

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 759 675**

51 Int. Cl.:

A61K 31/404 (2006.01) **A61P 35/00** (2006.01)
A61K 36/185 (2006.01)
A61K 36/36 (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01)
A61P 19/00 (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01)
A61P 27/02 (2006.01)
A61P 1/00 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
A61P 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.03.2010 PCT/IB2010/051132**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **23.09.2010 WO10106494**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.03.2010 E 10710448 (1)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.09.2019 EP 2408446**

54 Título: **Uso de composiciones farmacéuticas que contienen mesembrenona**

30 Prioridad:

20.03.2009 ZA 200902003

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

11.05.2020

73 Titular/es:

**HG&H PHARMACEUTICALS (PTY) LIMITED
(100.0%)
Moraine House The Braes, 193 Bryanston Drive
2191 Bryanston, ZA**

72 Inventor/es:

**HARVEY, ALAN;
GERICKE, NIGEL y
VILJOEN, ALVARO**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 759 675 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Uso de composiciones farmacéuticas que contienen mesembrenona

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a usos farmacéuticos de la mesembrenona y medicamentos y suplementos dietéticos que contienen mesembrenona.

Antecedentes de la invención

10 Las plantas del género *Sceletium* son conocidas por contener alcaloides indólicos tales como mesembrenol, mesembranol, mesembrina y mesembranona, cuyas fórmulas químicas se describen en la patente de Estados Unidos núm. 6,288,104. La patente de Estados Unidos núm. 6,288,104 describe que la mesembrina, el mesembrenol y la mesembranona tienen una potente actividad inhibitoria de la captación de 5-HT y, por lo tanto, son útiles en el tratamiento de afecciones que responden al tratamiento con un inhibidor de la captación de serotonina, tal como la depresión leve a moderada. Se ha informado previamente que el hidrocloreto de mesembrina es un inhibidor débil del PDE4 (Napoletano, M. y otros. 2001. La mesembrina es un inhibidor del PDE4 que sigue la relación estructura-función del rolipram. Chemistry Preprint Archive, Volumen 2001, Edición 3, marzo de 2001, páginas 303-308). La información sobre usos pasados y presentes, la química del alcaloide y la evidencia farmacológica generada en el *Sceletium* son revisadas por Gericke, N y otros. (2008. *Sceletium* - A review update. Journal of Ethnopharmacology, Volumen 119, N° 3, 28 de octubre del 2008, páginas 653-663)

15 El solicitante ha encontrado sorprendentemente que la mesembrenona exhibe potentes propiedades de inhibición de PDE-4 y, además de ser útil en el tratamiento de afecciones que responden al tratamiento con un inhibidor de PDE-4, tiene doble actividad debido a sus propiedades de inhibición de la captación de serotonina.

Sumario de la invención

20 De acuerdo con un aspecto de la invención, se proporciona mesembrenona, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para usar como medicamento o suplemento dietético para prevenir o tratar una enfermedad o afección que responde al tratamiento con un inhibidor de PDE-4, en el que la enfermedad o la afección se selecciona del grupo que consiste en enfermedad de Alzheimer; trastornos de la cognición y la memoria; enfermedad de Parkinson; asma; enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC); rinitis alérgica; artritis reumatoide; psoriasis; dermatitis atópica; y enfermedad de Crohn. Se apreciará que la mesembrenona se puede utilizar en cualquiera de sus formas de diastereoisómeros, o en una mezcla de las mismas.

25 En una realización de la invención, la mesembrenona se extrae y se aísla, por ejemplo, como un compuesto puro, a partir de material vegetal de la familia de plantas Mesembryanthemaceae, preferiblemente una planta o plantas del género *Sceletium*, más preferiblemente, una planta o plantas de la especie *Sceletium tortuosum*(L.) N.E.Br.

Los expertos en la técnica también pueden sintetizar mesembrenona de acuerdo con procesos conocidos.

30 En otra realización de la invención, la mesembrenona se puede usar en forma de un extracto de material vegetal de la familia de plantas Mesembryanthemaceae, preferiblemente una planta del género *Sceletium*, más preferiblemente, una planta de la especie *Sceletium tortuosum*(L.)N.E.Br. El extracto de la planta puede enriquecerse en mesembrenona, de acuerdo con los procedimientos conocidos en la técnica.

35 Por lo tanto, la mesembrenona puede estar en forma de un compuesto puro aislado o extracto de planta. La mesembrenona se puede usar en forma libre o en forma de una sal farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, una sal de adición de ácido, por ejemplo, obtenida mediante la adición de un ácido inorgánico u orgánico, por ejemplo, la adición de sal de ácido clorhídrico.

40 En la presente memoria se divulga también un procedimiento para prevenir, aliviar o tratar a un mamífero que padece una afección en el que el procedimiento incluye administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de mesembrenona o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma en la que dicha afección responde a la prevención, alivio, modulación o tratamiento con un inhibidor de PDE-4.

45 De acuerdo con otro aspecto de la invención, se proporciona mesembrenona, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso como un medicamento o suplemento dietético para prevenir o tratar una enfermedad o afección que responde al tratamiento con un inhibidor de PDE-4 y un inhibidor de la captación de 5HT, en el que la enfermedad o afección se selecciona del grupo que consiste en artritis reumatoide, enfermedad de Crohn, asma, rinitis, psoriasis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedad de Alzheimer y déficits en la memoria o la cognición.

50 La novedosa e inesperada doble y potente inhibición de la captación de 5-HT e inhibición de PDE4 por la mesembrenona o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma tiene una amplia gama de aplicaciones útiles para la salud animal y humana.

Por lo tanto, debido a su actividad inhibitoria de la captación de 5-HT, la mesembrenona o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma puede usarse como medicamento o suplemento dietético para prevenir o tratar una enfermedad o afección que responda al tratamiento con un inhibidor de PDE-4 y un inhibidor de la captación de 5HT, en el que la enfermedad o afección es como se describió anteriormente en la presente memoria.

5 En la presente memoria también se divulga la aplicación de mesembrenona o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma en afecciones del sistema nervioso central y periférico que responden a la neurogénesis estimulante o creciente, ya que se sabe que la neurogénesis se potencia por un inhibidor de la captación de 5-HT o por un inhibidor de PDE4.

10 Las afecciones que pueden tratarse beneficiosamente aumentando o estimulando la neurogénesis son conocidas en la técnica (véase, por ejemplo, la Publicación de las Solicitudes de patente de Estados Unidos núms. 20020106731, 2005/0009742 y 2005/0009847, 20050032702, 2005/0031538, 2005/0004046, 2004/0254152, 2004/0229291 y 2004/0185429.

Función Cognitiva

15 Además, se divulga un procedimiento para mejorar o aumentar la función cognitiva reducida o para mantener o estabilizar la función cognitiva en un sujeto o paciente. El tratamiento puede comprender la administración de mesembrenona a un sujeto o paciente para mejorar o aumentar una disminución o deterioro de la función cognitiva debido a una terapia y/o afección que reduce la función cognitiva. El mantenimiento o la estabilización de la función cognitiva puede estar a un nivel, o aproximadamente, presente en un sujeto o paciente en ausencia de una terapia y/o afección que reduzca la función cognitiva o como resultado de una terapia y/o afección que reduzca la función cognitiva.

20 Estos tratamientos opcionalmente incluyen evaluar o medir la función cognitiva del sujeto o paciente antes, durante y/o después de la administración del tratamiento para detectar o determinar el efecto del mismo en la función cognitiva. Por lo tanto, el tratamiento puede comprender i) tratar al sujeto o paciente que ha sido evaluado previamente para la función cognitiva y ii) reevaluar la función cognitiva en el sujeto o paciente durante o después del curso del tratamiento. 25 La evaluación puede medir la función cognitiva para compararla con un valor control o estándar (o rango) en sujetos o pacientes en ausencia de mesembrenona. Esto puede usarse para evaluar la eficacia de la mesembrenona en aliviar la reducción de la función cognitiva.

Identificación de sujetos y pacientes

30 La divulgación en la presente memoria incluye procedimientos que comprenden la identificación de un individuo que padece una o más enfermedades, trastornos o afecciones, o un síntoma de los mismos, y la administración al sujeto o paciente de una cantidad terapéuticamente efectiva de mesembrenona o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma. La identificación de un sujeto o paciente que tiene una o más enfermedades, trastornos o afecciones, o un síntoma de los mismos, puede ser realizada por un profesional experto usando cualquier medio apropiado conocido en el campo.

35 Las ventajas de un mecanismo de acción doble de inhibición de la captación de 5-HT y PDE4 incluyen la posibilidad de usar una dosis más baja para lograr el mismo objetivo terapéutico en afecciones que responden tanto a un inhibidor de la captación de 5-HT como a un inhibidor de PDE4, tales como afecciones que modulan la neurogénesis. Se puede esperar que el uso de dosis más bajas de la mesembrenona de doble acción tenga un perfil de efectos secundarios reducido en relación a los fármacos o medicamentos de acción única, tal como una reducción en la pérdida de la libido que se encuentra comúnmente en los inhibidores de la captación de 5-HT; y una reducción en las náuseas y vómitos encontrados con los inhibidores de PDE4. La doble acción del fármaco o medicamento puede ser una ventaja al reducir el número de medicamentos que deben tomarse cuando existe una comorbilidad relevante. Por ejemplo, la artritis junto con la depresión, el Alzheimer junto con la depresión.

45 Para los usos anteriores, la dosis requerida variará, por supuesto, dependiendo del modo de administración, la afección particular a tratar y el efecto deseado. Una dosis diaria indicada en los mamíferos más grandes, por ejemplo, humanos, está en el rango de aproximadamente 5 microgramos a 5 miligramos de mesembrenona, preferiblemente de 20 microgramos a 200 microgramos de mesembrenona, administrada convenientemente, por ejemplo, en dosis divididas de hasta cuatro veces al día o en una forma de liberación lenta. Las formas de dosificación unitaria adecuadas comprenden de aproximadamente 5 microgramos a 500 microgramos, preferiblemente de 20 microgramos a 100 50 microgramos de mesembrenona.

La mesembrenona se puede administrar en forma libre o en forma de sal farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, como se indicó anteriormente. Dichas sales pueden prepararse de manera convencional y exhibir el mismo orden de actividad que la mesembrenona en forma libre.

55 La mesembrenona o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma puede formularse en forma de una composición farmacéutica de acuerdo con un procedimiento conocido en la técnica, por ejemplo, mezclando con uno o más vehículos o diluyentes farmacéuticamente aceptables.

La mesembrenona o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma puede administrarse por cualquier vía convencional, en particular, por vía enteral, por ejemplo, por vía oral, por ejemplo, en forma de tinturas etanólicas acuosas, comprimidos, cápsulas, cápsulas blandas, aerosoles orales, gomas, obleas o preparaciones sublinguales, por vía nasal, por ejemplo, en forma de aerosoles o inhaladores nasales, o por vía transdérmica, por ejemplo, en forma de parches para la piel, lociones, cremas y ungüentos.

Descripción de la invención

La invención se describe ahora de acuerdo con los siguientes ejemplos y procedimientos no limitantes y con referencia a los siguientes dibujos esquemáticos.

En los dibujos:

La Figura 1 representa la curva de concentración-respuesta de la mesembrina tanto en el transportador 5-HT como en la enzima PDE-4B a diferentes concentraciones.

La Figura 2 representa la curva de concentración-respuesta de la mesembrenona tanto en el transportador 5-HT como en la enzima PDE-4B a diferentes concentraciones.

Aislamiento de la mesembrenona

Las partes aéreas de *S. tortuosum* se secaron y pulverizaron. El material se sumergió en agua destilada y se acidificó mediante la adición de H₂SO₄ 4 %. A esta fase acuosa se añadió NH₄OH 20 % para basificar la solución, seguido de la extracción excesiva con diclorometano. Este extracto crudo de alcaloide se adsorbió en gel de sílice y se cargó en una columna de gel de sílice 60F eluyendo con CH₂Cl₂ 100 % y luego con CH₂Cl₂/EtOAc (8:2) con polaridad creciente a CH₂Cl₂/EtOAc/MeOH (7:2:1). Se recolectaron 35 fracciones eluidas en serie de 100 ml y se evaluó la pureza para cada fracción usando una cromatografía en capa fina. Luego se seleccionaron las fracciones más puras y se usó GC-MS (Agilent 6890N GC equipado con una columna de fenil metil siloxano 5 % HP-5MS (columna capilar 30 m x 250 µm d.i. x 0,25 µm)) para identificar la mesembrenona de acuerdo con el patrón de fragmentación publicado. Las fracciones ricas en mesembrenona se agruparon y se reabsorbieron en gel de sílice. La muestra agrupada se fraccionó luego en una columna de gel de sílice 60F eluyendo con CH₂Cl₂/EtOAc (8:2). La pureza de la fracción agrupada se analizó en GC-MS (Agilent 6890N GC) equipado con una columna de fenil metil siloxano 5 % HP-5MS (columna capilar 30 m x 250 µm id x 0,25 µm). El programa de temperatura del horno: 60 °C, se eleva a 255 °C a una velocidad de 20 °C/min y se mantiene durante 15 min. Se utilizó helio como gas transportador. Los espectros obtenidos en el impacto de electrones a 70 eV, escaneo de 35 a 550 m/z. En estas condiciones, la mesembrenona tuvo un tr de 18,8 min y se aisló una muestra. La estructura de la muestra se confirmó como la mesembrenona usando RMN.

Uso de la mesembrenona

Una muestra de mesembrenona pura aislada del material vegetal de *Sceletium* como se discutió anteriormente se prueba en estudios de unión en un rango de concentraciones in vitro para la actividad inhibitoria del transportador de 5-HT (es decir, inhibición de la captación de serotonina), y en un rango de concentraciones in vitro para la actividad inhibitoria de la enzima PDE-4B. A modo de comparación, una muestra de mesembrina pura se analiza in vitro para determinar la actividad inhibitoria de PDE-4B, en un rango de concentraciones establecido en las Tablas 1 a 4 y en las Figuras 1 y 2.

Tabla1a: Los estudios de unión a la mesembrenona en el transportador de 5-HT. El compuesto control es la imipramina.

Concentración de prueba (M)	% de Unión específica al control (Promedio de n=2)
1,0E-08	96,4
3,0E-08	72,7
1,0E-07	44,9
3,0E-07	16,4
1,0E-06	9,4
3,0E-06	0,6

Tabla 1b Estudios de unión a la mesembrina en el transportador de 5-HT. El compuesto control es la imipramina.

Concentración de prueba (M)	% de Unión específica al control (Promedio de n=2)
1,0E-08	18,6
3,0E-08	7,0
1,0E-07	2,0
3,0E-07	1,7
1,0E-06	-0,7
1,0E-06	0,9
3,0E-06	-0,8
3,0E-06	0,1
1,0E-05	1,1
3,0E-05	3,2
1,0E-04	-0,2
3,0E-04	0,2

† **Procedimientos Generales**

Ensayo	Origen	Compuesto de Referencia	Bibliografía
Transportador 5-HT (<i>h</i>)	Humano recombinante (células CHO)	Imipramina	Tatsumi y otros. (1999) ^(A)

^(A) TATSUMI, M., JANSEN, K., BLAKELY, R.D. y RICHELSON, E. (1999)

5

Perfil farmacológico de neurolépticos en transportadores humanos de monoaminas. *Eur. J. Pharmacol.*, **368**: 277-283

Condiciones experimentales

Ensayo	Ligando	Conc.	No Específico	Incubación	Método de Detección
Transportador 5-HT (<i>h</i>)	[³ H]imipramina	2 nM	Imipramina (10 µM)	60 min./22 °C	Conteo por cintilación

Análisis y expresión de los resultados

10

La unión específica del ligando a los receptores se definió como la diferencia entre la unión total y la unión no específica determinada en presencia de un exceso de ligando no marcado.

Los resultados se expresan como un por ciento de unión específica al control ((unión específica medida/unión específica al control) x 100) obtenida en presencia de mesembrenona.

Los valores de IC₅₀ (concentración que causa una inhibición media máxima de unión específica al control) y los coeficientes de Hill (*nH*) se determinan mediante análisis de regresión no lineal de las curvas de competencia

generadas con valores medios de las réplicas usando el ajuste de la curva de ecuación de Hill ($Y = D + [(A - D)/(1 + (C/C_{50})^{nH})]$), donde Y= unión específica, D = unión específica mínima, A= unión específica máxima, C= concentración del compuesto, $C_{50} = IC_{50}$, y nH = factor de pendiente).

Tabla 2: Inhibición de PDE 4 por la mesembrenona. El compuesto control es el rolipram.

Concentración de prueba (M)	% de Actividad específica del control (Promedio de n=2)
1,0E-08	94,4
3,0E-08	89,3
1,0E-07	80,1
3,0E-07	56,2
1,0E-06	37,5
3,0E-06	16,7

5

Tabla 3: Inhibición de PDE 4 por la mesembrina. El compuesto control fue el rolipram.

Concentración de prueba (M)	% de Actividad específica del control (Promedio de n=2)
1,0E-06	114,6
3,0E-06	68,3
1,0E-05	40,3
3,0E-05	19,2
1,0E-04	8,5
3,0E-04	-1,6

± Procedimiento General

Ensayo	Origen	Compuesto de Referencia	Bibliografía
PDE4B (h)	humano recombinante (células Sf9)	Rolipram	Saldou y otros. (1998) ^(B)

10

^(B) SALDOU, N., OBERNOLTE, R., HUBER, A., BADCKER, P.A., WILHELM, R., ALVAREZ, R., LI, B., XIA, L., CALLAN, O., SU, C., JARNAGIN, K. y SHELTON, E.R. (1998), Comparación de las isoformas de PDE4 humano recombinante: interacción con el sustrato e inhibidores. *Cell Signal.*, 10: 427-440

Condiciones experimentales

Ensayo	Substrato	Incubación.	Producto de Reacción	Método de Detección
PDE4B (h)	AMPc (40 nM)	30 min./22 °C	AMPc residual	HTRF

Análisis y expresión de los resultados

Los resultados se expresan como un por ciento de la actividad específica del control ((actividad específica medida/actividad específica del control) x 100) obtenida en presencia de la mesembrenona.

5 Los valores del IC₅₀ (concentración que causa una inhibición media máxima de la actividad específica del control) y los coeficientes de Hill (*nH*) se determinan mediante análisis de regresión no lineal de las curvas de inhibición generadas con valores medios de las réplicas usando el ajuste de la curva de la ecuación de Hill ($Y = D + [(A - D)/(1 + (C/C_{50})^{nH})]$), donde Y = unión específica, D = unión específica mínima, A = unión específica máxima, C = concentración del compuesto, C₅₀ = IC₅₀, y nH = factor de pendiente).

10 Tabla 4: Sumario de los resultados para la mesembrina y la mesembrenona en el transportador de 5-HT y en PDE4B.

Compuesto	Transportador de 5-HT		PDE4B	
	Ki (nM)	n _H	IC50 (nM)	n _H
mesembrina	1,4*	1,0*	7,800	1,3
mesembrenona	27	1,0	470	0,8

n_H = Coeficiente de Hill

*este valor se ha extrapolado de la curva de dosis-respuesta que se muestra en las Figuras 1 y 2.

Los resultados confirman que la mesembrenona es un inhibidor del transportador de 5-HT e inesperadamente demuestra el nuevo hallazgo de sus potentes propiedades inhibitoras de PDE4.

15 La diferencia entre las concentraciones para un efecto inhibitor del 50 % en los dos ensayos es solo 17 veces para la mesembrenona, mientras que es de 5.500 para la mesembrina. Por lo tanto, la mesembrenona puede considerarse como un inhibidor de "doble acción", actuando simultáneamente como un inhibidor del transportador de 5-HT, así como un inhibidor de PDE4. En comparación, la mesembrina es altamente selectiva para la inhibición del transportador de 5-HT con relación a la inhibición de PDE4B.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Mesembrenona, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso como medicamento o suplemento dietético para prevenir o tratar una enfermedad o afección que responde al tratamiento con un inhibidor de PDE-4, en el que la enfermedad o afección se selecciona del grupo que consiste en la enfermedad de Alzheimer; trastornos de la cognición y la memoria; enfermedad de Parkinson; asma; enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC); rinitis alérgica; artritis reumatoide; psoriasis; dermatitis atópica; y enfermedad de Crohn.
- 10 2. Mesembrenona, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso como medicamento o suplemento dietético para prevenir o tratar una enfermedad o afección que responde al tratamiento con un inhibidor de PDE-4 y un inhibidor de la captación de 5HT, en el que la enfermedad o afección se selecciona del grupo que consiste en artritis reumatoide, enfermedad de Crohn, asma, rinitis, psoriasis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedad de Alzheimer y déficit en la memoria o la cognición.
- 15 3. Mesembrenona, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que la mesembrenona es un compuesto sustancialmente puro extraído y aislado de material vegetal de la familia de plantas Mesembryanthemaceae.
- 20 4. Mesembrenona, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que la mesembrenona está en forma de un extracto vegetal de material vegetal de la familia de plantas Mesembryanthemaceae.
- 25 5. Mesembrenona, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para su uso de acuerdo con la reivindicación 3 o la reivindicación 4, en el que la mesembrenona se obtiene del material vegetal de una planta o plantas del género *Sceletium*.
6. Mesembrenona, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para su uso de acuerdo con la reivindicación 5, en el que la mesembrenona se obtiene del material vegetal de una planta o plantas de la especie *Sceletium tortuosum* (L.) N.E.Br.

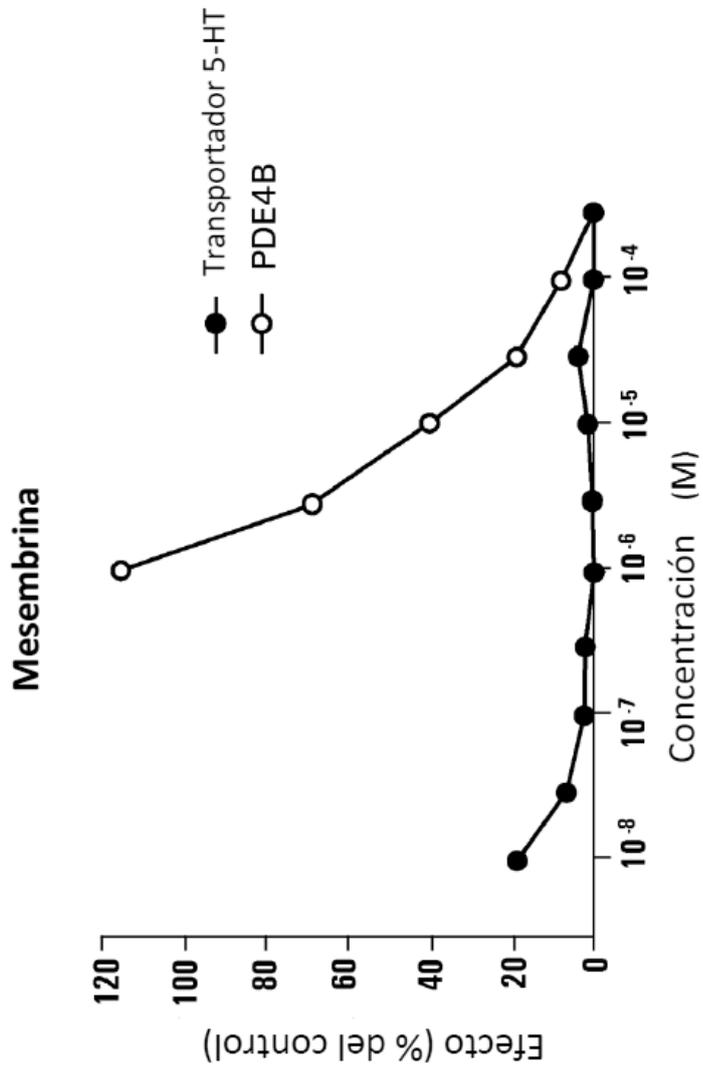


FIGURA 1

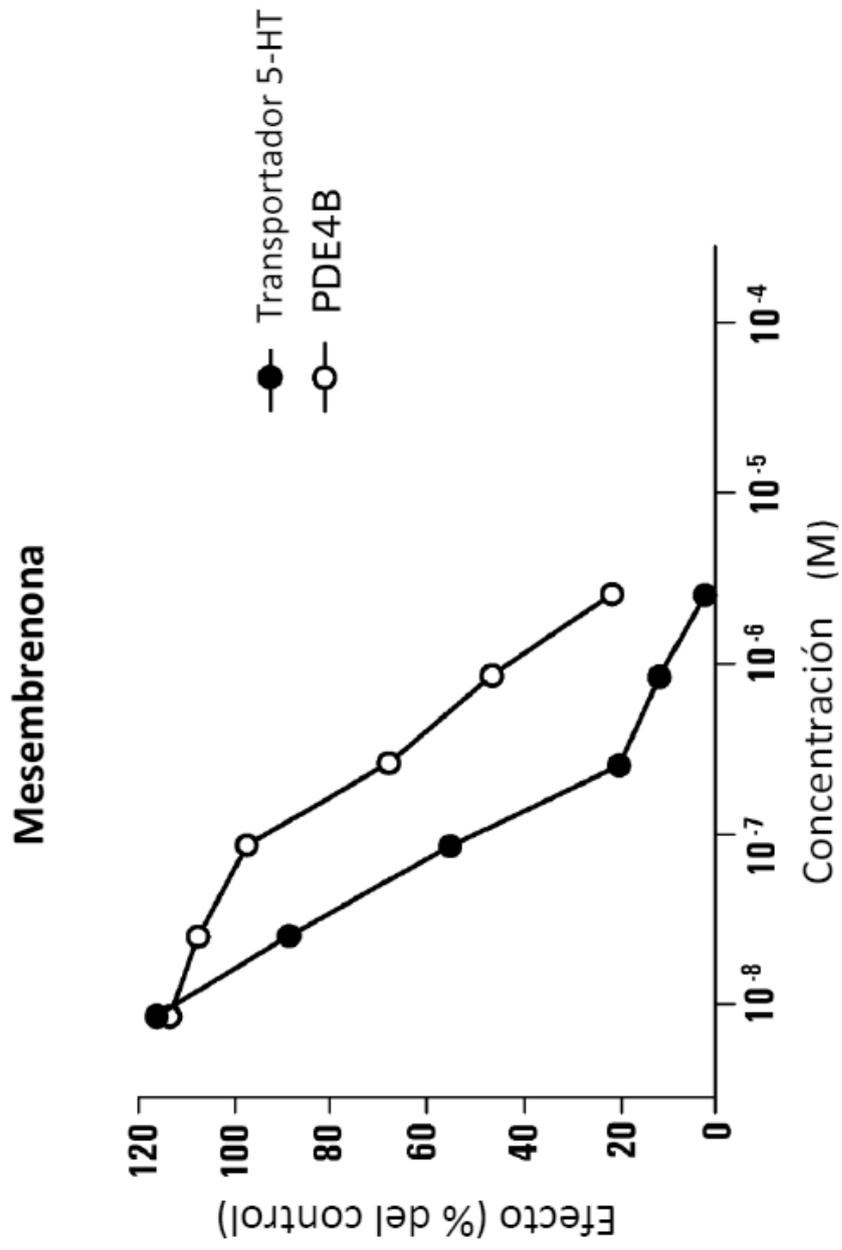


FIGURA 2