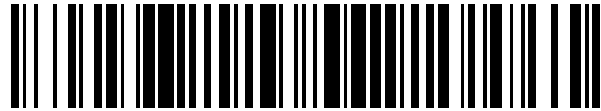


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 498 828**

51 Int. Cl.:

A61K 31/517 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.05.2010 E 10732398 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.06.2014 EP 2433637**

54 Título: **Utilización de derivados de quinazolininas para enfermedades neurodegenerativas**

30 Prioridad:

20.05.2009 ES 200930189

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

25.09.2014

73 Titular/es:

**CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES
CIENTIFICAS (CSIC) (100.0%)
C/ Serrano, 117
28006 Madrid, ES**

72 Inventor/es:

**MARTÍNEZ GIL, ANA;
GIL AYUSO-GONTAN, CARMEN;
PÉREZ MARTÍN, CONCEPCIÓN;
PÉREZ CASTILLO, ANA;
MORALES GARCÍA, JOSÉ;
REDONDO SANCHO, MIRIAM y
SANZ SAN CRISTÓBAL, MARINA**

74 Agente/Representante:

DURÁN MOYA, Luis Alfonso

ES 2 498 828 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

Utilización de derivados de quinazolinas para enfermedades neurodegenerativas

5 **SECTOR DE LA TÉCNICA**

La presente invención se dirige al campo de la química médica y más concretamente a derivados heterocíclicos de quinazolinas y a su potencial para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas y/o neurológicas, entre otras la enfermedad de Parkinson, y se enmarca por tanto en el sector farmacéutico.

10

ESTADO DE LA TÉCNICA

Las enfermedades neurodegenerativas son una de las principales causas de mortalidad en la población occidental. La enfermedad de Parkinson (EP) es la segunda enfermedad neurodegenerativa más común después de la enfermedad de Alzheimer (W. Dauer; S. Przedborski, La enfermedad de Parkinson: mecanismos y modelos. *Neuron* 2003, 39,889-909), afectando aproximadamente al 15% de las personas mayores de 65 años. Actualmente se dispone únicamente de terapias sintomáticas que, aunque son eficaces en las primeras etapas de la enfermedad poseen a largo plazo considerables efectos secundarios. Por lo tanto, resulta necesario buscar nuevas terapias eficaces y seguras que consigan tratar dicha patología.

15

20

La EP se caracteriza por la muerte progresiva de las neuronas dopaminérgicas de la parte de sustancia negra compacta (SNpc) (A. E. Lang; A. M. Lozano, La enfermedad de Parkinson. Primera de dos partes. *The New England Journal of Medicine* 1998, 339,1044-1053 y A. E. Lang; A. M. Lozano, La enfermedad de Parkinson. Segunda de dos partes. *The New England Journal of Medicine* 1998, 339,1130-1143) y por cuerpos de inclusión (cuerpos de Lewy) que contienen α -sinucleína. La principal consecuencia de esta pérdida neuronal es una marcada disminución en la disponibilidad cerebral de dopamina en el núcleo caudado y en el putamen, áreas donde se proyectan las neuronas dopaminérgicas de la SNpc. Esto provoca una disfunción importante en la regulación de las principales estructuras cerebrales implicadas en el control del movimiento, los ganglios basales. Los síntomas clásicos parkinsonianos comprenden disquinesias (temblor en manos, brazos, piernas y cara), rigidez de las extremidades y el tronco, bradiquinesia (lentitud en los movimientos) e inestabilidad postural con problemas de equilibrio.

25

30

El descubrimiento de que la EP se caracterizaba por una pérdida de dopamina condujo al descubrimiento de terapias encauzadas a corregir esta deficiencia. Son terapias paliativas, dirigidas a tratar los síntomas de la enfermedad pero ninguna consigue detener su progresión (J. M. Savitt; V. L. Dawson; T. M. Dawson, Diagnóstico y tratamiento de la enfermedad de Parkinson: de las moléculas a la medicina. *J Clin Invest* 2006, 116,1744-1754). Actualmente, el precursor de la dopamina, la levodopa, es el tratamiento más efectivo en la EP (P. A. LeWitt, Métodos terapéuticos de levodopa para la enfermedad del Parkinson: nuevos desarrollos. *Parkinsonism Relat Disord.* 2009, Suppl 1, S31-4). Este tratamiento a veces se combina con otros fármacos como inhibidores de descarboxilasa periférica (carbidopa) (O. M. Abdel-Salam, Fármacos utilizados para tratar la enfermedad de Parkinson, situación actual y direcciones futuras. *CNS Neurol Disord Drug Targets.* 2008, 7, 321-442), inhibidores de catecol-O-metil-transferasa (COMT) que prolongan la vida media de la levodopa (D. A. Gallagher; A. Schrag, Impacto de los tratamientos farmacológicos más recientes en la calidad de vida en pacientes con enfermedad de Parkinson. *CNS Drugs.* 2008, 22, 563-586) y agonistas de la dopamina que estimulan directamente los receptores de dopamina postsinápticos (K. Kiebertz, Estrategias terapéuticas para prevenir las complicaciones motoras en la enfermedad de Parkinson. *J Neurol.* 2008, 255, Suppl 4, 42-45). A pesar de todos estos avances en el tratamiento de los síntomas de la EP, su eficacia disminuye con el tiempo fundamentalmente debido al desarrollo de complicaciones motoras como disquinesias y distonías.

35

40

45

Ante las grandes limitaciones que ofrecen las terapias actuales, tanto farmacológicas como quirúrgicas, existe la necesidad de desarrollar otras alternativas que permitan frenar o detener el desarrollo de la enfermedad (W. Poewe, Los tratamientos para la enfermedad de Parkinson. Logros pasados y necesidades clínicas actuales. *Neurology* 2009, 72, 7 Suppl, S65-73). Las investigaciones actuales se centran en la prevención de la degeneración neuronal dopaminérgica y en el descubrimiento de nuevos fármacos, alternativos a la levodopa, que consigan frenar la progresión de la enfermedad e incluso generar nuevas neuronas de tipo dopaminérgico. Recientemente han surgido diferentes clases de familias químicas con potencial en esta patología, siendo los inhibidores de fosfodiesterasa uno de ellos (Utilización de inhibidores de pde7 para el tratamiento de trastornos del movimiento, solicitudes de patente de EE.UU No. 20080260643, mundial 2008/113881). Dada la experiencia previa de los presentes inventores en este área (T. Castaño; H. Wang; N. E. Campillo; S. Ballester; C. González-García; J. Hernández; C. Pérez; J. Cuenca; A. Pérez-Castillo; A. Martínez; O. Huertas; J. L. Gelpi; F. J. Luque; H. Ke; C. Gil, Síntesis, análisis estructural, y evaluación biológica de derivados de tioquinazolina como inhibidores de la fosfodiesterasa 7. *ChemMedChem.* 2009, 4, 866-876), los presentes inventores demuestran la utilización de derivados heterocíclicos de quinazolina como agentes efectivos en modelos de Parkinson *in vivo* y proponen su utilización no solo en esta patología neurodegenerativa sino también en otras enfermedades neurológicas debido a su efecto neuroprotector en todas las patologías del sistema nervioso donde se produzca la muerte neuronal.

50

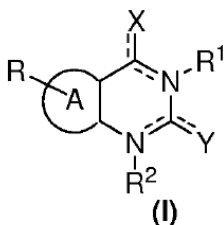
55

60

65

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

Un objetivo de la presente invención es la utilización de un compuesto de fórmula (I):



5

en la que:

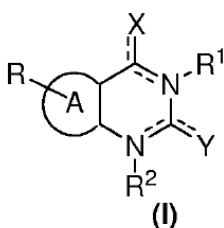
- 10 A, es un carbociclo o heterociclo condensado opcionalmente sustituido de 5, 6 ó 7 miembros saturado o insaturado, --- puede ser un doble enlace;
 X e Y, se seleccionan independientemente entre el grupo que comprende hidrógeno, alquilo, =O, =S, arilo, O-alquilo, O-arilo, S-alquilo o -S-arilo; y
 R, R¹, R² y R³ se seleccionan independientemente entre el grupo que comprende hidrógeno, halógeno, alquilo, haloalquilo, arilo, cicloalquilo, (CH₂)_n-arilo, heteroarilo, -OR³, -C(O)OR³, (CH₂)_n-C(O)OR³ o -S(O)_t, en los que n es
 15 mayor o igual a 0 y en los que t es 1 ó 2,

- o bien una sal, profármaco, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptables del mismo, para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas entre las que se incluyen, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica, isquemia cerebral, y/o de patologías o enfermedades neurológicas en las que el sistema dopaminérgico esté involucrado, entre las que se incluyen, sin que constituyan limitación, parkinsonismo post-encefálico, distonías, síndrome de Tourette, trastorno de movimiento periódico de extremidades, síndrome de piernas inquietas, trastornos de déficit de atención con hiperactividad.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

- 25 La presente invención se basa en que los inventores han demostrado que los compuestos de fórmula (I) son neuroprotectores en cultivos primarios de astrocitos y glía y/o líneas celulares dopaminérgicas (ejemplos 1-2), así como en un modelo *in vivo* de neurotoxicidad inducida por lipopolisacáridos (LPS) (ejemplo 3). Además, los presentes inventores han demostrado que los compuestos son capaces de cruzar la barrera hematoencefálica *in vitro* y tienen propiedades antioxidantes, lo que significa que se pueden utilizar en la producción de composiciones farmacéuticas para el tratamiento y/o prevención de enfermedades neurodegenerativas y/o enfermedades neurológicas.

- 35 Por lo tanto, un objetivo de la presente invención es la utilización de un compuesto de fórmula (I):



en la que:

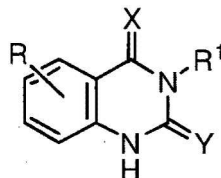
- 40 A, es un carbociclo o heterociclo condensado opcionalmente sustituido de 5, 6 ó 7 miembros saturado o insaturado, --- puede ser un doble enlace;
 X e Y, se seleccionan independientemente entre el grupo que comprende hidrógeno, alquilo, =O, =S, arilo, O-alquilo, O-arilo, S-alquilo o -S-arilo; y
 R, R¹, R² y R³ se seleccionan independientemente entre el grupo que comprende hidrógeno, halógeno, alquilo, haloalquilo, arilo, cicloalquilo, (CH₂)_n-arilo, heteroarilo, -OR³, -C(O)OR³, (CH₂)_n-C(O)OR³ o -S(O)_t, en los que n es
 45 mayor o igual a 0 y en los que t es 1 ó 2,
 o bien una sal, profármaco, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo,

- 50 para producir un medicamento para el tratamiento y/o prevención de enfermedades neurodegenerativas y/o neurológicas.

Preferentemente, A es un carbociclo con 6 miembros. Más preferentemente, A es fenilo.

En una realización preferente, la presente invención se refiere a la utilización de un compuesto de fórmula (II):

5



(II)

en la que

10 X e Y se seleccionan independientemente de O o S; y
R y R¹ se seleccionan independientemente entre el grupo que comprende hidrógeno, halógeno, alquilo, haloalquilo, arilo, cicloalquilo, (CH₂)_n-arilo, heteroarilo, -OR³, -C(O)OR³, (CH₂)_n-C(O)OR³ o -S(O)_t-, en el que R³ se selecciona entre hidrógeno, alquilo, arilo o cicloalquilo, n es mayor que 0 y t es 1 ó 2,

15 o una sal, profármaco, solvato o estereoisómero del mismo aceptable farmacéuticamente, para producir un medicamento para el tratamiento y/o prevención de enfermedades neurodegenerativas y/o neurológicas.

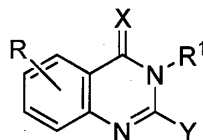
Preferentemente, X es O e Y es S.

20

Preferentemente, X es S e Y es S.

Preferentemente, R se selecciona entre H o alquilo C₁-C₆. Más preferentemente, R es metilo.

25 En otra forma de realización preferente, la presente invención se refiere a la utilización de un compuesto de fórmula (III):



(III)

30 en la que:

X se selecciona entre O o S e Y se selecciona entre O-arilo o S-alquilo; y
R y R¹ se seleccionan independientemente entre el grupo que comprende hidrógeno, halógeno, alquilo, haloalquilo, arilo, cicloalquilo, (CH₂)_n-arilo, heteroarilo, -OR³, -C(O)OR³, (CH₂)_n-C(O)OR³ o -S(O)_t-, en los que R³ se selecciona entre hidrógeno, alquilo, arilo o cicloalquilo, n es mayor que 0 y t es 1 ó 2

35

o una sal, profármaco, solvato o estereoisómero del mismo farmacéuticamente aceptable, para producir un medicamento para el tratamiento y/o prevención de enfermedades neurodegenerativas y/o neurológicas.

40

Preferentemente, X es O.

Preferentemente, X es S.

45 Preferentemente, Y es S-alquilo C₁-C₆. Más preferentemente, Y es S-CH₃.

Preferentemente, R se selecciona entre H o alquilo C₁-C₆. Más preferentemente, R es metilo.

50 Preferentemente, R¹ es fenilo sustituido o no sustituido. Más preferentemente, R¹ es fenilo sustituido con, como mínimo, un halógeno seleccionado entre Br o F.

Un objetivo particular de la presente invención lo constituye la utilización de un compuesto de la invención de fórmula (I) seleccionado entre el siguiente grupo:

- 5 - 3-Fenil-4-oxo-2-tioxo-1,2,3,4-tetrahidroquinazolina,
- 3-(2,6-Difluorofenil)-4-oxo-2-tioxo-1,2,3,4-tetrahidroquinazolina,
- 3-(2-Bromofenil)-8-metil-4-oxo-2-tioxo-1,2,3,4-tetrahidroquinazolina,
- 3-(2,6-Difluorofenil)-8-metil-2-metiltio-4-oxo-3,4-dihidroquinazolina,
- 3-(2-Bromofenil)-8-metil-2-metiltio-4-oxo-3,4-dihidroquinazolina,
- 10 - 3-Fenil-2,4-ditioxo-1,2,3,4-tetrahidroquinazolina,
- 3-Fenil-2-metiltio-4-tioxo-3,4-dihidroquinazolina
- 3-(2,6-Difluorofenil)-2,4-ditioxo-1,2,3,4-tetrahidroquinazolina.

o una sal, profármaco, solvato o estereoisómero del mismo farmacéuticamente aceptable, para producir un medicamento para el tratamiento y/o prevención de enfermedades neurodegenerativas y/o 15 neurológicas.

La enfermedad neurodegenerativa y/o neurológica se selecciona entre enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica, isquemia cerebral, parkinsonismo post-encefálico, distonias, síndrome de Tourette, trastorno de movimiento periódico de extremidades, síndrome de piernas inquietas, trastornos por déficit 20 de atención con hiperactividad.

El término "carbociclo" se refiere a un sistema cíclico que comprende sólo átomos de carbono e hidrógeno. Para el propósito de la presente invención, el carbociclo puede ser un sistema monocíclico, bicíclico o tricíclico y puede incluir sistemas condensados y el ciclo puede estar parcialmente saturado o ser aromático. Entre los ejemplos de 25 estos carbociclos se incluyen, sin que constituyan limitación, cicloalquilos, tal como se define en el presente documento, fenilo, naftilo, antraceno, indanilo y similares.

En la presente invención, el término "heterociclo" se refiere a un radical estable que tiene un anillo de 3 a 15 miembros que comprende átomos de carbono y de uno a cinco heteroátomos seleccionados del grupo que comprende nitrógeno, oxígeno y azufre, preferentemente un anillo de 4 a 8 miembros con uno o más heteroátomos, 30 más preferentemente un anillo de 5 ó 6 miembros con uno o más heteroátomos. Para el propósito de la presente invención, el heterociclo puede ser un sistema de anillo monocíclico, bicíclico o tricíclico, que puede incluir sistemas de anillos condensados, y el átomo de nitrógeno, carbono o azufre en el radical heterocíclico puede estar opcionalmente oxidado, el átomo de nitrógeno puede estar opcionalmente cuaternizado, y el radical heterocíclico puede estar parcial o totalmente saturado o ser aromático. Entre los ejemplos de estos heterociclos se incluyen, sin que constituyan limitación, azepinas, bencimidazol, benzotiazol, furano, isotiazol, imidazol, indol, piperidina, piperacina, purina, quinolina, tiadiazol, tetrahidrofurano, cumano, morfina, pirrol, pirazol, oxazol, isoxazol, triazol, 35 imidazol, etc.

En la presente invención, el término "alquilo" se refiere a radicales de cadenas hidrocarbonadas, lineales o ramificadas, que tienen de 1 a 10 átomos de carbono, preferentemente de 1 a 6, y que se unen al resto de la molécula mediante un enlace sencillo, por ejemplo, metilo, etilo, n-propilo, i-propilo, n-butilo, terc-butilo, sec-butilo, n-pentilo, n-hexilo, etc. Los grupos alquilo pueden estar opcionalmente sustituidos por uno o más sustitutos tales como halógeno (conocido como haloalquilo), hidroxilo, alcoxilo, carboxilo, carbonilo, ciano, acilo, alcoxycarbonilo, 40 amino, nitro, mercapto y alquiltio.

En la presente invención, el término "cicloalquilo" se refiere a un radical monocíclico o bicíclico estable de 3 a 10 miembros, preferentemente de 3 a 8 miembros y más preferentemente de 6 miembros, que está saturado o parcialmente saturado, y que comprende únicamente átomos de carbono y de hidrógeno, tal como ciclopentilo, ciclohexilo o adamantilo y que puede estar opcionalmente sustituido con uno o más grupos tales como alquilo, halógeno, hidroxilo, alcoxilo, carboxilo, ciano, carbonilo, acilo, alcoxycarbonilo, amino, nitro, mercapto y alquiltio. 50

En la presente invención, el término "arilo" se refiere a un radical fenilo, naftilo, indenilo, fenantrilo, o antracilo. El radical arilo puede estar opcionalmente sustituido por uno o más sustituyentes tales como alquilo, haloalquilo, aminoalquilo, dialquilamino, hidroxilo, alcoxilo, fenilo, mercapto, halógeno, nitro, ciano y alcoxycarbonilo. 55

El término "heteroarilo" se refiere a un arilo que tiene, como mínimo, un heterociclo.

El término "halógeno" se refiere a flúor, cloro, bromo o yodo. 60

Los compuestos de la presente invención representados por la fórmula (I), y más concretamente, los compuestos específicos pertenecientes a esta fórmula general anteriormente descrita pueden incluir isómeros, dependiendo de la presencia de enlaces múltiples (por ejemplo, Z, E), entre los que se incluyen isómeros ópticos o enantiómeros, dependiendo de la presencia de centros quirales. Los isómeros, enantiómeros o diastereoisómeros individuales y las mezclas de los mismos se encuentran dentro del alcance de la presente invención. Los enantiómeros o diastereoisómeros individuales, así como sus mezclas, pueden separarse mediante técnicas convencionales. 65

Asimismo, dentro del alcance de la presente invención se encuentran los profármacos de los compuestos de fórmula (I). El término "profármaco", tal como se utiliza en la presente memoria, incluye a cualquier compuesto derivado de un compuesto de fórmula (I), por ejemplo, ésteres, entre los que se incluyen ésteres de ácidos carboxílicos, ésteres de aminoácidos, ésteres de fosfato, ésteres de sulfonato de sales metálicas, etc., carbamatos, amidas, etc., que, cuando se administra a un individuo es capaz de proporcionar, directa o indirectamente, dicho compuesto de fórmula (I) en dicho individuo. Ventajosamente, dicho derivado es un compuesto que aumenta la biodisponibilidad del compuesto de fórmula (I) cuando se administra a un individuo o que potencia la liberación del compuesto de fórmula (I) en un compartimento biológico. La naturaleza de dicho derivado no es crítica siempre y cuando pueda ser administrado a un individuo y proporcione el compuesto de fórmula (I) en un compartimento biológico de un individuo. La preparación de dicho profármaco puede llevarse a cabo mediante métodos convencionales conocidos por los técnicos en la materia.

Los compuestos de la presente invención pueden adoptar forma cristalina como compuestos libres o como solvatos y se pretende que ambas formas estén dentro del alcance de la presente invención. En este sentido, el término "solvato", tal como se utiliza en la presente memoria descriptiva, incluye tanto solvatos farmacéuticamente aceptables, es decir, solvatos del compuesto de fórmula (I) que pueden ser utilizados en la elaboración de un medicamento, como solvatos farmacéuticamente no aceptables, los cuales pueden ser útiles en la preparación de solvatos o sales farmacéuticamente aceptables. La naturaleza del solvato farmacéuticamente aceptable no es crítica siempre y cuando sea farmacéuticamente aceptable. En una realización particular, el solvato es un hidrato. Los solvatos pueden obtenerse por métodos convencionales de solvatación bien conocidos por los técnicos en la materia.

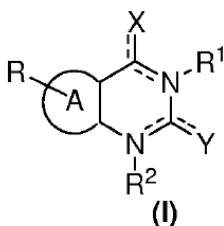
Para su aplicación en terapia, los compuestos de fórmula (I), sus isómeros, sales, profármacos o solvatos, se encontrarán, preferentemente, en una forma farmacéuticamente aceptable o sustancialmente pura, es decir, que tiene un nivel de pureza farmacéuticamente aceptable excluyendo los aditivos farmacéuticos normales tales como diluyentes y portadores, y no entre las que se incluyen material considerado tóxico a niveles de dosificación normales. Los niveles de pureza para el principio activo son preferentemente superiores al 50%, más preferentemente superiores al 70%, más preferentemente superior al 90%. En una realización preferente, son superiores al 95% del compuesto de fórmula (I), o de sus sales, solvatos o profármacos.

A menos que se indique lo contrario, los compuestos de la invención incluyen además compuestos que difieren sólo en la presencia de uno o más átomos isotópicamente enriquecidos. Por ejemplo, compuestos que tienen dicha estructura, a excepción de la sustitución de un hidrógeno por un deuterio o por tritio, o la sustitución de un carbono por un carbono enriquecido en ^{13}C o ^{14}C o un nitrógeno enriquecido en ^{15}N , están dentro del alcance de la presente invención.

Los compuestos de fórmula (I) para su utilización terapéutica se preparan en forma sólida o en una suspensión acuosa, en un diluyente farmacéuticamente aceptable. Estos preparados pueden ser administrados por cualquier vía de administración apropiada, para lo cual dicho preparado se formulará en la forma farmacéutica adecuada a la vía de administración elegida. En una realización particular, el compuesto de fórmula (I) dado a conocer por la presente invención, se administra por vía oral, tópica, rectal o parenteral (entre las que se incluyen subcutánea, intraperitoneal, intradérmica, intramuscular, intravenosa, etc.). Una revisión de las distintas formas farmacéuticas de administración de medicamentos y de los excipientes necesarios para la obtención de las mismas puede encontrarse, por ejemplo, en el "Tratado de Farmacia Galénica", C. Faulí i Trillo, 1993, Luzán 5, S.A. Ediciones, Madrid, u en otras Farmacopeas habituales o similares a la Española y a la de Estados Unidos.

Los compuestos descritos en la presente invención, sus sales, profármacos y/o solvatos farmacéuticamente aceptables, así como las composiciones farmacéuticas que los contienen, se pueden utilizar conjuntamente con otros fármacos adicionales con el fin de proporcionar una terapia de combinación. Dichos fármacos adicionales pueden formar parte de la misma composición farmacéutica o, alternativamente, se pueden proporcionar en forma de una composición separada para su administración simultánea o no con la administración de la composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), o un profármaco, solvato, derivado o sal farmacéuticamente aceptable, del mismo.

Otro objeto adicional de la presente invención comprende un método para el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa y/o enfermedad neurológica que comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I):



en el que:

- 5 A es un carbociclo o heterociclo condensado sustituido opcionalmente, con 5, 6 ó 7 miembros saturado o insaturado, --- puede ser un doble enlace;
 X e Y, se seleccionan independientemente entre el grupo que comprende hidrógeno, alquilo, =O, =S, arilo, O-alquilo, O-arilo, S-alquilo o -S-arilo; y
 10 R, R¹, R² y R³ se seleccionan independientemente entre el grupo que comprende hidrógeno, halógeno, alquilo, haloalquilo, arilo, cicloalquilo, (CH₂)_n-arilo, heteroarilo, -OR³, -C(O)OR³, (CH₂)_n-C(O)OR³ o -S(O)_t, en los que n es mayor o igual a 0 y en los que t es 1 ó 2,

o una sal, profármaco, solvato o estereoisómero del mismo farmacéuticamente aceptable.

- 15 En el sentido utilizado en la presente descripción, la expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a la cantidad de agente o compuesto capaz de tener un efecto neuroprotector en cultivos primarios de astrocitos y células gliales y/o en líneas de células dopaminérgicas, calculada para producir el efecto requerido *in vivo* y, en general, se determinará, entre otros aspectos, por las propiedades inherentes de los compuestos, incluyendo la edad, estado del paciente, la gravedad de la alteración o trastorno, y la vía y frecuencia de administración.

20 Las enfermedades neurodegenerativas y/o neurológicas a tratar en dicho método se seleccionan entre enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica, isquemia cerebral, parkinsonismo postencefalítico, distonías, síndrome de Tourette, trastorno de movimiento periódico de extremidades, síndrome de las piernas inquietas, trastornos de déficit de atención con hiperactividad.

25 El compuesto de la presente invención es compatible con su utilización en protocolos en que los compuestos de la fórmula (I), o sus mezclas se utilizan por sí mismos o en combinaciones con otros tratamientos o cualquier procedimiento médico.

30 DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

- Figura 1.- Efecto neuroprotector de los compuestos en cultivos primarios de astrocitos estimulados por lipopolisacáridos (LPS).
 Figura 2.- Efecto neuroprotector de los compuestos en cultivos primarios de microglía estimulados por LPS.
 35 Figura 3.- Neuroprotección en la línea celular dopaminérgica SH-SY5Y.
 Figura 4.- (A) Viabilidad de las células dopaminérgicas de la neuronas de la "substancia negra" después de un daño inducido por LPS. (B) Activación microglial en respuesta a LPS.

40 EJEMPLOS DE LA INVENCION

En los ejemplos siguientes, se han evaluado los siguientes compuestos que tienen una fórmula comprendida dentro del alcance de la fórmula (I):

- 45 - 3-fenil-4-oxo-2-tioxo-1,2,3,4-tetrahydroquinazolina (**Compuesto 1**),
 - 3-(2,6-difluorofenil)-4-oxo-2-tioxo-1,2,3,4-tetrahydroquinazolina (**Compuesto 2**),
 - 3-(2-bromofenil)-8-metil-4-oxo-2-tioxo-1,2,3,4-tetrahydroquinazolina (**Compuesto 3**),
 - 3-(2,6-difluorofenil)-8-metil-2-metiltio-4-oxo-3,4-dihidroquinazolina (**Compuesto 4**),
 - 3-(2-bromofenil)-8-metil-2-metiltio-4-oxo-3,4-dihidroquinazolina (**Compuesto 5**),
 - 3-fenil-2,4-ditioxo-1,2,3,4-tetrahydroquinazolina (**Compuesto 6**),
 50 - 3-fenil-2-metiltio-4-tioxo-3,4-dihidroquinazolina (**Compuesto 7**),
 - 3-(2,6-difluorofenil)-2,4-ditioxo-1,2,3,4-tetrahydroquinazolina (**Compuesto 8**).

55 Ejemplo 1. Medida del efecto neuroprotector de los compuestos de fórmula (I) por producción de nitritos en diferentes líneas celulares

Se utilizan fundamentalmente cultivos primarios de microglía y astrocitos (R. Luna-Medina; M. Cortés-Canteli; M. Alonso; A. Santos; A. Martínez; A. Pérez-Castillo, Regulación de la respuesta inflamatoria en las células neurales *in vitro* con derivados de tiadiazolidinona a través de la activación del receptor gamma activado por el proliferador de

peroxisomas. J. Biol. Chem. 2005, 280, 21453-21462). Los cultivos primarios de astrocitos y microglía se obtienen a partir de corteza e hipocampo de ratas de 2 días de edad post-natal. Tras diseccionar la corteza e hipocampo y limpiarlos de meninges se disgregan las células por trituración mecánica e incubación con 0,25% de tripsina/EDTA a 37°C durante 45 minutos. Se añade DMEM con 10% de suero fetal para parar la digestión con tripsina y se termina de triturar el tejido mecánicamente. Se centrifuga a 800 xg/5 minutos y el precipitado se lava 3 veces en EBSS; finalmente se resuspenden las células en DMEM más 10% de suero fetal y se siembran a una densidad de $0,5 \times 10^5$ células/cm². Las células se incuban durante 10-12 días al cabo de los cuales se observa una monocapa de astrocitos sobre la que se adhieren ligeramente las células de microglía. Para aislar las células de microglía los frascos de cultivo se incuban en un agitador rotatorio a 37°C durante 4 horas a 250 rpm y el medio conteniendo la microglía se centrifuga a 1500 xg/5 minutos. Las células de microglía se resuspenden en DMEM/10% FBS y se siembran a una densidad de $2-4 \times 10^5$ células/cm². Después de 1 hora de incubación, para permitir que se adhieran a la placa, se lavan con TD y se incuban en DMEM/10% FBS durante 24 horas a partir de las cuales se utilizan para los diversos experimentos. El grado de pureza de estos cultivos se determina por estudios de inmunocitoquímica con anticuerpos específicos para neuronas (β -tubulina y MAP2), astrocitos (GFAP), oligodendrocitos (CNPasa) y microglía (OX42).

Cultivos celulares de astrocitos y microglía se tratan con LPS (10 μ g/ml) en ausencia y presencia de los diferentes compuestos. Los compuestos se añaden 1 h antes que el estímulo inflamatorio. A diferentes tiempos después de la incubación, las células se lavan y se recogen para realizar las correspondientes medidas del efecto de los compuestos en la producción de NO (óxido nítrico) por la iNOS (sintasa del óxido nítrico inducible) como indicador de un daño neural debido a procesos inflamatorios (K. D. Kroncke; K. Fehsel; V. Kolb-Bachofen, Óxido nítrico: citotoxicidad frente a citoprotección- Cómo, por qué, cuándo y dónde? Nitric Oxide 1997, 1, 107-120). Para ello, después de 24 h de incubación se determina la cantidad de nitritos, uno de los productos de oxidación del NO. Para ello, se utiliza el método basado en la reacción de Griess (P. Griess, Comentarios sobre los trabajos de H. H. Weselsky y Benedikt sobre algunos compuestos azoicos. Chem. Ber. 1879, 12, 426-428): 100 μ l de sobrenadante de los cultivos se mezclan con 100 μ l de reactivo de Griess en una placa de 96 pocillos incubándose durante 15 min a temperatura ambiente. A continuación, se mide la absorbancia a 540 nm en un lector de microplacas. La cantidad de nitritos producido se determina utilizando una curva patrón de nitrito sódico.

Compuestos de referencia en el ensayo: Rolipram y BRL50481.

Véanse las figuras 1 y 2.

Ejemplo 2. Ensayo de neuroprotección en células de neuroblastoma SH-SY5Y

La línea celular de neuroblastoma humano SH-SY5Y se expuso a una concentración 50 μ M de la neurotoxina 6-hidroxidopamina (6-OHDA) en presencia o ausencia de S14 o TC3.6. La 6-OHDA es una sustancia muy tóxica para estas células y la incubación con ella provoca una muerte celular significativa, siendo un modelo celular de parkinsonismo *in vitro* muy utilizado (J. S. Mendez; B. W. Finn, Utilización de 6-hidroxidopamina para crear lesiones en las neuronas de catecolaminas en ratas. J Neurosurg. 1975, 42, 166-173.). La viabilidad celular se determina utilizando el compuesto bromuro de 3(4,5-dimetiltiazol-2)-2,5-difenil tetrazolio (MTT) que mide la integridad de la función mitocondrial. Cada dato representa la media \pm DE de cinco replicados en tres experimentos diferentes. *P < 0,05 y **P < 0,01, diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes experimentos. Véase la figura 3.

Ejemplo 3. Supervivencia neuronal *in vivo*

Se inyecta unilateralmente lipopolisacárido (LPS, 5 μ g) o vehículo en la sustancia negra (SN) de ratas adultas. Uno de los grupos de animales recibió además 5 nmol de S14 en la inyección. Después de tres días de la operación, los animales se perfunden intracardiácamente con 4% de paraformaldehído en PBS, durante aproximadamente 45-60 minutos. Terminada la perfusión se extrae el cerebro y se deja en la solución de paraformaldehído durante 24 horas después de las cuales se cambia a una solución de 4% paraformaldehído/30% sacarosa durante aproximadamente 48 horas. Los cerebros fijados de esta manera se congelan en nieve carbónica y se hacen cortes de 25 μ m en un criostato. Para tinciones con un solo anticuerpo, éstas se llevarán a cabo con el sistema ABC (ABC Elite kit, Vector). Los cortes seleccionados se lavan con PBS y se tratan con una solución de metanol/PBS/H₂O/H₂O₂ para bloquear las peroxidases endógenas. Después de lavar con PBS los cortes se bloquean con 0,1 M lisina/5% suero/0,1% triton X-100/4% BSA en PBS. La incubación con el correspondiente anticuerpo primario se realiza a 4°C durante 18 horas en PBS con 4% BSA, 1% suero y 0,1% triton X-100. Después de lavar con PBS, los cortes se incuban durante 1 hora a temperatura ambiente con el anticuerpo secundario biotinilado correspondiente en PBS conteniendo 4% BSA, 1% suero y 0,1% triton X-100, a una dilución 1:200. Una vez terminada la incubación se añade el kit de ABC y se incuban los cortes durante 1 hora. Después de lavar con PBS se revelan con DAB y se montan en portaobjetos gelatinizados y se deshidratan para su posterior observación por microscopía. La integridad neuronal se mide mediante tinción convencional de Nissl y la supervivencia de células dopaminérgicas mediante la tinción de los cortes con un anticuerpo específico anti-tirosina hidroxilasa (TH). La activación glial se determina utilizando anticuerpos anti-GFAP (tiñe astrocitos reactivos) y anti-CD11 b (OX-42, tiñe microglía activada).

Véase la figura 4.

Ejemplo 4: Medición del efecto antioxidante de los compuestos de fórmula (I)

5 Dado que en muchas enfermedades neurodegenerativas la muerte neuronal se produce debido a estrés oxidativo, la capacidad de estos compuestos para capturar radicales libres se ha evaluado utilizando la metodología de ORAC.

La determinación se realiza siguiendo el método ORAC-FL de Ou y otros, parcialmente adaptado por BMG LABTECH (Nota de aplicación 148 de BMG LABTECH (2006): Ensayo ORAC en el FLUOstar OPTIMA para Determinar la Capacidad Antioxidante. <http://www.bmglabtech.com/application-notes/fluorescence-intensity/orac-148.cfm>). Se utilizó el lector de placas FLUOstar Optima (BMG Labtechnologies GmbH, Offenburg, Alemania) con un filtro de excitación a 485 nm de excitación y 520 nm de emisión. Se adquirieron 2,2'-azobis-(amidinopropano) dihidrocloruro (AAPH), ácido (±)-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico (Trolox) y fluoresceína (FL) de Sigma-Aldrich. La reacción se lleva a cabo en tampón de fosfato 75 mM (pH 7,4) y un volumen final de reacción de 200 µl. Se dispone el antioxidante (25 µl) y la fluoresceína (150 µl; 10 nM) en placas de 96 pocillos negras (96F sin tratar, NuncTM). La mezcla se preincuba durante 30 minutos a 37°C añadiendo después rápidamente una solución de AAPH (25 µl, 240 mM), utilizando una pipeta multicanal. La microplaca se coloca rápidamente en el lector y la fluorescencia se mide cada 90 segundos durante 90 minutos. La placa de 96 pocillos se agita automáticamente antes de cada lectura. Los compuestos se ensayan a 4 concentraciones diferentes (10-1 µM). Se dispone además un blanco (FL + AAPH en tampón de fosfato) y como compuesto de referencia cuatro concentraciones de Trolox (10-1 µM). Todas las reacciones se llevan a cabo por duplicado y, como mínimo, tres ensayos diferentes por compuesto. Los datos se exportan a una hoja de cálculo Excel (Microsoft), representando la absorbancia frente al tiempo y, posteriormente, el área bajo la curva se calcula siguiendo la fórmula (1)

$$(1) \text{AUC} = f_1 / f_0 + f_i / f_0 + \dots + f_{34} / f_0 + (f_{35} / f_0)$$

25 en la que: AUC = área bajo la curva
 f_0 = fluorescencia medida en el tiempo 0
 f_i = fluorescencia medida en el tiempo t

30 Los valores netos de AUC de cada compuesto se determinan restando del valor AUC del compuesto del valor AUC del blanco (FL + AAPH en tampón de fosfato).

La medición de antioxidación se expresa en equivalentes de Trolox. Los equivalentes de Trolox relativos se calculan según la fórmula (2):

$$(2) \left(\frac{\text{AUC}_{\text{muestra}} - \text{AUC}_{\text{blanco}}}{\text{AUC}_{\text{Trolox}} - \text{AUC}_{\text{blanco}}} * \frac{[\text{Trolox}]}{[\text{muestra}]} \right)$$

Los resultados se muestran en la tabla 1.

40 **Tabla 1.-** Capacidad antioxidante de los compuestos en equivalentes Trolox

Compuesto	Equivalentes Trolox
1	1,19
2	No a 10 µM
3	1,31
4	0,13
5	No a 10 µM
6	0,46
7	0,37
8	n. d.
n. d.= no determinado	

Ejemplo 5: Medición de la permeabilidad de sangre del cerebro de los compuestos de fórmula (I)

45 El paso a través de la barrera hematoencefálica se determina *in vitro* mediante un ensayo de permeabilidad utilizando una membrana artificial, PAMPA (del inglés *Parallel Artificial Membrane Permeation Assay*, ensayo paralelo de permeación de membrana artificial), siguiendo el procedimiento optimizado previamente en los laboratorios de los presentes autores. Dos placas de 96 pocillos (Millipore) se utilizan en un montaje tipo sandwich. La microplaca donante contiene un filtro de PVDF en el fondo de cada pocillo en el que se coloca un extracto lipídico de cerdo, que actúa como la barrera biológica. Cada ensayo se valida con 8 fármacos comerciales cuya penetración en el SNC es conocida.

Inicialmente, se determinan las longitudes de onda del espectro de absorción de una solución de cada compuesto (1 mg en 5 ml de PBS/EtOH 70:30), cuyos niveles de absorbancia se deben encontrar entre 1 - 0,8 para, posteriormente, medir la permeabilidad.

5 Una vez que se han seleccionado las longitudes de onda requeridas, se añade 180 μ l de cada solución (1 mg de compuesto en 5 ml de PBS/EtOH 70:30) a cada pocillo de la placa donante. La membrana artificial está recubierta con 4 μ l de solución de PBL en dodecano 20 mg/ml. Se añaden 180 μ l de la solución tampón (pH = 7,4) a la placa aceptora próxima formando un sistema de tipo "sandwich", de manera que la placa donante está por encima de la placa aceptora a través de la membrana artificial. Este sistema se incubó durante 4 h sin agitación a temperatura ambiente. Los niveles de absorbancia de la placa aceptora se miden utilizando un espectrofotómetro UV en una placa de 96 pocillos con 130 μ l en cada uno. Los resultados se expresan como el valor promedio de tres ensayos independientes que contienen cada uno tres repeticiones de cada derivado a analizar. Las diferencias entre los niveles de absorbancia final e inicial se correlacionan con la permeabilidad.

15 El método utilizado se validó en las mismas condiciones utilizando 9 productos comerciales cuya capacidad de penetración en el SNC es conocida. De esta manera, se obtuvo una buena relación lineal entre la permeabilidad experimental y la descrita. Sobre la base de esta correlación fue posible establecer límites para predecir el paso a través de la barrera hematoencefálica. Por lo tanto, se considera que una molécula atraviesa la barrera hematoencefálica (SNC +) cuando su permeabilidad (Pe) está por encima de $4 \cdot 10^{-6} \cdot \text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$ y, por lo tanto, sería capaz de alcanzar su diana terapéutica situada en el SNC. Al mismo tiempo, una molécula se considera que no pasa la barrera hematoencefálica (SNC -) cuando Pe está por debajo de $2 \cdot 10^{-6} \cdot \text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$. Los valores intermedios muestran incertidumbre (SNC +/-).

25 Los datos se muestran en la tabla 2. La mayoría de los compuestos evaluados son capaces de atravesar la barrera hematoencefálica de acuerdo con esta metodología.

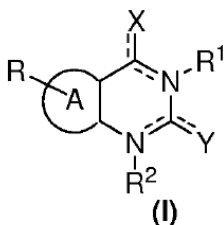
Tabla 2. Paso a través de la barrera hematoencefálica de los compuestos

Compuesto	Penetración en el SNC	Bibliografía
Clorpromacina	+	6,5
Desipramina	+	12
Enoxacina	-	1,8
Hidrocortisona	-	1,9
Imipramina	+	13
Ofloxacina	-	0,8
Promacina	+	8,1
Verapamilo	+	16
Atenolol	-	0,8
Compuesto 1	+	
Compuesto 2	+	
Compuesto 3	+	
Compuesto 4	n. d.	
Compuesto 5	-	
Compuesto 6	+	
Compuesto 7	n. d.	
Compuesto 8	+	

n. d.= no determinado debido a la falta de solubilidad en el medio experimental

REIVINDICACIONES

1. Utilización de un compuesto de fórmula (I):



5

en la que:

10 A, es un carbociclo o heterociclo condensado opcionalmente sustituido con 5, 6 ó 7 miembros, saturado o insaturado,

--- puede ser un doble enlace;

X e Y, se seleccionan independientemente entre el grupo que comprende hidrógeno, alquilo, =O, =S, arilo, O-alquilo, O-arilo, S-alquilo o -S-arilo; y

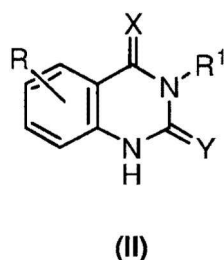
15 R, R¹, R² y R³ se seleccionan independientemente entre el grupo que comprende hidrógeno, halógeno, alquilo, haloalquilo, arilo, cicloalquilo, (CH₂)_n-arilo, -OR³, -C(O)OR³, (CH₂)_n-C(O)OR³ o -S(O)_t, en los que n es mayor que o igual a 0 y en los que t es 1 ó 2,

o bien una sal, profármaco, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptables del mismo, **en el que el profármaco es un éster de ácido carboxílico, un éster de amino ácido, un éster fosfato, un éster sulfonato de una sal metálica, un carbamato o una amida derivados de un compuesto de fórmula (I) que cuando se administra a un individuo es capaz de proporcionar, directa o indirectamente, dicho compuesto de fórmula (I),**

20 para producir un medicamento para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas y/o neurológicas, **caracterizado porque** la enfermedad neurodegenerativa y/o neurológica se selecciona entre el siguiente grupo: enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, isquemia cerebral, parkinsonismos postencefalíticos, distonías, síndrome de Tourette, trastornos de movimiento periódico de las extremidades, síndrome de las piernas inquietas, trastornos de déficit de atención con hiperactividad

2. Utilización, según la reivindicación 1, en la que A es un carbociclo con 6 miembros, preferentemente fenilo.

3. Utilización, según la reivindicación 1, **caracterizada porque** el compuesto de fórmula (I) es un compuesto de fórmula (II):



35

en la que

X e Y se seleccionan independientemente entre O o S; y

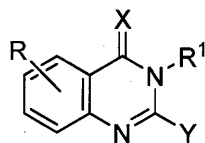
40 R y R¹ se seleccionan independientemente entre el grupo que comprende hidrógeno, halógeno, alquilo, haloalquilo, arilo, cicloalquilo, (CH₂)_n-arilo, heteroarilo, -OR³, -C(O)OR³, (CH₂)_n-C(O)OR³ o -S(O)_t, en los que R³ se selecciona entre hidrógeno, alquilo, arilo o cicloalquilo, n es mayor que o igual a 0 y t es 1 ó 2,

4. Utilización, según la reivindicación 3, en la que X es O e Y es S.

45 5. Utilización, según la reivindicación 3, en la que X es S e Y es S.

6. Utilización, según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 5, en la que R se selecciona entre H o alquilo C₁-C₆, preferentemente metilo.

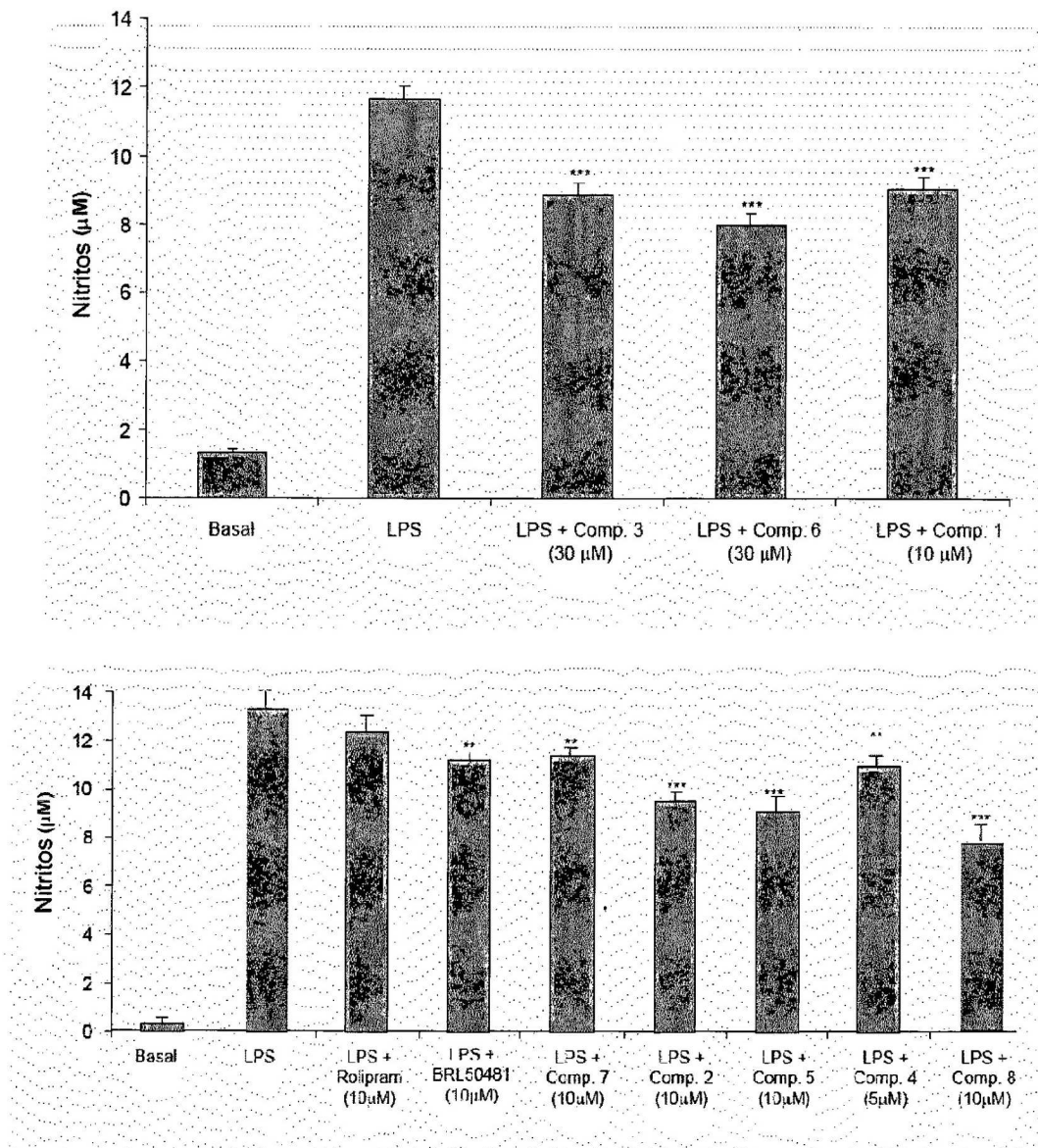
7. Utilización, según la reivindicación 1, caracterizada porque el compuesto de fórmula (I) es un compuesto de fórmula (III):



(III)

- 5 en la que:
- X se selecciona entre O o S e Y se selecciona entre O-arilo o S-alquilo; y
 R y R¹ se seleccionan independientemente entre el grupo que comprende hidrógeno, halógeno, alquilo, haloalquilo,
 10 arilo, cicloalquilo, (CH₂)_n-arilo, -OR³, -C(O)OR³, (CH₂)_n-C(O)OR³ o -S(O)_t, en los que R³ se selecciona entre hidrógeno, alquilo, arilo o cicloalquilo, n es mayor o igual a 0 y t es 1 ó 2.
8. Utilización, según la reivindicación 7, en la que, X es O.
- 15 9. Utilización, según la reivindicación 7, en la que, X es S.
10. Utilización, según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9, en la que, Y es S-alquilo C₁-C₆, preferentemente S-CH₃.
- 20 11. Utilización, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que, R se selecciona entre H o alquilo C₁-C₆, preferentemente metilo.
12. Utilización, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que, R¹ es fenilo sustituido o no sustituido.
- 25 13. Utilización, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que R¹ es fenilo sustituido con, como mínimo, un halógeno seleccionado entre Br o F.
14. Utilización, según la reivindicación 1, **caracterizada porque** el compuesto de fórmula (I) es un compuesto
 30 seleccionado del siguiente grupo:
- 3-Fenil-4-oxo-2-tioxo-1,2,3,4-tetrahydroquinazolina,
 - 3-(2,6-Difluorofenil)-4-oxo-2-tioxo-1,2,3,4-tetrahydroquinazolina,
 - 3-(2-Bromofenil)-8-metil-4-oxo-2-tioxo-1,2,3,4-tetrahydroquinazolina,
 - 3-(2,6-Difluorofenil)-8-metil-2-metiltio-4-oxo-3,4-dihidroquinazolina,
 - 35 - 3-(2-Bromofenil)-8-metil-2-metiltio-4-oxo-3,4-dihidroquinazolina,
 - 3-Fenil-2,4-ditioxo-1,2,3,4-tetrahydroquinazolina,
 - 3-Fenil-2-metiltio-4-tioxo-3,4-dihidroquinazolina
 - 3-(2,6-Difluorofenil)-2,4-ditioxo-1,2,3,4-tetrahydroquinazolina.
- 40

FIG. 1



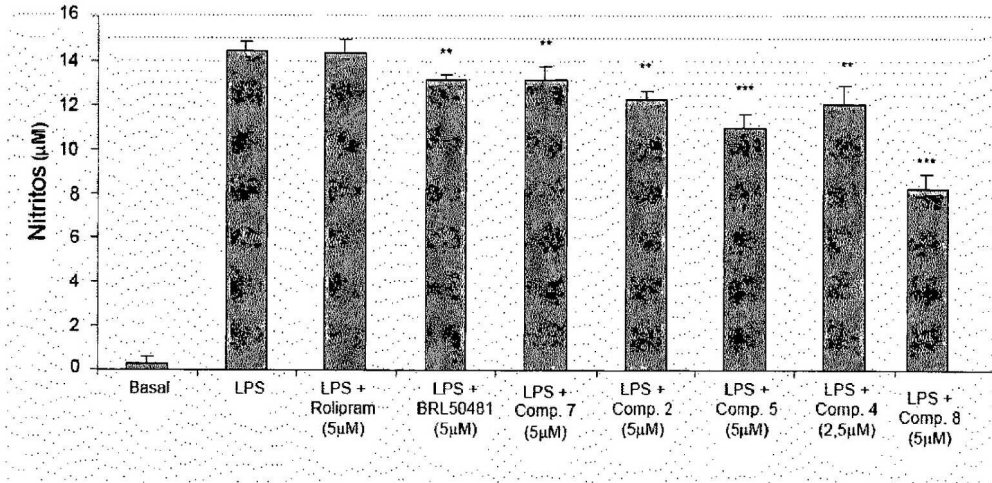
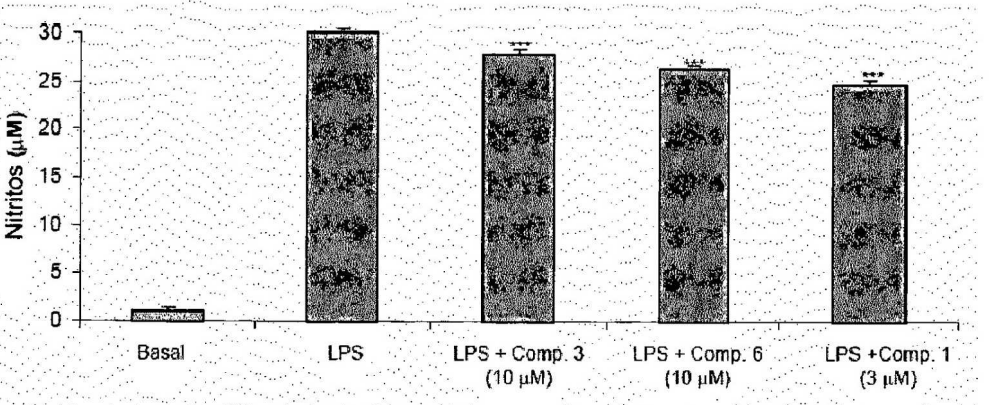
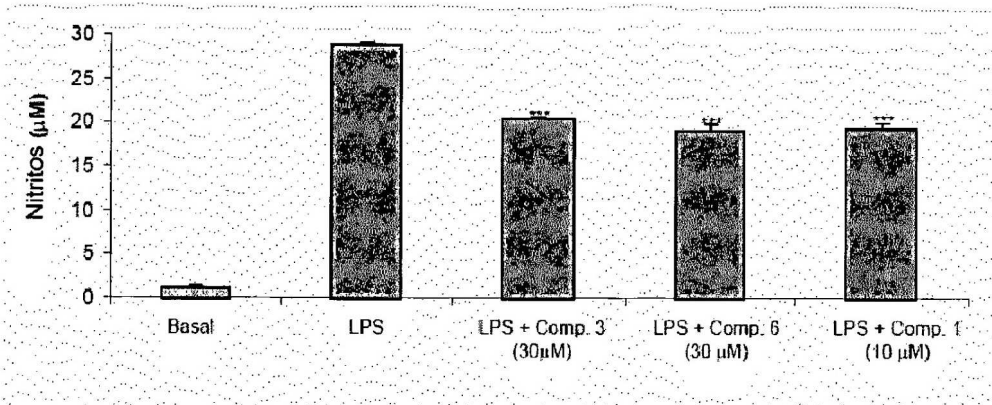


FIG. 2



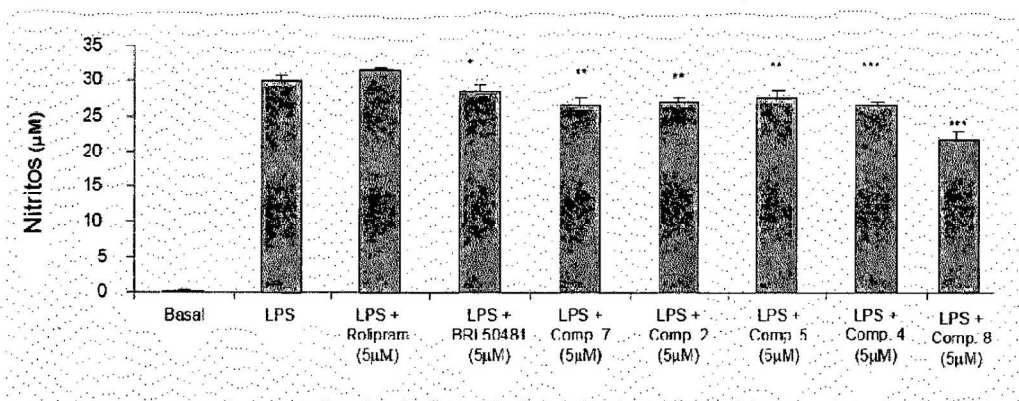
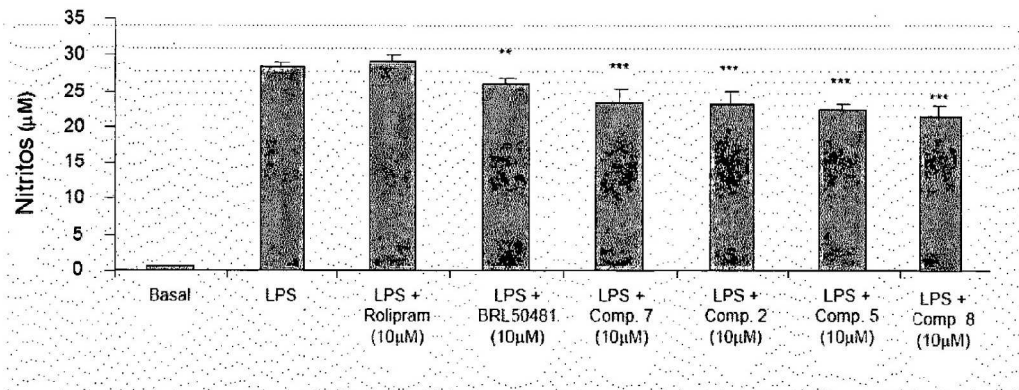


FIG. 3

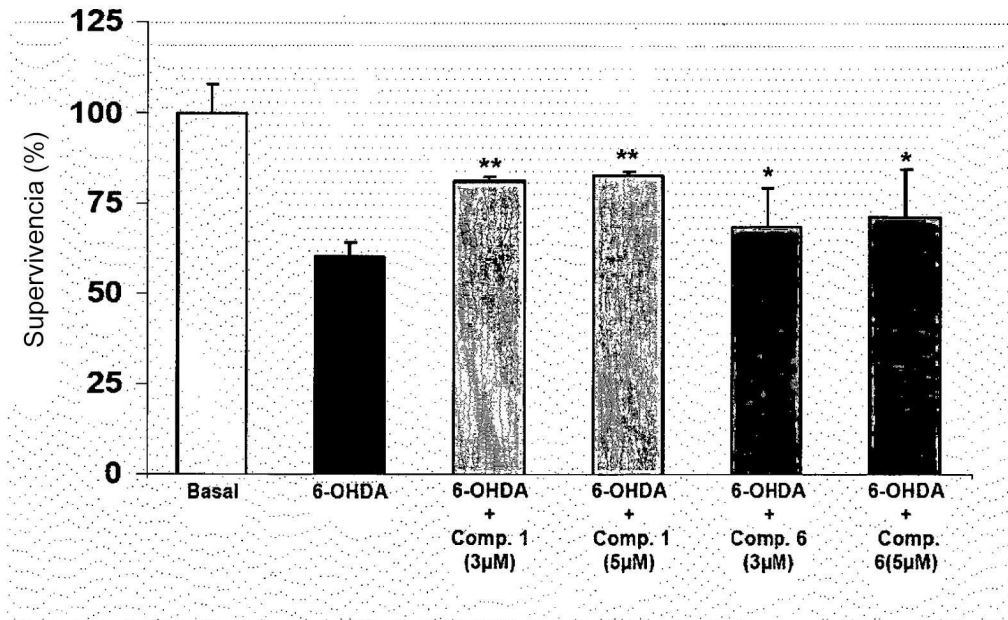
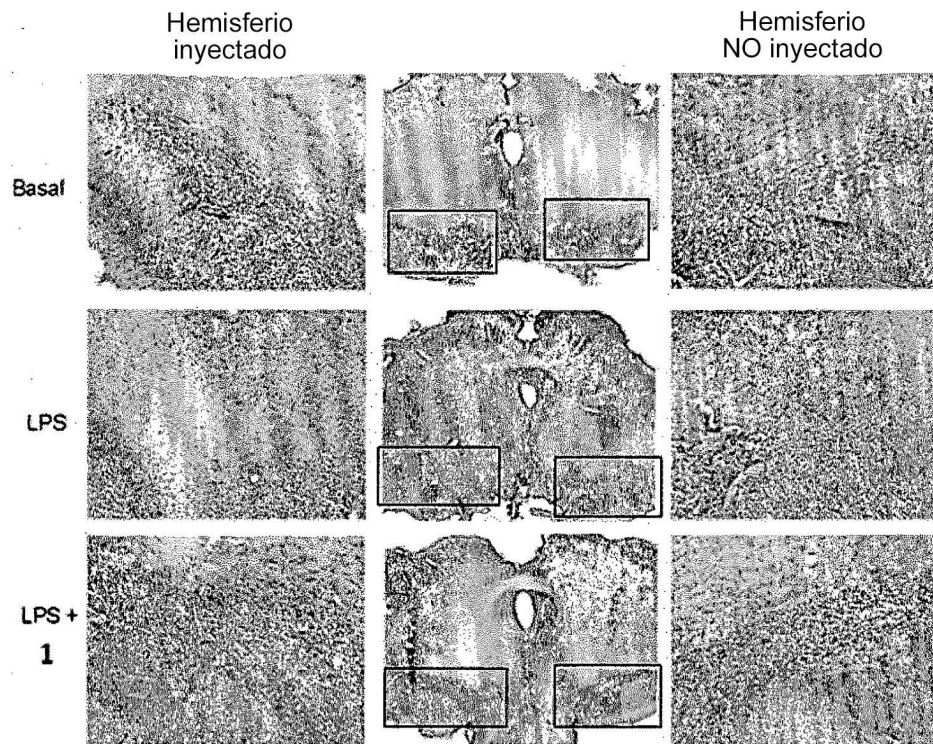


FIG. 4

A)



B)

