

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 601 384**

51 Int. Cl.:

C07D 498/08 (2006.01)

A61K 31/553 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.03.2013 PCT/IB2013/052205**

87 Fecha y número de publicación internacional: **26.09.2013 WO13140348**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.03.2013 E 13721085 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.08.2016 EP 2855487**

54 Título: **Compuestos para el tratamiento de enfermedades relacionadas con isquemia-reperusión**

30 Prioridad:

21.03.2012 IT FI20120062

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

15.02.2017

73 Titular/es:

**MINERVA PATENTS S.A. (100.0%)
18 rue de l'Eau
1449 Luxembourg, LU**

72 Inventor/es:

**GUARNA, ANTONIO y
COZZOLINO, FEDERICO**

74 Agente/Representante:

RUO , Alessandro

ES 2 601 384 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

Compuestos para el tratamiento de enfermedades relacionadas con isquemia-reperusión

5 Campo de la invención

[0001] La presente invención se refiere al campo de compuestos útiles en el tratamiento de patologías relacionadas con isquemia-reperusión.

10 Antecedentes de la invención

[0002] La isquemia-reperusión es una afección patológica caracterizada por una restricción inicial del flujo sanguíneo a un órgano seguido de un restablecimiento posterior de la perfusión y reoxigenación simultánea. Quizá de forma sorprendente, el restablecimiento del flujo sanguíneo y la reoxigenación está asociado frecuentemente con un aumento en el daño tisular y una profunda respuesta inflamatoria ("lesión por reperusión"). La lesión por isquemia-reperusión existe en una amplia gama de afecciones patológicas (Tabla 1).

Tabla 1

Órgano afectado	Ejemplo de manifestación clínica
Isquemia-reperusión de órganos individuales	
Corazón	Síndrome coronario agudo
Riñón	Lesión renal hipóxica aguda
Intestino	Isquemia-reperusión intestinal; MODS
Cerebro	Apoplejía
Isquemia/reperusión de múltiples órganos	
Traumatismo y reanimación	MODS; lesión renal hipóxica aguda; lesión intestinal hipóxica; ETC
Parada circulatoria	Lesión cerebral hipóxica; MODS; daño renal
Anemia de células falciformes	Síndrome torácico agudo; hipertensión pulmonar; lesión hipóxica aguda
Apnea del sueño	Hipertensión; diabetes
Isquemia-reperusión en el transcurso de cirugía	
Cirugía cardíaca	Insuficiencia cardíaca aguda después de derivación cardiopulmonar
Cirugía torácica	Lesión pulmonar hipóxica aguda
Cirugía vascular periférica	SCE
Cirugía vascular	Lesión renal hipóxica aguda
	Rechazo a trasplante agudo; rechazo a trasplante temprano

20 [0003] MODS (Síndrome de Disfunción Orgánica Múltiple): Síndrome de disfunción orgánica múltiple; SCE (Síndrome Compartimental de las Extremidades): Síndrome compartimental de las extremidades ETC (encefalopatía traumática crónica): encefalopatía traumática crónica causada por traumatismo por golpes repetidos (por ejemplo, boxeadores, jugadores de rugby, etc.)

25 Las afecciones patológicas relacionadas con la isquemia-reperusión descritas anteriormente se desarrollan a partir de un conjunto de sucesos bioquímicos a nivel celular y tisular. Una vez que el flujo sanguíneo se ha parado en un sector dado, por ejemplo en una rama de la arteria coronaria, una serie de procesos bioquímicos se producen dentro de las células de los tejidos no perfundidos. Mientras que en presencia de una anoxia completa algunos pacientes experimentan necrosis, la mayoría experimentan un profundo desequilibrio metabólico que se caracteriza esencialmente por un rápido aumento del contenido intracelular de especies reactivas de oxígeno (ROS, que incluyen el anión superóxido, O₂⁻, peróxido de hidrógeno y el radical hidroxilo), por los niveles bajos producidos por la cadena de transporte de electrones en cantidades nocivas para la célula. si el flujo sanguíneo se restablece (es decir, reperusión), como sucede después de cirugía de angioplastia, la cantidad de radicales libres aumenta

30 adicionalmente, dando lugar a daño celular extenso, que configura la afección de "isquemia-reperusión". Esta situación, que esencialmente un shock redox masivo, no solo es directamente nocivo para diversas macromoléculas

dentro de la célula (proteínas, ácidos nucleicos, lípidos), sino que también es capaz de desencadenar la ruta intrínseca de la apoptosis.

[0004] De hecho, en el infarto de miocardio, hasta un 80 % del alcance de la lesión final está relacionado con la muerte apoptótica, que se completa en horas a días después del inicio de la afección por isquemia-reperusión.

[0005] Desde un punto de vista bioquímico, el shock metabólico intenso activa un gran número de moléculas que actúan como sensores redox, tales como la ASK-1 quinasa. Esta quinasa se mantiene en un estado inactivo por la unión con la tioredoxina y glutaredoxina reducidas; la oxidación de las mismas determina su separación de ASK-1 y la activación funcional consiguiente de la quinasa.

[0006] Otras rutas implicadas desde el inicio del proceso incluyen AMP quinasa y Rho GTPasa. Funcionando en sinergia, estos sistemas pueden influir de forma recíproca entre sí, amplificando de este modo de forma significativa el proceso de apoptosis. Una familia de quinasas funcionalmente coherente situada abajo de las rutas metabólicas descritas anteriormente, consiste en las proteínas JNK y p38 MAPK (MAP-quinasa), que representan un nodo de la cadena común de la cadena de transmisión de señales. Estas moléculas tienen sustratos citosólicos y nucleares, que en parte están compartidos, que participan de diversas maneras en los procesos de muerte celular por autofagia o apoptosis. Por mencionar algunos ejemplos, JNK y p38 MAPK se unen y fosforilan a Bcl-xL y Bcl-2, inactivando el potencial antiapoptótico de las mismas, un suceso seguido de la liberación de citocromo c de la mitocondria, la combinación de los mismos con molécula de Apaf-1 y la consiguiente activación de la caspasa-9. Otras dianas fundamentales de los dos MAP-quinasas son Beclina-1 y p53, ambas estrechamente relacionadas con la aparición de muerte celular autofágica y apoptótica, respectivamente.

[0007] Sobre la base de las consideraciones indicadas anteriormente, se puede afirmar que las MAP-quinasas son fundamentales para la generación del daño celular que se produce en una serie de contextos clínicos, en particular en afecciones de isquemia-reperusión. También es interesante observar que p38 MAPK y JNK comparten un modulador bioquímico común, MKP-1, una fosfatasa específicamente capaz de inactivar la familia enzimática de MAP-quinasa.

[0008] Una serie de estudios han demostrado directamente esta afirmación; por ejemplo, los ratones con supresión genética para p38 MAPK, después del cierre de las ramas de la arteria coronaria, presentan una reducción en gran medida de las lesiones miocárdicas con respecto a los controles normales, un hallazgo que destaca el papel de estas quinasas en la generación de daño tisular.

[0009] Por lo tanto, en el estado de la técnica se encuentra que para el tratamiento de patologías relacionadas con isquemia-reperusión o para el uso en procedimientos médicos que implican isquemia-reperusión, un enfoque farmacológico útil se puede conseguir a través del uso de compuestos que son capaces de modificar la actividad de la familia de MAP quinasas. El documento de patente WO2004000324 establece que los derivados de 3-azabicyclo[3.2.1]octano son activos como agonistas de neurotrofinas humanas y por lo tanto son útiles para la preparación de composiciones farmacéuticas para el tratamiento de enfermedades en las que las funciones de neurotrofina, en particular las funciones de NGF, están implicadas por defecto: trastornos neurodegenerativos del sistema nervioso central, tales como enfermedad de Alzheimer (EA), esclerosis lateral amiotrófica (ELA), enfermedad de Huntington, neuropatías, daño neuronal causado por hipoxia, isquemia, o traumatismo, lo que induce apoptosis de las células nerviosas;

enfermedades de inmunodeficiencia adquirida relacionadas con la reducción de la biodisponibilidad de NGF, tales como inmunodeficiencia relacionada con la edad; enfermedades en las que se demuestra que la estimulación de la neoangiogénesis es ventajosa, tales como infarto de miocardio, apoplejía, o enfermedades vasculares periféricas; ciertas enfermedades oculares, tales como queratitis de diversa etiología, glaucoma, afecciones degenerativas o inflamatorias de la retina.

se ha descrito como compuesto intermedio para la síntesis de una espiro-beta-lactama en A. Trabocchi, *et al.* Eur. J. Org. Chem. 2007, 4594-4599.

[0010] El compuesto Ácido (1R,5S,7R)-3-(p-metoxibencil)-2-oxo-6,8-dioxa-3-azabicyclo[3.2.1]octan-7-carboxílico se ha descrito como peptidomimético en Antonio Guarna, *et al.*, J. Org. Chem. 1999, 64, 7347-7364.

[0011] El compuesto Ácido (1R,5S,7R)-3-Bencil-2-oxo-6,8-dioxa-3-azabicyclo[3.2.1]octan-7-carboxílico y el compuesto Ácido (1R,5S,7R)-3-(p-fenil)-bencil-2-oxo-6,8-dioxa-3-azabicyclo[3.2.1]octan-7-carboxílico se describieron como inhibidores de metalproteasas en C. Mannino *et al.*, Bioorganic & Medicinal Chemistry 14 (2006) 7392-7403.

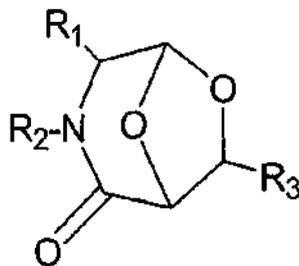
[0012] La síntesis del compuesto ácido (1S,5R,7S)-3-etil-2-oxo-6,8-dioxa-3-azabicyclo[3.2.1]octan-7-carboxílico se describe en Raymond, J-L; *et al.*, Tetrahedron Asymmetry 1990, 1 (10), 729-736.

[0013] El objeto de la presente invención es proporcionar compuestos para el tratamiento de patologías relacionadas con isquemia-reperusión o para su uso en procedimientos médicos que implican isquemia-reperusión, y en particular, pero no de forma exclusiva, los caracterizados por una variación inapropiada en las actividades de las MAP quinasas. El documento WO2004/009588 desvela derivados de 8-azabicyclo[3.2.1]octano para uso en el

tratamiento de enfermedades relacionadas con la familia de isquemia-reperusión.

Sumario de la invención

5 **[0014]** El objeto de la presente invención son compuestos de fórmula (I)



I

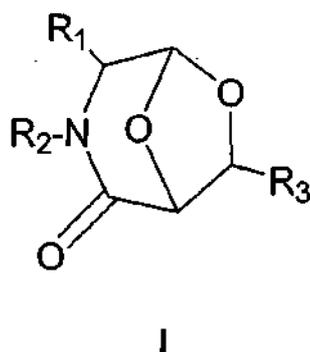
en la que

- 10 R₁ se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C₁₋₈, alquenilo C₁₋₈, alquinilo C₂₋₈, cicloalquilo, arilo, heterociclo, -alquil C₁₋₈-arilo, -alquil C₁₋₈-heterociclo, -alquil C₁₋₈-NH₂, -aril-NH₂, -alquil C₁₋₈-O-arilo -aril-OH, alquil C₁₋₈-OH, -COOR, -alquil C₁₋₈-OR, metiloxicarbonil-alquilo C₁₋₈, carboalquiloxi-arilo, alquil carbamoil arilo y - (cadenas laterales de aminoácido);
- 15 R₂ se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C₁₋₈, alquenilo C₂₋₈, alquinilo C₂₋₈, cicloalquilo, arilo, -alquil C₁₋₈-arilo, -alquil C₁₋₈-heterociclo, -alquil C₁₋₈-NRR', -aril-NRR', -alquil C₁₋₈-OR, -alquil C₁₋₈-COOR, -alquil C₁₋₈-OC(O)R, -alquil C₁₋₈-N(R)C(O)R', -aril-OR, -aril-COOR, -aril-COR, -aril-OC(O)R, -aril-N(R)C(O)R', -CH(cadenas laterales de aminoácido)CO₂R, -CH(cadenas laterales de aminoácido)C(O)NR, -CH(CO₂R)-cadenas laterales de aminoácido y CH(CONRR')-cadenas laterales de aminoácido,
- 20 R₃ es COOH;
- R y R', iguales o diferentes entre sí, se seleccionan entre el grupo que consiste en H, alquilo C₁₋₈, alquenilo C₂₋₈, alquinilo C₂₋₈, cicloalquilo, arilo, heterociclo, -alquil C₁₋₈-arilo; -alquil C₁₋₈-heterociclo; grupo protector, -C(O)CH- (cadenas laterales de aminoácido)-NHT, -NH-CH(cadenas laterales de aminoácido)COOT y -CH(cadenas laterales de aminoácido)COOT, en los que T se selecciona entre H y alquilo C₁₋₈;
- 25 y en la que los grupos alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo, heterociclo mencionados anteriormente pueden estar sustituidos con uno o más grupos seleccionados entre el grupo que consiste en halógeno, CN, NO₂, NH₂, OH, COOH, CO y alquilo C₁₋₆; excluyendo los compuestos ácido (1S,5R,7S)-3-etil-2-oxo-6,8-dioxa-3-azabicyclo[3.2.1]octan-7-carboxílico, ácido (1R,5S,7R)-3-(p-metoxibencil)-2-oxo-6,8-dioxa-3-azabicyclo[3.2.1]octan-7-carboxílico, ácido (1R,5S,7R)-3-bencil-2-oxo-6,8-dioxa-3-azabicyclo[3.2.1]octan-7-carboxílico y ácido (1R,5S,7R)-3-(p-fenil)-bencil-2-oxo-6,8-dioxa-3-azabicyclo[3.2.1]octan-7-carboxílico.
- 30

[0015] En el transcurso de estudios con el objetivo de aclarar los mecanismos patogenéticos generados a partir de la activación descontrolada de la enzima MAP-quinasa, en afecciones clínicas determinadas por isquemia-reperusión, de forma sorprendente e inesperada se encontró que se podía obtener un control eficaz de la activación de p38 MAKP o de JNK a partir de la administración *in vitro* e *in vivo* de ciertos derivados de 3-azabicyclo[3.2.1]octano de fórmula general (I) como se ha descrito anteriormente y otros compuestos similares que pertenecen a las colecciones de compuestos que fueron el objeto de la patente WO2004000324.

[0016] Por lo tanto, los compuestos de fórmula (I) como se ha descrito anteriormente (con R₃ = COOH), también incluían los compuestos ácido (1S,5R,7S)-3-etil-2-oxo-6,8-dioxa-3-azabicyclo[3.2.1]octan-7-carboxílico, ácido (1R,5S,7R)-3-(p-metoxibencil)-2-oxo-6,8-dioxa-3-azabicyclo[3.2.1]octan-7-carboxílico, ácido (1R,5S,7R)-3-Bencil-2-oxo-6,8-dioxa-3-azabicyclo[3.2.1]octan-7-carboxílico y ácido (1R,5S,7R)-3-(p-fenil)-bencil-2-oxo-6,8-dioxa-3-azabicyclo[3.2.1]octan-7-carboxílico, para su uso como un medicamento, también son objeto de la invención.

[0017] Por lo tanto, un compuesto derivado de 3-azabicyclo[3.2.1]octano de fórmula general (I) también es objeto de la presente invención:



en la que

- 5 R₁ se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C₁₋₈, alqueno C₁₋₈, alquino C₂₋₈, cicloalquilo, arilo, heterociclo, -alquil C₁₋₈-arilo, -alquil C₁₋₈-heterociclo, -alquil C₁₋₈-NH₂, -aril-NH₂, -alquil C₁₋₈-O-arilo, -aril-OH, alquil C₁₋₈-OH, -COOR, -alquil C₁₋₈-OR, metiloxycarbonil-alquilo C₁₋₈, carboalquiloxi-arilo, alquil carbamoil arilo y - (cadenas laterales de aminoácido);
- 10 R₂ se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C₁₋₈, alqueno C₂₋₈, alquino C₂₋₈, cicloalquilo, arilo, -alquil C₁₋₈-arilo, -alquil C₁₋₈-heterociclo, -alquil C₁₋₈-NRR', -aril-NRR', -alquil C₁₋₈-OR, -alquil C₁₋₈-COOR, -alquil C₁₋₈-OC(O)R, -alquil C₁₋₈-N(R)C(O)R', -aril-OR, -aril-COOR, -aril-COR, -aril-OC(O)R, -aril-N(R)C(O)R', -CH(cadenas laterales de aminoácido)CO₂R, -CH(cadenas laterales de aminoácido)C(O)NR, -CH(CO₂R)-cadenas laterales de aminoácido y CH(CONRR')-cadenas laterales de aminoácido,
- 15 R₃ se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C₁₋₈, alqueno C₂₋₈, alquino C₂₋₈, cicloalquilo, arilo, -alquil C₁₋₈-arilo, heterociclo, -alquil C₁₋₈-heterociclo; -C(O)R, -C(O)OR, -C(O)NRR', CH₂OR, CH₂NRR', -C(O)NH-CH(cadenas laterales de aminoácido)C(O)OR, CH₂NR-Fmoc, CH₂NR-Boc y CH₂NR-CBz,
- 20 R y R', iguales o diferentes entre sí, se seleccionan entre el grupo que consiste en H, alquilo C₁₋₈, alqueno C₂₋₈, alquino C₂₋₈, cicloalquilo, arilo, heterociclo, -alquil C₁₋₈-arilo; -alquil C₁₋₈-heterociclo; grupo protector, -C(O)CH-(cadenas laterales de aminoácido)-NHT, -NH-CH(cadenas laterales de aminoácido)COOT y -CH(cadenas laterales de aminoácido)COOT, en los que T se selecciona entre H y alquilo C₁₋₈;
- 25 y en la que los grupos alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, arilo, heterociclo mencionados anteriormente pueden estar sustituidos con uno o más grupos seleccionados entre el grupo que consiste en halógeno, CN, NO₂, NH₂, OH, COOH, CO y alquilo C₁₋₆; para el tratamiento de patologías relacionadas con isquemia-reperfusión o para su uso en procedimientos médicos que implican isquemia-reperfusión, y en particular, pero no de forma exclusiva, las caracterizadas por una variación inapropiada en la actividad de la familia de MAP quinasa.

[0018] En particular, los derivados de 3-azabicyclo[3.2.1]octano de fórmula general (I), determinan de forma inesperada e impredecible un aumento notable en la proteína MKP-1 en un cierto número de tipos celulares que expresan receptores Trk (en particular, cardiomiocitos, células neuronales, células del parénquima renal, etc.); este suceso se consiguió en ausencia de una activación significativa de otras rutas metabólicas, tales como, por ejemplo, la ruta de fosfatidilinositol-3 quinasa/proteína quinasa B, que conduce a un aumento de los niveles de calcio intracitosólico. Los linfocitos B de memoria humanos privados de su factor de supervivencia autocrina, NGF, experimentan una fuerte activación de p38 MAPK, seguida de la muerte apoptótica de las células. Este daño se reduce profundamente mediante la adición de derivados de 3-azabicyclo[3.2.1]octano de fórmula general (I), que causan un notable aumento en los niveles de MKP-1 y una intensa modulación de p38 MAPK; en consecuencia, las células se protegen de la muerte programada. De la misma manera, las células del miocardio cultivadas durante 30 minutos bajo condiciones profundamente hipóxicas (pO₂ < 0,1 %), entonces se llevan a niveles de oxígeno anormales, experimenta un notable shock redox, caracterizado por activación de p38-MAPK, activación de caspasa y apoptosis. Sin embargo, si los derivados de 3-azabicyclo[3.2.1]octano de fórmula general (I), se administran antes de la hipoxia o inmediatamente a partir de ese momento, la intensidad de las alteraciones redox permanece sin cambios, pero la fosforiladas y ante p38 MAPK se ve profundamente reducida y la apoptosis se controla; de hecho, en los mismos cultivos se registra un aumento notable, paralelo de los niveles de proteína MKP-1. Los estudios descritos anteriormente demuestran un posible enfoque biológico dirigido al alivio de los resultados de la activación incontrolada de proteínas de la familia de MAP-quinasa, que es potencialmente útil en un número de afecciones clínicas caracterizadas por isquemia-reperfusión, en las que se produce en particular una variación inapropiada en la actividad de la familia de MAP quinasa.

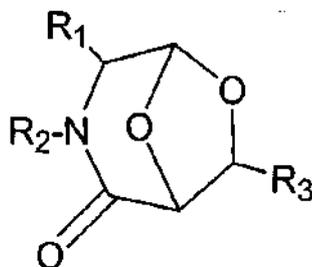
[0019] Estos hallazgos inesperados permiten la identificación del uso farmacológico de los derivados de 3-azabicyclo[3.2.1]octano de fórmula general (I) en todas esas patologías relacionadas con isquemia-reperfusión, en las que las afecciones sistémicas generadas a partir de cualquier reducción o cese del flujo sanguíneo, van seguidas de un restablecimiento posterior del influjo de oxígeno/nutrientes al tejido.

[0020] Las características y ventajas adicionales de los compuestos de acuerdo con la invención se informarán con detalle en la descripción que sigue a continuación.

Descripción detallada de la invención

5

[0021]



I

10 Por lo tanto, un objeto adicional de la presente invención es una composición farmacéutica que comprende, como principio activo, al menos uno de los derivados de 3-azabicyclo[3.2.1]octano de fórmula general (I) como se ha descrito anteriormente para el tratamiento de patologías relacionadas con isquemia-reperfusión. En particular, las patologías relacionadas con isquemia-reperfusión, como se ha definido anteriormente, son por ejemplo:

- 15
- isquemia de miocardio aguda;
 - isquemia del sistema nervioso central (SNC) causada por trombosis o embolia en sectores cerebrales de las arterias intracraneales o por parada cardíaca, lo que implica la interrupción permanente o temporal del flujo sanguíneo en algunos sectores de las arterias cerebrales o en todo el encéfalo;
- 20
- procedimientos quirúrgicos en los que la operación conlleva el cierre temporal de ciertos sectores arteriales, tal como ocurre por ejemplo en la cirugía de ablación de tumor renal;
 - protocolos de explante, conservación y reimplante de órganos destinados a trasplante, tales como riñones, corazón, pulmón, hígado, intestino, etc.;
- 25
- todas las demás patologías sistémicas caracterizadas por una reducción o parada del flujo sanguíneo seguido de posterior restablecimiento del influjo de oxígeno/nutrientes al tejido;
 - afecciones de hipoxia del tejido cerebral, tales como por ejemplo, envenenamiento o ahogamiento por monóxido de carbono, en las que, después de la intervención médica normal, es posible restablecer los niveles normales de oxigenación;
- 30
- otro daño tisular causado por hipoxia, isquemia o traumatismo, capaz de causar muerte por apoptosis o autofagia, hasta el punto de generar lesiones anatómicas y funcionales significativas.
 - encefalopatía traumática crónica (ETC).

[0022] Un objeto adicional de la invención es un medio de cultivo celular que comprende al menos un derivado de 3-azabicyclo[3.2.1]octano de fórmula general (I).

35

[0023] Un objeto adicional de la invención es un medio de almacenamiento para la conservación de órganos trasplantados destinados a trasplante, comprendiendo dicho medio al menos un derivado de 3-azabicyclo[3.2.1]octano de fórmula general (I).

40 **[0024]** También es un objeto de la invención un derivado de 3-azabicyclo[3.2.1]octano de fórmula general (I) etiquetado con un reactivo adecuado (agentes de contraste, radioisótopos, agentes fluorescentes, etc.), para su uso en cualquiera de los procedimientos útiles para los fines de formación de imágenes médicas, análisis de formación de imágenes de tejidos y órganos *in vitro* o *in vivo*, para la evaluación y relevancia de la lesión isquémica por perfusión y, en particular, para controlar el uso y eficacia de los productos medicinales.

45

[0025] En la presente invención, la expresión "cadena lateral de aminoácidos" se refiere a los grupos de cadenas laterales de L o D aminoácidos presentes en la naturaleza o de los aminoácidos que son raros o no están presentes en la naturaleza.

50 **[0026]** A menos que se especifique de otro modo, se debería entender que los términos alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, arilalquilo, cicloalquilo, y heterociclo, cómo se usan en la presente invención, son como sigue a continuación:

- alquilo C₁₋₈, alquenilo C₁₋₈ y alquinilo C₂₋₈ se refieren a radicales alquilo ramificados lineales, respectivamente que tiene solamente enlaces sencillos, al menos un doble enlace, al menos un triple enlace. Los ejemplos de grupos alquilo de acuerdo con la presente invención incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo. Los ejemplos de grupos alquenilo de acuerdo con la presente invención incluyen, pero no se limitan a =CH₂, etenilo, propenilo, 1-butenilo, cis-2-butenilo, trans-2-butenilo, 2-metil-1-propenilo, 1-pentenilo, cis-2-pentenilo, trans-2-pentenilo, 2-metil-2-butenilo. Los ejemplos de grupos alquinilo de acuerdo con la presente invención incluyen, pero no se limitan a, etinilo, propinilo, 1-butenilo, 2-butenilo, 1-pentenilo, 3-metil-1-butenilo;
- el término "cicloalquilo" se refiere a un anillo que contiene átomos de carbono, que por lo general tiene entre 3 y 8 miembros, y preferentemente entre 5 y 6 miembros. Los ejemplos de grupos cicloalquilo incluyen, pero no se limitan a, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, norbornanilo, canfanilo, adamantanilo;
- el término "arilo" indica un grupo que contiene uno o más anillos insaturados, teniendo cada anillo entre 5 y 8 miembros, preferentemente 5 o 6 miembros. Los ejemplos de grupos arilo incluyen, pero no se limitan a, fenilo, bifenilo y naftilo;
- el término "heterociclo" se refiere a heterociclos saturados o aromáticos que contienen uno o más heteroátomos, y preferentemente uno o más átomos de N. Los ejemplos de heterociclos incluyen, pero no se limitan a, piridina, imidazol, pirrol, indol, triazoles, pirrolidina, piperidina.

[0027] En la presente invención, los grupos fluorenilmetoxicarbonilo, t-butiloxicarbonilo, carboxibencilo, bencilo, fenilo y acetilo están indicados respectivamente usando los términos comunes Fmoc, Boc, Cbz, Bn, Ph y Ac.

[0028] De acuerdo con la presente invención, los grupos alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo y heterociclo pueden estar sustituidos con uno o más grupos, y preferentemente uno o dos restos seleccionados entre el grupo que consiste en halógeno, ciano, nitro, amino, hidroxí, ácido carboxílico, carbonil y alquilo C₁₋₆. El término "halógeno" se refiere a flúor, cloro, bromo e yodo.

[0029] De los compuestos de fórmula (I) con R₃ = COOH existe una preferencia por aquellos en los que:

- R₁ se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C₁₋₈, alquenilo C₁₋₈, -alquil C₁₋₈-fenilo, alquil C₁₋₈-OH y -alquil C₁₋₈-OR;
- R₂ se selecciona del grupo que consiste en arilo, -alquil C₁₋₈-arilo.

[0030] Son particularmente preferentes aquellos en los que R₁ se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C₁₋₈, alquenilo C₂₋₈, -alquil C₁₋₈-fenilo, -alquil C₁₋₈-OH y -alquil C₁₋₈-OR;

R₂ se selecciona del grupo que consiste en arilo, -alquil C₁₋₈-arilo;

De los compuestos de fórmula (I) para su uso en afecciones médicas que resultan de isquemia-reperfusión, son preferentes los compuestos en los que R₁ se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C₁₋₈, alquenilo C₂₋₈, -alquil C₁₋₈-fenilo, -alquil C₁₋₈-OH y -alquil C₁₋₈-OR;

R₂ se selecciona del grupo que consiste en arilo y -alquil C₁₋₈-arilo;

R₃ se selecciona del grupo que consiste en C(O)OR, -C(O)NRR';

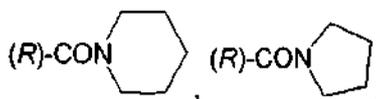
R y R', iguales o diferentes entre sí, se seleccionan entre el grupo que consiste en H, alquilo C₁₋₈, -alquil C₁₋₈-NH₂, -alquil C₁₋₈-OH; R y R' combinados entre sí pueden formar un cicloalquilo.

[0031] Son particularmente preferentes los compuestos en los que

R₁ es H, Me, =CH₂, CH₂Ph, CH₂OH, CH₂OBn;

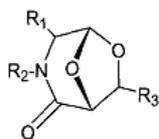
R₂ es Ph, CH₂Ph, CHPh₂;

R₃ es COOH, COOMe, CONHCH₂CH₂NH₂, CONHCH₂CH₂OH,



[0032] Los compuestos 1-96 de fórmula general (I) de acuerdo con la invención informados en las Tablas 1-2 que siguen a continuación son resultados de interés en particular teniendo en cuenta sus actividades porque determinan un aumento notable en la proteína MKP-1; y por lo tanto son los compuestos usados preferentemente para la preparación de las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención. (I)

TABLA

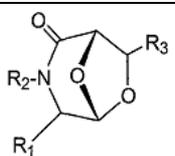


(1a)

Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃
1.	H	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ Me
2.	H	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ Me
3.	H	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CON 
4.	H	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CON 
5.	H	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ H
6.	H	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ H
7.	H	CH(Ph) ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ H
8.	H	CH(Ph) ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ H
9.	H	Ph	(<i>R</i>)-CO ₂ H
10.	H	Ph	(<i>S</i>)-CO ₂ H
11.	H	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CONH(CH ₂) ₂ NH ₂
12.	H	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CONH(CH ₂) ₂ OH
13.	(<i>S</i>)-Me	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ Me
14.	(<i>S</i>)-Me	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ Me
15.	(<i>R</i>)-Me	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ Me
16.	(<i>R</i>)-Me	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ Me
17.	(<i>R</i>)-CH ₂ Ph	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ Me
18.	(<i>R</i>)-CH ₂ Ph	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ Me
19.	(<i>S</i>)-CH ₂ Ph	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ Me
20.	(<i>S</i>)-CH ₂ Ph	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ Me
21.	(<i>S</i>)-CH ₂ OBn	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ Me
22.	(<i>S</i>)-CH ₂ OBn	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ Me
23.	(<i>R</i>)-CH ₂ OBn	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ Me
24.	(<i>R</i>)-CH ₂ OBn	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ Me
25.	(<i>S</i>)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ Me
26.	(<i>S</i>)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ Me
27.	(<i>R</i>)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ Me
28.	(<i>R</i>)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ Me
29.	=CH ₂	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ Me
30.	=CH ₂	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ Me
31.	(<i>S</i>)-Me	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ H
32.	(<i>S</i>)-Me	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ H
33.	(<i>R</i>)-Me	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ H
34.	(<i>R</i>)-Me	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ H
35.	(<i>R</i>)-CH ₂ Ph	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ H
36.	(<i>R</i>)-CH ₂ Ph	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ H
37.	(<i>S</i>)-CH ₂ Ph	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ H
38.	(<i>S</i>)-CH ₂ Ph	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ H

Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃
39.	(<i>S</i>)-CH ₂ OBn	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ H
40.	(<i>S</i>)-CH ₂ OBn	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ H
41.	(<i>R</i>)-CH ₂ OBn	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ H
42.	(<i>R</i>)-CH ₂ OBn	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ H
43.	(<i>S</i>)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ H
44.	(<i>S</i>)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ H
45.	(<i>R</i>)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ H
46.	(<i>R</i>)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ H
47.	=CH ₂	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ H
48.	=CH ₂	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ H

Tabla 2

 (lb)			
Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃
49.	H	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ Me
50.	H	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ Me
51.	H	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CON 
52.	H	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CON 
53.	H	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ N
54.	H	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ H
55.	H	CH(Ph) ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ H
56.	H	CH(Ph) ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ H
57.	H	Ph	(<i>R</i>)-CO ₂ H
58.	H	Ph	(<i>S</i>)-CO ₂ H
59.	H	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CONH(CH ₂) ₂ NH ₂
60.	H	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CONH(CH ₂) ₂ OH
61.	(<i>S</i>)-Me	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ Me
62.	(<i>S</i>)-Me	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ Me
63.	(<i>R</i>)-Me	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ Me
64.	(<i>R</i>)-Me	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ Me
65.	(<i>R</i>)-CH ₂ Ph	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ Me
66.	(<i>R</i>)-CH ₂ Ph	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ Me
67.	(<i>S</i>)-CH ₂ Ph	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ Me
68.	(<i>S</i>)-CH ₂ Ph	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ Me
69.	(<i>S</i>)-CH ₂ OBn	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ Me
70.	(<i>S</i>)-CH ₂ OBn	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ Me
71.	(<i>R</i>)-CH ₂ OBn	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ Me
72.	(<i>R</i>)-CH ₂ OBn	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ Me

Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃
73.	(S)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(R)-CO ₂ Me
74.	(S)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(S)-CO ₂ Me
75.	(R)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(R)-CO ₂ Me
76.	(R)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(S)-CO ₂ Me
77.	=CH ₂	PhCH ₂	(R)-C ₂ Me
78.	=CH ₂	PhCH ₂	(S)-CO ₂ Me
79.	(S)-Me	PhCH ₂	(R)-CO ₂ H
80.	(S)-Me	PhCH ₂	(S)-CO ₂ H
81.	(R)-Me	PhCH ₂	(R)-CO ₂ H
82.	(R)-Me	PhCH ₂	(S)-CO ₂ H
83.	(R)-CH ₂ Ph	PhCH ₂	(S)-CO ₂ H
84.	(R)-CH ₂ Ph	PhCH ₂	(R)-CO ₂ H
85.	(S)-CH ₂ Ph	PhCH ₂	(S)-CO ₂ H
86.	(S)-CH ₂ Ph	PhCH ₂	(R)-CO ₂ H
87.	(S)-CH ₂ OBn	PhCH ₂	(R)-CO ₂ H
88.	(S)-CH ₂ OBn	PhCH ₂	(S)-CO ₂ H
89.	(R)-CH ₂ OBn	PhCH ₂	(R)-CO ₂ H
90.	(R)-CH ₂ OBn	PhCH ₂	(S)-CO ₂ H
91.	(S)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(R)-CO ₂ H
92.	(S)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(S)-CO ₂ H
93.	(R)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(R)-CO ₂ H
94.	(R)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(S)-CO ₂ H
95.	=CH ₂	PhCH ₂	(R)-CO ₂ H
96.	=CH ₂	PhCH ₂	(S)-CO ₂ H

[0033] Los compuestos 1-4, 11-30, 35-52 y 59-78 mencionados anteriormente se describen en J. Org. Chem. 1999, 64, 7347, Organic Letters, 2000, 2, 3987-3990, Bioorganic & Med Chem 2001, 9, 1625-1632, Eur. J. Org. Chem. 2002, 873-880, en la solicitud de patente internacional n.º WO 2001064686; y en la solicitud de patente internacional WO2004000324; los métodos de preparación de los compuestos de fórmula (I) en la que R₃ es diferente a COOH también se describen en los presentes documentos. El compuesto 5 se menciona en J. Org. Chem. 1999, 64, 7347.

[0034] Los compuestos 6-10, 31-34, 53-58, y 79-96 de fórmula I con R₃ igual a COOH son nuevos.

[0035] Los compuestos de fórmula (I) en la que R₃ = COOH se pueden preparar a partir de los compuestos de fórmula (I) en la que R₃ = COOMe por hidrólisis con NaOH en agua y en presencia de éteres lineales o cíclicos como disolvente. La sal sódica es poco soluble en agua y se puede aislar por filtración después de retirada del disolvente orgánico. Por acidificación de los compuestos de fórmula (I) en la que R₃ = COONa, éstos se pueden transformar por tratamiento con HCl acuoso en los compuestos correspondientes de fórmula (I) en la que R₃ = COOH.

[0036] Los presentes derivados de 3-azabicyclo[3.2.1]octano de fórmula general (I) en forma libre o en forma de sales farmacéuticamente aceptables se pueden usar para la preparación de composiciones farmacéuticas siguiendo los métodos de preparación farmacéutica habituales.

[0037] Estas composiciones farmacéuticas se pueden formular convencionalmente, y pueden incluir uno o más excipientes y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables. La administración de estas formulaciones se puede realizar mediante cualquier vía convencional, tal como la vía parenteral, en forma de solución o suspensión, oral, ocular, nasal, tópica, etc.

[0038] La formulación de los derivados de 3-azabicyclo[3.2.1]octano de fórmula (I) de acuerdo con la invención incluye comprimidos, cápsulas, píldoras, gránulos, soluciones, dispersiones, suspensiones, formulaciones liposomales, microesferas, nanoesferas, cremas y pomadas, emulsiones y aerosoles, que también se pueden preparar de una manera que permita una liberación controlada o retardada del compuesto activo.

[0039] Estas composiciones farmacéuticas pueden comprender al menos uno de los presentes compuestos de fórmula (I), o mezclas de los mismos, como principio activo o adyuvante, posiblemente en combinación con otro

principio activo o adyuvante, seleccionado de acuerdo con las afecciones patológicas.

[0040] Además de usarlos en las patologías indicadas anteriormente, los derivados de 3-azabicyclo[3.2.1]octano de fórmula general (I) y mezclas de los mismos, y por lo tanto las composiciones que los contienen, se pueden usar para la preparación de medios de cultivo y medios de almacenamiento útiles para la conservación de órganos explantados destinados a trasplante.

[0041] Los siguientes ejemplos se informan para proporcionar una ilustración no limitante de la presente invención.

Breve descripción de las figuras

[0042]

FIG. 1 - muestra transferencia de Western de Autofosforilación del receptor TrkA en células PC12 cuando se incuban con NGF o con un mimético (un compuesto de fórmula (I)) de acuerdo con la invención.

FIG. 2 - muestra transferencia de Western para la evaluación en células PC12 para inducir un aumento en la expresión de la proteína MKP-1 por miméticos (compuestos de fórmula (I)) de acuerdo con la invención.

FIG. 3 - informa de la determinación en WB de los niveles de fosforiladas de la proteína 38MAPK en células PC12 expuestas a privación de suero durante 6 horas y posteriormente al mimético (un compuesto de fórmula (I)) o a NGF recombinante humano durante 30 minutos.

FIG. 4 - informa de los valores de intensidad de las bandas obtenidas en WB con los anticuerpos indicados, mediante análisis de las muestras de células expuestas a isquemia-reperusión (I/R), en presencia o en ausencia del compuesto mimético (un compuesto de fórmula (I)), en comparación con células cultivadas en condiciones de control normales.

FIG. 5 - muestra la evaluación histológica a las 24 horas del daño necrótico (paneles superiores) o del daño apoptótico (paneles inferiores) en el riñón derecho de animales sometidos a ligadura unilateral del hilio renal derecho en presencia o en ausencia del compuesto mimético (un compuesto de fórmula (I)) (el riñón izquierdo sirvió como control) durante los tiempos indicados.

[0043] En las figuras descritas anteriormente, el mimético es un derivado de 3-azabicyclo[3.2.1]octano de fórmula general (I) y en particular

el Mimético 1 corresponde al compuesto 65;
 el Mimético 2 corresponde al compuesto 83;
 el Mimético 3 corresponde al compuesto 19;
 el Mimético 4 corresponde al compuesto 20;
 el Mimético 5 corresponde al compuesto 38.

Ejemplo 1

EJEMPLO DE REFERENCIA

Preparación de carboxilato (1S,4R,5R,7S)-3,4-dibencil-2-oxo-6,8-dioxa-3-azabicyclo[3.2.1]octan-7-sódico (compuesto de fórmula (I) en la que $R_1 = R_2 = \text{PhCH}_2$, $R_3 = (\text{COONa})$)

[0044] A una solución del compuesto de fórmula (I), en la que $R_1 = R_2 = \text{PhCH}_2$, $R_3 = (\text{COOMe})$ en THF se añade gota a gota una solución de NaOH en agua. Después de aproximadamente dos horas el disolvente se evapora completamente a presión reducida y se añade agua al residuo a la que vez que se deja con agitación magnética durante 1 h. El sólido resultante se filtra y se seca para dar del compuesto de fórmula (I), en la que $R_1 = R_2 = \text{PhCH}_2$, $R_3 = (\text{COONa})$
 p.f. 311,2-313,4 °C (desc.) $[\alpha]_D^{21} + 34,3$ (c 1,02, DMSO).

Ejemplo 2

Preparación de carboxilato de (1S,4R,5R,7S)-3,4-dibencil-2-oxo-6,8-dioxa-3-azabicyclo[3.2.1]octan-7-metilo (compuesto de fórmula (I), en la que $R_1 = R_2 = \text{PhCH}_2$, $R_3 = (\text{COOMe})$)

[0045] A una suspensión del compuesto I en el que $R_1 = R_2 = \text{PhCH}_2$, $R_3 = \text{COONa}$ en metanol que contenía una gota de DMF, se añade cloruro de tionilo, sin superar 40 °C. Después de 30 minutos el disolvente se retira a presión reducida, el residuo se recoge con tolueno y el disolvente se retira de nuevo a presión reducida. El residuo en bruto se disuelve en tolueno y la solución, lavada con una solución saturada acuosa de NaHCO_3 , se seca con MgSO_4 , se evapora a presión reducida, obteniendo de este modo el compuesto I con $R_1 = R_2 = \text{PhCH}_2$, $R_3 = \text{COOMe}$ en forma de un aceite de color amarillo.

Ejemplo 3

Preparación de ácido (1S,4R,5R,7S)-3,4-dibencil-2-oxo-6,8-dioxa-3-azabicyclo[3.2.1]octan-7-carboxílico (compuesto de fórmula (I) en la que $R_1 = R_2 = \text{PhCH}_2$, $R_3 = (\text{COOH})$)

[0046] A una suspensión del compuesto de fórmula (I) en la que $R_1 = R_2 = \text{PhCH}_2$, $R_3 = (\text{COONa})$ en H_2 , se añade lentamente HCl 1 N hasta que se alcanza el pH 2. El producto se extrae con diclorometano a la vez que se mantiene un pH constante, y la fase orgánica se seca sobre Na_2SO_4 . Después de filtración y evaporación, se obtiene un compuesto de fórmula (I) en la que $R_1 = R_2 = \text{PhCH}_2$, $R_3 = (\text{COOH})$, en forma de un sólido de color blanco.

Ejemplo 4

Preparación de carboxilato de (1S,4R,5R,7S)-3,4-dibencil-2-oxo-6,8-dioxa-3-azabicyclo[3.2.1]octan-7-lisina (compuesto de fórmula (I) en la que $R_1 = R_2 = \text{PhCH}_2$, $R_3 = (\text{COO})$ lisina⁺)

[0047] A una solución del compuesto de fórmula (I), en la que $R_1 = R_2 = \text{PhCH}_2$, $R_3 = (\text{COOH})$ en isopropanol, mantenida a 65-70 °C y se añade rápidamente una solución equivalente de L-lisina en agua. Se enfría en un baño de hielo y el producto se recupera por filtración, después de lavar con isopropanol frío. Se obtiene el producto del compuesto de fórmula (I), en la que $R_1 = R_2 = \text{PhCH}_2$, $R_3 = (\text{COO})$ lisina⁺. [α]_D²⁵ + 29,3 (c 1.0, H_2O).

[0048] En los siguientes ejemplos, los resultados de los cuales también se representan gráficamente en las figuras 1-5, el mimético se refiere a un derivado de 3-azabicyclo[3.2.1]octano de fórmula general (I) y en particular

- el Mimético 1 corresponde al compuesto 65;
- el Mimético 2 corresponde al compuesto 83;
- el Mimético 3 corresponde al compuesto 19;
- el Mimético 4 corresponde al compuesto 20;
- el Mimético 5 corresponde al compuesto 38.

Ejemplo 5

Autofosforilación del receptor TrkA y definición de las tirosinas implicadas en el proceso

[0049] Las células de la línea de rata de feocromocitoma PC12 continua se cultivaron a una concentración de 4×10^5 /ml en medio RPMI 1640, suplementado con un 5 % de glutamina, antibióticos, y en ausencia de suero, en placas de 24 pocillos durante 6 horas. Posteriormente, se añadió NGF a una concentración final de 10 ng/ml o como alternativa los compuestos de fórmula (I), a la concentración final de 10 μM , a estos cultivos. Después de 20 minutos, las células se lisaron este modo en tampón de RIPA (Tris-HCl 20 mM, pH 7,5, NaCl 150 mM, EDTA Na_2 1 mM, EGTA 1 mM, NP-40 al 1 %, desoxicolato sódico al 1 %, pirofosfato sódico 25 mM, β -glicerofosfato 1 mM, Na_3VO_4 1 mM, 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de leupeptina) para análisis bioquímico por medio de la técnica de transferencia de Western (WB), usando anticuerpos específicos para la forma fosforilada de las tirosinas 490, 674/675 o 785.

[0050] El análisis de los resultados hace posible establecer que aún que NGF inducía de forma invariable la fosforilación de todas las tirosinas, los compuestos de fórmula I inducían la fosforilación de una de las tirosinas estudiadas pero no de las otras, en diferentes combinaciones (FIGURA 1). Los gráficos muestran los valores de fosforilación de las tirosinas indicadas (Y490, Y674/675, Y785), expresados como la proporción de las intensidades de las bandas observadas en WB, desarrollados con los mismos anticuerpos anti-fosfotirosina respectivos, con respecto a la banda que se relaciona con la proteína TrkA total. Es evidente que los miméticos inducen muy fuertemente la fosforilación de Y490 y mucho menos que las otras tirosinas. Los niveles de fosforilación de Y490, pero no los de Y674/675 e Y785, inducidos por el mimético son significativamente superiores a los del control ($p < 0,01$).

[0051] El mismo experimento, con resultados similares, se repitió usando clones de fibroblastos NIH-3T3 transfectados de forma estable con ADN que codifica la proteína receptora TrkA humana.

Ejemplo 6

Evaluación de la capacidad de los compuestos de fórmula (I) para inducir un aumento en la expresión de proteína MKP-1

[0052] Las células PC12 se cultivaron en ausencia de suero, exactamente como se ha descrito anteriormente en el ejemplo 5, y a continuación se trataron durante 30 minutos con NGF, a la concentración final de 10 ng/ml, o como alternativa con los compuestos de fórmula (I), a la concentración final de 10 μM ; a continuación, las células se lisaron, y se analizaron por WB, usando anticuerpos específicos para la proteína MKP-1. Los resultados indican que los miméticos eran capaces de inducir un aumento en la síntesis de MKP-1, hasta un alcance similar al observado

con NGF (FIGURA 2). El gel muestra la inducción temprana (20 minutos) de la proteína MKP-1 en células PC12 tratadas con el compuesto mimético o con el NGF humano recombinante. El gráfico muestra la determinación cuantitativa, realizada por medio de densitometría, de la banda de gel se expresa como la proporción de la densidad de la banda de MKP1 con respecto a la β -actina. Los niveles de proteína MKP-1 inducidos por NGF o por el mimético son significativamente superiores que los del control ($p < 0,001$).

Ejemplo 7

Evaluación de la capacidad para inducir la desfosforilación de la proteína p38 MAPK (activada por estrés celular)

[0053] Las células PC12 se cultivaron en ausencia de suero, exactamente como se ha descrito anteriormente en el ejemplo 5, y a continuación se trataron durante 30 minutos con NGF, a la concentración final de 10 ng/ml, o como alternativa con los compuestos de fórmula (I), a la concentración final de 10 μ m; a continuación, las células se lisaron, y se analizaron por WB, usando anticuerpos específicos para la forma fosforilada de la enzima. Los resultados indican que los miméticos inducían de forma invariable la desfosforilación notable de p38 MAPK, como la neurotrofina nativa.

[0054] La Figura 3 muestra nuestra determinación en WB de los niveles de fosforilación de la proteína p38 MAPK en células PC12 expuestas a privación de suero durante 6 horas y posteriormente al mimético (un compuesto de fórmula (I)) o a NGF humano recombinante durante 30 minutos. Se informa de un control de homogeneidad de la carga de proteína en normalización de gel con β -actina. (FIGURA 3).

Ejemplo 8

Evaluación de la actividad de un modelo de isquemia-reperfusión *in vitro* en cardiomiocitos de murino

[0055] Los cardiomiocitos de murino, obtenidos de ratones neonatales o de cultivos continuos de células HL1 (mixoma auricular de murino), se cultivaron por triplicado a la concentración de 4×10^5 /ml en medio RPMI 1640 suplementado con glutamina al 5 %, antibióticos y suero bovino fetal al 10 %, en placas de 24 pocillos, hasta el estado de confluencia. Algunas placas se colocaron a continuación a 37 °C durante 30 minutos en una incubadora que contenía una atmósfera artificial de aire con una presión de oxígeno parcial igual a un 0,5 %; otra partición de células se cultivó en condiciones normales como control negativo.

[0056] Habiendo transcurrido el periodo de cultivo con hipoxia profunda, algunos de los cultivos se sometieron inmediatamente a lisis celular en tampón de RIPA para obtener el material necesario para análisis bioquímico, mientras que otros se cultivaron en presencia o en ausencia de uno de los miméticos a una concentración de 5 μ m, durante un periodo adicional de 3 horas en una atmósfera normal, para evaluar el efecto de la reoxigenación/reperfusión, que a continuación se divisaron como se hizo anteriormente; los lisados se obtuvieron en paralelo a partir de las células de control cultivadas en atmósfera normal. Los tres conjuntos de lisados (hipoxia, hipoxia/reperfusión, control) se procesaron a continuación en WB, obteniendo membranas que se expusieron a anticuerpos específicos para las proteínas p38 MAPK, en forma fosforilada o no fosforilada, MKP-1, Bcl-2, Bcl-xL y, como un control de estandarización, actina. Después de procesamiento adicional para la adquisición de imágenes, se realizó la evaluación cuantitativa de los resultados experimentales.

(FIGURA 4).

[0057] El gráfico muestra los valores de intensidad de las bandas obtenidas en WB con los anticuerpos indicados, mediante análisis de las muestras de células expuestas a isquemia-reperfusión (I/R), en presencia o en ausencia del compuesto mimético, en comparación con células cultivadas en condiciones normales de control. En las muestras tratadas con los miméticos, existe una inducción evidente de la síntesis de proteínas MKP-1 y la consiguiente atenuación de la fosforiladas en de la proteína p38 MAPK. En las mismas condiciones, NGF induce resultados similares.

[0058] Es evidente que había un proceso de fosforilación de la proteína p38 MAPK en la fase de isquemia, en comparación con los controles cultivados en la atmósfera normal; esta activación aumentó adicionalmente después de las tres horas sucesivas de exposición a atmósfera normal, un procedimiento que simula la condición de perfusión. El fenómeno del aumento en la tasa de fosforilación de p38 MAPK estaba controlado en gran medida por la exposición al mimético. Además, de este modo se consideró que el aumento notable de la proteína MKP-1, una fosfatasa específica para la enzima p38 MAPK, que era responsable de la inactivación de la quinasa por sí misma, es evidente en los mismos cultivos tratados.

Ejemplo 9

Evaluación de la eficacia de los compuestos de fórmula (I) en el control del fenómeno apoptótico inducido por la presencia elevada de Especies Reactivas del Oxígeno (ROS)

5 [0059] En otra alícuota de células cultivadas en hipoxia, con o sin tratamiento, tratadas como se ha descrito en el ejemplo 9, se realizaron experimentos para evaluar la eficacia de los miméticos en el control del fenómeno apoptótico inducido por la presencia elevada de Especies Reactivas del Oxígeno (ROS), que a su vez está causado por isquemia y exacerbado por reperfusión. Al final del periodo de reperfusión, las células se tiñeron con Anexina-V etiquetada con fluoresceína durante 10 minutos, se lavaron, se volvieron a suspender en un tampón especial y se analizaron mediante citometría de flujo para destacar las células positivas con respecto al colorante y por lo tanto en fase activa de desarrollo del proceso apoptótico. De forma análoga a los resultados informados anteriormente, los cultivos tratados con NGF o con los compuestos miméticos de fórmula I, capaces de inducir un aumento de la síntesis de MKP-1, mostraban un porcentaje mucho más bajo de células apoptóticas que los controles. Estos datos confirman la capacidad de algunos miméticos para controlar la muerte celular programada inducida por isquemia-reperfusión o por estrés metabólico en el amplio sentido de la palabra.

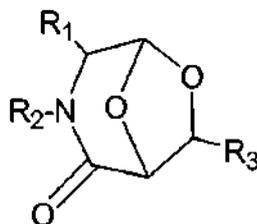
Ejemplo 10

15 Evaluación del efecto de los compuestos I en un modelo *in vivo* de isquemia-reperfusión orgánica

20 [0060] Para los fines de demostrar la eficacia de los miméticos de fórmula (I) para controlar el fenómeno apoptótico inducido por isquemia-reperfusión en un órgano, se usó el modelo de producción de isquemia caliente en riñón murino. En resumen, 6 ratones C57Bl6 macho de ocho semanas de edad se sometieron a cierre unilateral, mediante pinzamiento del hilio renal, para que el órgano mantuviera *in situ* (isquemia "caliente"); esta condición se mantuvo durante 40 minutos, tras lo cual el flujo sanguíneo se restableció. Tres de los animales fueron inyectados con uno de los miméticos de fórmula (I) capaz de inducir un aumento *in vivo* en la síntesis de proteína MKP-1, a una dosis de 1 mg/kg de peso corporal, mientras que los animales restantes fueron inyectados con un volumen similar del tampón usado para solubilizar el compuesto, como control. A continuación, los animales se mantuvieron en observación durante 24 horas y a continuación se sacrificaron. Tanto el órgano sometido a isquemia con el órgano contralateral, como control, se prepararon a continuación para examen histológico, con vistas a determinar la intensidad del daño necrótico y apoptótico inducido por la isquemia-reperfusión, ambos evaluados por medio del uso de la escala usada habitualmente para realizar la clasificación del daño histológico. El análisis extenso de las preparaciones histológicas destacaba un nivel notable de daño celular, tanto necrótico como apoptótico, a las estructuras glomerulares y a las estructuras tubulares, en los órganos de control. En los órganos obtenidos de los animales tratados con el mimético, por otro lado, se producía una reducción notable evidente de la intensidad del daño apoptótico, mientras que los niveles del daño necrótico eran comparables con los de los órganos de control (FIGURA 5). Es evidente que el daño necrótico permanece sustancialmente sin cambiar por tratamiento con el mimético mientras que el daño apoptótico está fuertemente modulado por la actividad farmacológica del compuesto, a niveles estadísticamente significativos ($p < 0,001$). Estas observaciones confirman, incluso en un modelo de isquemia-reperfusión *in vivo*, la eficacia de ciertos miméticos de fórmula 1 en la modulación del daño apoptótico y por lo tanto para inducir el alcance del uso de los mismos para el tratamiento de órganos destinados a trasplante, con los fines de obtener un estado de conservación mejorado de los mismos.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I)



I

5

en la que

10 R_1 se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C_{1-8} , alqueno C_{1-8} , alquino C_{2-8} , cicloalquilo, arilo, heterociclo, -alquil C_{1-8} -arilo, -alquil C_{1-8} -heterociclo, -alquil C_{1-8} - NH_2 , -aril- NH_2 , -alquil C_{1-8} -O-arilo -aril-OH, alquil C_{1-8} -OH, -COOR, -alquil C_{1-8} -OR, metiloxicarbonil-alquilo C_{1-8} , carboalquiloxi-arilo, alquil carbamoil arilo y - (cadenas laterales de aminoácido);

15 R_2 se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C_{1-8} , alqueno C_{2-8} , alquino C_{2-8} , cicloalquilo, arilo, -alquil C_{1-8} -arilo, -alquil C_{1-8} -heterociclo, -alquil C_{1-8} -NRR', -aril-NRR', -alquil C_{1-8} -OR, -alquil C_{1-8} -COOR, -alquil C_{1-8} -OC(O)R, -alquil C_{1-8} -N(R)C(O)R', -aril-OR, -aril-COOR, -aril-COR, -aril-OC(O)R, -aril-N(R)C(O)R', -CH(cadenas laterales de aminoácido)CO₂R, -CH(cadenas laterales de aminoácido)C(O)NR, -CH(CO₂R)-cadenas laterales de aminoácido y CH(CONRR')-cadenas laterales de aminoácido,

R_3 es COOH;

20 R y R', iguales o diferentes entre sí, se seleccionan entre el grupo que consiste en H, alquilo C_{1-8} , alqueno C_{2-8} , alquino C_{2-8} , cicloalquilo, arilo, heterociclo, -alquil C_{1-8} -arilo; -alquil C_{1-8} -heterociclo; grupo protector, -C(O)CH- (cadenas laterales de aminoácido)-NHT, -NH-CH(cadenas laterales de aminoácido)COOT y -CH(cadenas laterales de aminoácido)COOT, en los que T se selecciona entre H y alquilo C_{1-8} ; R y R' combinados entre sí pueden formar un cicloalquilo;

25 y en la que los grupos alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, arilo, heterociclo mencionados anteriormente pueden estar sustituidos con uno o más restos seleccionados entre el grupo que consiste en halógeno, CN, NO₂, NH₂, OH, COOH, CO y alquilo C_{1-6} ;

30 excluyendo los compuestos ácido (1S,5R,7S)-3-etil-2-oxo-6,8-dioxa-3-azabicyclo[3.2.1]octan-7-carboxílico, ácido (1R,5S,7R)-3-(p-metoxibencil)-2-oxo-6,8-dioxa-3-azabicyclo[3.2.1]octan-7-carboxílico, ácido (1R,5S,7R)-3-bencil-2-oxo-6,8-dioxa-3-azabicyclo[3.2.1]octan-7-carboxílico y ácido (1R,5S,7R)-3-(p-fenil)-bencil-2-oxo-6,8-dioxa-3-azabicyclo[3.2.1]octan-7-carboxílico.

2. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que

R_1 se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C_{1-8} , alqueno C_{1-8} , -alquil C_{1-8} -fenilo, -alquil C_{1-8} -OH y -alquil C_{1-8} -OR;

35 R_2 se selecciona del grupo que consiste en arilo, -alquil C_{1-8} -arilo.

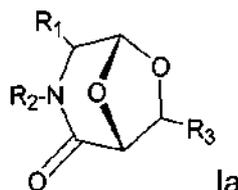
3. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 2, en el que

R_1 es H, Me, =CH₂, CH₂Ph, CH₂OH, CH₂OBn;

R_2 es Ph, CH₂Ph, CHPh₂.

40

4. Compuestos de acuerdo con la reivindicación 2, de fórmula (Ia)

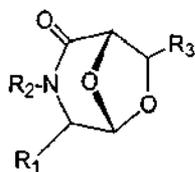


Ia

45 en la que

R₁	R₂	R₃
H	PhCH ₂	(R)-CO ₂ H
H	PhCH ₂	(S)-CO ₂ H
H	CH(Ph) ₂	(R)-CO ₂ H
H	CH(Ph) ₂	(S)-CO ₂ H
H	Ph	(R)-CO ₂ H
H	Ph	(S)-CO ₂ H
(S)-Me	PhCH ₂	(R)-CO ₂ H
(S)-Me	PhCH ₂	(S)-CO ₂ H
(R)-Me	PhCH ₂	(R)-CO ₂ H
(R)-Me	PhCH ₂	(S)-CO ₂ H
H	PhCH ₂	(S)-CO ₂ H
H	CH(Ph) ₂	(R)-CO ₂ H
H	CH(Ph) ₂	(S)-CO ₂ H

5 o de fórmula (Ib)



Ib

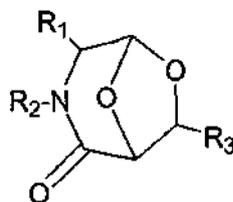
en la que

R₁	R₂	R₃
H	PhCH ₂	(R)-CO ₂ H
H	PhCH ₂	(S)-CO ₂ H
H	CH(Ph) ₂	(R)-CO ₂ H
H	CH(Ph) ₂	(S)-CO ₂ H
H	Ph	(R)-CO ₂ H
H	Ph	(S)-CO ₂ H
(S)-Me	PhCH ₂	(R)-CO ₂ H
(S)-Me	PhCH ₂	(S)-CO ₂ H
(R)-Me	PhCH ₂	(R)-CO ₂ H
(R)-Me	PhCH ₂	(S)-CO ₂ H
(R)-CH ₂ Ph	PhCH ₂	(S)-CO ₂ H
(R)-CH ₂ Ph	PhCH ₂	(R)-CO ₂ H

R ₁	R ₂	R ₃
(S)-CH ₂ Ph	PhCH ₂	(S)-CO ₂ H
(S)-CH ₂ Ph	PhCH ₂	(R)-CO ₂ H
(S)-CH ₂ OBn	PhCH ₂	(R)-CO ₂ H
(S)-CH ₂ OBn	PhCH ₂	(S)-CO ₂ H
(R)-CH ₂ OBn	PhCH ₂	(R)-CO ₂ H
(R)-CH ₂ OBn	PhCH ₂	(S)-CO ₂ H
(S)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(R)-CO ₂ H
(S)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(S)-CO ₂ H
(R)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(R)-CO ₂ H
(R)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(S)-CO ₂ H
=CH ₂	PhCH ₂	(R)-CO ₂ H
=CH ₂	PhCH ₂	(S)-CO ₂ H

5. Un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, que también incluye los compuestos ácido (1S,5R,7S)-3-etil-2-oxo-6,8-dioxa-3-azabicyclo[3.2.1]octan-7-carboxílico, ácido (1R,5S,7R)-3-(p-metoxibencil)-2-oxo-6,8-dioxa-3-azabicyclo[3.2.1]octan-7-carboxílico, ácido (1R,5S,7R)-3-Bencil-2-oxo-6,8-dioxa-3-azabicyclo[3.2.1]octan-7-carboxílico y ácido (1R,5S,7R)-3-(p-fenil)-bencil-2-oxo-6,8-dioxa-3-azabicyclo[3.2.1]octan-7-carboxílico para su uso como medicamento.

6. Un compuesto de fórmula (I)



I

10

en la que

15 R₁ se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C₁₋₈, alquenido C₁₋₈, alquinilo C₂₋₈, cicloalquilo, arilo, heterociclo, -alquil C₁₋₈-arilo, -alquil C₁₋₈-heterociclo, -alquil C₁₋₈-NH₂, -aril-NH₂, -alquil C₁₋₈-O-arilo, -aril-OH, alquil C₁₋₈-OH, -COOR, -alquil C₁₋₈-OR, metiloxycarbonil-alquilo C₁₋₈, carboalquiloxi-arilo, alquil carbamoil arilo y - (cadenas laterales de aminoácido);

20 R₂ se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C₁₋₈, alquenido C₂₋₈, alquinilo C₂₋₈, cicloalquilo, arilo, -alquil C₁₋₈-arilo, -alquil C₁₋₈-heterociclo, -alquil C₁₋₈-NRR', -aril-NRR', -alquil C₁₋₈-OR, -alquil C₁₋₈-COOR, -alquil C₁₋₈-OC(O)R, -alquil C₁₋₈-N(R)C(O)R', -aril-OR, -aril-COOR, -aril-COR, -aril-OC(O)R, -aril-N(R)C(O)R', -CH(cadenas laterales de aminoácido)CO₂R, -CH(cadenas laterales de aminoácido)C(O)NR, -CH(CO₂R)-cadenas laterales de aminoácido y CH(CONRR')-cadenas laterales de aminoácido,

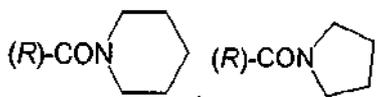
25 R₃ se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C₁₋₈, alquenido C₂₋₈, alquinilo C₂₋₈, cicloalquilo, arilo, -alquil C₁₋₈-arilo, heterociclo, -alquil C₁₋₈-heterociclo; -C(O)R, -C(O)OR, -C(O)NRR', CH₂OR, CH₂NRR', -C(O)NH-CH(cadenas laterales de aminoácido)C(O)OR, CH₂NR-Fmoc, CH₂NR-Boc y CH₂NR-CBz,

30 R y R', iguales o diferentes entre sí, se seleccionan entre el grupo que consiste en H, alquilo C₁₋₈, alquenido C₂₋₈, alquinilo C₂₋₈, cicloalquilo, arilo, heterociclo, -alquil C₁₋₈-arilo; -alquil C₁₋₈-heterociclo; grupo protector, -C(O)CH-(cadenas laterales de aminoácido)-NHT, -NH-CH(cadenas laterales de aminoácido)COOT y -CH(cadenas laterales de aminoácido)COOT, en los que T se selecciona entre H y alquilo C₁₋₈; R y R' combinados entre sí pueden formar un cicloalquilo;

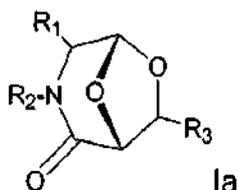
y en la que los grupos alquilo, alquenido, alquinilo, cicloalquilo, arilo, heterociclo mencionados anteriormente pueden estar sustituidos con uno o más grupos seleccionados entre el grupo que consiste en halógeno, CN, NO₂, NH₂, OH, COOH, CO y alquilo C₁₋₆; para su uso en el tratamiento de patologías relacionadas con isquemia-

reperusión o para su uso en procedimientos médicos que implican isquemia-reperusión.

7. El compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 6, en el que R₁ se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo C₁₋₈, alqueno C₁₋₈, -alquilfenilo C₁₋₈, -alquil C₁₋₈-OH y -alquil C₁₋₈-OR;
- 5 R₂ se selecciona del grupo que consiste en arilo y -alquil C₁₋₈-arilo;
 R₃ se selecciona del grupo que consiste en C(O)OR, -C(O)NRR';
 R y R', iguales o diferentes entre sí, se seleccionan entre el grupo que consiste en H, alquilo C₁₋₈, -alquil C₁₋₈-NH₂, --alquil C₁₋₈-OH; R y R' combinados entre sí pueden formar un cicloalquilo.
- 10 8. El compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, en el que
 R₁ es H, Me, =CH₂, CH₂Ph, CH₂OH, CH₂OBn;
 R₂ es Ph, CH₂Ph, CHPh₂;
 R₃ es COOH, COOMe, CONHCH₂CH₂NH₂, CONHCH₂CH₂OH,



9. El compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 8, **caracterizado por** la fórmula (Ia)

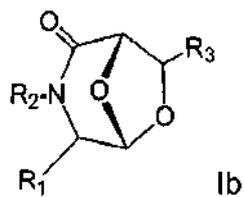


20 en la que

Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃
1	H	PhCH ₂	(R)-CO ₂ Me
2	H	PhCH ₂	(S)-CO ₂ Me
3	H	PhCH ₂	(R)-CON
4	H	PhCH ₂	(R)-CON
5	H	PhCH ₂	(R)-CO ₂ H
6	H	PhCH ₂	(S)-CO ₂ H
7	H	CH(Ph) ₂	(R)-CO ₂ H
8	H	CH(Ph) ₂	(S)-CO ₂ H
9	H	Ph	(R)-CO ₂ H
10	H	Ph	(S)-CO ₂ H
11	H	PhCH ₂	(R)-CONH(CH ₂) ₂ NH ₂
12	H	PhCH ₂	(R)-CONH(CH ₂) ₂ OH
13	(S)-Me	PhCH ₂	(R)-CO ₂ Me
14	(S)-Me	PhCH ₂	(S)-CO ₂ Me

Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃
15	(<i>R</i>)-Me	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ Me
16	(<i>R</i>)-Me	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ Me
17	(<i>R</i>)-CH ₂ Ph	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ Me
18	(<i>R</i>)-CH ₂ Ph	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ Me
19	(<i>S</i>)-CH ₂ Ph	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ Me
20	(<i>S</i>)-CH ₂ Ph	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ Me
21	(<i>S</i>)-CH ₂ OBn	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ Me
22	(<i>S</i>)-CH ₂ OBn	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ Me
23	(<i>R</i>)-CH ₂ OBn	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ Me
24	(<i>R</i>)-CH ₂ OBn	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ Me
25	(<i>S</i>)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ Me
26	(<i>S</i>)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ Me
27	(<i>R</i>)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ Me
28	(<i>R</i>)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ Me
29	=CH ₂	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ Me
30	=CH ₂	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ Me
31	(<i>S</i>)-Me	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ H
32	(<i>S</i>)-Me	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ H
33	(<i>R</i>)-Me	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ H
34	(<i>R</i>)-Me	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ H
35	(<i>R</i>)-CH ₂ Ph	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ H
36	(<i>R</i>)-CH ₂ Ph	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ H
37	(<i>S</i>)-CH ₂ Ph	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ H
38	(<i>S</i>)-CH ₂ Ph	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ H
39	(<i>S</i>)-CH ₂ OBn	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ H
40	(<i>S</i>)-CH ₂ OBn	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ H
41	(<i>R</i>)-CH ₂ OBn	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ H
42	(<i>R</i>)-CH ₂ OBn	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ H
43	(<i>S</i>)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ H
44	(<i>S</i>)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ H
45	(<i>R</i>)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ H
46	(<i>R</i>)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ H
47	=CH ₂	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ H
48	=CH ₂	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ H

o caracterizado por la fórmula (Ib)



en la que

Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃
49	H	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ Me
50	H	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ Me
51	H	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CON 
52	H	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CON 
53	H	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ N
54	H	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ H
55	H	CH(Ph) ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ H
56	H	CH(Ph) ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ H
57	H	Ph	(<i>R</i>)-CO ₂ H
58	H	Ph	(<i>S</i>)-CO ₂ H
59	H	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CONH(CH ₂) ₂ NH ₂
60	H	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CONH(CH ₂) ₂ OH
61	(<i>S</i>)-Me	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ Me
62	(<i>S</i>)-Me	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ Me
63	(<i>R</i>)-Me	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ Me
64	(<i>R</i>)-Me	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ Me
65	(<i>R</i>)-CH ₂ Ph	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ Me
66	(<i>R</i>)-CH ₂ Ph	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ Me
67	(<i>S</i>)-CH ₂ Ph	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ Me
68	(<i>S</i>)-CH ₂ Ph	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ Me
69	(<i>S</i>)-CH ₂ OBn	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ Me
70	(<i>S</i>)-CH ₂ OBn	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ Me
71	(<i>R</i>)-CH ₂ OBn	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ Me
72	(<i>R</i>)-CH ₂ OBn	PhCH ₂	(<i>S</i>)-CO ₂ Me
73	(<i>S</i>)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(<i>R</i>)-CO ₂ Me

Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃
74	(S)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(S)-CO ₂ Me
75	(R)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(R)-CO ₂ Me
76	(R)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(S)-CO ₂ Me
77	=CH ₂	PhCH ₂	(R)-CO ₂ Me
78	=CH ₂	PhCH ₂	(S)-CO ₂ Me
79	(S)-Me	PhCH ₂	(R)-CO ₂ H
80	(S)-Me	PhCH ₂	(S)-CO ₂ H
81	(R)-Me	PhCH ₂	(R)-CO ₂ H
82	(R)-Me	PhCH ₂	(S)-CO ₂ H
83	(R)-CH ₂ Ph	PhCH ₂	(S)-CO ₂ H
84	(R)-CH ₂ Ph	PhCH ₂	(R)-CO ₂ H
85	(S)-CH ₂ Ph	PhCH ₂	(S)-CO ₂ H
86	(S)-CH ₂ Ph	PhCH ₂	(R)-CO ₂ H
87	(S)-CH ₂ OBn	PhCH ₂	(R)-CO ₂ H
88	(S)-CH ₂ OBn	PhCH ₂	(S)-CO ₂ H
89	(R)-CH ₂ OBn	PhCH ₂	(R)-CO ₂ H
90	(R)-CH ₂ OBn O	PhCH ₂	(S)-CO ₂ H
91	(S)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(R)-CO ₂ H
92	(S)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(S)-CO ₂ H
93	(R)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(R)-CO ₂ H
94	(R)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(S)-CO ₂ H
95	=CH ₂	PhCH ₂	(R)-CO ₂ H
96	=CH ₂	PhCH ₂	(S)-CO ₂ H

10. El compuesto para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 6-9, en las que dichas patologías o procedimientos médicos se seleccionan entre:

- 5 - isquemia de miocardio aguda;
 - isquemia del sistema nervioso central (SNC) causada por trombosis o embolia en sectores cerebrales de las arterias intracraneales o por parada cardiaca, lo que implica la interrupción permanente o temporal del flujo sanguíneo en algunos sectores de las arterias cerebrales o en todo el encéfalo;
 10 - todas las demás patologías sistémicas **caracterizadas por** reducción o parada del flujo sanguíneo seguido de posterior restablecimiento del influjo de oxígeno/nutrientes al tejido;
 - afecciones de hipoxia del tejido cerebral en las que los niveles normales de oxigenación se pueden restablecer mediante intervención médica tal como por ejemplo, envenenamiento o ahogamiento por monóxido de carbono;
 - otro daño tisular causado por hipoxia, isquemia o traumatismo, capaz de causar muerte por apoptosis o autofagia, hasta el punto de generar lesiones anatómicas y funcionales significativas.

15 11. Los compuestos para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 6-9, en las que dichas patologías o procedimientos médicos se seleccionan entre:

- 20 - procedimientos quirúrgicos en los que la operación conlleva el cierre temporal de ciertos sectores arteriales, tal como ocurre por ejemplo en la cirugía de ablación de tumor renal;
 - protocolos de explante, conservación y reimplante de órganos destinados a trasplante, tales como riñones, corazón, pulmón, hígado, intestino, etc.;
 - encefalopatía traumática crónica (ETC).

12. Una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 6-11.

5 13. Un medio de cultivo celular que comprende al menos un compuesto de fórmula (I) como se describe en una cualquiera de las reivindicaciones 6-9.

10 14. Un medio de almacenamiento para la conservación de órganos explantados destinados a trasplante, comprendiendo dicho medio de almacenamiento al menos un compuesto de fórmula (I) como se describe en una cualquiera de las reivindicaciones 6-9.

15 15. Un compuesto de fórmula (I), como se describe en una cualquiera de las reivindicaciones 6-9, etiquetado con un reactivo adecuado, para su uso en cualquier procedimiento útil con fines de formación de imágenes médicas, para análisis para la formación de imágenes de tejidos y órganos *in vitro* o *in vivo*, para la evaluación y cuantificación de lesión por isquemia-reperfusión y para controlar el uso y eficacia de fármacos.

Figura 1

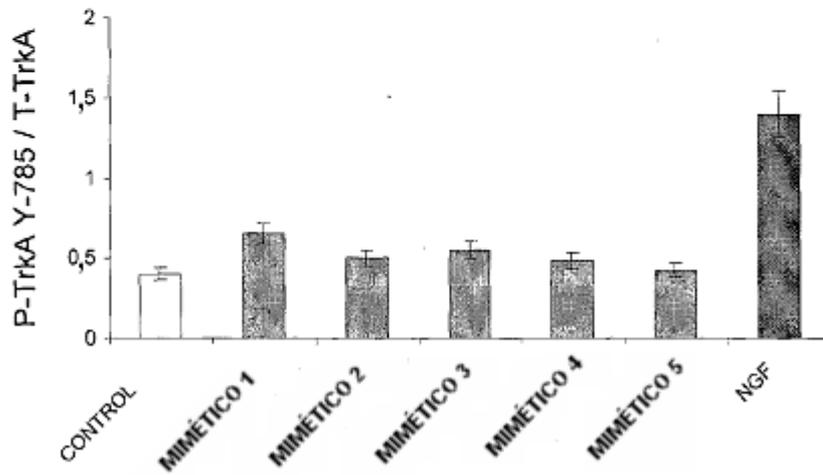
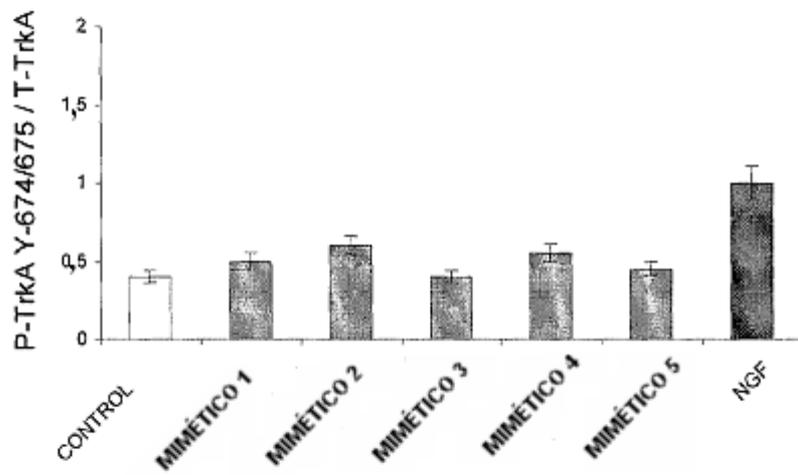
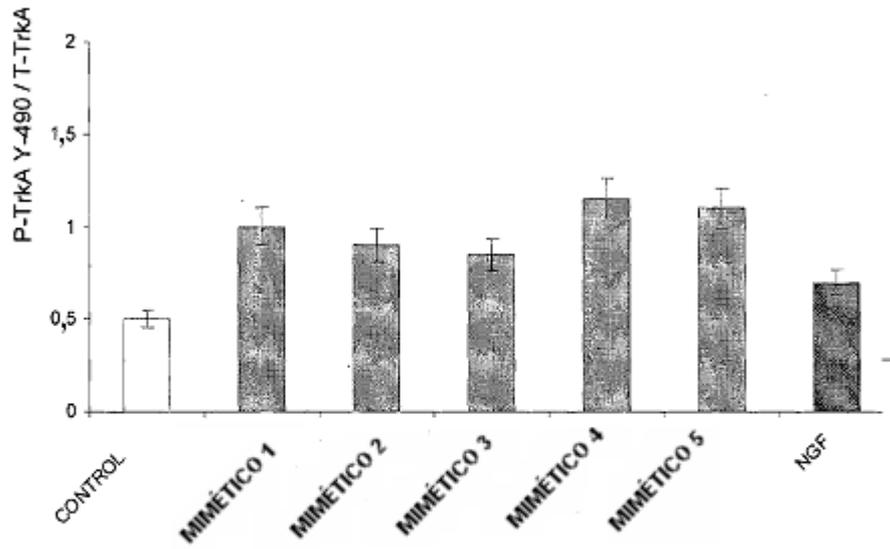


Figura 2

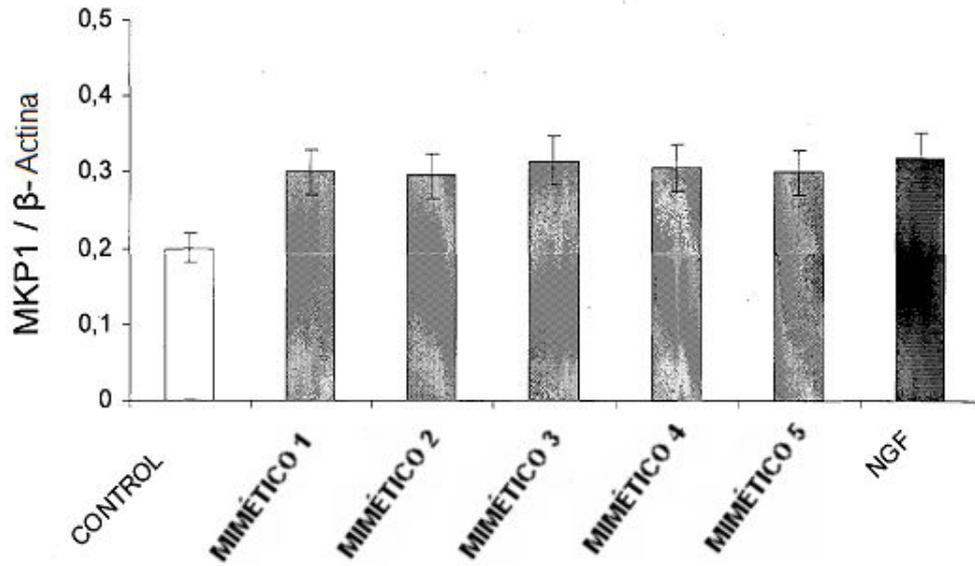
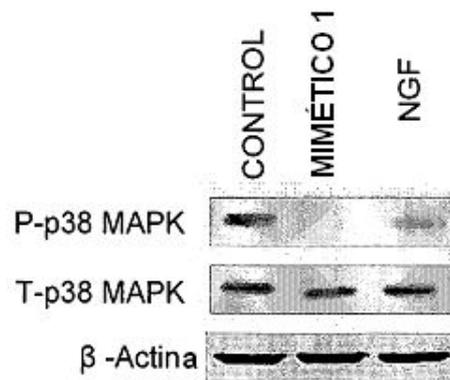


Figura 3



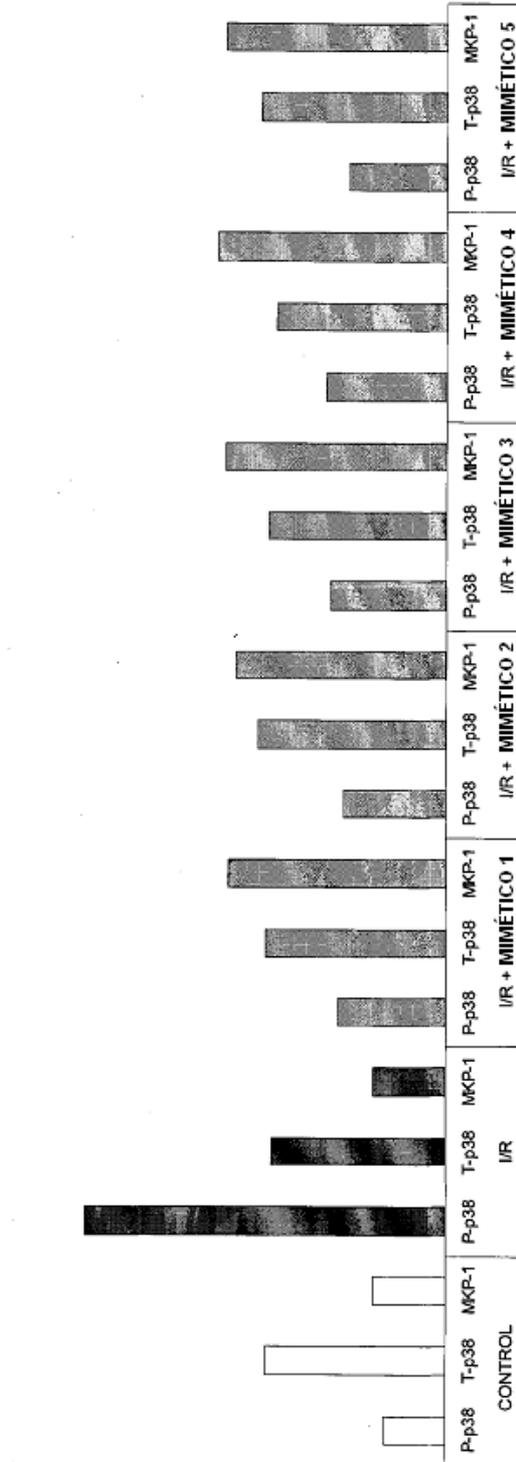


FIGURA 4

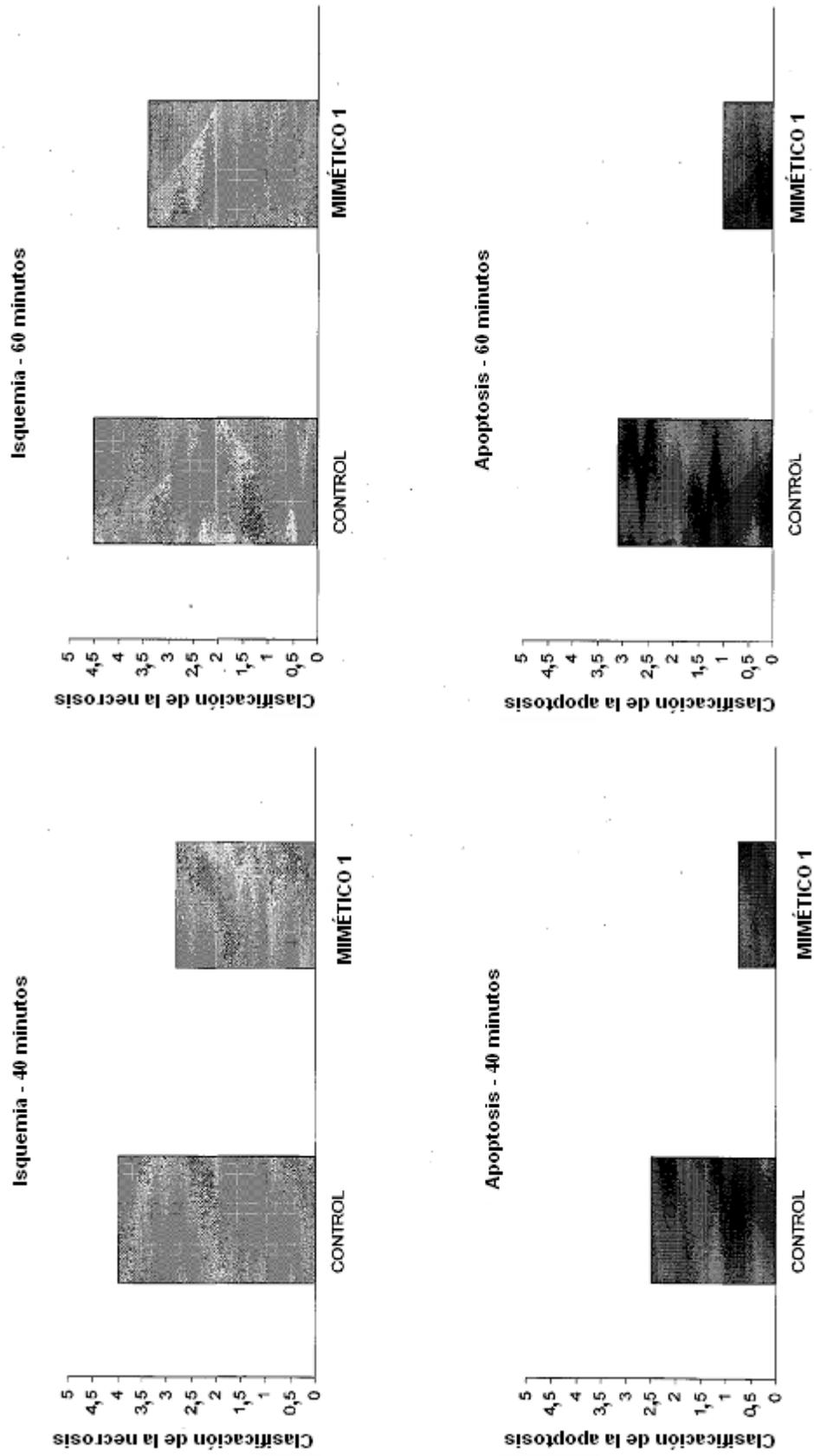


FIGURA 5