticas; y se marcan con sinaptofisina en neuronas primarias. Se espera que la sinapsis y espinas postsinápticas se revelen esencialmente en niveles de control cuando, al cultivo, se le adicione una cantidad eficaz de compuesto de prueba preferido. Los oligómeros de Abeta 41adicionados solos provocan una reducción del 20% en la densidad de puntos de sinaptofisina después de 24 h cuando se comparan con el vehículo solo. Esta pérdida se revierte por medio de una cantidad eficaz de un compuesto de prueba preferido. En ausencia de oligómero de Abeta, el compuesto de prueba preferido no afecta al número sináptico y permanece en niveles comparables al control (vehículo solo). Se espera que la intensidad de la unión de Abeta según se calcula por medio de los puntos de Abeta se reduzcan aproximadamente un 18% en presencia de una cantidad eficaz de un compuesto de prueba, aunque esta reducción es suficiente para permitir que el recuento de sinapsis alcance niveles de control en presencia de este compuesto.
- [0384]** Adicionalmente, se espera que la unión del oligómero de Abeta, sináptica, por puntos, se reduzcan aproximadamente un 38% en presencia de ciertos compuestos de prueba de una manera que depende de la concentración. Un histograma de intensidad de puntos revela que la población de unión bimodal normal (neuronas con puntos brillantes y una población con puntos menos brillantes) se desplaza a la izquierda en presencia de un fármaco (no se muestran datos). Se ha notificado que la inhibición parcial de la unión de oligómeros de Abeta restablece el 100% de la función LTP (Strittmatter SM et al., *Cellular Prion Protein Mediates Impairment of Synaptic Plasticity by Amyloid-Beta Oligomers Nature* (2009) 457 (7233:1128-32)).
- [0385]** El oligómero de Abeta provoca una reducción del 20% en la densidad de puntos de sinaptofisina después de 24 h en comparación con el tratamiento con vehículo (primera barra), lo cual se revierte por medio de una cantidad eficaz de compuesto de prueba. Véase, por ejemplo, el documento WO2013/029060.

[0386] Es deseable que, en ausencia de Abeta, el compuesto de prueba no afecte al número sináptico. Los oligómeros de Abeta provocan una reducción del 18,2% en el número de sinapsis; el 100% de esta pérdida se elimina por medio de una cantidad eficaz de un compuesto de prueba preferido.

- 5 [0387] Los núcleos, visualizados con DAPI, presentan una morfología normal, lo cual indica una ausencia de neurodegeneración. El procedimiento se lleva a cabo con compuestos de prueba seleccionados que se eligen de entre aquellos incluidos por la Fórmula I y/o II.

Preparaciones de oligómeros de Abeta:

10

- [0388] El péptido amiloide humano 1-42 se obtiene de California Peptide, estando sujeta la elección de los lotes a un análisis de control de calidad. Los oligómeros de Abeta 1-42 se elaboran de acuerdo con métodos publicados según se ha descrito anteriormente. [Véanse, por ejemplo Dahlgren et al., "Oligomeric and fibrillar species of amyloid-beta peptides differentially affect neuronal viability" J Biol Chem. 30 de agosto de 2002;277(35):32046-53. Publicación electrónica 10 de junio de 2002.; LeVine H 3º. "Alzheimer's beta-peptide oligomer formation at physiologic concentrations" Anal Biochem. 1 de diciembre de 2004;335(1):81-90; Shrestha et.al, "Amyloid beta peptide adversely affects spine number and motility in hippocampal neurons" Mol Cell Neurosci. Noviembre de 2006;33(3):274-82. Publicación electrónica 8 de septiembre de 2006; Puzzo et al., "Amyloid-beta peptide inhibits activation of the nitric oxide/cGMP/cAMP-responsive element-binding protein pathway during hippocampal synaptic plasticity" J Neurosci. 20 de julio de 2005;25(29):6887-97; Barghorn et al., "Globular amyloid betapeptide oligomer - a homogenous and stable neuropathological protein in Alzheimer's disease" J Neurochem. Noviembre de 2005;95(3):834-47. Publicación electrónica 31 de agosto de 2005; Johansson et al., "Physicochemical characterization of the Alzheimer's disease-related peptides A beta 1-42 Arctic and A beta 1-42wt. FEBS J. junio de 2006;273(12):2618-30] así como oligómeros de Abeta obtenidos de cerebros (véanse, por ejemplo, Walsh et al., "Naturally secreted oligomers of amyloid beta protein potently inhibit hippocampal long-term potentiation in vivo. Nature (2002). 416, 535-539; Lesne et al., "A specific amyloid-beta protein assembly in the brain impairs memory. Nature. 16 de marzo de 2006;440(7082):352-7; Shankar et al, "Amyloid-beta protein dimers isolated directly from Alzheimer's brains impair synaptic plasticity and memory. Nat Med. Agosto de 2008;14(8):837-42. Publicación electrónica 22 de junio de 2008). Los controles de calidad de las preparaciones oligoméricas consisten en análisis de tipo Western para determinar intervalos de tamaño de los oligómeros y concentraciones relativas, y el ensayo de MTT para confirmar aceleración de la excitotoxicidad sin toxicidad. La toxicidad se monitoriza en cada ensayo basado en imágenes por medio de la cuantificación de la morfología nuclear visualizada con el colorante de unión a ADN DAPI (Invitrogen). Los núcleos que se fragmentan se considera que están en apoptosis de fase tardía y la prueba se rechaza (Majno y Joris *Apoptosis, oncosis, and necrosis. An overview of cell death.* Am J Pathol 1995;146:3-16). Se rechazaron los lotes de péptidos que producían intervalos inhabituales de tamaños peptídicos o una toxicidad significativa en concentraciones convencionales en neuronas.
- 35

Controles

- 40 [0389] La preadsorción del anticuerpo anti-Abeta 6E10 con preparación de oligómeros inhibe la unión a sinapsis de una manera que depende de la dosis (a $7,84 \times 10^{-6}$) y se usa como control positivo. El anticuerpo se usa a 1:1.000 (1 microgramo/ml). Para el ensayo de pérdida de sinapsis, se usa como control positivo a 80 uM el antagonista NMDA dizocilpina (MK-801).

Procesado de imágenes

45

- [0390] Se capturan y analizan imágenes con la plataforma de microscopio automatizada Cellomics VTI, usando el algoritmo de Perfilado Neuronal (Neuronal Profiling). Para el análisis estadístico, se usa una comparación de Tukey-Kramer por pares con varianza desigual.

50

Western blots

- [0391] Muestras que contenían Abeta 1-42 se diluyen (1:5) en tampón de muestra marcador de carriles, no reductor, (Pierce #1859594). En un gel prefabricado de Tris-HCl 4-15% de dieciocho pocillos (BIORAD #345-0028) se carga una muestra de 30 microlitros (µL). Se lleva a cabo una electroforesis en un sistema de gel prefabricado Criterion BIO-RAD usando tampón de Tris-Glicina a 125 voltios (V) durante 90 minutos. Los geles se transfieren sobre membranas de nitrocelulosa 0,2 µm en tampón de Tris-Glicina/metanol 10% a 30 V durante 120 minutos. Las membranas se hierven durante 5 minutos en una solución de PBS y se bloquean durante la noche con solución de TBS/leche 5% a 4 °C. La membrana se sondea con 6E10-HRP (Covance #SIG-39345) diluido a 10 µg/mL en solución de TBS/leche 1% durante 1 hora a temperatura ambiente. La membrana se lava tres veces durante 40 minutos, cada una de ellas, con una solución de TBS/tween-20 0,05% y se revela con reactivo ECL (BIO-RAD #162-0112) durante 5 minutos. Se lleva a cabo una adquisición de imágenes en un sistema cuantitativo de formación de imágenes Alpha Innotech FluorChem Q y las mismas se analizan con el software AlphaView Q.
- 60

Actividad

[0392] Se espera que los compuestos de prueba preferidos revelen que bloquean parcialmente la unión del ligando del oligómero de Abeta a neuronas en aproximadamente un 25% de acuerdo con el ensayo de unión (usando el algoritmo de procesamiento de imágenes).

Ejemplo 9: ensayo de miedo condicionado

[0393] Compuestos de prueba seleccionados se someten a prueba en un modelo animal de una tarea conductual dependiente de la memoria, conocida como condicionamiento del miedo. El protocolo de estudio se diseñó sobre la base de protocolos publicados (véase, por ejemplo, Puzzo D, Privitera L, Leznik E, Fà M, Staniszewski A, Palmeri A, Arancio O. *Picomolar amyloid-beta positively modulates synaptic plasticity and memory in hippocampus*. J Neurosci. 31 de diciembre de 2008;28(53):14537-45.). La formación de recuerdos contextuales depende de la integridad de estructuras del lóbulo temporal medial, tales como el hipocampo. En este ensayo, se entrenan ratones para que recuerden que un contexto relevante particular (estímulo condicionado; CS) está asociado a un evento aversivo, en este caso, una descarga suave en el pie (el estímulo incondicionado, US). Los animales que muestran un buen aprendizaje expresarán un incremento de la conducta de congelamiento cuando se vuelven a situar en el mismo contexto. Este congelamiento está ausente en un contexto novedoso. El aumento de congelamiento en el contexto indica una fuerte formación de memoria dependiente del hipocampo en animales. La memoria sometida a prueba en el Condicionamiento del Miedo es sensible a elevaciones del Aβ soluble. El Compuesto II resultó eficaz en la interrupción de efectos mediados por oligómeros de Abeta en el tráfico de membrana. Cuando se administra animales antes de la administración de oligómeros de Abeta, se espera que un compuesto de prueba preferido bloquee los efectos oligoméricos en la memoria de una manera dependiente de la dosis.

[0394] Ciertos compuestos de prueba preferidos son aquellos capaces de eliminar déficits, inducidos por oligómeros de Abeta, en la memoria, pero no afectarán a la memoria cuando se dosifican solos. Esta eficacia conductual demuestra que el ensayo de tráfico de membrana puede predecir qué compuestos serán eficaces en el tratamiento de la pérdida de memoria conductual provocada por oligómeros. El modelo de condicionamiento del miedo para la memoria se llevó a cabo según se describe en la presente. Es deseable que no se observe ningún cambio conductual adverso en ninguna dosis. Por consiguiente, existe una correlación entre el rendimiento de este compuesto en el ensayo de tráfico de membrana y su rendimiento en el ensayo de condicionamiento del miedo, siendo este último un indicador de la pérdida de memoria. Se anticipa que los compuestos de isoindolina proporcionados en la presente serán activos en el ensayo de condicionamiento del miedo y, por lo tanto, resultará que los mismos son eficaces en el tratamiento de la pérdida de memoria. La correlación entre el rendimiento de un compuesto en el modelo de condicionamiento del miedo y su utilidad en el tratamiento de la pérdida de memoria ha sido establecida en la bibliografía. (Delgado MR, Olsson A, Phelps EA. "Extending animal models of fear conditioning to humans" Biol. Psychol. Julio de 2006;73(1):39-48).

Ejemplo 10: estudios de autorradiografía con muestras de cerebro postmortem de rata, de mono Rhesus y humano.

[0395] Se efectúan estudios de formación de imágenes por autorradiografía para el perfilado neurológico y farmacológico de los ligandos del receptor sigma-2 y sigma-1 mediante una modificación del protocolo notificado previamente por Xu et al., 2010. Xu, J., Hassanzadeh B, Chu W, Tu Z, Vangveravong S, Tones LA, Leudtke RR, Perlmutter JS, Mintun MA, Mach RH. [3H]4-(Dimethylamino)-N-[4-(4-(2-methoxyphenyl)piperazin-1-yl)butyl]benzamide, a selective radioligand for dopamine D(3) receptors. II. Quantitative analysis of dopamine D3 and D2 receptor density ratio in the caudate-putamen. Synapse 64: 449-459(2010). Se obtuvo RHM-1 marcado, con el método de Xu J, Tu Z, Jones LA, Wheeler KT, Mach RH. [3H]N-[4-(3,4-dihydro-6,7-dimethoxyisoquinolin-2(1H)-yl)butyl]-2-methoxy-5-methylbenzamide: a Novel Sigma-2 Receptor Probe. Eur. J. Pharmacol. 525: 8-17 (2005).

[0396] Se cortan secciones cerebrales con un grosor de 20 μm de cerebros de ratas, monos rhesus y humanos postmortem, con un criotomo Microm, y las mismas se montan en portaobjetos de vidrio *superfrost plus* (Fisher Scientific, Pittsburgh, PA), y, en este estudio, se usan secciones seriadas a través de las regiones del cerebro del hipocampo y la corteza cerebral. La sección del cerebro se incuba con [3H](+)-Pentazocina 5 nM para el perfilado del receptor sigma-1, [3H]RHM-1 4 nM solamente para la caracterización del receptor sigma-2, [3H]DTG y [3H]Haloperidol 10 nM en presencia de (+)Pentazocina de bloqueo del receptor sigma-1 para las imágenes de la distribución del receptor sigma-2; después de una incubación con los radioligandos durante 30 minutos, los portaobjetos de vidrio que contenían las secciones de cerebro se enjuagan 5 veces, un minuto cada vez, con tampón helado.

[0397] Los portaobjetos se secan y se hace que sean conductivos mediante recubrimiento con una cinta de hoja de cobre por el lado libre y, a continuación, se colocan en la cámara de gas [mezcla de argón y trietilamina] (Sigma-Aldrich, Estados Unidos) de un detector gaseoso, Beta Imager 2000Z Digital Beta Imaging System (Biospace, Francia). Después de que el gas se ha mezclado bien y se alcanza un estado homogéneo, una exposición adicional durante entre 24 y 48 horas hasta que se observan imágenes de alta calidad. Se cuenta el [3H]Microscale (American Radiolabeled Chemicals, Inc., St. Louis, MO) al mismo tiempo como referencia para el análisis cuantitativo total de radioactividad, es

decir, para convertir los cpm/mm² a *nCi/mg* de tejido. El análisis cuantitativo se lleva a cabo con el programa Beta-Image Plus (BioSpace, Francia) para las regiones anatómicas de interés (ROI), es decir, con el fin de obtener la absorción de radioactividad cuantitativa (cpm/nln²) en las regiones de la corteza y el hipocampo. La densidad de unión se normaliza a fmol/mg de tejido sobre la base de las actividades específicas de los radioligandos correspondientes y la curva de calibración del patrón [³H]Microscale. Se somete a prueba una serie de diluciones de compuestos de prueba (10 nM, 100 nM, 1.000 nM y 10.000 nM) en relación con la competición con los sitios de unión usando la autorradiografía cuantitativa, para esos cuatro radioligandos, [³H](+)-Pentazocina, [³H]RHM-1, [³H]DTG y [³H]Haloperidol, y a continuación se analiza la unión específica (% control) para obtener la afinidad de unión en las regiones de la corteza y el hipocampo (giro dentado, CA I y CA3 del hipocampo).

[0398] Se lleva a cabo una autorradiografía en receptores sigma-1 y sigma-2 con [³H](+)-Pentazocina (un ligando del receptor sigma-1) y/o [¹²⁵I]-RHM-4, ó [³H]-RHM-1, (ligandos del receptor sigma-2) en la unión específica de, por ejemplo, rodajas de corteza frontal humana de pacientes normales, pacientes con Demencia con Cuerpos de Lewy (DLB), o pacientes con Enfermedad de Alzheimer (AD) y la misma se compara con el control. Los receptores sigma-1 están estadísticamente infrarregulados en la enfermedad de Alzheimer y posiblemente la DLB en comparación con el control normal, por ejemplo, Mishina et al. notificaron una baja densidad de receptores sigma-1 en la enfermedad de Alzheimer temprana. Mishina et al., 2008, *Low density of sigma1 receptors in early Alzheimer's disease*. Ann. Nucl Med 22: 151-156. No obstante, los receptores sigma-2 no están estadísticamente infrarregulados en la AD. La autorradiografía se utiliza para mostrar el desplazamiento de, por ejemplo, [³H]-RHM-1 18,4 nM en la corteza frontal de monos, el hipocampo de monos o la corteza temporal de humanos por ligandos del sigma-2 del compuesto de prueba. Se espera que la siramesina, un ligando conocido del receptor sigma-2, y los compuestos de prueba desplacen parcialmente el [³H]-RHM-1 en los tejidos diana.

Ejemplo 11. ensayo de MTS: determinación de la actividad agonista o antagonista de diversos ligandos del sigma-2.

[0399] Se determina la citotoxicidad de compuestos de prueba usando el ensayo Aqueous One Solution Assay CellTiter96 (Promega, Madison, WI). En resumen, se sembraron células MDA-MB-435 ó MDA-MB231 ó SKOV-3 en una placa de 96 pocillos a una densidad de 2.000 células/pocillo el día anterior al tratamiento con ligandos selectivos del receptor sigma-2. Después de un tratamiento de 24 horas, a cada pocillo se le adiciona el reactivo Aqueous One Solution Reagent CellTiter 96, y la placa se incuba durante 2 horas a 37°C. La placa se lee a 490 nm en un lector de placas Victor3 (PerkinElmer Life and Analytical Sciences, Shelton, CT). El valor EC⁵⁰, definido como la concentración del ligando de sigma requerida para inhibir la viabilidad celular en un 50% con respecto a células no tratadas, se determina a partir de la curva de dosis respuesta para cada línea celular. Se acepta la siramesina como agonista. Los agonistas y antagonistas de los ligandos del sigma-2 se definen de la manera siguiente: si las EC50s de un compuesto de prueba de ligando del sigma-2 son inferiores a 2 veces la EC50 de la siramesina, este compuesto de prueba de ligando del sigma-2 se considera como agonista. Si la EC50 de un ligando del sigma-2 está entre 2 y 10 veces la EC50 de la siramesina, este ligando del sigma-2 se considera como agonista parcial. Si la EC50 de un ligando del sigma-2 es superior a 10 veces la EC50 de la siramesina, se considera que este ligando del sigma-2 es un antagonista. Los compuestos patrón del ligando del sigma-2 usados para los estudios son: agonistas (siramesina SV 119), agonista parcial (WC26), y antagonista (RHM-1). En la Tabla 3 se muestran los resultados correspondientes a los patrones.

Tabla. 3. Valores de IC₅₀ para el ensayo de viabilidad de células tumorales.

Compuesto	IC ₅₀ 48 h (uM)	Acción
RHM-1	203 ± 13	Antagonista
Siramesina	11,8 ± 2,7	Agonista completo
SV-119	21,7 ± 2,9	Agonista completo
WC-26	65,6 ± 6,3	Agonista parcial

[0400] Se tratan cultivos neuronales con varias concentraciones de compuestos sigma durante 24 horas, y se mide la intensidad nuclear comparada con el vehículo. Los agonistas del sigma-2 (siramesina, SV-119, WC-26) provocan una morfología nuclear anómala significativa en las neuronas; por contraposición a los antagonistas del sigma-2 (RHM-1), los cuales no hacen que disminuya la intensidad nuclear en las concentraciones de prueba. Véase, por ejemplo, el documento WO2013/029060, FIG. 9B, en donde se mostraba que los agonistas del receptor sigma-2 eran citotóxicos para las células neuronales y cancerosas; no obstante, los antagonistas del receptor sigma-2 no eran tóxicos y además bloqueaban la citotoxicidad provocada por agonistas del receptor sigma-2. En este ensayo se analizan compuestos de prueba de isoindolina de la presente exposición para ayudar a determinar el fenotipo neuronal, mostrándose los resultados en la Tabla 2.

Ejemplo 12. Ensayos de caspasa-3. Determinación de la actividad agonista o antagonista de ligandos del sigma-2.

[0401] Tal como se describe en la presente, Xu et al. identificaron el complejo proteico PGRMC1 como el sitio de unión putativo del receptor sigma-2. Xu et al., 2011. Nature Commun. 2, número de artículo 380. *Sigma-2 receptor agonists can induce Caspase-3-dependent cell death*. Xu et al., 2011, dan a conocer ensayos funcionales para examinar la capacidad del PGRMC1 de regular la activación de la caspasa-3 por el agonista WC-26 del receptor sigma-2.

[0402] Los oligómeros de Abeta provocan niveles bajos de activación de la caspasa-3 y derivan en LTD. Los niveles altos de oligómeros de Abeta y la activación de la caspasa-3 conducen a la muerte cerebral. Li et al., 2010; Olsen y Sheng 2012. En el documento WO2013/029060, se demostró que agonistas del receptor sigma-2 (SV-119, siramesina) activan la caspasa-3 en células tumorales y neuronas; véanse, por ejemplo, las FIGs. 10A y 10B. El antagonista RHM-1 del receptor sigma-2 inhibe la activación en células tumorales (FIG. 10A), pero no pudo bloquear la activación por parte del agonista SV-119 en neuronas en este experimento (FIG. 10B). Compuestos de prueba que son antagonistas del receptor sigma 2 pueden inhibir la activación de la caspasa-3 en células tumorales y bloquear la activación de la caspasa 3, por el agonista SV-119 del receptor sigma-2, en neuronas. Por lo tanto, ciertos compuestos de prueba se someten a prueba en relación con la conducta antagonista para el receptor sigma-2 en ensayos de caspasa-3 en células tumorales y neuronas, según se demuestra en este ejemplo.

[0403] La activación de caspasa-3 endógena por ligandos del receptor sigma-2 se mide usando el Kit de Ensayo de Actividad Colorimétrica de Caspasa-3 (Millipore, Billerica, MA) según el protocolo del fabricante. En resumen, se sembraron MDA-MB 435 ó MDA-MB 231 a una razón de $0,5 \times 10^6$ células por placa de 100 mm. 24 horas después de sembrarlas, se adicionan ligandos del sigma-2 a las placas de cultivo para inducir la activación de la caspasa 3. La concentración final del ligando del sigma-2 es su EC50. 24 horas después del tratamiento, se recolectan células, las mismas se lisan entre 300 uL de Tampón de Lisis Celular, y se centrifugan durante 5 minutos a $10.000 \times g$. Se recogió y se incubó sobrenadante con sustrato de caspasa-3, DEVD-pNA, durante 2 horas a 37°C. La concentración proteica se determina usando el kit de ensayo de proteínas Dc (Bio-Rad, Hercules, CA1). El pNA libre resultante se mide usando un lector de microplacas Vector³ (PerkinElmer Life and Analytical Sciences, Shelton, CT) a 405 nm. Los ligandos sometidos a prueba incluyen agonistas del sigma-2 patrones (siramesina, SV119, WC26), y el antagonista del sigma-2, RHMWU-I-102 (RHM-1), y compuestos de prueba. Los ligandos que activan la caspasa 3 se consideran como agonistas, mientras que los ligandos que no activan la caspasa 3 se consideran antagonistas. Tal como se muestran en el documento WO2013/029060, FIG. 10A, la siramesina agonista del sigma-2 induce actividad caspasa-3, mientras que los antagonistas del sigma-2, por ejemplo, el RHM-1, y los compuestos de prueba que son antagonistas del sigma-2 no inducen actividad caspasa-3 ni en neuronas ni en células cancerosas.

Ejemplo 13. Fenotipo terapéutico.

[0404] El fenotipo terapéutico para un Compuesto de Prueba se determina mediante una plataforma de ensayo in vitro y es predictivo de la eficacia conductual. Se predice que un compuesto que (1) se une selectivamente con una alta afinidad a un receptor sigma-2; y (2) actúa como una antagonista funcional en una neurona, tendrá eficacia conductual si: bloquea déficits de tráfico de membrana inducidos por A β ; bloquea pérdida de sinapsis inducida por A β y no afecta al tráfico o al número de sinapsis en ausencia de oligómero de Abeta. A este patrón de actividad en los ensayos in vitro se le denomina "fenotipo terapéutico". La capacidad de un antagonista del receptor sigma-2 de bloquear efectos de oligómeros de Abeta en neuronas maduras sin afectar a la función normal en ausencia de oligómeros de Abeta, es uno de los criterios para fenotipo terapéutico. Los compuestos que afectan al tráfico o al número de sinapsis en ausencia de oligómeros no son eficaces desde el punto de vista conductual. Únicamente aquellos compuestos que bloquean selectivamente oligómeros sin afectar al tráfico normal o alterar el número de sinapsis son eficaces conductualmente en la prevención y el tratamiento de pérdida de memoria inducida por oligómeros de Abeta. En una realización, la plataforma de ensayo in vitro puede predecir la eficacia conductual. Por lo tanto, este patrón de actividad en los ensayos de plataforma es un fenotipo terapéutico.

[0405] En resumen: se predice que los antagonistas del sigma-2 con una alta afinidad (preferentemente, K_i inferior a aproximadamente 600 nM, 500 nM, 400 nM, 300 nM, 200 nM, 150 nM, 100 nM ó 70 nM) en receptores sigma-2 que tienen una selectividad superior a aproximadamente 20 veces, 30 veces, 50 veces, 70 veces, o preferentemente superior a 100 veces para receptores sigma en comparación con otros receptores del CNS o diana que no son sigma, presentan unas buenas propiedades de tipo fármaco incluyendo penetrabilidad en el cerebro y buena estabilidad metabólica y/o plasmática, y que poseen el fenotipo terapéutico, presentarán eficacia conductual y se pueden usar para tratar una disfunción sináptica inducida por oligómeros de Abeta en un paciente que lo necesite.

[0406] En la Tabla 2 se muestra el fenotipo neuronal funcional para varios compuestos de isoindolina de acuerdo con la fórmula I y/o la fórmula II, de los cuales se predice que tendrán biodisponibilidad oral, con una caracterización de ensayo in vitro.

Fenotipo terapéutico

[0407] Diversos ligandos del sigma-2 se sitúan en tres fenotipos neuronales funcionales: antagonistas (bloquean la señalización de Abeta); agonistas (bloquean la señalización de Abeta con curva dosis-respuesta en forma de U y

toxicidad con altas dosis; e inactivos (ningún efecto en cultivos neuronales). Los ligandos conocidos del receptor sigma-1 de la técnica anterior se sitúan en dos categorías: antagonistas (bloquean la señalización de A beta) e inactivos (ningún efecto en cultivos neuronales). La mayoría de los compuestos de la técnica anterior padecen una baja selectividad por cuanto tienen una afinidad significativa a otros receptores, que no son sigma. Puede que varios compuestos de la técnica anterior no sean capaces de penetrar en la barrera hematoencefálica (BBB) y son sustratos probables para un metabolismo oxidativo, y, por lo tanto, no encajarían en el perfil terapéutico.

[0408] Aunque varios compuestos clínicos tienen el fenotipo funcional deseado, los mismos no cumplen el perfil terapéutico deseado. En el documento WO2013/029060, Tablas 11C y 11D, se muestran compuestos conocidos de la técnica anterior con el fenotipo neuronal funcional antagonista deseado, pero que no superan los criterios correspondientes al perfil terapéutico, o bien por ser no selectivos, o bien por no conseguir cruzar la BBB, o bien porque se predice de ellos que serán un sustrato oxidativo y tienen inestabilidad metabólica.

Ejemplo 14: toxicidad in vitro

[0409] Compuestos de prueba antagonistas del sigma-2, representativos, no inducen toxicidad neuronal o glial con una dosificación aguda o crónica in vitro. Los antagonistas del receptor sigma-2 eliminan o reducen cambios, inducidos por oligómeros de A beta, en el tráfico de membrana. No se produce ningún efecto significativo de los compuestos sobre el tráfico de membrana cuando se dosifican sin oligómeros. No existe toxicidad relativa al número de neuronas, al número de células gliales, al tamaño nuclear, a la morfología nuclear, a la longitud de las neuritas, a la morfología del citoesqueleto, cuando se someten a prueba con una concentración de hasta 10 veces la concentración EC₅₀ durante 3 días. Véase, por ejemplo, el documento WO2013/029060, Tabla 12.

[0410] La toxicidad in vitro para Compuestos de Prueba se somete a prueba en una serie de ensayos convencionales. Preferentemente, las pruebas de estudios de toxicidad in vitro revelan que no existe genotoxicidad a 10 µM (AMES, micronúcleo, citotoxicidad bacteriana); toxicidad HepG2 a 100 veces por encima de la afinidad en el receptor sigma-2, en la línea de células tumorales HepG2; inhibición de enzimas CYP 450 2D6, 3A4 y 2C19 a 10 µM; e inhibición del hERG. En la Tabla 2 se muestran resultados correspondientes a compuestos de prueba para la inhibición del hERG (IC₅₀, nM).

[0411] En algunas realizaciones, compuestos de isoindolina según la fórmula I ó la fórmula II, según se proporciona en la presente, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, presentan una inhibición mínima del hERG, con una IC₅₀ superior a 300 nM, superior a 500 nM, superior a 1.000 nM, superior a 3.000 nM, superior a 5.000 nM, superior a 10.000, o superior a 20.000 nM. En realizaciones particulares, compuestos de isoindolina según la fórmula I ó la fórmula II, según se proporciona en la presente, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, presentan una inhibición mínima del hERG, y presentan una IC₅₀ superior a 5.000 nM, superior a 10.000, o superior a 20.000 nM.

Ejemplo 15: separación y actividades de enantiómeros del compuesto II en el ensayo de tráfico de membrana.

[0412] En algunas realizaciones, la síntesis se lleva a cabo de forma asimétrica con el fin de producir un enantiómero puro o sustancialmente puro de uno de un análogo. En algunos casos, se resuelven compuestos quirales a partir de una mezcla racémica mediante cualquier técnica conocida en la materia.

[0413] En algunos casos, compuestos quirales se separan en enantiómeros (+) y (-) mediante cromatografía quiral. La mezcla racémica se puede aplicar a una columna quiral CHIRALPAK AD-H (tris(3,5-dimetilfenilcarbamat) de amilosa aplicado como recubrimiento sobre gel de sílice; 4,6X250 mm) mediante técnicas conocidas; por ejemplo, el documento WO2013/029060, Ejemplo 15. Tras la elución desde la columna, se determina la rotación específica para cada uno del enantiómero (+) y el enantiómero (-). Los enantiómeros resueltos se someten a prueba individualmente, por ejemplo, en el ensayo de tráfico de membrana.

Ejemplo 16. Eficacia conductual de compuestos disponibles oralmente - mejora de déficits de memoria en un modelo de ratones transgénicos con Alzheimer.

[0414] Como modelo TG de la AD se utilizan ratones transgénicos (Tg) machos hAPP Swe/Ldn. Ratones transgénicos que se tratan con vehículo, ó 10 ó 30 mg/kg/día de compuesto de prueba p.o., durante un periodo de tiempo específico, así como compañeros de camada no transgénicos tratados con vehículo se someten a un paradigma convencional de miedo condicionado. Ratones transgénicos (Tg) macho, hAPP Swe/Ldn, de 9 meses de edad, tratados con vehículo, que se tratan p. o. durante el mismo periodo de tiempo con vehículo presentaban déficits de memoria significativos con respecto a compañeros de camada no transgénicos tratados con vehículo en un condicionamiento de miedo contextual.

[0415] Cuando los animales se someten a prueba en relación con la memoria asociativa 24 horas después del entrenamiento, se usa un ANOVA de dos vías (genotipo y tiempo) con mediciones repetidas para detectar cualquier diferencia significativa en el tiempo de congelamiento total entre ratones tratados con vehículo no transgénicos y transgénicos. Se determinan las relaciones de cerebro/valor de valle plasmático y cerebro/valor de pico plasmático para

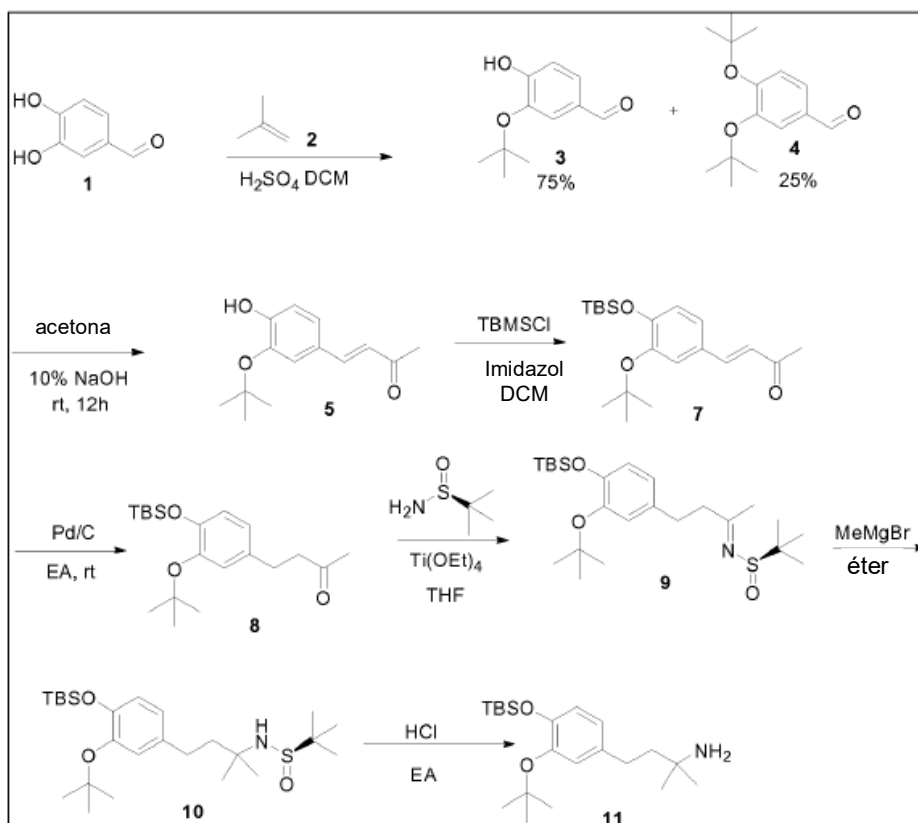
compuestos oralmente disponibles. Estudios posteriores pueden usarse para determinar la dosis mínima eficaz de un compuesto de prueba preferido.

Ejemplos de síntesis

[0416] Los compuestos proporcionados en la presente se pueden sintetizar a través de cualquier vía de síntesis; por ejemplo, véanse los documentos WO2013/029060, WO2013/029067.

Ejemplo 17: síntesis de intermedios de gem-dimetil amina.

[0417] El Ejemplo 17A ilustra la preparación de un intermedio de gem-dimetil amina ejemplificativo según se muestra en el Esquema 1.



Esquema 1. Preparación del intermedio ejemplificativo de gem-dimetil amina, 4-(3-(tert-butoxi)-4-((tert-butildimetilsilil)oxi)fenil)-2-metilbutan-2-amina.

[0418] El Esquema 1 ilustra un procedimiento para la preparación de un intermedio de gem-dimetil amina, compuesto **11**; 4-(3-(tert-butoxi)-4-((tert-butildimetilsilil)oxi)fenil)-2-metilbutan-2-amina.

[0419] Preparación del compuesto **3**; 3-(tert-butoxi)-4-hidroxibenzaldehído (Esquema 1): a una solución agitada de 3,4-dihidroxibenzaldehído **1** (2,0 g, 14,5 mmoles) en DCM (30 mL) se le adicionó H_2SO_4 con. (0,1 mL) e isobutileno con burbujeo durante 3 h. Se adicionó trietilamina (2 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h y se concentró a presión reducida para obtener un residuo, el cual se purificó por cromatografía de columna en gel de sílice (PE:EA = 5:1) para proporcionar el compuesto **3** (1,01 g, 35%).

[0420] Preparación del compuesto **5**, (E)-4-(3-(tert-butoxi)-4-hidroxifenil)but-3-en-2-ona (Esquema 1): A una solución agitada de **3** (0,8 g, 4,1 mmol) en acetona (10 mL) se le adicionó solución acuosa de NaOH 10% (0,5 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 12 h, y se vertió en agua con hielo, que se extrajo con acetato de etilo (3 x 20 mL). La fase acuosa se acidificó con HCl 1N hasta que se obtuvo un pH 6. La reacción se extrajo con EtOAc (3 x 30 mL), y las capas orgánicas se lavaron con salmuera, y agua, se secaron sobre sulfato de sodio, y se filtraron. El filtrado se concentró a presión reducida para obtener un residuo, el cual se purificó por cromatografía de columna en gel de sílice (PE:EA = 3:1) con el fin de proporcionar el compuesto **5** (0,5 g, 50%).

[0421] Preparación del compuesto **7**, (E)-4-(3-(tert-butoxi)-4-((tert-butildimetilsilil)oxi)fenil)but-3-en-2-ona (Esquema 1): a una solución agitada de **5** (0,22 g, 0,9 mmol) en DCM (40 mL) se le adicionó TBSCl (0,28 g, 1,8 mmol) e imidazol (0,14 g, 2 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 8 h, se concentró a presión reducida para obtener un

residuo, el cual se purificó por cromatografía de columna en gel de sílice PE:EA = 10:1) con el fin de proporcionar el compuesto **7** del título (0,22 g, 67%).

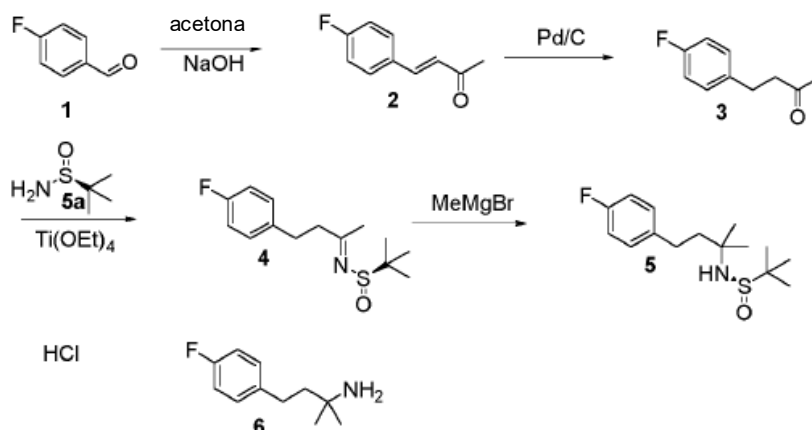
[0422] Preparación del compuesto **8**, 4-(3-(tert-butoxi)-4-((tertbutildimetilsilil)oxi)fenil)butan-2-ona (Esquema 1): a una solución agitada de **7** (0,22 g, 0,6 mmol) en EA (10 mL) se le adicionó Pd/C 10% (0,02 g). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 12 h, y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida para obtener un residuo, el cual se purificó por cromatografía de columna en gel de sílice (PE:EA = 10:1) con el fin de proporcionar el compuesto **8** el título (0,6 g, 0,4 mmol, 68%).

[0423] Preparación del compuesto **9**, (R,E)-N-(4-(3-(tert-butoxi)-4-((tertbutildimetilsilil)oxi)fenil)butan-2-iliden)-2-metilpropan-2-sulfinamida (Esquema 1): a una solución agitada de **8** (2,6 g, 7,4 mmol, 1 eq) en THF (30 mL) se le adicionó (R)-(+)-*t*-butilsulfinamida (1,0 g, 8,14 mmol, 1,1 eq) Ti(OEt)₄ (3,2 g, 14,8 mmol, 2,0 eq). La mezcla se agitó a 70 °C durante la noche. La reacción se templó (*quenched*) con agua con hielo y se filtró. El filtrado se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se concentró para obtener el producto bruto en **9** (2,7 g, 80%), el cual se usó directamente en la siguiente etapa.

[0424] Preparación del compuesto **10**, (R)-N-(4-(3-(tert-butoxi)-4-((tertbutildimetilsilil)oxi)fenil)-2-metil-butan-2-il)-2-metilpropan-2-sulfinamida (Esquema 1): a una solución agitada de **9** (2,7 g, 5,9 mmol, 1 eq) en éter (30 mL) a 0 °C se le adicionó bromuro de metilmagnesio (10 mL, 30 mmol, 5 eq). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. La reacción se templó con agua con hielo, y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se concentró a presión reducida para obtener un residuo, el cual se purificó por cromatografía de columna en gel de sílice (PE:EA = 10:1) con el fin de proporcionar el compuesto **10** (1,6 g, 57%).

[0425] Preparación del compuesto **11**; 4-(3-(tert-butoxi)-4-((tertbutildimetilsilil)oxi)fenil)-2-metilbutan-2-amina (Esquema 1): a una solución agitada de **10** (1,2 g, 2,55 mmol, 1 eq) en EA (30 mL) se le adicionó EA (HCl) (10 mL) a 0 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, y se concentró a presión reducida para obtener **11** (1,3 g, 100%) en forma de un aceite amarillo. Para preparar intermedios de gem-dimetil amina con vistas a su uso en la síntesis de isoindolinas de Fórmula I y/o II pueden utilizarse vías de síntesis análogas. El sustituyente *t*-butildimetilsilil oxi, y/o el sustituyente *tert*-butoxi se puede reemplazar con sustituyentes alternativos, o también pueden usarse grupos R1 adicionales para generar otros análogos.

[0426] El Ejemplo 17B ilustra la preparación general del intermedio de gem-dimetil amina según se muestra en el Esquema 3.



Esquema 3: Preparación general de gem-dimetilaminas

[0427] Preparación del compuesto **2**; (E)-4-(4-fluorofenil)but-3-en-2-ona, (Esquema 3): a una solución agitada de 1,4-fluorobenzaldehído, (100 g, 805,7 mmol, 1 eq) en acetona (1.000 mL) se le adicionó solución acuosa de NaOH 10% (100 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 12 h, y a continuación, se vertió en agua con hielo, que se extrajo con EtOAc (3x300 mL). La capa orgánica se lavó por medio de salmuera, agua, se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida para obtener un residuo, el cual se purificó por cromatografía de columna en gel de sílice (PE:EA = 10:1) con el fin de proporcionar el compuesto **2** del título; (E)-4-(4-fluorofenil)but-3-en-2-ona (110 g, 85%).

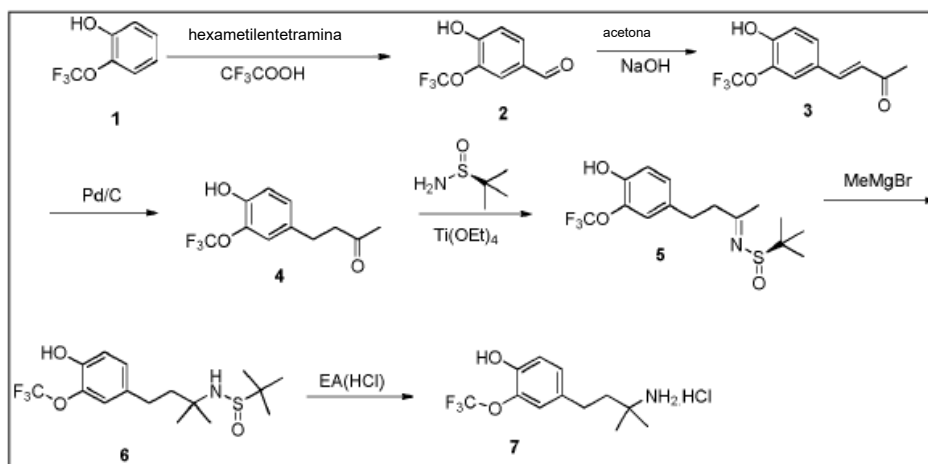
[0428] Preparación del compuesto **3**; 4-(4-fluorofenil)butan-2-ona (Esquema 3): A una solución agitada de **2** (50 g, 304,5 mmol) en MeOH (40 mL) se le adicionó Pd/C (10%, 5 g). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 h, y, a continuación, se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida para obtener el compuesto **3**; 4-(4-fluorofenil)butan-2-ona (50 g, 300,9 mmol, 99%), el cual se usó directamente en la siguiente etapa.

[0429] Preparación del compuesto 4; (R,E)-N-(4-(4-fluorofenil)butan-2-iliden)-2-metilpropan-2-sulfonamida (Esquema 3): a una solución agitada de **3** (50 g, 300,9 mmol, 1 eq) en THF (30 mL) se le adicionó (R)-(+)-*t*-butilisulfonamida (40,4 g, 331 mmol, 1,1 eq) y Ti(OEt)₄ (136,8 g, 600,2 mmol, 2 eq). La mezcla se agitó a 70°C durante la noche y se templó con agua con hielo, se filtró, y se lavó con EA. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se concentró para obtener el producto bruto **4** (65 g, 80%), el cual se usó directamente en la siguiente etapa.

[0430] Preparación del compuesto 5; (R)-N-(4-(4-fluorofenil)-2-metilbutan-2-il)-2-metilpropan-2-sulfonamida (Esquema 3): a una solución agitada de **4** (30 g, 111,4 mmol, 1,0 eq) en éter (30 mL) se le adicionó MeMgBr (111 mL, 333 mmol, 3,0 eq) a 0 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. La reacción se templó con agua con hielo, se extrajo con EA. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se concentró a presión reducida para obtener un residuo, el cual se purificó por cromatografía de columna en gel de sílice (PE:EA = 10:1) para proporcionar el compuesto en **5** del título (28,6 g, 90%).

[0431] Preparación del compuesto 6; 4-(4-fluorofenil)-2-metilbutan-2-amina (Esquema 3): a una solución agitada de **5** (28,6 g, 100 mmol, 1 eq) en EA (150 mL) se le adicionó EA (HCl) (200 mL) a 0 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, se concentró a presión reducida para obtener **6** (18 g, 100%) en forma de un aceite amarillo.

[0432] El Ejemplo 17C ilustra la preparación general del intermedio de gem-dimetil amina, clorhidrato de 4-(3-amino-3-metilbutil)-2-(trifluorometoxi)fenol según se muestra en el Esquema 7.



Esquema 7: Preparación del intermedio de gem-dimetil amina, clorhidrato de 4-(3-amino-3-metilbutil)-2-(trifluorometoxi)fenol.

[0433] Preparación del Compuesto 2 (Esquema 7): a una solución agitada de 2-trifluorometoxifenol **1** (40,0 g, 0,224 mol, 1 eq) en ácido trifluoroacético (400 mL) se le adicionó hexametilentetramina (188,7 g, 1,35 mol, 6 eq). La mezcla se agitó a 70 °C durante 12 h. Después de concentrarse al vacío, la mezcla de la reacción se diluyó con HCl 2N, se extrajo con EA (3x 400 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron al vacío para suministrar un aceite naranja. El producto bruto se sometió a cromatografía de columna PE:EA = 5:1 (con el fin de proporcionar el compuesto **2** del título (30,0 g, 65%).

[0434] Preparación del compuesto 3 (Esquema 7): a una solución agitada de 4-Hidroxi-3-trifluorometoxi-benzaldehído (30,0 g, 145,5 mmol, 1,0 eq) en acetona (300 mL) se le adicionó solución acuosa de NaOH 10% (150 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 12 h y se vertió en agua con hielo. La reacción se extrajo con EtOAc (3 x 20 mL). La fase acuosa se acidificó con HCl 1 N hasta que se obtuvo un pH 6. La reacción se extrajo con EtOAc (3 x 100 mL). La capa orgánica se lavó con salmuera, y con agua, y se secó sobre sulfato de sodio, y se filtró. El filtrado se centró a presión reducida para obtener un residuo, el cual se purificó por cromatografía de columna en gel de sílice (PE : EA = 3:1) con el fin de proporcionar el compuesto **3** del título (30,1 g, 84%).

[0435] Preparación del compuesto 4 (Esquema 7): a una solución de 4-(4-hidroxi-3-trifluorometoxi-fenil)-but-3-en-2-ona (12 g, 47,5 mmol) en metanol (100 mL) se le adicionó Pd/C 10% (1 g). La solución resultante se agitó bajo atmósfera de H₂ durante 8 h. La solución se filtró a través de un lecho de Celite, y se concentró para obtener 4-(4-hidroxi-3-trifluorometoxi-fenil)-butan-2-ona bruta (11 g, 94%).

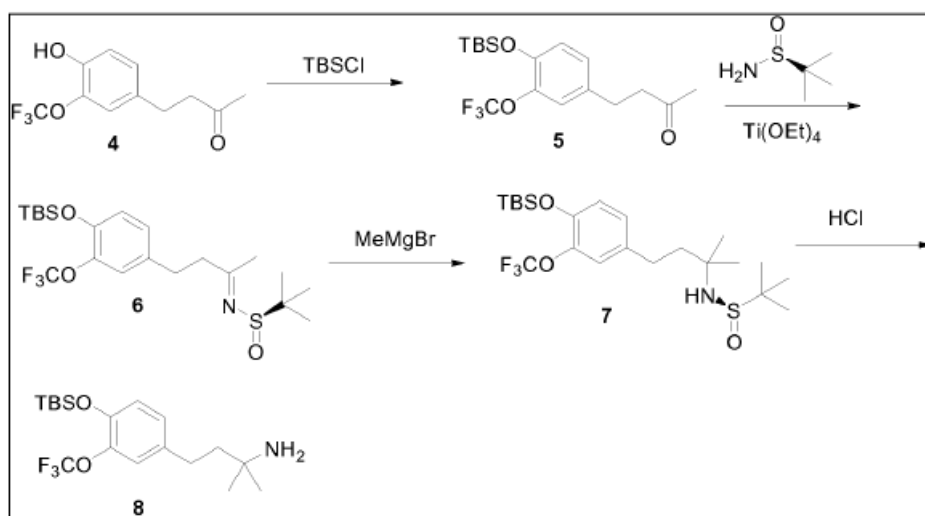
[0436] Preparación del compuesto 5 (Esquema 7): a una solución de 4-(4-hidroxi-3-trifluorometoxi-fenil)-butan-2-ona (11 g, 44,3 mmol) en THF (100 mL) se le adicionó (R)-(+)-*t*-butilisulfonamida (7,0 g, 58 mmol) y Ti(OEt)₄ (22,0 g, 96,7 mmol). La solución resultante se agitó durante la noche. La reacción se templó con agua con hielo, y se filtró. El filtrado se

extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 , y se concentró para obtener el producto **5** bruto (11,2 g, 78%), el cual se usó para la siguiente etapa.

[0437] Preparación del compuesto **6** (Esquema 7): a una solución agitada de **5** (23 g, 49,4 mmol, 1 eq) en éter (120 mL) se le adicionó MeMgBr (82 mL, 247 mmol, 5 eq) a 0 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. La reacción se templó con agua con hielo, y se extrajo con EA. La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 , se concentró a presión reducida para obtener un residuo, el cual se purificó por cromatografía de columna en gel de sílice (PE:EA =10:1) con el fin de proporcionar el compuesto **6** del título (16,7 g, 70%).

[0438] Preparación del compuesto **7** (Esquema 7): a una solución agitada de **6** (1,0 g, 2,08 mmol, 1 eq) en acetato de etilo (5 mL) se le adicionó HCl saturado en acetato (5 mL) a 0 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto **7** (0,85 g, 100%) en forma de un aceite amarillo.

[0439] El Ejemplo 17D ilustra la preparación general del intermedio del gem-dimetil-amina, 4-(4-((tert-butildimetilsilil)oxi)-3-(trifluorometoxi)fenil)-2-metilbutan-2-amina según se muestra en el Esquema 8.



Esquema 8: Preparación de la gem-dimetilamina 4-(4-((tert-butildimetilsilil)oxi)-3-(trifluorometoxi)fenil)-2-metilbutan-2-amina.

Preparación del compuesto **5** (Esquema 8):

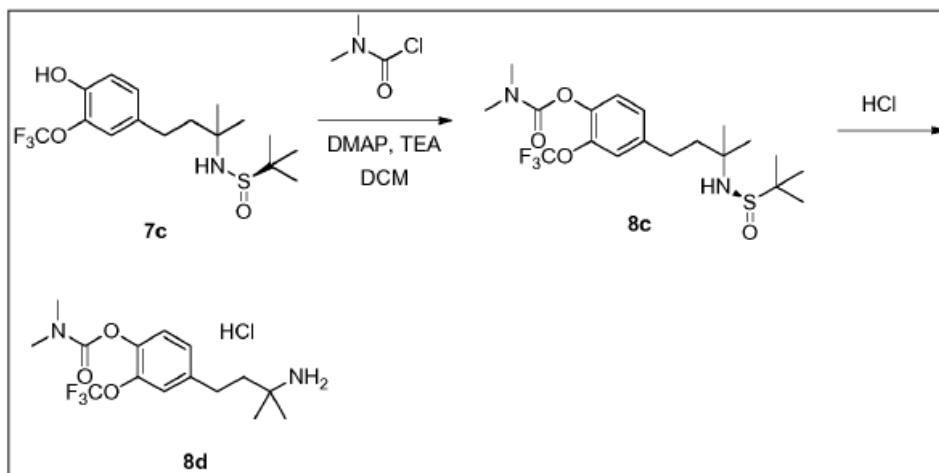
[0440] A una solución agitada de **4** (18 g, 72,5 mmol, 1 eq) en DCM (200 mL) se le adicionó TBSCl (16,4 g, 108,8 mmol, 1,5 eq) e imidazol (9,9 g, 145 mmol, 2,0 eq). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 8 h, y se concentró bajo presión reducida para obtener un residuo, el cual se purificó por cromatografía de columna en gel de sílice (PE:EA = 10:1) con el fin de proporcionar el compuesto **5** del título (19 g, 73%).

[0441] Preparación del compuesto **6** (Esquema 8): a una solución agitada de **5** (1,2 g, 3,3 mmol, 1 eq) en THF (20 mL) se le adicionó (R)-(+)-t-butilsulfonamida (0,4 g, 3,6 mmol, 1,1 eq) y $\text{Ti}(\text{OEt})_4$ (1,5 g, 6,6 mmol, 2 eq). La mezcla se agitó a 70°C durante la noche. La reacción se templó con agua con hielo, se filtró, y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 , se concentró para obtener el producto **6** bruto (1,6 g, 97%), el cual se usó directamente para la siguiente etapa.

[0442] Preparación del compuesto **7** (Esquema 8): a una solución agitada de **6** (1,6 g, 3,4 mmol, 1,0 eq) en éter (30 mL) a 0 °C se le adicionó MeMgBr (5 mL, 17 mmol, 5,0 eq). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. La reacción se templó con agua con hielo, y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 , se concentró a presión reducida para obtener un residuo, el cual se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice (PE:EA = 10:1) con el fin de proporcionar el compuesto **7** del título (0,6 g, 1,2 mmol, 37%).

[0443] Preparación del compuesto **8** (Esquema 8): a una solución agitada de **7** (3,0 g, 6,2 mmol, 1 eq) en acetato de etilo (30 mL) se le adicionó HCl saturado en acetato (10 mL) a 0 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, y se concentró bajo presión reducida para obtener el compuesto **8** 4-(4-((tert-butildimetilsilil)oxi)-3-(trifluorometoxi)fenil)-2-metilbutan-2-amina (2,6 g, 100%) en forma de un aceite amarillo.

[0444] El Ejemplo 17E ilustra la preparación general del intermedio de gem-dimetil amina, clorhidrato de 4-(3-amino-3-metilbutil)2-(trifluorometoxi)fenil dimetilcarbamato, según se muestra en el Esquema 11.



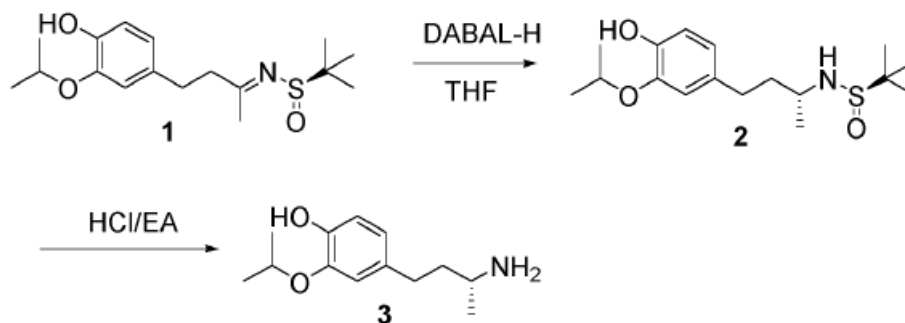
5 **Esquema 11: Preparación de la gem-dimetilamina, clorhidrato de 4-(3-amino-3-metilbutil)-2-(trifluorometoxi)fenil dimetilcarbamato.**

10 **[0445]** Preparación del compuesto 8c (Esquema 11): A una solución de **7c** (5,0 g, 13,6 mmol, 1,0 eq) y cloruro de dimetilcarbamilo (3,0 g, 27,8 mmol, 2,2 eq) en DCM (100 mL) se le adicionaron DMAP (0,25 g, 5% molar), y TEA (2,9 g, 22,6 mmol, 2,0 eq). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 12 h. Después de concentrarse al vacío, el producto bruto se sometió a cromatografía de columna (20%-30% EtOAc/hexanos) para proporcionar el producto **8c** (4,8 g, 48%).

15 **[0446]** Preparación del compuesto 8d; clorhidrato de 4-(3-amino-3-metilbutil)-2-(trifluorometoxi)fenil dimetilcarbamato (Esquema 11): a una solución agitada de **8c** (4,8 g, 11,0 mmol, 1 eq) en EA (30 mL) a 0 °C se le adicionó EA (HCl) (30 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, se concentró a presión reducida para obtener **8d** (4,1 g, 100%) en forma de un aceite amarillo.

20 **Ejemplo 18: preparación general de intermedios de amina quiral.**

[0447] El Ejemplo 18A ilustra una preparación ejemplificativa de un intermedio de amina quiral (R)-4-(3-aminobutil)-2-isopropoxifenol según se muestra en el Esquema 2.



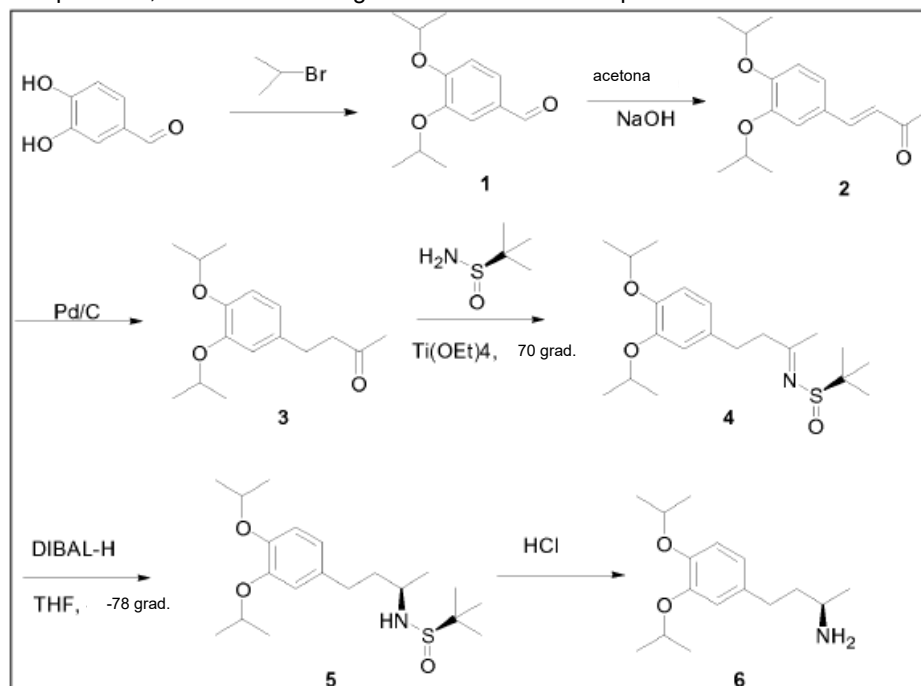
25 **Esquema 2: Una preparación general del intermedio de amina quiral (R)-4-(3-aminobutil)-2-isopropoxifenol.**

30 **[0448]** Preparación del compuesto 2; (R)-N-((R)-4-(4-hidroxi-3-isopropoxifenil)butan-2-il)-2-metilpropan-2-sulfonamida (Esquema 2): a una solución agitada de **1**; (R,E)-N-(4-(4-hidroxi-3-isopropoxifenil)butan-2-iliden)-2-metilpropan-2-sulfonamida (20 g, 61,4 mmol, 1 eq) en THF (200 mL) se le adicionó DABAL-H (180 mL, 180 mmoles, 3 eq) a -78 °C. La mezcla se agitó a -78 °C durante 4 h, a continuación se filtró con agua con hielo (20 mL), se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida para obtener un residuo, el cual se purificó por cromatografía de columna en gel de sílice (PE:EA = 5:1) para proporcionar el compuesto **2** del título (17,1 g, 52,2 mmol, 85%).

35 **[0449]** Preparación del compuesto 3; (R)-4-(3-aminobutil)-2-isopropoxifenol (Esquema 2): a una solución agitada de **2** (17,1 g, 52,2 mmoles, 1 eq) en EA (50 mL) se le adicionó EA (HCl) (50 mL, 100 mmoles, 2 eq, 2 N) a 0 °C. La mezcla se

agitó a temperatura ambiente durante 2 h y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto **3** (11,6 g, 100%) en forma de un aceite amarillo.

[0450] El Ejemplo 18B ilustra la preparación del intermedio de amina quiral (R)-4-(3,4-diisopropoxifenil)butan-2-amina a partir del material de partida 3,4-benzaldehído según se muestra en el Esquema 4.



Esquema 4: Preparación general de la amina quiral (R)-4-(3,4-diisopropoxifenil)butan-2-amina.

[0451] Preparación del compuesto 1 (Esquema 4): una mezcla de 3,4-dihidroxi-benzaldehído **1a** (30,0 g, 65,7 mmoles, 1 eq) y 2-bromo-propano (18,4 g, 131,4 mmoles, 2 eq) y NaH (5,4 g, 60% en aceite, 130 mmoles) en DMF (300 mL) se agitó a 70 °C durante 12 h. Después de concentrarse al vacío, la mezcla se diluyó con HCl 2 N, se extrajo con acetato de etilo (3 x 100 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron al vacío para suministrar un aceite naranja. El producto bruto se sometió a cromatografía de columna (20%-30% EtOAc/hexanos) para proporcionar el producto **1**; 3,4-diisopropoxibenzaldehído (10,1 g, 30%).

[0452] Preparación del compuesto 2 (Esquema 4): el Compuesto **1** (20 g, 90 mmoles) se disolvió en acetona (80 mL). A continuación, en el recipiente se adicionaron etanol (8 mL), NaOH 10% (80 mL) y agua (200 mL). La solución resultante se agitó durante 8 h, y se extrajo con EA (3 x 100 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron al vacío para suministrar un aceite naranja. El producto bruto se sometió a cromatografía de columna para obtener el compuesto **2**; (E)-4-(3,4-diisopropoxifenil)but-3-en-2-ona (12 g, 98%).

[0453] Preparación del compuesto 3 (Esquema 4): A una solución agitada del compuesto **2** (3,0 g, 114 mmoles, 1 eq) en MeOH (300 mL) se le adicionó Pd/C 10% (3 g). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 12 h, y se filtró a través de un lecho de Celite. El filtrado se concentró a presión reducida para obtener un residuo, el cual se purificó por cromatografía de columna en gel de sílice (PE:EA = 5:1) con el fin de proporcionar el compuesto **3** del título; 4-(3,4-diisopropoxifenil)butan-2-ona (11,4 g, 38%).

[0454] Preparación del compuesto 4 (Esquema 4): a una solución agitada del compuesto **3** (11,4 g, 43,1 mmoles, 1,0 eq) en THF (100 mL) se le adicionaron (R)-(+)-t-butilsulfonamida (5,7 g, 47,4 mmol, 1,1 eq) y Ti(OEt)₄ (19,7 g, 86,2 mmol, 2,0 eq). La mezcla se agitó a 70 °C durante la noche. La reacción se templó con agua con hielo, se filtró y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se concentró para obtener el producto bruto **4** (15 g, 95%), el cual se usó directamente en la siguiente etapa.

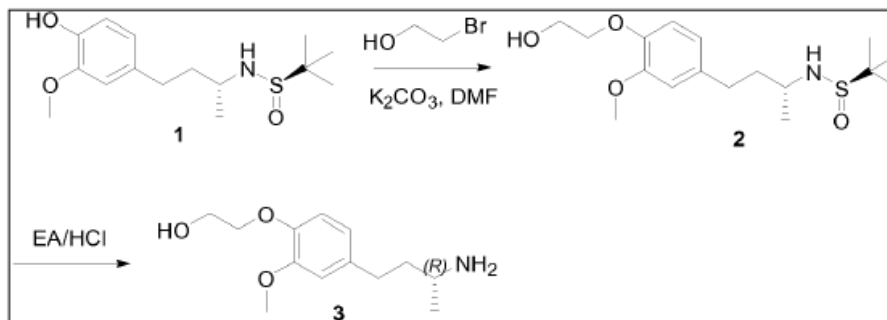
[0455] Preparación del compuesto 5 (Esquema 4): a una solución agitada de **4** (6,3 g, 17,1 mmol, 1 eq) en THF (50 mL) a -78 °C se le adicionó DIBAL-H (34 mL, 34 mmoles, 2,0 eq). La mezcla se agitó a -78 °C durante 4 h, y se templó con agua con hielo (20 mL), y se filtró, el filtrado se concentró a presión reducida para obtener un residuo, el cual se purificó por cromatografía de columna en gel de sílice (PE:EA = 5:1) con el fin de proporcionar el compuesto **5** del título; (R)-N-(R)-4-(3,4-diisopropoxifenil)butan-2-il)-2-metilpropan-2-sulfonamida (2,5 g, 40%).

[0456] Preparación del compuesto 6 (Esquema 4): a una solución agitada de **5** (2,5 g, 6,8 mmoles, 1,0 eq) en EA (30 mL) se le adicionó HCl saturado en acetato de etilo (10 mL) a 0°C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, y se concentró bajo presión reducida para obtener el compuesto **6**; (R)-4-(3,4-diisopropoxifenil)butan-2-amina (2,1 g, 100%) en forma de un aceite amarillo.

[0457] El Ejemplo 18C ilustra la preparación de un intermedio de amina quiral, (R)-2-(4-(3-aminobutil)-2-metoxifenoxi)etan-1-ol según se muestra en el Esquema 5.

Preparación general de aminas quirales

[0458]

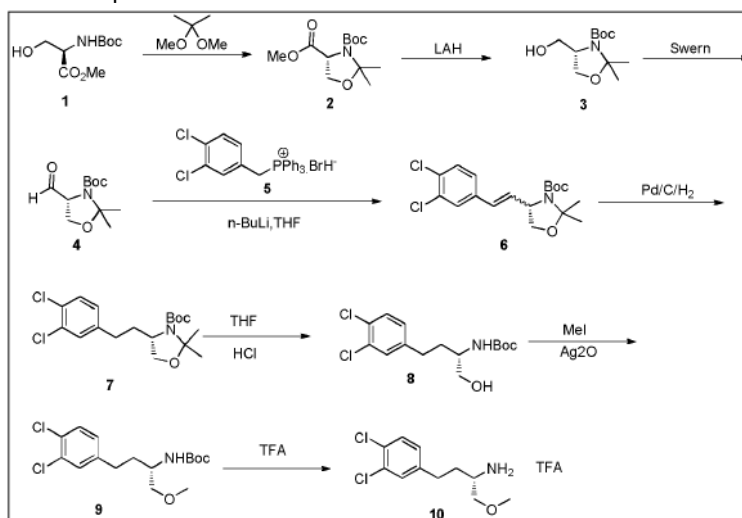


Esquema 5: Preparación del intermedio de amina quiral, (R)-2-(4-(3-aminobutil)-2-metoxifenoxi)etan-1-ol.

[0459] Preparación del compuesto 2; (R)-N-((R)-4-(4-(2-hidroxietoxi)-3-metoxifenil)butan-2-il)-2-metilpropan-2-sulfonamida (Esquema 5): a una solución agitada del compuesto 1; (R)-N-((R)-4-(4-hidroxi-3-metoxifenil)butan-2-il)-2-metilpropan-2-sulfonamida (4,3 g, 14,4 mmoles, 1,0 eq) en DMF (50 mL) se le adicionaron K₂CO₃ (4,0 g, 28,8 mmoles, 2,0 eq) y 2-bromoetanol (1,5 g, 13,6 mmoles, 1,2 eq). La mezcla se agitó a 80 °C durante 8 h, y se templó con agua con hielo (100 mL), y se extrajo con EA (3 x 50 mL). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró al vacío para suministrar un aceite naranja. El producto bruto se purificó por cromatografía de columna en gel de sílice (PE:EA = 5:1) para proporcionar el compuesto **2** del título (3,1 g, 63%).

[0460] Preparación del compuesto 3; (R)-2-(4-(3-aminobutil)-2-metoxifenoxi)etan-1-ol (Esquema 5): a una solución agitada de **2** (3,1 g, 9,0 mmoles, 1,0 eq) en Na (30 mL) se le adicionó HCl-Na (10 mL) a 0 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h y se concentró a presión reducida para proporcionar **3** (2,1 g, 100%) en forma de un aceite amarillo.

[0461] El Ejemplo 18D ilustra la preparación de un intermedio de amina quiral (S)-4-(3,4-diclorofenil)-1-metoxibutan-2-amina, según se muestra en el Esquema 6.



Esquema 6: Preparación del intermedio de amina quiral, (S)-4-(3,4-diclorofenil)-1-metoxibutan-2-amina.

[0462] Preparación del compuesto 2; (R)-2,2-dimetiloxazolidin-3,4-dicarboxilato de 3-(tert-butil) 4-metilo (Esquema 6): a una solución del compuesto 1; metil N-(tert-butoxicarbonil)-D-serina (13 g, 59,2 mmoles) en DCM (150 mL) a temperatura ambiente se le adicionaron ácido toluen-4-sulfónico monohidrato (2,0 g, 10,3 mmoles) y 2,2-dimetoxipropano (18,5 g, 177,6 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 48 h, y se concentró para

obtener un residuo, el cual se purificó por cromatografía de columna *flash* (PE:EA=4:1) para proporcionar el compuesto **4** (13 g, 84%) en forma de un aceite amarillo.

[0463] Preparación del compuesto **3** (Esquema 6): Una mezcla de LiAlH_4 (2,85 g, 75 mmol) en THF (200 mL) a 0 °C bajo N_2 se agitó durante 20 minutos. A la mezcla a 0°C se le adicionó gota a gota el compuesto **2** (13,0 g, 50,1 mmoles). La mezcla se agitó durante 30 minutos, y se templó con $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, y se filtró. El filtrado se concentró para obtener un residuo, el cual se purificó por FCC (PE:EA=4:1) con el fin de obtener el compuesto **3** (10,3 g, 89%) en forma de un aceite amarillo.

[0464] Preparación del compuesto **4** (Esquema 6): A una solución preenfriada de cloruro de oxazolilo (7,6 g, 60,1 mmoles) en cloruro de metileno (200 mL) a -78°C se le adicionó DMSO (9,3 g, 120,21 mmoles) en cloruro de metileno (20 mL). La mezcla se agitó durante 30 minutos. A la mezcla a -78°C se le adicionó el compuesto **3** (10,3 g, 44,5 mmoles) en cloruro de metileno (30 mL). La mezcla de la reacción se agitó a -78 °C durante 2 h, momento en el cual se adicionó trietilamina (18,0 g, 178,13). La solución resultante se calentó a 0 °C, se templó con salmuera (30 mL), y se extrajo con dietil éter (2 x 300 mL). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró, y se concentró para obtener el compuesto **4** (9,0 g, 85%) en forma de un aceite.

[0465] Preparación del compuesto **6** (Esquema 6): a una solución del compuesto **5** (285 mg, 0,56 mmoles) en THF (15 mL) bajo N_2 a -78 °C se le adicionó N-BuLi (0,3 mL, 2,5 M). Después de 10 minutos, la mezcla de la reacción se calentó a -40 °C hasta que el precipitado desapareció. La mezcla de reacción se enfrió a -78 °C, y se adicionó gota a gota, a -78 °C, el compuesto **4** (130 mg, 0,56 mmoles) en THF (5 mL). La solución resultante se calentó a temperatura ambiente, y se agitó durante la noche antes de un templado con metanol (2 mL). Después de agitarla durante 30 minutos, la mezcla se concentró para obtener un residuo, el cual se purificó por cromatografía de columna *flash* (PE:EA=4:1) para proporcionar el compuesto **6** (200 mg, 90%) en forma de un aceite amarillo.

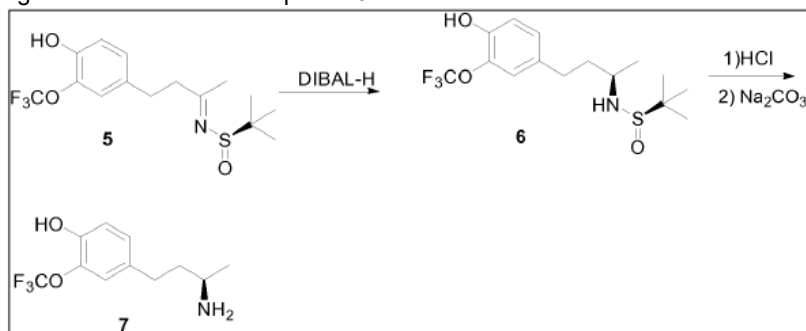
[0466] Preparación del compuesto **7** (Esquema 6): a una solución del compuesto **6** (2,6 g, 6,98 mmoles) en metanol (50 mL) se adicionó Pd/C (2,0 g) a temperatura ambiente bajo un globo de H_2 . La mezcla se agitó durante 12 h, se filtró, y se concentró para obtener un residuo, el cual se purificó por FCC (PE) para obtener el compuesto **7** (2,0 g, 77%) en forma de un aceite amarillo.

[0467] Preparación del compuesto **8** (Esquema 6): a una solución del compuesto **7** (500 mg, 1,34 mmoles) en THF (20 mL) se le adicionó HCl 0,5 M (1 mL) a temperatura ambiente. La reacción se agitó durante 12 h, se secó sobre Mg_2SO_4 y se filtró. El filtrado se concentró para obtener un residuo, el cual se purificó por FCC (PE) para obtener **7** (400 mg, 90%) en forma de un aceite amarillo.

[0468] Preparación del compuesto **9** (Esquema 6): a una solución del compuesto **8** (140 mg, 0,42 mmol) en acetonitrilo (10 mL) se le adicionó Ag_2O (200 mg, 0,87 mmol), seguido por yoduro de metilo (0,15 mL, 2,4 mmoles). La mezcla se agitó durante 24 h, y se filtró a través de un lecho de Celite. El filtrado se concentró para obtener un residuo, el cual se purificó por HPLC Preparativa para obtener el compuesto **9** (70 mg, 48%) en forma de un aceite amarillo.

[0469] Preparación del compuesto **10** (Esquema 6): a una solución del compuesto **9** (70 mg, 0,20 mmol) en DCM (2 mL) se le adicionó TFA (1 mL). La mezcla se agitó durante 24 h, y se concentró para obtener el compuesto **10**; (S)-4-(3,4-dichlorofenil)-1-metoxibutan-2-amina (50 mg, 100%) en forma de un aceite.

[0470] El Ejemplo 18E ilustra la preparación de un intermedio de amina quiral, (R)-4-(3-aminobutil)-2-(trifluorometoxi)fenol según se muestra en el Esquema 9.



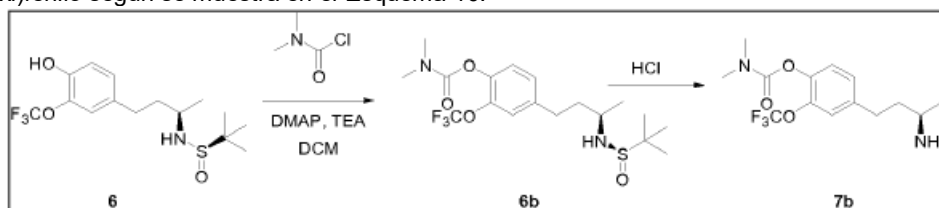
Esquema 9: Preparación de la amina quiral (R)-4-(3-aminobutil)-2-(trifluorometoxi)fenol.

[0471] Preparación del compuesto **6** (Esquema 9): El compuesto **5** (11 g, 31,3 mmoles) se disolvió en THF (100 mL) y se enfrió a -78 °C. A continuación, al recipiente se le adicionó DIBAL-H (60 mL, 1,5 M en THF, 90 mmoles), y la solución resultante se agitó durante 3 h. El análisis de la mezcla de reacción por TLC mostró un consumo completo de la imina de partida para proporcionar el compuesto de sulfonamida **5**. A continuación, la solución se templó con agua y

se extrajo con EA (3 x 500 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en Na₂SO₄ y se concentraron al vacío para suministrar un aceite naranja. El producto bruto se sometió a cromatografía de columna (50%-75% EtOAc/hexanos) para obtener el producto en **6** (6 g, 55%).

[0472] Preparación del compuesto 7; (R)-4-(3-aminobutil)-2-(trifluorometoxi)fenol (Esquema 9): el Compuesto **6** (7 g, 15 mmoles) se disolvió en EA (20 mL). A continuación, al recipiente se le adicionó EA-HCl (20 mL, 1,5 M, 30 mmoles), y la solución resultante se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. La solución se extrajo con H₂O (50 mL 3 veces). La capa acuosa combinada, se ajustó a un pH de 10 con Na₂CO₃ saturado, se extrajo con Na (50 mL 3 veces), se secó con Na₂SO₄ y se concentró al vacío para obtener el producto en **7** (5 g, 95%).

[0473] El Ejemplo 18F ilustra la preparación de un intermedio de amina quiral dimetilcarbamato de (R)-4-(3-aminobutil)-2-(trifluorometoxi)fenilo según se muestra en el Esquema 10.

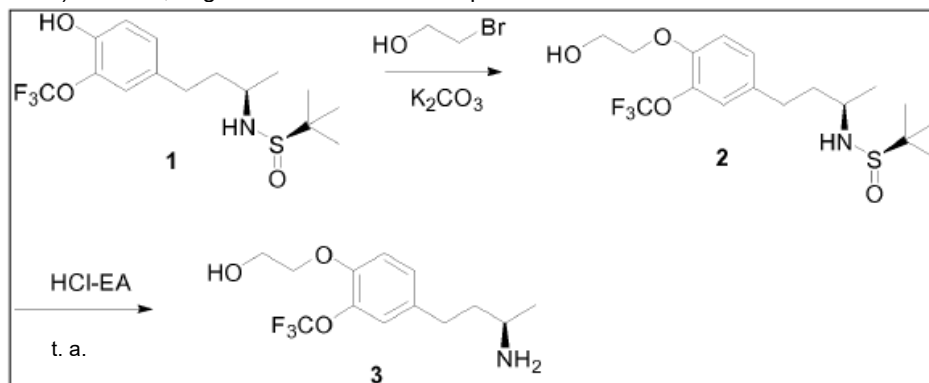


Esquema 10: Preparación de la amina quiral, dimetilcarbamato de (R)-4-(3-aminobutil)-2-(trifluorometoxi)fenilo.

[0474] Preparación del compuesto 6b (Esquema 10): A una solución agitada de **6** (4 g, 11,3 mmoles, 1,0 eq) en DCM (50 mL) se le adicionó DMAP (0,2 g, 5% molar), TEA (2,3 g, 22,6 mmoles, 2,0 eq) y cloruro de dimetilcarbamilo **5** (1,5 g, 13,6 mmoles, 1,2 eq). La mezcla se agitó a 40 °C durante 4 h, y se templó con agua con hielo (20 mL). La mezcla se extrajo con DCM (3 x 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron al vacío para suministrar un aceite naranja. El producto bruto se purificó por cromatografía de columna en gel de sílice (PE:EA=5:1) para proporcionar el compuesto **6b** del título (2,8 g, 58%).

[0475] Preparación del compuesto 7b (Esquema 10): A una solución agitada de **6b** (3 g, 7,1 mmoles, 1 eq) en Na (30 mL) a 0 °C se le adicionó EA (HCl) (10 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, y se concentró a presión reducida para obtener **7b** (1,8 g, 100%) en forma de un aceite amarillo.

[0476] El Ejemplo 18G ilustra la preparación de un intermedio de amina quiral, (R)-2-(4-(3-aminobutil)-2-(trifluorometoxi)fenoxi)etan-1-ol, según se muestra en el Esquema 12.



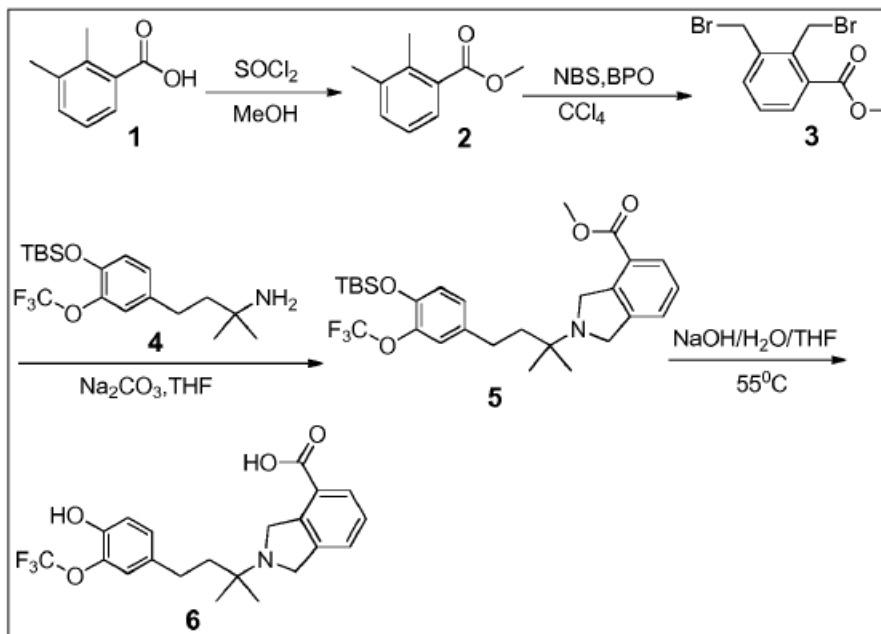
Esquema 12: Preparación de la amina quiral, (R)-2-(4-(3-aminobutil)-2-(trifluorometoxi)fenoxi)etan-1-ol.

[0477] Preparación del compuesto 2 (Esquema 12): A una solución agitada de **1** (0,7 g, 2 mmoles, 1,0 eq) en DMF (10 mL) se le adicionaron K₂CO₃ (0,55 g, 4 mmoles, 2,0 eq) y 2-bromoetanol (0,3 g, 2,4 mmoles, 1,2 eq). La mezcla se agitó a 80 °C durante 8 h, a continuación se templó con agua con hielo (30 mL), y se extrajo con EA (20 mL 3 veces). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó con Na₂SO₄ y se concentró al vacío para suministrar un aceite naranja. El producto bruto se purificó por cromatografía de columna en gel de sílice (PE:EA =5:1) para proporcionar el compuesto **2** del título (0,66 g, 83%).

[0478] Preparación del compuesto 3 (Esquema 12): A una solución agitada de **2** (0,9 g, 2,3 mmoles, 1 eq) en EA (30 mL) se le adicionó EA (HCl) (10 mL) a 0°C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, y se concentró a presión reducida para obtener **3** (0,75 g, 100%) en forma de un aceite amarillo.

Ejemplo 19: preparación general de isoindolinas a partir de intermedios de amina quiral o intermedios de gem-dimetil amina.

[0479] El Ejemplo 19A ilustra la preparación del compuesto de isoindolina 56, ácido 2-(4-(4-hidroxi-3-(trifluorometoxi)fenil)-2-metilbutan-2-il)isoindolin-4-carboxílico, a partir del intermedio de gem-dimetil amina según se muestra en el Esquema 13.



Esquema 13: Preparación de la isoindolina ácido 2-(4-(4-hidroxi-3-(trifluorometoxi)fenil)-2-metilbutan-2-il)isoindolin-4-carboxílico.

(Ejemplo 56).

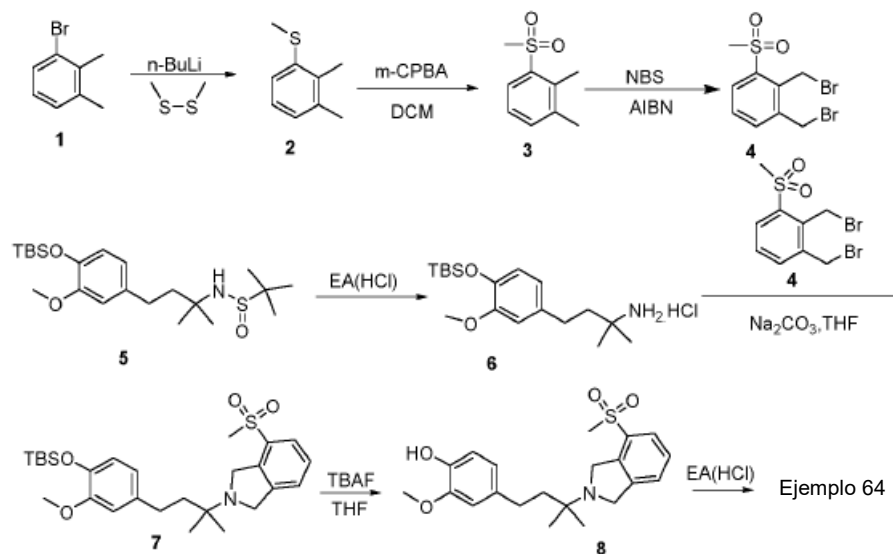
[0480] Preparación del compuesto 2 (Esquema 13): a una solución de **1**; ácido 2,3-dimetilbenzoico (2,0 g, 13,3 mmoles, 1,0 eq) en MeOH (30 mL) se le adicionó cloruro de tionilo (1,5 mL) y la misma se agitó a reflujo durante 3 h. La mezcla se concentró, se extrajo con EA (30 mL). Las capas orgánicas se lavaron con agua (2 x 30 mL), se secaron sobre Na₂SO₄, y se concentraron para proporcionar el producto deseado **2** sin purificación adicional (2,1 g, 98%).

[0481] Preparación del compuesto 3 (Esquema 13): a una solución de **2** (2,1 g, 13,3 mmoles, 1,0 eq) en CCl₄ (30 mL) se le adicionaron NBS (4,7 g, 26,6 mmoles, 2,0 eq) y BPO (0,2 g). La mezcla se calentó a reflujo durante 4 h. La reacción se diluyó con DCM (30 mL), se lavó con agua (2 x 30 mL), se secó sobre Na₂SO₄, y se concentró para proporcionar un producto bruto, el cual se purificó por cromatografía de columna con el fin de proporcionar el compuesto **3**; 2,3-bis(bromometil)benzoato de metilo (4,0 g, 94%).

[0482] Preparación del compuesto 5 (Esquema 13): a una solución de **3** (0,3 g, 0,93 mmoles, 1,0 eq) en THF (10 mL) se le adicionó Na₂CO₃ (0,2 g, 1,9 mmoles, 2,0 eq). La mezcla se agitó a reflujo durante 4 h. La mezcla resultante se diluyó con EA, se lavó con salmuera, y se concentró para obtener el producto bruto **5** sin purificación adicional (300 mg, 82%).

[0483] Preparación del compuesto 6 (Esquema 13): a una solución de **5** (0,3 g, 0,56 mmoles, 1,0 eq) en THF (5 mL) se le adicionó NaOH 10 N (5 mL). La mezcla se agitó a 55 °C durante 4 h. La mezcla resultante se concentró y se ajustó a un pH 5 con HCl 6 N. La mezcla se extrajo con EA. La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio, y se concentró para proporcionar un residuo, el cual se purificó por HPLC preparativa para proporcionar el producto deseado, ácido 2-(4-(4-hidroxi-3-(trifluorometoxi)fenil)-2-metilbutan-2-il)isoindolin-4-carboxílico (**Compuesto de Ejemplo 56**) en forma de un sólido blanco (86 mg, 37%). ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 8,04 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 7,63 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 7,54 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 7,14 (s, 1H), 7,10 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 6,90 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 5,10-4,70 (m, 4H), 2,73-2,69 (m, 2H), 2,10-2,06 (m, 2H), 1,56 (s, 6H); m/z (ESI+) (M+H)⁺ = 410,15. LC-MS: 410,1 (M+1)⁺.

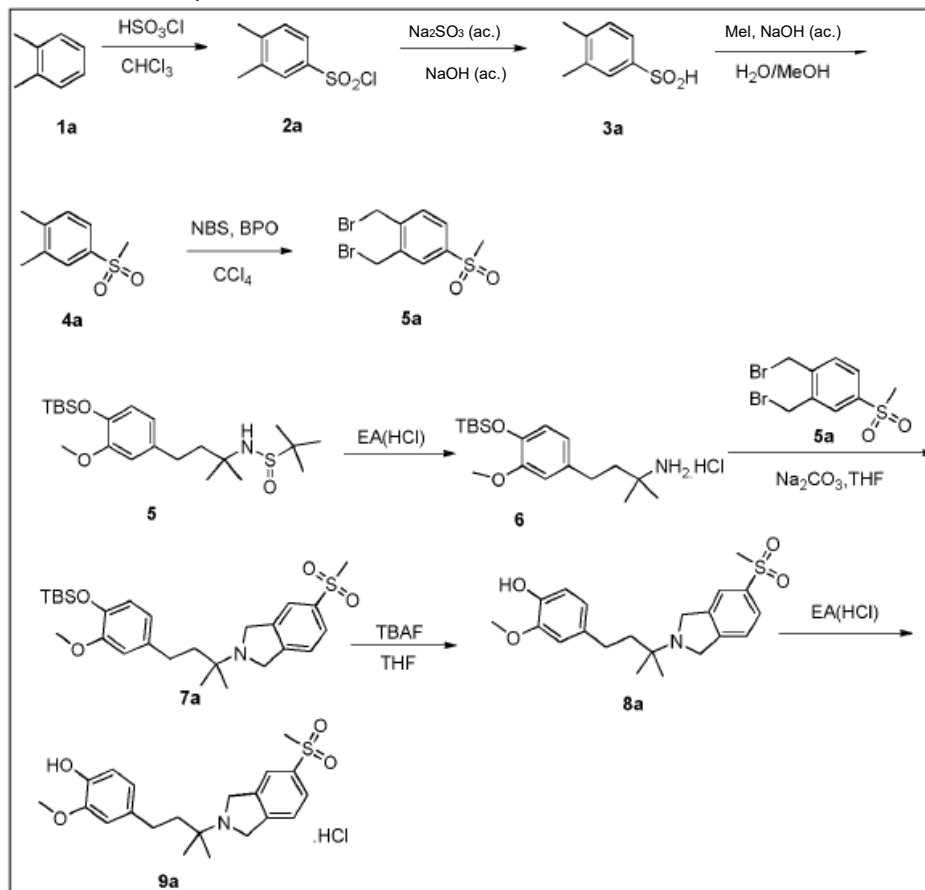
[0484] El Ejemplo 19B ilustra la preparación representativa del compuesto de isoindolina sustituido con sulfona, clorhidrato de 2-metoxi-4-(3-metil-3-(4-(metilsulfonil)isoindolin-2-il)butil)fenol, a partir de un intermedio de gem-dimetil amina según se muestra en el Esquema 14.



Esquema 14: Procedimiento general para la preparación de la insoindolina sustituida con sulfona, clorhidrato de 2-metoxi-4-(3-metil-3-(4-(metilsulfonil)isoindolin-2-il)butil)fenol. (Compuesto de Ejemplo 64).

- 5 **[0485]** Preparación del Compuesto 2 (Esquema 14): A una solución agitada de **1** (12,0 g, 64,8 mmoles, 1 eq) en THF (150 mL) se le adicionó $n\text{-BuLi}$ (30 mL, 2,5 M) a -75°C . La mezcla se agitó a -75°C durante 1 h, y, a continuación, se adicionó disulfuro de dimetilo (7,2 g, 76,4 mmoles) gota a gota. La mezcla se agitó a -75°C durante 4 h, y se templó con solución de NH_4Cl saturada, se extrajo con acetato de etilo, se secó sobre Na_2SO_4 , y se concentró a presión reducida para obtener el producto bruto en **2** (12 g, 100%). Se adquirió 1-bromo-2,3-dimetilbenceno de Shanghai RuiDing Chemical Co. Ltd.
- 10 **[0486]** Preparación del compuesto 3 (Esquema 14): A una solución agitada de **2** (12,0 g, 78,8 mmoles, 1 eq) en DCM (200 mL) se le adicionó $m\text{-CPBA}$ (30 g, 173,8 mmoles) a 0°C . La mezcla se agitó a 10°C durante 2 h y se templó con Na_2SO_3 10%. La solución acuosa se ajustó a un pH 10 con NaOH 10%, se extrajo con DCM, se secó sobre Na_2SO_4 , y se concentró a presión reducida para obtener el producto bruto, el cual se purificó con cromatografía de columna (PE:EA=5:1) para proporcionar el compuesto **3** del título (9,0 g, 62%). Se adquirió ácido 3-cloroperbenzoico de Shanghai DeMo Chemical Co. Ltd.
- 15 **[0487]** Preparación del compuesto 4 (Esquema 14): A una solución agitada de **3** (1,0 g, 5,42 mmoles) en CCl_4 (15 mL) se le adicionaron NBS (2,22 g, 12,4 mmoles, 1,2 eq) y AIBN (400 mg, 2,43 mmoles). La mezcla se agitó a 70°C durante 6 h, se enfrió, se concentró al vacío, y se purificó por cromatografía de columna (PE:EA = 3:1) para obtener el compuesto **4** del título (1,4 g, 75%). Se adquirió N-Bromosuccinimida de Shanghai JingChun Chemical Co. Ltd. Se adquirió azobisisobutironitrilo de Shanghai GuoYao Chemical Co. Ltd.
- 20 **[0488]** Preparación del compuesto 6 (Esquema 14): A una solución de **6** (4,0 g, 1,2 mol) en EA (100 mL), se adicionó HCl/EA (1,2 g, 2 M, 200 mol). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La reacción se concentró para obtener el producto bruto **7** (2,8 g, 99%), el cual se usó para la siguiente etapa sin purificación adicional.
- 25 **[0489]** Preparación del compuesto 7 (Esquema 14): A una solución de **6** (280 mg, 1,20 mmoles) en THF (10 mL), se adicionaron **4** (410 g, 1,2 mmoles) y K_2CO_3 (330 mg, 2,4 mmoles). La solución resultante se agitó a 70°C durante 12 h. La mezcla de la reacción se filtró a través de un lecho de Celite, se lavó con EA, y el filtrado se concentró para obtener el producto bruto **7** (500 mg, 100%), el cual se usó para la siguiente etapa sin purificación adicional.
- 30 **[0490]** Preparación del compuesto 8 (Esquema 14): a una solución de **7** (500 mg, bruto) en THF (10 mL), se adicionó TBAF (1,2 mL, 1 M). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de la reacción se concentró para obtener el residuo que se purificó por HPLC preparativa para obtener **8** (120 mg, 20% sobre dos etapas).
- 35 **[0491]** Preparación del compuesto 9; clorhidrato de 2-metoxi-4-(3-metil-3-(4-(metilsulfonil)isoindolin-2-il)butil)fenol (Compuesto de ejemplo 64) (Esquema 14): a una solución de **8** (120 mg, 0,30 mol) en EA (10 mL), se le adicionó HCl/EA (1,2 g, 2 M, 2 mmol). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La reacción se concentró para obtener el producto **9** (90 mg, 75%). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CD_3OD): δ 7,97 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H), 7,78-7,68 (m, 2H), 6,88 (s, 1H), 6,72 (s, 2H), 5,09 (s, 2H), 4,85 (s, 2H), 3,85 (s, 3H), 3,20 (s, 3H), 2,73-2,70 (m, 2H), 2,13-2,10 (m, 2H), 1,58 (s, 6H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+$ = 390,15.
- 40

[0492] El Ejemplo 19C ilustra la preparación representativa del compuesto de isoindolina sustituido con sulfona, clorhidrato de 2-metoxi-4-(3-metil-3-(5-(metilsulfonil)isoindolin-2-il)butil)fenol, a partir de un intermedio de gem-dimetil amina según se muestra en el Esquema 15.



Esquema 15: Procedimiento general para la preparación de la indolina sustituida con sulfona, clorhidrato de 2-metoxi-4-(3-metil-3-(5-(metilsulfonil)isoindolin-2-il)butil)fenol.

[0493] Preparación del Compuesto 2a (Esquema 15): A la solución de **1** (50 g, 0,47 mol, 1,00 eq) en CHCl_3 (500 mL) se le adicionó HSO_3Cl (75,5 mL, 0,95 mol, 2,00 eq) gota a gota bajo un baño de refrigeración con hielo. Después de completarse la adición, la mezcla se calentó a temperatura ambiente, y se agitó durante 1 h. La mezcla resultante se vertió en agua con hielo y, a continuación, se extrajo con DCM (500 mL) 3 veces. La capa orgánica combinada se lavó con agua, con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 , y se concentró al vacío para obtener el producto sólido blanco **2a** (76,5 g, 79,3%). Se adquirió 1,2-dimetilbenceno de Shanghai GuoYao Chemical Co. Ltd. Se adquirió ácido clorosulfónico de Shanghai AoYue Chemical Co. Ltd.

[0494] Preparación del Compuesto 3a (Esquema 15): A una suspensión de **2** (77 g, 0,38 mol, 1,00 eq) en Na_2SO_3 sat. (118 g, 0,94 mol, 2,50 eq), se adicionó solución de NaOH 32% (30 g, 0,75 mol, 2,00 eq). Después de agitar 3 h a temperatura ambiente, la reacción se acidificó a un pH = 1 con solución de HCl 25% bajo un baño de refrigeración con hielo. El precipitado es el producto bruto **3a** (59,75 g, 93,8%), que se usó sin purificación adicional.

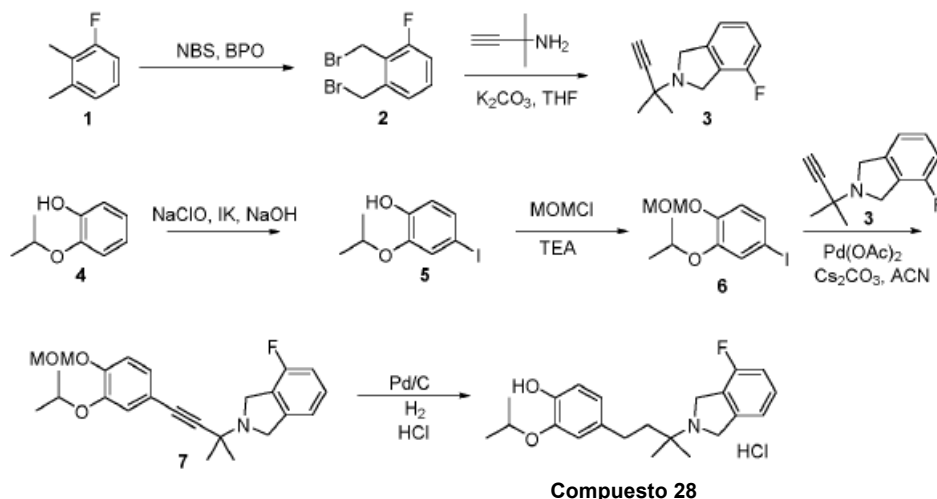
[0495] Preparación del Compuesto 4a (Esquema 15): En un tubo de vidrio cerrado herméticamente, a una suspensión de **3** (20 g, 0,12 mol, 1,00 eq) en una mezcla de H_2O (50 mL) y solución de MeOH (67,5 mL), se le adicionaron yodometilo (20 g, 0,14 mol, 1,15 eq) y solución de NaOH al 32% (47 g, 1,2 mol, 10,00 eq). La reacción se calentó a 90 °C y se agitó durante la noche. Después de completarse la reacción, el metanol se retiró bajo presión reducida, y se extrajo con EA, y se concentró para obtener producto **4a** (8,33 g, 38,5%). Se adquirió yoduro de metilo de Shanghai AoYue Chemical Co. Ltd.

[0496] Preparación del Compuesto 5a (Esquema 15): A una solución del compuesto **4** (9,5 g, 51,6 mmoles, 1,00 eq) en CCl_4 , se adicionaron NBS (18,3 g, 103 mmoles, 2,00 eq) y BPO (1,0 g, 5,2 mmoles, 0,10 eq). La reacción se calentó a reflujo durante 6 h. Después de completarse la reacción, el disolvente se retiró a presión reducida. El residuo obtenido se diluyó con PE y H_2O . la capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró para obtener el producto bruto, el cual se purificó por FCC (PE:EA = 10:1 ~ 3:1) para obtener el intermedio de sulfona **5a**; 1,2-bis(bromometil)-4-(metilsulfonil)benceno.

[0497] La preparación del compuesto 9a, clorhidrato de 2-metoxi-4-(3-metil-3-(5-(metilsulfonyl)isoindolin-2-il)butil)fenol, se llevó a cabo a partir del intermedio 5a, con las técnicas descritas en el Ejemplo 19B.

5 **Ejemplo 20: preparación de clorhidrato de 4-(3-(4-fluoroisoindolin-2-il)-3-metilbutil)-2-isopropoxifenol, Compuesto de Ejemplo 28**

[0498] El Ejemplo 20 ilustra la preparación representativa de clorhidrato de 4-(3-(4-fluoroisoindolin-2-il)-3-metilbutil)-2-isopropoxifenol, Compuesto de Ejemplo 28, según se muestra en el Esquema 16.



10

Esquema 16: Procedimiento para la preparación de clorhidrato de 4-(3-(4-fluoroisoindolin-2-il)-3-metilbutil)-2-isopropoxifenol, Compuesto de Ejemplo 28.

15

[0499] Preparación del Compuesto 2 (Esquema 16): A una suspensión de 1-fluoro-2,3-dimetilbenceno (100 g, 0,81 mmol) en tetracloruro de carbono (1,5 L) se le adicionaron *N*-bromosuccinimida (288 g, 1,62 mmoles), y peróxido de benzoilo (10 g). La mezcla se calentó a 70°C. Después de agitarla durante 15 h, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se vertió en agua (1 L) y se extrajo con DCM (3x1 L). Las capas orgánicas combinadas se purificaron por cromatografía de columna *flash* con éter de petróleo para proporcionar el producto 2 (161 g, 70%) en forma de un sólido blanco.

20

TLC: PEA/EA = 10/1; R_f (Compuesto 1) = 1; R_f (Compuesto 2) = 0,8

25

[0500] Preparación del Compuesto 3 (Esquema 16): A una mezcla de 1,1-dimetilpropargilamina (20 g, 240 mmoles, 1,0 eq) en THF (900 mL) se le adicionaron el compuesto 2 (70,7 g, 253 mmoles, 1,05 eq) y trietilamina (73 g, 720 mmoles, 3 eq). La reacción se agitó a 60 °C durante 12 h. La mezcla se filtró a través de un lecho de Celite, y el lecho se lavó con acetato de etilo. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar un aceite naranja. El residuo se purificó por cromatografía de columna *flash* (PE/EA, 10/1) para obtener el compuesto 3 (30 g, 61%) en forma de un sólido amarillo. TLC: PE/EA = 10/1; R_f (Compuesto 2) = 0,8; R_f (Compuesto 3) = 0,5.

30

[0501] Preparación del Compuesto 5 (Esquema 16): A una solución de 2-isopropoxi-fenol (10 g, 0,66 mol, 1,0 eq) en metanol (700 mL) se le adicionaron hidróxido de sodio (39,4 g, 1,0 mol, 1,5 eq) y yoduro de potasio (114,5 g, 0,69 mol, 1,05 eq). La reacción se agitó a temperatura ambiente. A la mezcla de la reacción se le adicionó gota a gota hipoclorito de sodio (978 g, 1,31 mol, 2,0 eq). La reacción se agitó a temperatura ambiente. Cuando la LCMS indicó que el material de partida había desaparecido, se adicionó HCl concentrado hasta un pH 1. Se adicionó sulfito de sodio (56 g, 445 mmol, 1,0 eq). La mezcla se extrajo con acetato de etilo (3 x 500 mL), y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron al vacío para proporcionar el compuesto 5 (175 g, 96%) en forma de un sólido blanco. TLC: PE/EA = 10/1; R_f (Compuesto 4) = 0,4; R_f (Compuesto 5) = 0,4.

35

40

[0502] Preparación del Compuesto 6 (Esquema 16): A una solución del compuesto 5 (350 g, 1,26 mol, 1,0 eq) en DMF (2 L) se le adicionó hidruro de sodio (65,4 g, 1,64 mol, 1,3 eq) a 0 °C bajo nitrógeno. Después de una agitación durante 0,5 h, se adicionó lentamente clorometil metil éter (131,7 g, 1,64 mmol, 1,3 eq). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La reacción se templó con agua (4 L) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 1 L). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron al vacío para proporcionar el producto bruto. El residuo se purificó por cromatografía de columna *flash* (PE/EA, 10/1) para obtener el compuesto 6 (300 g, 74%) en forma de un sólido blanco. TLC: PE/EA = 10/1; R_f (Compuesto 5) = 0,4; R_f (Compuesto 6) = 0,6.

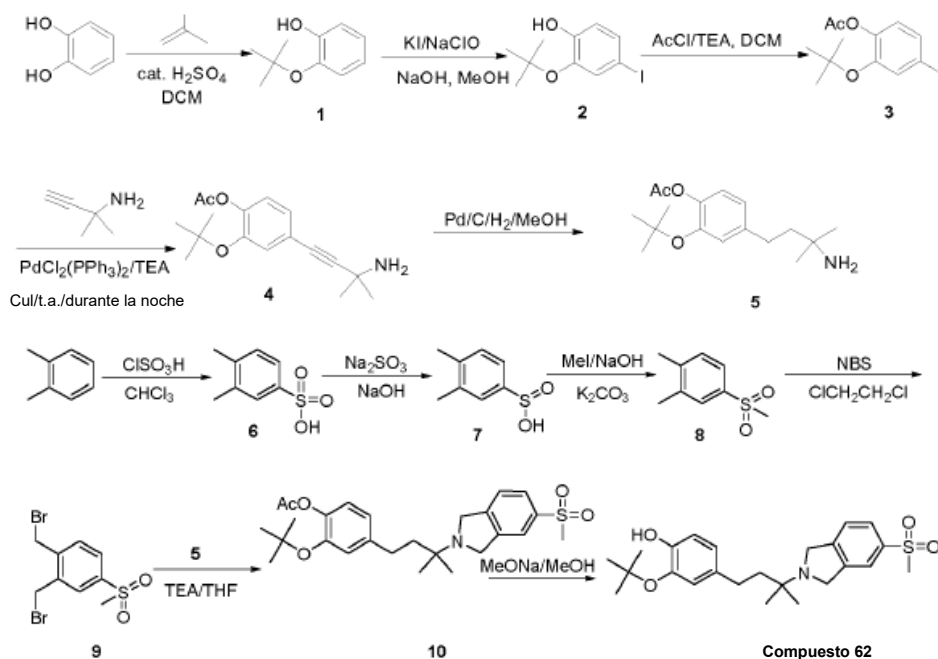
45

[0503] Preparación del Compuesto 7 (Esquema 16): A una solución del compuesto **6** (56,2 g, 174 mmol, 1,0 eq) en acetonitrilo (600 mL) se le adicionaron el compuesto **3** (39 g, 192 mmol, 1,1 eq) y X-Phos (4,16 g, 9,0 mmoles, 0,05 eq) seguido por carbonato de cesio (56,9 g, 174 mmoles, 1,0 eq) y diacetato de paladio (1,2 g, 5,23 mmoles, 0,03 eq). La reacción se agitó a 60 °C durante 12 h. La reacción se templó con agua con hielo (1 L) seguido por una extracción con acetato de etilo (3 x 500 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron al vacío para obtener el producto bruto. El residuo se purificó por cromatografía de columna *flash* (PE/EA, 10/1) para obtener el compuesto **6** (48,5 g, 70%) en forma de un sólido marrón. TLC: PE/EA = 10/1; R_f (Compuesto 6) = 0,6; R_f (Compuesto 7) = 0,3.

[0504] Preparación del Compuesto 28 (Esquema 16): A una solución del compuesto **7** (72 g, 181 mmoles, 1,0 eq) en metanol (1,4 L) se le adicionó HCl concentrado (36 mL, 360 mmoles, 2,0 eq) y paladio sobre carbón activado 10% (14 g). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 h bajo un globo de hidrógeno. La mezcla se filtró a través de un lecho de Celite, y el lecho se lavó con metanol. El filtrado se concentró al vacío para obtener un aceite de color naranja pálido. El residuo se diluyó con éter, se agitó a temperatura ambiente y se formó un sólido. El sólido se filtró y se lavó con etanol para obtener el Compuesto de Ejemplo 28 (60 g, 93%) en forma de un sólido blanco. TLC: PE/EA = 3/1; R_f (Compuesto 7) = 0,6; R_f (Compuesto de ejemplo de producto 28) = 0,3. LC-MS: 358,2 (M+1)⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12,17 (s, 1H), δ 8,59 (s, 1H), δ 7,43 (m, 1H), δ 7,21 (m, 2H), δ 6,80 (s, 1H), 6,71 – 6,63 (m, 2H), 4,88 – 4,79 (m, 2H), δ 4,66 (m, 2H), δ 4,47 (m, 2H), δ 2,53 (m, 2H), δ 1,97 (m, 2H), δ 1,43 (s, 6H), δ 1,22 (s, 6H).

Ejemplo 21: Preparación de 2-(Tert-butoxi)-4-(3-metil-3-(5-(metilsulfonil)isoindolin-2-il)butil)fenol, Compuesto de Ejemplo 62.

[0505] El Ejemplo 21 ilustra la preparación representativa de 2-(Tert-butoxi)-4-(3-metil-3-(5-(metilsulfonil)isoindolin-2-il)butil)fenol, Compuesto de Ejemplo 62, según se muestra en el Esquema 17.



Esquema 17: Procedimiento para la preparación de 2-(Tert-butoxi)-4-(3-metil-3-(5-(metilsulfonil)isoindolin-2-il)butil)fenol, Compuesto de Ejemplo 62.

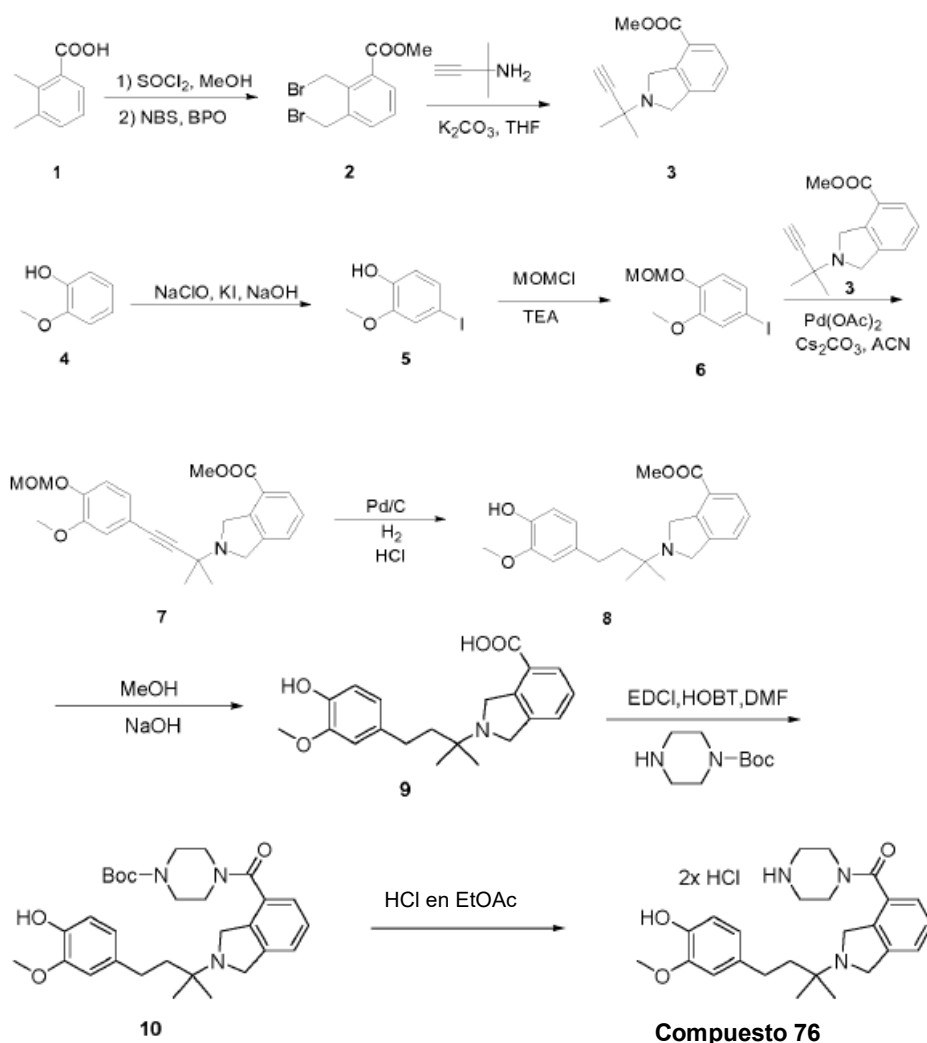
[0506] Preparación del compuesto 1 (Esquema 17): en un frasco de vidrio resistente a la presión, a -30 °C, que contenía una mezcla de catecol (50,0 g, 454 mmoles, 1,0 eq), y ácido sulfúrico concentrado (0,3 mL) en diclorometano (200 mL), se condensó isobuteno (152,6 g, 2,72 moles, 6,0 eq). Después de cerrar herméticamente el frasco resistente a la presión con un tapón de Teflón roscado y rematado con una junta tórica de caucho protegida con Teflón, la mezcla se calentó a 35 °C durante 3 h hasta que se obtuvo una solución diáfana. Después de un enfriamiento (-30 °C), se adicionó trietilamina (1,5 mL, 10,8 mmoles) y la mezcla se concentró. El residuo se suspendió en NaOH 0,5 M (1 L) y se agitó durante 10 min. La solución de color verde oscuro se lavó con éter de petróleo (2 x 100 mL) y las capas de lavado se volvieron a extraer con NaOH 0,5 M (3 x 100 mL). Las capas acuosas combinadas se llevaron a un pH 7-8 con HCl 2 N (400 mL), y se extrajeron con acetato de etilo (2 x 1 L), se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron para obtener el producto **1** (66,7 g, 90%) en forma de un aceite incoloro, el cual se usó directamente para reacción de la siguiente etapa sin purificación adicional. TLC: PE/EA = 50/1; R_f (Catecol) = 0,1; R_f (Compuesto 1) = 0,6.

- 5 **[0507]** Preparación del compuesto 2 (Esquema 17): A una solución agitada del compuesto **1** (112,2 g, 676 mmoles, 1,2 eq) y yoduro de potasio (112,2 g, 676 mmoles, 1,0 eq) en etanol (2 L) a 0 °C se le adicionó lentamente hidróxido de sodio (27,0 g, 676 mmoles, 1,0 eq), seguido por clorito de sodio acuoso (ac. 7%, 718,8 mL, 710 mmoles, 1,0 eq) gota a gota durante 3 h mientras la reacción se mantenía por debajo de 0 °C. La mezcla se agitó a 0 °C durante otros 30 min y se neutralizó adicionando HCl 2 N a 0 °C hasta un pH 7, y se extrajo con DCM (2 x 1 L). Las capas orgánicas se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron para obtener el producto **2** (179,8 g, 91%). TLC: PE/EA = 50/1; R_f (Compuesto 1) = 0,6; R_f (Compuesto 2) = 0,6.
- 10 **[0508]** Preparación del compuesto 3 (Esquema 17): A una solución agitada del compuesto **2** (179,8 g, 616 mmoles, 1,0 eq) y trietilamina (186,6 g, 1,85 mol, 3,0 eq) en diclorometano (2 L) a 0 °C se le adicionó lentamente cloruro de acetilo (53,2 g, 677 mmoles, 1,1 eq). La mezcla se agitó a 0 °C durante otros 30 min, y se calentó hasta temperatura ambiente, y se agitó a temperatura ambiente durante 3 h, se adicionó agua (1 L) a la mezcla de reacción y la capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró para obtener el producto **3** (206 g 100%), el cual se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional. TLC: PE/EA = 50/1; R_f (Compuesto 2) = 0,6; R_f (Compuesto 3) = 0,5.
- 15 **[0509]** Preparación del compuesto 4 (Esquema 17): A una solución agitada del compuesto **3** (206 g, 616 mmoles, 1,0 eq) en trietilamina (4,0 L) se le adicionaron 2-metilbut-3-in-2-amina (102,5 g, 1,23 mol, 2,0 eq), Pd(PPh₃)₂Cl₂ (15,1 g, 18,5 mmoles, 0,03 eq) y yoduro de cobre (I) (5,9 g, 31 mmoles, 0,05 eq), y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 17 h. El disolvente se retiró a presión reducida y el producto bruto se purificó por cromatografía de gel de sílice para obtener el compuesto **4** del título (132,7 g, 74%). TLC: PE/EA = 1/1; R_f (Compuesto 3) = 0,9; R_f (Compuesto 4) = 0,3.
- 20 **[0510]** Preparación del compuesto 5 (Esquema 17): A una solución agitada del compuesto **4** (104,5 g, 0,36 mol) en etanol (1,5 L) se le adicionó Pd/C (10% peso, 10,5 g). La mezcla se agitó bajo hidrógeno (un globo) durante la noche, y se filtró. El filtrado se evaporó a sequedad para obtener el compuesto **5** (106,3 g, 100%), el cual se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional. TLC: PE/EA = 1/1; R_f (Compuesto 4) = 0,3; R_f (Compuesto 5) = 0,3.
- 25 **[0511]** Preparación del compuesto 6 (Esquema 17): A una solución de *o*-xileno (115,7 g, 1,09 mmol, 1,0 eq) en cloroformo (1,0 L) a 0 °C se le adicionó gota a gota ClSO₃H (254 g, 2,18 moles, 2,0 eq). Después de la adición, la mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 días, y se vertió en hielo. La mezcla bruta se extrajo con diclorometano (3 x 1,0 L). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se concentraron para obtener el compuesto bruto **6** (161,5 g, 80%) en forma de un sólido blanco, el cual se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional. TLC: PE/EA = 5/1; R_f (Compuesto 6) = 0,7.
- 30 **[0512]** Procedimiento general para la preparación del compuesto 7 (Esquema 17): A una solución agitada del compuesto **6** (161,5 g, 0,87 mol, 1,0 eq) en solución de sulfito de sodio saturada (273 g, 2,17 moles, 2,5 eq, en 2,0 L de agua) se le adicionó gota a gota NaOH 32% (69,4 g, 1,73 mol, 2,0 eq) hasta que la solución alcanzó el pH 9. Después de agitarla a temperatura ambiente durante la noche, la mezcla de la reacción se acidificó con HCl conc. en baño de refrigeración con hielo hasta un pH 1. El precipitado se filtró, y se lavó con agua con hielo (2x), se secó al vacío para obtener el producto bruto **7** (131 g, 8%), el cual se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional. TLC: PE/EA = 5/1; R_f (Compuesto 6) = 0,7; R_f (Compuesto 7) = 0,6.
- 35 **[0513]** Preparación del compuesto 8 (Esquema 17): A una solución agitada del compuesto **7** (130 g, 0,76 mol, 1,0 eq) y carbonato de potasio (211 g, 1,53 mol, 2,0 eq) en DMF (300 mL) se le adicionó yodometano (96 mL, 1,53 mol, 2,0 eq). La reacción se agitó a 40 °C durante la noche. La mezcla de la reacción se evaporó a sequedad, se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas se lavaron con aguas y salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron, y se purificaron por cromatografía de columna *flash* (PE: EA, 10: 1 ~ 5:1) para obtener el compuesto **8** (85,2 g, 61%). TLC: PE/EA = 5/1; R_f (Compuesto 7) = 0,6; R_f (Compuesto 8) = 0,3.
- 40 **[0514]** Preparación del compuesto 9 (Esquema 17): A una solución agitada del compuesto **8** (78,2 g, 424 mmoles, 2,0 eq) en 1,2-dicloroetano (1,2 L), se le adicionaron N-bromosuccinimida (166 g, 934 mmol, 2,2 eq) y AIBN (6,9 g, 42,4 mmol, 0,1 eq). La reacción se agitó a reflujo durante la noche. La reacción se diluyó con agua y diclorometano. La capa orgánica se recogió, y se secó sobre sulfato de sodio y se concentró, y se purificó por cromatografía de columna *flash* para obtener el compuesto **9**, el cual recrystalizó adicionalmente a partir de metanol caliente para obtener el producto bruto **8** (75 g, 52%). TLC: PE/EA = 5/1; R_f (Compuesto 8) = 0,3; R_f (Compuesto 9) = 0,2.
- 45 **[0515]** Preparación del compuesto 10 (Esquema 17): A una solución agitada del compuesto **5** (46 g, 157 mmoles, 1,0 eq) y el compuesto **9** (53,5 g, 157 mmoles, 1,0 eq) en THF (460 mL) se le adicionó trietilamina (47,7 g, 472 mmoles, 3,0 eq). La reacción se agitó a 40 °C durante la noche, se filtró y el filtrado se evaporó a sequedad y se purificó por cromatografía de columna *flash* para obtener el compuesto **10** (45 g, 63%). TLC: PE/EA = 1/1; R_f (Compuesto 5) = 0,3; R_f (Compuesto 9) = 1,0; R_f (Compuesto 10) = 0,4.
- 50
- 55
- 60

[0516] Preparación del compuesto 62 (Esquema 17): A una solución agitada del compuesto **10** (45 g, 98,4 mmoles) en metanol (300 mL) se le adicionó metóxido de sodio (844 mg, 15,6 mmoles, 0,16 eq) de una sola vez. La solución se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se adicionó gota a gota agua (250 mL) a la mezcla de la reacción durante 1 h, la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, y se filtró. El sólido blanco se recogió y se secó al vacío durante la noche para obtener la base del **Compuesto 62** de ejemplo puro (38 g, 89%). TLC: PE/EA = 1/1; R_f (Compuesto 10) = 0,4; R_f (Compuesto 62) = 0,4; ESI-MS: 432 ($M+1$)⁺; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,80-7,78 (m, 2H), 7,40-7,38 (m, 1H), 6,87-6,79 (m, 3H), 5,58 (s, 1H), 4,11 (s, 4H), 3,05 (s, 3H), 2,61-2,57 (m, 2H), 1,76-1,72 (m, 2H), 1,48 (s, 9H), 1,18 (s, 6H).

Ejemplo 22: Preparación de (2-(4-(4-Hidroxi-3-metoxifenil)-2-metilbutan-2-il)isoindolin-4-il)(piperazin-1-il)metanona, Compuesto de Ejemplo 76.

[0517] El Ejemplo 22 ilustra la preparación representativa de (2-(4-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-2-metilbutan-2-il)isoindolin-4-il)(piperazin-1-il)metanona, **Compuesto de Ejemplo 76**, según se muestra en el Esquema 18.



Esquema 18: Procedimiento para la preparación de (2-(4-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-2-metilbutan-2-il)isoindolin-4-il)(piperazin-1-il)metanona, Compuesto de Ejemplo 76.

[0518] Preparación del Compuesto 2 (Esquema 18): a una solución de ácido 2,3-dimetilbenzoico (60 g, 0,399 mol) en metanol a 0 °C se le adicionó cloruro de tionilo (20 mL). La reacción se calentó a 60°C. Después de agitarla durante la noche, la reacción se enfrió y se concentró para obtener éster metílico bruto (65 g, 0,396 mol). A una suspensión del éster metílico bruto (65 g, 0,396 mol) en tetracloruro de carbono (500 mL) se le adicionaron N-bromosuccinimida (142,2 g, 0,798 mmol), y peróxido de benzoilo (6 g, 24,8 mmoles). La mezcla se calentó a 70 °C. Después de agitarla durante 15 h, la mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente, se vertió en agua (250 mL) y se extrajo con diclorometano (3 x 250 mL). Las capas orgánicas combinadas se purificaron por cromatografía de columna *flash* con éter de petróleo para

proporcionar el producto **2** (120 g, 94%) en forma de sólido blanco. TLC: PE/EA = 10/1; R_f (éster metílico del compuesto 1) = 0,8; R_f (Compuesto 2) = 0,7.

Preparación del Compuesto 3 (Esquema 18):

[0519] A una mezcla de 1,1-dimetilpropargilamina (11,4 g, 0,14 mol, 1,0 eq) en THF (500 mL) se le adicionaron 2,3-bis(bromometil)benzoato de metilo (40,0 g, 0,125 mol, 1,1 eq) y trietilamina (50,5 g, 0,50 mol, 4,0 eq). La reacción se agitó a 60 °C durante 12 h. La mezcla se filtró a través de un lecho de Celite, y el lecho se lavó con acetato de etilo. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar un aceite naranja. El residuo se purificó por cromatografía de columna *flash* (PE/EA: 10/1) para obtener el compuesto **3** (19 g, 62%) en forma de sólido amarillo. TLC: PE/EA = 10/1; R_f (Compuesto 2) = 0,8; R_f (Compuesto 3) = 0,5.

[0520] Preparación del Compuesto 5 (Esquema 18): a una solución de 2-metoxifenol (100 g, 0,81 mol, 1,0 eq) en metanol (1 L) se le adicionaron hidróxido de sodio (48,3 g, 1,21 mol, 1,5 eq) y yoduro de potasio (140,4 g, 0,84 mol, 1,05 eq). La reacción se agitó a temperatura ambiente. A la mezcla de la reacción se le adicionó gota a gota hipoclorito de sodio (1,199 g, 1,61 mol, 2,0 eq). Cuando la LCMS indicó que el material de partida había desaparecido. Se adicionó HCl concentrado hasta un pH 1. Se adicionó sulfito de sodio (56 g, 0,44 mol, 0,54 eq). La mezcla se extrajo con acetato de etilo (3 x 500 mL), y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron al vacío para obtener el compuesto **5** (160 g, 79%) en forma de aceite amarillo. TLC: PE/EA = 10/1; R_f (Compuesto 4) = 0,4; R_f (Compuesto 5) = 0,4.

[0521] Preparación del Compuesto 6 (Esquema 18): A una solución del compuesto **5** (31,4 g, 125,8 mmoles, 1,0 eq) en DMF (200 mL) se le adicionó hidruro de sodio (6,54 g, 163,6 mmoles, 1,3 eq) a 0 °C bajo nitrógeno. Después de 0,5 h, se adicionó lentamente clorometil metil éter (13,2 g, 163,6 mmoles, 1,3 eq). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La reacción se templó con agua (400 mL) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 200 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron al vacío para obtener un producto bruto. El residuo se purificó por cromatografía de columna *flash* (PE/EA, 10/1) para obtener el compuesto **6** (30 g, 74%) en forma de aceite amarillo. TLC: PE/EA = 10/1; R_f (Compuesto 5) = 0,4; R_f (Compuesto 6) = 0,6.

[0522] Preparación del Compuesto 7 (Esquema 18): A una solución del compuesto **6** (10,2 g, 34,5 mmoles, 1,2 eq) en acetonitrilo (120 mL) se le adicionaron el compuesto **3** (7,00 g, 28,7 mmoles, 1,0 eq) y X-Phos (624 mg, 1,30 mmol, 0,05 eq) seguidos por carbonato de cesio (9,38 g, 28,7 mmoles, 1,0 eq) y diacetato de paladio (168 mg, 0,74 mmoles, 0,03 eq). La reacción se agitó a 60 °C durante 12 h. La reacción se templó con agua con hielo (100 mL) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 300 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron al vacío para obtener el producto bruto. El residuo se purificó por cromatografía de columna *flash* (PE/EA, 10/1) para obtener el compuesto **6** (9,4 g, 79%) en forma de sólido marrón. TLC: PE/EA = 10/1; R_f (Compuesto 6) = 0,6; R_f (Compuesto 7) = 0,3.

[0523] Preparación del Compuesto 8 (Esquema 18): A una solución del compuesto **7** (3,81 g, 9,31 mmoles, 1,0 eq) en metanol (220 mL) se le adicionaron HCl concentrado (2 mL) y paladio sobre carbón activado (1,8 g, 10%). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 h bajo atmósfera de hidrógeno. La mezcla se filtró a través de un lecho de Celite, y el lecho se lavó con metanol. El filtrado se concentró al vacío para obtener un aceite de color naranja pálido. El residuo se diluyó con éter, se agitó a temperatura ambiente, y se formó un sólido. El sólido se filtró y se lavó con etanol para obtener **8** (4,8 g, 100%) en forma de un sólido amarillo. TLC: PE/EA = 3/1; R_f (Compuesto 7) = 0,6; R_f (Producto 8) = 0,3.

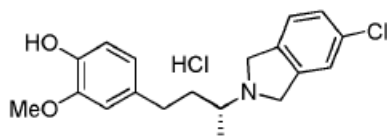
[0524] Preparación del Compuesto 9 (Esquema 18): A una solución del compuesto **8** (4,80 g, 13,0 mmoles, 1,0 eq) en metanol (100 mL) se le adicionaron hidróxido de sodio (2,0 g, 50 mmoles) y agua (15 mL). La reacción se agitó a 40 °C durante 6 h. Después de enfriarla hasta temperatura ambiente, la reacción se ajustó a un pH 7 con HCl 6 N, y se extrajo con DCM/MeOH, 10/1; 3 x 100 mL). La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró al vacío para obtener un producto bruto, el cual se trituró (*tritured*) con acetato de etilo para obtener **9** (2,8 g, 60%) en forma de un sólido azul. TLC: PE/EA = 2/1; R_f (Compuesto 8) = 0,6; R_f (Producto 9) = 0,05.

[0525] Preparación del Compuesto 76 (Esquema 18): A una mezcla de **9** (2,8 g, 7,87 mmoles, 1,0 eq) en DMF (50 mL) se le adicionaron 1-(*tert*-butoxicarbonil)piperacina (1,54 g, 8,26 mmoles, 1,04 eq), EDCI (1,81 g, 9,44 mmoles, 1,2 eq), HOBT (615 mg, 4,55 mmoles, 0,57 eq) y trietilamina (1,74 g, 17,2 mmoles, 2,18 eq) subsiguientemente. La reacción se agitó a 25 °C durante 36 h. La mezcla se filtró a través de un lecho de Celite, y el lecho se lavó con acetato de etilo. El filtrado se concentró al vacío para proporcionar un aceite. El residuo se purificó por HPLC Preparativa para obtener el compuesto **10** (2,0 g) en forma de sólido blanco. El compuesto **10** (2,0 g) se trató con HCl en acetato de etilo (3,5 M, 15 mL). Después de agitarlo a 25 °C durante 1 h, se adicionó éter de petróleo (100 mL). El sólido blanco resultante se filtró, se lavó con éter y se secó al aire para proporcionar el Compuesto de Ejemplo **76** (1,6 g, 41%, dos etapas) en forma de un sólido blanco. TLC: DCM/MeOH = 10/1; R_f (Compuesto 9) = 0,3; R_f (Producto 10) = 0,35; LC-MS: 424,70 (M+1)⁺; ¹H

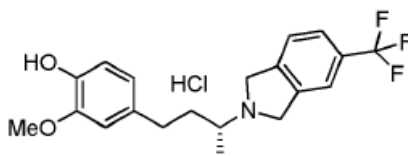
NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7,55-7,48 (m, 3H), 6,87 (s, 1H), 6,72-6,70 (m, 2H), 4,95-4,79 (m, 4H) 3,90-3,80 (m, 7H), 3,35-3,30 (m, 4H), 2,72-2,69 (m, 2H), 2,12-2,08 (m, 2H), 1,56 (s, 6H).

Ejemplo 23: Datos analíticos para especies de los compuestos de isoindolina.

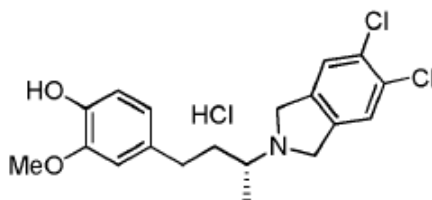
[0526] El Ejemplo 23 proporciona datos analíticos para compuestos preparados de una manera análoga a aquellos descritos anteriormente.



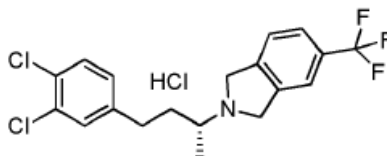
COMPUESTO DE EJEMPLO 1: ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11,45 (br, s, 1H), 8,76 (br, s, 1H), 7,48-7,41 (m, 3H), 6,82 (s, 1H), 6,69 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,53 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 4,80-4,50 (m, 4H), 3,75 (s, 3H), 3,53-3,50 (m, 1H), 2,70-2,65 (m, 1H), 2,12-2,10 (m, 1H), 1,83-1,80 (m, 1H), 1,36 (d, J = 6,0 Hz, 3H); m/z (ESI+) (M+H)⁺ = 332,05.



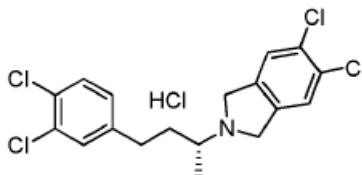
COMPUESTO DE EJEMPLO 2: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,75-7,45 (m, 4H), 6,85-6,60 (m, 5H), 5,71 (br, s, 2H), 4,14-3,75 (m, 7H), 2,90-2,50 (m, 5H), 1,78-1,20 (m, 8H), 1,26-1,23 (m, 3H); m/z (ESI+) (M+H)⁺ = 366,10.



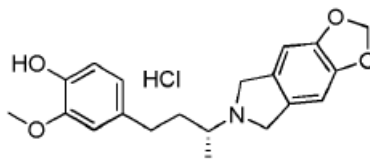
COMPUESTO DE EJEMPLO 3: ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,57 (br, s, 1H), 8,80 (br, s, 1H), 7,66 (d, J = 5,2 Hz, 2H), 6,79 (s, 1H), 6,68 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 6,60 (d, J = 7,2 Hz, 1H) 3,74 (s, 3H), 3,53-3,50 (m, 1H), 2,70-2,60 (m, 1H), 2,12-2,10 (m, 1H), 1,83-1,80 (m, 1H), 1,36 (d, J = 6,0 Hz, 3H); m/z (ESI+) (M+H)⁺ = 366,20.



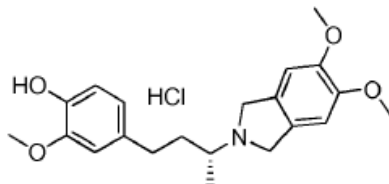
COMPUESTO DE EJEMPLO 4: ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 7,75-7,72 (m, 2H), 7,61 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 7,51-7,45 (m, 2H), 7,24 (dd, J₁ = 8,0 Hz, J₂ = 2,0 Hz, 1H), 5,05-4,90 (m, 2H), 4,75-4,65 (m, 2H), 3,69-3,64 (m, 1H), 2,89-2,82 (m, 1H), 2,73-2,67 (m, 1H), 2,27-2,22 (m, 1H), 1,98-1,93 (m, 1H), 1,52 (d, J = 6,4 Hz, 3H); m/z (ESI+) (M+H)⁺ = 388,10.



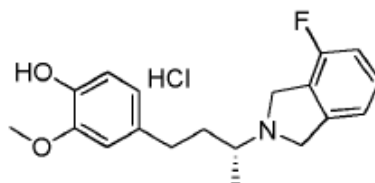
COMPUESTO DE EJEMPLO 5: ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 7,61 (br, s, 2H), 7,49-7,45 (m, 2H), 7,22 (dd, J₁ = 8,4 Hz, J₂ = 2,0 Hz, 1H), 4,80-4,20 (m, 4H), 3,66-3,62 (m, 1H), 2,89-2,80 (m, 1H), 2,75-2,65 (m, 1H), 2,25-2,20 (m, 1H), 1,98-1,90 (m, 1H), 1,52 (d, J = 6,4 Hz, 3H); m/z (ESI+) (M+H)⁺ = 390,00.



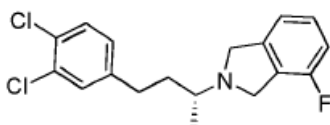
COMPUESTO DE EJEMPLO 6: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 6,84 (s, 2H), 6,74-6,68 (m, 2H), 5,99 (s, 2H), 4,74-4,65 (m, 2H), 4,47-4,41 (m, 2H), 3,85 (s, 3H), 3,60-3,55 (m, 1H), 2,80-2,70 (m, 1H), 2,65-2,55 (m, 1H), 2,25-2,15 (m, 1H), 1,98-1,90 (m, 1H), 1,46 (d, J = 6,4 Hz, 3H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+$ = 342,05.



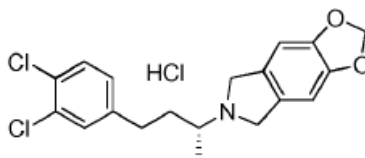
COMPUESTO DE EJEMPLO 7: ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 8,61 (s, 1H), 6,83 (s, 2H), 6,74 (s, 1H), 6,65 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,57 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 3,80 (s, 4H), 3,69 (s, 6H), 3,60-3,55 (m, 1H), 2,85-2,80 (m, 1H), 2,75-2,70 (m, 1H), 1,82-1,75 (m, 1H), 1,60-1,55 (m, 1H), 1,06 (d, J = 6,4 Hz, 3H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+$ = 358,25.



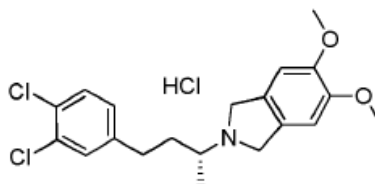
COMPUESTO DE EJEMPLO 8: ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 12,20 (s, 1H), 8,79 (s, 1H), 7,44-7,40 (m, 1H), 7,24-7,19 (m, 2H), 6,84 (s, 1H), 6,70 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,65 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 4,85-4,57 (m, 4H), 3,52-3,48 (m, 1H), 2,71-2,64 (m, 1H), 2,20-2,17 (m, 1H), 1,97-1,84 (m, 1H), 1,40-1,38 (m, 3H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+$ = 316,10.



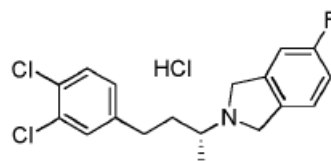
COMPUESTO DE EJEMPLO 9: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,60 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 7,48-7,43 (m, 2H), 7,24 (dd, J_1 = 8,8 Hz, J_2 = 2,0 Hz, 2H), 7,15 (t, J = 8,4 Hz, 1H), 4,90-4,70 (m, 4H), 3,70-3,60 (m, 1H), 2,90-2,80 (m, 1H), 2,30-2,20 (m, 1H), 2,00-1,80 (m, 1H), 1,51 (d, J = 6,8 Hz, 3H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+$ = 338,10.



COMPUESTO DE EJEMPLO 10: ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 11,90 (s, 1H), 7,58 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 7,54 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,28 (dd, J_1 = 8,0 Hz, J_2 = 2,0 Hz, 1H), 6,90 (d, J = 5,2 Hz, 2H), 4,65-4,50 (m, 2H), 4,48-4,35 (m, 2H), 3,55-3,45 (m, 1H), 2,82-2,78 (m, 1H), 2,65-2,55 (m, 1H), 2,15-2,05 (m, 1H), 1,90-1,80 (m, 1H), 1,35 (d, J = 6,4 Hz, 3H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+$ = 364,10.

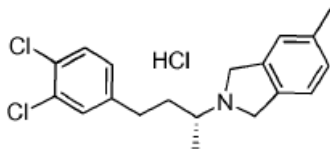


COMPUESTO DE EJEMPLO 11: ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 11,96 (s, 1H), 7,59 (s, 1H), 7,55 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,29 (dd, J_1 = 8,0 Hz, J_2 = 2,0 Hz, 1H), 6,94 (d, J = 5,2 Hz, 2H), 4,66-4,55 (m, 2H), 4,48-4,35 (m, 2H), 3,74 (s, 6H), 3,55-3,45 (m, 1H), 2,82-2,78 (m, 1H), 2,65-2,55 (m, 1H), 2,20-2,10 (m, 1H), 1,95-1,80 (m, 1H), 1,37 (d, J = 6,4 Hz, 3H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+$ = 380,15.

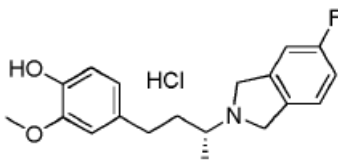


COMPUESTO DE EJEMPLO 12: ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 7,58 d, J = 2,0 Hz, 1H), 7,55 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,41-7,38 (m, 1H), 7,28 (dd, J_1 = 8,0 Hz, J_2 = 2,0 Hz, 1H), 7,24-7,16 (m, 3H), 4,73-4,62 (m, 2H), 4,58-4,45 (m,

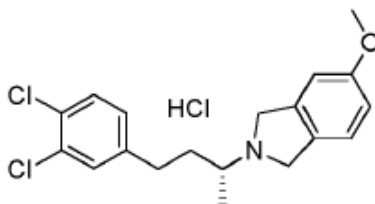
2H), 3,55-3,45 (m, 1H), 2,82-2,78 (m, 1H), 2,65-2,55 (m, 1H), 2,20-2,10 (m, 1H), 1,95-1,80 (m, 1H), 1,37 (d, J = 6,4 Hz, 3H); m/z (ESI+) (M+H)+ = 338,10.



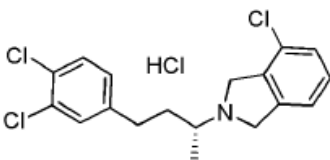
COMPUESTO DE EJEMPLO 13: ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,58 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 7,55 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,28 (dd, J₁ = 8,0 Hz, J₂ = 2,0 Hz, 1H), 7,22 (dd, J₁ = 8,0 Hz, J₂ = 3,2 Hz, 1H), 7,14 (d, J = 6,4 Hz, 2H), 4,73-4,61 (m, 2H), 4,54-4,45 (m, 2H), 3,52-3,49 (m, 1H), 2,80-2,75 (m, 1H), 2,65-2,59 (m, 1H), 2,30 (s, 3H), 2,16-2,14 (m, 1H), 1,90-1,85 (m, 1H), 1,35 (d, J = 6,4 Hz, 3H); m/z (ESI+) (M+H)+ = 334,15.



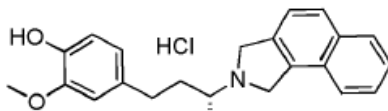
COMPUESTO DE EJEMPLO 14: ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,41-7,38 (m, 1H), 7,25-7,15 (m, 2H), 6,80 (d, J = 6,0 Hz, 1H), 6,68 (d, 8,0 Hz, 1H), 6,62 (dd, J₁ = 8,0 Hz, J₂ = 2,0 Hz, 1H), 4,77-4,63 (m, 2H), 4,59-4,44 (m, 2H), 3,75 (s, 3H), 3,51-3,48 (m, 1H), 2,70-2,62 (m, 1H), 2,52-2,44 (m, 1H), 2,14-2,11 (m, 1H), 1,90-1,85 (m, 1H), 1,35 (d, J = 6,4 Hz, 3H); m/z (ESI+) (M+H)+ = 316,60.



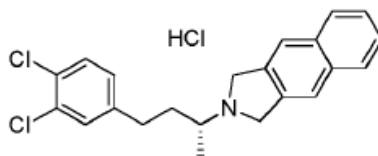
COMPUESTO DE EJEMPLO 15: ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11,60 (s, 1H), 7,59 (s, 1H), 7,55 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,29-7,24 (m, 2H), 6,93-6,90 (m, 2H), 4,75-4,58 (m, 2H), 4,58-4,44 (m, 2H), 3,74 (s, 3H), 3,52-3,50 (m, 1H), 2,81-2,74 (m, 1H), 2,65-2,57 (m, 1H), 2,20-2,10 (m, 1H), 1,90-1,80 (m, 1H), 1,36 (d, J = 6,0 Hz, 3H); m/z (ESI+) (M+H)+ = 350,15.



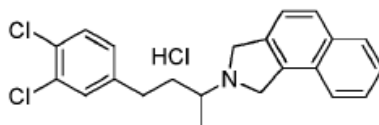
COMPUESTO DE EJEMPLO 16: ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,32 (s, 1H), 7,60 (s, 1H), 7,56-7,54 (m, 1H), 7,44-7,28 (m, 4H), 4,86-4,40 (m, 4H), 3,60-3,50 (m, 1H), 2,83-2,75 (m, 1H), 2,65-2,59 (m, 1H), 2,30-2,15 (m, 1H), 1,95-1,82 (m, 1H), 1,17-1,13 (m, 3H); m/z (ESI+) (M+H)+ = 356,15.



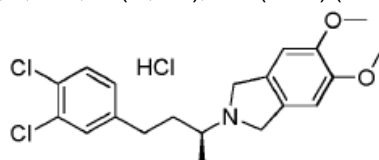
COMPUESTO DE EJEMPLO 17: ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 7,93 (dd, J₁ = 11,6 Hz, J₂ = 8,4 Hz, 2H), 7,82 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,63-7,54 (m, 2H), 7,48 (d, J = 11,6 Hz, 1H), 6,92-6,86 (m, 1H), 6,78-6,70 (m, 2H), 5,22-4,76 (m, 4H), 3,85 (s, 3H), 3,75-3,65 (m, 1H), 2,83-2,77 (m, 1H), 2,68-2,60 (m, 1H), 2,40-2,30 (m, 1H), 2,10-1,95 (m, 1H), 1,58-1,50 (m, 3H); m/z (ESI+) (M+H)+ = 348,65.



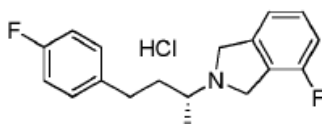
COMPUESTO DE EJEMPLO 18: ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,06 (s, 1H), 7,95-7,87 (m, 4H), 7,62-7,50 (m, 4H), 7,31 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 4,98-4,85 (m, 2H), 4,73-4,63 (m, 2H), 3,59-3,55 (m, 1H), 2,86-2,78 (m, 1H), 2,68-2,60 (m, 1H), 2,25-2,20 (m, 1H), 2,00-1,90 (m, 1H), 1,43 (d, J = 6,4 Hz, 3H); m/z (ESI+) (M+H)+ = 370,20.



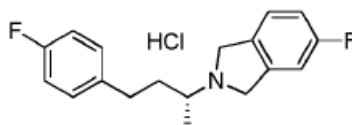
COMPUESTO DE EJEMPLO 19: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,94 (t, J = 8,8 Hz, 2H), 7,83 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,64-7,43 (m, 5H), 7,40-7,30 (m, 1H), 5,34-4,80 (m, 4H), 3,80-3,70 (m, 1H), 2,90-2,80 (m, 1H), 2,80-2,70 (m, 1H), 2,40-2,30 (m, 1H), 2,10-2,00 (m, 1H), 1,60-1,55 (m, 3H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+$ = 370,10.



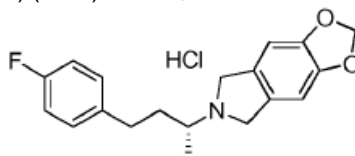
COMPUESTO DE EJEMPLO 20: ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 11,62 (s, 1H), 7,59 (s, 1H), 7,56 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,29 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,94 (s, 2H), 4,68-5,55 (m, 2H), 4,49-4,40 (m, 2H), 3,73 (s, 6H), 3,55-3,48 (m, 1H), 2,82-2,78 (m, 1H), 2,65-2,57 (m, 1H), 2,20-2,08 (m, 1H), 1,90-1,80 (m, 1H), 1,36 (d, J = 6,4 Hz, 3H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+$ = 380,10.



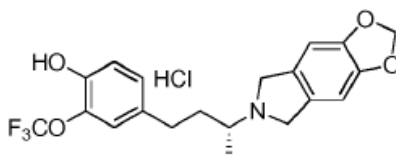
COMPUESTO DE EJEMPLO 21: ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 12,20 (s, 1H), 7,42 (dd, J_1 = 12,8 Hz, J_2 = 8,0 Hz, 1H), 7,33-7,30 (m, 2H), 7,23-7,18 (m, 2H), 7,15-7,05 (m, 2H), 4,88-4,72 (m, 2H), 4,70-4,55 (m, 2H), 3,60-3,50 (m, 1H), 2,80-2,70 (m, 1H), 2,65-2,52 (m, 1H), 2,22-2,10 (m, 1H), 1,90-1,82 (m, 1H), 1,42-1,35 (m, 3H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+$ = 288,15.



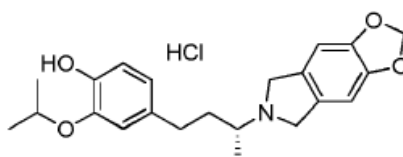
COMPUESTO DE EJEMPLO 22: ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 12,05 (s, 1H), 7,40-7,09 (m, 7H), 4,76-4,65 (m, 2H), 4,60-4,45 (m, 2H), 3,55-3,48 (m, 1H), 2,80-2,70 (m, 1H), 2,62-2,52 (m, 1H), 2,20-2,08 (m, 1H), 1,90-1,82 (m, 1H), 1,37 (d, J = 6,0 Hz, 3H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+$ = 288,15.



COMPUESTO DE EJEMPLO 23: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,29 (dd, J_1 = 8,0 Hz, J_2 = 6,4 Hz, 2H), 7,03 (t, J = 8,8 Hz, 2H), 6,85 (s, 2H), 6,00 (d, J = 2,4 Hz, 2H), 4,75-4,67 (m, 2H), 4,51-4,44 (m, 2H), 3,60-3,55 (m, 1H), 2,83-2,79 (m, 1H), 2,72-2,67 (m, 1H), 2,22-2,18 (m, 1H), 1,93-1,89 (m, 1H), 1,47 (d, J = 6,4 Hz, 3H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+$ = 314,20.

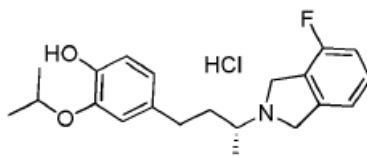


COMPUESTO DE EJEMPLO 24: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,12 (s, 1H), 7,08 (dd, J_1 = 8,4 Hz, J_2 = 2,0 Hz, 1H), 6,90 (d, 8,4 Hz, 1H), 6,84 (s, 2H), 6,00 (s, 2H), 4,75-4,50 (m, 4H), 3,58-3,53 (m, 1H), 2,81-2,73 (m, 1H), 2,65-2,58 (m, 1H), 2,22-2,18 (m, 1H), 1,93-1,82 (m, 1H), 1,45 (d, J = 6,4 Hz, 3H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+$ = 396,15.

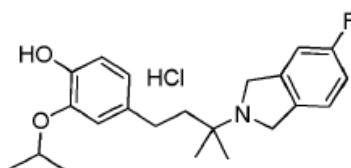


COMPUESTO DE EJEMPLO 25: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 6,91 (br, s, 3H), 6,81 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,76 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,06 (d, J = 2,8 Hz, 2H), 4,82-4,72 (m, 2H), 4,68-4,61 (m, 1H), 4,55-4,48 (m, 2H), 3,62-3,57 (, 1H),

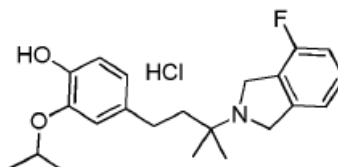
2,86-2,78 (m, 1H), 2,68-2,60 (m, 1H), 2,26-2,22 (m, 1H), 1,97-1,91 (m, 1H), 1,52 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 1,38 (d, J = 6,0 Hz, 6H); m/z (ESI+) (M+H)+ = 370,20.



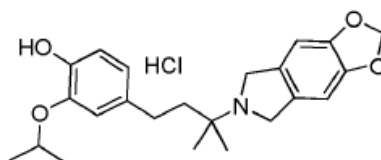
COMPUESTO DE EJEMPLO 26: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,45-7,41 (m, 1H), 7,21 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 7,17-7,11 (m, 1H), 6,84 (s, 1H), 6,74 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,69 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 4,82-4,50 (m, 5H), 3,61-3,56 (, 1H), 2,80-2,70 (m, 1H), 2,62-2,55 (m, 1H), 2,25-2,18 (m, 1H), 1,95-1,85 (m, 1H), 1,48 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 1,30 (d, J = 6,0 Hz, 6H); m/z (ESI+) (M+H)+ = 370,20.



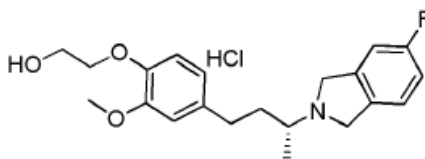
COMPUESTO DE EJEMPLO 27: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,41 (dd, J1 = 8,0 Hz, J2 = 4,8 Hz, 1H), 7,17 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,16-7,14 (m, 1H), 6,84 (d, J = 1,6 Hz, 1H), 6,74 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,71 (dd, J1 = 8,0 Hz, J2 = 1,6 Hz, 1H), 4,82-4,62 (m, 4H), 4,58-4,55 (m, 1H), 2,67-2,63 (m, 2H), 2,05-2,00 (m, 2H), 1,52 (s, 6H), 1,30 (d, J = 6,0 Hz, 6H); m/z (ESI+) (M+H)+ = 358,15.



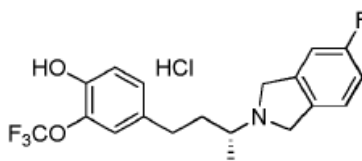
COMPUESTO DE EJEMPLO 28: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,49-7,43 (m, 1H), 7,24 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 7,16 (t, J 35 = 8,4 Hz, 1H), 6,85 (s, 1H), 6,74 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,71 (dd, J1 = 8,0 Hz, J2 = 1,6 Hz, 1H), 4,87-4,79 (m, 4H), 4,58-4,56 (m, 1H), 2,67-2,63 (m, 2H), 2,07-2,03 (m, 2H), 1,54 (s, 6H), 1,30 (d, J = 6,0 Hz, 6H); m/z (ESI+) (M+H)+ = 358,25.



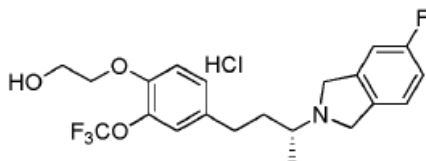
COMPUESTO DE EJEMPLO 29: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 6,84 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,83 (s, 2H), 6,73 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,70 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 5,98 (d, J = 2,4 Hz, 2H), 4,68-4,54 (m, 5H), 2,66-2,62 (m, 2H), 2,04-2,00 (m, 2H), 1,50 (s, 6H), 1,30 (d, J = 6,0 Hz, 6H); m/z (ESI+) (M+H)+ = 384,25.



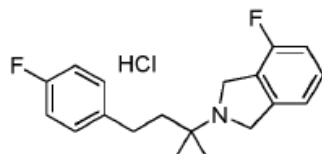
EXAMPLE COMPOUND 30: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,40 (dd, J1 = 8,0 Hz, J2 = 4,8 Hz, 1H), 7,16 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,15-7,12 (m, 1H), 6,92-6,90 (m, 2H), 6,80 (dd, J1 = 8,0 Hz, J2 = 2,0 Hz, 1H), 4,85-4,52 (m, 4H), 4,02-4,00 (m, 1H), 3,85 (s, 3H), 3,85-3,82 (m, 2H), 3,61-3,55 (m, 1H), 2,84-2,77 (m, 1H), 2,67-2,59 (m, 1H), 2,24-2,18 (m, 1H), 1,94-1,88 (m, 1H), 1,48 (d, J = 6,4 Hz, 3H); m/z (ESI+) (M+H)+ = 360,20.



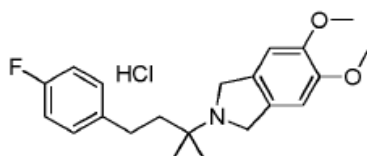
COMPUESTO DE EJEMPLO 31: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,38-7,34 (m, 1H), 7,14-7,08 (m, 3H), 7,04 (dd, J1 = 8,0 Hz, J2 = 2,0 Hz, 1H), 6,86 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 4,86-4,73 (m, 2H), 4,60-4,48 (m, 2H), 3,60-3,53 (m, 1H), 2,76-2,69 (m, 1H), 2,61-2,53 (m, 1H), 2,16-2,12 (m, 1H), 1,86-1,82 (m, 1H), 1,42 (d, J = 6,8 Hz, 3H); m/z (ESI+) (M+H)+ = 370,10.



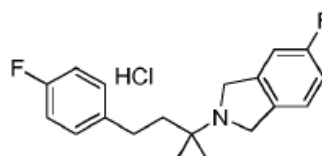
COMPUESTO DE EJEMPLO 32: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,42-7,38 (m, 1H), 7,24-7,11 (m, 5H), 4,92-4,80 (m, 2H), 4,68-4,55 (m, 2H), 4,10-4,07 (m, 2H), 3,88-3,86 (m, 2H), 6,64-3,60 (m, 1H), 2,85-2,75 (m, 1H), 2,72-2,60 (m, 1H), 2,24-2,18 (m, 1H), 1,98-1,88 (m, 1H), 1,49 (d, $J = 6,0$ Hz, 3H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+ = 414,20$.



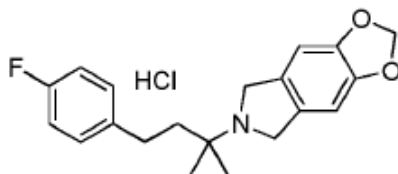
COMPUESTO DE EJEMPLO 33: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,46-7,41 (m, 1H), 7,32-7,29 (m, 2H), 7,23 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 7,13 (t, $J = 8,4$ Hz, 1H), 7,01 (t, 8,8 Hz, 2H), 4,86-4,80 (m, 4H), 2,78-2,73 (m, 2H), 2,12-2,08 (m, 2H), 1,56 (s, 6H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+ = 302,10$.



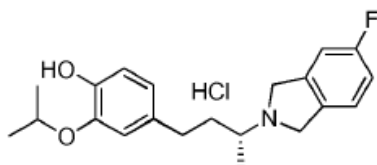
COMPUESTO DE EJEMPLO 34: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,31-7,27 (m, 2H), 7,03 (t, $J = 8,8$ Hz, 2H), 6,98 (s, 2H), 4,72 (d, $J = 13,6$ Hz, 2H), 4,61 (d, $J = 13,6$ Hz, 2H), 3,83 (6H), 2,81-2,72 (m, 2H), 2,07-1,98 (m, 2H), 1,56 (s, 6H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+ = 344,20$.



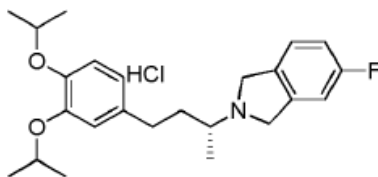
COMPUESTO DE EJEMPLO 35: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,43-7,40 (m, 2H), 7,32-7,27 (m, 2H), 7,20-7,14 (m, 2H), 7,03 (t, $J = 8,8$ Hz, 2H), 4,85-4,70 (m, 4H), 2,77-2,72 (m, 2H), 2,08-2,03 (m, 2H), 1,54 (s, 6H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+ = 302,20$.



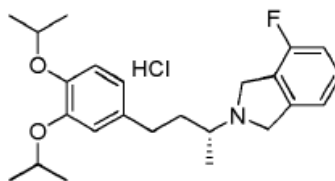
COMPUESTO DE EJEMPLO 36: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,29 (dd, $J_1 = 8,4$ Hz, $J_2 = 5,6$ Hz, 2H), 7,01 (t, $J = 8,4$ Hz, 2H), 6,83 (s, 2H), 4,67 (d, $J = 14,0$ Hz, 2H), 4,58 (d, $J = 14,0$ Hz, 2H), 2,78-2,71 (m, 2H), 2,07-2,03 (m, 2H), 1,53 (s, 6H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+ = 328,10$.



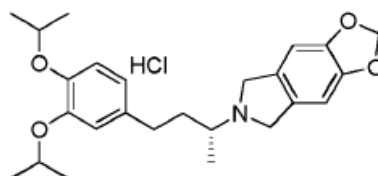
COMPUESTO DE EJEMPLO 37: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,38 (dd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 4,4$ Hz, 1H), 7,16-7,10 (m, 2H), 6,86 (s, 1H), 6,75 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 6,70 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 4,93-4,76 (m, 2H), 4,62-4,50 (m, 3H), 3,60-3,52 (m, 1H), 2,78-2,70 (m, 1H), 2,62-2,55 (m, 1H), 2,25-2,15 (m, 1H), 1,95-1,85 (m, 1H), 1,47 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H), 1,30 (d, $J = 6,4$ Hz, 6H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+ = 344,15$.



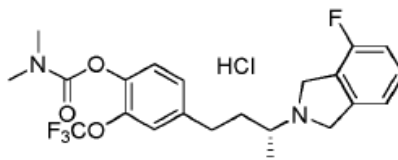
COMPUESTO DE EJEMPLO 38: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,39 (dd, $J_1 = 8,4$ Hz, $J_2 = 4,8$ Hz, 1H), 7,17-7,10 (m, 2H), 6,89(s, 1H), 6,88 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 6,81 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 4,92-4,83 (m, 2H), 4,58-4,42 (m, 4H), 3,60-3,55 (m, 1H), 2,80-2,70 (m, 1H), 2,65-2,55(m, 1H), 2,25-2,15 (m, 1H), 1,95-1,85 (m, 1H), 1,47 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H), 1,30-1,25 (m, 12H); m/z (ESI+) $(\text{M}+\text{H})^+ = 386,25$.



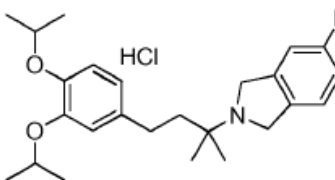
COMPUESTO DE EJEMPLO 39: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,46-7,40 (m, 1H), 7,22 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 7,12 (t, $J = 8,8$ Hz, 1H), 6,90(s, 1H), 6,89 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 6,82 (dd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz, 1H), 4,95-4,85 (m, 2H), 4,70-4,62 (m, 2H), 4,60-4,52 (m, 1H), 4,50-4,42 (m, 1H), 3,60-3,52 (m, 1H), 2,82-2,72 (m, 1H), 2,65-2,55(m, 1H), 2,28-2,18 (m, 1H), 1,95-1,88 (m, 1H), 1,49 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H), 1,30-1,25 (m, 12H); m/z (ESI+) $(\text{M}+\text{H})^+ = 386,70$.



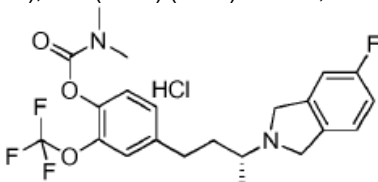
COMPUESTO DE EJEMPLO 40: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,26 (s, 1H), 6,84 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 6,72-6,65 (m, 4H), 6,00 (d, $J = 5,2$ Hz, 2H), 4,96-4,87 (m, 2H), 4,50-4,41 (m, 2H), 4,18-4,10 (m, 2H), 3,42-3,36(m, 1H), 2,77-2,74(m, 1H), 2,58-2,50 (m, 1H), 2,18-2,10 (m, 1H), 1,92-1,86 (m, 1H), 1,42 (d, $J = 5,6$ Hz, 3H), 1,30-1,25 (m, 12H); m/z (ESI+) $(\text{M}+\text{H})^+ = 412,30$.



COMPUESTO DE EJEMPLO 41: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,47-7,42 (m, 1H), 7,35-7,30 (m, 2H), 7,25-7,22 (m, 2H), 7,13 (t, $J = 8,8$ Hz, 1H), 5,01-4,91 (m, 2H), 4,72-4,65 (m, 2H), 3,72-3,65 (m, 1H), 3,12 (s, 3H), 2,98 (s, 3H), 2,92-2,85 (m, 1H), 2,80-2,70 (m, 1H), 2,30-2,20 (m, 1H), 2,02-1,95 (m, 1H), 1,52 (d, $J = 4,0$ Hz, 3H); m/z (ESI+) $(\text{M}+\text{H})^+ = 441,20$.

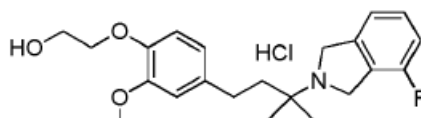


COMPUESTO DE EJEMPLO 42: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,43-7,40 (m, 1H), 7,19-7,16 (m, 2H), 6,89-6,87 (m, 2H), 6,82 (dd, $J_1 = 8,8$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz, 1H), 4,84-4,67 (m, 4H), 4,55-4,45 (m, 2H), 2,71-2,66 (m, 2H), 2,08-2,03 (m, 2H), 1,53 (s, 6H), 1,30-1,26 (m, 12H); m/z (ESI+) $(\text{M}+\text{H})^+ = 400,25$.

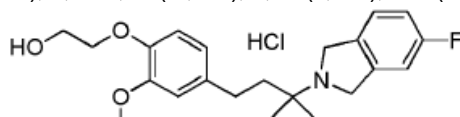


COMPUESTO DE EJEMPLO 43: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,46-7,38 (m, 1H), 7,36-7,32 (m, 2H), 7,26-7,22 (m, 1H), 7,20-7,12(m, 2H), 4,90-4,80 (m, 2H), 4,70-4,55 (m, 2H), 3,70-3,60 (m, 1H), 3,12 (s, 3H), 2,99 (s, 3H), 2,95-

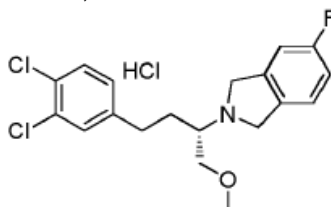
2,85 (m, 1H), 2,80-2,70 (m, 1H), 2,30-2,20 (m, 1H), 2,00-1,90 (m, 1H), 1,50 (d, J =6,0 Hz, 3H); m/z (ESI+) (M+H)⁺ = 441.15.



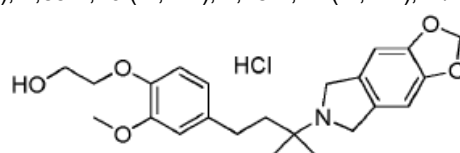
COMPUESTO DE EJEMPLO 44: ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,15 (s, 1H), 7,44-7,42 (m, 1H), 7,24-7,21 (m, 2H), 6,88-6,86 (m, 2H), 6,77-6,75 (m, 1H), 4,88-4,79 (m, 2H), 4,71-4,66 (m, 2H), 3,93-3,90 (m, 2H), 3,76 (s, 3H), 3,69-3,66 (m, 2H), 2,63-2,58 (m, 2H), 2,05-2,00 (m, 2H), 1,45 (s, 3H); m/z (ESI+) (M+H)⁺ = 347,15.



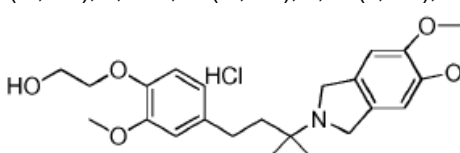
COMPUESTO DE EJEMPLO 45: ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 7,43-7,39 (m, 1H), 7,18-7,12 (m, 2H), 6,92-6,88 (m, 2H), 6,82-6,80 (m, 1H), 4,85-4,70 (m, 4H), 4,02-3,99 (m, 2H), 3,85-3,82 (m, 5H), 2,73-2,69 (m, 2H), 2,10-2,05 (m, 2H), 1,54 (s, 3H); m/z (ESI+) (M+H)⁺ = 374,15.



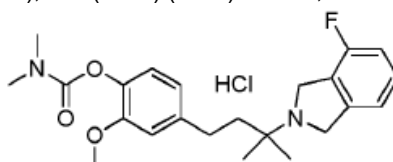
COMPUESTO DE EJEMPLO 46: ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 7,48 (d, J = 1,6 Hz, 1H), 7,46 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,44-7,38 (m, 1H), 7,23 (dd, J₁ = 8,0 Hz, J₂ = 2,0 Hz, 1H), 7,20-7,12 (m, 2H), 4,85-4,55 (m, 4H), 3,86-3,75 (m, 2H), 2,53-2,35 (m, 1H), 2,34 (s, 3H), 2,25-2,18 (m, 2H), 2,18-2,12 (m, 2H); m/z (ESI+) (M+H)⁺ = 368,05.



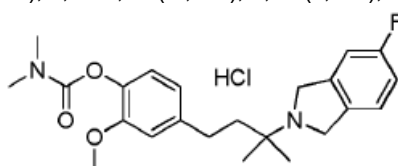
COMPUESTO DE EJEMPLO 47: ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 6,90-6,86 (m, 4H), 6,74 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,04 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 4,63 (dd, J₁ = 14,0 Hz, J₂ = 6,4 Hz, 2H), 4,46 (dd, J₁ = 14,0 Hz, J₂ = 6,4 Hz, 2H), 3,75 (s, 3H), 3,69-3,67 (m, 2H), 2,62-2,57 (m, 2H), 1,99-1,96 (m, 2H), 1,42 (s, 6H); m/z (ESI+) (M+H)⁺ = 400,15.



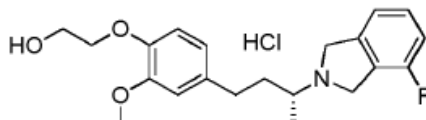
COMPUESTO DE EJEMPLO 48: ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 6,99 (br, s, 2H), 6,92-6,89 (m, 2H), 6,81 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 4,72 (d, J = 11,6 Hz, 2H), 4,62 (d, J = 11,6 Hz, 2H), 4,02-4,00 (m, 2H), 3,86-3,82 (m, 11 H), 2,73-2,68 (m, 2H), 2,09-2,05 (m, 2H), 1,53 (s, 6H); m/z (ESI+) (M+H)⁺ = 416,20.



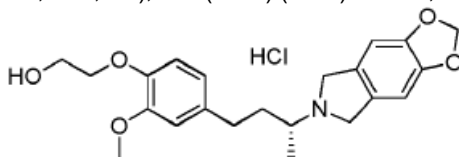
COMPUESTO DE EJEMPLO 49: ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,22 (br, s, 1H), 7,46-7,41 (m, 1H), 7,24-7,20 (m, 2H), 7,01 (s, 1H), 6,96 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,82 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 4,92-4,80 (m, 2H), 4,72-4,69 (m, 2H), 3,02 (s, 3H), 2,88 (s, 3H), 2,70-2,66 (m, 2H), 2,09-2,05 (m, 2H), 1,47 (s, 6H); m/z (ESI+) (M+H)⁺ = 401,20.



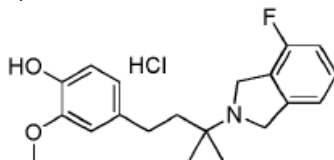
COMPUESTO DE EJEMPLO 50: ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 12,07 (br, s, 1H), 7,42-7,39 (m, 1H), 7,24-7,18 (m, 2H), 7,01-6,95 (m, 2H), 6,82 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 4,82-4,60 (m, 4H), 3,02 (s, 3H), 2,88 (s, 3H), 2,70-2,65 (m, 2H), 2,07-2,04 (m, 2H), 1,44 (s, 6H); m/z (ESI+) (M+H) $^+$ = 401,15.



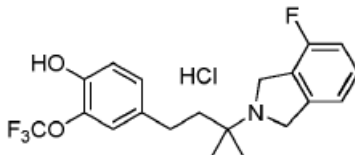
COMPUESTO DE EJEMPLO 51: ^1H NMR (400 MHz, CD $_3$ OD): δ 7,48-7,42 (m, 1H), 7,23 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 7,14 (t, J = 8,4 Hz, 1H), 6,92 (s, 1H), 6,90 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,80 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 5,01-4,89 (m, 2H), 4,69-4,63 (m, 2H), 4,03-4,00 (m, 2H), 3,86-3,83 (m, 5H), 3,64-3,60 (m, 1H), 2,86-2,78 (m, 1H), 2,67-2,60 (m, 1H), 2,30-2,20 (m, 1H), 1,98-1,90 (m, 1H), 1,50 (d, J = 6,0 Hz, 3H); m/z (ESI+) (M+H) $^+$ = 360,15.



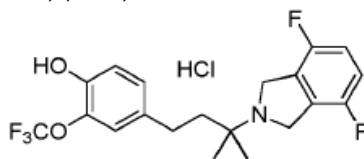
COMPUESTO DE EJEMPLO 52: ^1H NMR (400 MHz, CD $_3$ OD): δ 6,91 (s, 1H), 6,90 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,83 (s, 2H), 6,79 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 5,98 (d, J = 2,4 Hz, 2H), 4,75-4,66 (m, 2H), 4,49-4,42 (m, 2H), 4,02-3,99 (m, 2H), 3,86-3,79 (m, 5H), 3,50-3,44 (m, 1H), 2,82-2,75 (m, 1H), 2,66-2,58 (m, 1H), 2,25-2,18 (m, 1H), 1,95-1,86 (m, 1H), 1,46 (d, J = 6,4 Hz, 3H); m/z (ESI+) (M+H) $^+$ = 386,20.



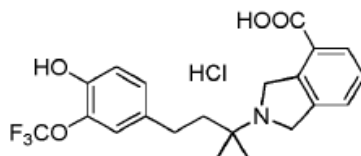
COMPUESTO DE EJEMPLO 53: ^1H NMR (400 MHz, CD $_3$ OD): δ 7,40-7,36 (m, 1H), 7,18 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 7,08 (t, J = 8,8 Hz, 1H), 6,86 (s, 1H), 6,73 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 6,68 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 3,58 (br, s, 4H), 4,81-4,75 (m, 3H), 3,82 (s, 3H), 2,67-2,63 (m, 2H), 2,10-2,06 (m, 2H), 1,52 (s, 6H); m/z (ESI+) (M+H) $^+$ = 330,10.



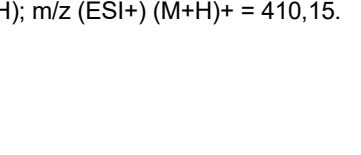
COMPUESTO DE EJEMPLO 54: ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 10,04 (s, 1H), 7,46-7,40 (m, 1H), 7,23-7,18 (m, 3H), 7,10 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,97 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 4,85-4,78 (m, 2H), 4,69-4,66 (m, 2H), 2,63-2,59 (m, 2H), 2,03-1,98 (m, 2H), 1,46 (s, 6H); m/z (ESI+) (M+H) $^+$ = 384,15.

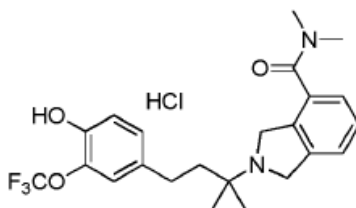


COMPUESTO DE EJEMPLO 55: ^1H NMR (400 MHz, CD $_3$ OD): δ 7,20 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 7,15 (s, 1H), 7,11 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,90 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 4,90-4,86 (m, 4H), 2,73-2,68 (m, 2H), 2,10-2,06 (m, 2H), 1,54 (s, 6H); m/z (ESI+) (M+H) $^+$ = 402,15.

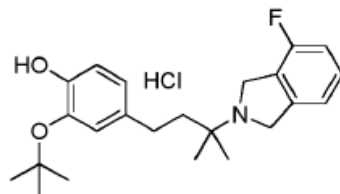


COMPUESTO DE EJEMPLO 56: ^1H NMR (400 MHz, CD $_3$ OD): δ 8,04 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 7,63 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 7,54 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 7,14 (s, 1H), 7,10 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 6,90 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 5,10-4,70 (m, 4H), 2,73-2,69 (m, 2H), 2,10-2,06 (m, 2H), 1,56 (s, 6H); m/z (ESI+) (M+H) $^+$ = 410,15.

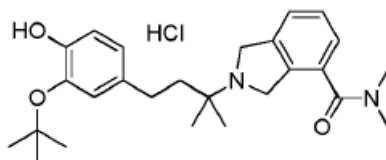




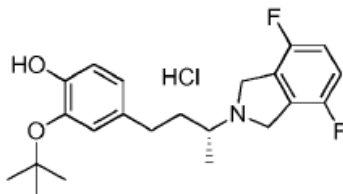
COMPUESTO DE EJEMPLO 57: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,48-7,38 (m, 3H), 7,12 (s, 1H), 7,10 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,90 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 4,81-4,71 (m, 4H), 3,09 9s, 3H), 209 (s, 3H), 2,71-2,66 (m, 2H), 2,07-2,03 (m, 2H), 1,62 (s, 6H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+$ = 437,25.



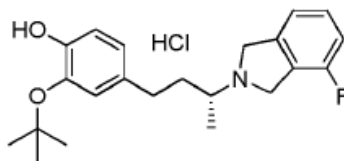
COMPUESTO DE EJEMPLO 58: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 8,07-8,05 (m, 1H), 7,66-7,54 (m, 2H), 6,90-6,78 (m, 3H), 5,20-4,80 (m, 4H), 2,67-2,60 (m, 2H), 2,07-2,00 (m, 2H), 1,55 (s, 6H), 1,35 (s, 9H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+$ = 398,25.



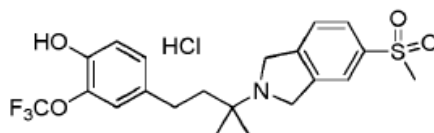
COMPUESTO DE EJEMPLO 59: ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 11,32 (s, 1H), 7,44-7,37 (m, 3H), 6,83-6,74 (m, 3H), 4,81-4,56 (m, 4H), 3,00 (s, 3H), 2,91 (s, 3H), 2,60-2,50 (m, 2H), 2,00-1,90 (m, 2H), 1,43 (s, 6H), 1,28 (s, 9H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+$ = 425,35.



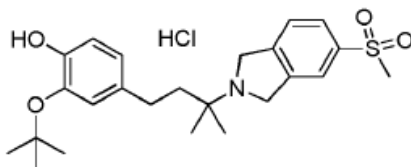
COMPUESTO DE EJEMPLO 60A: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,19 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 6,90 (s, 1H), 6,85 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 6,79 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 4,86-4,80 (m, 4H), 3,65-3,60 (m, 1H), 2,80-2,70 (m, 1H), 2,62-2,52 (m, 1H), 2,25-2,15 (m, 2H), 1,95-1,85 (m, 1H), 1,48 (d, J = 6,0 Hz, 3H), 1,36 (s, 9H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+$ = 376,2.



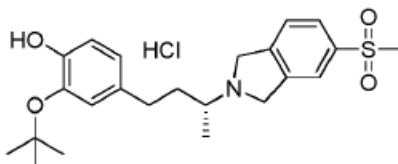
COMPUESTO DE EJEMPLO 60B: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,18-7,15 (m, 1H), 6,98 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 6,88-6,80 (m, 4H), 4,04-4,00 (m, 4H), 2,80-2,72 (m, 1H), 2,70-2,62 (m, 1H), 2,60-2,50 (m, 1H), 1,95-1,88 (m, 1H), 1,76-1,70 (m, 1H), 1,42 (s, 9H), 1,20 (d, J = 6,4 Hz, 3H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+$ = 358,25.



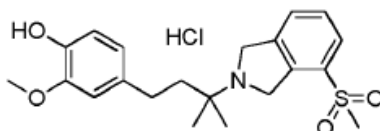
COMPUESTO DE EJEMPLO 61: ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 11,95 (br, s, 1H), 10,00 (br, s, 1H), 7,93 (s, 2H), 7,65-7,64 (m, 1), 7,22-7,09 (m, 2H), 6,92-6,90 (m, 1H), 4,85-4,75 (m, 4H), 3,23 (s, 3H), 2,65-2,60 (m, 2H), 2,02-1,95 (m, 2H), 1,45 (s, 6H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+$ = 444,20.



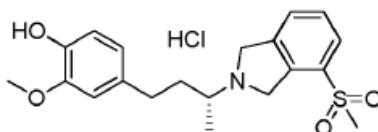
COMPUESTO DE EJEMPLO 62: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,80-7,78 (m, 2H), 7,40-7,38 (m, 1H), 6,87-6,78 (m, 3H), 4,18-4,10 (m, 4H), 3,02 (s, 3H), 2,62-2,56 (m, 2H), 1,80-1,60 (m, 2H), 1,45 (s, 9H), 1,20 (s, 6H); m/z (ESI+) $(\text{M}+\text{H})^+ = 432,25$.



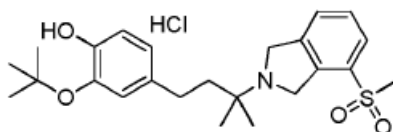
COMPUESTO DE EJEMPLO 63: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,98-7,95 (m, 1H), 7,63 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 6,90 (s, 1H), 6,85 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 6,79 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 4,90-4,80 (m, 4H), 3,66-3,60 (m, 1H), 3,12 (s, 3H), 2,80-2,72 (m, 1H), 2,65-2,55 (m, 1H), 2,25-2,15 (m, 1H), 1,95-1,85 (m, 1H), 1,47 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H), 1,36 (s, 9H); m/z (ESI+) $(\text{M}+\text{H})^+ = 418,20$.



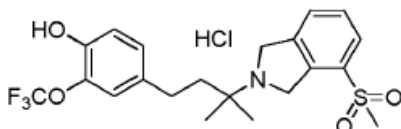
COMPUESTO DE EJEMPLO 64: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,97 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H), 7,78-7,68 (m, 2H), 6,88 (s, 1H), 6,72 (s, 2H), 5,09 (s, 2H), 4,85 (s, 2H), 3,85 (s, 3H), 3,20 (s, 3H), 2,73-2,70 (m, 2H), 2,13-2,10 (m, 2H), 1,58 (s, 6H); m/z (ESI+) $(\text{M}+\text{H})^+ = 390,15$.



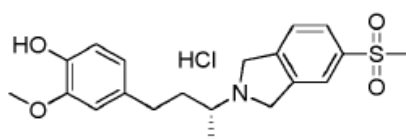
COMPUESTO DE EJEMPLO 65: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 8,75 (s, 1H), 7,85 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H), 7,74 (d, $J = 6,8$ Hz, 1H), 7,68 (d, $J = 6,8$ Hz, 1H), 6,83 (s, 1H), 6,70 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 6,64 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 5,05-4,60 (m, 4H), 3,76 (s, 3H), 3,60-3,50 (m, 1H), 3,40-3,30 (m, 2H), 2,72-2,65 (m, 1H), 2,20-2,10 (m, 1H), 1,90-1,80 (m, 1H), 1,45-1,40 (m, 3H); m/z (ESI+) $(\text{M}+\text{H})^+ = 376,10$.



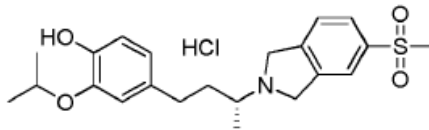
COMPUESTO DE EJEMPLO 66: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 8,55 (br, s, 1H), 7,86 (d, $J = 6,4$ Hz, 1H), 7,74-7,67 (m, 2H), 6,83-6,77 (m, 3H), 4,93 (s, 2H), 4,81-4,73 (m, 2H), 3,28 (s, 3H), 2,60-2,55 (m, 2H), 2,02-1,98 (m, 2H), 1,48-1,46 (m, 6H), 1,28 (s, 9H); m/z (ESI+) $(\text{M}+\text{H})^+ = 432,30$.



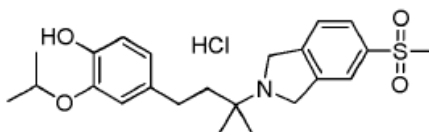
COMPUESTO DE EJEMPLO 67: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,93 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H), 7,76-7,66 (m, 2H), 7,15 (s, 1H), 7,11 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 6,91 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H), 5,05 (s, 2H), 4,82 (s, 2H), 3,20 (s, 3H), 2,75-2,70 (m, 2H), 2,30-2,00 (m, 2H), 1,57-1,56 (m, 6H); m/z (ESI+) $(\text{M}+\text{H})^+ = 444,15$.



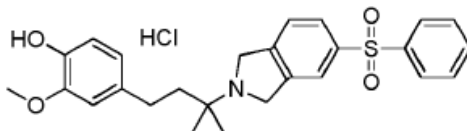
COMPUESTO DE EJEMPLO 68: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,98 (s, 2H), 7,66-7,63 (m, 1H), 6,84 (s, 1H), 6,75-6,69 (m, 2H), 4,83 (s, 4H), 3,85 (s, 3H), 3,63-3,59 (m, 1H), 3,13 (s, 3H), 2,82-2,76 (m, 1H), 2,66-2,58 (m, 1H), 2,24-2,21 (m, 1H), 1,96-1,91 (m, 1H), 1,49 (d, J = 6,4 Hz, 3H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+$ = 376,15.



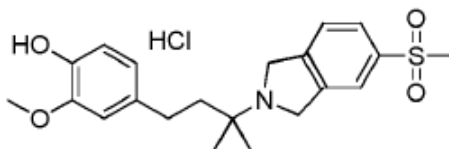
5 **COMPUESTO DE EJEMPLO 69:** ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,99 (s, 2H), 7,64 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,85 (s, 1H), 6,75 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,71 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 4,84 (s, 4H), 4,60-4,55 (m, 1H), 3,60-3,56 (m, 1H), 3,13 (s, 3H), 2,78-2,73 (m, 1H), 2,62-2,58 (m, 1H), 2,22-2,18 (m, 1H), 1,93-1,89 (m, 1H), 1,48 (d, J = 6,4 Hz, 3H), 1,31 (d, J = 6,0 Hz, 6H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+$ = 404,20.



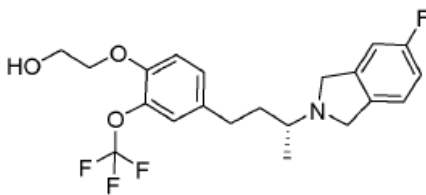
10 **COMPUESTO DE EJEMPLO 70:** ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 8,01 (s, 2H), 7,67 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,85 (s, 1H), 6,78-6,70 (m, 2H), 4,84 (s, 4H), 4,60-4,56 (m, 1H), 3,13 (s, 3H), 2,70-2,66 (m, 2H), 2,08-2,04 (m, 2H), 1,55 (s, 6H), 1,31 (d, J = 6,0 Hz, 6H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+$ = 418,25.



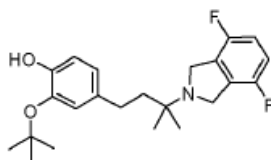
15 **COMPUESTO DE EJEMPLO 71:** ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,99-7,91 (m, 4H), 7,62-7,54 (m, 4H), 6,83 (s, 1H), 6,72-6,68 (m, 2H), 4,82 (s, 4H), 3,81 (s, 3H), 2,70-2,65 (m, 2H), 2,08-2,02 (m, 2H), 1,51 (s, 6H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+$ = 452,00.



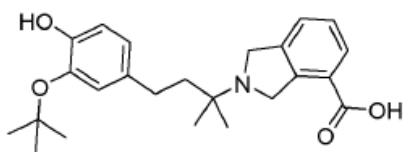
20 **COMPUESTO DE EJEMPLO 72:** ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 8,00 (s, 1H), 7,86 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,85 (s, 1H), 6,74-6,70 (m, 2H), 4,85 (s, 4H), 3,85 (s, 3H), 3,13 (s, 3H), 2,72-2,68 (m, 2H), 2,10-2,06 (m, 2H), 1,56 (s, 6H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+$ = 390,15.



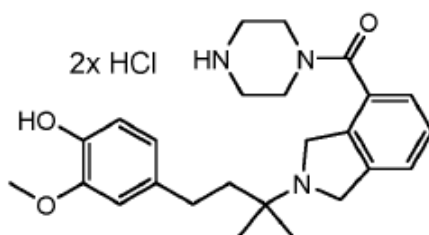
COMPUESTO DE EJEMPLO 73.



25 **COMPUESTO DE EJEMPLO 74:** ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,03-6,99 (m, 2H), 6,88-6,83 (m, 2H), 6,78-6,75 (m, 1H), 4,80-4,65 (m, 4H), 2,65-2,60 (m, 2H), 2,03-1,99 (m, 2H), 1,52 (s, 6H), 1,40 (s, 9H); m/z (ESI+) ($M+H$) $^+$ = 390,20.



COMPUESTO DE EJEMPLO 75: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 8,07-8,05 (m, 1H), 7,66-7,54 (m, 2H), 6,90-6,78 (m, 3H), 5,20-4,80 (m, 4H), 2,67-2,60 (m, 2H), 2,07-2,00 (m, 2H), 1,55 (s, 6H), 1,35 (s, 9H); m/z (ESI+) (M+H) $^+$ = 398,25.

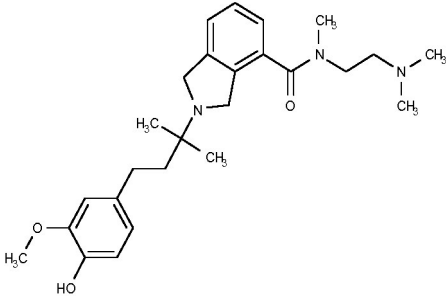
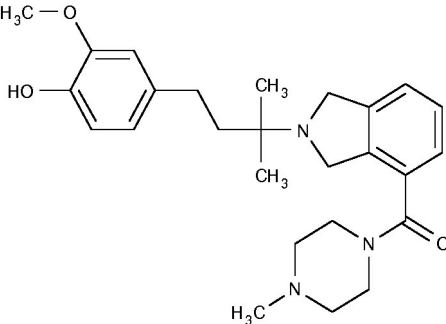
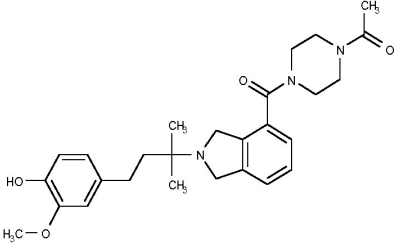
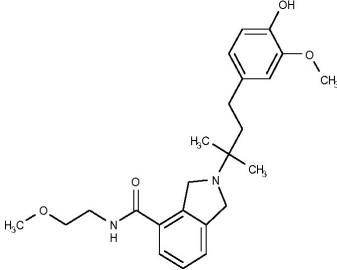
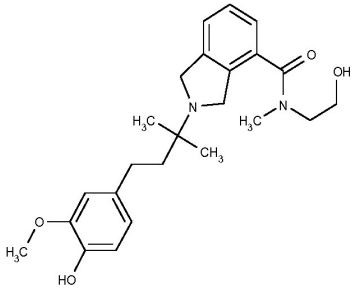
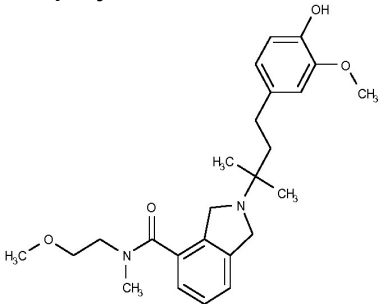
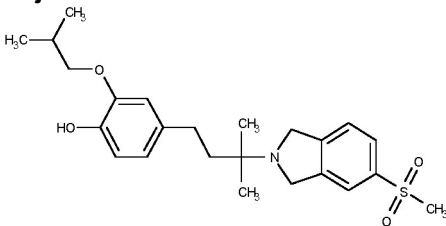
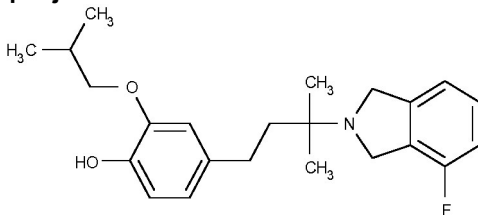
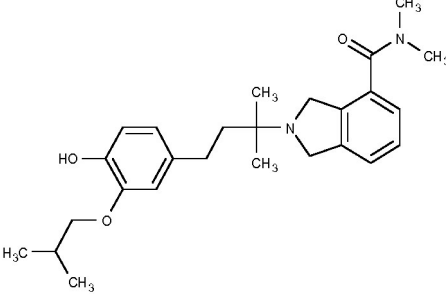
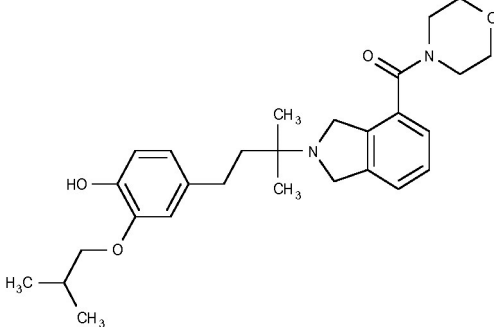


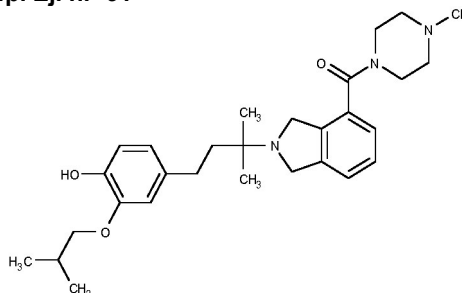
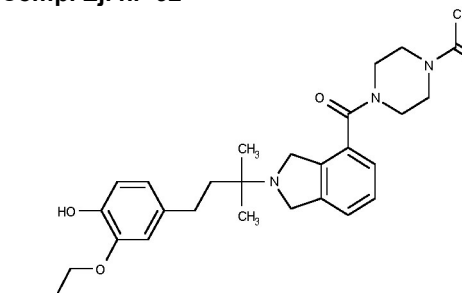
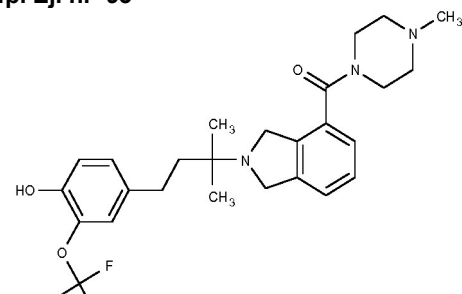
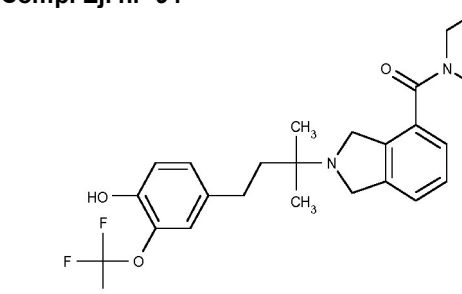
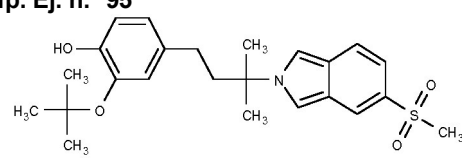
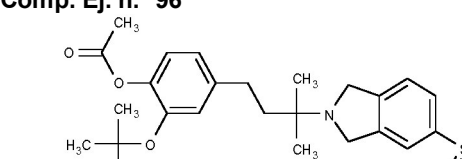
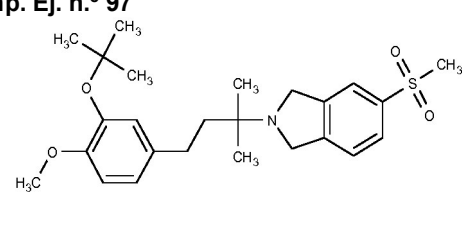
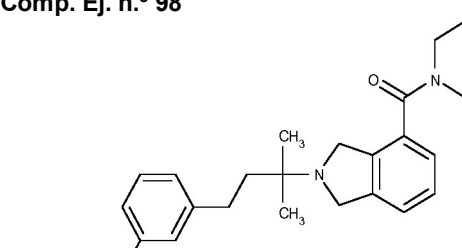
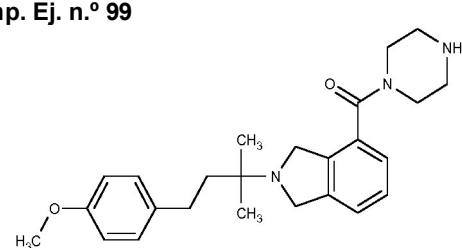
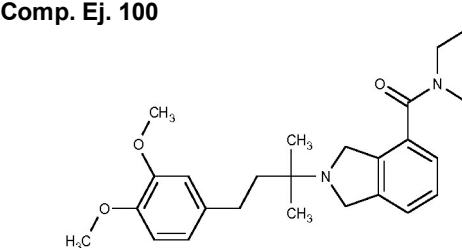
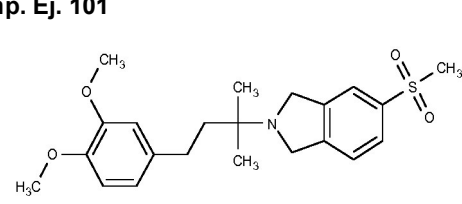
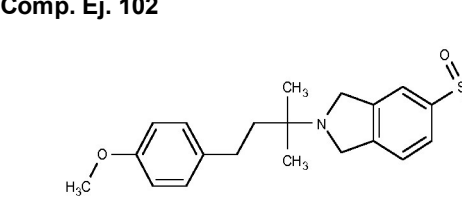
COMPUESTO DE EJEMPLO 76: ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7,55-7,48 (m, 3H), 6,87 (s, 1H), 6,72-6,70 (m, 2H), 4,95-4,79 (m, 4H) 3,90-3,80 (m, 7H), 3,35-3,30 (m, 4H), 2,72-2,69 (m, 2H), 2,12-2,08 (m, 2H), 1,56 (s, 6H), LC-MS: 424,70 (M+1) $^+$.

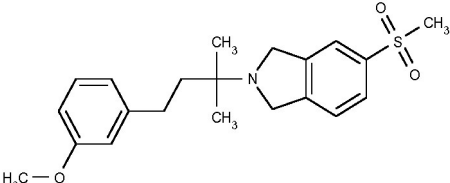
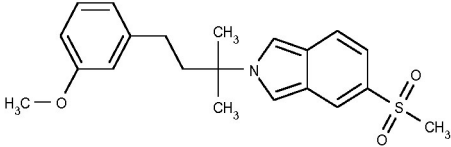
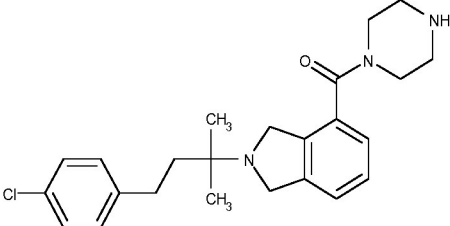
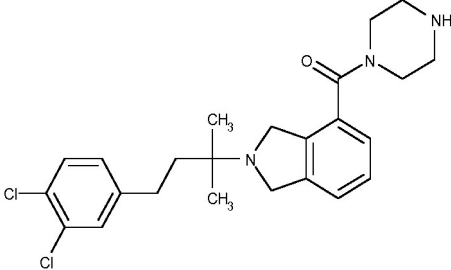
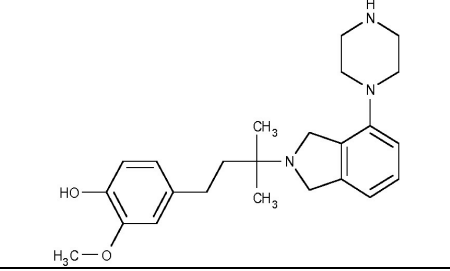
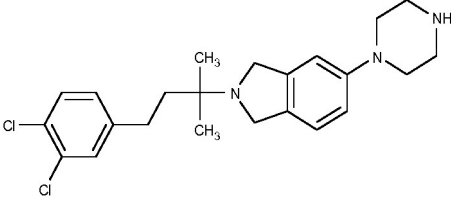
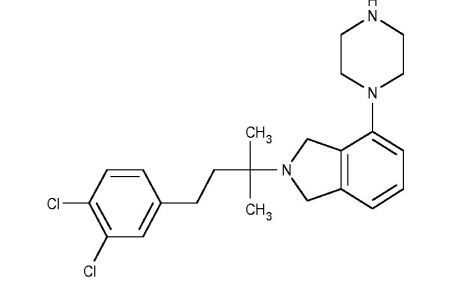
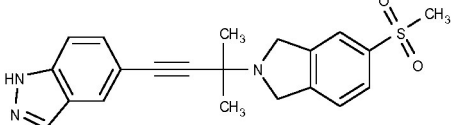
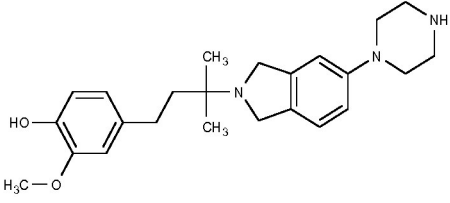
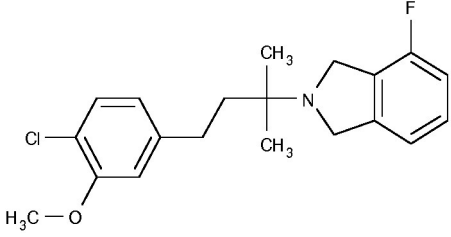
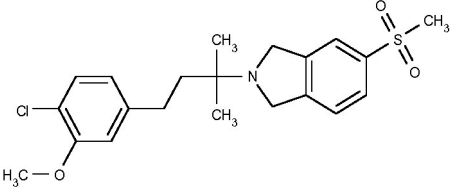
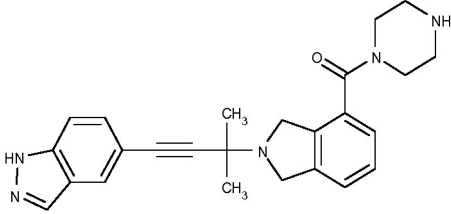
[0527] Se prepararon compuestos adicionales de una manera análoga a aquellos proporcionados anteriormente y la estructura correspondiente a cada uno se confirmó por ^1H -NMR y MS, según se muestra en la Tabla 4.

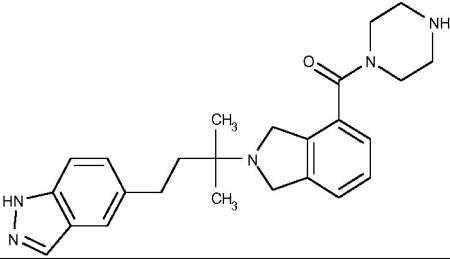
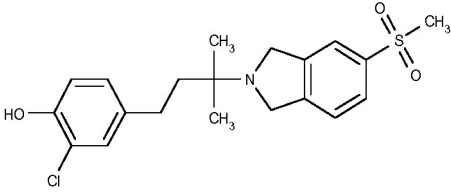
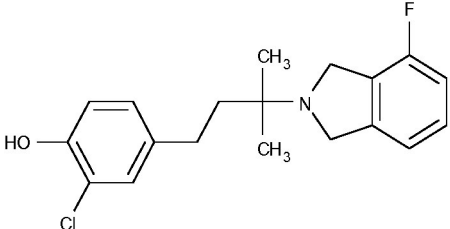
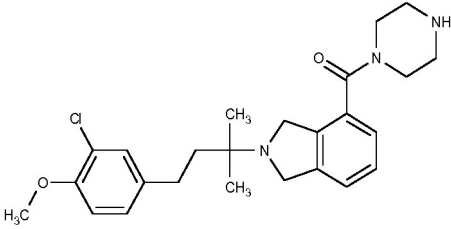
Tabla 4. Compuestos de isoindolina adicionales.

Estructura	Estructura
Comp. Ej. n.º 77 	Comp. Ej. n.º 78
Comp. Ej. n.º 79 	Comp. Ej. n.º 80

Estructura Comp. Ej. n.º 81 	Estructura Comp. Ej. n.º 82 
Comp. Ej. n.º 83 	Comp. Ej. n.º 84 
Comp. Ej. n.º 85 	Comp. Ej. n.º 86 
Comp. Ej. n.º 87 	Comp. Ej. n.º 88 
Comp. Ej. n.º 87 	Comp. Ej. n.º 90 

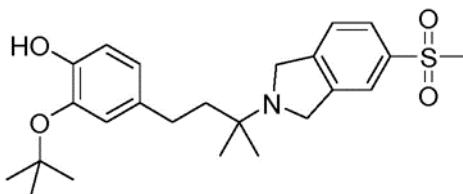
Estructura	Estructura
Comp. Ej. n.º 91 	Comp. Ej. n.º 92 
Comp. Ej. n.º 93 	Comp. Ej. n.º 94 
Comp. Ej. n.º 95 	Comp. Ej. n.º 96 
Comp. Ej. n.º 97 	Comp. Ej. n.º 98 
Comp. Ej. n.º 99 	Comp. Ej. 100 
Comp. Ej. 101 	Comp. Ej. 102 

Estructura Comp. Ej. 103 	Estructura Comp. Ej. 104 
Comp. Ej. 105 	Comp. Ej. 106 
Comp. Ej. 107 	Comp. Ej. 108 
Comp. Ej. 109 	Comp. Ej. 110 
Comp. Ej. 111 	Comp. Ej. 112 
Comp. Ej. 113 	Comp. Ej. 114 

Estructura	Estructura
Comp. Ej. 115 	Comp. Ej. 116 
Comp. Ej. 117 	Comp. Ej. 118 

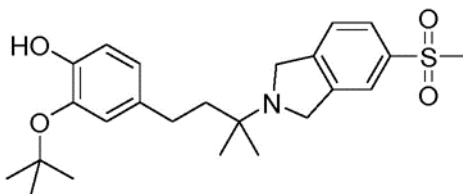
REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

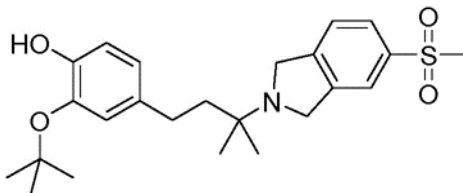
2. Composición que comprende un compuesto de fórmula:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

3. Composición para su uso en un método de inhibición de declive cognitivo en un sujeto que presenta, o se encuentra en riesgo de presentar, declive cognitivo, que comprende inhibir un efecto beta amiloide en una célula neuronal, que comprende:

un compuesto de fórmula:

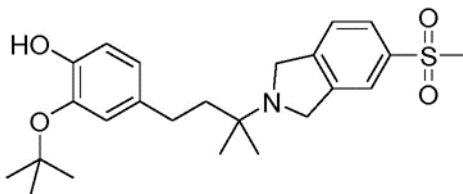


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable,

en donde el compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, está en una cantidad eficaz para inhibir la unión de oligómeros de beta amiloide en dicha célula.

4. Composición para uso de la reivindicación 3, en la que el declive cognitivo está asociado a un efecto de oligómeros de beta amiloide en neuronas centrales.
5. Composición para uso de la reivindicación 3, para usarse en un método de tratamiento de deterioro cognitivo leve en la enfermedad de Alzheimer.

6. Compuesto de fórmula:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en un método de tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

7. Compuesto de la reivindicación 1, en donde la sal farmacéuticamente aceptable se selecciona del grupo consistente en sales clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, nitrato, sulfato, bisulfato, fosfato, fosfato ácido, isonicotinato, acetato, lactato, salicilato, citrato, tartrato, pantotenato, bitartrato, ascorbato, succinato, maleato, gentisinato, fumarato, gluconato, glucaronato, sacarato, formiato, benzoato, glutamato, metanosulfonato, etanosulfonato, bencensulfonato, p-toluensulfonato y pamoato.