(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 728 870**

(51) Int. CI.:

C07J 71/00 (2006.01)
A61K 31/58 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.11.2014 PCT/US2014/067436**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **28.05.2015 WO15077780**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.11.2014 E 14812105 (6)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.01.2019 EP 3074414**

(54) Título: **Witanólidos útiles para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas**

(30) Prioridad:

25.11.2013 US 201361908455 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
29.10.2019

(73) Titular/es:

IMSTAR THERAPEUTICS INC. (50.0%)
1285 West Broadway, Suite 600
Vancouver, British Columbia V6H 3X8, CA y
UNIVERSITÉ LAVAL (50.0%)

(72) Inventor/es:

SHAW, ANTHONY A.;
JULIEN, JEAN-PIERRE y
CHAN, AGNES H.

(74) Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

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

Witanólidos útiles para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas

Antecedentes

Campo técnico

Esta solicitud se relaciona con análogos sintéticos de productos naturales de witanólidos y sus usos farmacéuticos.

Descripción de la técnica relacionada

Las enfermedades neurodegenerativas se caracterizan por una neurodegeneración selectiva en regiones específicas del cerebro y la médula espinal. La esclerosis lateral amiotrófica (ALS), comúnmente conocida como "enfermedad de Lou Gehrig", es una enfermedad neurodegenerativa progresiva de etiología desconocida. La enfermedad afecta progresivamente la capacidad de un individuo para controlar el movimiento muscular voluntario. La enfermedad tiende a progresar rápidamente, lo que lleva a parálisis y muerte dentro de los 2 a 5 años del diagnóstico en la mayoría de los casos. Actualmente hay pocas opciones terapéuticas para los pacientes que sufren de ALS. El único fármaco aprobado por la FDA para el tratamiento de ALS es Rilutek®, introducido en 1995, que prolonga por algunos meses la esperanza de vida en personas con ALS.

Se han avanzado varias hipótesis con respecto a la patogénesis de la ALS. Una es que el glutamato, el neurotransmisor excitador más abundante en el sistema nervioso central (CNS), causa la muerte de las células neuronales cuando sus niveles se elevan crónicamente. Se ha demostrado que los niveles de glutamato están elevados en pacientes con ALS (A. Platitakis and J.T. Caroscio, Ann. Neurol. 1987, 22:5575-579). El estrés oxidativo es otra área de enfoque en la investigación de ALS. La importancia potencial de la disfunción antioxidante fue desencadenada por el descubrimiento de que las mutaciones de la superóxido dismutasa (SOD)1 están asociadas con la forma familiar de ALS (D.R. Rosen et al., 1993, Nature, 362:59-62) que representan aproximadamente el 20% de los casos. Un mecanismo autoinmune es otra patogénesis potencial de la ALS (M.R. Pagani et al. Neurol. Res. Int., 2011, 2011:497080). El plegamiento incorrecto y la agregación anormales de proteínas han ganado reconocimiento recientemente como un mecanismo patógeno subyacente en la ALS y en varias otras enfermedades neurodegenerativas. Las proteínas intracelulares que exhiben un plegamiento incorrecto conformacional en ALS incluyen SOD1 y la proteína 43 de enlace a ADN (TDP-43) de respuesta transactiva (TAR).

Hace varios años se demostró que las anomalías en TDP-43, una proteína nuclear altamente conservada, estaban estrechamente asociadas con la ALS (T. Arai et al, 2006, Biochem. Biophys. Res. Commun., 351:602-611). En células nerviosas sanas, la distribución intracelular de TDP-43 está restringida a la región nuclear. Sin embargo, en las células neuronales afectadas por ALS, el TDP-43 también estuvo presente de manera prominente dentro de los agregados citoplasmáticos. Además, se demostró que el TDP-43 asociado a neuropatología estaba fosforilado atípicamente, ubiquitinado ampliamente y se escindía proteolíticamente para generar fragmentos del extremo carboxilo en las regiones cerebrales afectadas (M. Neumann et al., 2006, Science 314:130-133). Por lo tanto, los patrones de acumulación de TDP-43 modificados, así como las anomalías en el procesamiento intracelular, se propusieron como contribuyentes a los cambios degenerativos de las células neuronales en la ALS. Estas y otras anomalías relacionadas con el TDP-43 se denominan aquí como proteinopatías TDP-43.

Un descubrimiento relativamente reciente relacionado con TDP-43 ha proporcionado información fundamental sobre los mecanismos patógenos operativos en la ALS. Los estudios realizados en la Universidad Laval mostraron que el TDP-43 se asoció inesperadamente con la subunidad p65 del factor de transcripción, factor nuclear κB (NF-κB), regulador de la inflamación en muestras de médula espinal obtenidas de pacientes con ALS (V. Swarup et al., 2011, J. Exp. Med., 208:2429-2447).

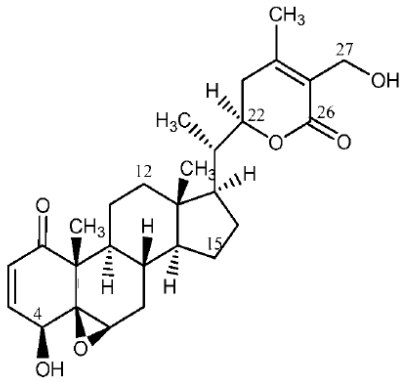
La activación de la vía de señalización de NF-KB se desencadena por un número de estímulos que incluyen especies reactivas de oxígeno, diversas citoquinas proinflamatorias que incluyen interleucina-1 (IL-1) y factor de necrosis tumoral α (TNFα), así como diferentes productos bacterianos (S. Vallabhapurapu and M. Karin, 2009, Annu. Rev. Immunol., 27:693-733; L. Verstrepen et al., 2008, Cell. Mol. Life Sci. 65:2964-29678). La actividad de NF-KB está restringida principalmente por su interacción física con las proteínas IκB inhibitorias. En células en reposo, la NF-KB está presente como un complejo latente, inactivo, enlazado a IκB en el citoplasma. Cuando una célula recibe un nivel de umbral de una de estas señales, la NF-KB se libera rápidamente de IKB, ingresa al núcleo y activa la transcripción de genes específicos, muchos de los cuales codifican proteínas reguladoras proinflamatorias y de respuesta inmune. Casi todas las señales que desencadenan la vía de señalización de NF-KB convergen en la activación de un complejo molecular que contiene una quinasa IKB específica de residuo de serina (IKK) (M. Adli et al., 2010, PLoS One, 5: e9428). En la vía clásica de NF-KB, la activación del complejo IKK conduce a la fosforilación mediada por IKKβ de dos serinas específicas cerca del extremo N de IκBα, que posteriormente se dirige a IκBα para la ubiquitinación y degradación intracelular por el complejo del proteasoma 26S (Vallabhapurapu 2009 op cit.; M. Adli 2010 op cit.). La activación de la vía de señalización de NF-KB es generalmente un evento celular transitorio y está fuertemente regulado (Vallabhapurapu 2009 op cit).

Se demostró que TDP-43 y la cadena p65 de NF-κB han sido coinmunoprecipitados en sistemas de cultivo celular,

extractos de médula espinal de ratones transgénicos TDP-43 y muestras de médula espinal preparadas a partir de pacientes con ALS postmortem, pero no de muestras de control emparejadas (Swarup 2011 op. cit.). En muestras de médula espinal de ratón y humano, p65 tendió a colocalizarse con TDP-43 en los núcleos de microglia, astrocitos y neuronas. Los niveles de ARNm de TDP-43 fueron sobrerregulados en 2,5 veces, mientras que el ARNm de NF-κB fue sobrerregulado en aproximadamente cuatro veces en muestras de médula espinal ALS en comparación con el material del sujeto control (Swarup 2011 op. cit.). Los ensayos de desplazamiento en gel confirmaron que la cadena p65 de NF-κB p65 era más probable que se enlazara a su secuencia de consenso del ADN informador en presencia de TDP-43. Además, la sobreexpresión de TDP-43 aumentó la producción de citoquinas proinflamatorias, lo que aumentó la susceptibilidad neuronal a los elementos neurotóxicos. Los estudios de mapeo de la proteína de mutación por eliminación revelaron que el TDP-43 interactuaba con el componente de la cadena p65 de NF-κB a través de su dominio N-terminal y el motivo de reconocimiento de ARN (RMM-1) (Swarup 2011 op. cit.). La inhibición de NF-κB atenuó la vulnerabilidad de las neuronas cultivadas que sobreexpresan TDP-43 a la toxicidad inducida por glutamato o mediada por células microgliales.

La intervención farmacológica con witaferina A (WA) atenuó los síntomas de la enfermedad y mejoró la disfunción motora en ratones transgénicos TDP-43. Se demostró que WA inhibe la activación inducida por TNFα de la IκB quinasa β (IKKβ) a través de un mecanismo redox sensible a la tioalquilación (W. Vanden Berghe et al., 2012, Biochem. Pharmacol., 84:1282-12891). La hiperfosforilación de IKKβ Ser-181 inducida por WA condujo a la inhibición de la fosforilación y degradación de IκBα que impidió la translocación de NF-κB, el enlace de NF-κB/ADN y la transcripción génica (M. Kaileh et al., 2007, J. Biol. Chem., 282:4253-4264).

La witaferina A (WA) fue el primer compuesto de tipo witanólidos aislado de las hojas de la planta de Witania somnífera.



Witaferina A (WA)

Este compuesto se ha destacado por sus actividades antiinflamatorias, antitumorales, antiangiogénicas e inmunosupresoras. WA es un miembro del grupo de los witanólidos, que generalmente se describen como un grupo de triterpenoides de lactona esteroidea C28 de origen natural construidos en un marco de ergostano intacto o reordenado, en el que C-22 y C-26 se oxidan adecuadamente para formar un anillo de lactona de seis miembros (M.H. Mirjalili et al., Molecules 2009, 14(7):2373-2393). Numerosos análogos de WA se han purificado a partir de material vegetal que contiene witanólidos, sintetizado o preparado semisintéticamente a partir de material de partida WA (publicación de Estados Unidos No. 2011/0230551).

La WA se ha propuesto como un tratamiento para enfermedades neurodegenerativas, como la ALS, la degeneración lobular frontotemporal, la enfermedad de Parkinson y la enfermedad de Alzheimer (documento WO2012/174666) y se ha demostrado que la WA es eficaz para mejorar la progresión de la enfermedad en modelos de ratón de ALS. Se ha demostrado un efecto terapéutico in vivo de WA a través de la inhibición de NF-κB en cuatro modelos de ALS reconocidos de ratones transgénicos.

Aunque WA es un agente terapéutico prometedor para el tratamiento de la ALS y otras enfermedades neurodegenerativas, tiene una vida media corta cuando se administra in vivo, así como cierta toxicidad. Por lo tanto, existe la necesidad de novedosos compuestos con perfiles farmacocinéticos, de biodistribución y seguridad mejorados.

Breve descripción de las varias vistas de los dibujos

La Figura 1A muestra imágenes bioluminiscentes de los cerebros de ratones transgénicos GFAP-luciferasa después de la exposición al lipopolisacárido (LPS) seguido de tratamiento con solución salina o con compuesto witanólidos 4-O-metil WA o 27-O-metil WA.

La Figura 1B es un gráfico de barras que muestra la intensidad relativa de la bioluminiscencia de las imágenes de cerebro de la Figura 1A.

La Figura 2 incluye gráficos de barras que muestran el efecto de diferentes concentraciones de witanólidos 4-O-metil

WA, 27-O-metil WA y 4,27-O-dimetil A sobre la actividad informadora de NF-κB en células microgliales BV2 estimuladas con LPS.

La Figura 3 incluye gráficos de barras que muestran el efecto de diferentes concentraciones de witanólidos 4-O-metil WA, 27-O-metil WA y 4,27-O-dimetil WA sobre la sobrerregulación de la actividad de señalización inducida por TNF-α en la línea celular informadora HEK^{293}-NF-κB-luciferasa.

La Figura 4A muestra el desempeño Rotarod acelerado de ratones TDP-43 A315T tratados con vehículo, 4-O-Metil WA o análogos de 27-O-Metil WA durante un período de 15 semanas.

La Figura 4B muestra el análisis de regresión lineal de los datos en la Figura 4A.

Resumen

Aquí se describen análogos semisintéticos de witaferina A y métodos para usar los análogos para la profilaxis o el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas o afecciones como la esclerosis lateral amiotrófica (ALS), la degeneración lobular frontotemporal (FTLD), la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer y discapacidad cognitiva leve.

El documento US 2012/196815 describe supuestamente nuevos witanólidos, así como sus análogos y sales, para uso en el tratamiento de enfermedades proliferativas, enfermedades cardiovasculares, enfermedades neurodegenerativas y enfermedades inflamatorias.

El documento WO 2010/030395 describe una clase supuestamente nueva de witanólidos aislados de W. somnifera bajo condiciones aeropónicas o producidas semisintéticamente a partir de productos naturales de witanólidos. También describe composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos y métodos para usarlos en enfermedades proliferativas, enfermedades neurodegenerativas, autoinmunes y enfermedades inflamatorias.

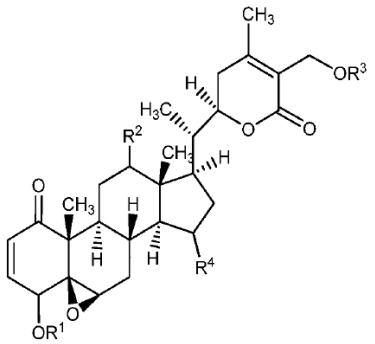
El documento WO 2010/053655 describe cómo los compuestos de Fórmulas 1 (witaferina A, también conocida como D004), 2 (viscosalactona B, también conocida como E002) y 3 (22R-5β-formil-6β,27-dihidroxil-1-oxo-4-norwith-24-enólido, también conocido como O010), así como sales, profármacos, análogos y derivados de estos son biológicamente activos para modular Hsp70, Hsp90 y/o HSF1. También describió composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos para la administración a un sujeto para modular la expresión o actividad de Hsp70, Hsp90 y/o HSF1 con el fin de producir un efecto terapéutico.

El documento WO 2012/174666 describe métodos y usos para el diagnóstico de un sujeto predispuesto o sospechoso de desarrollar una enfermedad neurodegenerativa o que padece una enfermedad neurodegenerativa. Además, describe métodos de tratamiento de sujetos que padecen enfermedades neurodegenerativas con compuestos de witanólidos.

Todos los compuestos relevantes divulgados en los documentos anteriores son el 4,27-diol original o sus ésteres en las posiciones 4 y/o 27.

Compendio

En un primer aspecto, la invención proporciona un compuesto de Fórmula (I):



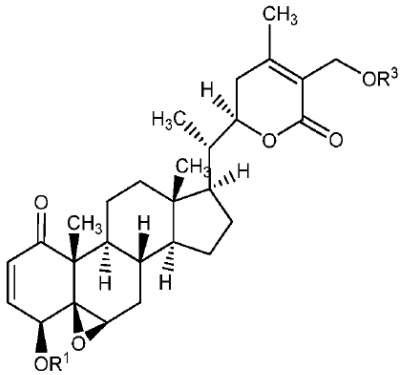
en donde:

R^1 es hidrógeno o alquilo;
R^2 es hidrógeno, alquilo, alquenilo, haloalquilo, $-OR^b$ o $-OC(O)R^b$;
R^3 es hidrógeno o alquilo;
R^4 es hidrógeno, alquilo, alquenilo, haloalquilo, $-OR^b$ o $-OC(O)R^b$; y
R^b es hidrógeno, alquilo, alquenilo, haloalquilo, aralquilo, cicloalquilalquilo o heterociclilalquilo,

como un estereoisómero aislado o una mezcla de estos, o una sal farmacéuticamente aceptable de estos, siempre que al menos uno de R^1 y R^3 sea alquilo.

En algunas realizaciones, R^1 y R^3 son independientemente hidrógeno o metilo.

En algunas realizaciones, R^2 y R^4 son cada uno hidrógenos, y el compuesto tiene una estructura representada por la Fórmula (Ia):



Fórmula (I'a)

En algunas realizaciones, el compuesto tiene una estructura representada por la Fórmula (Ia) y R^1 es metilo y R^3 es hidrógeno.

En algunas realizaciones, el compuesto tiene una estructura representada por la Fórmula (Ia) y R^1 es hidrógeno y R^3 es metilo.

En algunas realizaciones, el compuesto tiene una estructura representada por la Fórmula (Ia) y R^1 es metilo y R^3 es metilo.

En un aspecto adicional, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto del primer aspecto y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

En un aspecto adicional, la invención proporciona un compuesto de acuerdo con el primer aspecto para uso en un método para tratar o prevenir una enfermedad caracterizada por la proteinopatía TDP-43 en un paciente, cuyo método comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de dicho compuesto.

En un aspecto adicional, la invención proporciona un compuesto de acuerdo con el primer aspecto para uso en un método para tratar o prevenir la esclerosis lateral amiotrófica en un paciente, cuyo método comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de dicho compuesto.

En un aspecto adicional, la invención proporciona un compuesto de acuerdo con el primer aspecto para uso en un método para tratar o prevenir la enfermedad de Alzheimer en un paciente, cuyo método comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de dicho compuesto.

En un aspecto adicional, la invención proporciona un compuesto de acuerdo con el primer aspecto para uso en un método para tratar o prevenir la enfermedad de Parkinson en un paciente, cuyo método comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de dicho compuesto.

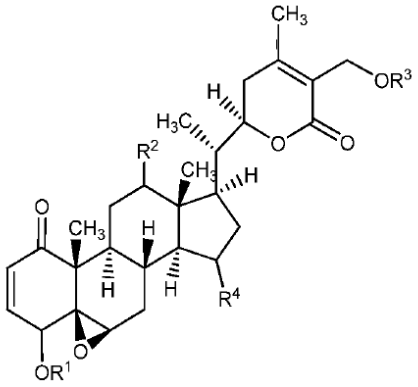
En un aspecto adicional, la invención proporciona un compuesto de acuerdo con el primer aspecto para uso en un método para tratar o prevenir la enfermedad de las neuronas motoras en un paciente, cuyo método comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de dicho compuesto.

En un aspecto adicional, la invención proporciona un compuesto de acuerdo con el primer aspecto para uso en un método para tratar o prevenir la degeneración lobular frontotemporal en un paciente, cuyo método comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de dicho compuesto.

En un aspecto adicional, la invención proporciona un compuesto de acuerdo con el primer aspecto para uso en un método para tratar o prevenir un deterioro cognitivo leve o prevenir el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer en un paciente que presenta un deterioro cognitivo leve, cuyo método comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de dicho compuesto.

Descripción detallada

Aquí también se describen compuestos de Fórmula (I):

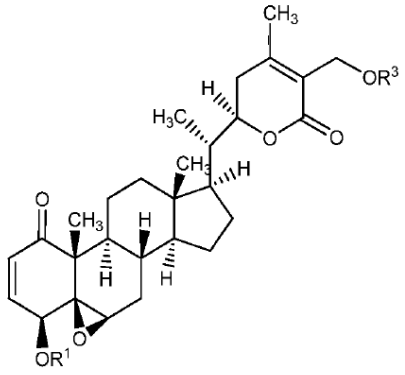


Fórmula (I)

en donde:

R^1 es hidrógeno, alquilo, alquenilo, haloalquilo, aralquilo, heterociclilalquilo, $-R^a-OR^b$, $-C(O)R^b$, cicloalquilalquilo o $-P(O)_2O^2-$;
R^2 es hidrógeno, alquilo, alquenilo, haloalquilo, $-OR^b$ o $-OC(O)R^b$;
R^3 es hidrógeno, alquilo, alquenilo, haloalquilo, aralquilo, heterociclilalquilo, $-R^a-OR^b$, $-C(O)R^b$, cicloalquilalquilo o $-P(O)_2O^2-$;
R^4 es hidrógeno, alquilo, alquenilo, haloalquilo, $-OR^b$ o $-OC(O)R^b$;
R^a es una cadena de alquileno o alquenileno; y
R^b es hidrógeno, alquilo, alquenilo, haloalquilo, aralquilo, cicloalquilalquilo o heterociclilalquilo,
como un estereoisómero aislado o una mezcla de estos, o una sal farmacéuticamente aceptable de estos, siempre que
cuando R^2 y R^4 son cada uno hidrógeno, R^1 y R^3 no pueden ambos seleccionarse del grupo que consiste en hidrógeno y $-C(O)CH_3$; o
cuando R^1 y R^3 son cada uno $-C(O)CH_3$, R^2 o R^4 no pueden ambos seleccionarse del grupo que consiste en hidrógeno y $-OC(O)CH_3$.

Aquí también se describen los compuestos de fórmula (I) en donde R^2 y R^4 son cada uno hidrógenos y los compuestos tienen una estructura representada por la Fórmula (Ia):



Fórmula (Ia)

en donde:

R^1 es hidrógeno, alquilo o alquenilo; y
R^3 es hidrógeno, alquilo o alquenilo.

En algunas realizaciones, los compuestos son: 27-O-metilwitaferina A (R^1 es hidrógeno y R^3 es metilo), 4-O-metil witaferina A (R^1 es metilo y R^3 es hidrógeno) y 4,27-O-dimetilwitaferina A (R^1 es metilo y R^3 es metilo).

Aquí también se describe una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o fórmula (Ia) y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Aquí también se describe un método para tratar o prevenir una enfermedad caracterizada por proteinopatía TDP-43 en un paciente que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o fórmula (Ia).

Aquí también se describe un método para tratar o prevenir la esclerosis lateral amiotrófica en un paciente que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o fórmula (Ia).

Aquí también se describe un método para tratar o prevenir la enfermedad de Alzheimer en un paciente que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o fórmula (Ia).

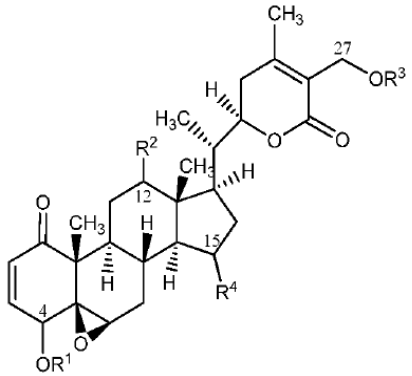
Aquí también se describe un método para tratar o prevenir la enfermedad de Parkinson en un paciente que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o fórmula (Ia).

Aquí también se describe un método para tratar o prevenir la enfermedad de las neuronas motoras en un paciente que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o fórmula (Ia).

Aquí también se describe un método para tratar o prevenir la degeneración lobular frontotemporal en un paciente que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o fórmula (Ia).

Aquí también se describe un método para tratar o prevenir un deterioro cognitivo leve o prevenir el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer en un paciente que presenta un deterioro cognitivo leve que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o fórmula (Ia).

Aquí se divulgan análogos semisintéticos de witaferina A y sus diversos usos farmacéuticos, particularmente en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, incluida la esclerosis lateral amiotrófica (ALS) y la degeneración lobular frontotemporal (FTLD), enfermedad de Parkinson, deterioro cognitivo leve (MCI), enfermedad de Alzheimer y enfermedades asociadas con la proteinopatía TPD-43. Aquí también se describe un compuesto de Fórmula (I):



Fórmula (I)

en donde:

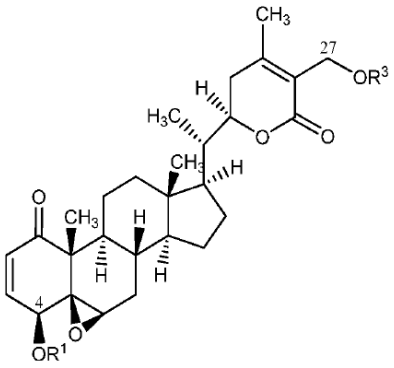
R^1 es hidrógeno, alquilo, alquenilo, haloalquilo, aralquilo, heterociclilalquilo, $-R^a-OR^b$, $-C(O)R^b$, cicloalquilalquilo o $-P(O)_2O^{2-}$;
R^2 es hidrógeno, alquilo, alquenilo, haloalquilo, $-OR^b$ o $-OC(O)R^b$;
R^3 es hidrógeno, alquilo, alquenilo, haloalquilo, aralquilo, heterociclilalquilo, $-R^a-OR^b$, $-C(O)R^b$, cicloalquilalquilo o $-P(O)_2O^{2-}$;
R^4 es hidrógeno, alquilo, alquenilo, haloalquilo, $-OR^b$ o $-OC(O)R^b$;

R^a es una cadena de alquileno o alquenileno; y
R^b es hidrógeno, alquilo, alquenilo, haloalquilo, aralquilo, cicloalquilalquilo o heterociclilalquilo,
como un estereoisómero aislado o una mezcla de estos, o una sal farmacéuticamente aceptable de estos, siempre que
cuando R^2 y R^4 son cada uno hidrógeno, R^1 y R^3 no pueden ambos seleccionarse del grupo que consiste en hidrógeno y $-C(O)CH_3$; o
cuando R^1 y R^3 son cada uno $-C(O)CH_3$, R^2 o R^4 no pueden ambos seleccionarse del grupo que consiste en hidrógeno y $-OC(O)CH_3$.

En algunos compuestos descritos aquí, el compuesto de Fórmula (I) comprende una o más unidades estructurales alquil éter, en particular, en las posiciones C-4, C-27 o ambas.

En ciertas realizaciones descritas, R^1 y R^3 son independientemente alquilo o alquenilo inferior. En realizaciones adicionales, R^1 y R^3 son independientemente metilo.

En diversas realizaciones descritas, R^2 y R^4 son cada uno hidrógenos, y el compuesto de Fórmula (I) tiene una estructura representada por la Fórmula (Ia):



Fórmula (Ia)

en donde:

R^1 es hidrógeno, alquilo o alquenilo; y
R^3 es hidrógeno, alquilo o alquenilo.

En otras formas de realización, los compuestos son: 27-O-metilwitaferina A (R^1 es hidrógeno y R^3 es metilo), 4-O-metilwitaferina A (R^1 es metilo y R^3 es hidrógeno) y 4,27-O-dimetilwitaferina A (R^1 es metilo y R^3 es metilo).

Cada compuesto individual divulgado en la publicación de Estados Unidos No. 2011/0230551 está expresamente excluido del alcance de las Fórmulas (I) y (IIa).

Aquí también se describe una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula (I) o Fórmula (Ia), como se define aquí, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Aquí también se describe un uso farmacéutico del compuesto de Fórmula (I) o (Ia). Más específicamente, los usos farmacéuticos del compuesto o composición que comprende el mismo incluyen el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas o la prevención de la progresión o empeoramiento de las enfermedades neurodegenerativas. En particular, la enfermedad neurodegenerativa se caracteriza por la proteinopatía TDP-43.

Por lo tanto, aquí también se describe un método para tratar o prevenir una enfermedad caracterizada por la proteinopatía TDP-43 en un paciente que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (I) o Fórmula (Ia).

Aquí también se describe un método para tratar o prevenir la esclerosis lateral amiotrófica en un paciente que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (I) o Fórmula (Ia).

Aquí también se describe un método para tratar o prevenir la enfermedad de Alzheimer en un paciente que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (I) o Fórmula (Ia).

Aquí también se describe un método para tratar o prevenir la enfermedad de Parkinson en un paciente que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (I) o Fórmula (Ia).

Aquí también se describe un método para tratar o prevenir la enfermedad de las neuronas motoras en un paciente que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (I) o Fórmula (Ia).

Aquí también se describe un método para tratar o prevenir la degeneración lobular frontotemporal en un paciente que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (I) o Fórmula (Ia).

Aquí también se describe un método para tratar o prevenir un deterioro cognitivo leve o prevenir el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer en un paciente que presenta un deterioro cognitivo leve que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (I) o Fórmula (Ia).

Definiciones

Tal como se utiliza en la especificación y las reivindicaciones adjuntas, a menos que se especifique lo contrario, los siguientes términos tienen el significado indicado:

"Amino" se refiere al radical $-NH_2$.

"Carboxi" se refiere al radical -C(O)OH.

"Ciano" se refiere al radical -CN.

"Nitro" se refiere al radical $-NO_2$.

"Oxo" se refiere al radical =O.

"Tioxo" se refiere al radical =S.

"Alquilo" se refiere a un radical de cadena de hidrocarburo lineal o ramificado que consiste únicamente en átomos de carbono e hidrógeno, que no contiene insaturación, que tiene de uno a doce átomos de carbono, preferiblemente de uno a ocho átomos de carbono o de uno a seis átomos de carbono y que está unido al resto de la molécula mediante un enlace sencillo, por ejemplo, metilo, etilo, n-propilo, 1-metiletilo (iso-propilo), n-butilo, n-pentilo, 1,1-dimetiletilo (t-butilo), 3-metilhexilo, 2-metilhexilo y similares. Para los fines de esta invención, el término "alquilo inferior" se refiere a un radical alquilo que tiene de uno a cuatro átomos de carbono.

"Alquenilo" se refiere a un radical de cadena de hidrocarburo lineal o ramificado que consiste únicamente en átomos de carbono e hidrógeno, que contiene al menos un enlace doble, que tiene de dos a doce átomos de carbono, preferiblemente de uno a ocho átomos de carbono y que está unido al resto de la molécula mediante un enlace sencillo, por ejemplo, etenilo, prop-1-enilo, but-1-enilo, pent-1-enilo, penta-1,4-dienilo, y similares.

"Cadena de alquileno" se refiere a una cadena de hidrocarburo divalente lineal o ramificada que une el resto de la molécula a un grupo radical, que consiste únicamente en carbono e hidrógeno, que no contiene insaturación y que tiene de uno a doce átomos de carbono, por ejemplo, metileno, etileno, propileno, n-butileno y similares. La cadena de alquileno está unida al resto de la molécula a través de un enlace simple y al grupo radical a través de un enlace simple. Los puntos de unión de la cadena de alquileno al resto de la molécula y al grupo radical pueden ser a través de un carbono en la cadena de alquileno o a través de cualquiera de los dos carbonos dentro de la cadena.

"Cadena de alquenileno" se refiere a una cadena de hidrocarburo divalente lineal o ramificada que une el resto de la molécula a un grupo radical, que consiste únicamente en carbono e hidrógeno, que contiene al menos un doble enlace y que tiene de dos a doce átomos de carbono, por ejemplo, etenileno, propenileno, n-butenileno, y similares. La cadena de alquenileno está unida al resto de la molécula a través de un enlace doble o un enlace simple y al grupo radical a través de un enlace doble o un enlace simple. Los puntos de unión de la cadena de alquenileno al resto de la molécula y al grupo radical pueden ser a través de un carbono o cualquiera de dos carbonos dentro de la cadena.

"Arilo" se refiere a un radical del sistema de anillo hidrocarburo que comprende hidrógeno, 6 a 14 átomos de carbono y al menos un anillo aromático. Para los fines de esta invención, el radical arilo puede ser un sistema monocíclico, bicíclico o tricíclico y que puede incluir sistemas de anillo espiro. Un radical arilo se une comúnmente, pero no necesariamente, a la molécula original a través de un anillo aromático del radical arilo. Los radicales arilo incluyen, pero no se limitan a, radicales arilo derivados de acenaftileno, antraceno, azuleno, benceno, 6,7,8,9-tetrahidro-5H-benzo[7]anuleno, fluoreno, as-indaceno, s-indaceno, indano, indeno, naftaleno, fenaleno y fenantreno.

"Aralquilo" se refiere a un radical de la fórmula $-R_a-R_c$ donde R_a es una cadena de alquileno como se definió anteriormente y R_c es uno o más radicales arilo como se definió anteriormente. Los ejemplos de aralquilo incluyen, sin

limitación, bencilo, difenilmetilo y similares.

"Cicloalquilo" se refiere a un radical hidrocarburo monocíclico o policíclico no aromático estable que consiste únicamente en átomos de carbono e hidrógeno, que incluye sistemas de anillos fusionados, espiro o en puentes, que tienen de tres a quince átomos de carbono, preferiblemente de tres a diez átomos de carbono, más preferiblemente de cinco a siete carbonos y que está saturado o insaturado y está unido al resto de la molécula por un enlace simple. Para los fines de esta invención, un sistema de anillo en puente es un sistema en donde dos átomos del anillo no adyacentes del mismo están conectados a través de un átomo o un grupo de átomos, en donde el átomo o el grupo de átomos son el elemento en puente. Los ejemplos de cicloalquilo incluyen, sin limitación, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo y ciclooctilo. Los radicales policíclicos incluyen radicales cicloalquilo fusionados espirados en puente, por ejemplo, radicales C_{10} como adamantanil (en puente) y decalinil (fusionados), y radicales C_7 tales como biciclo[3.2.0]heptanil (fusionados), norbornanil y norbornenil (en puente), así como radicales policíclicos sustituidos, por ejemplo, radicales C_7 sustituidos tales como 7,7-dimetilbiciclo[2.2.1]heptanilo (en puente), y similares.

"Cicloalquilalquilo" se refiere a un radical de la fórmula $-R_aR_d$ donde R_a es una cadena de alquileno como se definió anteriormente y R_d es un radical cicloalquilo como se definió anteriormente.

"Halo" se refiere a flúor, cloro, bromo o yodo.

"Haloalquilo" se refiere a un radical alquilo, como se definió anteriormente, que está sustituido con uno o más radicales halo, como se definió anteriormente, por ejemplo, trifluorometilo, difluorometilo, triclorometilo, 2,2,2-trifluoroetilo, 1-fluorometil-2-fluoroetilo, 3-bromo-2-fluoropropilo, 1-bromometil-2-bromoetilo y similares.

"Heterociclilo" se refiere a un radical estable del sistema de anillo no aromático de 3 a 18 miembros que comprende de uno a doce átomos de carbono y de uno a seis heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno y azufre. A menos que se indique lo contrario específicamente en la especificación, el radical heterociclilo puede ser un sistema de anillo monocíclico, bicíclico, tricíclico o tetracíclico, que puede incluir sistemas de anillo espiro o de puente; y los átomos de nitrógeno, carbono o azufre en el radical heterociclilo pueden estar oxidados opcionalmente; el átomo de nitrógeno puede estar opcionalmente cuaternizado; y el radical heterociclilo puede estar parcial o totalmente saturado. Los ejemplos de un heterociclilo en puente incluyen, pero no se limitan a, azabiciclo[2.2.1]heptanilo, diazabiciclo[2.2.1]heptanilo, diazabiciclo[2.2.2]octanilo, diazabiciclo[3.2.1]octanilo, diazabiciclo[3.3.1]nonanilo, diazabiciclo[3.2.2]nonanilo y oxazabiciclo[2.2.1]heptanilo. Un "N-heterociclilo en puente" es un heterociclilo en puente que contiene al menos un nitrógeno, pero que opcionalmente contiene hasta cuatro heteroátomos adicionales seleccionados de O, N y S. Para los fines de esta invención, un sistema de anillo sin puente es un sistema en donde no hay dos átomos en su anillo no adyacentes conectados a través de un átomo o un grupo de átomos. Los ejemplos de radicales heterociclilo incluyen, pero no se limitan a, dioxolanilo, 1,4-diazepanilo, decahidroisoquinolilo, imidazolinilo, imidazolidinilo, isotiazolidinilo, isoxazolidinilo, morfolinilo, octahidroindolilo, octahidroisoindolilo, octahidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridinilo, octahidro-1H-pirrolo[2,3-b]piridinilo, octahidro-1H-pirrolo[3,4-b]piridinilo, octahidropirrolo[3,4-c]pirrolilo, octahidro-1H-pirido[1,2-a]pirazinilo, 2-oxopiperazinilo, 2-oxopiperidinilo, 2-oxopirrolidinilo, oxazolidinilo, 3,7-diazabiciclo[3.3.1]nonan-3-ilo, piperidinilo, piperazinilo, 4-piperidonilo, pirrolidinilo, pirazolidinilo, quinuclidinilo, tiazolidinilo, tetrahidrofuranilo, tienil[1,3]ditianilo, tritianilo, tetrahidropiranilo, tiomorfolinilo, tiamorfolinilo, 1-oxo-tiomorfolinilo, 1,1-dioxo-tiomorfolinilo, azetidinilo, octahidropirrolo[3,4-c]pirrolilo, octahidropirrolo [3,4-b]pirrolilo, decahidroprazino [1,2-a]azepinilo, azepanilo, azabiciclo[3.2.1]octilo, y 2,7-diazaspiro[4,4]nonanilo.

"Heterociclilalquilo" se refiere a un radical de fórmula $-R_a-R_e$ donde R_a es una cadena de alquileno como se definió anteriormente y R_e es un radical heterociclilo como se definió anteriormente, y cuando el heterociclilo es un heterociclilo que contiene nitrógeno, el heterociclilo puede unirse a la cadena de alquileno en el átomo de nitrógeno.

"Paciente" significa un mamífero que ha sido diagnosticado con una enfermedad neurodegenerativa o que está genéticamente predispuesto a tales enfermedades.

"Mamífero" significa cualquier vertebrado de la clase Mammalia. Los seres humanos y los animales domésticos, tales como gatos, perros, cerdos, vacas, ovejas, cabras, caballos, conejos y similares, son un enfoque particular. Preferiblemente, para los fines de esta invención, el mamífero es un primate (por ejemplo, mono, babuino, chimpancé y humano), y más preferiblemente, el mamífero es un humano.

"Excipiente farmacéuticamente aceptable" incluye sin limitación, cualquier adyuvante, portador, excipiente, deslizante, agente edulcorante, diluyente, conservante, pigmento/colorante, potenciador del sabor, tensioactivo, agente humectante, agente dispersante, agente de suspensión, estabilizador, agente isotónico, disolvente, o emulsionante que ha sido aprobado por la Administración de Fármacos y Alimentos de los Estados Unidos como aceptable para uso en humanos o animales domésticos.

"Sal farmacéuticamente aceptable" incluye tanto sales de adición de ácido como de base.

"Sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellas sales que conservan la efectividad biológica y las propiedades de las bases libres, que no son biológicamente o de otra manera indeseables, y que se forman con ácidos inorgánicos como, pero no limitados a, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares y ácidos orgánicos tales como, pero no limitados a, ácido acético, ácido 2,2-

dicloroacético, ácido adípico, ácido algínico, ácido ascórbico, ácido aspártico, ácido bencenosulfónico, ácido benzoico, ácido 4-acetamidobenzoico, ácido alcanfórico, ácido alcanfor-10-sulfónico, ácido cáprico, ácido caproico, ácido caprílico, ácido carbónico, ácido cinámico, ácido cítrico, ácido ciclámico, ácido dodecilsulfónico, ácido etano-1,2-disulfónico, ácido etanosulfónico, ácido 2-hidroxietanosulfónico, ácido fórmico, ácido fumárico, ácido galactárico, ácido gentísico, ácido glucoheptónico, ácido glucónico, ácido glucurónico, ácido glutámico, ácido glutárico, ácido 2-oxo-glutárico, ácido glicerofosfórico, ácido glicólico, ácido hipúrico, ácido isobutírico, ácido láctico, ácido lactobiónico, ácido láurico, ácido maleico, ácido málico, ácido malónico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido múcico, ácido naftaleno-1,5-disulfónico, ácido naftaleno-2-sulfónico, ácido 1-hidroxi-2-naftoico, ácido nicotínico, ácido oleico, ácido orótico, ácido oxálico, ácido palmítico, ácido pamoico, ácido propiónico, ácido piroglutámico, ácido pirúvico, ácido salicílico, ácido 4-aminosalicílico, ácido sebácico, ácido esteárico, ácido succínico, ácido tartárico, ácido tiociánico, ácido p-toluensulfónico, ácido trifluoroacético, ácido undecilénico y similares.

"Sal de adición de base farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellas sales que conservan la efectividad biológica y las propiedades de los ácidos libres, que no son biológicamente o de otra manera indeseables. Estas sales se preparan a partir de la adición de una base inorgánica o una base orgánica al ácido libre. Las sales derivadas de bases inorgánicas incluyen, pero no se limitan a las sales de sodio, potasio, litio, amonio, calcio, magnesio, hierro, zinc, cobre, manganeso, aluminio y similares. Las sales inorgánicas preferidas son las sales de amonio, sodio, potasio, calcio y magnesio. Las sales derivadas de bases orgánicas incluyen, pero no se limitan a, sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas que incluyen aminas de origen natural, aminas cíclicas y resinas de intercambio iónico básico, tales como amoníaco, isopropilamina, trimetilamina, dietilamina, trietilamina, tripropilamina, dietanolamina, etanolamina, 2-dimetilaminoetanol, 2-dietilaminoetanol, diciclohexilamina, lisina, arginina, histidina, cafeína, procaína, hidrabamina, colina, betaína, benetamina, benzatina, etilenodiamina, glucosamina, metilglucamina, teobromina, trietanolamina, trometamina, purinas, piperazina, piperidina, N-etilpiperidina, resinas de poliamina y similares. Las bases orgánicas particularmente preferidas son isopropilamina, dietilamina, etanolamina, trimetilamina, diciclohexilamina, colina y cafeína.

Una "composición farmacéutica" se refiere a una formulación de un compuesto de fórmula (I) o una formulación de un agente terapéutico descrito aquí y un medio generalmente aceptado en la técnica para la administración del compuesto biológicamente activo a mamíferos, por ejemplo, humanos. Dicho medio incluye todos los portadores, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables para el mismo.

"Enfermedad neurodegenerativa" se refiere a una pérdida progresiva de la estructura o función de las neuronas, incluida la muerte de las neuronas. Los ejemplos de enfermedades neurodegenerativas incluyen, sin limitación, la enfermedad de Parkinson, Alzheimer, ALS, enfermedad de las neuronas motoras y la degeneración lobular frontotemporal (FTLD). En particular, la enfermedad neurodegenerativa puede caracterizarse por la proteinopatía TDP-43. La enfermedad neurodegenerativa también incluye deterioro cognitivo leve (MCI) (descrito en S. Gautier et al., 2006, The Lancet 351:1262-1270).

"Cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a esa cantidad del agente terapéutico suficiente para retrasar, impedir o minimizar el progreso de la neurodegeneración o para proporcionar un beneficio terapéutico en el tratamiento o manejo de enfermedades neurodegenerativas, incluida la mejora de los síntomas asociados con enfermedades neurodegenerativas.

"Cantidad profilácticamente eficaz" se refiere a la cantidad de agente profiláctico suficiente para que resulte en la prevención o impedimento de enfermedades neurodegenerativas, particularmente en pacientes que pueden estar genéticamente predispuestos a tales enfermedades. Una cantidad profilácticamente eficaz puede referirse a la cantidad de agente profiláctico suficiente para prevenir las enfermedades neurodegenerativas relacionadas con la edad o en el inicio temprano.

Tal como se usa aquí, los términos "prevenir", “previniendo" y "prevención "se refieren a la prevención de la diseminación o aparición de enfermedades neurodegenerativas en un paciente.

Como se usa aquí, los términos "tratar", "tratando" y "tratamiento" se refieren a retrasar, impedir o minimizar el proceso neurodegenerativo, preferiblemente antes de enfermedades neurodegenerativas como ALS, Parkinson, Alzheimer, FTLD o deterioro cognitivo leve (MCI) que se podrían desarrollar a partir de la neurodegeneración. Los términos también se refieren al manejo de enfermedades neurodegenerativas, incluida la mejora de los síntomas asociados con enfermedades neurodegenerativas.

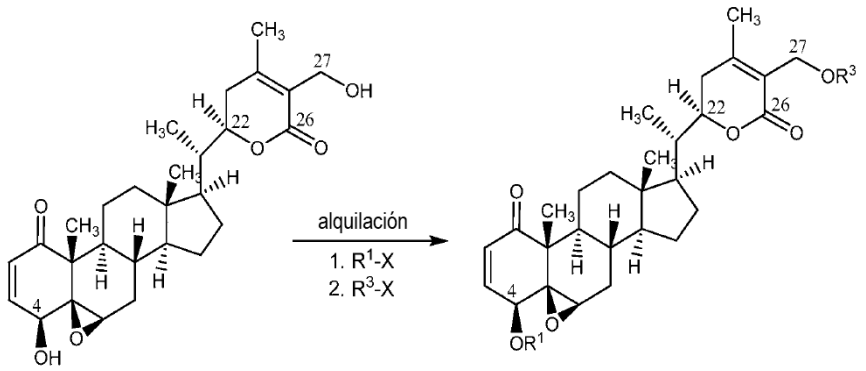
Los compuestos de fórmula (I) y (Ia), o sus sales farmacéuticamente aceptables, pueden contener uno o más centros asimétricos y, por lo tanto, pueden dar lugar a enantiómeros, diastereómeros y otras formas estereoisomericas que pueden definirse, en términos de estereoquímica absoluta, como (R)- o (S)- o, como (D)- o (L)- para aminoácidos. La presente invención pretende incluir todos los isómeros posibles, así como sus formas racémicas y ópticamente puras. Los isómeros ópticamente activos (+) y (-), (R)- y (S)- o (D)- y (L)- pueden prepararse usando sintones quirales o reactivos quirales, o pueden resolverse utilizando técnicas convencionales, como HPLC utilizando una columna quiral. Cuando los compuestos descritos aquí contienen dobles enlaces olefínicos u otros centros de asimetría geométrica y a menos que se especifique lo contrario, se pretende que los compuestos incluyan ambos isómeros geométricos E y Z. Asimismo, todas las formas tautoméricas también están destinadas a ser incluidas.

Un "estereoisómero" se refiere a un compuesto formado por los mismos átomos enlazados por los mismos enlaces pero que tienen diferentes estructuras tridimensionales, que no son intercambiables. La presente invención contempla diversos estereoisómeros y mezclas de estos e incluye "enantiómeros", que se refiere a dos estereoisómeros cuyas moléculas son imágenes especulares no superponibles entre sí.

Preparación del compuesto de Fórmula (I)

El siguiente esquema de reacción muestra una metodología semisintética para preparar el compuesto de Fórmula (Ia) usando witaferina A como material de partida. Más específicamente, la witaferina A (disponible en Sigma-Aldrich Canada) se puede tratar con uno o más agentes alquilantes para alquilar los grupos -OH de la witaferina A.

ESQUEMA DE REACCIÓN



Witaferina A Fórmula (I'a)

La reacción puede producir una mezcla de compuestos monoalquilados en ubicaciones C-4 o C-27, así como WA di-alquilado en ambas ubicaciones C-4 y C-27. Los compuestos alquilados se pueden separar y aislar por métodos conocidos en la técnica. Donde R^1 y R^3 son idénticos, se puede llevar a cabo una sola etapa de alquilación. Donde R^1 y R^3 son diferentes, se pueden llevar a cabo dos etapas de alquilación. Por ejemplo, puede llevarse a cabo una reacción gradual utilizando agentes alquilantes R^1-X y R^3-X (siendo X un grupo saliente) para alquilar por separado los grupos hidroxi de witaferina A.

La protección selectiva de los grupos hidroxi en C-4 o C-27 de witaferina A puede dirigir la etapa de alquilación a una ubicación particular. Por ejemplo, el grupo hidroxi C-4 puede protegerse primero de modo que la etapa de alquilación solo tenga lugar en el grupo hidroxi C-27.

La funcionalización en las ubicaciones C-12 y C-15 de un compuesto de Fórmula (I) se puede llevar a cabo de acuerdo con los métodos divulgados en la publicación de Estados Unidos No. 20110230551.

Las personas experimentadas en la técnica apreciarán que, en los procesos descritos a continuación, los grupos funcionales de compuestos intermedios pueden necesitar protección con grupos protectores adecuados. Tales grupos funcionales incluyen hidroxi, amino, mercapto y ácido carboxílico. Los grupos protectores adecuados para hidroxi incluyen trialquilsililo o diarilalquilsililo (por ejemplo, t-butildimetilsililo, t-butildifenilsililo o trimetilsililo), tetrahidropiranilo, bencilo y similares. Los grupos protectores adecuados para amino, amidino y guanidino incluyen bencilo, t-butoxicarbonilo, benciloxicarbonilo y similares. Los grupos protectores adecuados para mercapto incluyen -C(O)-R" (donde R" es alquilo, arilo o arilalquilo), p-metoxibencilo, tritilo y similares. Los grupos protectores adecuados para ácidos carboxílicos incluyen ésteres de alquilo, arilo o arilalquilo.

Los grupos protectores pueden agregarse o eliminarse de acuerdo con técnicas estándar, que son conocidas por una persona de experiencia ordinaria en la técnica y como se describe aquí. El uso de grupos protectores se describe en detalle en Greene, T.W. y P.G.M. Wuts, Greene's Protective Groups in Organic Synthesis (1999), 3rd ed., Wiley. Como apreciará una persona experimentada en la técnica, el grupo protector también puede ser una resina polimérica tal como, pero sin limitarse a, una resina Wang, una resina de Rink o una resina de 2-clorotritilo-cloruro.

Dosificación

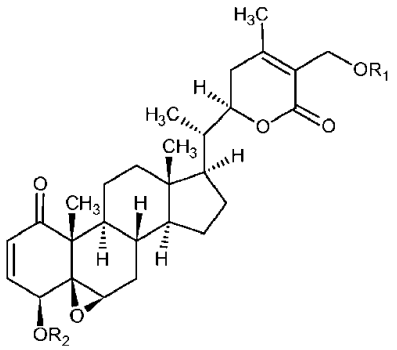
La cantidad de los compuestos de witanólidos requeridos para el uso en el tratamiento variará no solo con el compuesto particular seleccionado sino también con la vía de administración, la naturaleza de la condición para la cual se requiere el tratamiento y la edad y condición del paciente, y será finalmente determinado por un médico. En general, la cantidad de un compuesto requerido para uso en el tratamiento variará no solo con el compuesto particular seleccionado, sino también con la vía de administración, la naturaleza de la afección para la que se requiere el tratamiento y la edad y afección del paciente y será determinado en última instancia por un médico. En general, una dosis adecuada estará, por ejemplo, en el intervalo de 0,01 a 1.000 mg/kg de peso corporal por día o por ejemplo, en

el intervalo de 0,1 a 100 mg/kg/día o por ejemplo, en el intervalo de 0,5 a 50 mg/kg/día o por ejemplo, en el intervalo de 1 a 25 mg/kg/día. Las dosis se pueden administrar a intervalos apropiados, por ejemplo, como una, dos, tres, cuatro o más dosis por día. En algunos casos, las dosis se pueden administrar todos los días, cada dos a tres días, cada cuatro a cinco días, o cada cinco a siete días. La dosificación puede continuar durante días, semanas, meses o años, según se requiera.

Ejemplos

Ejemplo 1

Preparación de análogos de WA metil éter a partir de WA.



1 witaferina A: $R_1=R_2=H$

2 27-O-metilwitaferina A: $R_1=CH_3$, $R_2=H$

3 4-O-metilwitaferina A: $R_1=H$, $R_2=CH_3$

4 4,27-O-dimetilwitaferina A: $R_1=R_2=CH_3$

Preparación

Se trataron 150 mg de witaferina A (disponible en Sigma-Aldrich Canadá) (WA **1**) con hidruro de sodio en yoduro de metilo. La reacción produjo una mezcla de ambos compuestos mono-metilados y WA dimetilada. La mezcla de reacción se filtró para eliminar el exceso de hidruro de sodio y yoduro de sodio. El filtrado se secó y el residuo se redisolvió en diclorometano. La solución resultante se sometió a cromatografía en una columna de gel de sílica. Las fracciones que contenían los éteres monometílicos (**2** y **3**) y el éter dimetílico (**4**) se combinaron y los compuestos se separaron por cromatografía de fase inversa.

Las fracciones puras de cada compuesto se agruparon, se concentraron, se extrajeron en diclorometano y se secaron. Por lo tanto, se obtuvieron aproximadamente 5-10 mg de cada compuesto, cada uno como un sólido blanco. Los datos espectroscópicos de estos compuestos se proporcionan en la Tabla 1 a continuación.

TABLA 1

Compuesto	**m/z $[M+H]^+$**	**∂ ppm ($CDCl_3$)**						
		H-4	**H- 27a**	**H- 27b**	**OH- 4**	**OH- 27**	**4- OMe**	**27- OMe**
Witaferina A (**1**)	471	3,78 (dd)	4,41 (dd)	4,35 (dd)	2,52 (d)	2,86 (t)	-	-
27-O-metil witaferina A (**2**)	485	3,77 (dd)	4,29 (d)	4,17 (d)	2,50 (d)	-	-	3,39 (s)
4-O-metil witaferina A (**3**)	485	3,27 (d)	4,41 (dd)	4,35 (dd)	-	2,86 (t)	3,45 (s)	-
4,27-O-dimetil witaferina A (**4**)	499	3,27 (d)	4,29 (d)	4,17 (d)	-	-	3,46 (s)	3,39 (s)

Ejemplo 2

Bioluminiscencia cerebral en los ratones GFAP-luciferasa expuestos a LPS.

Dos de los nuevos witanólidos fueron analizados para determinar su actividad terapéutica in vivo utilizando un modelo de ratón transgénico. Se usaron ratones transgénicos GFAP-luciferasa generados en el laboratorio del Dr. J.P. Julien para evaluar la capacidad de las witanólidos para inhibir la astrogliosis asociada con la inflamación inducida por la exposición a lipopolisacáridos (LPS). Se realizó una imagen de bioluminiscencia in vivo para evaluar la respuesta inflamatoria en la región craneal. Una disminución en las señales de bioluminiscencia en la región evaluada en comparación con el control (solución salina) indicó que las witanólidos habían cruzado la barrera hematoencefálica y

posteriormente inhibieron la gliosis.

Se diluyeron witanólidos [4-O-metil witaferina A (4-O-metil WA) y 27-O-metil witaferina A (27-O-metil WA)] en dimetilsulfóxido (DMSO) al 100% a una concentración final de 2 mg/ml. Se usaron ratones transgénicos GFAP-luc para probar in vivo la eficacia de estos análogos. En estos ratones transgénicos, el gen informador de luciferasa de luciérnaga está bajo el control de un fragmento de ADN de 12 kb del promotor de la proteína ácida fibrilar glial (GFAP) (Caliper Life Sciences). El informador de luciferasa es inducible después de la administración de LPS que resulta en la regulación transcripcional GFAP. Si la administración de compuestos de prueba después de la inyección de LPS disminuye la astrogliosis inducida por LPS en ratones GFAP-luc, esto se visualiza como una señal bioluminiscente reducida al obtener imágenes.

Se indujo a los ratones transgénicos bajo anestesia a inhalar 5 ul de una solución de LPS (1 mg/ml en solución salina al 0,9%) o solamente una solución de solución salina al 0,9% seguido 2 horas más tarde por una inyección intraperitoneal (i.p.) de 0,5 ml de los compuestos de prueba (dilución al 10% en solución salina al 0,9%) a una concentración final de 4 mg/kg. Al día siguiente, 2 horas antes de la obtención de imágenes (24 horas después de la administración de la solución de LPS), los ratones transgénicos se inyectaron de nuevo con las witanólidos como anteriormente. Veinte minutos antes de la obtención de imágenes, los ratones recibieron una inyección i.p. del sustrato de luciferasa D-luciferina (150 mg/kg). La D-luciferina se disolvió en solución salina al 0,9% hasta una concentración final de 20 mg/ml. Los ratones se anestesiaron y se tomaron imágenes con un sistema de imágenes IVIS 200 (CaliperLS-Xenogen).

Los resultados mostraron una disminución significativa en la señal bioluminiscente en ratones tratados con 4-O-metil WA o 27-O-metil WA en comparación con ratones tratados con solución salina-DMSO solamente (Figura 1A). La Figura 1B muestra un gráfico resumen de la cuantificación de la actividad de luciferasa expresada como recuentos de la emisión total de fotones en el cerebro de los ratones transgénicos GFAP que se muestran en la Figura 1A. Este experimento demostró una reducción significativa de la astrogliosis en ratones transgénicos GFAP tratados con 4-O-metil WA o 27-O-metil WA.

Ejemplo 3

Los nuevos witanólidos inhiben la actividad informadora de NF-κB en células microgliales BV2 estimuladas con LPS. Las witanólidos 4-O-metil WA, 27-O-metil WA y 4,27-O-dimetil WA se probaron para determinar su capacidad para inhibir la activación de NF-κB. Primero se estableció un sistema informador de luciferasa específico de NF-κB en células microgliales BV-2. Esta línea celular se generó por transfección estable de células BV-2 con inserción estable de un informador de luciferasa 4kBwt plásmido de luciferasa y posterior selección con higomicina. Se utilizó LPS para estimular la actividad de NF-κB en estas células. Se sembraron veinticinco mil células BV-2 resistentes a la higromicina β por pozo en placas de 24 pozos y se dejaron adherir durante la noche. A la mañana siguiente, se eliminó el medio de cultivo (DMEM + FBS al 10%) y se añadió 1 ml de medio fresco (DMEM sin FBS) a cada pozo. Las soluciones de reserva de witanólidos (2 mg/ml en DMSO) se diluyeron en PBS 1x a diversas concentraciones (0,05 a 5 uM) y se agregaron a los pozos. Se añadió LPS una hora más tarde a una concentración final de 100 ng/ml. Cuatro horas después, las células BV-2 se enjuagaron con PBS 1x antes de proceder con el ensayo de luciferasa que se realizó de acuerdo con las instrucciones del fabricante (sistema de ensayo de luciferasa Bright-GloTM, Promega, Wisconsin).

Los resultados, proporcionados en la Figura 2, mostraron que todos las witanólidos probados tenían la capacidad de inhibir la expresión de NF-κB. La Tabla 2 a continuación muestra la IC_{50} de ciertos compuestos de Fórmula (Ia).

TABLA 2

Compuestos	IC_{50} (μM)
4-O-metil WA	0,97
27-O-metil WA	0,71
4,27-O-dimetil WA	0,80
WA	0,50

Ejemplo 4

Los nuevos Witanólidos inhiben la sobrerregulación de la actividad de señalización inducida por TNF-a en la línea celular HEK-293 del informador luciferasa NF-κB.

Se sembraron diez mil células HEK-293 resistentes a higromicina B por pozo en una placa de 96 pozos (Corning, Nueva York) y se dejaron adherir durante la noche. A la mañana siguiente, se retiró el medio de cultivo (DMEM + FBS al 10%) y se agregaron 100 ml de medio fresco (DMEM sin FBS) a cada pozo. Las soluciones de reserva de witanólidos 4-O-metil WA, 27-O-metil WA y 4,27-O-dimetil WA (2 mg/ml en DMSO) se diluyeron en PBS 1x a diversas concentraciones (0,05 a 5 uM) y se añadieron a los pozos. Se añadió TNF-alfa recombinante humano (R&D Systems, Minneapolis) una hora más tarde a una concentración final de 40 ng/ml. Cuatro horas más tarde, las células HEK-293 se enjuagaron con PBS 1x antes del ensayo de luciferasa, que se realizó de acuerdo con las instrucciones del

fabricante (sistema de ensayo de luciferasa Bright-GloTM, Promega, Wisconsin).

Los resultados del ensayo, que se muestran en la Figura 3, confirmaron que 4-O-metil WA, 27-O-metil WA y 4,27-O-dimetil WA inhibieron la expresión de NF-κB. Las IC_{50} para 4-O-metil WA, 27-O-metil WA y 4,27-O-dimetil WA se muestran en la Tabla 3.

TABLA 3

Compuestos	IC_{50} (μM)
4-O-metil WA	0,32
27-O-metil WA	0,26
4,27-O-dimetil WA	0,45
WA	0,34

Ejemplo 5

Comparación de seguridad de WA, 4-O-metil WA y 27-O-metil WA.

Se llevó a cabo un estudio agudo de aumento de la dosis para comparar la tolerabilidad in vivo de WA, 4-O metil WA y 27-O metil WA. A ratones C57BL/6 hembras normales se les inyectó intraperitonealmente con WA, 4-O-metil WA o 27-O-metil WA a dosis de 20 a 65 mg/kg (20, 25, 30, 35, 45, 55 y 65 mg/kg). En los animales se observaron signos de morbilidad, mortalidad y cambios clínicos en el comportamiento, respiración, ritmo cardiaco, hidratación y otras afecciones (como ascitis, choque, diarrea severa y hemorragia) 1 hora, 6 horas y 24 horas postdosificación. El peso corporal se midió predosificación y a las 24 horas.

Los witanólidos 4-O-metil WA y 27-O-metil WA mostraron un perfil de seguridad mucho mejor que WA. Se encontró que la LD50 (dosis letal, 50%) era de 55 mg/kg para WA. El mismo valor LD50 (54 mg/kg) para WA se informó anteriormente (Patwardhan et al., Drug Discovery and Development, (2006), editado por M.S. Chorghade, Wiley). En contraste, no se observó mortalidad cuando a los ratones se les administraron 55 mg/kg de 4-O-metil WA o 27-O-metil WA. En la dosis más alta probada en el estudio, 65 mg/kg, no se observó mortalidad para los ratones inyectados con 4-O-metil WA o 27-O-metil WA. Sin embargo, los animales en estos grupos mostraron cierta debilidad y una disminución en la actividad postdosificación.

Ejemplo 6

Análogos de witaferina A inhiben el desarrollo de enfermedades neurológicas en un modelo de ALS de ratón transgénico TDP-43 A315T

Se evaluó el impacto de la dosificación repetida con 4-O-Metil WA y 27-O-Metil WA en el desarrollo de una enfermedad neurológica en el modelo de ALS de ratón transgénico TDP-43 A315T. El modelo de ratón TDP-43 A315T para ALS se describe completamente en Swarup, V et al., Brain 134:2610-2626 2011. Los ratones TDP-43 A315T comienzan a exhibir déficits neurológicos a los 9 meses de edad aproximadamente, según lo determinado por su rendimiento en varias pruebas de comportamiento y función motora (prueba de laberinto de Barnes, prueba Rotarod de aceleración y prueba de evitación pasiva).

Ratones TDP-43 A315T machos y hembras de aproximadamente 9 meses y 25-55 gm se incluyeron en el estudio y se asignaron al azar a tres grupos, como sigue:

El grupo 1 (n= 6) recibió 4-O-metil WA a 5 mg/kg;

El grupo 2 (n= 7) (el grupo de control) recibió el vehículo (polisorbato al 2% [Tween-80]/DMSO al 5%/solución salina al 93%); y

El grupo 3 (n= 7) recibió 27-O-metil WA a 5 mg/kg.

Todos los animales recibieron inyecciones i.p. del vehículo o 5 mg/kg de los análogos de WA de prueba cada 2 días durante 15 semanas. El volumen de inyección a 12,5 ml/kg se basó en el peso corporal de cada animal al comienzo del estudio.

Todos los animales se observaron al menos una vez al día durante todo el estudio en busca de signos clínicos y se pesaron de manera individual semanalmente antes de la prueba de Rotarod. No hubo cambios significativos en el peso corporal ni en los signos clínicos durante el período de estudio. Después de 15 semanas, los ratones se sacrificaron y la expresión de la proteína TPD-43A315T mutante en la médula espinal de cada ratón se confirmó mediante una prueba de inmunofluorescencia de anticuerpos o inmunoprecipitación Western.

La aceleración de Rotarod (como se describe en Gros-Louis, F., et al. Hum Mol Genet 17, 2691-2702 (2008)) se realizó

antes de la primera dosificación y a intervalos semanales durante el estudio. La prueba se realizó a una velocidad de 4 rpm con una aceleración de 0,25 rpm/s. Cada ratón fue sometido a tres pruebas por sesión. Se registró la cantidad de segundos que permaneció cada ratón en el aparato Rotarod para cada prueba.

Los resultados se muestran en las Figuras 4A y 4B. La Figura 4A muestra las mejores puntuaciones (de los tres ensayos) para ratones individuales en cada grupo. La Figura 4B muestra un análisis de regresión de los datos en la Figura 4A. Los datos muestran que el rendimiento Rotarod del grupo tratado con vehículo disminuyó durante el período de 15 semanas. Sin embargo, el rendimiento de los grupos 4-O-Metil WA- y 27-O-Metil WA de hecho mejoró durante ese período de tiempo. El análisis de regresión lineal mostró significación estadística tanto para 4-O-Metil WA (valor de p de 0,02) como para 27-O-Metil WA (valor de p de 0,02), pero no para el vehículo (valor de p de 0,2).

Los resultados también demuestran que los ratones fueron capaces de tolerar la administración de 5 mg/kg de los análogos de WA cada dos días durante 15 semanas, lo que proporciona evidencia adicional de la seguridad de los compuestos.

Ejemplo 7

Síntesis a escala más grande y purificación de la 27-O-metil witaferina A

Se preparó witaferina 27-O-metil a partir de material de partida witaferina A y se purificó utilizando los procedimientos que se describen a continuación.

1. Preparación de 4,27-bis-O-trietilsililowitaferina A.

A una solución agitada de witaferina A (4,0 g) en N,N-dimetilformamida (40 ml) a 0 °C se le añadió imidazol (2,31 g 4 eq.). Se añadió trietilclorosilano (4,28 ml, 3 eq.) en pequeñas porciones durante aproximadamente 5 minutos y la mezcla resultante se agitó bajo nitrógeno a 0 °C durante aproximadamente 2 horas. Una vez completada la reacción según lo determinado por HPLC, se añadió metanol (2 ml) y la mezcla se agitó durante otros 5-10 minutos. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo (250 ml) y se lavó con salmuera (4 x 100 ml). Los lavados acuosos se combinaron y se extrajeron de nuevo con acetato de etilo (2 x 100 ml). Todos los extractos de acetato de etilo se combinaron, se lavaron nuevamente con salmuera (3 x 100 ml), se secaron con sulfato de sodio anhidro y se concentraron para obtener 10 g de 4,27-bis-O-trietilsililwitaferina A en forma de un aceite pálido.

2. Preparación de 4-O-trietilsililwitaferina A

La 4,27-bis-O-trietilsililwitaferina A (10 g) cruda se disolvió en tetrahidrofurano acuoso (120 ml, THF/agua, 9/1) a temperatura ambiente. Se añadió p-toluenosulfonato de piridinio (PPTS, 120 mg). La mezcla se agitó durante aproximadamente 13 horas, durante las cuales se agregó PPTS adicional (aproximadamente 145 mg) en porciones de 6-30 mg a la reacción en intervalos de 1 hora. El progreso de la reacción se controló cuidadosamente por HPLC. Una vez completada la reacción, la mezcla se diluyó con acetato de etilo (300 ml) y se lavó con salmuera (5 x 100 ml). Los lavados acuosos se combinaron y se extrajeron de nuevo con acetato de etilo (2 X 50 ml). Todos los extractos de acetato de etilo se combinaron, se lavaron con salmuera (100 ml), se secaron con sulfato de sodio anhidro y se concentraron para producir un producto crudo (11,5 g) en forma de una goma pálida. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (diclorometano/acetona 95-93/5-7) para proporcionar 4,2 g de 4-O-trietilsililwitaferina A pura.

3. Preparación de 27-O-metil-4-O-trietilsililwitaferina A

Se disolvió 4-O-trietilsililwitaferina A (1,0 g) en una mezcla de THF anhidra (40 ml) y yoduro de metilo (8 ml) y se enfrió en un baño de agua con hielo bajo nitrógeno. Se añadió hidruro de sodio (60% en aceite mineral, 108 mg, 1,58 eq.) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 minutos. La mezcla se agitó luego a temperatura ambiente durante aproximadamente 1 hora y 40 minutos, durante los cuales la reacción se controló cuidadosamente por HPLC. Una vez que el producto alcanzó el 20-30%, la mezcla se diluyó con acetato de etilo (200 ml) y se lavó con salmuera (3x 80 ml). Todos los lavados se combinaron y se extrajeron de nuevo con acetato de etilo (2x 50 ml). Todos los extractos de acetato de etilo se combinaron, se lavaron con tiosulfato de sodio acuoso al 10% (50 ml) y salmuera (2x 80 ml), se secaron sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentraron.

El producto crudo, combinado con otra tanda que comenzó con 0,5 g de 4-O-trietilsililwitaferina A, se purificó por columna (diclorometano/acetona 95-93/5-7) para dar 413 mg de 27-O-metil-4-O-trietilsililwitaferina A y 756 mg de material de partida recuperado. El rendimiento promedio fue de aproximadamente 27%.

4. Preparación de 27-O-metilwitaferina A

Se disolvió 27-O-metil-4-O-trietilsililwitaferina A (413 mg) en una mezcla de THF (9,5 ml) y piridina (1,2 ml) y se agitó en un baño de agua con hielo. Se añadió gota a gota hidrofluoruro de piridina (0,85 ml) y después de 5 minutos a 0 ºC, la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 horas. La mezcla se diluyó con acetato de etilo (150 ml), se lavó con ácido clorhídrico 0,1 N (50 ml) y salmuera (2x 50 ml). Los lavados se combinaron y se extrajeron de nuevo con acetato de etilo (2x 50 ml). Todos los extractos de acetato de etilo se combinaron y se lavaron con bicarbonato de

sodio saturado (50 ml), salmuera (2x 50 ml), se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron. El producto crudo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílica (hexano/acetona, 70-65 / 30-35) para producir 275 mg de 27-O-metilwitaferina A (≥95% de pureza; 82% de rendimiento). El producto purificado se recristalizó adicionalmente en acetona y hexano para aumentar la pureza hasta aproximadamente el 99% según se evaluó mediante HPLC.

Ejemplo 8

Síntesis a escala más grande y purificación de 4-O-metilwitaferina A

Se preparó 4-O-metilwitaferina A a partir de material de partida witaferina A y se purificó utilizando los siguientes procedimientos.

1. Preparación de 27-O-(terc-butildimetilsilil)witaferina A

Se disolvieron 5,6 g de witaferina A en 60 ml de diclorometano. Se añadió trietilamina (4,0 ml) a la solución de mezcla, seguido de la adición de 4,01 g de terc-butildimetilclorosilano. La solución se agitó a temperatura ambiente durante aproximadamente 80 horas. La solución se lavó con agua y se concentró para dar 6,95 g de 27-O-(terc-butildimetilsililwitaferina A cruda. Esta se cristalizó a partir de metanol y se secó para dar 5,6 g de 27-O-(terc-butil-dimetilsililwitaferina A con una pureza de HPLC del 99,5%. Se pueden lograr tiempos de reacción más cortos mediante la adición de 0,5 g de dimetilaminopiridina, lo que lleva a una terminación del 95% en 12 horas.

2. Metilación de 27-O-(terc-butildimetilsilil)witaferina A

Se colocaron 4,0 g de 27-O-(terc-butildimetilsilil)witaferina A en un matraz de fondo redondo bajo nitrógeno. Se añadieron al matraz 20 ml de N,N-dimetilformamida anhidra. La disolución de los sólidos fue incompleta, pero la adición de 10 ml de yoduro de metilo produjo una solución transparente. Se añadió hidruro de sodio (0,32 g, 60% en aceite mineral) a la solución de mezcla durante 10 minutos. La HPLC mostró aproximadamente el 80% de finalización. Se agregaron 0,5 g adicionales de hidruro de sodio para lograr una terminación del 99%. Se usó ácido acético para inactivar el hidruro de sodio restante. La mezcla se diluyó con diclorometano y se lavó con agua. La capa orgánica se concentró hasta 20 ml. La HPLC mostró una pureza del 88% de 4-O-metil-27-O-(terc-butildimetilsilil)witaferina A.

3. Preparación de 4-O-metilwitaferina A

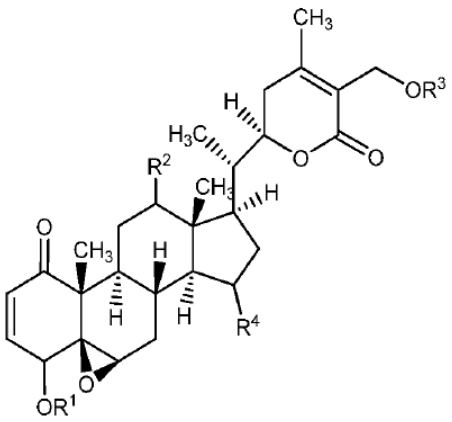
La solución de 4-O-metil-27-O-(terc-butildimetilsilil)witaferina A obtenida anteriormente se transfirió a un matraz de PTFE enjuagando de este punto en adelante con 30 ml de diclorometano. Se añadió piridina (3 ml), seguido de 1 ml de hidrofluoruro de piridina. La reacción se controló por HPLC. Después de 5,5 horas, se agregaron 0,5 ml adicionales de hidrofluoruro de piridina. La reacción continuó durante otras 3 horas hasta completar el 92%. La reacción se trató lavando la solución orgánica con agua, luego con solución de bicarbonato de sodio y finalmente con solución de cloruro de sodio. La capa de diclorometano se concentró en un evaporador rotatorio para dar un líquido viscoso. Esto se diluyó con 36,5 ml de diclorometano y 36,5 ml de metanol y se lavó con 73 ml de agua. La capa orgánica se concentró en vacío para dar 3,9 g de 4-O-metilwitaferina A cruda.

4. Purificación de la 4-O-metilwitaferina A

La 4-O-metilwithferina A cruda obtenida anteriormente se disolvió en diclorometano y se cargó en una columna de gel de sílica de 100 g rellena con diclorometano. La columna se eluyó con 30% v/v de acetona en diclorometano. Las fracciones se analizaron por HPLC y las que contenían el producto puro se combinaron y se evaporaron para dar 1,8 g de sólidos a una pureza del 97%. Los sólidos se cristalizaron en una mezcla de 5 ml de metanol y 10 ml de metil terc-butiléter. Los sólidos se secaron en un horno de vacío para dar 0,61 g de 4-O-metilwitaferina A a una pureza de HPLC del 98%.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I'):



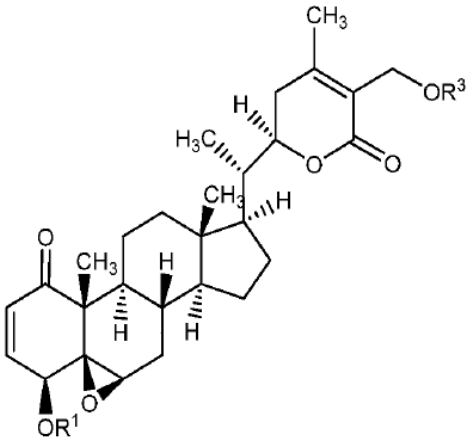
Fórmula (I')

en donde:

R^1 es hidrógeno o alquilo;
R^2 es hidrógeno, alquilo, alquenilo, haloalquilo, $-OR^b$ o $-OC(O)R^b$;
R^3 es hidrógeno o alquilo;
R^4 es hidrógeno, alquilo, alquenilo, haloalquilo, $-OR^b$ o $-OC(O)R^b$; y
R^b es hidrógeno, alquilo, alquenilo, haloalquilo, aralquilo, cicloalquilalquilo o heterociclilalquilo,
como un estereoisómero aislado o una mezcla de estos o una sal farmacéuticamente aceptable de estos,
siempre que al menos uno de R^1 y R^3 sea alquilo.

2. El compuesto de la reivindicación 1, en donde R^1 y R^3 son independientemente hidrógeno o metilo.

3. El compuesto de la reivindicación 1, en donde R^2 y R^4 son cada uno hidrógenos, y el compuesto tiene una estructura representada por la Fórmula (I'a):



Fórmula (I'a)

4. El compuesto de la reivindicación 3, en donde R^1 es metilo y R^3 es hidrógeno.

5. El compuesto de la reivindicación 3, en donde R^1 es hidrógeno y R^3 es metilo.

6. El compuesto de la reivindicación 3, en donde R^1 es metilo y R^3 es metilo.

7. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

8. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para uso en un método para tratar o prevenir una enfermedad caracterizada por proteinopatía TDP-43 en un paciente, cuyo método comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de dicho compuesto.

9. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para uso en un método para tratar o prevenir la esclerosis lateral amiotrófica en un paciente, cuyo método comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de dicho compuesto.

10. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para uso en un método para tratar o prevenir la enfermedad de Alzheimer en un paciente, cuyo método comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de dicho compuesto.

11. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para uso en un método para tratar o prevenir la enfermedad de Parkinson en un paciente, cuyo método comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de dicho compuesto.

12. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para uso en un método para tratar o prevenir la enfermedad de las neuronas motoras en un paciente, cuyo método comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de dicho compuesto.

13. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para uso en un método para tratar o prevenir la degeneración lobular frontotemporal en un paciente, cuyo método comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de dicho compuesto.

14. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para uso en un método para tratar o prevenir un deterioro cognitivo leve o prevenir el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer en un paciente que presenta un deterioro cognitivo leve, cuyo método comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de dicho compuesto.

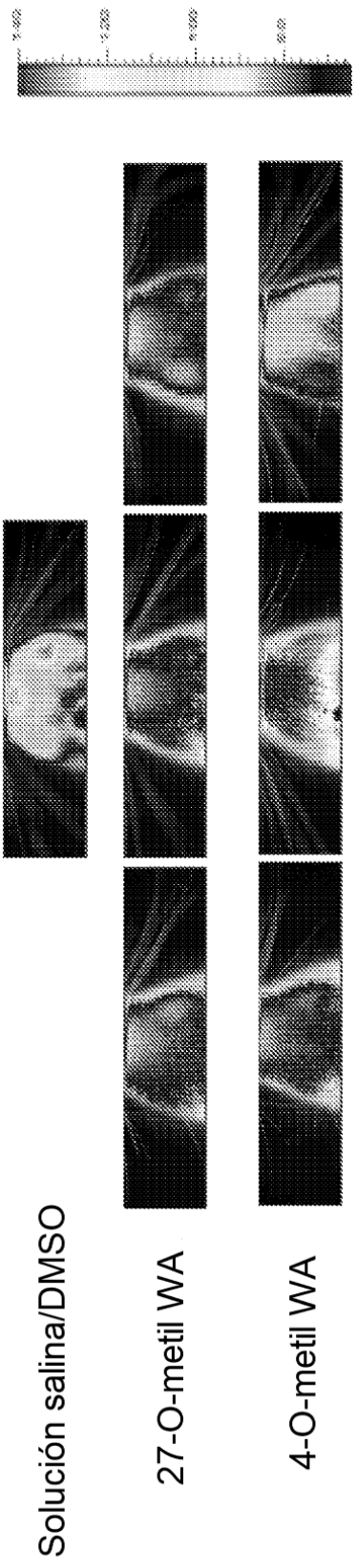

Solución salina/DMSO
27-O-metil WA
4-O-metil WA

FIG. 1A

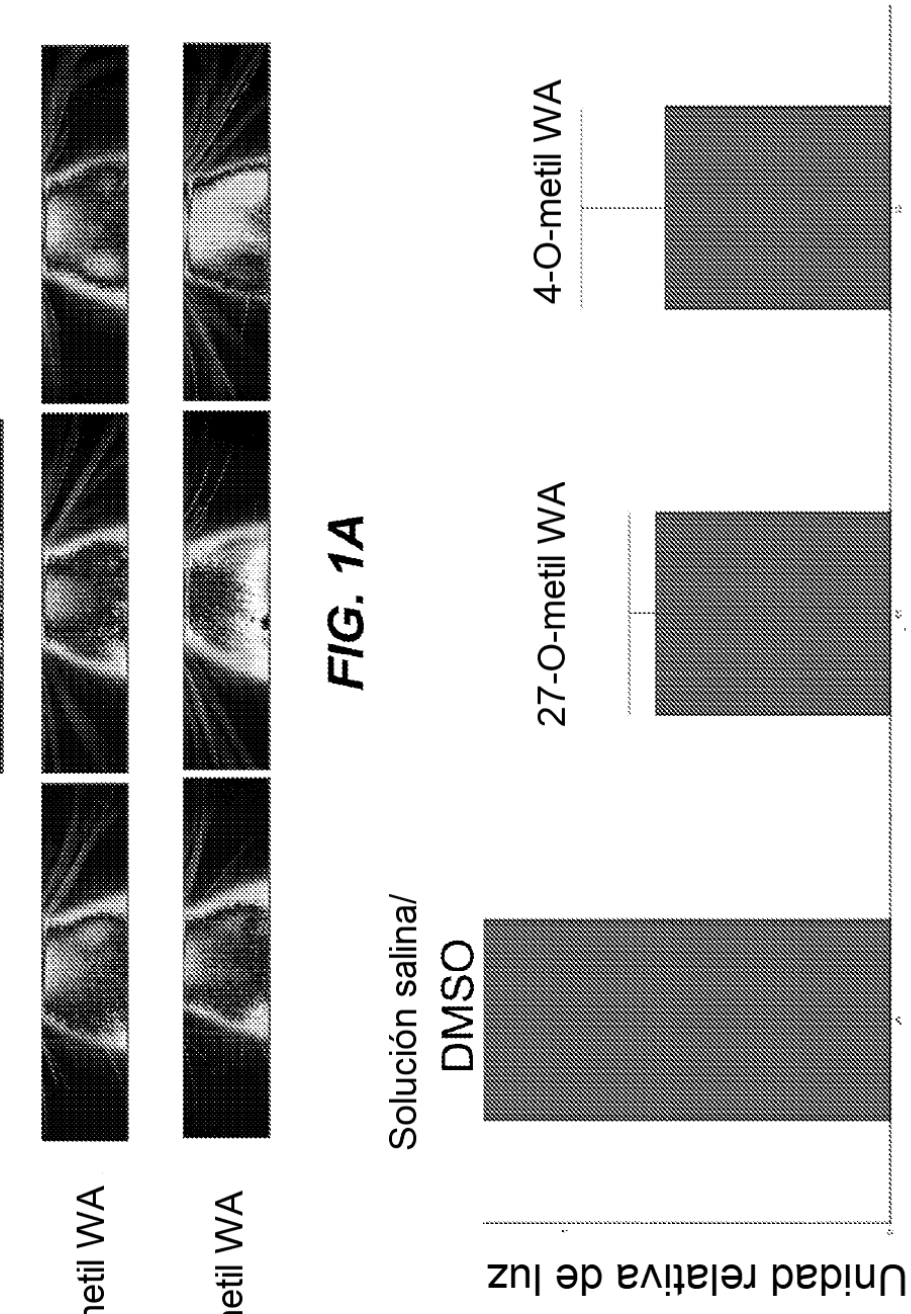

Solución salina/
DMSO
27-O-metil WA
4-O-metil WA
Unidad relativa de luz

FIG. 1B

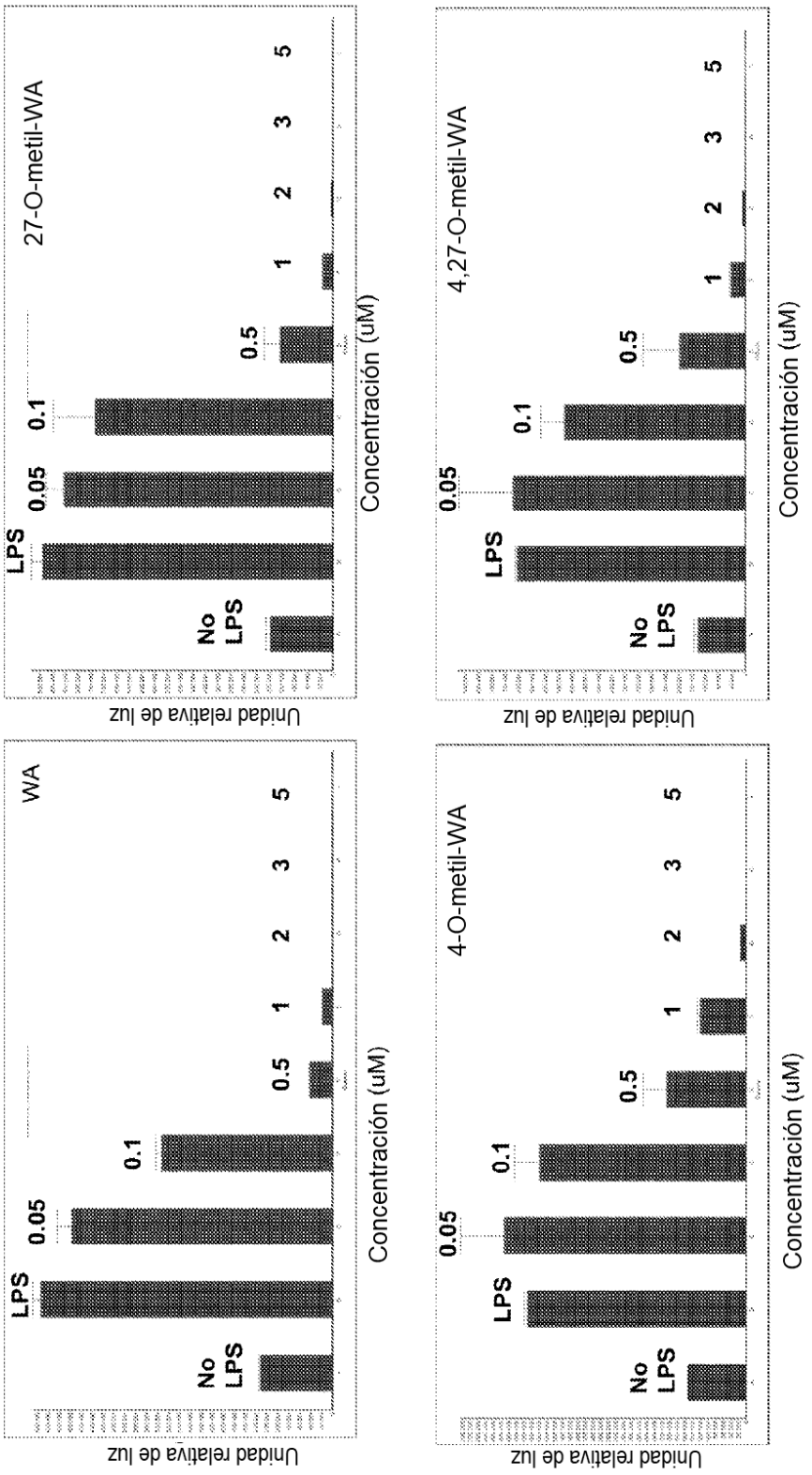

27-O-metil-WA
4,27-O-metil-WA
WA
4-O-metil-WA
No LPS
LPS
0.05
0.1
0.5
1
2
3
5
Unidad relativa de luz
Concentración (uM)

FIG. 2

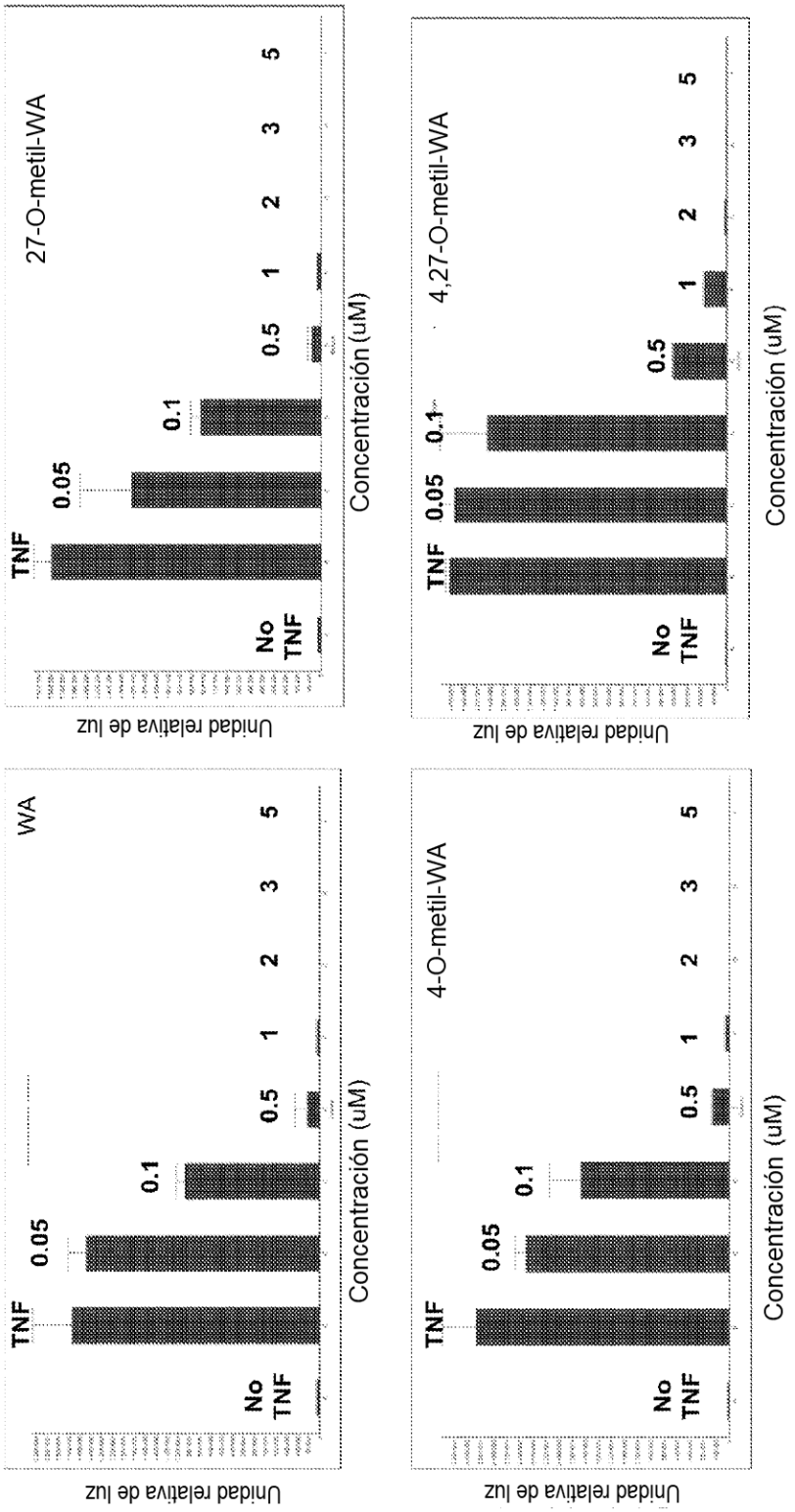

27-O-metil-WA
4,27-O-metil-WA
WA
4-O-metil-WA
TNF
No TNF
0.05
0.1
0.5
1
2
3
5
Unidad relativa de luz
Concentración (uM)

FIG. 3

FIG. 4A

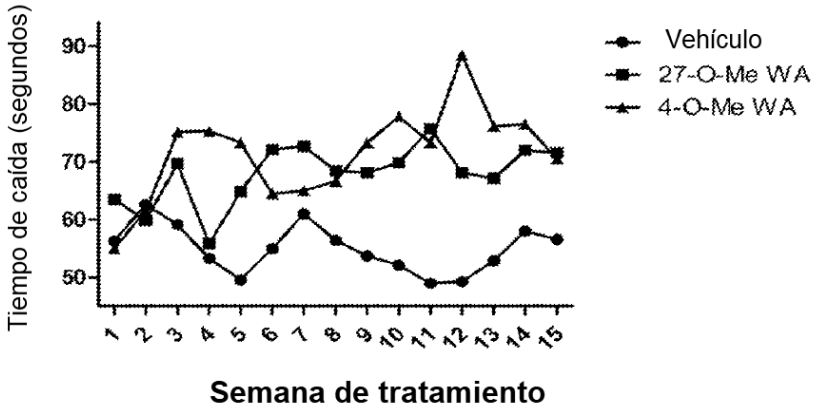
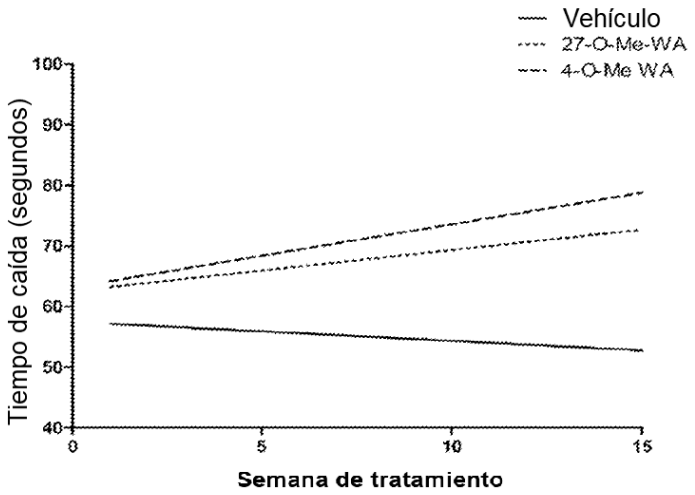


FIG. 4B



	Vehículo	27-O-Me WA	4-O Me-WA
	(n= 7)	(n= 7)	(n= 6)
Pendiente	-0.3139 ± 0.2423	0.6753 ± 0.2627	1.040 ± 0.4057
Valor P	0,2176	0,0233	0,0236
¿Desviación de cero?	No significativa	Significativa	Significativa