

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 781 756**

51 Int. Cl.:

A61K 31/353 (2006.01)
A61K 31/397 (2006.01)
A61K 31/415 (2006.01)
A61K 31/44 (2006.01)
A61K 31/454 (2006.01)
A61K 31/52 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.03.2013 PCT/EP2013/055728**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **25.09.2014 WO14146699**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.03.2013 E 13710850 (2)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.01.2020 EP 2976074**

54 Título: **Antagonistas del receptor de canabinoide CB1 para la utilización en el tratamiento de enfermedades asociadas a anomalías dendríticas neuronales**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
07.09.2020

73 Titular/es:
**UNIVERSITAT POMPEU-FABRA (100.0%)
Unitat d-Innovació i Parcs de Recerca Ed. Mercè
Rodoreda Ramon Trias Fargas 25-27
08005 Barcelona, ES**

72 Inventor/es:
**OZAITA MINTEGUI, ANDRÉS;
BUSQUETS GARCÍA, ARNAU y
MALDONADO LÓPEZ, RAFAEL**

74 Agente/Representante:
CURELL SUÑOL, S.L.P.

ES 2 781 756 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

Antagonistas del receptor de canabinoide CB1 para la utilización en el tratamiento de enfermedades asociadas a anomalías dendríticas neuronales

5

Campo de la invención

La presente invención se refiere a antagonistas del receptor de canabinoide CB1 seleccionados de antagonistas neutros y agonistas inversos para la utilización en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades asociadas a anomalías dendríticas neuronales, en el que dichas anomalías dendríticas no son causadas por un estímulo externo, sino que se deben a una maduración deficiente de la plasticidad dendrítica neuronal.

10

Antecedentes de la invención

La arquitectura dendrítica determina las entradas en una neurona y su papel en los circuitos neuronales. Las redes dendríticas son estructuras altamente dinámicas, que se ramifican y se retraen en respuesta a la información recibida, y que se estabilizan y se mantienen principalmente mediante señalización postsináptica.

15

Las denominadas patologías dendríticas son varias enfermedades que comparten una característica de las anomalías dendríticas neuronales (revisión en Kaufmann y Moser, 2000). Entre ellas se incluyen cambios en los patrones de ramificación de las dendritas, fragmentación de las dendritas, retracción o pérdida de la ramificación de las dendritas y cambios en la morfología y número de espinas. Las espinas dendríticas son pequeñas proyecciones membranosas de una dendrita con volúmenes de la cabeza de la espina comprendidos entre $0.01 \mu\text{m}^3$ y $0.8 \mu\text{m}^3$. Las espinas con fuertes contactos sinápticos típicamente presentan una cabeza grande de la espina, que conecta con la dendrita mediante un cuello membranoso. Las clases más notables de formas de espina son "delgada", "rechoncha", "seta" y "ancha": las espinas delgadas presentan una cabeza más pequeña y un cuello estrecho; las espinas rechonchas no presentan ninguna constricción evidente entre la cabeza y la unión al tallo; las espinas seta presentan una cabeza grande y un cuello estrecho, y las espinas anchas son de longitud corta y se caracterizan por un cuello grande y una cabeza de espina grande. Los estudios de microscopía electrónica han demostrado que existe un continuo de formas entre dichas categorías. La forma y volumen variables de la espina se cree que están correlacionados con la fuerza y madurez de cada espina-sinapsis: los tipos delgado y rechoncho se considera que son formas inmaduras, mientras que los tipos seta y ancho se considera que son formas maduras de espinas.

20

25

30

Las anomalías dendríticas y especialmente las alteraciones de las espinas dendríticas se ha informado que contribuyen a varias condiciones asociadas a retardo mental, tales como el síndrome de Down (Martínez de Langran, 2012), síndrome de Angelman (Dan, 2009; Baudry et al., 2012) y síndrome de Rett, y a otras enfermedades neurológicas, tales como la esclerosis tuberosa (Machado-Salas, 1984; Tavazoie et al., 2005; Chapeau et al., 2009).

35

40

El tratamiento de dichas patologías dendríticas se ha llevado a cabo mediante diferentes enfoques, sin éxito hasta el momento. El tratamiento de las enfermedades genéticas que causan retardo mental se centra principalmente en el control de los síntomas y cualesquiera condiciones médicas derivadas de dichas enfermedades. Sin embargo, en los últimos años se han realizado esfuerzos para desarrollar terapias dirigidas a dichos genes o proteínas que se ha observado que se encuentran alterados en dichas condiciones. De esta manera, por ejemplo, algunos estudios han demostrado que la restauración de la función de MECP2, especialmente mediante la utilización del factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGF-1), podría ser una terapia prometedora para el síndrome de Rett. La molécula RG1662, que es un agonista inverso del receptor GABA-A, un portal inhibitor importante en los circuitos neuronales, ahora se encuentra bajo ensayo clínico de fase I en individuos con síndrome de Down. De manera similar, el inhibidor de mTOR rapamicina, que se ha encontrado que mejora la función cerebral y reduce el tamaño tumoral en un modelo de ratón de esclerosis tuberosa, se encuentra bajo ensayo clínico.

45

50

Sin embargo, ninguna de dichas nuevas terapias ha demostrado hasta hoy un control completo de la enfermedad. Por lo tanto, todavía existe una necesidad en la técnica de nuevos métodos de tratamiento de enfermedades asociadas a anomalías dendríticas neuronales.

55

Breve descripción de las figuras

Figura 1. (A) Tinción representativa con DiOlistics de dendritas hipocámpicas en el campo CA1 del hipocampo (panel izquierdo) y recuentos globales de espinas dendríticas tras los tratamientos farmacológicos (panel intermedio). Barra de escala: $2 \mu\text{m}$. Los datos se expresan como medias \pm s.e.m. $*P < 0.05$ (*Fmr1*^{-/-} versus WT). (B) Análisis morfológico de espinas dendríticas en el campo CA1 del hipocampo tras los tratamientos farmacológicos. Los datos se expresan como medias \pm s.e.m. $*P < 0.05$, $*P < 0.01$, $**P < 0.001$ (*Fmr1*^{-/-} versus WT); $\#P < 0.05$, $###P < 0.001$ (rimonabant versus vehículo).

60

65

Sumario de la invención

Los inventores de la presente invención han observado que, inesperadamente, la administración de un antagonista del receptor de canabinoide CB1 (tal como un antagonista neutro o un agonista inverso del receptor de canabinoide CB1) y, más específicamente, la administración de rimonabant, es capaz de revertir la densidad y morfología alteradas de las espinas de las neuronas piramidales de CA1 de ratones con inactivación génica de Fmr1. Por lo tanto, la administración de un antagonista, más específicamente, un antagonista neutro o un agonista inverso, del receptor de canabinoide CB1, tal como rimonabant, resulta útil para el tratamiento de aquellas patologías que están asociadas a alteraciones dendríticas neuronales.

De esta manera, en un aspecto, la presente invención se refiere a antagonistas seleccionados de antagonistas neutros o agonistas inversos, del receptor de canabinoide CB1 para la utilización en la prevención o el tratamiento de una enfermedad asociada a anomalías dendríticas neuronales, en el que dichas anomalías dendríticas no están causadas por un estímulo externo, sino que se deben a una maduración deficiente de la plasticidad dendrítica neuronal. La presente descripción da a conocer además antagonistas, más específicamente antagonistas neutros o agonistas inversos, del receptor de canabinoide CB1 para la utilización en la prevención o el tratamiento de una enfermedad asociada a anomalías dendríticas neuronales.

En otro aspecto, la descripción se refiere a la utilización de antagonistas, más específicamente antagonistas neutros o agonistas inversos, del receptor de canabinoide CB1 para la preparación de un medicamento destinado al tratamiento o prevención de una enfermedad asociada a anomalías dendríticas neuronales.

En un aspecto adicional, la descripción se refiere a un método de tratamiento o prevención de una enfermedad asociada a anomalías dendríticas neuronales en un sujeto, que comprende la administración en dicho sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista, más específicamente un antagonista neutro o un agonista inverso, del receptor de canabinoide CB1.

Descripción detallada de la invención

En un aspecto, la presente invención se refiere a un antagonista, seleccionado de un antagonista neutro o un agonista inverso, del receptor de canabinoide CB1 para la utilización en la prevención o tratamiento de una enfermedad asociada a anomalías dendríticas neuronales, en el que dichas anomalías dendríticas no están causadas por un estímulo externo, sino que se deben a una maduración deficiente de la plasticidad dendrítica neuronal.

La presente descripción da a conocer además antagonistas, más específicamente antagonistas neutros o agonistas inversos, del receptor de canabinoide CB1 para la utilización en la prevención o el tratamiento de una enfermedad asociada a anomalías dendríticas neuronales.

En otro aspecto, la descripción se refiere a la utilización de un antagonista, más específicamente un antagonista neutro o un agonista inverso, del receptor de canabinoide CB1, para la preparación de un medicamento destinado al tratamiento o prevención de una enfermedad asociada a anomalías dendríticas neuronales.

En un aspecto adicional, la descripción se refiere a un método de tratamiento o prevención de una enfermedad asociada a anomalías dendríticas neuronales en un sujeto, que comprende administrar en dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista, más específicamente un antagonista neutro o un agonista inverso, del receptor de canabinoide CB1.

La expresión "receptor de canabinoide CB1" o "CB1R", tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un elemento de la familia de los receptores de canabinoide, que son receptores acoplados a proteína G que resultan activados por canabinoides. El receptor de canabinoide CB1 se expresa principalmente en el sistema nervioso central, aunque también en los pulmones, hígado y riñones. En el ser humano, el receptor de canabinoide CB1 está codificado por el gen *CNR1*, identificado en la base de datos Genbank como ID de gen: 1268 (25 de febrero, 2013).

La expresión "antagonista del receptor de canabinoide CB1", tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a cualquier molécula que se une al receptor de canabinoide CB1 y no presenta ninguna capacidad sustancial de activar el receptor mismo. Un antagonista puede, de esta manera, evitar o reducir la activación funcional u ocupación del receptor por un agonista, tal como anandamida, en caso de encontrarse presente el agonista. La expresión "antagonista del receptor de canabinoide CB1", tal como se utiliza en la presente memoria, pretende comprender tanto antagonistas neutros como agonistas inversos del receptor de canabinoide CB1. Un "antagonista neutro" es un compuesto que bloquea la acción del agonista pero que no presenta ningún efecto sobre la actividad intrínseca o espontánea de los receptores. Un "agonista inverso" es capaz de bloquear tanto la acción del agonista en el receptor, como atenuar la actividad constitutiva del receptor.

El experto en la materia conoce cómo determinar la afinidad de una molécula particular para el receptor de

canabinoide CB1 y, de esta manera, cómo determinar si dicha molécula particular es un antagonista del receptor de canabinoide CB1. Por ejemplo, la afinidad para el receptor de canabinoide CB1 de una molécula puede determinarse utilizando la metodología indicada por Wiley et al. (Wiley et al., JPET 340: 433-44, 2012). Brevemente, preparaciones de membranas de células de ovario de hámster chino (CHO) en las que el receptor de canabinoide CB1 había sido transfectado establemente se incubaron con los radioligandos [³H]SR141716 (para el receptor de canabinoide CB1) o [³H]CP55,940 (para ambos receptores de canabinoide, CB1 y CB2) en ausencia o en presencia de diversas concentraciones del compuesto de ensayo. Tras la terminación del ensayo de unión mediante filtración rápida bajo vacío a través de filtros de fibra de vidrio Whatman GF/B y lavado exhaustivo, se determinó la radioactividad unida mediante espectrofotometría de centelleo líquido. Además, la solicitud de patente n° WO2004/078261A1 (páginas 20 a 28) da a conocer ensayos que puede llevar a cabo el experto en la materia para distinguir los antagonistas de receptor de canabinoide (tanto antagonistas neutros como agonistas inversos); brevemente, pueden caracterizarse funcionalmente los ligandos de receptor de canabinoide, por ejemplo según:

- (i) su efecto sobre la actividad de la adenilil ciclasa, y/o
- (ii) su efecto sobre la unión de [³⁵S]-g-GTP.

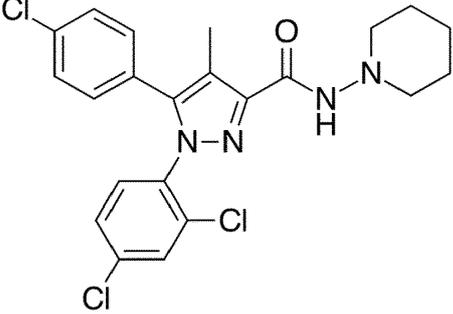
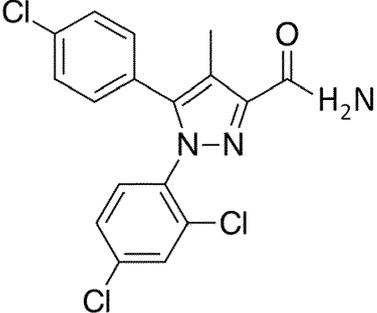
Un agonista inverso (i) estimulará la actividad de adenilil ciclasa y (ii) inhibirá la unión de [³⁵S]-g-GTP. Un antagonista neutro (i) bloqueará la inhibición de la actividad de la adenilil cilasa por un agonista de CB1 y (2) bloqueará la estimulación de la unión de [³⁵S]-g-GTP por un agonista de CB1.

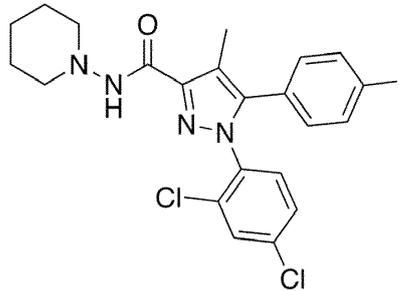
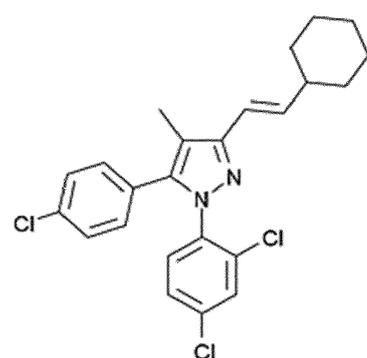
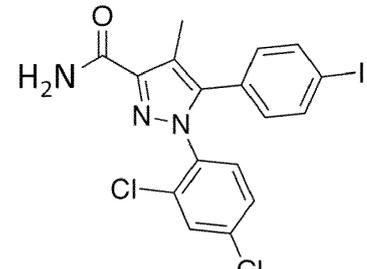
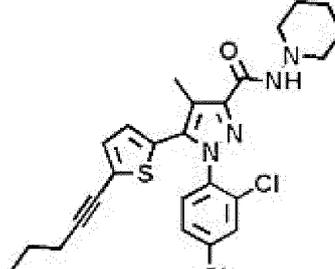
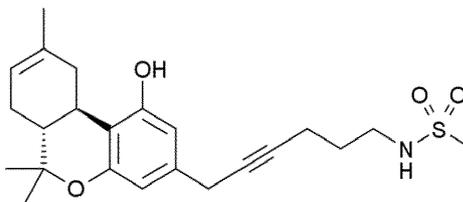
En algunas formas de realización, el antagonista del receptor de canabinoide CB1 presenta una IC₅₀ de entre aproximadamente 1 μM y aproximadamente 1 nM. En otras formas de realización, los antagonistas presentan una IC₅₀ de entre aproximadamente 0.1 μM y 0.01 μM, de entre 1.0 μM y 0.1 μM, o de entre 0.01 μM y 1 nM. Preferentemente, dicho antagonista de canabinoide es selectivo para el receptor de CB1 y presenta una IC₅₀ para el receptor de CB1 que es un cuarto o menos de la del receptor de CB1 o, más preferentemente, es un décimo o menos de la IC₅₀ para el receptor de CB2, o todavía más preferentemente, una IC₅₀ con respecto al receptor de CB1 que es un centésimo de la del receptor de CB2.

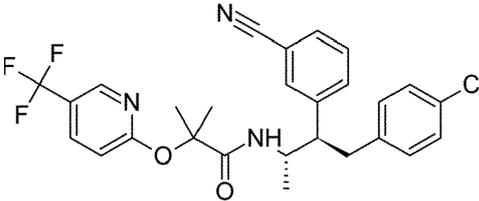
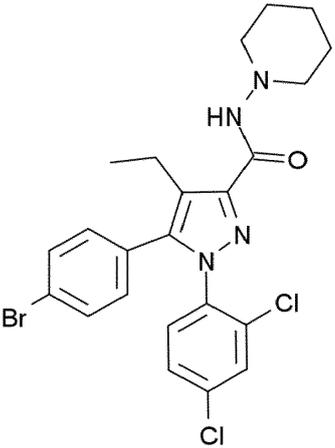
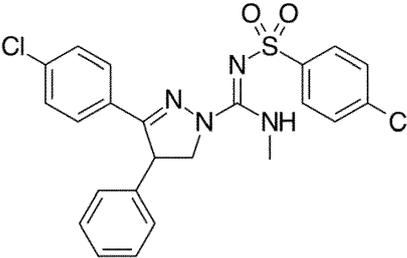
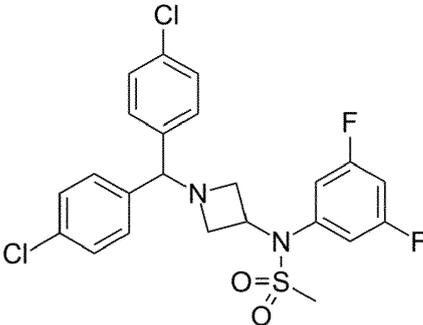
Los antagonistas del receptor de canabinoide CB1 pueden ser, entre otros, proteínas, péptidos o moléculas orgánicas pequeñas. Entre los ejemplos no limitativos ilustrativos de antagonistas del receptor de canabinoide CB1 se incluyen los compuestos de la tabla 1 o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

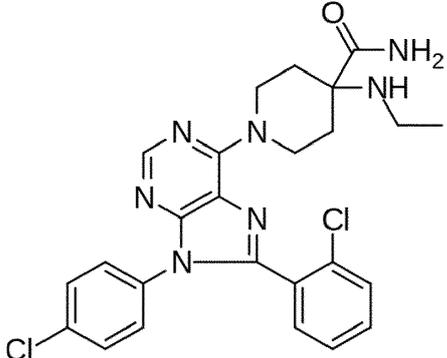
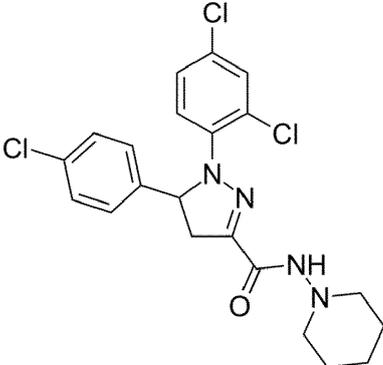
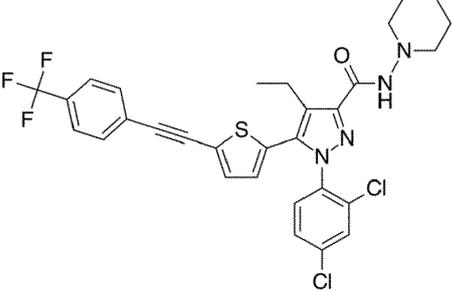
En una forma de realización particular, el antagonista del receptor de canabinoide CB1 se seleccionado del grupo que consiste en los compuestos de la tabla 1 o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Tabla 1

Nombre	Fórmula
SR141716A (Rimonabant) 5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4-metil-N-(piperidín-1-il)-1H-pirazol-3-carboxamida	
AM4113	

Nombre	Fórmula
<p>AM251 1-(2,4-diclorofenil)-5-(4-yodofenil)-4-metil-N-(1-piperidil)pirazol-3-carboxamida</p>	
<p>VCHSR1 5-(4-clorofenil)-3-[(E)-2-ciclohexiletenil]-1-(2,4-diclorofenil)-4-metil-1H-pirazol</p>	
<p>AM6527</p>	
<p>BPR0432</p>	
<p>O-2050 (6aR, 10aR)-3-(1-metanosulfonilamino-4-hexin-6-il)-6a,7,10,10a-tetrahidro-6,6,9-trimetil-6H-dibenzo[b,d]pirano</p>	

Nombre	Fórmula
<p>MK0364 (Taranabant) <i>N</i>-[(2<i>S</i>,3<i>S</i>)-4-(4-clorofenil)-3-(3-cianofenil)-2-butanyl]-2-metil-2-[[5-(trifluorometil)-2-piridinil]oxi]propanamida</p>	
<p>SR147778 (Surinabant) 5-(4-bromofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4-etil-<i>N</i>-(1-piperidinil)-1<i>H</i>-pirazol-3-carboxamida</p>	
<p>SLV319 o BMS.646,256 (Ibipinabant) 4<i>S</i>-(-)-3-(4-clorofenil)-<i>N</i>-metil-<i>N'</i>-[(4-clorofenil)sulfonyl]-4-fenil-4,5-dihidro-1<i>H</i>-pirazol-1-carboxamidina</p>	
<p>AVE1625 (Drinabant) (±)-<i>N</i>-{1-[<i>bis</i>(4-clorofenil)metil]-3-azetidini]-<i>N</i>-(3,5-difluorofenil)metanosulfonamida</p>	

Nombre	Fórmula
CP-945,598 (Otenabant) -[8-(2-clorofenil)-9-(4-clorofenil)-9H-purín-6-il]- 4-(etilamino)piperidín-4-carboxamida	
E-6776 (Rosonabant) (±)-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-N-(1- piperidinil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-3- carboxamida	
TM38837 1-(2,4-diclorofenil)-4-etil-5-(5-(2-(4- (trifluorometil)fenil)etinil)tiofén-2-il)-N-(piperidín- 1-il)-1H-pirazol-3-carboxamida	

La expresión “sal farmacéuticamente aceptable del mismo”, tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a derivados de los compuestos de la tabla 1, en la que el compuesto parental se modifica mediante la preparación de sales de ácido o base del mismo. Entre los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables se incluyen, aunque sin limitarse a ellas, sales de ácido mineral u orgánico de residuos básicos, tales como aminas; sales alcalinas u orgánicas de residuos ácidos, tales como ácidos carboxílicos, y similares. Entre las sales farmacéuticamente aceptables se incluyen las sales no tóxicas convencionales o las sales de amonio cuaternario del compuesto parental formado, por ejemplo a partir de ácidos inorgánicos u orgánicos no tóxicos. Por ejemplo, entre dichas sales no tóxicas convencionales se incluyen, aunque sin limitarse a ellas, las derivadas de ácidos inorgánicos y orgánicos seleccionados de los ácidos 1,2-etanodisulfónico, 2-acetoxibenzoico, 2-hidroxietanosulfónico, acético, ascórbico, benenosulfónico, benzoico, bicarbónico, carbónico, cítrico, edético, etanodisulfónico, etanosulfónico, fumárico, glucoheptónico, glucónico, glutámico, glicólico, glicolilarsanílico, hexilresorcínico, hidrabámico, bromhídrico, clorhídrico, yodhídrico, hidroximaleico, hidroxinaftoico, isetiónico, láctico, lactobiónico, laurilsulfónico, maleico, málico, mandélico, metanosulfónico, napsílico, nítrico, oxálico, pamoico, pantoténico, fenilacético, fosfórico, poligalacturónico, propiónico, salicílico, estearico, subacético, succínico, sulfámico, sulfanílico, sulfúrico, tánico, tartárico y toluenosulfónico.

Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la tabla 1 pueden sintetizarse a partir del compuesto parental que contiene una fracción básica o ácida mediante métodos químicos convencionales. Generalmente, dichas sales pueden prepararse mediante la reacción de las formas de ácido o base libre de dichos

compuestos con una cantidad estequiométrica de la base o ácido apropiado en agua o en un solvente orgánico, o en una mezcla de los dos; generalmente, resultan útiles medios no acuosos, tales como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetonitrilo. Se encuentran listas de sales adecuadas en Remington's Pharmaceutical Sciences, 18a ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1990, p 1445.

5 En una forma de realización preferente de la invención o descripción, el antagonista del receptor de canabinoide CB1 es el compuesto 5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4-metil-N-(piperidín-1-il)-1H-pirazol-3-carboxamida (o "rimonabant" o "SR141716A") o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. De esta manera, en una forma de realización particular, la invención se refiere al compuesto 5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4-metil-N-(piperidín-1-il)-1H-pirazol-3-carboxamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para la utilización en la prevención o el tratamiento de una enfermedad asociada a anomalías dendríticas neuronales, en la que dichas anomalías dendríticas no están causadas por un estímulo externo, sino que se deben a una maduración deficiente de la plasticidad dendrítica neuronal. La presente descripción da a conocer además el compuesto 5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4-metil-N-(piperidín-1-il)-1H-pirazol-3-carboxamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para la utilización en la prevención o tratamiento de una enfermedad asociada a anomalías dendríticas neuronales.

20 El término "prevención", tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a que el antagonista del receptor de canabinoide CB1, preferentemente el compuesto 5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4-metil-N-(piperidín-1-il)-1H-pirazol-3-carboxamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, resulta útil para la administración en un paciente que no ha sido diagnosticado como que posiblemente presenta el trastorno o enfermedad en el momento de la administración, pero en el que se esperaría normalmente que desarrolle el trastorno o enfermedad o que presente un riesgo incrementado del trastorno o enfermedad. Según la invención o descripción, el receptor de canabinoide CB1, preferentemente el compuesto 5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4-metil-N-(piperidín-1-il)-1H-pirazol-3-carboxamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, retrasará el desarrollo de los síntomas del trastorno o enfermedad, retrasará la aparición del trastorno o enfermedad o evitará que el individuo desarrolle en absoluto el trastorno o enfermedad.

30 El término "tratamiento", tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a cualquier procedimiento, acción, aplicación, terapia o similar, en el que se proporciona a un sujeto (o paciente), incluyendo un ser humano, ayuda médica con el objetivo de mejorar la condición del sujeto, directa o indirectamente, o se retrasa el avance de una condición o trastorno en el sujeto, o se mejora por lo menos un síntoma de la enfermedad o trastorno bajo tratamiento.

35 El término "paciente" o "sujeto", tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a cualquier animal, preferentemente un mamífero, e incluye, aunque sin limitación, animales domésticos y de granja, primates y seres humanos, por ejemplo seres humanos, primates no humanos, vacas, caballos, cerdos, ovejas, cabras, perros, gatos o roedores. En una forma de realización preferente, el sujeto es un ser humano de cualquier edad o raza. En una forma de realización particular, el sujeto sufre de una enfermedad asociada a anomalías dendríticas neuronales. En otra forma de realización particular, no se ha diagnosticado que el sujeto sufra de una enfermedad asociada a anomalías dendríticas neuronales, aunque se considera que presenta un riesgo incrementado de desarrollar dicha enfermedad.

45 La expresión "enfermedad asociada a anomalías dendríticas neuronales", tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a una condición que se presenta con anomalías dendríticas neuronales. En la invención, dichas anomalías dendríticas no están causadas por un estímulo externo, sino que se deben a una maduración deficiente de la plasticidad dendrítica neuronal. Las anomalías dendríticas pueden afectar a las neuronas piramidales. La expresión "neurona piramidal" o "célula piramidal", tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un tipo de neuronas presentes en el córtex cerebral, el hipocampo y la amígdala, y que se caracteriza por un soma de forma triangular, un único axón, una dendrita apical grande junto con múltiples dendritas basales y espinas dendríticas. Las neuronas piramidales participan en la capacidad cognitiva, desempeñando un papel crítico en el reconocimiento de objetos complejos en las zonas de procesamiento visual del córtex. De esta manera, en una forma de realización particular, la enfermedad asociada a anomalías dendríticas neuronales es una enfermedad asociada a anomalías dendríticas neuronales piramidales. La expresión "anomalías dendríticas", tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un cambio en el número y longitud de las ramas dendríticas o a una morfología y número aberrantes de las espinas dendríticas. El término "espinas" o "espinas dendríticas", tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a una pequeña protrusión membranosa de una dendrita neuronal que recibe típicamente la entrada de una única sinapsis de un axón. En una forma de realización particular, las anomalías dendríticas neuronales son un número y/o densidad incrementada de espinas. En otra forma de realización particular, las anomalías dendríticas neuronales son una morfología aberrante de las espinas dendríticas. En otra forma de realización particular, las anomalías dendríticas son un número y/o densidad incrementado de espinas y una morfología aberrante de las espinas dendríticas.

65 En una forma de realización más particular, las anomalías dendríticas neuronales son un número incrementado de espinas inmaduras (espinas delgadas y rechonchas). Los criterios de clasificación de la morfología de las espinas dendríticas comúnmente utilizados en la técnica se basan en el diámetro de la cabeza, el diámetro del

5 cuello, la longitud global y otras dimensiones geométricas para describir las espinas tanto cualitativa como cuantitativamente. Brevemente, las protrusiones de las dendritas se clasifican en cinco tipos según su morfología: protrusiones de clase 1, también denominadas protuberancias rechonchas presentan 0.5 mm de longitud, no presentan una cabeza grande de las espinas y presentan la apariencia de no tener cuello; espinas de clase 2 o de forma de seta presentan una longitud de entre 0.5 y 1.25 mm y se caracterizan por un cuello corto y una cabeza grande de las espinas; las espinas de clase 3 o delgadas presentan una longitud de entre 1.25 y 3.0 mm y presentan cuellos alargados de las espinas, con cabezas pequeñas; las espinas de clase 4 o anchas presentan una longitud de entre 0.5 y 1.25 mm y se caracterizan por un cuello grande y una cabeza grande de las espinas, y las espinas de clase 5 o ramificadas presentan una longitud de entre 1.25 y 3.0 mm y presentan cuellos alargados de las espinas con dos o más cabezas de las espinas.

10 Son ejemplos no limitativos ilustrativos de enfermedades asociadas a anomalías dendríticas neuronales, el síndrome de Down, el síndrome de Angelman, el síndrome de Rett y la esclerosis tuberosa.

15 En una forma de realización particular, la enfermedad asociada a anomalías dendríticas neuronales se selecciona del grupo que consiste en síndrome de Down, síndrome de Angelman, síndrome de Rett y esclerosis tuberosa.

20 La expresión "síndrome de Down" o "trisomía 21", tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a una condición cromosómica causada por la presencia de la totalidad o una parte de una tercera copia del cromosoma 21. Se asocia típicamente a un retraso de la capacidad cognitiva y del crecimiento físico, y en un conjunto particular de características faciales. La disfunción cognitiva en los pacientes de síndrome de Down se correlaciona con una ramificación y complejidad reducidas de las dendritas, junto con menos espinas, de forma anormal, en las neuronas corticales (Martinez de Lagran, M. et al, *Cereb Cortex* 22(12): 2867-77, 2012).

25 La expresión "síndrome de Angelman", tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un trastorno neurogenético complejo caracterizado por un retraso del desarrollo, discapacidad intelectual, deterioro grave del habla, deficiencias motoras y epilepsia. El síndrome de Angelman está causado por una expresión deficiente del gen *UBE3A* que puede estar causada por diversas anomalías en el cromosoma de herencia materna 15. Los últimos resultados en modelos animales demuestran una formación alterada de las espinas dendríticas en diversas regiones cerebrales, incluyendo el hipocampo y el córtex cerebelar (Dan B, *Epilepsia* 50(11): 2331-9, 2009) y una reorganización citoesquelética defectuosa de las espinas controlada por la actividad (Baudry M et al., *Neurobiol. Dis.* 47(2): 210-5, 2012).

35 La expresión "síndrome de Rett", tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un trastorno del desarrollo neurológico ligado al cromosoma X que conduce a reversiones del desarrollo, especialmente en las áreas del lenguaje expresivo y la utilización de las manos. Entre las características clínicas se incluyen manos y pies pequeños y una deceleración de la velocidad de crecimiento de la cabeza, incluyendo microcefalia en algunos casos. El síndrome de Rett se asocia a neuropatologías de las espinas dendríticas, en particular se ha observado en pacientes con síndrome de Rett una densidad reducida de espinas dendríticas en las neuronas piramidales hipocámpicas (Chapleau CA et al, *Neurobiol. Dis.* 35(2): 219-33, 2009).

45 La expresión "esclerosis tuberosa" o "enfermedad de Bourneville", tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un síndrome neurocutáneo causado por mutaciones en uno de los dos genes *TSC1* y *TSC2*, que codifican las proteínas hamartina y tuberina, respectivamente, actuando ambas como supresores tumorales. La esclerosis tuberosa conduce al crecimiento de tumores no malignos en el cerebro y en otros órganos vitales, tales como riñones, corazón, ojos, pulmones y piel. Se han descrito diferentes tipos de anomalías dendríticas en los pacientes de esclerosis tuberosa (Machado-Salas JP, *Clin. Neuropathol.* 3(2): 52-8, 1984) y en ratones sin expresión de *Tsc1* o *Tsc2* (Tavazoie SF, *Nat. Neurosci.* 8(12): 1727-34, 2005).

50 En una forma de realización particular de la invención, el Rimonabant es para la utilización en el tratamiento o la prevención de una enfermedad asociada a anomalías dendríticas neuronales seleccionadas del grupo que consiste en síndrome de Down, síndrome de Angelman, síndrome de Rett y esclerosis tuberosa.

55 En una forma de realización particular, la enfermedad asociada a anomalías dendríticas neuronales es el síndrome de Down.

60 En otra forma de realización particular, la enfermedad asociada a anomalías dendríticas neuronales es el síndrome de Angelman.

65 En otra forma de realización particular, la enfermedad asociada a anomalías dendríticas neuronales es el síndrome de Rett.

En otra forma de realización particular, la enfermedad asociada a anomalías dendríticas neuronales es la esclerosis tuberosa.

- 5 El método de administración del antagonista del receptor de canabinoide CB1, preferentemente el compuesto 5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4-metil-N-(piperidín-1-il)-1H-pirazol-3-carboxamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, dependerá de la enfermedad que debe tratarse y de otros factores tales como la duración de la terapia y si el antagonista del receptor de canabinoide CB1, preferentemente el compuesto 5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4-metil-N-(piperidín-1-il)-1H-pirazol-3-carboxamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administrará con fines de prevención o de tratamiento. De esta manera, el antagonista del receptor de canabinoide CB1, preferentemente el compuesto 5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4-metil-N-(piperidín-1-il)-1H-pirazol-3-carboxamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede administrarse crónicamente, subcrónicamente o agudamente.
- 10 El término “crónicamente”, tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un método de administración en el que el antagonista del receptor de canabinoide CB1, preferentemente el compuesto 5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4-metil-N-(piperidín-1-il)-1H-pirazol-3-carboxamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra continuamente en el paciente durante periodos de tiempo prolongados con el fin de mantener el efecto terapéutico durante dicho periodo. Entre las formas de administración crónica se incluyen la administración diaria de múltiples dosis del compuesto, dos veces al día, tres veces al día o más frecuentemente. Alternativamente, la administración crónica puede implicar la administración en forma de un bolo o mediante transfusión continua que puede llevarse a cabo diariamente, cada dos días, cada 3 a 15 días, cada 10 días o más. Típicamente, la administración crónica se continúa durante por lo menos una semana, por lo menos 7 semanas, por lo menos 8 semanas, por lo menos 9 semanas, por lo menos 10 semanas, por lo menos 11 semanas, por lo menos 12 semanas, por lo menos cuatro meses, por lo menos 5 meses, por lo menos 6 meses, por lo menos 9 meses, por lo menos un año, por lo menos dos años o más.
- 15 El término “agudamente”, tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un método de administración en el que el paciente se expone a una única dosis del antagonista del receptor de canabinoide CB1, preferentemente el compuesto 5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4-metil-N-(piperidín-1-il)-1H-pirazol-3-carboxamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una dosis múltiple, aunque durante un periodo reducido de tiempo, tal como, por ejemplo, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 20, 24 horas o 2, 3, 4, 5 o 6 días.
- 20 En una forma de realización particular, el antagonista del receptor de canabinoide CB1, preferentemente el compuesto -(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4-metil-N-(piperidín-1-il)-1H-pirazol-3-carboxamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra crónicamente, preferentemente durante un periodo de por lo menos 7 días.
- 25 El antagonista del receptor de canabinoide CB1, preferentemente el compuesto -(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4-metil-N-(piperidín-1-il)-1H-pirazol-3-carboxamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede administrarse mediante cualquier vía de administración adecuada, tal como, aunque sin limitación, la vía parenteral, oral, tópica, nasal o rectal. En una forma de realización particular, el antagonista del receptor de canabinoide CB1, preferentemente el compuesto -(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4-metil-N-(piperidín-1-il)-1H-pirazol-3-carboxamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra por vía oral. En otra forma de realización particular, el antagonista del receptor de canabinoide CB1, preferentemente el compuesto -(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4-metil-N-(piperidín-1-il)-1H-pirazol-3-carboxamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra por vía parenteral, p.ej. mediante administración intravenosa, intraperitoneal, intracraneal, subcutánea, intradérmica, intramuscular, intratecal o epidural. En una forma de realización más particular, se administra por vía intraperitoneal. En otra forma de realización particular, se administra por vía intracraneal. La expresión “cantidad terapéuticamente eficaz”, tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a una cantidad suficiente del compuesto para proporcionar el efecto deseado y generalmente estará determinada por, entre otras causas, las características del compuesto mismo y el efecto terapéutico que debe conseguirse. También dependerá del sujeto que debe tratarse, de la gravedad de la enfermedad que sufre dicho sujeto, de la forma de administración seleccionada, de la vía de administración, etc. Por este motivo, las dosis indicadas en la presente memoria deben considerarse únicamente guías para el experto en la materia, quien debe ajustar las dosis según las variables anteriormente indicadas. En una forma de realización, la cantidad eficaz produce la mejora de uno o más síntomas de la enfermedad bajo tratamiento.
- 30 En una forma de realización particular, el receptor de canabinoide CB1, preferentemente el compuesto -(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4-metil-N-(piperidín-1-il)-1H-pirazol-3-carboxamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra por vía intraperitoneal a una dosis de 1 mg/kg de masa corporal al día, durante siete días consecutivos.
- 35 En otra forma de realización particular, el receptor de canabinoide CB1, preferentemente el compuesto -(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4-metil-N-(piperidín-1-il)-1H-pirazol-3-carboxamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra por vía oral a una dosis de 1 mg/kg de masa corporal al día, durante siete días consecutivos.
- 40
- 45
- 50
- 55
- 60

Ejemplo

Densidad de espinas dendríticas y análisis morfológico en ratones *Fmr1^{-ly}* tratados con rimonabant

5 Materiales y métodos

10 *Animales:* se obtuvieron ratones con inactivación génica ('knockout', KO) *Fmr1* en un fondo FVB (*Fmr1* KO, FVB.129P2-*Pde6b⁺* *Tyr^{c-ch}* *Fmr1^{tm1Cgr/J}*) y ratones de tipo salvaje (WT, FVB.129P2-*Pde6b⁺* *Tyr^{c-ch}*/AntJ) de The Jackson Laboratory y se cruzaron para obtener crías de la misma camada *Fmr1^{-ly}* y WT. Todos los animales experimentales se criaron en el propio laboratorio, en las instalaciones animales del Barcelona Biomedical Research Park (PRBB). Los ratones *Fmr1^{-ly}* y WT se utilizaron a las 12 a 16 semanas de edad. Se alojaron cuatro ratones en cada jaula, en un ambiente de temperatura (21 ± 1 °C) y humedad ($55 \pm 10\%$) controladas. El alimento y agua se encontraban disponibles *ad libitum*. Todos los experimentos se llevaron a cabo durante la fase de luz de un ciclo de luz/oscuridad de 12 h (se encendían las luces a las 8:00 y se apagaban a las 20:00). Los animales se manipulaban durante una semana antes de iniciar los experimentos. Todos los procedimientos animales siguieron las directrices éticas estándares (Directiva del Consejo de las Comunidades Europeas n° 86/60-EEC) y fueron aprobados por el comité ético local (Comitè Ètic d'Experimentació Animal-Parc de Recerca Biomèdica de Barcelona, CEEA-PRBB). El PRBB también dispone de la Garantía de bienestar animal (n° A5388-01, fecha de aprobación de IACUC: 06/08/2009) concedida por el Laboratory of Animal Welfare (OLAW) del National Institutes of Health (EE.UU.). Todos los ensayos de comportamiento fueron realizados por investigadores ciegos a los diferentes grupos experimentales.

15 *Fármacos y tratamientos:* se obtuvo rimonabant de Sanofi-Aventis (Sanofi-Aventis Recherche). Se inyectó rimonabant por vía intraperitoneal (i.p.) en un volumen de 10 ml por kg.

25 *Análisis de la morfología de las espinas dendríticas:* se llevó a cabo un análisis de las espinas dendríticas tal como se ha indicado anteriormente (Lee KW et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103(9): 3399-404, 2006) en ratones que habían recibido una administración crónica de rimonabant (1 mg kg^{-1} , 7 d) o su vehículo. Los cerebros se extrajeron después de la perfusión (PFA al 4% en PB) 3 h después de la última administración de rimonabant o solución de vehículo el séptimo día de tratamiento. Se seleccionaron dendritas secundarias a terciarias de neuronas piramidales de la región CA1 del hipocampo para el análisis de espinas basándose en los criterios indicados anteriormente (Lee KW et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103(9): 3399-404, 2006).

30 *Análisis estadístico:* los resultados se informan como medias \pm s.e.m. Todos los experimentos se evaluaron mediante análisis de la varianza (ANOVA) unidireccional seguido de pruebas post-hoc de Dunnett en donde se requiriesen. Las comparaciones eran estadísticamente significativas con $P < 0.05$.

Resultados

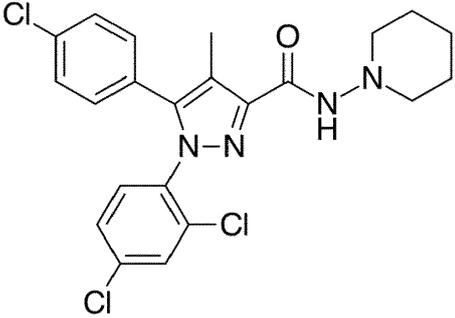
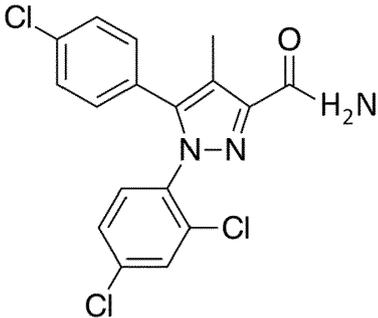
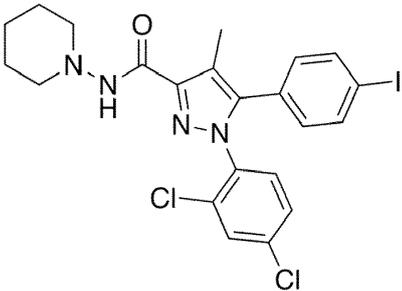
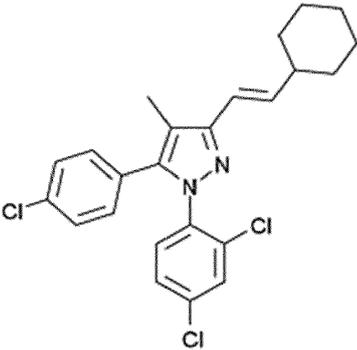
35 *Se ha informado anteriormente que los ratones *Fmr1^{-ly}* muestran un patrón de morfología alterada de las espinas en las dendritas del campo CA1 del hipocampo en comparación con ratones de tipo salvaje. Se utilizaron ratones *Fmr1* KO como modelo para evaluar la capacidad de los antagonistas del receptor de canabinoide CB1 de restaurar la morfología anormal de las espinas.*

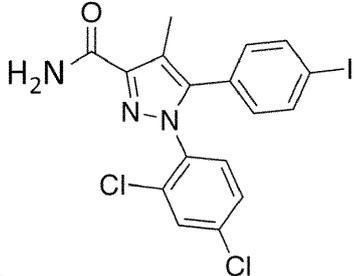
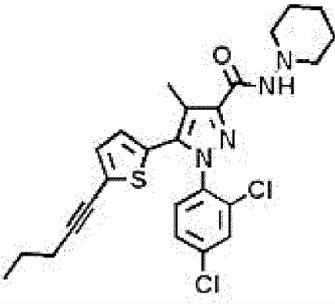
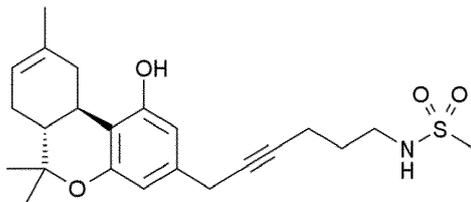
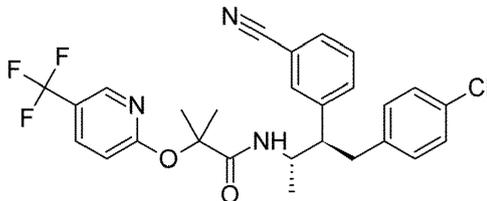
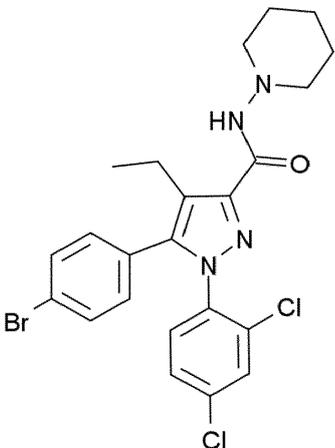
40 *La densidad potenciada de espinas dendríticas de las neuronas piramidales de CA1 en ratones *Fmr1^{-ly}*, un modelo animal de este tipo de enfermedades, se normalizó mediante el bloqueo farmacológico del antagonista del receptor de canabinoide CA1 rimonabant (1 mg/kg , i.p., 7 días) (figura 1). Al clasificar las espinas según su morfología (panel derecho), los ratones *Fmr1^{-ly}* tratados con rimonabant mostraron una reducción de las espinas delgadas/rechonchas (inmaduras) y un incremento de las espinas seta/anchas (maduras) en comparación con los ratones *Fmr1^{-ly}* tratados con vehículo.*

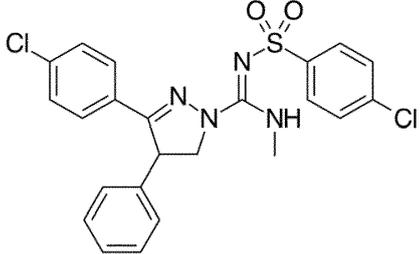
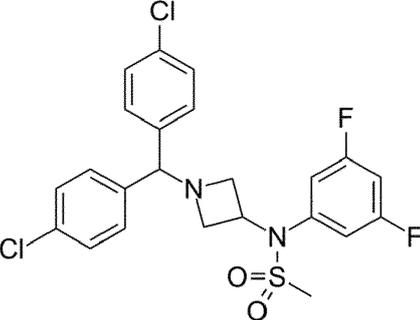
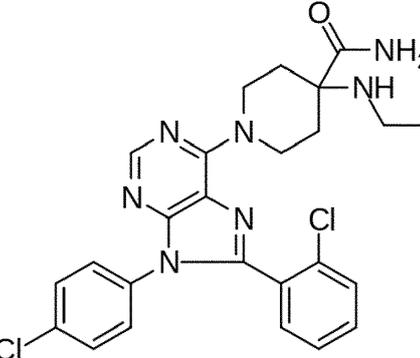
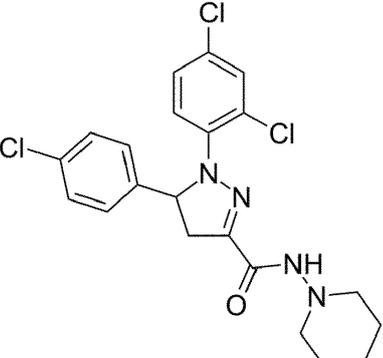
REIVINDICACIONES

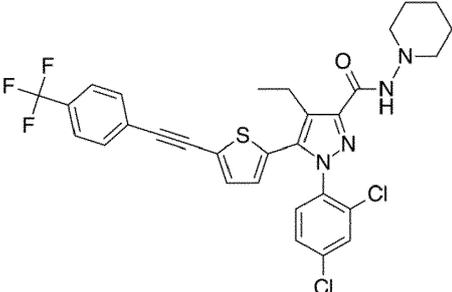
1. Antagonista del receptor de canabinoide CB1 seleccionado de un antagonista neutro o un agonista inverso del receptor de canabinoide CB1 para la utilización en la prevención o el tratamiento de una enfermedad asociada a anomalías dendríticas neuronales, en el que dichas anomalías dendríticas no están causadas por un estímulo externo, sino que se deben a una maduración deficiente de la plasticidad dendrítica neuronal.

2. Antagonista del receptor de canabinoide CB1 para la utilización según la reivindicación 1, en el que dicho antagonista se selecciona del grupo que consiste en los compuestos de la tabla 1:

Nombre	Fórmula
SR141716A (Rimonabant) 5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4-metil-N-(piperidín-1-il)-1H-pirazol-3-carboxamida	
AM4113	
AM251 1-(2,4-diclorofenil)-5-(4-yodofenil)-4-metil-N-(1-piperidil)pirazol-3-carboxamida	
VCHSR1 5-(4-clorofenil)-3-[(E)-2-ciclohexiletenil]-1-(2,4-diclorofenil)-4-metil-1H-pirazol	

Nombre	Fórmula
AM6527	
BPR0432	
<p>O-2050 (6aR,10aR)-3-(1-metanosulfonilamino-4-hexín-6-il)-6a,7,10,10a-tetrahidro-6,6,9-trimetil-6H-dibenzo[b,d]pirano</p>	
<p>MK0364 (Taranabant) N-[(2S,3S)-4-(4-clorofenil)-3-(3-cianofenil)-2-butani]-2-metil-2-[[5-(trifluorometil)-2-piridinil]oxi]propanamida</p>	
<p>SR147778 (Surinabant) 5-(4-bromofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4-etil-N-(1-piperidinil)-1H-pirazol-3-carboxamida</p>	

Nombre	Fórmula
SLV319 o BMS.646,256 (Ibipinabant) 4S-(-)-3-(4-clorofenil)-N-metil-N'-[(4-clorofenil)-sulfonil]-4-fenil-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-carboxamida	
AVE1625 (Drinabant) (±)-N-{1-[bis(4-clorofenil)metil]-3-azetidil}-N-(3,5-difluorofenil)metanosulfonamida	
CP-945,598 (Otenabant) -[8-(2-clorofenil)-9-(4-clorofenil)-9H-purín-6-il]-4-(etilamino)piperidín-4-carboxamida	
E-6776 (Rosonabant) (±)-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-N-(1-piperidinil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-carboxamida	

Nombre	Fórmula
TM38837 1-(2,4-diclorofenil)-4-etil-5-(5-(2-(4-(trifluorometil)fenil)etiril)tiofén-2-il)-N-(piperidín-1-il)-1H-pirazol-3-carboxamida	

o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

5 3. Antagonista del receptor de canabinoide CB1 para la utilización según la reivindicación 2, en el que dicho antagonista es el compuesto 5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4-metil-N-(piperidín-1-il)-1H-pirazol-3-carboxamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

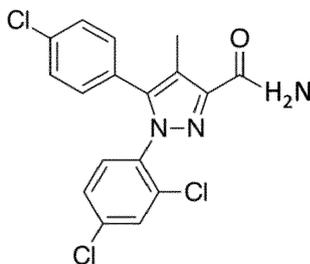
10 4. Antagonista del receptor de canabinoide CB1 para la utilización según la reivindicación 2, en el que dicho antagonista se selecciona de:

- 1-(2,4-diclorofenil)-5-(4-yodofenil)-4-metil-N-(1-piperidil)pirazol-3-carboxamida,
- (6aR,10aR)-3-(1-metanosulfonilamino-4-hexín-6-il)-6a,7,10,10a-tetrahidro-6,6,9-trimetil-6H-dibenzo[b,d]pirano,
- N-[(2S,3S)-4-(4-clorofenil)-3-(3-cianofenil)-2-butanil]-2-metil-2-[[5-(trifluorometil)-2-piridinil]oxi]propanamida,
- 5-(4-bromofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4-etil-N-(1-piperidinil)-1H-pirazol-3-carboxamida,
- 4S-(-)-3-(4-clorofenil)-N-metil-N'-[(4-clorofenil)-sulfonil]-4-fenil-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-carboxamidina,
- (±)-N-{1-[bis(4-clorofenil)metil]-3-azetidilil}-N-(3,5-difluorofenil)-metanosulfonamida,
- 1-[8-(2-clorofenil)-9-(4-clorofenil)-9H-purín-6-il]-4-(etilamino)piperidín-4-carboxamida, y
- (±)-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-N-(1-piperidinil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-carboxamida

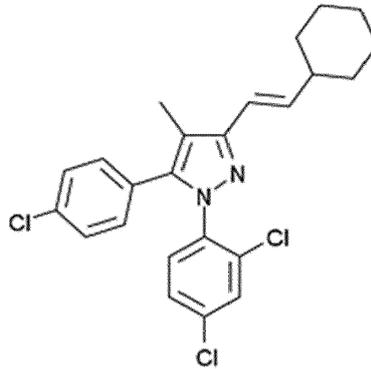
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

30 5. Antagonista del receptor de canabinoide CB1 para la utilización según la reivindicación 2, en el que dicho antagonista se selecciona de:

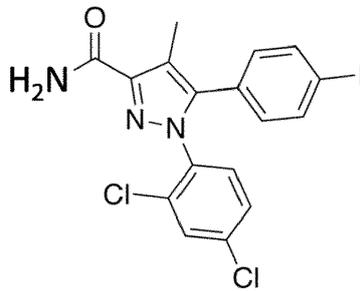
- compuesto AM4113 de fórmula:



- compuesto VCHSR1 de fórmula:



- compuesto AM6527 de fórmula:

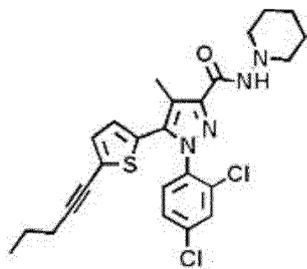


5

y

- compuesto BPR0432 de fórmula:

10

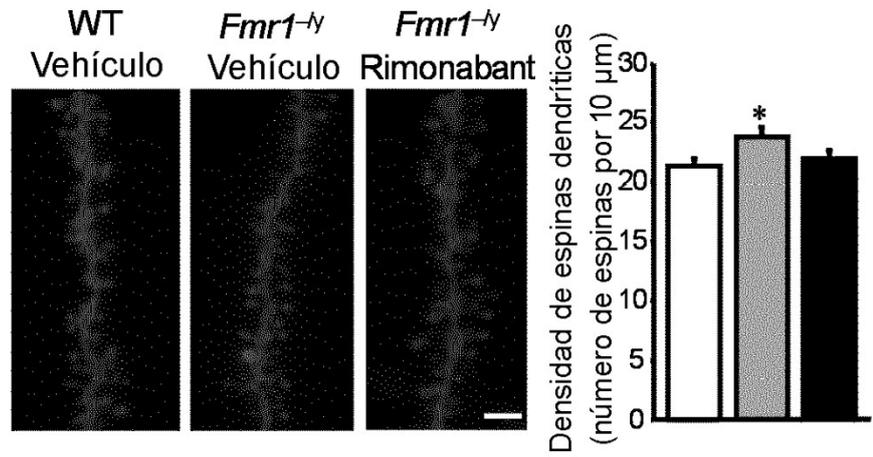


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo

- 15 6. Antagonista del receptor de canabinoide CB1 para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que la enfermedad está asociada a anomalías dendríticas neuronales piramidales.
7. Antagonista del receptor de canabinoide CB1 para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que las anomalías dendríticas neuronales son una morfología aberrante y/o el número de espinas dendríticas.
- 20 8. Antagonista del receptor de canabinoide CB1 para la utilización según la reivindicación 7, en el que el número de espinas dendríticas se encuentra incrementado.
- 25 9. Antagonista del receptor de canabinoide CB1 para la utilización según la reivindicación 8, en el que el número de espinas inmaduras (espinas delgadas y rechonchas) se encuentra incrementado.
- 30 10. Antagonista del receptor de canabinoide CB1 para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que dicho antagonista se administra por vía oral.
11. Antagonista del receptor de canabinoide CB1 para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en el que dicho antagonista se administra por vía intraperitoneal.

12. Antagonista del receptor de canabinoide CB1 para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que dicha enfermedad se selecciona del grupo que consiste en síndrome de Down, síndrome de Angelman, síndrome de Rett y esclerosis tuberosa.
- 5 13. Antagonista del receptor de canabinoide CB1 para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que dicha enfermedad está causada por una mutación que invalida el gen *FMR1*.

A



B

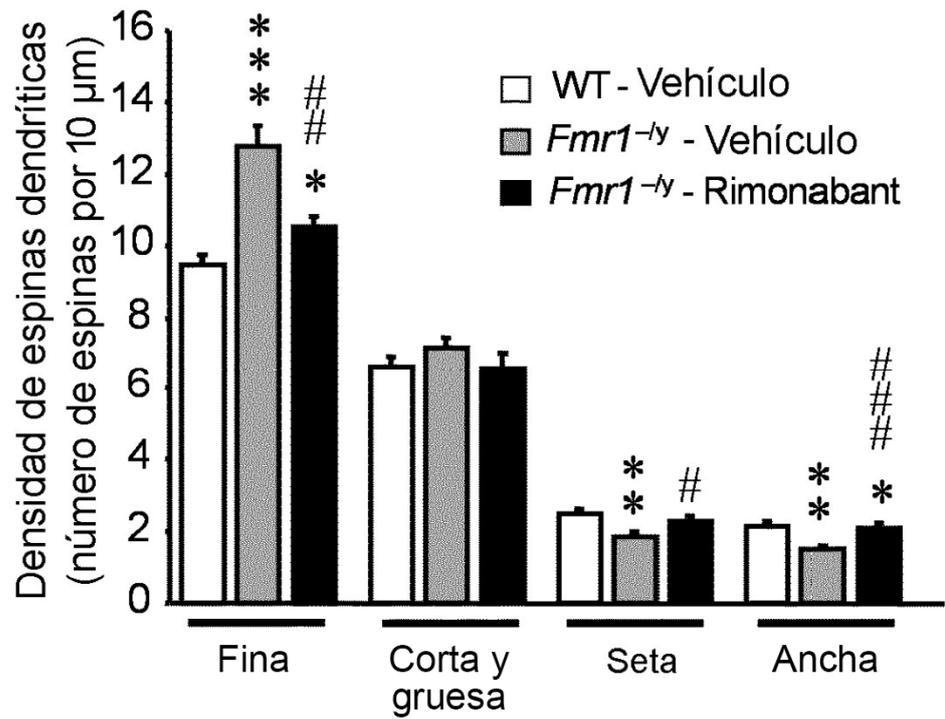


Figura 1