

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 403 340**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/352** (2006.01)

**A61K 31/4433** (2006.01)

**A61P 25/28** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.09.2005 E 05778990 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.11.2012 EP 1789079**

54 Título: **Inhibidores de aminopeptidasa regulada por insulina (IRAP) y usos de los mismos**

30 Prioridad:

**09.09.2004 AU 2004905182**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**17.05.2013**

73 Titular/es:

**HOWARD FLOREY INSTITUTE OF  
EXPERIMENTAL PHYSIOLOGY AND MEDICINE  
(50.0%)  
C/O UNIVERSITY OF MELBOURNE  
PARKVILLE VIC 3052, AU y  
ST. VINCENT'S INSTITUTE OF MEDICAL  
RESEARCH (50.0%)**

72 Inventor/es:

**CHAI, SIEW YEEN;  
PARKER, MICHAEL WILLIAM;  
ALBISTON, ANTHONY LLOYD;  
MORTON, CRAIG J.;  
NG, HOOI LING;  
YE, SIYING y  
MENDELSON, FREDERICK A. O.**

74 Agente/Representante:

**PÉREZ BARQUÍN, Eliana**

**ES 2 403 340 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

Inhibidores de aminopeptidasa regulada por insulina (IRAP) y usos de los mismos

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a inhibidores de aminopeptidasa regulada por insulina (IRAP) y a métodos para inhibir la misma, así como a composiciones que comprenden dichos inhibidores. En particular, los inhibidores de la presente invención pueden ser útiles en aplicaciones terapéuticas incluyendo la potenciación de la memoria y las funciones de aprendizaje.

**Descripción de la técnica anterior**

La aminopeptidasa regulada por insulina (IRAP) es una glicoproteína de 165 kDa que está ampliamente distribuida en muchos tejidos incluyendo el tejido adiposo, músculos, riñón, glándula suprarrenal, pulmón y corazón (Keller *et al.*, 1995; Rogi *et al.*, 1996; Zhang *et al.*, 1999). En el cerebro, se produce como una proteína más pequeña de 140 kDa, probablemente debido a glicosilación diferencial (Keller *et al.*, 1995; Zhang *et al.*, 1999). Es una proteína integral de membrana de tipo II que pertenece a la familia M1 de metalopeptidasas dependientes de zinc y tiene una gran cola extracelular C-terminal que contiene el sitio catalítico, un único dominio transmembrana y un dominio intracelular N-terminal más pequeño (Keller *et al.*, 1995; Rogi *et al.*, 1996). Inicialmente se clonó a partir de una biblioteca de ADNc de pániculo adiposo de epidídimo de rata como proteína marcadora (vp165) para una vesícula especializada que contiene el transportador de glucosa que responde a insulina GLUT4 (Keller *et al.*, 1995), la misma proteína se clonó simultáneamente a partir de una biblioteca de ADNc de placenta humana como oxitocinasa (Rogi *et al.*, 1996), una enzima que se pensó que tenía un papel importante en la degradación de oxitocina. También se ha identificado recientemente el receptor AT<sub>4</sub> como la enzima transmembrana aminopeptidasa regulada por insulina (IRAP) a través de un análisis espectral de masas de péptidos trípticos generados a partir de la proteína receptora AT<sub>4</sub> purificada de membranas suprarrenales bovinas (Albiston *et al.*, 2001). El análisis de las propiedades bioquímicas y farmacológicas de IRAP confirma que es, de hecho, el receptor AT<sub>4</sub> (Albiston *et al.*, 2001). Aunque se ha aislado por tres grupos independientes a partir de diferentes fuentes tisulares y se pensó que servía para distintos papeles fisiológicos, las propiedades y características de esta proteína se mantienen constantes.

Los ligandos de AT<sub>4</sub>, angiotensina IV (Ang IV), sus análogos Nle-Ang IV y norleucinal Ang IV, y el péptido estructuralmente distinto LVV-hemorina 7 (LVV-H7), se unen todos ellos con alta afinidad y especificidad relativa a un sitio de unión farmacológicamente distinto, denominado receptor AT<sub>4</sub>. Se demostró *in vitro* que todos los ligandos de AT<sub>4</sub>, Ang IV, Nle-Ang IV y LVV-H7 eran inhibidores de la actividad aminopeptidasa de IRAP tal como se evaluó mediante la escisión del sustrato sintético Leu-β-naftilamida (Albiston *et al.*, 2001; Lew *et al.*, 2003). Tanto Ang IV como LVV-H7 presentan cinéticas competitivas, lo que indica que los ligandos de AT<sub>4</sub> median en sus efectos mediante la unión al sitio catalítico de IRAP. Usando el mismo sistema también se ha demostrado que aunque los péptidos Ang IV y LVV-H7 se unen al sitio catalítico, no se escinden por IRAP (Lew *et al.*, 2003).

Se ha demostrado que la administración central de los ligandos peptídicos de AT<sub>4</sub>, Ang IV, sus análogos más estables, o LVV-H7, en animales normales, conduce a un rendimiento mejorado de las tareas de memoria tanto en el paradigma de evitación pasiva como de aprendizaje espacial. Los efectos iniciales se observaron en el paradigma de evitación pasiva en ratas en las que una dosis intracerebroventricular (1 nmol) de Ang IV aumentó la latencia en la reentrada en la cámara oscura tras un estímulo aversivo (Braszkó *et al.*, 1988; Wright *et al.*, 1993; Wright *et al.*, 1996). La infusión crónica (6 días) de un análogo de Ang IV en el ventrículo lateral de ratas a una dosis de entre 0,1 y 0,5 nmol/h potenció el rendimiento en el laberinto de agua, un paradigma de memoria espacial. En el laberinto de Barnes, otra tarea de aprendizaje espacial, el tratamiento de ratas con 100 pmoles o 1 nmol de ligandos peptídicos de AT<sub>4</sub>, Nle<sup>1</sup>-Ang IV o LVV-H7, disminuyó el tiempo invertido en lograr los criterios de aprendizaje en este paradigma (Lee *et al.*, 2004). Los animales control tratados con líquido cefalorraquídeo artificial tardaron 7 días en lograr los criterios de aprendizaje, mientras que los animales tratados con Nle<sup>1</sup>-Ang IV o LVV-H7, a una concentración de o bien 100 pmoles o bien 1 nmol, lograron los criterios de aprendizaje en 3-4 días (Lee *et al.*, 2004). Esta observación indica fuertemente que los dos péptidos sometidos a prueba no sólo mejoraron la memoria, sino que también potenciaron el aprendizaje espacial.

Los ligandos peptídicos de AT<sub>4</sub> no sólo potencian la memoria y el aprendizaje en animales normales, los péptidos invirtieron las deficiencias de memoria inducidas (1) químicamente por un antagonista muscarínico o (2) mecánicamente por lesión producida por corte de cuchilla de la vía perforante. Un análogo más estable de Ang IV, Nle-Ang IV, administrado de manera aguda a los ventrículos laterales, invirtió las deficiencias de memoria inducidas por el antagonista de los receptores muscarínicos, escopolamina, en un paradigma de aprendizaje espacial (Pederson *et al.*, 1998; Pederson *et al.*, 2001). En el paradigma del laberinto de agua, las deficiencias de memoria inducidas por lesión en la vía perforante bilateral pueden invertirse mediante una dosis aguda (1 nmol) de otro análogo de Ang IV, norleucinal Ang IV (Wright *et al.*, 1999). También se ha encontrado que el otro ligando de AT<sub>4</sub>, LVV-H7, administrado de manera aguda antes del ensayo de acondicionamiento en el paradigma de evitación pasiva, invierte la deficiencia de memoria inducida por escopolamina (Albiston *et al.*, 2004).

A diferencia de otros miembros de la familia M1 de aminopeptidasas, la cola N-terminal de IRAP es mucho más larga (112 aminoácidos) y contiene dos motivos de dileucina (residuos 53-54 y 76-77) que están precedidos por agrupaciones ácidas (Keller *et al.*, 1995). Estos motivos de ordenamiento característicos también se producen en el dominio carboxilo terminal de GLUT4 (Bryant *et al.*, 2002) y sugieren que estas dos proteínas experimentan procesos de ordenamiento intracelular similares. La microinyección de la cola N-terminal de IRAP (1-109) o un fragmento más corto del dominio intracelular, IRAP (55-82), en adipositos 3T3-L1 da como resultado la translocación de vesículas de GLUT4 a la membrana plasmática (Waters *et al.*, 1997) lo que conduce a apoyar un papel para el dominio intracelular de IRAP en el tráfico y/o retención de vesículas de GLUT4.

Tal como se mencionó anteriormente, IRAP no sólo se conoce como una proteína marcadora (vp165) para vesículas de GLUT4 (Keller *et al.*, 1995). La misma proteína se clonó simultáneamente a partir de una biblioteca de ADNc de placenta humana como oxitocinasa (Rogi *et al.*, 1996), una enzima que se pensó que tenía un papel importante en la degradación de oxitocina. La oxitocina y el receptor de oxitocina tienen dos papeles importantes en el trabajo de parto. Las pruebas en todas las especies de mamífero sugieren que la oxitocina desempeña un papel en la fase de expulsión y es importante para la determinación del momento preciso del comienzo del trabajo de parto (Imamura *et al.*, 2000). El inicio del trabajo de parto puede estar mediado en mujeres y monos Rhesus por mecanismos paracrinos en lugar de por mecanismos endocrinos. Estudios en ratones deficientes también confirman importantes interrelaciones entre la oxitocina y las prostaglandinas. La oxitocina estimula la liberación de prostaglandina en muchas especies, principalmente en el epitelio de la decidua/uterino. Los efectos de la oxitocina están mediados por la expresión del receptor de oxitocina específico de tejido, que conduce directamente a la contracción en el miometrio y a la formación de prostaglandina en la decidua. Hay un aumento espectacular en la expresión del receptor de oxitocina en estos tejidos al final del embarazo y la inhibición farmacológica retrasa el parto, lo que sugiere que el receptor de oxitocina es esencial para el trabajo de parto normal. Estudios recientes en ratones con una mutación nula del gen de oxitocina sugieren un papel importante para la oxitocina en la expulsión de leche.

IRAP, por tanto, proporciona una diana para el desarrollo de agentes que pueden potenciar o mejorar la memoria y el aprendizaje, tratar trastornos de homeostasis de glucosa, incluyendo hiperglicemia y diabetes y/o inducir el trabajo de parto o la lactancia en los individuos. Por consiguiente, los inhibidores de IRAP, que pueden alterar o interferir con la actividad funcional de IRAP, pueden tener aplicaciones terapéuticas y/o profilácticas útiles en el tratamiento de estados y trastornos en los que desempeña un papel una actividad excesiva o no deseada de IRAP.

Otras publicaciones incluyen el documento EP0599514 ("Pyranoquinoline derivatives as inhibitors of cell proliferation", Derivados de piranoquinolina como inhibidores de la proliferación celular) y el documento US5281619 ("Therapy for diabetic complications", Terapia para complicaciones diabéticas).

### Sumario de la invención

A lo largo de esta memoria descriptiva y de las reivindicaciones que siguen, a menos que el contexto requiera otra cosa, se entenderá que la palabra "comprender", y variaciones tales como "comprende" y "que comprende", implica la inclusión de un número entero o etapa establecida o grupo de números enteros o etapas pero no la exclusión de ningún otro número entero o etapa o grupo de números enteros o etapas.

Se ha descubierto ahora que determinados compuestos benzo-condensados tienen actividad inhibidora de IRAP, y por tanto pueden ser útiles en aplicaciones terapéuticas en las que se desea la inhibición de IRAP.

Según la presente invención, se proporcionan compuestos para su uso tal como se define en la reivindicación 1 independiente adjunta. Características preferibles adicionales se definen en las reivindicaciones dependientes adjuntas.

También se da a conocer un método para inhibir la actividad de IRAP, que comprende poner en contacto IRAP con una cantidad inhibidora de un compuesto de fórmula (1), o una sal o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo. La inhibición de la actividad de IRAP puede realizarse *in vitro* o *in vivo*, preferiblemente *in vivo* en un sujeto. La descripción por tanto también proporciona un método para inhibir la actividad de IRAP en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad inhibidora eficaz de un compuesto de fórmula (1), o una sal o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo.

Los compuestos descritos en el presente documento pueden ser útiles en el tratamiento de una enfermedad o estado en el que desempeña un papel una actividad excesiva o no deseada de IRAP. Por tanto, también se da a conocer un método para tratar una enfermedad o estado en el que está implicada la actividad de IRAP, en un sujeto que lo necesita, que comprende la etapa de administrar a dicho sujeto una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (1), o una sal o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo. La descripción también proporciona el uso de un compuesto de fórmula (1), o una sal o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo, en la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad o estado en el que está implicada la actividad de IRAP.

Tal como se describió anteriormente, se ha demostrado que los inhibidores de IRAP mejoran la memoria y potencian el aprendizaje espacial así como invierten las deficiencias de memoria.

5 Por consiguiente, también se da a conocer un método para potenciar la memoria y/o el aprendizaje en un sujeto, que comprende la etapa de administrar a dicho sujeto un compuesto de fórmula (I) o una sal o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo. La descripción por tanto también proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I), o una sal o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para potenciar la memoria y/o el aprendizaje en un sujeto.

10 Puesto que IRAP está implicada en el tráfico de vesículas de GLUT4, la unión de los ligandos de AT<sub>4</sub> a IRAP puede alterar esta ruta de tráfico modulando de ese modo la captación de glucosa. De hecho, se ha demostrado que Ang IV (0,1 y 1 uM) potencian la captación de glucosa basal y estimulada por insulina (0,7 nM) en células 3T3-L1. En sujetos con diabetes tipo II o no insulino dependiente (NIDDM), los adipositos y las células musculares responden de manera deficiente a la insulina y no pueden contribuir al mantenimiento de la homeostasis de glucosa. Los agentes que pueden movilizar eficazmente vesículas de GLUT4 a la membrana plasmática o mantener GLUT4 en la membrana plasmática, tales como los inhibidores de IRAP, pueden ser útiles en la gestión de la homeostasis de glucosa y/o la diabetes tipo II incluyendo la prevención de los síntomas de la diabetes tipo II, tales como hiperglicemia u otras secuelas clínicas no deseadas.

20 Por tanto, también se da a conocer un método para tratar trastornos de homeostasis de glucosa y/o diabetes tipo II en un sujeto que lo necesita, que comprende la etapa de administrar a dicho sujeto un compuesto de fórmula (I) o una sal o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo. La descripción por tanto proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para tratar trastornos de homeostasis de glucosa y/o diabetes tipo II.

25 Los agentes que pueden prolongar la semivida de los niveles de oxitocina circulantes o locales, tales como inhibidores de IRAP, pueden ser útiles en inducir el trabajo de parto o ayudar a la expulsión de leche en madres durante el periodo de lactancia.

30 Por consiguiente, también se da a conocer un método para inducir el trabajo de parto o la lactancia en un sujeto que lo necesita, que comprende la etapa de administrar a dicho sujeto un compuesto de fórmula (I) o una sal o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo, así como el uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para inducir el trabajo de parto o la lactancia en un sujeto.

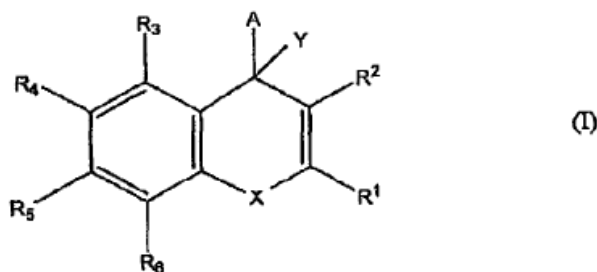
35 Aspectos adicionales de la descripción corresponden a los anteriores usando el compuesto II tal como se define en el presente documento o una sal o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo.

**Breve descripción de las figuras**

40 La figura 1 representa gráficamente el efecto del compuesto 1 en la deficiencia de memoria inducida por escopolamina.

**Descripción de la invención**

45 La presente invención proporciona compuestos para su uso como inhibidores de IRAP. Los compuestos dados a conocer en el presente documento incluyen los de fórmula (I):



50 en la que

A es arilo heteroarilo carbociclilo o heterociclilo, pudiendo estar cada uno de ellos opcionalmente sustituido;

X es O;

55 R<sup>1</sup> es NR<sup>7</sup>R<sup>8</sup>, NHCOR<sup>8</sup>, N(COR<sup>8</sup>)<sub>2</sub>, N(COR<sup>7</sup>)(COR<sup>8</sup>), N=CHR<sup>8</sup> o N=CHR<sup>8</sup> en los que R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> se seleccionan independientemente de H, alquilo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, o R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup>, junto con el



tetrahidronaftilo, antraceno, dihidroantraceno, benzantraceno, dibenzantraceno, fenantreno, fluoreno, pireno, ideno, azuleno, criseno. El arilo preferido incluye fenilo y naftilo. Un grupo arilo puede estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes opcionales tal como se define en el presente documento.

- 5 El término "carbociclilo" incluye cualquiera de los residuos hidrocarbonados no aromáticos monocíclicos, policíclicos, condensados o conjugados, preferiblemente C<sub>3-20</sub> (por ejemplo C<sub>3-10</sub> o C<sub>3-8</sub>). Los anillos pueden ser saturados, por ejemplo cicloalquilo, o pueden tener uno o más dobles enlaces (cicloalqueno) y/o uno o más triples enlaces (cicloalquino). Carbociclicos particularmente preferidos son sistemas de anillos de 5-6 miembros o de 9-10 miembros. Los ejemplos adecuados incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, ciclononilo, ciclodecilo, ciclopentenilo, ciclohexenilo, ciclooctenilo, ciclopentadienilo, ciclohexadienilo, ciclooctatetraenilo, indanilo, decalinilo e indenilo.

- 15 El término "heterocíclico" o "heterocíclico" cuando se usa sólo o en palabras compuestas incluye cualquiera de los residuos hidrocarbonados monocíclicos, policíclicos, condensados o conjugados, preferiblemente C<sub>3-20</sub> (por ejemplo C<sub>3-10</sub> o C<sub>3-8</sub>) en los que uno o más átomos de carbono está(s) sustituido(s) por un heteroátomo para proporcionar un residuo no aromático. Los heteroátomos adecuados incluyen, O, N, S, P y Se, particularmente O, N y S. Cuando están sustituidos dos o más átomos de carbono, esto puede realizarse mediante dos o más del mismo heteroátomo o mediante heteroátomos diferentes. El grupo heterociclilo puede estar saturado o parcialmente insaturado, es decir, tener uno o más dobles enlaces. Heterociclicos particularmente preferidos son heterociclicos de 5-6 y 9-10 miembros. Los ejemplos adecuados de grupos heterociclilo pueden incluir pirrolidinilo, pirrolinilo, piperidilo, piperazinilo, morfolinilo, indolinilo, imidazolidinilo, imidazolinilo, pirazolidinilo, tiomorfolinilo, dioxanilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidropirrolilo, piranilo y dihidropiranilo. Un grupo heterociclilo puede estar opcionalmente sustituido.

- 25 El término "heteroarilo" incluye cualquiera de los residuos hidrocarbonados monocíclicos, policíclicos, condensados o conjugados, en los que uno o más átomos de carbono está(n) sustituido(s) por un heteroátomo para proporcionar un residuo aromático. Los heteroarilos preferidos tienen 3-20 átomos en el anillo, por ejemplo 3-10. Los heteroarilos particularmente preferidos son sistemas de anillos de 5-6 y 9-10 miembros. Los heteroátomos adecuados incluyen, O, N, S, P y Se, particularmente O, N y S. Cuando están sustituidos dos o más átomos de carbono, esto puede realizarse mediante dos o más del mismo heteroátomo o mediante heteroátomos diferentes. Los ejemplos adecuados de grupos heteroarilo pueden incluir piridilo, pirrolilo, tienilo, imidazolilo, furanilo, benzotienilo, isobenzotienilo, benzofuranilo, isobenzofuranilo, indolilo, isoindolilo, pirazolilo, pirazinilo, pirimidinilo, piridazinilo, indolizínilo, quinolilo, isoquinolilo, ftalazinilo, 1,5-naftiridinilo, quinozalínilo, quinazolinilo, quinolinilo, oxazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, isoxazolilo, triazolilo, oxadiazolilo, oxatriazolilo, triazinilo y furazanilo. Un grupo heteroarilo puede estar opcionalmente sustituido.

- 40 El término "acilo" o bien solo o bien en palabras compuestas indica un grupo que contiene el resto C=O (y que no es un ácido carboxílico, éster o amida). El acilo preferido incluye C(O)-R, en el que R es hidrógeno o un residuo de alquilo, alqueno, alquino, arilo, heteroarilo, carbociclilo o heterociclilo. Los ejemplos de acilo incluyen formilo, alcanóilo de cadena lineal o ramificada (por ejemplo C<sub>1-20</sub>) tal como, acetilo, propanoilo, butanoilo, 2-metilpropanoilo, pentanoilo, 2,2-dimetilpropanoilo, hexanoilo, heptanoilo, octanoilo, nonanoilo, decanoilo, undecanoilo, dodecanoilo, tridecanoilo, tetradecanoilo, pentadecanoilo, hexadecanoilo, heptadecanoilo, octadecanoilo, nonadecanoilo e icosanoilo; cicloalquilcarbonilo tal como ciclopropilcarbonilo, ciclobutilcarbonilo, ciclopentilcarbonilo y ciclohexilcarbonilo; aroilo tal como benzoilo, toluoilo y naftoilo; aralcanoilo tal como fenilalcanoilo (por ejemplo fenilacetilo, fenilpropanoilo, fenilbutanoilo, fenilisobutililo, fenilpentanoilo y fenilhexanoilo) y naftilalcanoilo (por ejemplo naftilacetilo, naftilpropanoilo y naftilbutanoilo); aralquenoilo tal como fenilalquenoilo (por ejemplo fenilpropenoilo, fenilbutenoilo, fenilmetacrililo, fenilpentenoilo y fenilhexenoilo y naftilalquenoilo (por ejemplo naftilpropenoilo, naftilbutenoilo y naftilpentenoilo); ariloxialcanoilo tal como fenoxiacetilo y fenoxipropionilo; ariltiocarbamoilo tal como feniltiocarbamoilo; arilglioxiloilo tal como fenilglioxiloilo y naftilglioxiloilo; arilsulfonilo tal como fenilsulfonilo y naftilsulfonilo; heterociclicarbonilo; heterociclicarbonilo tal como tienilacetilo, tienilpropanoilo, tienilbutanoilo, tienilpentanoilo, tienilhexanoilo, tiazolilacetilo, tiadiazolilacetilo y tetrazolilacetilo; heterociclicarbenoilo tal como heterociclicarbenoilo, heterociclicarbenoilo, heterociclicarbenoilo y heterociclicarbenoilo; y heterociclicarbenoilo tal como tiazoliglioxiloilo y tieniglioxiloilo. El residuo R puede estar opcionalmente sustituido tal como se describe en el presente documento.

- 55 El término, "amino" se usa en el presente documento en su sentido más amplio tal como se entiende en la técnica e incluye grupos de la fórmula NR<sup>A</sup>R<sup>B</sup> en la que R<sup>A</sup> y R<sup>B</sup> pueden seleccionarse cualquiera independientemente de hidrógeno, alquilo, alqueno, alquino, arilo, carbociclilo, heteroarilo, heterociclilo, aralquilo y acilo. R<sup>A</sup> y R<sup>B</sup>, junto con el nitrógeno al que están unidos, también pueden formar un sistema de anillos monocíclico o policíclico por ejemplo un anillo de 3-10 miembros, particularmente, sistemas de 5-6 y 9-10 miembros. Los ejemplos de "amino" incluyen NH<sub>2</sub>, NH-alquilo (por ejemplo alquilo C<sub>1-20</sub>), NH-arilo (por ejemplo NH-fenilo), NH-aralquilo (por ejemplo NH-bencilo), NH-acilo (por ejemplo NHC(O)-alquilo C<sub>1-20</sub>, NHC(O)-fenilo), N-alquilalquilo (en el que cada alquilo, por ejemplo C<sub>1-20</sub>, puede ser igual o diferente) y anillos de 5 ó 6 miembros, que contienen opcionalmente uno o más heteroátomos iguales o diferentes (por ejemplo O, N y S).

- 65 El término "amido" se usa en el presente documento en su sentido más amplio tal como se entiende en la técnica e

incluye grupos que tienen la fórmula  $C(O)NR^A R^B$  en la que  $R^A$  y  $R^B$  son tal como se definieron anteriormente. Los ejemplos de amido incluyen  $C(O)NH_2$ ,  $C(O)NH$ -alquilo (por ejemplo alquilo  $C_{1-20}$ ),  $C(O)NH$ -arilo (por ejemplo  $C(O)NH$ -fenilo),  $C(O)NH$ -aralquilo (por ejemplo  $C(O)NH$ -bencilo),  $C(O)NH$ -acilo (por ejemplo  $C(O)NHC(O)$ -alquilo  $C_{1-20}$ ,  $C(O)NHC(O)$ -fenilo),  $C(O)N$ -alquilalquilo (en el que cada alquilo, por ejemplo  $C_{1-20}$ , puede ser igual o diferente) y anillos de 5 ó 6 miembros, que contienen opcionalmente uno o más heteroátomos iguales o diferentes (por ejemplo O, N y S).

El término “éster carboxílico” se usa en el presente documento en su sentido más amplio tal como se entiende en la técnica e incluye grupos que tienen la fórmula  $CO_2R$ , en la que R puede seleccionarse de grupos incluyendo alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, carbociclilo, heteroarilo, heterociclilo, aralquilo y acilo. Los ejemplos de éster carboxílico incluyen  $CO_2$ -alquilo  $C_{1-20}$ ,  $CO_2$ -arilo (por ejemplo  $CO_2$ -fenilo),  $CO_2$ -aralquilo (por ejemplo  $CO_2$ -bencilo).

En esta memoria descriptiva “opcionalmente sustituido” se considera que significa que un grupo puede estar o no adicionalmente sustituido o condensado (para formar un grupo policíclico condensado) con uno, dos, tres o más de grupos orgánicos o inorgánicos, incluyendo los seleccionados de: grupos alquilo, alquenilo, alquinilo, carbociclilo, arilo, heterociclilo, heteroarilo, acilo, aralquilo, alcarilo, alk-heterociclilo, alk-heteroarilo, alk-carbociclilo, halo, haloalquilo, haloalquenilo, haloalquinilo, haloarilo, halocarbociclilo, haloheterociclilo, haloheteroarilo, haloacilo, haloaralquilo, hidroxilo, hidroxialquilo, hidroxialquenilo, hidroxialquinilo, hidroxicarbociclilo, hidroxiarilo, hidroxiheterociclilo, hidroxiheteroarilo, hidroxiacilo, hidroxialquilo, alcoxialquilo, alcoxialquenilo, alcoxialquinilo, alcoxicarbociclilo, alcoxiarilo, alcoxiheterociclilo, alcoxiheteroarilo, alcoxiacilo, alcoxialquilo, alcoxilo, alqueniloxilo, alquiniloxilo, ariloxilo, carbociciloxilo, aralquioxilo, heteroariloxilo, heterociciloxilo, aciloxilo, haloalcoxilo, haloalqueniloxilo, haloalquiniloxilo, haloariloxilo, halocarbociciloxilo, haloalquioxilo, haloheteroariloxilo, haloheterociciloxilo, haloaciloxilo, nitro, nitroalquilo, nitroalquenilo, nitroalquinilo, nitroarilo, nitroheterociclilo, nitroheteroarilo, nitrocarbociclilo, nitroacilo, nitroaralquilo, amino ( $NH_2$ ), alquilamino, dialquilamino, alquenilamino, alquinilamino, arilamino, diarilamino, aralquilamino, diaralquilamino, acilamino, diacilamino, heterociclamino, heteroarilamino, carboxilo, éster carboxílico, amido, alquilsulfoniloxilo, arilsulfeniloxilo, alquilsulfenilo, arilsulfenilo, metilendioxilo, tio, alquiltio, alqueniltio, alquinitio, ariltio, aralquiltio, carbociciltio, heterociciltio, heteroariltio, aciltio, ciano, sulfato y fosfato. Sustitución opcional también puede considerarse que se refiere a cuando un grupo  $CH_2$  en una cadena o anillo está sustituido por un grupo carbonilo ( $C=O$ ).

Los sustituyentes opcionales preferidos incluyen alquilo, (por ejemplo alquilo  $C_{1-6}$  tal como metilo, etilo, propilo, butilo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo o ciclohexilo), hidroxialquilo (por ejemplo hidroximetilo, hidroxietilo, hidroxipropilo), alcoxialquilo (por ejemplo metoximetilo, metoxietilo, metoxipropilo, etoximetilo, etoxietilo, etoxipropilo, etc.), alcoxilo (por ejemplo alcoxilo  $C_{1-6}$  tal como metoxilo, etoxilo, propoxilo, butoxilo, ciclopropoxilo, ciclobutoxilo), halo, trifluorometilo, triclorometilo, tribromometilo, hidroxilo, fenilo (que por sí mismo puede estar sustituido adicionalmente por ejemplo, por alquilo  $C_{1-6}$ , halo, hidroxilo, hidroxialquilo  $C_{1-6}$ , alcoxilo  $C_{1-6}$ , haloalquilo  $C_{1-6}$ , ciano, nitro  $OC(O)$ -alquilo  $C_{1-6}$  y amino), bencilo (en el que el propio bencilo puede estar sustituido opcionalmente por ejemplo, por alquilo  $C_{1-6}$ , halo, hidroxilo, hidroxialquilo  $C_{1-6}$ , alcoxilo  $C_{1-6}$ , haloalquilo  $C_{1-6}$ , ciano, nitro  $OC(O)$ -alquilo  $C_{1-6}$  y amino), fenoxilo (en el que el propio fenoxilo puede estar sustituido opcionalmente por ejemplo, por alquilo  $C_{1-6}$ , halo, hidroxilo, hidroxialquilo  $C_{1-6}$ , alcoxilo  $C_{1-6}$ , haloalquilo  $C_{1-6}$ , ciano, nitro  $OC(O)$ -alquilo  $C_{1-6}$  y amino), benciloxilo (en el que el propio bencilo puede estar sustituido opcionalmente por ejemplo, por alquilo  $C_{1-6}$ , halo, hidroxilo, hidroxialquilo  $C_{1-6}$ , alcoxilo  $C_{1-6}$ , haloalquilo  $C_{1-6}$ , ciano, nitro  $OC(O)$ -alquilo  $C_{1-6}$  y amino), amino, alquilamino (por ejemplo alquilo  $C_{1-6}$ , tal como metilamino, etilamino, propilamino, etc.), dialquilamino (por ejemplo alquilo  $C_{1-6}$ , tal como dimetilamino, dietilamino, dipropilamino), acilamino (por ejemplo  $NHC(O)CH_3$ ), fenilamino (en el que el propio fenilo puede estar sustituido opcionalmente por ejemplo, por alquilo  $C_{1-6}$ , halo, hidroxilo, hidroxialquilo  $C_{1-6}$ , alcoxilo  $C_{1-6}$ , haloalquilo  $C_{1-6}$ , ciano, nitro  $OC(O)$  alquilo  $C_{1-6}$  y amino), nitro, formilo,  $-C(O)$ -alquilo (por ejemplo alquilo  $C_{1-6}$ , tal como acetilo),  $O-C(O)$ -alquilo (por ejemplo alquilo  $C_{1-6}$ , tal como acetiloxilo), benzoilo (en el que el propio grupo fenilo puede estar sustituido opcionalmente por ejemplo, por alquilo  $C_{1-6}$ , halo, hidroxilo, hidroxialquilo  $C_{1-6}$ , alcoxilo  $C_{1-6}$ , haloalquilo  $C_{1-6}$ , ciano, nitro  $OC(O)$ -alquilo  $C_{1-6}$  y amino), sustitución de  $CH_2$  con  $C=O$ ,  $CO_2H$ ,  $CO_2$ -alquilo (por ejemplo alquilo  $C_{1-6}$  tal como éster metílico, éster etílico, éster propílico, éster butílico),  $CO_2$ -fenilo (en el que el propio fenilo puede estar sustituido opcionalmente por ejemplo, por alquilo  $C_{1-6}$ , halo, hidroxilo, hidroxialquilo  $C_{1-6}$ , alcoxilo  $C_{1-6}$ , haloalquilo  $C_{1-6}$ , ciano, nitro  $OC(O)$ -alquilo  $C_{1-6}$  y amino),  $CONH_2$ ,  $CONH$ -fenilo (en el que el propio fenilo puede estar sustituido opcionalmente por ejemplo, por alquilo  $C_{1-6}$ , halo, hidroxilo, hidroxialquilo  $C_{1-6}$ , alcoxilo  $C_{1-6}$ , haloalquilo  $C_{1-6}$ , ciano, nitro  $OC(O)$ -alquilo  $C_{1-6}$  y amino),  $CONH$ -bencilo (en el que el propio bencilo puede estar sustituido opcionalmente por ejemplo, por alquilo  $C_{1-6}$ , halo, hidroxilo, hidroxialquilo  $C_{1-6}$ , alcoxilo  $C_{1-6}$ , haloalquilo  $C_{1-6}$ , ciano, nitro  $OC(O)$ -alquilo  $C_{1-6}$  y amino),  $CONH$ -alquilo (por ejemplo alquilo  $C_{1-6}$  tal como éster metílico, éster etílico, éster propílico, butilamida) y  $CONH$ -dialquilo (por ejemplo alquilo  $C_{1-6}$ ).

El A preferido de fórmula (I) incluye opcionalmente arilo, heteroarilo, carbociclilo y heterociclilo de 5-6 miembros opcionalmente sustituidos, por ejemplo fenilo, piridilo (unido en C2, C3 o C4), pirazinilo, pirimidinilo (unido en C2, C4 o C5), piridazinilo (unido en C3 o C4), s-triazinilo (unido en C2, C4 o C6), as-triazinilo (unido en C3, C5 o C6), v-triazinilo (unido en C4, C5 o C6), furanilo (unido en C2 o C3), pirrolilo (unido en C2 o C3), tienilo (unido en C2 o C3), ciclopentilo, ciclohexilo, ciclopentadienilo, ciclohexadienilo, piranilo, piperidinilo, piperazinilo, morfolinilo, pirrolidinilo y pirrolinilo. En realizaciones preferidas A es arilo de 5-6 miembros opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido, particularmente fenilo opcionalmente sustituido o piridilo opcionalmente sustituido.

Sustituyentes particularmente preferidos para A incluyen alquilo, haloalquilo (por ejemplo mono-, di- o trifluorometilo, mono-, di- o triclorometilo y mono-, di-, tri-, tetra-, penta- o hexafluoroetilo y mono-, di-, tri-, tetra, penta- o hexafluoroetilo), hidroxialquilo, aminoalquilo, tioalquilo, arilalquilo (por ejemplo bencilo y feniletilo), alcoxilo, haloalcoxilo, hidroxialcoxilo, aminoalcoxilo, alquiltio, haloalquiltio, hidroxialquiltio, aminoalquiltio, tioalquiltio, amino, C(O)-alquilo, OC(O)-alquilo, arilo (por ejemplo fenilo), carboxilo, éster carboxílico (por ejemplo CO<sub>2</sub>-alquilo, CO<sub>2</sub>-arilo), C(O)-arilo, OC(O)-arilo, nitro, ciano, heteroarilo (por ejemplo piridilo), heteroarilalquilo, heterociclilo, heterocicliclilalquilo, hidroxilo, tio, metilendioxilo, halo (por ejemplo Cl, Br) y amido. Cuando un sustituyente de este tipo contiene un resto de "alquilo" los alquilos preferidos son alquilo C<sub>1-10</sub>, particularmente alquilo C<sub>1-6</sub>, tal como metilo, etilo, *i*-propilo, *n*-propilo, *n*-butilo, sec-butilo o *t*-butilo.

En una realización X es O.

En una realización particularmente preferida, Y es hidrógeno.

R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> preferidos incluyen hidrógeno, alquilo C<sub>1-10</sub> y fenilo en los que alquilo C<sub>1-10</sub> y fenilo pueden estar opcionalmente sustituidos.

Sustituyentes particularmente preferidos para R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> (incluyendo R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> preferidos como anteriormente) incluyen alquilo, haloalquilo (por ejemplo mono-, di- o trifluorometilo, mono-, di- o triclorometilo y mono-, di-, tri-, tetra, penta- o hexafluoroetilo y mono-, di-, tri-, tetra, penta- o hexafluoroetilo), hidroxialquilo, aminoalquilo, tioalquilo, arilalquilo (por ejemplo bencilo y feniletilo) alcoxilo, haloalcoxilo, hidroxialcoxilo, aminoalcoxilo, alquiltio, haloalquiltio, hidroxialquiltio, aminoalquiltio, tioalquiltio, amino, C(O)-alquil OC(O)-alquilo, arilo (por ejemplo fenilo) carboxilo, éster carboxílico, C(O)-arilo, OC(O)-arilo, nitro, ciano, heteroarilo (por ejemplo piridilo) heteroarilalquilo, heterociclilo, heterocicliclilalquilo, hidroxilo, tio, metilendioxilo, halo (por ejemplo Cl, Br) y amido o juntos forman un anillo de 5-6 miembros por ejemplo (piperidilo, morfolinilo). Cuando un sustituyente de este tipo contiene un resto de "alquilo", los alquilos preferidos son alquilo C<sub>1-10</sub>, particularmente alquilo C<sub>1-6</sub>. R<sup>1</sup> particularmente preferido incluye NH<sub>2</sub>, NH-alquilo C<sub>1-6</sub>, N(alquil C<sub>1-6</sub>) (alquilo C<sub>1-6</sub>) y NHC(O)-alquilo C<sub>1-6</sub>, lo más preferiblemente NH<sub>2</sub>.

Para R<sup>2</sup>, R<sup>9</sup> y R<sup>10</sup> preferidos incluyen hidrógeno, C<sub>1-10</sub> alquilo, arilo (por ejemplo fenilo) heteroarilo (por ejemplo piridilo). Un R<sup>2</sup> particularmente preferido es ciano (CN). Otros R<sup>2</sup> preferidos son CO<sub>2</sub>-alquilo C<sub>1-10</sub>, (por ejemplo CO<sub>2</sub>Me, CO<sub>2</sub>Et, CO<sub>2</sub>Pr, CO<sub>2</sub>Bu, etc.) y amido, por ejemplo CONH<sub>2</sub>.

Ejemplos de R<sup>3</sup>-R<sup>6</sup> adecuados incluyen hidrógeno, cloro, bromo, alquilo C<sub>1-10</sub> (incluyendo cicloalquilo), alqueno C<sub>2-10</sub> (incluyendo cicloalqueno), alquino C<sub>2-10</sub> (incluyendo cicloalquino), alcoxilo C<sub>1-10</sub> (por ejemplo metoxilo, etoxilo, *n*- e *i*-propoxilo y *n*-, sec- y *t*-butoxilo), fenilo, halofenilo, hidroxifenilo, aminofenilo, alquilfenilo, hidroxilo, NH<sub>2</sub>, NH-alquilo C<sub>1-10</sub>, N-alquil C<sub>1-10</sub>-alquilo C<sub>1-10</sub> (en los que cada alquilo puede ser igual o diferente), nitro, haloalquilo, incluyendo trifluorometilo, triclorometilo, acilo (por ejemplo C(O)-alquilo C<sub>1-10</sub>), aciloxilo (por ejemplo OC(O)-alquilo C<sub>1-10</sub> o OC(O)-arilo tal como OC(O)-fenilo), éster carboxílico (por ejemplo CO<sub>2</sub>-alquilo C<sub>1-10</sub> y CO<sub>2</sub>-fenilo), CO<sub>2</sub>H, amido (por ejemplo CONH-alquilo C<sub>1-10</sub>), nitro, ciano, tio, alquiltio (por ejemplo S-alquilo C<sub>1-10</sub>) y 2 de R<sup>3</sup>-R<sup>6</sup> adyacentes forman metilendioxilo. Ninguno, uno, dos, tres o cuatro de R<sup>3</sup>-R<sup>6</sup> pueden ser hidrógeno. En una forma preferida, 2 ó 3 ó 4 de R<sup>3</sup>-R<sup>6</sup> son hidrógeno. En una realización particular, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> y R<sup>6</sup> son todos H.

Cuando cualesquiera de dos R<sup>3</sup>-R<sup>6</sup> adyacentes forman un anillo de 3-8 miembros junto con los átomos a los que están unidos, el anillo puede ser arilo o heteroarilo carbocíclico (saturado o parcialmente insaturado), heterocíclico. En algunas realizaciones preferidas, el anillo formado tiene 5-6 miembros. Formas particularmente preferidas de esta realización son aquellas en las que R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> forman un anillo. Los ejemplos de cualesquiera dos R<sup>3</sup>-R<sup>6</sup> adyacentes tomados juntos incluyen -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>- en la que n es 1-7, preferiblemente 1-4, particularmente 3 ó 4, -O-CH<sub>2</sub>-O-, O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O -CH=CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>=CH-, -CH<sub>2</sub>-NHCH<sub>2</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-NH-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-NH-, -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-, -NH-CH=CH-, -CH=CH-NH-, -O-CH=CH-, -CH=CH-O-, -S-CH=CH-, -CH=CH-S-, -N=CH-CH=N-OCH=CH-CH<sub>2</sub>-, y -CH<sub>2</sub>-CH=CH-O-. Cuando sea apropiado, un átomo de N dentro de tal anillo puede estar sustituido opcionalmente con alquilo (por ejemplo C<sub>1-10</sub>), arilo (por ejemplo fenilo), arilalquilo (por ejemplo bencilo o feniletilo), acilo (por ejemplo C(O)-alquilo C<sub>1-10</sub>) hidroxialquilo (por ejemplo C<sub>1-10</sub>), haloalquilo (por ejemplo C<sub>1-10</sub>), carbocicliclilalquilo, heteroarilalquilo, heterocicliclilalquilo, carbocicliclilo, heteroarilo o heterocicliclilo.

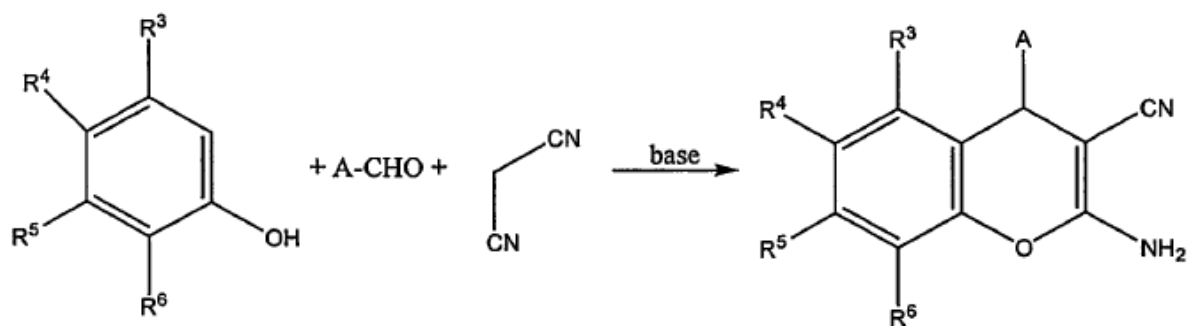
Otros compuestos que pueden tener utilidad como inhibidores de IRAP y/o agentes terapéuticos según la invención se describen adicionalmente y/o se facilitan a modo de ejemplo en el documento WO 02/092594.

Los compuestos para su uso en la invención pueden obtenerse a través de fuentes comerciales o pueden prepararse mediante métodos conocidos en la técnica de la química orgánica sintética, véase por ejemplo el documento WO 02/092594.

Por tanto, para la preparación de compuestos en los que X es O, puede hacerse reaccionar un fenol apropiadamente sustituido con un aldehído apropiado y malononitrilo en presencia de una base tal como piperidina o N,N-diisopropiletilamina según el esquema 1 generalizado a continuación:

65

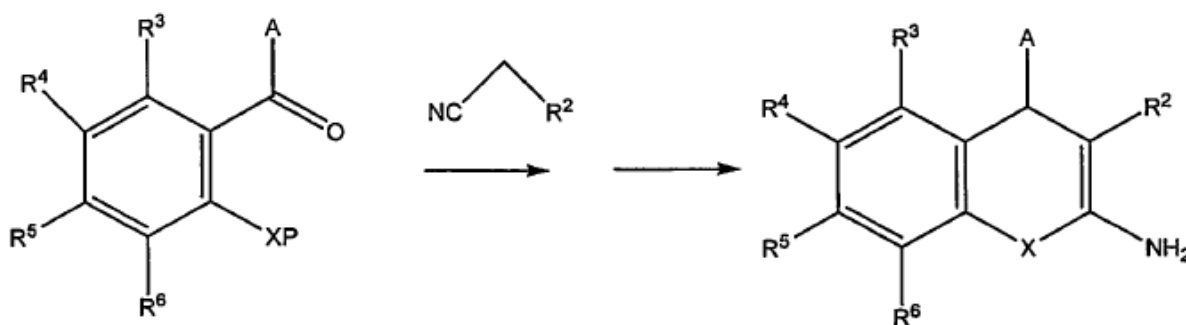




Esquema 1

5 Alternativamente, el aldehído puede hacerse reaccionar con malononitrilo en presencia de una base, y el arilideno intermedio resultante se hace reaccionar con el fenol apropiado.

10 En una metodología alternativa, pueden hacerse reaccionar el *orto*-aril-fenol apropiadamente sustituido, anilina o bencenotiol con malononitrilo (o cianoacetato, cianoacetamida o acilacetónitrilo apropiados) para acceder al 4H-cromeno 1,4-dihidroquinolino 4H-tiocromeno correspondientes como en el esquema 2 a continuación (en el que P es H o un grupo protector según sea apropiado).



Esquema 2

15 También pueden prepararse compuestos de dihidroquinolina adecuados mediante la reducción de una quinolina apropiadamente sustituida o protegida.

20 Pueden prepararse compuestos de fórmula (I), en los que R<sup>1</sup> es distinto de NH<sub>2</sub>, convirtiendo la amina en el grupo deseado usando transformaciones químicas conocidas en la técnica, por ejemplo tal como se describe en Comprehensive Organic Transformation, A Guide to Functional Group Preparations, R. C. Larock, VCH, 1989 y Advanced Organic Chemistry, Reactions, Mechanisms and Structure, J. March, 3<sup>a</sup> edición, 1985 o 4<sup>a</sup> edición, 1992 (cuyos contenidos completos se incorporan en el presente documento como referencia). Por tanto, el tratamiento de la amina (NH<sub>2</sub>) con un agente acilante adecuado tal como ácido carboxílico, anhídrido o cloruro en presencia de una base o catalizador apropiado proporciona acceso a los compuestos de fórmula (I) en los que R<sup>1</sup> es NHCOR<sup>8</sup>.

25 Pueden prepararse alquil y aril-aminas mediante el tratamiento de -NH<sub>2</sub> con un haluro de alquilo o arilo apropiado. Pueden formarse iminas mediante el tratamiento del grupo amino (NH<sub>2</sub>) con un compuesto que contiene carbonilo adecuado tal como un aldehído o cetona según métodos conocidos en la técnica.

30 De manera similar, pueden prepararse compuestos en los que R<sup>2</sup> es distinto de CN, es decir, ácido carboxílico, ésteres, amidas, anhídridos y cetonas mediante transformaciones conocidas en la técnica, véase en particular Larock, citado anteriormente, capítulo 9, págs.963-995. Alternativamente, la reacción del fenol, aldehído apropiado y el cianoacetato, cianoacetamida o acilacetónitrilo apropiados permite el acceso a compuestos en los que R<sup>2</sup> es CO<sub>2</sub>R<sup>9</sup>, C(O)NR<sup>9</sup>R<sup>10</sup>, C(O)R<sup>9</sup> y C(O)O(O)R<sup>9</sup>. Pueden prepararse compuestos en los que Y es alquilo tratando en benzopirano con DDQ y al producto intermedio posterior con CuBr·DMS y un compuesto de alquil-litio.

35 Se reconocerá que durante los procedimientos para la preparación de los compuestos contemplados por la presente invención, puede ser necesario o deseable proteger determinados grupos funcionales que pueden ser reactivos o sensibles a las condiciones de reacción o transformación llevada a cabo (por ejemplo OH, NH<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>H, SH, C=O). Se conocen en la técnica grupos protectores adecuados para tales grupos funcionales y pueden usarse según la práctica convencional. Tales grupos protectores y métodos para su instalación y posterior eliminación en una fase apropiada se describen en Protective Groups in Organic Chemistry, 3<sup>a</sup> edición, T. W. Greene y P. G. Wutz, John Wiley and Sons, 1999, cuyo contenido completo se incorpora en el presente documento como referencia.

40

El nivel de actividad inhibidora de IRAP de los compuestos dados a conocer en el presente documento puede determinarse inicialmente en un ensayo *in vitro*, que mide la capacidad del compuesto de prueba para inhibir la actividad aminopeptidasa de IRAP, evaluando la tasa o el grado de escisión o degradación de un sustrato de aminopeptidasa de IRAP tal como Leu- $\beta$ -naftilamida o Leu-4-metilcumaril-7-amida. Entonces puede realizarse una comparación con un ensayo control, mediante el cual se determina la tasa o el grado de escisión en ausencia del compuesto. Puede considerarse que una reducción comparativa en la tasa o el grado de escisión del sustrato en presencia del compuesto es una medida del efecto inhibidor del compuesto.

Los trastornos y estados en los que está implicada o participa una actividad aminopeptidasa de IRAP no deseada o excesiva pueden incluir trastornos de memoria o aprendizaje asociados con la enfermedad de Alzheimer y otras formas de demencia y pérdida de memoria (ya estén relacionados con la edad, inducidos a través de traumatismo cefálico, daño hipóxico, cirugía, infartos cerebrales o medios químicos tales como neurotoxinas). También debe apreciarse que los compuestos de la presente invención también pueden ser útiles en la potenciación o mejora de la memoria o el aprendizaje en individuos normales, es decir, aquellos que no sufren patologías cognitivas tales como las descritas anteriormente.

La potenciación de la memoria o el aprendizaje (por ejemplo, el aprendizaje espacial) se refiere a una mejora en la capacidad de un sujeto para memorizar o aprender información y puede determinarse mediante pruebas bien establecidas. Se considera que una mejora positiva en la "puntuación" o resultado obtenido en una prueba de este tipo, en comparación con una puntuación/resultado obtenido antes de la administración de los compuestos es una potenciación en la memoria o el aprendizaje según sea apropiado.

Existen varias pruebas bien conocidas y establecidas para animales de laboratorio y pueden someterse a prueba ratas y ratones usando las mismas, que incluyen el paradigma del laberinto de Barnes (Greferath *et al.*, 2000), la prueba del laberinto circular de Barnes (Lee *et al.*, 2004) o modificaciones de los mismos, la prueba del laberinto en Y o la prueba de evitación pasiva. Éstos se explican brevemente a continuación.

#### 1. Laberinto de Barnes

Se implantan cánulas en ratas Sprague-Dawley macho normales en los ventrículos laterales y se les permite que se recuperen durante al menos tres días. Para la prueba del laberinto circular de Barnes, el laberinto comprende una plataforma circular blanca giratoria elevada de diámetro 1,2 m, con 18 orificios separados de manera equidistante en la periferia (diámetro 0,09 m). Un túnel de escape que comprende una caja negra de diámetro interno 0,16 m de ancho, 0,29 m de longitud y 0,09 m de profundidad está colocado inmediatamente por debajo de un orificio periférico. Se colocan pistas visuales en diversas posiciones alrededor del laberinto.

Para cada ensayo, el animal se coloca con la plataforma del laberinto bajo la cámara de partida, que es una cámara cilíndrica ubicada en el centro de la plataforma, y se le deja durante 20 s. Tras el periodo de desorientación de veinte segundos se eleva la cámara. Entonces se deja a los animales durante 240 s en los que encuentran y utilizan el túnel de escape. Cada rata recibe tres ensayos consecutivos por día durante diez días. En el primer día del periodo de pruebas, cada rata se coloca directamente en el túnel de escape durante un periodo de familiarización de 2 min. Entonces se vuelve a colocar a la rata en su jaula durante aproximadamente un minuto, tras lo cual se inyecta al animal o bien el compuesto de prueba o bien líquido cefalorraquídeo artificial y luego se vuelve a colocar en su jaula durante otros 5 min. Se llevan a cabo entonces tres ensayos consecutivos, con un periodo de recuperación de 2 min. entre cada ensayo en su jaula. En los días posteriores (días 2 a 8), se elimina del protocolo el periodo de familiarización antes de los tres ensayos.

Puede administrarse a los animales inhibidores de IRAP por vía intracerebroventricular (i.c.v.) a través de una cánula permanente crónica. Estos compuestos se administran 5 min. antes del primer ensayo en el primer día de pruebas.

#### 2. Laberinto en Y

La prueba del laberinto en Y es otro paradigma de comportamiento que mide el rendimiento de memoria espacial y se aprovecha del instinto natural de los roedores para explorar entornos novedosos.

El laberinto en Y consiste en tres callejones idénticos (30 cm de longitud, 10 cm de ancho y 17 cm de altura) estando los tres brazos separados en ángulos de 120°. Para minimizar la tensión, el laberinto se ubica en una sala con sonido atenuado bajo una iluminación débil, con el suelo del laberinto cubierto con serrín. Tras cada ensayo, se mezcla el serrín para eliminar pistas olfativas. Para la orientación espacial, se colocan pistas visuales en las paredes de la sala de pruebas.

La prueba consiste en dos ensayos, separados por un intervalo de tiempo conocido como el intervalo entre ensayos. Durante el ensayo de adquisición, se coloca a los animales en el extremo distal de un brazo, con sus cabezas orientadas alejándose del centro del laberinto. Se permite que los animales visiten sólo dos brazos accesibles del laberinto durante 3 minutos. Al final del ensayo de adquisición, se vuelve a colocar a los animales en sus jaulas para

el intervalo entre ensayos. Durante el ensayo de retención, los animales tienen acceso a los tres brazos durante 5 minutos. Se documenta el primer brazo en el que se entra (novedoso frente a familiar), el número de entradas y la duración de tiempo invertido en el brazo novedoso.

5 Un intervalo entre ensayos más corto (2 horas) que separa la fase de adquisición de la fase de retención permite que se detecte el efecto de amnesia. Los animales control todavía recuerdan la ubicación del brazo novedoso y preferiblemente invertirán más tiempo (el 45-50% de tiempo) en ese brazo. Un intervalo entre ensayos más largo (por ejemplo 6 horas) da como resultado que los animales no recuerden la ubicación del brazo novedoso y por tanto que inviertan una cantidad igual de tiempo en los tres brazos.

10 Se implanta quirúrgicamente a los animales una cánula de infusión en el tercer ventrículo dorsal. Cada animal se somete a prueba dos veces, y puede adoptarse el intervalo entre ensayos mayor de 6 h para someter a prueba las propiedades de potenciación de memoria de los compuestos de prueba. Se administran a los animales los inhibidores de IRAP por vía intracerebroventricular a través de una cánula permanente crónica. Estos compuestos se administran 5 min. antes del primer ensayo de adquisición. Entonces se devuelve a los animales a sus jaulas durante al menos 6 horas y luego se les somete a prueba de nuevo. El tiempo invertido en el brazo novedoso será una medida de las propiedades de potenciación de memoria del compuesto de prueba.

### 3. Evitación pasiva

20 Pueden usarse ensayos de evitación pasiva para someter a prueba el efecto de los inhibidores de IRAP sobre el comportamiento de acondicionamiento aversivo en animales amnésicos. La tarea de evitación pasiva implica comportamiento de acondicionamiento aversivo para medir la facilitación de retención y recuperación de memoria. Las pruebas pueden llevarse a cabo en un aparato que consiste en un compartimento con luz y uno oscuro separados por una puerta de guillotina. El suelo del compartimento oscuro contiene una rejilla electrificada. La tarea de evitación pasiva se divide en dos ensayos separados por un intervalo entre ensayos de 24-48 h. Durante el primer ensayo, conocido como ensayo de adquisición, se coloca al animal en el compartimento iluminado y se cierra la puerta de guillotina una vez que el animal entra en el compartimento oscuro. Dentro de la cámara oscura, el animal recibe una descarga eléctrica de bajo nivel (0,5 mA durante 2 s) a través del suelo de rejilla. Entonces se vuelve a colocar el animal en su jaula durante 24 h o 48 h antes de someterse a prueba de nuevo. Los periodos de latencia para volver a entrar en el compartimento oscuro se consideran como una medida de la capacidad de los animales para recordar los estímulos aversivos.

35 Entonces se implanta quirúrgicamente a los animales una cánula de infusión en el tercer ventrículo dorsal. Cada animal se somete a prueba dos veces y puede adoptarse el intervalo entre ensayos de 24 h y 48 h para someter a prueba las propiedades de potenciación de memoria de los compuestos de prueba. Se administran a los animales los inhibidores novedosos de IRAP por vía intracerebroventricular a través de una cánula permanente crónica. Estos compuestos se administran 5 min. antes del ensayo de adquisición. Entonces se devuelve a los animales a sus jaulas durante 24 h o 48 h y luego se someten a prueba de nuevo. La latencia en la entrada en la cámara oscura será una medida de la propiedad de potenciación de memoria en el compuesto de prueba.

### 4. Modelo de deficiencia de memoria inducida por la edad

45 El deterioro del aprendizaje espacial en ratas ancianas está bien documentada y esta deficiencia puede detectarse en el paradigma del laberinto de Barnes (Greferath *et al.*, 2000). El efecto de los inhibidores de IRAP sobre deficiencias de aprendizaje inducidas por la edad puede someterse a prueba en el paradigma del laberinto de Barnes.

50 Para el tratamiento con fármacos, se implantó en los animales minibombas Alzet (sujetas por vía subcutánea en la región del cuello) que suministran los compuestos de prueba de manera crónica en los ventrículos cerebrales.

55 La memoria y el aprendizaje pueden someterse a prueba en seres humanos mediante una cualquiera de varias pruebas neuropsicológicas bien establecidas tales como la prueba de aprendizaje verbal de California, la escala de memoria de Wechsler-III, la prueba de aprendizaje verbal de Hopkins - Revised™, la prueba de aprendizaje auditivo-verbal de Rey y la prueba del diseño de figura compleja de Rey-Osterrieth.

60 Otros trastornos y estados incluyen trabajo de parto retrasado y lactancia retrasada y/o reducida y trastornos de homeostasis de glucosa, incluyendo hiperglicemia y diabetes. La capacidad para regular la captación u homeostasis de glucosa puede tener uso en el tratamiento de una amplia variedad de estados. La resistencia a insulina que conduce a mala regulación de la captación u homeostasis de glucosa puede dar lugar a diabetes, hipertensión y SIDA y los compuestos contemplados en el presente documento pueden ser útiles en su tratamiento, en particular, las secuelas clínicas asociadas con diabetes tales como, retinopatía diabética, obesidad, enfermedad renal, problemas circulatorios y enfermedad metabólica y cardíaca.

65 Puede medirse la captación de glucosa en adipositos 3T3 que responden a insulina y por tanto el método es bien conocido. Brevemente, se incuban las células con los compuestos en ausencia y presencia de dosis crecientes de

insulina (0-100 nmol). Los medios de incubación también contienen 2-desoxi-D-[2,6-3H]glucosa 50  $\mu$ M y la incubación se realiza durante 20-60 min. a 37°C. al final del periodo de incubación se lavan y se lisan las células y se miden los niveles de 2-desoxi-D-[2,6-3H]glucosa captados por las células utilizando un analizador de centelleo líquido.

5 También puede medirse la actividad anti-diabética en modelos animales.

*(i) Diabetes tipo 2*

10 Pueden usarse modelos animales de diabetes tipo 2, incluyendo las ratas obesas diabéticas Zucker (ZDF) y ratones ob/ob para someter a prueba los compuestos para determinar la capacidad para facilitar la homeostasis de glucosa. Los animales se alimentan o se mantienen en ayunas y se les administra una inyección intraperitoneal (i.p.) del compuesto. Se recogen muestras de sangre mediante extracción de sangre de la cola y se miden los niveles de glucosa en diversos intervalos de tiempo.

15 Puede investigarse el efecto del tratamiento crónico de inhibidores de IRAP sobre la homeostasis de glucosa en modelos animales de diabetes tipo 2 midiendo el nivel de proteínas glicadas específicas incluyendo hemoglobina y fructosamina en suero. El suministro a largo plazo de inhibidores de IRAP se realiza mediante minibomba osmótica (dosis de 0-1 mol) y se recogen muestras de sangre mediante extracción de sangre de la cola y se miden los niveles de glucosa. En el momento del sacrificio, se determinan los niveles de hemoglobina y fructosamina glicosiladas usando procedimientos convencionales.

*(ii) Diabetes tipo 1*

25 Los animales tratados con estreptozotocina (STZ) son un modelo de diabetes tipo 1. Se recogen muestras de sangre mediante extracción de sangre de la cola y se miden los niveles de glucosa en diversos intervalos de tiempo.

30 Se investiga el efecto del tratamiento crónico de inhibidores de IRAP sobre la homeostasis de glucosa en ratas STZ midiendo el nivel de proteínas glicadas específicas incluyendo hemoglobina y fructosamina en suero. El suministro a largo plazo de inhibidores de IRAP se realiza mediante minibomba osmótica y se recogen muestras de sangre mediante extracción de sangre de la cola entre 0-16 semanas y se miden los niveles de glucosa. En el momento del sacrificio se determinan los niveles de hemoglobina y fructosamina usando procedimientos convencionales.

35 Otros trastornos pueden implicar otros trastornos neurodegenerativos, tales como enfermedad de la neurona motriz, atrofia muscular espinal progresiva, trastornos del SNC, particularmente los que afectan a las neuronas motrices y sensoriales o resultan de accidente cerebrovascular o traumatismo, trastornos del sistema cardiovascular, incluyendo hipertrofia cardíaca, enfermedad cardíaca congestiva, hipertensión y aterosclerosis, trastornos del desarrollo y/o el crecimiento, trastornos del sistema reproductor o asociados con el embarazo, incluyendo trabajo de parto retrasado y/o lactancia reducida, y algunos cánceres.

40 Los sujetos que van a tratarse incluyen sujetos mamíferos, seres humanos, no primates, ganado (incluyendo vacas, caballos, ovejas, cerdos y cabras), animales de compañía (incluyendo perros, gatos, conejos, cobayas) y animales salvajes en cautividad. También se contemplan animales de laboratorio tales como conejos, ratones, ratas, cobayas y hámsteres, ya que pueden proporcionar un sistema de prueba conveniente. También pueden contemplarse especies no mamíferas tales como aves, anfibios y peces en determinadas realizaciones de la invención.

45 Los compuestos de la invención se administran al sujeto en una cantidad inhibidora de IRAP o eficaz para el tratamiento. Una cantidad inhibidora de IRAP es una cantidad que interaccionará al menos parcialmente con IRAP o que alterará la actividad de IRAP. La actividad de IRAP tal como se usa en el presente documento incluye la interacción funcional de IRAP con ligandos endógenos, particularmente cuando la interacción funcional promueve directa o indirectamente la pérdida de memoria y/o el aprendizaje, altera la homeostasis de glucosa o retrasa el trabajo de parto o la lactancia en un sujeto. Una cantidad eficaz para el tratamiento pretende incluir una cantidad que, cuando se administra según el régimen de dosificación deseado, logra al menos parcialmente el efecto terapéutico o profiláctico deseado de uno o más de: alivio de los síntomas de, prevención o retraso de la aparición de, inhibición de la progresión de, o detención o inversión, parcialmente o en conjunto, de la aparición o la progresión del trastorno o estado particular que está tratándose.

50 Las cantidades de dosificación y los regímenes de dosificación adecuados pueden determinarse por el médico que atiende y pueden depender del estado particular que está tratándose, de la gravedad del estado así como de la edad, la salud y el peso generales del sujeto.

55 El principio activo puede administrarse en una única dosis o en una serie de dosis. Aunque es posible que el principio activo se administre solo, es preferible que se presente como una composición, preferiblemente como una composición farmacéutica, con uno o más adyuvantes farmacéuticamente aceptables. Por tanto, la presente invención también se refiere al uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para inhibir la actividad de IRAP en un sujeto.

Los expertos en la técnica conocen bien la formulación de tales composiciones, véase por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª edición, Mack Publishing, 1990. La composición puede contener cualquier portador, diluyente o excipiente adecuado. Estos incluyen todos los disolventes, medios de dispersión, cargas, portadores sólidos, recubrimientos, agentes antifúngicos y antibacterianos, agentes de penetración dérmica, tensioactivos, agentes isotónicos y de absorción y similares convencionales. Se entenderá que las composiciones de la invención también pueden incluir otros agentes complementarios fisiológicamente activos.

El portador debe ser farmacéuticamente aceptable en el sentido de ser compatible con los otros componentes de la composición y no nocivo para el sujeto. Las composiciones incluyen las adecuadas para administración oral, rectal, nasal, tópica (incluyendo dérmica, bucal y sublingual), vaginal o parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa e intradérmica). Las composiciones pueden presentarse convenientemente en una forma farmacéutica unitaria y pueden prepararse mediante cualquier método bien conocido en la técnica de farmacia. Tales métodos incluyen la etapa de asociar el principio activo con el portador que constituye uno o más componentes adicionales. En general, las composiciones se preparan asociando de manera uniforme e estrecha el principio activo con portadores líquidos o portadores sólidos finamente divididos o ambos, y luego si es necesario dar forma al producto.

Las composiciones de la presente invención adecuadas para administración oral pueden presentarse como unidades diferenciadas tales como cápsulas, sobres o comprimidos que contienen cada uno una cantidad predeterminada del principio activo; como un polvo o gránulos; como una disolución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso; o como una emulsión líquida de aceite en agua o una emulsión líquida de agua en aceite.

Un comprimido puede obtenerse mediante compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más componentes adicionales. Los comprimidos sometidos a compresión pueden prepararse mediante la compresión en una máquina adecuada del principio activo en una forma que fluye libremente tal como un polvo o gránulos, mezclado opcionalmente con un agente aglutinante (por ejemplo un diluyente inerte), conservante, disgregante (por ejemplo glicolato sódico de almidón, polivinilpirrolidona reticulada, carboximetilcelulosa de sodio reticulada), tensioactivo o dispersante. Los comprimidos moldeados pueden obtenerse moldeando en una máquina adecuada una mezcla del compuesto en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte. Los comprimidos pueden recubrirse o ranurarse opcionalmente y pueden formularse para proporcionar una liberación lenta o controlada del principio activo en el mismo usando, por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa en diversas proporciones para proporcionar el perfil de liberación deseado. Los comprimidos pueden proporcionarse opcionalmente con un recubrimiento entérico, para proporcionar la liberación en partes del intestino distintas del estómago.

Las composiciones adecuadas para administración tópica en la boca incluyen pastillas para chupar que comprenden el principio activo en una base aromatizada, habitualmente sacarosa y goma arábiga o goma tragacanto; pastillas que comprenden el principio activo en una base inerte tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y goma arábiga; y enjuagues bucales que comprenden el principio activo en un portador líquido adecuado.

Las composiciones adecuadas para administración tópica a la piel pueden comprender los compuestos disueltos o suspendidos en cualquier portador o base adecuado y pueden estar en la forma de lociones, gel, cremas, pastas, ungüentos y similares. Los portadores adecuados incluyen aceite mineral, propilenglicol, polioxietileno, polioxipropileno, cera emulsionante, monoestearato de sorbitano, polisorbato 60, cera de ésteres cetílicos, alcohol cetearílico, 2-octildodecanol, alcohol bencílico y agua. También pueden usarse parches transdérmicos para administrar los compuestos de la invención.

Las composiciones para administración rectal pueden presentarse como un supositorio con una base adecuada que comprende, por ejemplo, manteca de cacao, glicerina, gelatina o polietilenglicol.

Las composiciones adecuadas para administración vaginal pueden presentarse como óvulos vaginales, tampones, cremas, geles, pastas, espumas, formulaciones en aerosol que contienen además del principio activo portadores tal como se conoce en la técnica que son apropiados.

Las composiciones adecuadas para administración parenteral (por ejemplo subcutánea, intramuscular, intravenosa o intracerebroventricular) pueden incluir disoluciones para inyección estériles, isotónicas, acuosas y no acuosas, que pueden contener antioxidantes, tampones, bactericidas y solutos que hacen que la composición sea isotónica con la sangre en el receptor deseado; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Las composiciones pueden presentarse en recipientes sellados de dosis unitaria o múltiples dosis, por ejemplo, ampollas y viales, y pueden almacenarse en un estado secado por congelación (liofilizado) que requiere sólo la adición del portador líquido estéril, por ejemplo agua para inyecciones, inmediatamente antes de su uso. Pueden prepararse disoluciones y suspensiones para inyección extemporáneas a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos del tipo descrito anteriormente.

Las composiciones de dosificación unitaria preferidas son aquellas que contienen una unidad o dosis diaria, subdosis diaria, tal como se describió anteriormente en el presente documento, o una fracción apropiada de la misma, del principio activo.

Debe entenderse que además de los principios activos mencionados particularmente antes, las composiciones de esta invención pueden incluir otros agentes convencionales en la técnica teniendo en cuenta el tipo de composición en cuestión, por ejemplo, las adecuadas para administración oral pueden incluir agentes adicionales tales como

5 aglutinantes, edulcorantes, espesantes, agentes aromatizantes, agentes disgregantes, agentes de recubrimiento, conservantes, lubricantes y/o agentes de retardo en el tiempo. Los edulcorantes adecuados incluyen sacarosa, lactosa, glucosa, aspartamo o sacarina. Los agentes disgregantes adecuados incluyen almidón de maíz, metilcelulosa, polivinilpirrolidona, goma xantana, bentonita, ácido algínico o agar. Los agentes aromatizantes adecuados incluyen aceite de menta, aceite de gaulteria, aromas de cereza, naranja o frambuesa. Los agentes de

10 recubrimiento adecuados incluyen polímeros o copolímeros de ácido acrílico y/o ácido metacrílico y/o sus ésteres, ceras, alcoholes grasos, zeína, goma laca o gluten. Los conservantes adecuados incluyen benzoato de sodio, vitamina E, alfa-tocoferol, ácido ascórbico, metilparabeno, propilparabeno o bisulfito de sodio. Los lubricantes adecuados incluyen estearato de magnesio, ácido esteárico, oleato de sodio, cloruro de sodio o talco. Los agentes de retardo en el tiempo adecuados incluyen monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo.

15 La presente invención también se refiere a profármacos de los compuestos descritos en el presente documento. Cualquier compuesto que sea un profármaco de un compuesto descrito en el presente documento está dentro del alcance y el espíritu de la invención. El término "profármaco" se usa en su sentido más amplio y engloba a aquellos derivados que se convierten *in vivo*, o bien enzimáticamente o bien hidrolíticamente, en los compuestos de la

20 invención. Tales derivados se les ocurrirían fácilmente a los expertos en la técnica, e incluyen, por ejemplo, compuestos en los que un grupo hidroxilo o tiol libre se convierte en un éster, tal como un acetato, en los que un grupo amino libre se convierte en una amida. Los procedimientos para acilar los compuestos de la invención, por ejemplo para preparar profármacos de éster y amida, se conocen bien en la técnica y pueden incluir el tratamiento del compuesto con un ácido carboxílico, anhídrido o cloruro apropiado en presencia de un catalizador o base

25 adecuados. Otros procedimientos convencionales para la selección y preparación de profármacos adecuados se conocen en la técnica y se describen, por ejemplo, en el documento WO 00/23419, Design of Prodrugs, Hans Bundgaard, Ed., Elsevier Science Publishers, 1985, y The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action, capítulo 8, págs. 352-401, Academic press, Inc., 1992, cuyos contenidos se incorporan en el presente documento como referencia.

30 Las sales farmacéuticamente aceptables adecuadas de los compuestos de fórmula (I) incluyen, pero no se limitan a sales de ácidos inorgánicos farmacéuticamente aceptables tales como ácidos clorhídrico, sulfúrico, fosfórico, nítrico, carbónico, bórico, sulfámico y bromhídrico, o sales de ácidos orgánicos farmacéuticamente aceptables tales como ácidos acético, propiónico, butírico, tartárico, maleico, hidroximaleico, fumárico, maleico, cítrico, láctico, mucínico,

35 glucónico, benzoico, succínico, oxálico, fenilacético, metanosulfónico, toluenosulfónico, bencenosulfónico, salicílico, sulfanílico, aspártico, glutámico, edético, esteárico, palmítico, oleico, láurico, pantoténico, tánico, ascórbico y valérico. Las sales de bases incluyen, pero no se limitan a, las formadas con cationes farmacéuticamente aceptables, tales como sodio, potasio, litio, calcio, magnesio, amonio y alquilamonio. Los grupos que contienen nitrógeno básico pueden cuaternizarse con agentes tales como haluro de alquilo inferior, tales como cloruros, bromuros y yoduros de metilo, etilo, propilo y butilo; sulfatos de dialquilo tales como sulfato de dimetilo y dietilo; y

40 otros.

Los compuestos de la invención pueden estar en forma cristalina o bien como los compuestos libres o bien como solvatos (por ejemplo, de agua, es decir, hidratos, o de disolventes orgánicos comunes tales como alcoholes) y se pretende que ambas formas estén dentro del alcance de la presente invención. Los métodos de solvatación se conocen generalmente dentro de la técnica.

45

También se contempla que las formas tautoméricas de los compuestos descritos en el presente documento, tales como tautómeros ceto-enólicos, forman parte de la invención cuando sea apropiado.

50

También se reconocerá que determinados compuestos para su uso en la invención pueden tener centros asimétricos y por tanto pueden existir en más de una forma estereoisomérica. Cuando los compuestos tienen al menos 2 centros quirales, pueden existir como diastereoisómeros. La invención también se refiere por tanto a compuestos en forma isomérica sustancialmente pura en uno o más centros asimétricos, por ejemplo, enantiómeros

55 que tienen más de aproximadamente el 90% de ee, tal como aproximadamente el 95% o el 97% de ee o más del 99% de ee, así como mezclas, incluyendo mezclas racémicas, de los mismos. Tales isómeros pueden prepararse mediante síntesis asimétrica, por ejemplo usando productos intermedios quirales, o pueden resolverse mezclas mediante métodos convencionales, por ejemplo, cromatografía, o uso de un agente de resolución.

Los compuestos de la invención también pueden usarse para tratar sujetos no humanos y por tanto pueden presentarse como composiciones veterinarias. Éstas pueden prepararse mediante cualquier medio adecuado conocido en la técnica. Los ejemplos de tales composiciones incluyen las adaptadas para:

60

(a) administración oral, aplicación externa (por ejemplo aplicaciones de líquido incluyendo disoluciones o suspensiones acuosas y no acuosas), comprimidos, bolos, polvos, gránulos, microgránulos para mezcla con piensos, pastas para aplicación a la lengua;

65

(b) administración parenteral, por ejemplo inyección subcutánea, intramuscular, intravenosa o intracerebroventricular en una disolución o suspensión estéril;

5 (c) aplicación tópica por ejemplo cremas, ungüentos, geles, lociones etc.

Los expertos en la técnica apreciarán que la invención descrita en el presente documento es susceptible de experimentar variaciones y modificaciones distintas a las descritas específicamente. Debe entenderse que la invención incluye todas estas variaciones y modificaciones que caen dentro del espíritu y el alcance. La invención también incluye todas las etapas, características, composiciones y compuestos a los que se refiere o indicados en esta memoria descriptiva, de manera individual o colectiva, y cualquiera y todas las combinaciones de cualesquiera dos o más de dichas etapas o características.

## Ejemplos

### Ejemplo 1: Ensayo *in vitro* para examinar inhibidores de IRAP

Se usó un ensayo enzimático *in vitro* para examinar compuestos que inhiben la actividad de IRAP. El ensayo usó un sustrato de aminopeptidasa (leucina-4-metilcumaril-7-amida), una fuente de material que contiene IRAP, y un inhibidor candidato.

#### 1. Fuente de material que contiene IRAP

Posibles fuentes de material que contiene IRAP incluyen líneas celulares o tejidos biológicos que expresan cantidades apreciables de IRAP recombinante. Las células procariontas o eucariotas que expresan un gen transfectado que codifica para IRAP representan una fuente recombinante.

#### 2. Compuestos de prueba

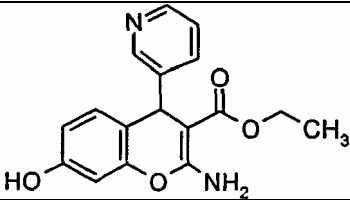
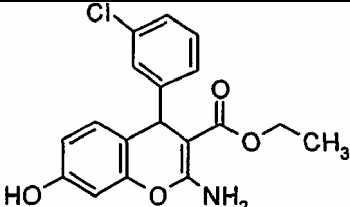
Se obtuvieron compuestos de prueba de Specs, Delftechpark 30, 2628 XH Delft, Países Bajos. El compuesto 1 también se preparó según la metodología tal como se describe en el presente documento a partir de resorcinol, piridina-3-carboxaldehído y cianoacetato de etilo.

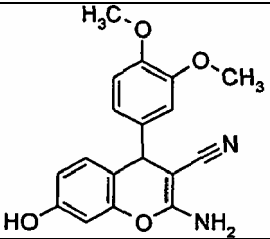
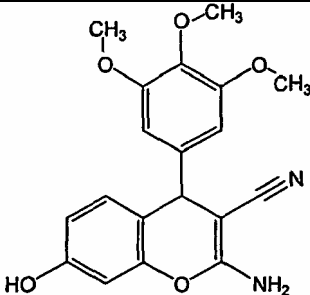
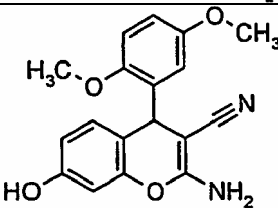
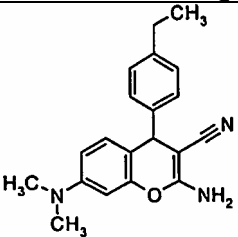
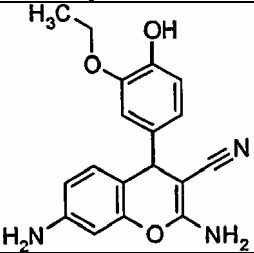
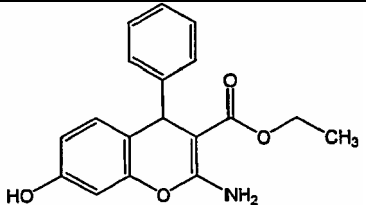
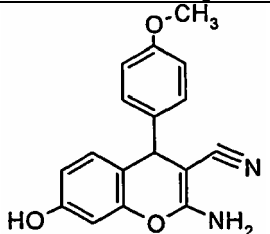
#### 3. Monitorización de la actividad enzimática de IRAP en presencia de una sustancia de prueba

Se incubó material que contiene IRAP con un sustrato de aminopeptidasa sintético, tal como Leu-MCA (leucina-4-metilcumaril-7-amida), y una sustancia de prueba. Se consideró la inhibición de la tasa de degradación del sustrato sintético como una medida del efecto inhibitorio de la sustancia de prueba.

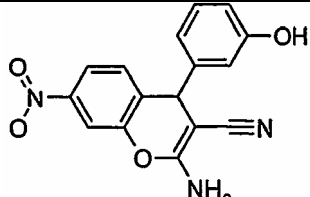
Como fuente de IRAP recombinante, se utilizaron células HEK293 transfectadas con un vector de expresión eucariota pcDNA-3 que contiene el ADNc que codifica para la IRAP humana de longitud completa. El sistema de ensayo implicó la medición de la tasa de hidrólisis de Leu-MCA mediante IRAP. La tasa de hidrólisis de Leu-MCA, cuantificada por la liberación de un producto fluorogénico, se monitorizó registrando un aumento en la fluorescencia (excitación a 370 nm, emisión a 460 nm) usando un fluorímetro diseñado para este fin. Se añadieron los compuestos de prueba candidatos al sistema de ensayo y se consideró que sus efectos sobre la hidrólisis de Leu-MCA eran indicadores directos de su capacidad para inhibir la actividad de IRAP. Los resultados se representan en la tabla 1.

**Tabla 1**

		<b>CI<sub>50</sub> (M)</b>
1		4,0 x 10 <sup>-6</sup>
2		4,2 x 10 <sup>-5</sup>

3		$4,5 \times 10^{-5}$
4		$1 \times 10^{-4}$
5		$1 \times 10^{-4}$
6		$1 \times 10^{-4}$
7		$1 \times 10^{-4}$
8		$1 \times 10^{-4}$
9		$8 \times 10^{-5}$



10		$8 \times 10^{-6}$
----	---	--------------------

**Ejemplo 2: Ensayo in vivo para examinar compuestos con propiedades anti-amnésicas en modelos animales de amnesia**

5 **1 Modelo de deficiencia de memoria inducida por escopolamina**

Se ha usado escopolamina, un antagonista de los receptores muscarínicos, para inducir amnesia tanto en ratas como en ratones y se ha demostrado en varios paradigmas de comportamiento de memoria y aprendizaje. Se ha demostrado que este compuesto afecta a la memoria a corto plazo. Se sometió a prueba el efecto del compuesto 1

10 inhibidor de IRAP sobre la amnesia inducida por escopolamina en el paradigma de evitación inhibitoria.

La caja de evitación inhibitoria está compuesta de dos cámaras, un compartimento con luz más pequeño y un compartimento oscurecido más grande y la prueba comprende dos ensayos. El primer ensayo de entrenamiento implica colocar la rata en el compartimento con luz orientada hacia la pared y en cuanto corre hacia el extremo del

15 compartimento oscuro y gira, se administra una descarga eléctrica de 0,6 mA durante 2 s y se deja al animal en el compartimento oscuro durante un total de 15 s antes de devolverlo a su jaula. Tras un intervalo de 24 h, se somete de nuevo a prueba al animal y la latencia en la entrada en la cámara oscura es una medida de la capacidad del animal para recordar el estímulo aversivo. Para someter a prueba el efecto de los inhibidores de IRAP, se implantó en las ratas una cánula permanente crónica en los ventrículos laterales 1 semana antes de los experimentos de

20 comportamiento. El día de las pruebas, 15 min. antes del ensayo de entrenamiento, se inyectaron a las ratas o bien 70 nmol de bromhidrato de escopolamina disuelto en 2 ul de solución salina al 0,9% o bien solución salina al 0,9% antes de colocarse en la caja de evitación inhibitoria para el ensayo de entrenamiento. Inmediatamente después del ensayo de entrenamiento, se inyectaron a las ratas o bien 0,2 o bien 2 nmol del compuesto 1 (del ejemplo 1) disuelto en 2 ul de DMSO al 10% o vehículo control. Entonces se devolvieron las ratas a su jaula y se sometieron a prueba

25 24 h después en el ensayo de recuperación. Las ratas a las que se administraron o bien 0,2 o bien 2 nmol del compuesto 1 tras el tratamiento de escopolamina mostraron latencias aumentadas en la entrada en la cámara oscura en comparación con el grupo de ratas tratadas con escopolamina seguido por vehículo (figura 1). Las dos dosis del compuesto 1 atenuaron ambas la deficiencia de memoria inducida por el tratamiento con escopolamina, restableciendo de nuevo la memoria a los niveles control (figura 1).

30

**Bibliografía**

Albiston *et al.*, J Biol Chem 276: 48263-48266, 2001.

35 Albiston *et al.*, Behav Brain Res 154: 239-243, 2004.

Braszko, *et al.*, Neuroscience 27: 777-783, 1988.

Bryant *et al.*, Nat Rev Mol Cell Biol 3: 267-277, 2002.

40 Greferath *et al.*, Neuroscience 100: 363-373, 2000.

Imamura *et al.*, Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 279: R1061-1067, 2000.

45 Keller *et al.*, J Biol Chem 270: 23612-23618, 1995.

Lee *et al.*, Neuroscience 124: 341-349, 2004.

Lew *et al.*, Journal of Neurochemistry 86: 344-350, 2003.

50 Pederson *et al.*, Regul Pept 74: 97-103, 1998.

Pederson *et al.*, Regul Pept 102: 147-156, 2001.

55 Rogi *et al.*, J Biol Chem 271: 56-61, 1996.

Waters *et al.*, J Biol Chem 272: 23323-23327, 1997.

Wright *et al.*, Brain Res Bull 32: 497-502, 1993.

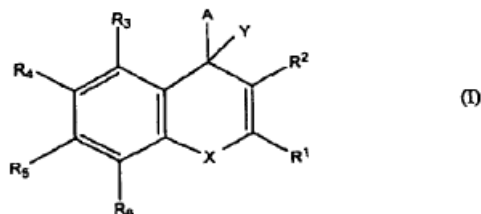
Wright *et al.*, Brain Res 717: 1-11, 1996.

5 Wright *et al.*, J Neurosci 19: 3952-3961, 1999.

Zhang *et al.*, J Pharmacol Exp Ther 289: 1075-1083, 1999.

## REIVINDICACIONES

1. Compuesto para su uso en el tratamiento de pérdida o deterioro de memoria, o para su uso en la potenciación de la memoria y/o el aprendizaje en un sujeto, teniendo el compuesto la fórmula:



en la que A es arilo, heteroarilo, carbociclilo o heterociclilo, pudiendo estar cada uno de ellos opcionalmente sustituido;

X es O;

R<sup>1</sup> es NR<sup>7</sup>R<sup>8</sup>, NHCOR<sup>8</sup>, N(COR<sup>8</sup>)<sub>2</sub>, N(COR<sup>7</sup>)(COR<sup>8</sup>), N=CHOR<sup>8</sup> o N=CHR<sup>8</sup> en los que R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> se seleccionan independientemente de H, alquilo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, o R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup>, junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, forman un anillo de 3-8 miembros que puede estar opcionalmente sustituido;

R<sup>2</sup> es CN, CO<sub>2</sub>R<sup>9</sup>, C(O)O(O)R<sup>9</sup>, C(O)R<sup>9</sup> o C(O)NR<sup>9</sup>R<sup>10</sup> en los que R<sup>9</sup> y R<sup>10</sup> se seleccionan independientemente de alquilo, alquenoilo, alquinoilo, arilo, heteroarilo, carbociclilo, heterociclilo, pudiendo estar cada uno de ellos opcionalmente sustituido, e hidrógeno, o R<sup>9</sup> y R<sup>10</sup>, junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, forman un anillo de 3-8 miembros que puede estar opcionalmente sustituido;

R<sup>3</sup>-R<sup>6</sup> se seleccionan independientemente de hidrógeno, halo, nitro, ciano, alquilo, alquenoilo, alquinoilo, arilo, heteroarilo, heterociclilo, carbociclilo, hidroxilo, alcoxilo, alquenoiloxilo, alquinoiloxilo, alquinoiloxilo, ariloxilo, heteroariloxilo, heterocicliloxilo, amino, acilo, aciloxilo, carboxilo, éster carboxílico, metilendioxilo, amido, tio, alquiltio, alquenoiltio, alquinoiltio, ariltio, heteroariltio, heterocicliltio, carbocicliltio, aciltio y azido, pudiendo estar cada uno de ellos opcionalmente sustituido cuando sea apropiado, o cualesquiera dos R<sup>3</sup>-R<sup>6</sup> adyacentes, junto con los átomos a los que están unidos, forman un anillo de 3-8 miembros que puede estar opcionalmente sustituido; e

Y es hidrógeno o alquilo C<sub>1-10</sub>,

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. Compuesto para su uso según la reivindicación 1, en el que A es arilo o heteroarilo.

3. Compuesto para su uso según la reivindicación 1, en el que A tiene 5-6 miembros.

4. Compuesto para su uso según la reivindicación 3, en el que A es arilo o heteroarilo de 5-6 miembros opcionalmente sustituido.

5. Compuesto para su uso según la reivindicación 4, en el que A es fenilo o piridilo opcionalmente sustituido.

6. Compuesto para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que Y es hidrógeno.

7. Compuesto para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que R<sup>1</sup> es NR<sup>7</sup>R<sup>8</sup>.

8. Compuesto para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que R<sup>1</sup> es NH<sub>2</sub>.

9. Compuesto para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que R<sup>2</sup> es CN, CO<sub>2</sub>R<sup>9</sup> o C(O)NR<sup>9</sup>R<sup>10</sup> o C(O)R<sup>9</sup>.

10. Compuesto para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que R<sup>3</sup>-R<sup>6</sup> se seleccionan de H, OH, CN, halo, alquilo C<sub>1-10</sub>, alquenoilo C<sub>2-10</sub>, alcoxilo C<sub>1-10</sub>, fenilo, halo fenilo, hidroxifenilo, aminofenilo, alquilfenilo, NH<sub>2</sub>, NH-alquilo C<sub>1-10</sub>, N-alquil C<sub>1-10</sub>-alquilo C<sub>1-10</sub>, NO<sub>2</sub>, <sup>+</sup>NO<sub>2</sub>H, haloalquilo, acilo, aciloxilo, éster carboxílico, CO<sub>2</sub>H, amido, tio, alquiltio, y 2 de R<sup>3</sup>-R<sup>6</sup> adyacentes forman metilendioxilo.

11. Compuesto para su uso según la reivindicación 10, en el que R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> y R<sup>6</sup> son todos hidrógeno.

12. Compuesto para su uso según la reivindicación 10, en el que R<sup>5</sup> se selecciona de OH, CN, halo, alquilo C<sub>1-10</sub>, NO<sub>2</sub>, \*NO<sub>2</sub>H, NH<sub>2</sub>, NH-alquilo C<sub>1-10</sub>, N-alquil C<sub>1-10</sub>-alquilo C<sub>1-10</sub>.

# FIGURA 1

## Compuesto 1 - Evitación inhibitoria (140405)

