(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 737 709**

(21) Número de solicitud: 201830704

(51) Int. Cl.:

A61K 31/404 (2006.01)
A61P 27/02 (2006.01)

(12) SOLICITUD DE PATENTE A1

(22) Fecha de presentación:

13.07.2018

(43) Fecha de publicación de la solicitud:

15.01.2020

(71) Solicitantes:

UNIVERSITAT D'ALACANT / UNIVERSIDAD DE ALICANTE (70.0%)
Edificio Torre de Control. Crta. San Vicente del Raspeig, s/n
03690 San Vicente del Raspeig (Alicante) ES;
FUNDACIÓN PARA LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE LA PRINCESA (20.0%) y
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID (10.0%)

(72) Inventor/es:

LEON MARTINEZ, Rafael;
CAMPELLO BLASCO, Laura;
MICHALSKA DZIAMA, Patrycja;
NOAILLES GIL, Agustina;
KUTSYR, Oksana;
FERNANDEZ SANCHEZ, Laura;
MANEU FLORES, Victoria;
LAX ZAPATA, Pedro;
GARCIA GARCIA, Antonio y
CUENCA NAVARRO, Nicolás

(74) Agente/Representante:

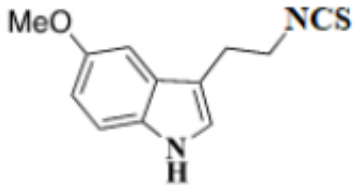
TEMIÑO CENICEROS, Ignacio

(54) Título: **Uso del 3-(2-isotiocianatoetil)-5-metoxi-1H-indol para el tratamiento de las enfermedades degenerativas de la retina**

(57) Resumen:

Uso del 3-(2-isotiocianatoetil)-5-metoxi-1H-indol para el tratamiento de las enfermedades degenerativas de la retina.

La presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para uso en el tratamiento preventivo o terapéutico de las enfermedades degenerativas retinianas.



(I)

ES 2 737 709 A1

DESCRIPCIÓN

Uso del 3-(2-isotiocianatoetil)-5-metoxi-1H-indol para el tratamiento de las enfermedades degenerativas de la retina

Sector de la técnica

La invención se encuadra en el ámbito de la industria farmacéutica y, en concreto, en el uso un compuesto de formula I en el tratamiento de aquellas enfermedades degenerativas de la retina que cursan con destrucción de las estructuras celulares presentes en ésta, preferentemente la degeneración macular asociada a la edad (DMAE), retinopatía diabética (RD), retinosis pigmentaria (RP) y/o glaucoma. Más preferentemente su uso en el tratamiento de la RP.

Estado de la técnica

La retina es un tejido neural altamente especializado y bien estructurado. A pesar de su ubicación periférica, este tejido es tan extremadamente sensible como las estructuras tisulares del Sistema Nervioso Central (SNC). Las diversas enfermedades degenerativas de la retina cursan con muerte celular y alteración de la conectividad sináptica. Los cambios retinianos subyacentes a las diferentes enfermedades modifican la comunicación entre las células y, como consecuencia, la retina sufre una marcada remodelación. En estas patologías influyen factores como el incremento en la oxidación de proteínas, así como el fracaso de las defensas anti-oxidantes en las células que conforman la retina.

El estrés oxidativo es reconocido como uno de los marcadores de envejecimiento. Varios estudios indican que la activación de rutas mediadas por Nrf2 pueden aumentar la supervivencia en distintos modelos de enfermedades neurodegenerativas (Leiser y col., **2010**, *Mol Cell Biol*, 30: 871-84, Lewis y col., **2010**, *Integr Comp Biol*, 50: 829-43). Por otro lado, estas rutas están menos activas o desreguladas durante el envejecimiento, en procesos neurodegenerativos y en procesos degenerativos relacionados con la edad (Ungvari y col., **2011**, *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 301: H363-72). La inhibición o la desregulación de este tipo de rutas, obviamente, pueden agravar el estrés oxidativo en este tipo de patologías. Además, la señalización vía Nrf2 puede proteger frente a patologías inflamatorias (Kim y col., **2010**, *Mutat Res*, 690: 12-23) y por tanto, la deficiencia de señalización vía Nrf2, como ocurre durante el envejecimiento, puede aumentar el fenotipo inflamatorio.

Independientemente de su etiología, todos los trastornos de la retina tienen en común el hecho de que cursan con un marcado estrés oxidativo, inflamación y muerte celular por apoptosis. Así, se ha demostrado que el estrés oxidativo desempeña un papel central en la degeneración retiniana, con implicaciones en la patogénesis de la DMAE, RD, RP y el glaucoma (Cuenca y col., **2014**, *Prog Retin Eye Res*, 43: 17-75). La retina es uno de los tejidos más susceptibles de sufrir daño por especies reactivas del oxígeno (del inglés “reactive oxigen species” ROS). Los fotorreceptores, células fotosensibles de la retina, están expuestos a la luz y son uno de los mayores consumidores de oxígeno en el SNC, fundamentalmente en zona del elipsoide, donde hay una gran acumulación de mitocondrias. El estrés oxidativo no se debe sólo a la producción excesiva de ROS; también puede producirse por una disminución en la activación de Nrf2 (del inglés, “nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2”), como ocurre en la degeneración macular asociada a la edad (DMAE) y la RD (Sachdeva y col., **2014**, *Exp Eye Res*, 119: 111-4, Xu y col., **2014**, *Diabetologia*, 57: 204-13). Como consecuencia, la ruta que implica la interacción del Nrf2 con secuencias reguladoras ARE (del inglés, “antioxidant response element”) se sugiere como una posible diana terapéutica para la prevención y el tratamiento de este tipo de patologías (Nakagami, **2016**, *Oxid Med Cell Longev*, 2016: 7469326) (Lambros y col., **2016**, *Adv Exp Med Biol*, 854: 67-72).

Las enfermedades degenerativas de la retina como el glaucoma, la RP o la DMAE, también se caracterizan por presentar un escenario de neuroinflamación y activación crónica de la microglía (Cuenca y col., **2014**, *Prog Retin Eye Res*, 43: 17-75). Las células de la microglía tienen un efecto protector en la retina dañada, pero su activación excesiva o prolongada produce una inflamación crónica, con secreción de citoquinas inflamatorias que producen efectos secundarios graves que pueden desencadenar muerte neuronal irreversible (Polazzi y col., **2010**, *Prog Neurobiol*, 92: 293-315, Karlstetter y col., **2010**, *Immunobiology*, 215: 685-91). Así pues, la inhibición selectiva de la sobreactivación de la microglía y la preservación de sus funciones tróficas y homeostáticas puede contribuir a reducir la degeneración de los fotorreceptores, de forma que podría suponer un tratamiento prometedor para las enfermedades degenerativas.

El adecuado desarrollo y funcionamiento de la retina requiere un equilibrio entre los procesos de proliferación, diferenciación y muerte celular. Ciertas mutaciones genéticas, la edad y diversos factores ambientales pueden desencadenar mutaciones genéticas específicas que

induzcan muerte por apoptosis en los fotorreceptores, contribuyendo al desarrollo de diversas enfermedades. Los cambios responsables de la distrofia en enfermedades degenerativas de la retina, que causan daño estructural y funcional, pueden ocurrir en cualquier nivel de la cascada de transducción de la señal o en cualquiera de los componentes morfológicos de estas células diferenciadas. El resultado final de muerte celular o supervivencia parece ser la consecuencia de un complejo equilibrio entre los procesos pro- y antiapoptóticos a varios niveles: extracelular, mitocondrial, nuclear y citoplásmico. En la patogénesis de varias enfermedades degenerativas, parece que la apoptosis está implicada, caso de los fotorreceptores en la RP y la DMAE, o las células ganglionares, fotorreceptores y epitelio pigmentario de la retina en pacientes diabéticos (Cuenca y col., **2014**, *Prog Retin Eye Res*, 43: 17-75).

Actualmente, el tratamiento farmacológico de las enfermedades degenerativas de la retina se centra en dos principales líneas de acción. En primer lugar, el uso de estrategias preventivas que intentan contrarrestar los mecanismos subyacentes de la enfermedad, como la terapia génica. En segundo lugar, intentar evitar la muerte celular mediante la administración de compuestos antiapoptóticos y antiinflamatorios, así como factores neurotróficos, que retardan la muerte celular de la retina retrasando así la progresión de la enfermedad.

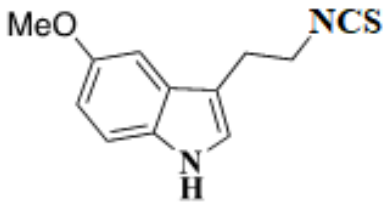
La utilización de compuestos antiapoptóticos puede prevenir la muerte celular en las enfermedades de la retina, que inicialmente sólo afecta a ciertas células como los fotorreceptores y posteriormente al resto de células. En este sentido, la administración de un cóctel de antioxidantes también demostró ser beneficiosa en un modelo animal de RP. Estos cócteles incluyeron α-tocoferol, ácido ascórbico, Mn (III) tetrakis (ácido 4-benzoico) porfirina, y ácido α-lipoico, y también antioxidantes en una combinación consistente en luteína, zeaxantina, ácido α-lipoico y L-glutatión (GSH) (Komeima y col., **2007**, *J Cell Physiol*, 213: 809-15).

Debido a la gran repercusión de los procesos degenerativos de la retina en la calidad de vida de los pacientes, resulta enormemente interesante encontrar tratamientos farmacológicos adecuados. En los documentos de patente EP2623494, JP20100221873 20100930, WO2010/016042, ES2331342, se proponen distintas opciones de tratamiento de enfermedades retinianas basadas en uno o varios compuestos químicos y/o productos naturales.

La presente invención se centra en el uso del derivado 3-(2-isotiocianatoetil)-5-metoxi-1*H*-indol como estrategia terapéutica para evitar, prevenir o mitigar la degeneración de la retina en el glaucoma, la DMAE o la RP en base a su efecto antioxidante y citoprotector ya descrito (Egea y col., **2015**, *Br J Pharmacol*, 172: 1807-21).

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (I):



(I)

3-(2-isotiocianatoetil)-5-metoxi-1*H*-indol

así como a sus sales farmacéuticamente aceptables para uso en el tratamiento preventivo o terapéutico de las enfermedades degenerativas retinianas.

El término “sales farmacéuticamente aceptables” utilizado aquí abarca cualquier sal formada a partir de ácidos orgánicos e inorgánicos, tales como el clorhídrico, el sulfúrico, el aspártico, el bencenosulfónico, el cítrico, el fumárico, el glutámico, el láctico, el maleico, el oxálico, el piválico, el p-toluenesulfónico, los tartáricos y similares, o una sal metálica, estando seleccionado el metal entre el sodio, el potasio, el litio, el calcio y similares, o las sales amónicas, o una sal formada a partir de bases orgánicas, como el 2-amino-1-butanol, la colina, la dibencilmetilamina, la dietanolamina, los monoamino glicoles, la triisopropanolamina y similares, y sales con aminoácidos tales como la glicina y similares.

El compuesto de la presente invención se prepara según métodos conocidos (Egea y col., **2015**, *Br J Pharmacol*, 172: 1807-21) pudiéndose preparar complejos solubles con distintos excipientes según la literatura (Michalska y col., **2017**, *Carbohydr Polym*, 157: 94-104).

El compuesto de la presente invención se administra convenientemente formulado con los excipientes adecuados por vía oral, inyectable o intravenosa a dosis diarias comprendidas entre 0,01 y 100 mg, preferentemente entre 0,01 a 50 mg.

Como vía de administración se prefiere la vía oral. Como presentaciones orales se eligen indistintamente los comprimidos, las cápsulas, las grageas, cápsulas de gelatina, gránulos, supositorios, las soluciones bebibles y las gotas para su posterior dilución en líquidos. El principio activo puede ser incorporado con excipientes normalmente usados en composiciones farmacéuticas como lactosa, estearato de magnesio, vehículos acuosos o no acuosos, sustancias grasas de origen vegetal o animal, derivados de parafina, glicoles, agentes de dispersión, emulsión o empapado y conservantes.

En una realización particular, el compuesto I puede ser administrado de forma local en el área donde se necesita el tratamiento. Como ejemplo de administración local, el compuesto I puede ser administrado en forma de gotas para ojos, inyección intraocular, un implante de forma que el implante puede ser constituido por un material poroso, no-poroso, o gelatinoso incluyendo membranas como las membranas sialísticas o fibras.

La invención se refiere también a una composición farmacéutica que comprende el compuesto I, o sus sales farmacéuticamente aceptables, definido anteriormente, para uso en el tratamiento preventivo o terapéutico de las enfermedades degenerativas retinianas.

La enfermedad degenerativa puede ser la retinosis pigmentaria, retinopatía diabética, glaucoma o la degeneración macular.

La composición farmacéutica puede ser administrada en cualquiera de las formas mencionadas anteriormente, y preferentemente, por vía oral, rectal, subcutánea, intramuscular o intravascular.

De modo especialmente preferente, la composición farmacéutica se preparar como solución que pueda ser usada para aplicación local en el ojo.

La forma de administración se puede seleccionar del grupo consistente en: solución en gotas para ojos, una solución adecuada para inyección intraocular, o una solución para inyección intravitreal.

En la composición farmacéutica, el compuesto de fórmula (I) está presente en una cantidad comprendida entre 0,01 y 100 mg, preferentemente entre 0,01 a 50 mg.

Una característica esencial del compuesto de la presente invención es que presenta efecto reductor de la degeneración retiniana asociada a diversos modelos de degeneración.

Ni melatonina es un inductor potente de Nrf2 como el compuesto de la invención, ni el sulforafano es un antioxidante efectivo como nuestro compuesto. Por tanto se demuestra la mejora con respecto a cada una de las actividades. El compuesto de la invención mejora la actividad antioxidante e inductora de Nrf2 de melatonina y sulforafano respectivamente.

El compuesto objeto de la presente invención muestra varias ventajas claras y demostradas respecto a melatonina y sulforafano. En primer lugar, el compuesto objeto de la invención ha demostrado una combinación de actividades biológicas con efecto terapéutico que no está presente en ninguna de las moléculas precursoras. El compuesto I es un potente inductor de Nrf2 efecto que no posee melatonina, lo cual demuestra una ventaja respecto a melatonina. Por otra parte, el compuesto I ha demostrado mejorar ambas actividades respecto a la combinación de las moléculas precursoras en ambas actividades lo que indica que no solo combina la actividad de ambas moléculas si no que las mejora significativamente (Egea y col., 2015, Br J Pharmacol, 172: 1807-21). Finalmente, la ventaja más significativa demostrada en el compuesto I es que, además, incluye un mecanismo de acción fármaco-profármaco que no posee ninguna de las moléculas precursoras.

Breve descripción de las figuras

La figura 1 muestra el Efecto del compuesto I sobre la viabilidad de células 661W expuestas a nitroprusiato sódico (SNP).

La figura 2 muestra Curvas estímulo-respuesta de los ERG escotópicos de ratones rd10 tratados con vehículo (control) o 10 mg/Kg del compuesto I.

La figura 3 muestra Curvas estímulo-respuesta de los ERG escotópicos de ratones rd10 tratados con vehículo (control) o 1 mg/Kg del compuesto I.

La figura 4 muestra la agudeza visual medida expresada como frecuencia espacial en ciclos/grado alcanzada por ratones rd10 tratados con vehículo (control), y por ratones tratados con compuesto I a 1 ó 10 mg/Kg de P16 a P30, por vía intraperitoneal, dos veces al día.

La figura 5 muestra la sensibilidad al contraste medida en diferentes frecuencias espaciales en ciclos/grado alcanzado para ratones rd10 tratados con vehículo (control), así como para ratones tratados con el compuesto I a 10 mg/Kg de P16 a P30, por vía intraperitoneal, dos veces al día.

Modos de realización de la invención

La presente invención se ilustra adicionalmente mediante los siguientes ejemplos, los cuales no pretenden ser limitativos de su alcance.

Los efectos protectores y reductores de la degeneración retiniana del compuesto de fórmula (I) fueron estudiados en la línea celular 661W, derivada de fotorreceptores (Ejemplo 1) y en un modelo animales de degeneración retiniana (Ejemplo 2). En el primer ejemplo, la línea celular 661W fue sometida a daño por los agentes oxidantes nitroprusiato sódico, midiendo la viabilidad celular en presencia y ausencia del compuesto. La viabilidad celular se evaluó mediante medida de la capacidad reductora del compuesto XTT. En el segundo ejemplo, la capacidad neuroprotectora del compuesto se estudió *in vivo*, en un modelo de RP autosómica recesiva, el ratón rd10. El compuesto de fórmula (I) se administró a 1 ó 10 mg/kg, por vía intraperitoneal, dos dosis diarias durante 3 ó 7 días después de la isquemia o del día postnatal P16 hasta P30 en los ratones rd10.

Ejemplo 1: Citoprotección frente a la toxicidad inducida por nitroprusiato sódico (300 µM) en la línea celular derivada de fotorreceptores 661W.

La línea celular 661W se aisló de tumores retinales de ratones transgénicos que expresan el antígeno T de SV40 bajo el control del promotor del gen IRBP (PBR-3). Es una línea celular

homogénea que expresa varios marcadores de los fotorreceptores de tipo cono: opsinas, transducina y X-arrestina. Hay una gran cantidad de información disponible sobre las rutas que se activan en estas células en diversos estímulos apoptóticos y se han utilizado con éxito como herramienta en la investigación asociada con las distrofias retinianas.

La línea celular 661W se cultivó en medio DMEM suplementado con suero fetal bovino (FBS) inactivado por calor al 10% y glutamina al 1% a 37 ºC en una atmósfera humidificada al 5% de CO_2. La supervivencia celular se cuantificó mediante medida de reducción de XTT, realizada espectrofotométricamente según las instrucciones del proveedor.

En primer lugar se estudió la capacidad del compuesto de fórmula (I) para evitar la muerte celular en la línea 661W. Los cultivos celulares fueron incubados con diferentes concentraciones del compuesto (I) (0,1, 1 y 10 µM) durante 1 h. Transcurrido el periodo de pre-incubación, las células en tratamiento fueron expuestas a estímulo tóxico (nitroprusiato sódico 300 µM). Tras 24 h de incubación del estímulo tóxico se midió la supervivencia celular mediante la técnica de XTT.

El compuesto I se pre-incubó durante 1 h y se mantuvo durante el estímulo tóxico (nitroprusiato sódico, NPS a 300 uM durante 24 horas). La figura 1 muestra el valor medio del ensayo de viabilidad celular (XTT) en % con respecto al control, células no lesionadas ± DS (n = 4, 8 pocillos en cada condición). * $p < 0,05$, t-test pareado.

Los resultados se muestran en la Figura 1. El compuesto I aumentó la supervivencia neuronal de forma estadísticamente significativa a la concentración de 1 µM.

En estas condiciones experimentales, después de un estímulo tóxico de nitroprusiato sódico aplicado durante 24 h, el compuesto I a 1 µM aumentó la viabilidad de la línea celular 661W un 20%.

Ejemplo 2. Rescate de las respuestas visuales en el modelo animal de retinosis pigmentaria rd10

La retinosis pigmentaria se considera un conjunto de enfermedades hereditarias en las cuales degeneran los fotorreceptores. En la mayoría de las formas de RP, se produce inicialmente la

muerte de los fotorreceptores de tipo bastón, a lo que sigue la muerte de los fotorreceptores de tipo cono. Los pacientes con RP sufren una pérdida progresiva de visión periférica, que progresa a visión en túnel.

El compuesto I puede ejercer un efecto protector y por lo tanto que ser un agente eficaz para tratar la RP. Los estudios se plantearon para estudiar la eficacia del compuesto I como tratamiento de la retinosis pigmentaria.

La cepa murina rd10 es un modelo de degeneración de la retina autosómico recesivo, obtenido debido a una mutación puntual en el gen Pde6b (GMPc fosfodiesterasa 6B, receptor de conos, polipéptido beta). Es un modelo en el que la degeneración aparece de forma tardía y muestra una progresión más lenta que otros modelos, como la cepa rd1, de forma que se muestra como un modelo más adecuado para el ensayo de terapias para la RP. Este modelo también es más aceptado que el modelo de daño causado por luz aguda ya que las células fotorreceptoras en el raton rd10 se pierden durante un periodo de semanas en lugar de días. La pérdida de fotorreceptores en el modelo rd10 se inicia aproximadamente a las dos semanas de vida, con un pico de muerte de fotorreceptores al día postnatal P30.

Las dosis estudiadas fueron 1 mg/Kg (D1) y 10 mg/Kg (D2); administrado intraperitonealmente, dos veces al día, desde el día postnatal P16 hasta el P30, es decir desde el inicio hasta un estado avanzado del proceso degenerativo.

Los grupos de estudio fueron:

(1) C: control, ratones rd10 inyectados con vehículo (PBS),
(2) D1: ratones rd10 tratados con el compuesto I, 1 mg/Kg,
(3) D2: ratones rd10 tratados con el compuesto I, 10 mg/Kg.

Ejemplo 2.1: medida de la amplitud de la respuesta electroretinográfica (ERG)

La capacidad de respuesta de la retina a la luz puede ser evaluada mediante el registro de los potenciales eléctricos generados en la retina en respuesta a estímulos luminosos. La medida se realiza a través un electrodo de registro colocado sobre la córnea de uno o ambos ojos del individuo. La adaptación y mantenimiento del individuo en condiciones de oscuridad permiten

obtener respuestas de mayor amplitud (ondas escotópicas). Una vez digitalizadas y procesadas las respuestas, se pueden obtener curvas estímulo-respuesta, que relacionan la intensidad del estímulo con la amplitud de las ondas de voltaje registradas. La amplitud de la onda “a” depende directamente de la respuesta de los fotorreceptores, conos y bastones. La amplitud de la onda “b” es proporcional a la funcionalidad de las células de la retina interna.

Las curvas estímulo-respuesta de los ERG se analizaron en ratones rd10 tratados con vehículo (control) o tratados con el compuesto I a 1 y 10 mg/Kg. Como se detalla en la Figura 2, los valores medios de las ondas a y b escotópicas fueron mayores (20% y 28%, respectivamente) en los ratones rd10 tratados con el compuesto I a 10 mg/Kg.

La Figura 2 muestra curvas estímulo-respuesta de los ERG escotópicos de ratones rd10 tratados con vehículo (control) o 10 mg/Kg del compuesto I. El gráfico muestra los valores medios ± SEM de las ondas a y b. ** $p < 0,05$, *** $p < 0,001$, MANOVA, usando el test post-hoc de Bonferroni.

Por otra parte, no se observaron diferencias entre los animales tratados con 1 mg/Kg del compuesto I y ratones tratados con vehículo. La Figura 3 muestra las Curvas estímulo-respuesta de los ERG escotópicos de ratones rd10 tratados con vehículo (control) o 1 mg/Kg del compuesto I. El gráfico muestra los valores medios ± SEM de las ondas a y b.

Por lo tanto, en nuestras condiciones experimentales, los ratones rd10 inyectados con el compuesto I a una dosis de 10 mg/Kg de P16 a P30, dos veces al día, mostraron curvas estímulo-respuesta de mayor amplitud que los ratones rd10 inyectados con vehículo (PBS), siendo esta diferencia estadísticamente significativa, lo que indica una mejora de la respuesta funcional de la retina.

Ejemplo 2.2: Medida de la agudeza visual en el modelo rd10 tratado con el compuesto I.

La agudeza visual da una medida de la actividad funcional de la retina. El análisis de la agudeza visual en ratones rd10 tratados y no tratados, se realizó mediante la prueba optomotora. En esta prueba, los animales, situados en el interior de una caja con paneles proyectores en las cuatro paredes, se exponen a imágenes en movimiento de barras verticales que giran en uno u otro sentido. El experimentador analiza la respuesta visual de los animales

a los cambios de sentido de las barras. El grosor de las barras se reduce progresivamente. El grosor mínimo de las barras a cuyo movimiento es capaz de responder el animal determina una medida de la agudeza visual.

Este ensayo mostró que en los ratones tratados con el compuesto I a 1 mg/Kg la agudeza visual aumentó un 14,0% en comparación con ratones rd10 tratados con vehículo (control), aunque la diferencia no resultó significativa. Con dosis de 10 mg/Kg, la agudeza visual aumentó significativamente un 35,6% respecto a los ratones rd10 tratados con vehículo. La Figura 4 muestra la agudeza visual medida expresada como frecuencia espacial en ciclos/grado alcanzada por ratones rd10 tratados con vehículo (control), y por ratones tratados con compuesto I a 1 ó 10 mg/Kg de P16 a P30, por vía intraperitoneal, dos veces al día. Los datos representan valores medios ± SEM. * $p < 0,05$, MANOVA, usando el test post-hoc de Bonferroni.

En cuanto a la sensibilidad al contraste, en comparación con ratones rd10 tratados con vehículo, en los animales tratados con el compuesto I a 10 mg/Kg la sensibilidad al contraste aumentó entre un 11% y un 115%, dependiendo de la frecuencia espacial del estímulo (Figura 5). No se encontraron diferencias significativas en sensibilidad al contraste entre ratones rd10 tratados con el compuesto I a 1 mg/Kg en comparación con ratones rd10 control. La Figura 5 muestra la sensibilidad al contraste medida en diferentes frecuencias espaciales en ciclos/grado alcanzado para ratones rd10 tratados con vehículo (control), así como para ratones tratados con el compuesto I a 10 mg/Kg de P16 a P30, por vía intraperitoneal, dos veces al día. Los datos representan valores medios ± SEM. * $p < 0,001$, MANOVA, prueba post-hoc de Bonferroni.

En el modelo de ratón rd10, un modelo de ratón de retinosis pigmentaria, el compuesto I rescató respuestas visuales respecto a rd10 ratones tratados con vehículo cuando se administraba a una dosis de 10 mg/Kg dos veces al día intraperitonealmente, de P16 a P30. El compuesto I preservó las amplitudes ERG escotópicas de las ondas a y b (con valores 20% y 28% respectivamente superiores a los obtenidos en ratones rd10 tratados con vehículo). También aumentó la agudeza visual en los animales tratados con el compuesto hasta un 35,60% y aumentó su sensibilidad al contraste de 11% a 115% dependiendo de la frecuencia espacial.

Bibliografía.

Cuenca N, Fernandez-Sanchez L, Campello L, Maneu V, De la Villa P, et al. 2014. Cellular responses following retinal injuries and therapeutic approaches for neurodegenerative diseases. Prog Retin Eye Res 43: 17-75

Egea J, Buendia I, Parada E, Navarro E, Rada P, et al. 2015. Melatonin-sulforaphane hybrid ITH12674 induces neuroprotection in oxidative stress conditions by a 'drug-prodrug' mechanism of action. Br J Pharmacol 172: 1807-21

Karlstetter M, Ebert S, Langmann T. 2010. Microglia in the healthy and degenerating retina: insights from novel mouse models. Immunobiology 215: 685-91

Kim J, Cha YN, Surh YJ. 2010. A protective role of nuclear factor-erythroid 2-related factor-2 (Nrf2) in inflammatory disorders. Mutat Res 690: 12-23

Komeima K, Rogers BS, Campochiaro PA. 2007. Antioxidants slow photoreceptor cell death in mouse models of retinitis pigmentosa. J Cell Physiol 213: 809-15

Lambros ML, Plafker SM. 2016. Oxidative Stress and the Nrf2 Anti-Oxidant Transcription Factor in Age-Related Macular Degeneration. Adv Exp Med Biol 854: 67-72

Leiser SF, Miller RA. 2010. Nrf2 signaling, a mechanism for cellular stress resistance in long-lived mice. Mol Cell Biol 30: 871-84

Lewis KN, Mele J, Hayes JD, Buffenstein R. 2010. Nrf2, a guardian of healthspan and gatekeeper of species longevity. Integr Comp Biol 50: 829-43

Michalska P, Wojnicz A, Ruiz-Nuno A, Abril S, Buendia I, Leon R. 2017. Inclusion complex of ITH12674 with 2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin: Preparation, physical characterization and pharmacological effect. Carbohydr Polym 157: 94-104

Nakagami Y. 2016. Nrf2 Is an Attractive Therapeutic Target for Retinal Diseases. Oxid Med Cell Longev 2016: 7469326

Polazzi E, Monti B. 2010. Microglia and neuroprotection: from in vitro studies to therapeutic applications. Prog Neurobiol 92: 293-315

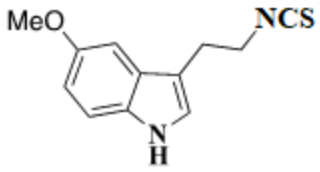
Sachdeva MM, Cano M, Handa JT. 2014. Nrf2 signaling is impaired in the aging RPE given an oxidative insult. Exp Eye Res 119: 111-4

Ungvari Z, Bailey-Downs L, Sosnowska D, Gautam T, Koncz P, et al. 2011. Vascular oxidative stress in aging: a homeostatic failure due to dysregulation of NRF2-mediated antioxidant response. Am J Physiol Heart Circ Physiol 301: H363-72

Xu Z, Wei Y, Gong J, Cho H, Park JK, et al. 2014. NRF2 plays a protective role in diabetic retinopathy in mice. Diabetologia 57: 204-13

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para uso en el tratamiento preventivo o terapéutico de las enfermedades degenerativas retinianas.



(I)

2. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que la enfermedad degenerativa es la retinosis pigmentaria, retinopatía diabética, glaucoma o degeneración macular.

3. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que la sal farmacéuticamente aceptable es una sal de ácido orgánico, una sal de ácido inorgánico, una sal formada a partir de bases orgánicas, y una sal con aminoácidos.

4. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que la sal farmacéuticamente aceptable es una sal seleccionada entre una sal de ácido clorhídrico, sulfúrico, aspártico, bencenosulfónico, cítrico, fumárico, glutámico, láctico, maleico, oxálico, piválico, p-toluenesulfónico, tartárico, y similares, una sal formada a partir de 2-amino-1-butanol, una sal formada a partir de colina, una sal formada a partir de dibencilmetilamina, una sal formada a partir de dietanolamina, una sal formada a partir de monoamino glicoles, una sal formada a partir de triisopropanolamina, y una sal formada a partir de glicina.

5. Un compuesto según una de las reivindicaciones 1 a 4, para uso en una dosis comprendida 0,01 y 100 mg, preferentemente entre 0,01 a 50 mg.

6. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto I definido en una de las reivindicaciones 1 a 5, para uso en el tratamiento preventivo o terapéutico de las enfermedades degenerativas retinianas.

7. Una composición farmacéutica según la reivindicación 6, en el que la enfermedad degenerativa es la retinosis pigmentaria, retinopatía diabética, glaucoma o degeneración macular.

8. Una composición farmacéutica según la reivindicación 6 o 7, para su administración por vía oral, rectal, subcutánea, intramuscular o intravascular.

9. Una composición farmacéutica según una de las reivindicaciones 6 a 8, como solución que pueda ser usada para aplicación local en el ojo.

10. Una composición farmacéutica según la reivindicación 9, en una forma seleccionada del grupo consistente en: solución en gotas para ojos, una solución adecuada para inyección intraocular, o una solución para inyección intravitreal.

11. Una composición farmacéutica según una de las reivindicaciones 6 a 10, en la que el compuesto de fórmula (I) está presente en una cantidad comprendida entre 0,01 y 100 mg, preferentemente entre 0,01 a 50 mg.

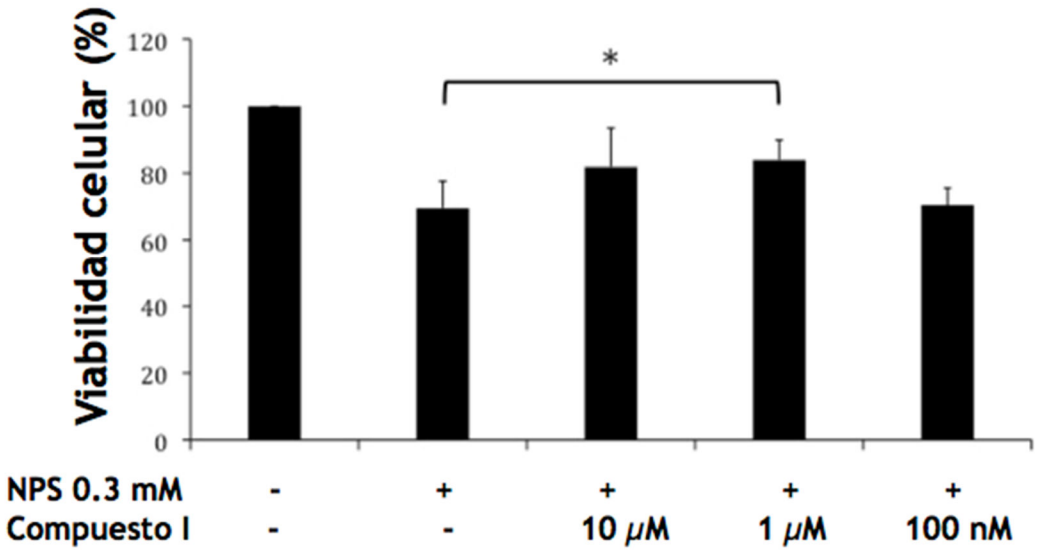


Figura 1

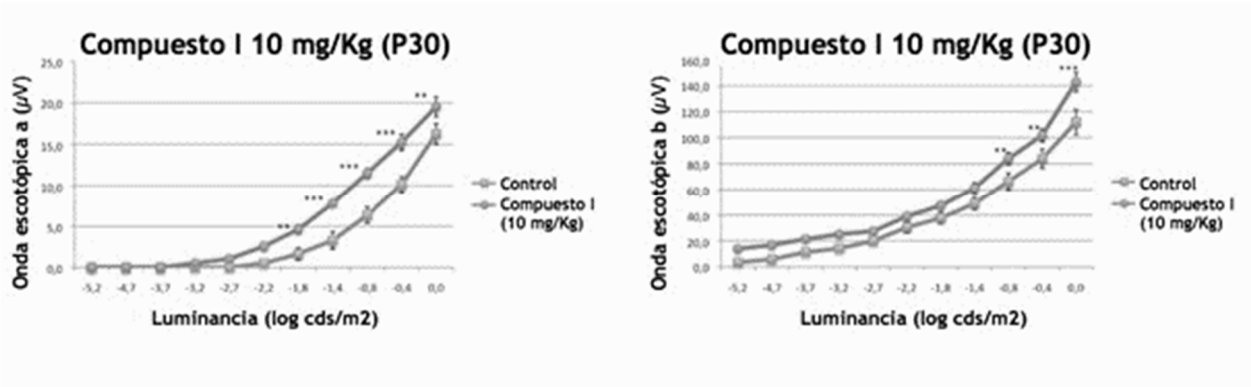


Figura 2

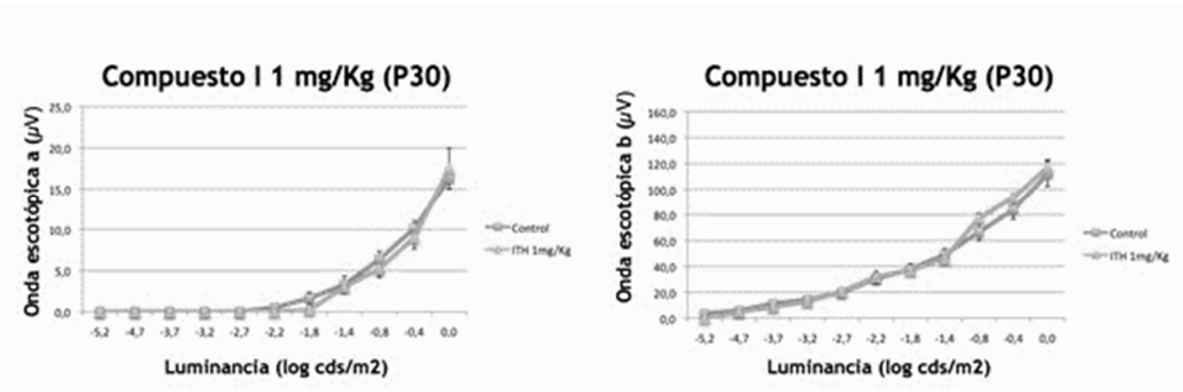


Figura 3

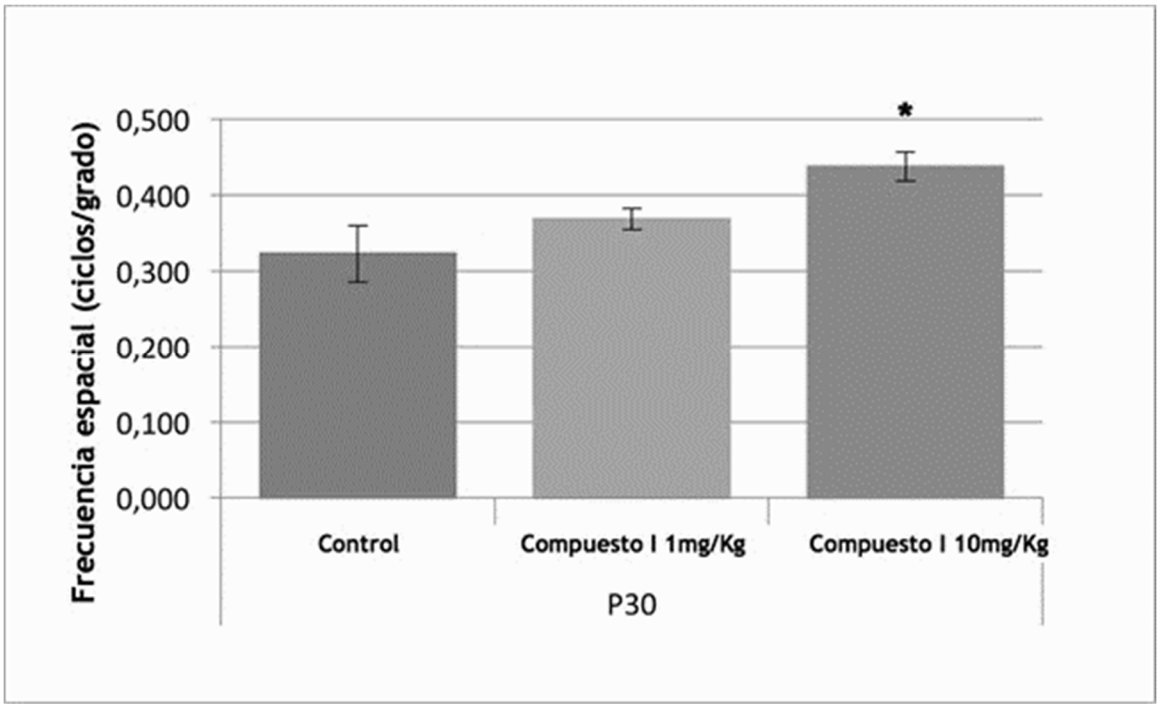


Figura 4

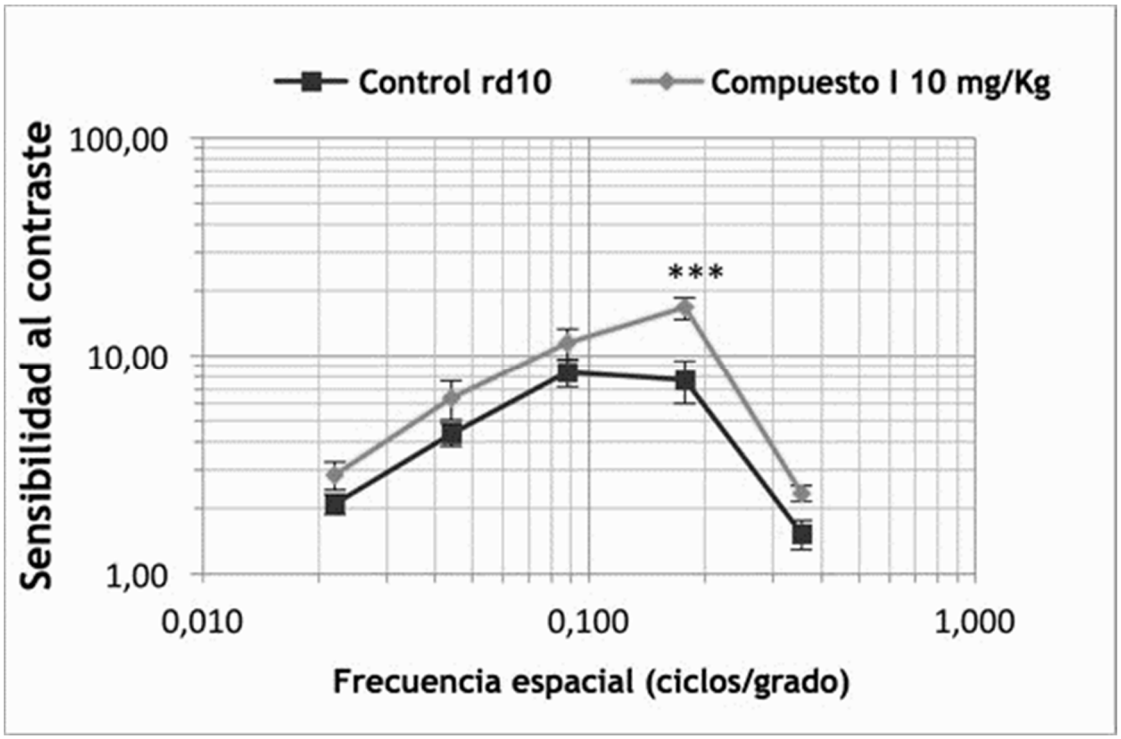

Control rd10
Compuesto I 10 mg/Kg
Sensibilidad al contraste
100,00
10,00
1,00
***
0,010
0,100
1,000
Frecuencia espacial (ciclos/grado)

Figura 5

OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(21) N.º solicitud: 201830704

(22) Fecha de presentación de la solicitud: 13.07.2018

(32) Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

(51) **Int. Cl. :** ***A61K31/404*** (2006.01)
A61P27/02 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	(56) Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	EGEA JAVIER et al. Melatonin-sulforaphane hybrid ITH12674 induces neuroprotection in oxidative stress conditions by a 'drug-prodrug' mechanism of action. British Journal of Pharmacology APR 2015. , 31/03/2015, Vol. 172, Páginas 1807-1821, ISSN 0007-1188(print) ISSN 1476-5381(electronic), <DOI: doi:10.1111/bph.13025>. resultados, figura 1	1-11
A	ES 2526979 A1 (FUNDACION PARA LA INVESTIGACION BIOMEDICA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE LA PRINCESA et al.) 19/01/2015, reivindicaciones	1-11
A	TSOTINIS ANDREW et al. Design, synthesis, and melatoninergic activity of new azido- and isothiocyanato-substituted indoles. Journal of Medicinal Chemistry DEC 13 2007. , 30/11/2007, Vol. 50, Páginas 6436-6440, ISSN 0022-2623, <DOI: doi:10.1021/jm7010723>. esquema 5, compuesto 46	1-11
A	MICHALSKA PATRYCJA et al. Inclusion complex of ITH12674 with 2-hydroxypropyl-?-cyclodextrin: Preparation, physical characterization and pharmacological effect. CARBOHYDRATE POLYMERS, 20160924 APPLIED SCIENCE PUBLISHERS, LTD. BARKING, GB. , 24/09/2016, Vol. 157, Páginas 94 - 104, ISSN 0144-8617, <DOI: doi:10.1016/j.carbpol.2016.09.072>. páginas 94 y 95, introducción, figura 1	1-11
A	KOMEIMA KEIICHI et al. Antioxidants slow photoreceptor cell death in mouse models of retinitis pigmentosa.. Journal of cellular physiology United States Dec 2007. , 30/11/2007, Vol. 213, Páginas 809 - 815, ISSN 1097-4652 (Electronic), <DOI: pubmed: 17520694>. resumen	1-11

Categoría de los documentos citados
X: de particular relevancia
Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría
A: refleja el estado de la técnica
O: referido a divulgación no escrita
P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud
E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones ☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe	Examinador	Página
03.04.2019	H. Aylagas Cancio	1/2

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A61K, A61P

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, PATENW, BIOSIS, MEDLINE, NPL, EMBASE, XPESP, REGISTRY, HCAPLUS