

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 615 389**

51 Int. Cl.:

C07C 217/72 (2006.01)

A61K 31/137 (2006.01)

A61P 27/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.10.2008 PCT/US2008/011421**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.04.2009 WO09045479**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.10.2008 E 08832784 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.12.2016 EP 2091955**

54 Título: **Alcoxifenilpropilaminas para el tratamiento de la degeneración macular relacionada con la edad**

30 Prioridad:

05.10.2007 US 977957 P

19.02.2008 US 66353 P

07.04.2008 US 43127 P

08.05.2008 US 51657 P

09.06.2008 US 60083 P

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

06.06.2017

73 Titular/es:

ACUCELA, INC. (100.0%)

21720-23RD DRIVE SE, SUITE 120

BOTHELL, WA 98021, US

72 Inventor/es:

SCOTT, IAN L.;

KUKSA, VLADIMIR A.;

ORME, MARK W.;

LITTLE, THOMAS;

GALL, ANNA y

HONG, FENG

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 615 389 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

Alcoxifenilpropilaminas para el tratamiento de la degeneración macular relacionada con la edad

Antecedentes

5 Las enfermedades neurodegenerativas, tales como el glaucoma, la degeneración macular y la enfermedad de Alzheimer, afectan a millones de pacientes en todo el mundo. Ya que la pérdida de calidad de vida asociada a estas enfermedades es considerable, la investigación y desarrollo de fármacos en esta área son de gran importancia.

10 La degeneración macular relacionada con la edad (DMS) afecta a entre diez y quince millones de pacientes en los Estados Unidos y es la causa principal de ceguera en las poblaciones envejecidas de todo el mundo. La DMS afecta a la visión central y provoca la pérdida de células fotorreceptoras en la parte central de la retina denominada mácula. La degeneración macular se puede clasificar en dos tipos: forma seca y forma húmeda. La forma seca es más corriente que la húmeda; a aproximadamente el 90% de los pacientes con degeneración macular relacionada con la edad se les diagnostica la forma seca. La forma húmeda de la enfermedad y la atrofia geográfica, que es el fenotipo que desarrollan la forma húmeda de la DMS se cree que han desarrollado previamente la forma seca de la DMS durante un periodo prolongado de tiempo. Todavía se desconocen las causas exactas de la DMS. La forma seca de la DMS puede ser el resultado de la senescencia y del adelgazamiento de los tejidos maculares asociados al depósito de pigmento en el epitelio pigmentario retiniano macular. En la forma húmeda de la DMS, crecen nuevos vasos sanguíneos por debajo de la retina, se forma tejido de cicatrización, sangran y hay fugas de líquido. La retina que los recubre puede quedar dañada gravemente, lo que crea áreas «ciegas» en la visión central.

20 Para la inmensa mayoría de los pacientes que tienen la forma seca de la DMS, todavía no hay disponible ningún tratamiento eficaz. Ya que la forma seca de la DMS precede al desarrollo de la forma húmeda de la DMS, la intervención terapéutica para impedir o retrasar la progresión de la enfermedad en la forma seca de la DMS beneficiaría a los pacientes con la forma seca de DMS y podría reducir la incidencia de la forma húmeda de la DMS.

25 La pérdida de visión que nota el paciente o los rasgos característicos detectados por un oftalmólogo durante una exploración ocular convencional podrían ser el primer indicador de DMS. La formación de «drusas» o material de desecho membranoso por debajo del epitelio pigmentario retiniano de la mácula a menudo es el primer signo físico de que se está desarrollando la DMS. Los síntomas tardíos incluyen la percepción de distorsión de las líneas rectas y, en los casos avanzados, la aparición de un área oscura y borrosa, o de un área con falta de visión, en el centro del campo visual; y/o los posibles cambios en la percepción del color.

30 Se podrían producir formas diferentes de degeneraciones maculares de base genética en los pacientes más jóvenes. En otras maculopatías, los factores de la enfermedad son hereditarios, nutricionales, traumáticos, por infección u otros factores ecológicos.

35 El glaucoma es un término amplio que se utiliza para describir un grupo de enfermedades que ocasiona una pérdida progresiva y lenta del campo visual, normalmente sin síntomas. La falta de síntomas podría retrasar el diagnóstico del glaucoma hasta las etapas finales de la enfermedad. Se estima que la prevalencia del glaucoma es de 2,2 millones en los Estados Unidos, de los que aproximadamente 120.000 casos de ceguera serían atribuibles a la afección. La enfermedad es particularmente prevalente en Japón, donde se han notificado cuatro millones de casos. En muchas partes del mundo, el tratamiento es menos accesible que en los Estados Unidos y en Japón, por lo que el glaucoma se coloca como la causa principal de ceguera en el mundo. Incluso aunque los sujetos afectados con glaucoma no lleguen a quedarse ciegos del todo, su visión a menudo queda gravemente deteriorada.

40 La pérdida progresiva del campo visual periférico en el glaucoma está ocasionado por la muerte de células ganglionares de la retina. Las células ganglionares son un tipo específico de neuronas de proyección que conectan el ojo con el cerebro. El glaucoma suele venir acompañado de un incremento de la presión intraocular. El tratamiento actual incluye el uso de fármacos que disminuyen la presión intraocular; sin embargo, los métodos contemporáneos para disminuir la presión intraocular resultan a menudo insuficientes para detener completamente la progresión de la enfermedad. Se cree que las células ganglionares son sensibles a la presión y podrían sufrir la degeneración permanente antes de disminuir la presión intraocular. Se observan un número creciente de casos de glaucoma con normotensión en los que se degeneran las células ganglionares sin que se observe un incremento de la presión intraocular. Los fármacos actuales contra el glaucoma sólo tratan la presión intraocular y son ineficaces a la hora de impedir o revertir la degeneración de las células ganglionares.

45 Los resultados recientes sugieren que el glaucoma es una enfermedad neurodegenerativa, similar a la enfermedad de Alzheimer y a la enfermedad de Parkinson del cerebro, excepto en que afecta específicamente a las neuronas retinianas. Las neuronas retinianas del ojo se originan a partir de las neuronas del diencefalo del cerebro. Aunque a menudo se piensa erróneamente que las neuronas retinianas no son parte del cerebro, las células retinianas son componentes clave del sistema nervioso central al interpretar las señales que proceden de las células que perciben la luz.

55 La enfermedad de Alzheimer (EA) es la forma más frecuente de demencia entre los ancianos. La demencia es un

trastorno del cerebro que afecta gravemente a la capacidad que tiene una persona para realizar las actividades diarias. El alzhéimer es una enfermedad que afecta a cuatro millones de personas solo en los Estados Unidos. Se caracteriza por una pérdida de las células nerviosas en las áreas del cerebro que son vitales para la memoria y para otras funciones mentales. En la actualidad, los fármacos disponibles consiguen mejorar los síntomas de la EA durante un periodo relativamente limitado de tiempo, pero no disponemos de fármacos que traten la enfermedad o que detengan completamente el declive progresivo de la función mental. La investigación reciente sugiere que los neuroglíocitos que soportan las neuronas o las células nerviosas podrían tener defectos en los pacientes con la EA, pero la causa de la EA sigue sin conocerse. Los individuos con EA parecen tener una incidencia mayor de glaucoma y degeneración macular relacionada con la edad, lo que indica que una patogenia similar podría ser la base de estas enfermedades neurodegenerativas del ojo y del cerebro (véase Giasson et al., *Free Radic. Biol. Med.* 32: 1264-75 (2002); Johnson et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99: 11830-35 (2002); Dentchevet et al., *Mol. Vis.* 9: 184-90 (2003)).

La muerte celular neuronal está en la base patológica de estas enfermedades. Por desgracia, se han descubierto muy pocas composiciones y métodos que estimulen la supervivencia de las células neuronales retinianas, en particular la supervivencia de las células fotorreceptoras. Por lo tanto, existe una necesidad de identificar y desarrollar composiciones que se puedan utilizar para el tratamiento y la prevención de una serie de enfermedades y trastornos retinianos que tienen la muerte de las células neuronales como un elemento primario, u asociado, en su patogenia.

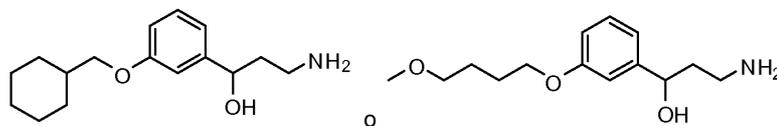
En las células fotorreceptoras de los vertebrados, la irradiación de un fotón ocasiona la isomerización del cromóforo 11-*cis*-retinilideno en todo-*trans*-retinilideno y el desacoplamiento de los receptores visuales de la opsina. Esta fotoisomerización desencadena los cambios conformacionales de las opsinas que, a su vez, inician la cadena bioquímica de las reacciones, denominada fototransducción (Filipek et al., *Annu. Rev. Physiol.* 65: 851-79 (2003)). La regeneración de los pigmentos visuales necesita que el cromóforo se devuelva a la configuración 11-*cis* en los procesos denominados en su conjunto ciclo (visual) retinoide (véase, p. ej., McBee et al., *Prog. Retin. Eye Res.* 20: 469-52 (2001)). Primero se desconecta el cromóforo de la opsina y se reduce en el fotorreceptor mediante las retinol deshidrogenasas. El producto, todo-*trans*-retinol, queda atrapado en el epitelio pigmentario de la retina (EPR) adyacente en forma de ésteres de ácidos grasos insolubles en las estructuras subcelulares conocidas como retinosomas (Imanishi et al., *J. Cell Biol.* 164: 373-87 (2004)).

En la enfermedad de Stargardt (Allikmets et al., *Nat. Genet.* 15: 236-46 (1997)), una enfermedad asociada a mutaciones en el transportador ABCR que actúa como una flipasa (volteasa), la acumulación de todo-*trans*-retinal podría ser responsable de la formación de un pigmento lipofuscínico, la A2E, que es tóxico para las células epiteliales pigmentarias de la retina y ocasiona la degeneración progresiva de la retina y, en consecuencia, la pérdida de visión (Mata et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97: 7154-59 (2000); Weng et al., *Cell* 98: 13-23 (1999)). El tratamiento de los pacientes con un inhibidor de las retinol deshidrogenasas, el 13-*cis*-RA (isotretinoína, Accutane®, Roche), se ha considerado que es una terapia que podría impedir o enlentecer la formación de la A2E y podría tener propiedades protectoras para mantener la visión normal (Radu et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100: 4742-47 (2003)). El 13-*cis*-RA se ha utilizado para enlentecer la síntesis del 11-*cis*-retinal al inhibir la 11-*cis*-RDH (Law et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 161: 825-9 (1989)), pero su uso también puede estar asociado a una ceguera nocturna significativa. Otros han propuesto que la función del 13-*cis*-RA es impedir la regeneración del cromóforo mediante su fijación a RPE65, una proteína esencial para el proceso de isomerización en el ojo (Gollapalli et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101: 10030-35 (2004)). Gollapalli et al. han descrito que el 13-*cis*-RA bloqueó la formación de A2E y sugirieron que este tratamiento podría inhibir la acumulación de lipofuscina y, así pues, retrasar el comienzo de la pérdida de visión en la enfermedad de Stargardt o bien de la degeneración macular relacionada con la edad, dos procesos asociados a la acumulación de lipofuscina asociada con el pigmento retiniano. Sin embargo, el bloqueo del ciclo retinoide y la formación de una opsina sin ligar podría tener consecuencias más graves y empeorar el pronóstico del paciente (véase, p. ej., Van Hooser et al., *J. Biol. Chem.* 277: 19173-82 (2002); Woodruff et al., *Nat. Genet.* 35: 158-164 (2003)). Que el cromóforo no consiga formarse podría conducir a una degeneración retiniana progresiva y podría producir un fenotipo parecido al de la amaurosis congénita de Leber (ACL), que es una afección genética muy rara que afecta a los niños poco después de nacer.

La solicitud de patente internacional WO 2007038372 describe determinadas alcoxifenilalquilaminas útiles para el tratamiento de oftalmopatías. La patente de los EE. UU. US 5.049.587 describe aminofenilalquilaminas útiles para el tratamiento del glaucoma.

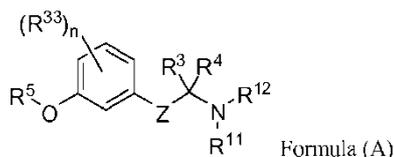
Existe una necesidad en la técnica de un tratamiento eficaz para tratar las enfermedades oftálmicas o los trastornos que se deben a la disfunción oftálmica, entre ellos los que se describen más arriba. En particular, existe una necesidad acuciante de composiciones y métodos para tratar la enfermedad de Stargardt y la degeneración macular relacionada con la edad (DMS) sin ocasionar otros efectos secundarios indeseados, tales como la degeneración retiniana progresiva, afecciones de tipo ACL, ceguera nocturna o deficiencia sistémica de vitamina A. También existe en la técnica una necesidad de tratamientos eficaces para otras enfermedades y trastornos oftálmicos que afectan de manera adversa a la retina.

La presente invención se refiere a un compuesto que tiene la estructura:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 5 También se describe en la presente memoria, pero no es parte de la invención, un compuesto de fórmula (A) o un tautómero, estereoisómero, isómero geométrico o un solvato, hidrato, sal, *N*-óxido o profármaco del mismo farmacéuticamente aceptable:



en la que

Z es $-C(R^9)(R^{10})-C(R^1)(R^2)-$, $-X-C(R^{31})(R^{32})-$, $-C(R^9)(R^{10})-C(R^1)(R^2)-C(R^{36})(R^{37})-$ o $-X-C(R^{31})(R^{32})-C(R^1)(R^2)-$;

- 10 R^1 y R^2 se seleccionan cada una independientemente de hidrógeno, halógeno, alquilo (C_1-C_5), fluoroalquilo, $-OR^6$ o $-NR^7R^8$; o R^1 y R^2 forman juntos un oxo;

R^{31} y R^{32} se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno, alquilo (C_1-C_5) o fluoroalquilo;

- 15 R^{36} y R^{37} se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno, halógeno, alquilo (C_1-C_5), fluoroalquilo, $-OR^6$ o $-NR^7R^8$; o R^{36} y R^{37} forman juntos un oxo; u opcionalmente, R^{36} y R^1 forman juntos un enlace directo para proporcionar un doble enlace; u opcionalmente, R^{36} y R^1 forman juntos un enlace directo, y R^{37} y R^2 forman juntos un enlace directo para proporcionar un triple enlace;

R^3 y R^4 se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno, alquilo, alqueno, fluoroalquilo, arilo, heteroarilo, carbociclilo o heterociclilo unido a C; o R^3 y R^4 junto con el átomo de carbono al cual se unen forman un carbociclilo o heterociclilo; o R^3 y R^4 forman juntos un imino;

- 20 R^5 es alquilo (C_5-C_{15}) o carbociclialquilo;

R^7 y R^8 se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno, alquilo, carbociclilo, heterociclilo, $-C(=O)R^{13}$, SO_2R^{13} , CO_2R^{13} o $SO_2NR^{24}R^{25}$; o R^7 y R^8 , junto con el átomo de nitrógeno al cual se unen, forman un *N*-heterociclilo;

X es $-O-$, $-S-$, $-S(=O)-$, $-S(=O)_2-$, $-N(R^{30})-$, $-C(=O)-$, $-C(=CH_2)-$, $-C(=N-NR^{35})-$, o $-C(=N-OR^{35})-$;

- 25 R^9 y R^{10} se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno, halógeno, alquilo, fluoroalquilo, $-OR^{19}$, $-NR^{20}R^{21}$ o carbociclilo; o R^9 y R^{10} forman un oxo; u opcionalmente, R^9 y R^1 forman juntos un enlace directo para proporcionar un doble enlace; u opcionalmente, R^9 y R^1 forman juntos un enlace directo, y R^{10} y R^2 forman juntos un enlace directo para proporcionar un triple enlace;

- 30 R^{11} y R^{12} se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno, alquilo, carbociclilo, $-C(=O)R^{23}$, $-C(NH)NH_2$, SO_2R^{23} , CO_2R^{23} o $SO_2NR^{26}R^{27}$; o R^{11} y R^{12} , junto con el átomo de nitrógeno al cual se unen, forman un *N*-heterociclilo;

R^{13} , R^{22} y R^{23} se seleccionan cada uno independientemente de alquilo, heteroalquilo, alqueno, arilo, aralquilo, carbociclilo, heteroarilo o heterociclilo;

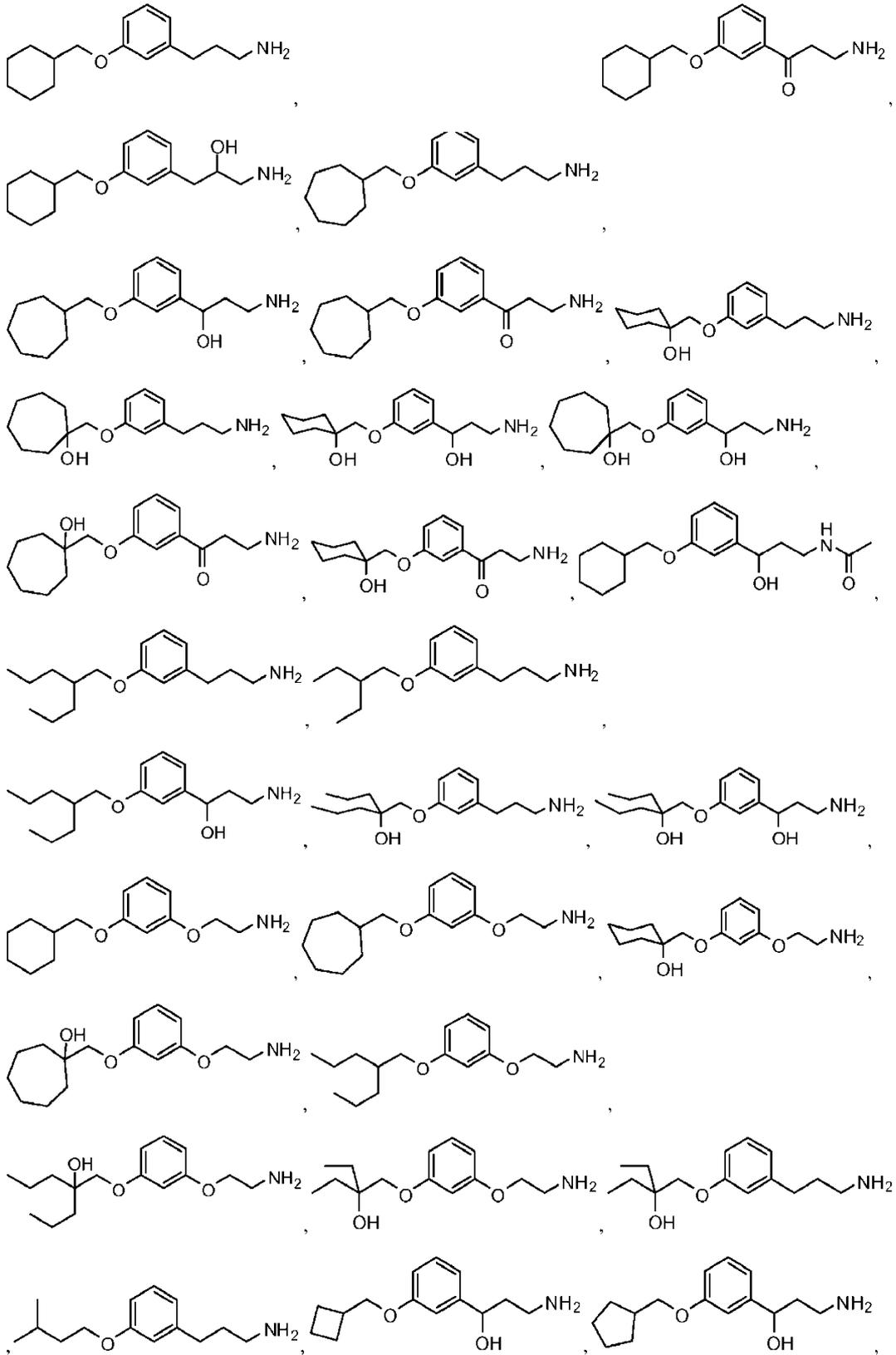
R^6 , R^{19} , R^{30} , R^{34} y R^{35} son cada uno independientemente hidrógeno o alquilo;

- 35 R^{20} y R^{21} se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno, alquilo, carbociclilo, heterociclilo, $-C(=O)R^{22}$, SO_2R^{22} , CO_2R^{22} o $SO_2NR^{26}R^{27}$; o R^{20} y R^{21} , junto con el átomo de nitrógeno al cual se unen, forman un *N*-heterociclilo; y

R^{24} , R^{25} , R^{26} , R^{27} , R^{28} y R^{29} se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno, alquilo, alqueno, fluoroalquilo, arilo, heteroarilo, carbociclilo o heterociclilo;

- 40 cada R^{33} se selecciona de forma independiente de halógeno, OR^{34} , alquilo o fluoroalquilo; y n es 0, 1, 2, 3 o 4; siempre y cuando R^5 no es 2-(ciclopropil)-1-etilo o un alquilo normal no sustituido.

También se describe en la presente memoria, pero no son parte de la invención, los compuestos de fórmula (A), seleccionados del grupo que consiste en:



- aproximadamente 1 semana a temperatura ambiente. En un caso específico, el compuesto inhibe la producción de 11-*cis*-retinol con una CI_{50} de aproximadamente 100 nM o menor cuando se ensaya *in vitro*, con el uso del extracto de células que expresan RPE65 y LRAT, en donde el extracto comprende además CRALBP, en donde el compuesto es estable en solución durante al menos aproximadamente 1 semana a temperatura ambiente. En otro caso más, el compuesto inhibe la producción de 11-*cis*-retinol con una CI_{50} de aproximadamente 10 nM o menor cuando se ensaya *in vitro*, con el uso del extracto de células que expresan RPE65 y LRAT, en donde el extracto comprende además CRALBP, en donde el compuesto es estable en solución durante al menos aproximadamente 1 semana, 1 mes, 2 meses, 4 meses, 6 meses, 8 meses, 10 meses, 1 año, 2 años, 5 años o más, a temperatura ambiente.
- En un caso adicional, es un compuesto no retinoide que inhibe una reacción de la isomerasa que da lugar a la producción del 11-*cis* retinol, en donde dicha reacción isomérica se produce en el EPR, y en donde dicho compuesto tiene un valor de DE_{50} de 1 mg/kg o menor cuando se administra a un sujeto. En otro caso más, es un compuesto no retinoide en donde el valor de DE_{50} se mide después de administrar una dosis única del compuesto a dicho sujeto durante aproximadamente 2 horas o más. En un caso adicional, el compuesto es un compuesto con la amina unida a alcoxifenilo. En otro caso más, el compuesto es un compuesto no retinoide.
- En otro caso, es una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un compuesto que inhibe la producción de 11-*cis*-retinol con una CI_{50} de aproximadamente 1 μ M o menor cuando se ensaya *in vitro*, con el uso de extracto de células que expresan RPE65 y LRAT, en donde el extracto comprende además CRALBP, en donde el compuesto es estable en solución durante al menos aproximadamente 1 semana a temperatura ambiente. En un caso adicional, es una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un compuesto no retinoide que inhibe una reacción de la isomerasa que da lugar a la producción de 11-*cis* retinol, en donde dicha reacción isomérica se produce en el EPR, y en donde dicho compuesto tiene un valor de DE_{50} de 1 mg/kg o menor cuando se administra a un sujeto.
- En otro caso, la presente invención da a conocer un método para modular el flujo de cromóforos en un ciclo retinoide que comprende introducir en un sujeto un compuesto descrito en la presente memoria, que incluye un compuesto de fórmula (A). En otro caso, el método da lugar a que se reduzca la acumulación del pigmento de lipofuscina en un ojo del sujeto. Aún en otro caso, el pigmento de lipofuscina es la *N*-retinilideno-*N*-retiniletanolamina (A2E).
- Aún en otro caso, es un método para tratar una enfermedad o trastorno oftálmico en un sujeto, que comprende administrar al sujeto compuestos o la composición farmacéutica descritos en la presente memoria. En otro caso más, la enfermedad o trastorno oftálmico es la degeneración macular relacionada con la edad o la distrofia macular de Stargardt. Aún en otro caso, el método da lugar a que se reduzca la acumulación del pigmento de lipofuscina en un ojo del sujeto. Aún en otro caso, el pigmento de lipofuscina es la *N*-retinilideno-*N*-retiniletanolamina (A2E).
- En casos adicionales, la enfermedad o trastorno oftálmico se selecciona de desprendimiento de retina, retinopatía hemorrágica, retinosis pigmentaria, distrofia de conos y bastones, distrofia de Sorsby en fondo, neuropatía óptica, enfermedad retiniana inflamatoria, retinopatía diabética, maculopatía diabética, oclusión de los vasos sanguíneos retinianos, retinopatía del prematuro, o lesión retiniana relacionada con reperfusión por isquemia, vitreoretinopatía proliferativa, distrofia retiniana, neuropatía óptica hereditaria, distrofia de Sorsby en fondo, uveítis, una lesión retiniana, un trastorno retiniano asociado a la enfermedad de Alzheimer, un trastorno retiniano asociado a la esclerosis múltiple, un trastorno retiniano asociado a la enfermedad de Parkinson, un trastorno retiniano asociado a infección vírica, un trastorno retiniano relacionado con la sobreexposición a la luz, miopía y un trastorno retiniano asociado al sida.
- En otro caso más, es un método para inhibir la adaptación a la oscuridad de una célula fotorreceptora de tipo bastón de la retina que comprende poner en contacto la retina con un compuesto descrito en la presente memoria, que incluye un compuesto de fórmula (A).
- En un caso adicional, es un método para inhibir la regeneración de rodopsina en una célula fotorreceptora de tipo bastón de la retina que comprende poner en contacto la retina con un compuesto de fórmula (A), un compuesto que inhibe la producción de 11-*cis*-retinol con una CI_{50} de aproximadamente 1 μ M o menor cuando se ensaya *in vitro*, con el uso de extracto de células que expresan RPE65 y LRAT, en donde el extracto comprende además CRALBP, en donde el compuesto es estable en solución durante al menos aproximadamente 1 semana a temperatura ambiente, o un compuesto no retinoide que inhibe una reacción de la isomerasa que da lugar a la producción de 11-*cis* retinol, en donde dicha reacción isomérica se produce en el EPR, y en donde dicho compuesto tiene un valor de DE_{50} de 1 mg/kg o menor cuando se administra a un sujeto.
- En otro caso más, es un método para reducir la isquemia en un ojo de un sujeto que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica de un compuesto de fórmula (A), un compuesto que inhibe la producción de 11-*cis*-retinol con una CI_{50} de aproximadamente 1 μ M o menor cuando se ensaya *in vitro*, con el uso de extracto de células que expresan RPE65 y LRAT, en donde el extracto comprende además CRALBP, en donde el compuesto es estable en solución durante al menos aproximadamente 1 semana a temperatura ambiente, o un compuesto no retinoide que inhibe una reacción de la isomerasa que da lugar a la producción de 11-*cis* retinol, en donde dicha reacción isomérica se produce en el EPR, y en donde dicho compuesto tiene un valor de DE_{50} de 1 mg/kg o menor cuando se administra a un sujeto. En otro caso más, la composición farmacéutica se administra en las condiciones y durante

un tiempo suficientes para inhibir la adaptación a la oscuridad de una célula fotorreceptora de tipo bastón, con lo que se reduce la isquemia en el ojo.

5 En otro caso más, es un método para inhibir la neovascularización de la retina de un ojo de un sujeto, que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica de un compuesto de fórmula (A). En un caso específico, la composición farmacéutica se administra en las condiciones y durante un tiempo suficientes para inhibir la adaptación a la oscuridad de una célula fotorreceptora de tipo bastón, con lo que se inhibe la neovascularización en la retina.

10 En otro caso más, es un método para inhibir la degeneración de una célula retiniana en una retina que comprende poner en contacto la retina con una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (A), o un compuesto que inhibe la producción de 11-*cis*-retinol con una CI_{50} de aproximadamente $1 \mu\text{M}$ o menor cuando se ensaya *in vitro*, con el uso de extracto de células que expresan RPE65 y LRAT, en donde el extracto comprende además CRALBP, en donde el compuesto es estable en solución durante al menos aproximadamente 1 semana a temperatura ambiente, o un compuesto no retinoide que inhibe una reacción de la isomerasa que da lugar a la producción de 11-*cis* retinol, en donde dicha reacción isomérica se produce en el EPR, y en donde dicho compuesto tiene un valor de DE_{50} de 1 mg/kg o menor cuando se administra a un sujeto. En otro caso más, la composición farmacéutica se administra en las condiciones y durante un tiempo suficientes para inhibir la adaptación a la oscuridad de una célula fotorreceptora de tipo bastón, con lo que se reduce la isquemia en el ojo. En un caso específico, es el método en el que la célula retiniana es una célula neuronal retiniana. En un caso determinado, la célula neuronal retiniana es una célula fotorreceptora.

20 Se describe además un método para reducir la acumulación del pigmento de lipofuscina en la retina de un sujeto, que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica descrita en la presente memoria. En un caso, el pigmento de lipofuscina es la *N*-retinilideno-*N*-retiniletanolamina (A2E).

25 En otro caso, se da a conocer un método para inhibir al menos una isomerasa *trans-cis* del ciclo visual en una célula, en donde el método comprende poner en contacto la célula con un compuesto que tiene una estructura tal y como está descrito en la presente memoria, con lo que se inhibe al menos una isomerasa *trans-cis* del ciclo visual. En un determinado caso, la célula es una célula del epitelio pigmentario de la retina (EPR).

30 También se describe en la presente memoria, en otro caso, un método para inhibir al menos una isomerasa *trans-cis* del ciclo visual en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un compuesto que tiene una estructura tal y como está descrito en la presente memoria. En determinados casos, el sujeto es un humano o es un animal no humano.

35 En casos particulares de los métodos descritos más arriba y en la presente memoria, la acumulación del pigmento de lipofuscina se inhibe en un ojo del sujeto y en determinados casos particulares, el pigmento de lipofuscina es la *N*-retinilideno-*N*-retiniletanolamina (A2E). En otros casos determinados, se inhibe la degeneración de una célula retiniana. En un caso específico, la célula retiniana es una célula neuronal retiniana, en donde la célula neuronal retiniana es una célula fotorreceptora, una célula amacrina, una célula horizontal, una célula ganglionar o una célula bipolar. En otro caso específico, la célula retiniana es una célula del epitelio pigmentario de la retina (EPR).

En un caso adicional, es una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un compuesto de fórmula (A), tal y como se describe primero más arriba, o un tautómero, estereoisómero, isómero geométrico, o un solvato, hidrato, sal, *N*-óxido o profármaco del mismo farmacéuticamente aceptables.

40 En un caso adicional, es un compuesto no retinoide que inhibe una reacción de la isomerasa que da lugar a la producción de 11-*cis* retinol, en donde dicha reacción isomérica se produce en el EPR, y en donde dicho compuesto tiene un valor de DE_{50} de 1 mg/kg o menor cuando se administra a un sujeto. En otro caso más, es el compuesto no retinoide en donde el valor de DE_{50} se mide después de administrar una dosis única del compuesto a dicho sujeto durante aproximadamente 2 horas o más. En otro caso más, es el compuesto no retinoide, en donde el compuesto no retinoide es un compuesto alcoxílico. En un caso adicional, es una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un compuesto no retinoide tal y como se describe en la presente memoria. En un caso adicional, es un método para tratar una enfermedad o trastorno oftálmico en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un compuesto no retinoide tal y como se describe en la presente memoria.

50 En un caso adicional, es un compuesto que inhibe la producción de 11-*cis*-retinol con una CI_{50} de aproximadamente $1 \mu\text{M}$ o menor cuando se ensaya *in vitro*, con el uso de extracto de células que expresan RPE65 y LRAT, en donde el extracto comprende además CRALBP, en donde el compuesto es estable en solución durante al menos aproximadamente 1 semana a temperatura ambiente. En otro caso, el compuesto inhibe la producción de 11-*cis*-retinol con una CI_{50} de aproximadamente $0,1 \mu\text{M}$ o menor. En otro caso, el compuesto inhibe la producción de 11-*cis*-retinol con una CI_{50} de aproximadamente $0,01 \mu\text{M}$ o menor. En otro caso, el compuesto que inhibe la producción de 11-*cis*-retinol es un compuesto no retinoide. En un caso adicional, es una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un compuesto que inhibe la producción de 11-*cis*-retinol tal y como se describe en la presente memoria. En un caso adicional, es un método para tratar una enfermedad o

trastorno oftálmico en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un compuesto que inhibe la producción de 11-*cis* retinol tal y como se describe en la presente memoria. En un caso adicional, es un método para modular el flujo de cromóforos en un ciclo retinoide que comprende introducir en un sujeto un compuesto que inhibe la producción de 11-*cis*-retinol tal y como se describe en la presente memoria.

5

En un caso adicional, es un método para tratar una enfermedad o trastorno oftálmicos en un sujeto, que comprende administrar al sujeto un compuesto descrito en la presente memoria o un solvato, hidrato, sal, *N*-óxido o profármaco del mismo farmacéuticamente aceptables.

10

En un caso adicional se describe un método para modular el flujo de cromóforos en un ciclo retinoide que comprende introducir en un sujeto un compuesto de fórmula (F) que también se describe a continuación. En otro caso más, es el método que da lugar a que se reduzca la acumulación del pigmento de lipofuscina en un ojo del sujeto. En otro caso más, es el método que da lugar a que se reduzca la acumulación del pigmento de lipofuscina en un ojo del sujeto, en donde el pigmento de lipofuscina es la *N*-retinilideno-*N*-retiniletanolamina (A2E).

15

En otro caso más, es el método de tratamiento de una enfermedad o trastorno oftálmico en un sujeto tal y como se describe en la presente memoria que da lugar a que se reduzca la acumulación del pigmento de lipofuscina en un ojo del sujeto. En un caso más, es el método de tratamiento de una enfermedad o trastorno oftálmico en un sujeto tal y como se describe en la presente memoria que da lugar a que se reduzca la acumulación del pigmento de lipofuscina en un ojo del sujeto, en donde el pigmento de lipofuscina es la *N*-retinilideno-*N*-retiniletanolamina (A2E).

20

En otro caso más, es el método de tratamiento de una enfermedad o trastorno oftálmico en un sujeto tal y como se describe en la presente memoria, en donde la enfermedad o trastorno oftálmico es la degeneración macular relacionada con la edad o la distrofia macular de Stargardt. En otro caso más, es el método de tratamiento de la enfermedad o trastorno oftálmico en un sujeto tal y como se describe en la presente memoria, en donde la enfermedad o trastorno oftálmico se selecciona de desprendimiento de retina, retinopatía hemorrágica, retinosis pigmentaria, distrofia de conos y bastones, distrofia de Sorsby en fondo, neuropatía óptica, enfermedad retiniana inflamatoria, retinopatía diabética, maculopatía diabética, oclusión de los vasos sanguíneos retinianos, retinopatía del prematuro, o lesión retiniana relacionada con reperusión por isquemia, vitreorretinopatía proliferativa, distrofia retiniana, neuropatía óptica hereditaria, distrofia de Sorsby en fondo, uveítis, una lesión retiniana, un trastorno retiniano asociado a la enfermedad de Alzheimer, un trastorno retiniano asociado a la esclerosis múltiple, un trastorno retiniano asociado a la enfermedad de Parkinson, un trastorno retiniano asociado a infección vírica, un trastorno retiniano relacionado con la sobreexposición a la luz, miopía y un trastorno retiniano asociado al sida. En otro caso más, es el método de tratamiento de una enfermedad o trastorno oftálmico en un sujeto tal y como se describe en la presente memoria que da lugar a que se reduzca la acumulación del pigmento de lipofuscina en el ojo del sujeto. En otro caso más, es el método de tratamiento de una enfermedad o trastorno oftálmico en un sujeto tal y como se describe en la presente memoria que da lugar a que se reduzca la acumulación del pigmento de lipofuscina en un ojo del sujeto, en donde el pigmento de lipofuscina es la *N*-retinilideno-*N*-retiniletanolamina (A2E).

35

En otro caso, se describe un método para inhibir la adaptación a la oscuridad de una célula fotorreceptora de tipo bastón de la retina que comprende poner en contacto la retina con un compuesto de fórmula (F). En otro caso, es un método para inhibir la adaptación a la oscuridad de una célula fotorreceptora de tipo bastón de la retina que comprende poner en contacto la retina con un compuesto no retinoide tal y como se describe en la presente memoria. En otro caso, es un método para inhibir la adaptación a la oscuridad de una célula fotorreceptora de tipo bastón de la retina que comprende poner en contacto la retina con un compuesto que inhibe la producción de 11-*cis*-retinol tal y como se describe en la presente memoria.

40

En otro caso, se describe un método para inhibir la regeneración de la rodopsina en una célula fotorreceptora de tipo bastón de la retina que comprende poner en contacto la retina con un compuesto de fórmula (F). En otro caso, es un método para inhibir la regeneración de la rodopsina en una célula fotorreceptora de tipo bastón de la retina que comprende poner en contacto la retina con un compuesto no retinoide tal y como se describe en la presente memoria. En otro caso, es un método para inhibir la regeneración de rodopsina en una célula fotorreceptora de tipo bastón de la retina que comprende poner en contacto la retina con un compuesto que inhibe la producción de 11-*cis*-retinol tal y como se describe en la presente memoria.

45

En otro caso, se describe un método para reducir la isquemia en un ojo de un sujeto que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un compuesto de fórmula (F).

50

En un caso adicional, es un método para reducir la isquemia en un ojo de un sujeto que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un compuesto no retinoide tal y como se describe en la presente memoria. En un caso adicional, es un método para reducir la isquemia en un ojo de un sujeto que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un compuesto que inhibe la producción de 11-*cis* retinol tal y como se describe en la presente memoria. En otro caso más, es el método para reducir la isquemia en un ojo de un sujeto, en donde la composición farmacéutica se administra en las condiciones y durante un tiempo suficientes para inhibir la

55

adaptación a la oscuridad de una célula fotorreceptora de tipo bastón, con lo que se reduce la isquemia en el ojo.

En un caso adicional, es un método para inhibir la neovascularización de la retina de un ojo de un sujeto que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un compuesto no retinoide tal y como se describe en la presente memoria. En un caso adicional, es un método para inhibir la neovascularización de la retina de un ojo de un sujeto que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un compuesto que inhibe la producción de 11-*cis* retinol tal y como se describe en la presente memoria. En otro caso más, es el método de inhibición de la neovascularización de la retina de un ojo de un sujeto, en donde la composición farmacéutica se administra en las condiciones y durante un tiempo suficientes para inhibir la adaptación a la oscuridad de una célula fotorreceptora de tipo bastón, con lo que se inhibe la neovascularización de la retina.

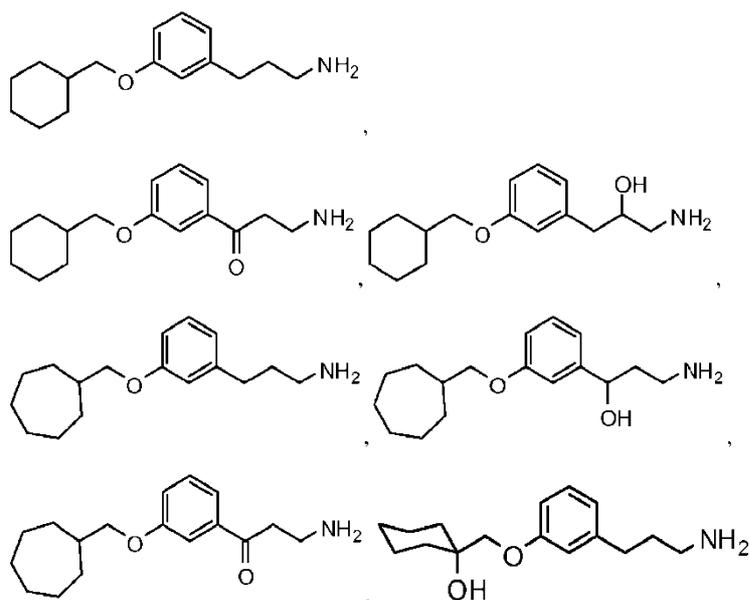
En un caso adicional, se describe un método para inhibir la degeneración de una célula retiniana en una retina que comprende poner en contacto la retina con un compuesto de fórmula (F). En un caso adicional, es un método para inhibir la degeneración de una célula retiniana en una retina que comprende poner en contacto la retina con un compuesto no retinoide tal y como se describe en la presente memoria. En un caso adicional, es un método para inhibir la degeneración de una célula retiniana en una retina que comprende poner en contacto la retina con un compuesto que inhibe la producción de 11-*cis*-retinol tal y como se describe en la presente memoria.

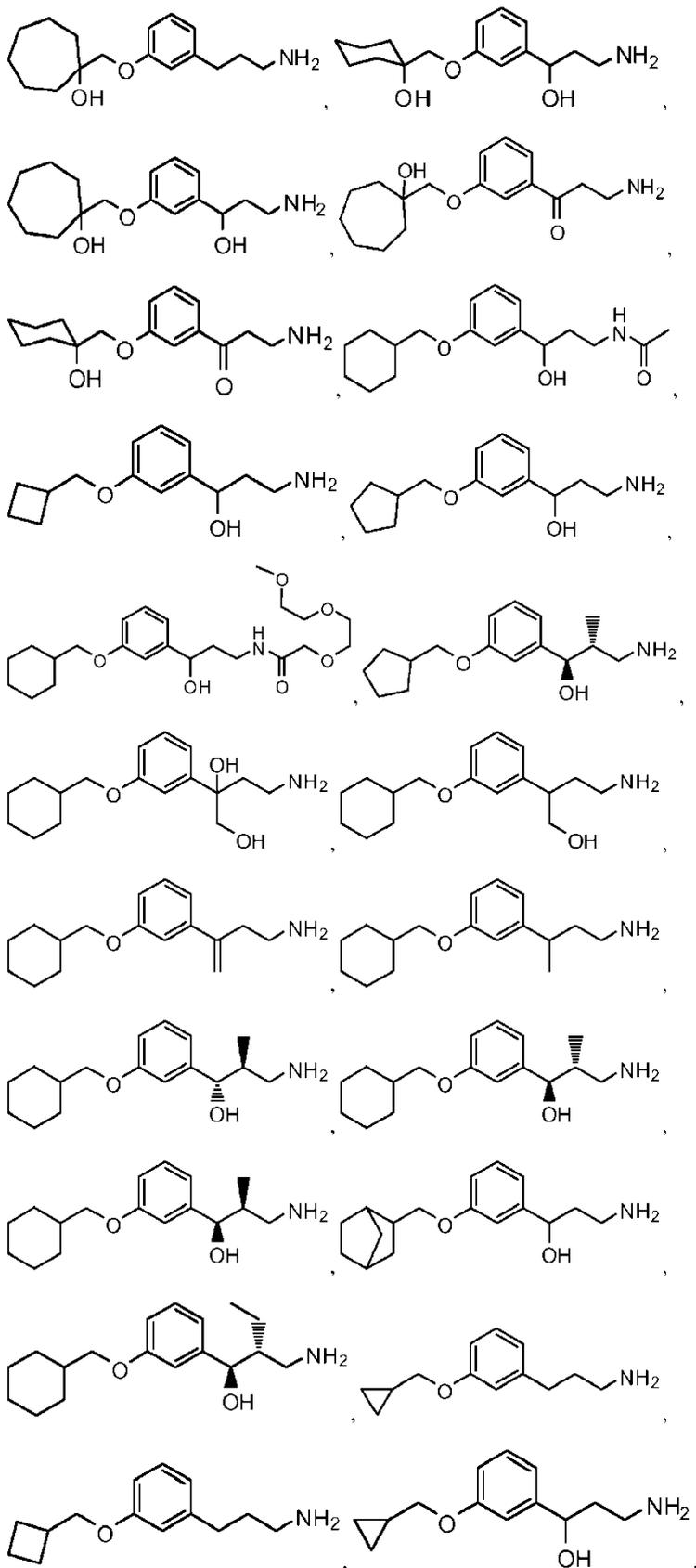
En otro caso más, es el método para inhibir la degeneración de una célula retiniana en una retina, en donde la célula retiniana es una célula neuronal retiniana. En otro caso más, es el método para inhibir la degeneración de una célula retiniana en una retina, en donde la célula neuronal retiniana es una célula fotorreceptora.

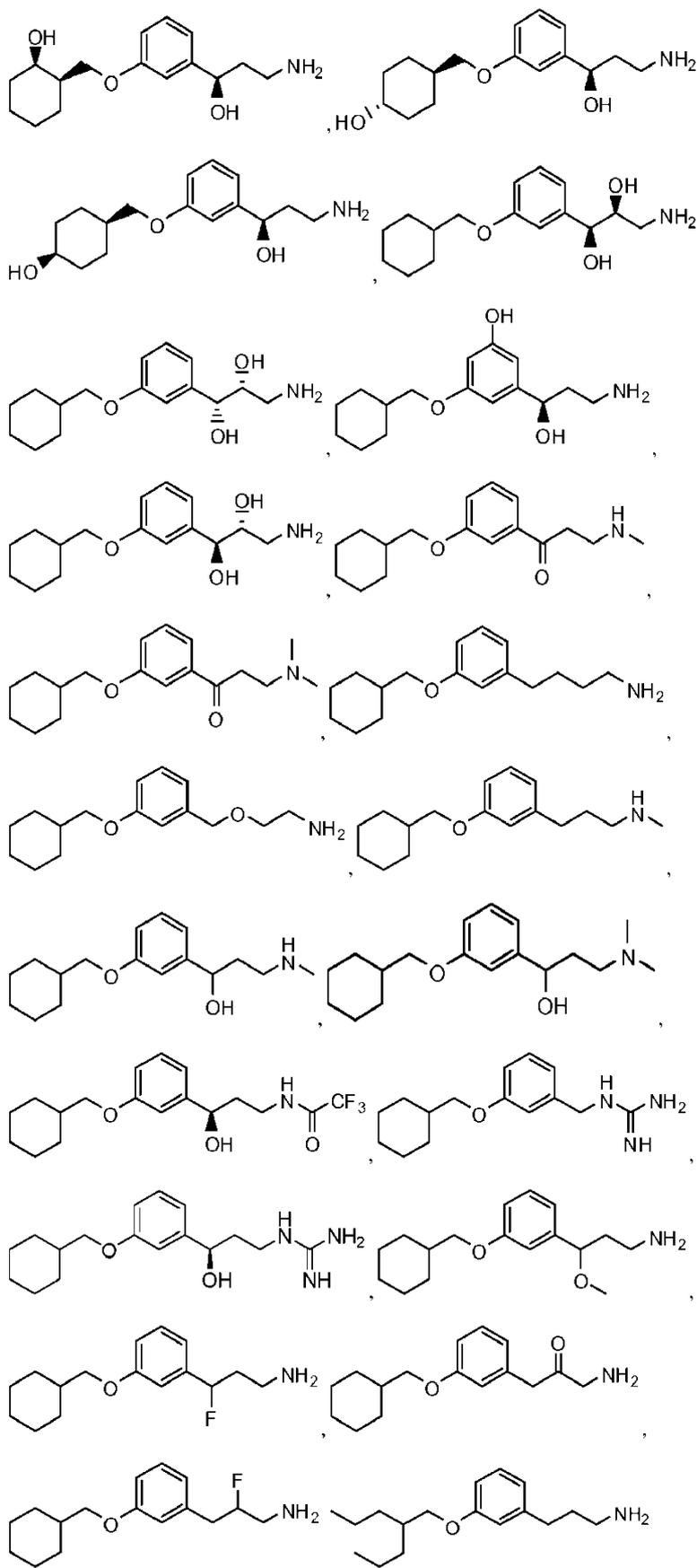
En otro caso, se describe un método para que se reduzca la acumulación del pigmento de lipofuscina en la retina de un sujeto que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un compuesto de fórmula (F). En un caso adicional, es un método para que se reduzca la acumulación del pigmento de lipofuscina en la retina de un sujeto, en donde la lipofuscina es la *N*-retinilideno-*N*-retiniletanolamina (A2E).

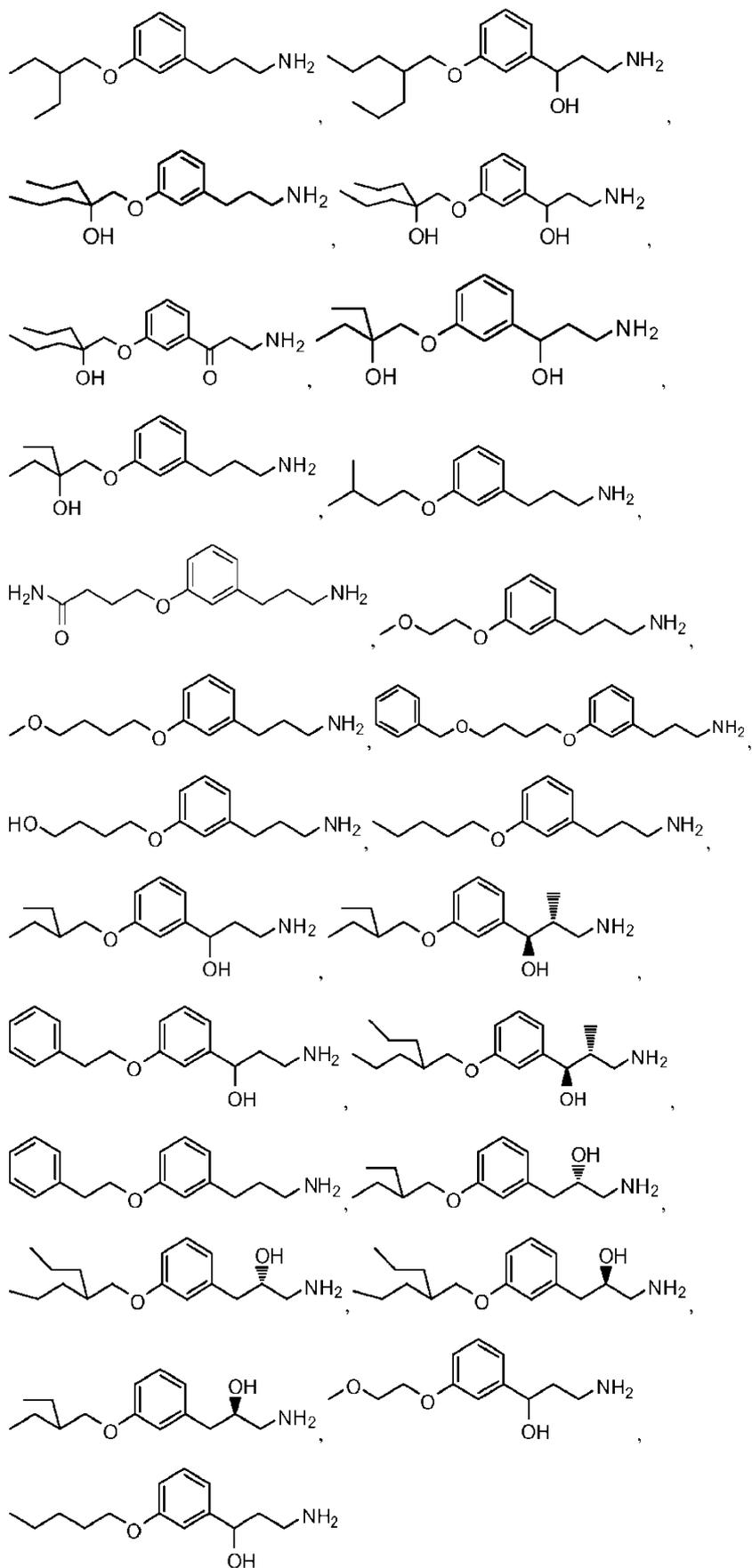
En un caso adicional, es un método para que se reduzca la acumulación del pigmento de lipofuscina en la retina de un sujeto que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un compuesto no retinoide tal y como se describe en la presente memoria. En un caso adicional, es un método para que se reduzca la acumulación del pigmento de lipofuscina en la retina de un sujeto que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un compuesto que inhibe la producción de 11-*cis* retinol tal y como se describe en la presente memoria. En un caso adicional, es un método para que se reduzca la acumulación del pigmento de lipofuscina en la retina de un sujeto, en donde la lipofuscina es la *N*-retinilideno-*N*-retiniletanolamina (A2E).

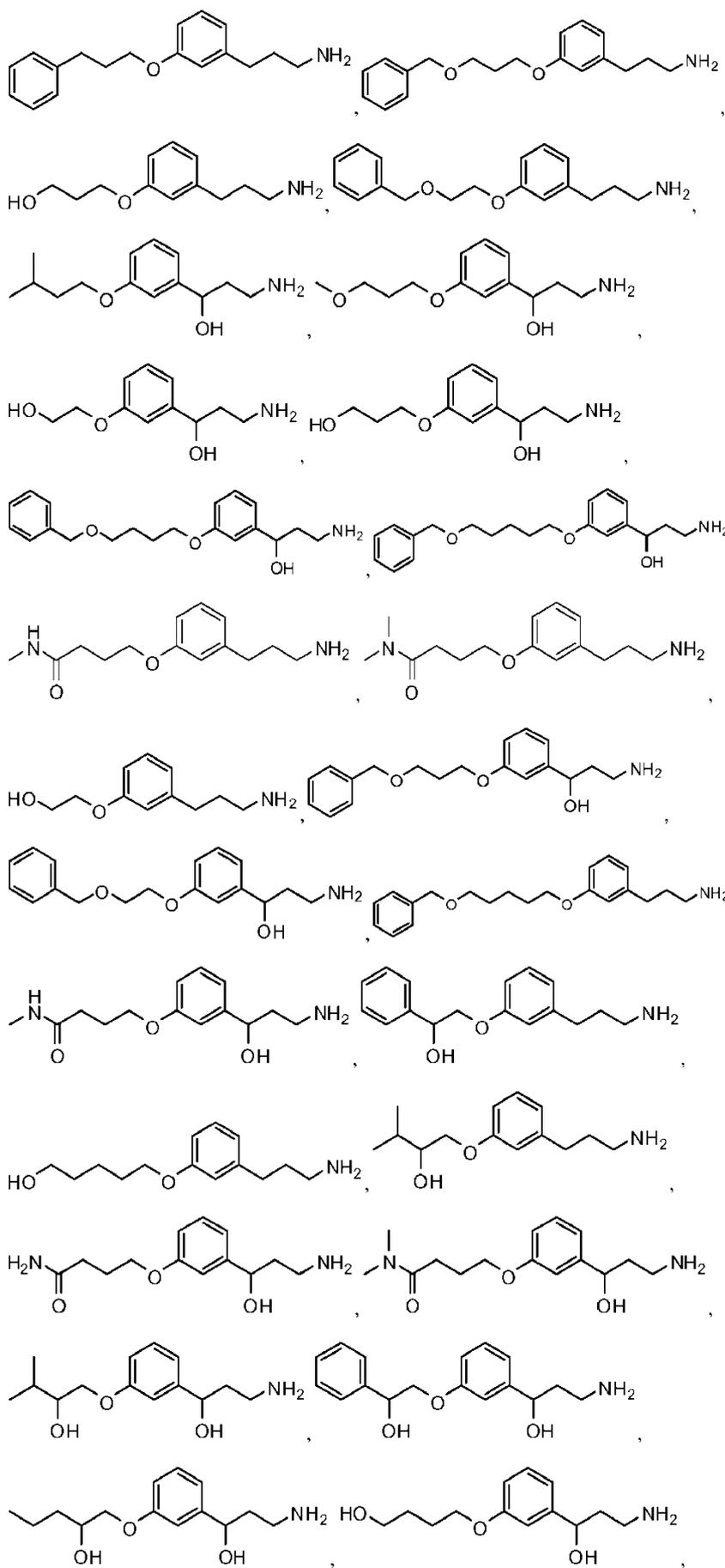
En otro caso más, se describe un método para tratar una enfermedad o trastorno oftálmico en un sujeto, que comprende administrar al sujeto un compuesto de fórmula (F), en donde el compuesto de fórmula (F) se selecciona del grupo que consiste en:

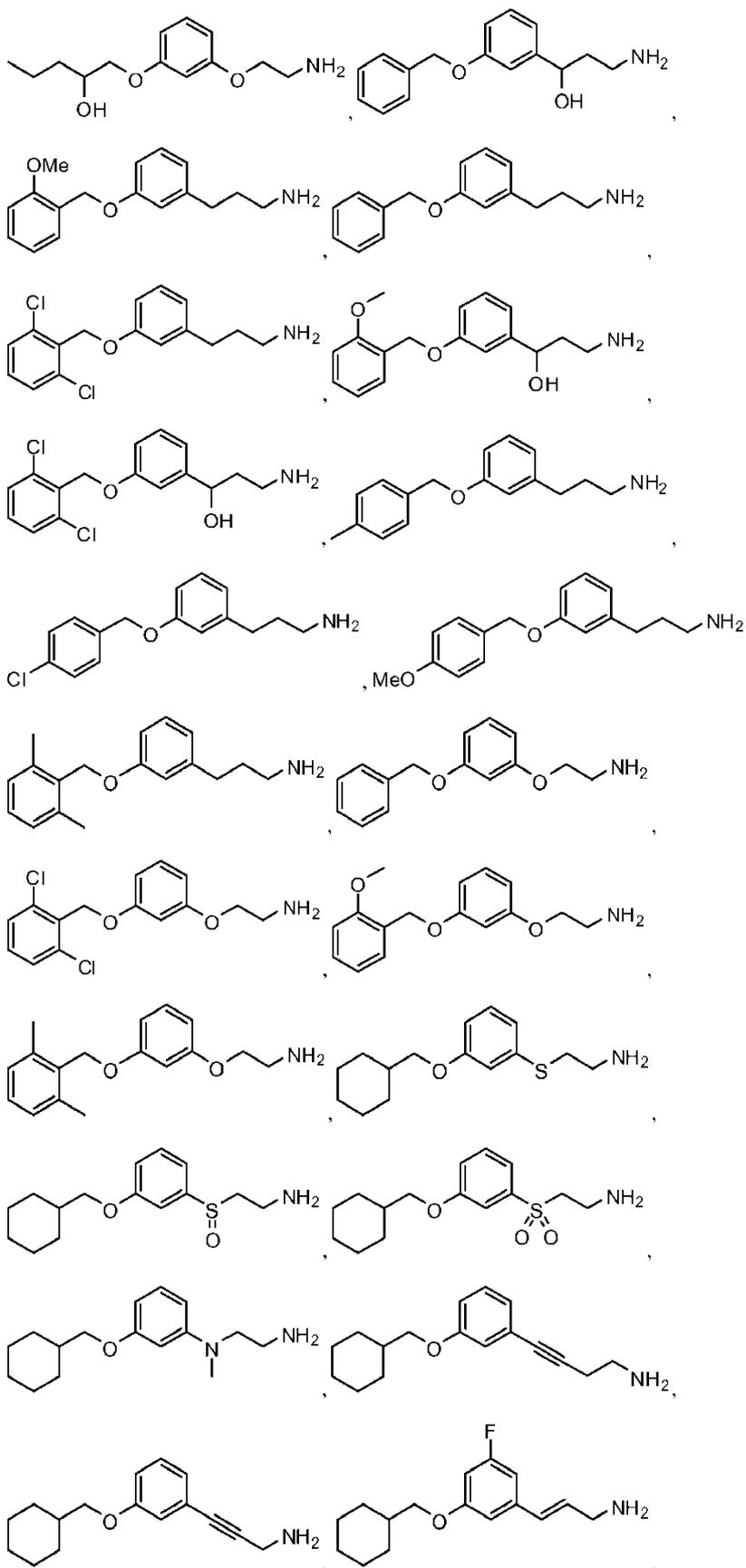


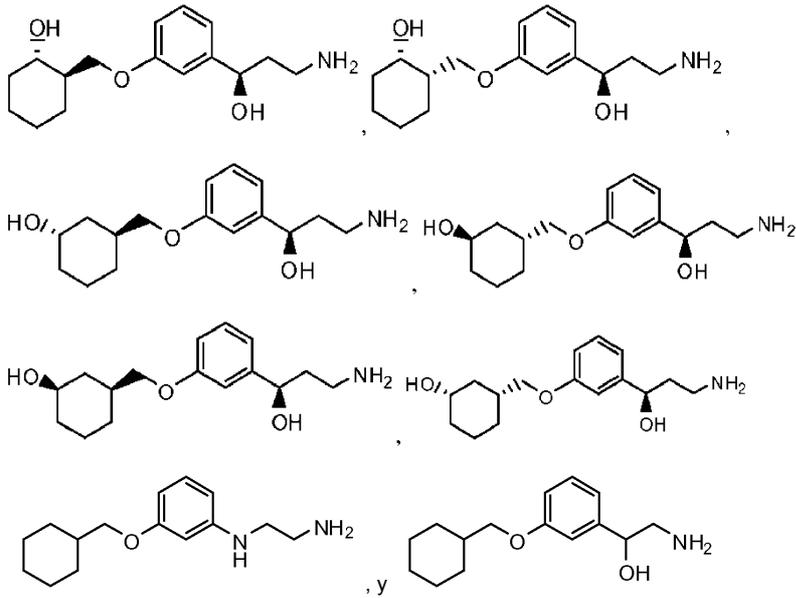




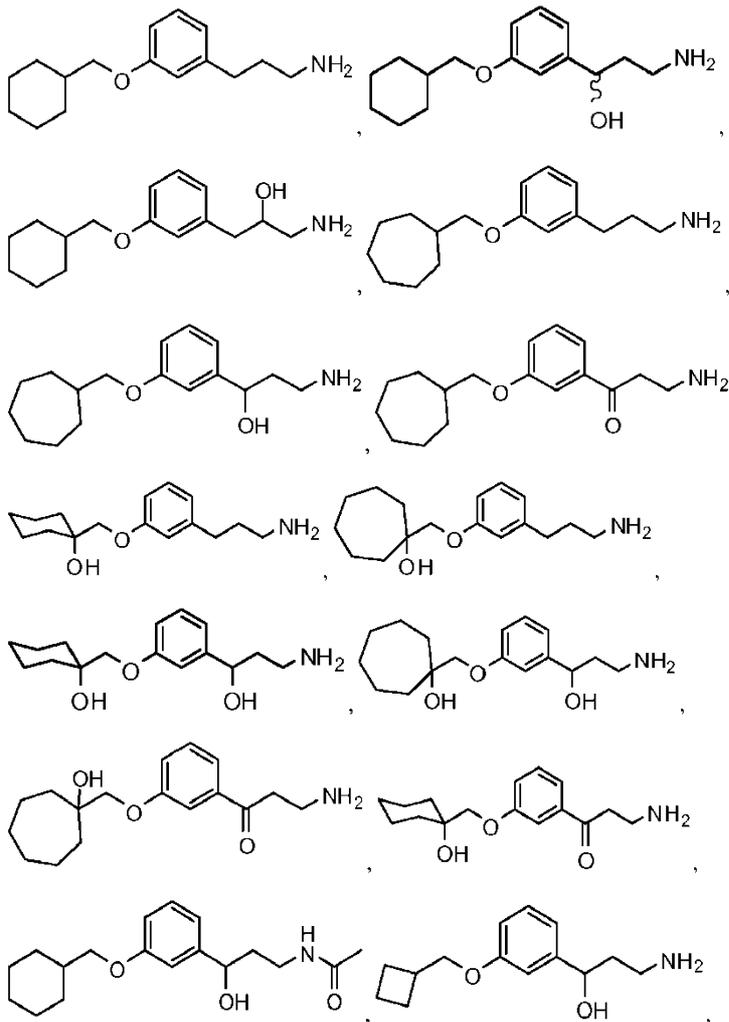


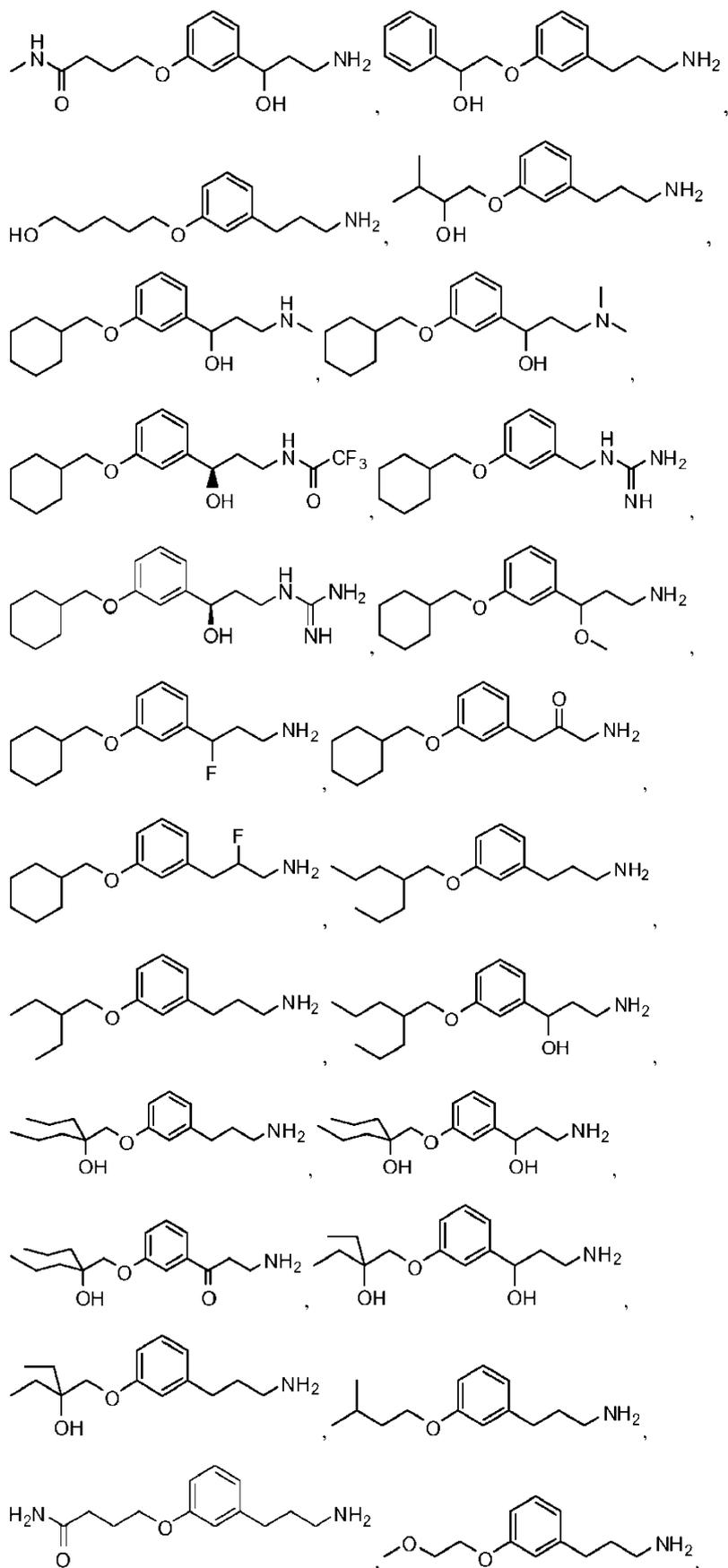


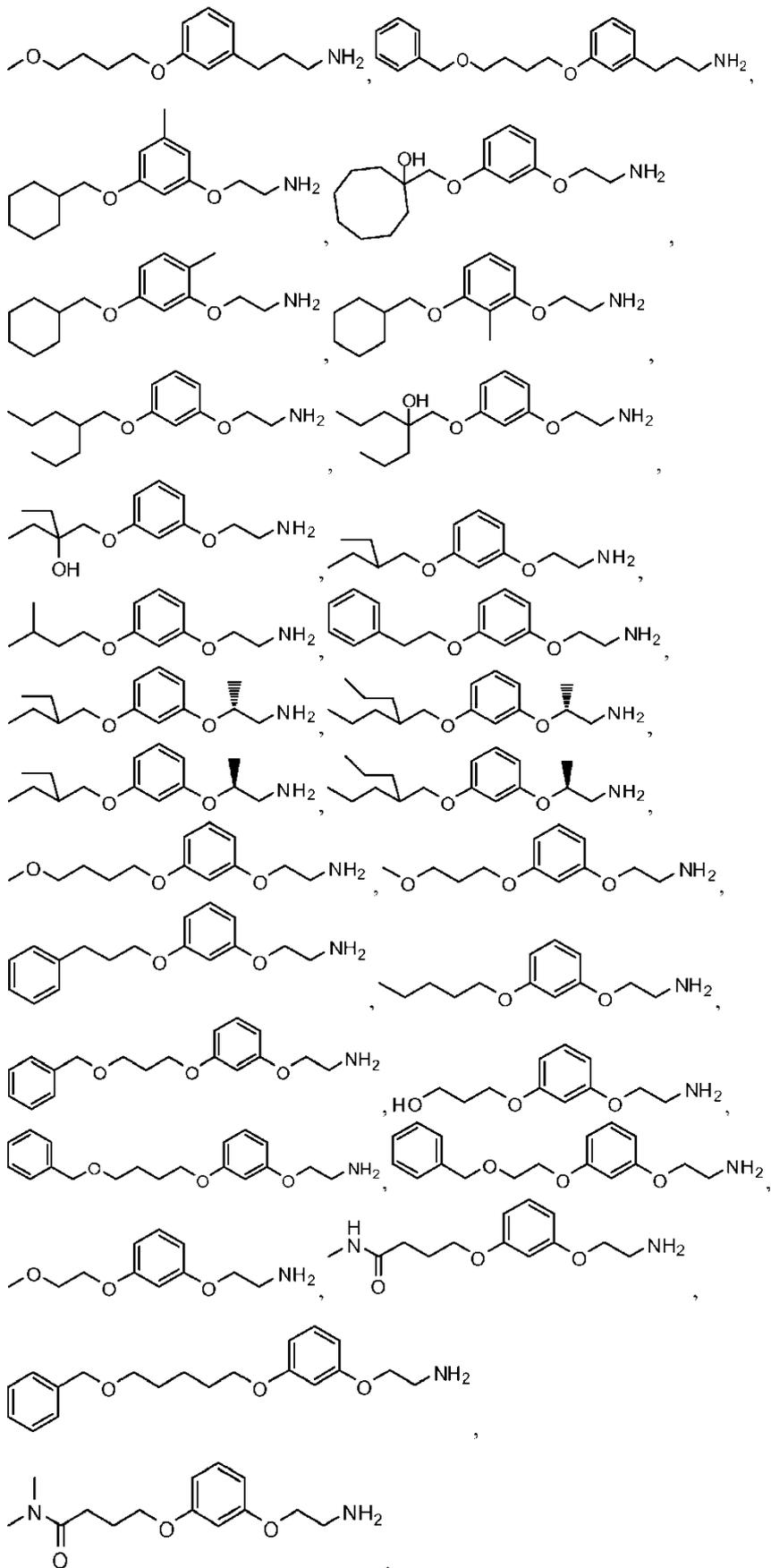


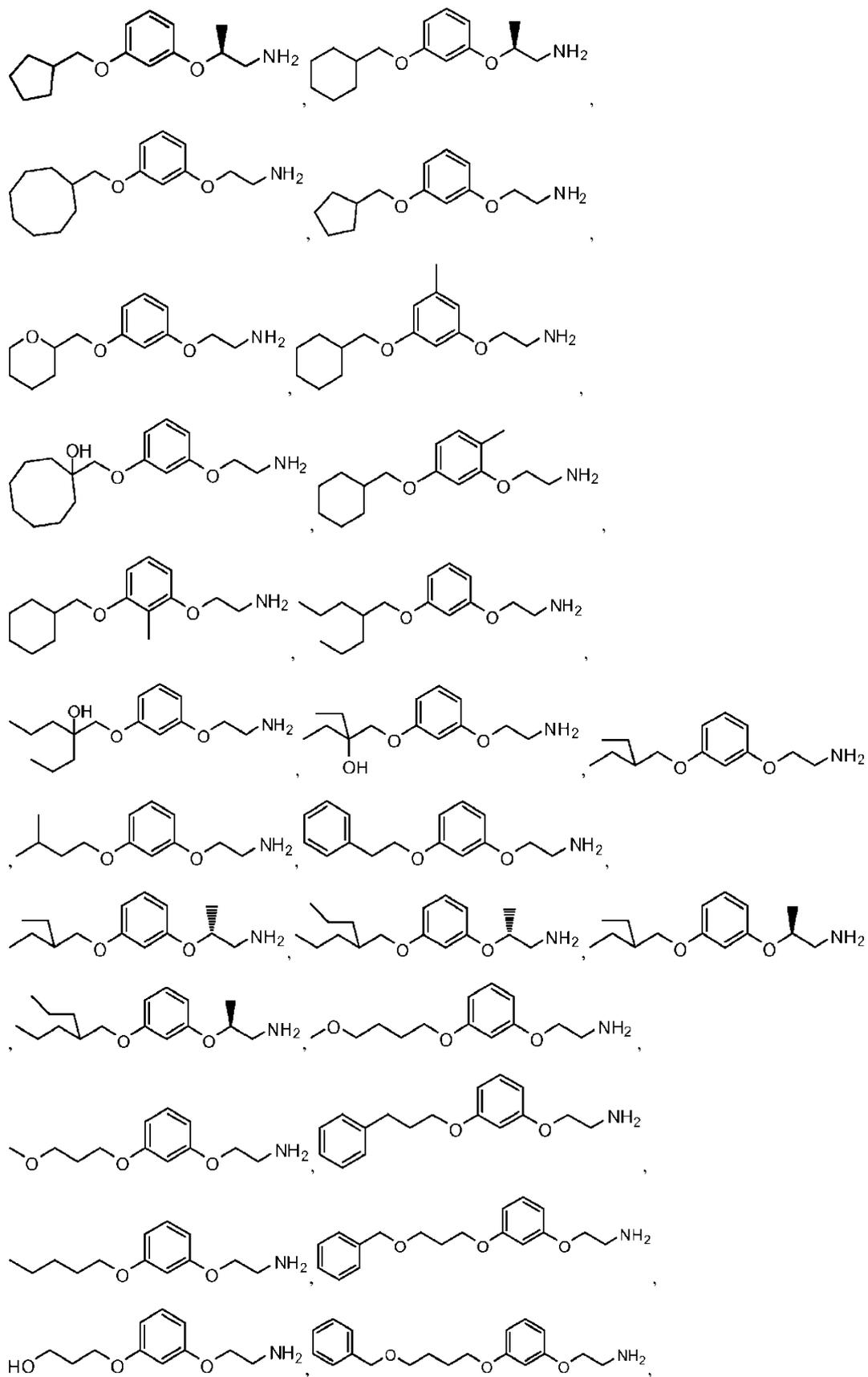


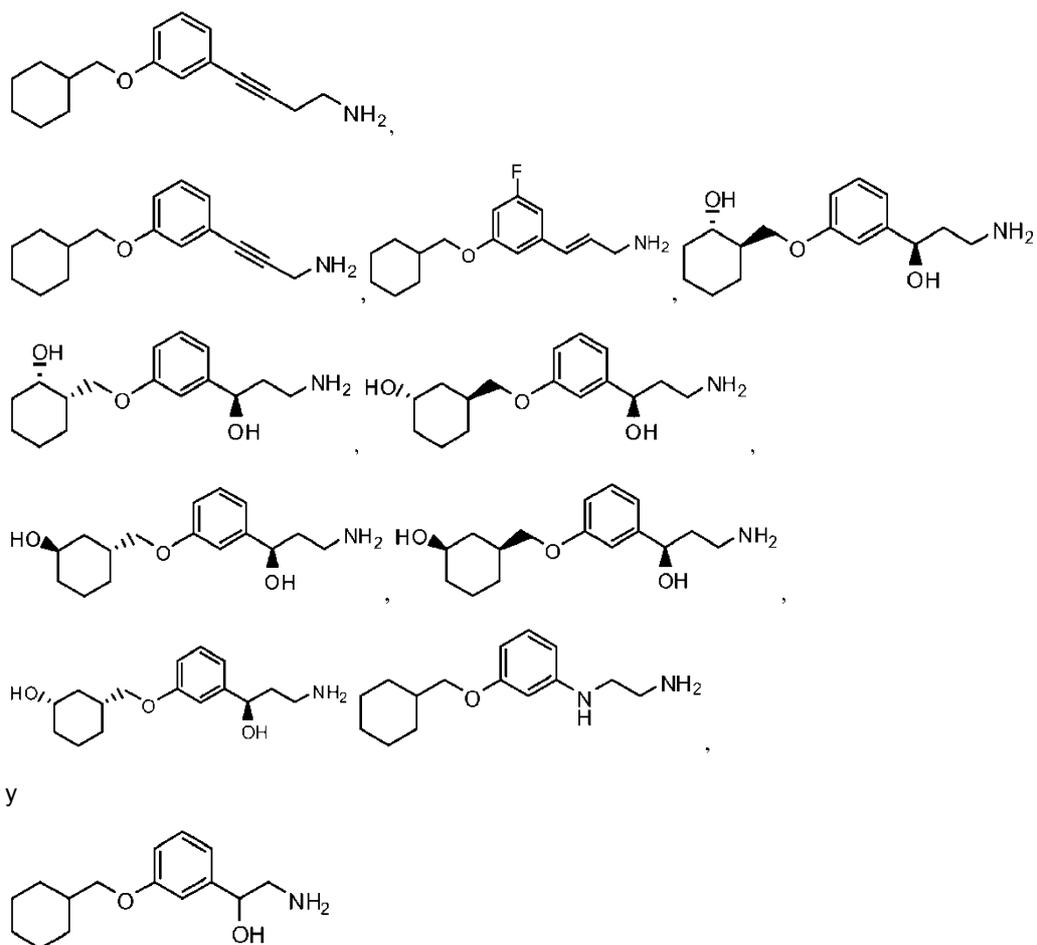
5 En un caso, es un compuesto seleccionado del grupo que consiste en:



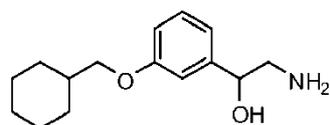








y



5 Tal como se usa en esta memoria y en las reivindicaciones anexas, las formas singulares "un", "uno" y "una", y "el" y "la" incluyen los referentes en plural a menos que el contexto claramente indique otra cosa. Así pues, por ejemplo, la referencia a «un agente» incluye a muchos de tales agentes, y la referencia a «la célula» incluye la referencia a una o varias células (o a muchas células) y equivalentes de lo mismo conocidos por los expertos en la técnica, etc. Cuando los márgenes se utilizan en la presente memoria para las propiedades físicas, tales como la masa molecular, o las propiedades químicas, tales como las fórmulas químicas, se pretende que todas las combinaciones y subcombinaciones de márgenes y casos específicos en ellos queden incluidos. El término «aproximadamente» cuando se refiere a un número o a un margen numérico significa que el número o margen numérico al que se hace referencia es una aproximación dentro de la variabilidad experimental (o dentro del error estadístico experimental) y, así pues, el número o margen numérico podría variar entre el 1% y el 15% del número o margen numérico mencionado. El término «que comprende» (y los términos relacionados tales como «comprender» o «comprende» o «que tiene» o «que incluye») no pretende excluir que, en otros casos determinados, por ejemplo, un caso de cualquier composición de materia, composición, método, o proceso, o similares descrito en la presente memoria, podría «consistir en» o «consistir esencialmente en» las características descritas.

10 Las nuevas características de la invención se presentan con detalle en las reivindicaciones adjuntas. Una mejor comprensión de las características y ventajas de la presente invención se obtendrán por referencia a la siguiente descripción y a los dibujos acompañantes, de los cuales:

15 En la figura 1 se ilustra la dependencia del tiempo que presenta la inhibición de la actividad isomerásica debida al compuesto del ejemplo 4 (compuesto 4) en un modelo de ratón. Se incluyeron cinco animales en cada grupo de tratamiento. Las barras de error corresponden al error estándar.

En la figura 2 se ilustra la inhibición de la actividad isomerásica dependiente de la concentración del compuesto 4 en un modelo de ratón *in vivo*.

20 En la figura 3 se ilustra la inhibición de la actividad isomerásica dependiente de la concentración del compuesto 4 cuando el compuesto se administra diariamente durante una semana.

En la figura 4 se ilustra la inhibición de la actividad isomerásica dependiente de la concentración del compuesto del ejemplo 28 (compuesto 28) en un ensayo de la isomerasa.

En la figura 5 se ilustra la inhibición dependiente del tiempo de la actividad isomerásica debida al compuesto 28 en un modelo de ratón. Se incluyeron cuatro animales en cada grupo de tratamiento. Las barras de error corresponden al error estándar.

5 En la figura 6 se ilustra la inhibición de la actividad isomerásica dependiente de la concentración del compuesto 28 en un modelo de ratón *in vivo*. Se incluyeron ocho animales en un grupo de tratamiento. Las barras de error corresponden al error estándar.

En la figura 7 se ilustra la inhibición dependiente de la concentración del daño de la luz en la retina de ratones (10 animales por grupo) tratados con el compuesto 4 antes de la exposición al tratamiento con la luz (8.000 lux de luz blanca durante una hora). Las barras de error corresponden al error estándar.

10 En la figura 8 se ilustra la inhibición dependiente de la concentración de la amplitud de onda b escotópica en los ratones BALB/c adultos (4 ratones/grupo) que recibieron el compuesto 4.

En la figura 9 se ilustra el efecto del compuesto 4 sobre la $V_{máx}$ fotóbica. La línea continua representa la media y la línea discontinua representa los límites superior e inferior para el parámetro (3 ratones/grupo). Las barras de error corresponden al error estándar.

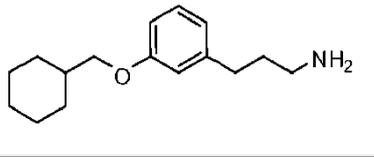
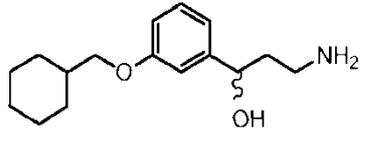
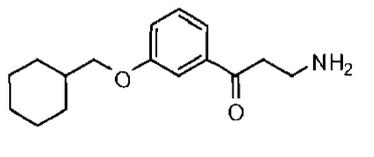
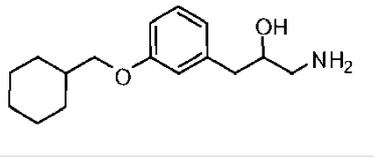
15 En la figura 10 se ilustra el contenido de A2E en los ojos de ratones tratados con el compuesto 4 durante tres meses (n = 10; cinco machos y cinco hembras).

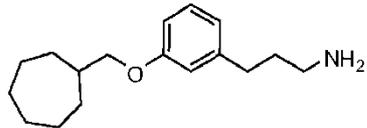
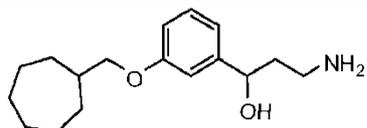
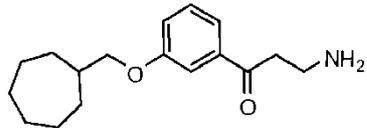
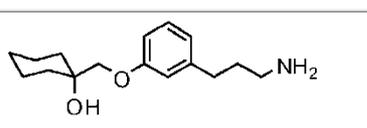
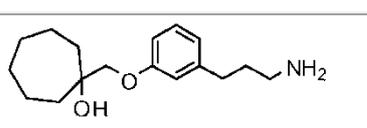
En la figura 11 se ilustra el efecto del compuesto 4 sobre la reducción de la concentración de A2E en los ratones BALB/c ancianos (10 meses de edad).

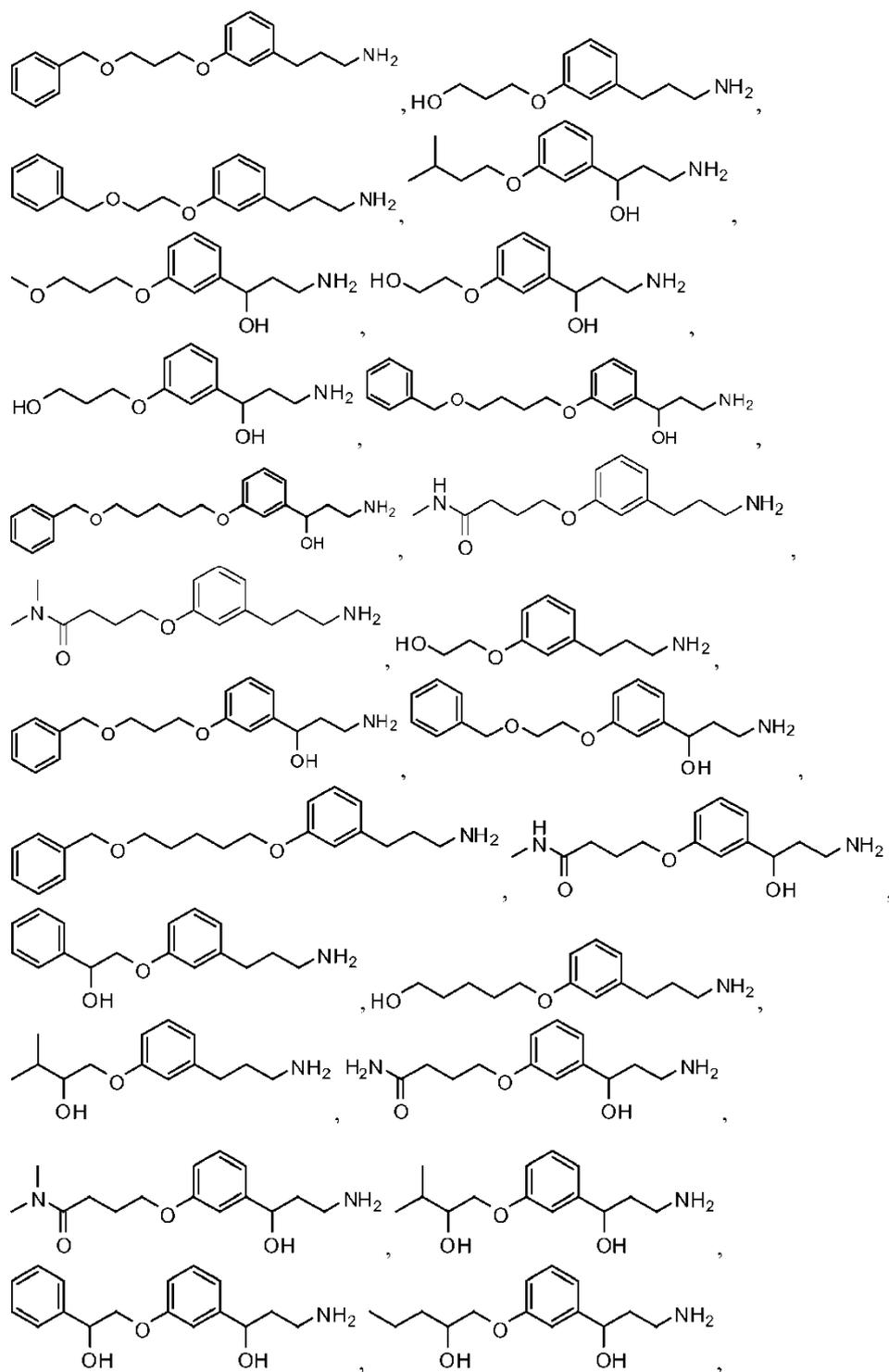
20 En la presente memoria se describe que los compuestos derivados por la unión de amina a alcoxifenilo inhiben una etapa de isomerización del ciclo retinoide. Estos compuestos y las composiciones que comprenden estos compuestos pueden ser útiles para inhibir la degeneración de las células retinianas o para mejorar la supervivencia de las células retinianas. Los compuestos descritos en la presente memoria podrían, por lo tanto, ser útiles para tratar enfermedades y trastornos oftálmicos, entre ellos enfermedades o trastornos retinianos, tales como la degeneración macular relacionada con la edad y la enfermedad de Stargardt.

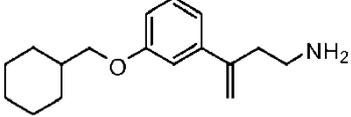
25 Determinados compuestos descritos en la presente memoria tienen las estructuras mostradas en la tabla 1. Realmente, sólo los compuestos 4, 28, 29 y 88 forman parte de la invención.

Tabla 1

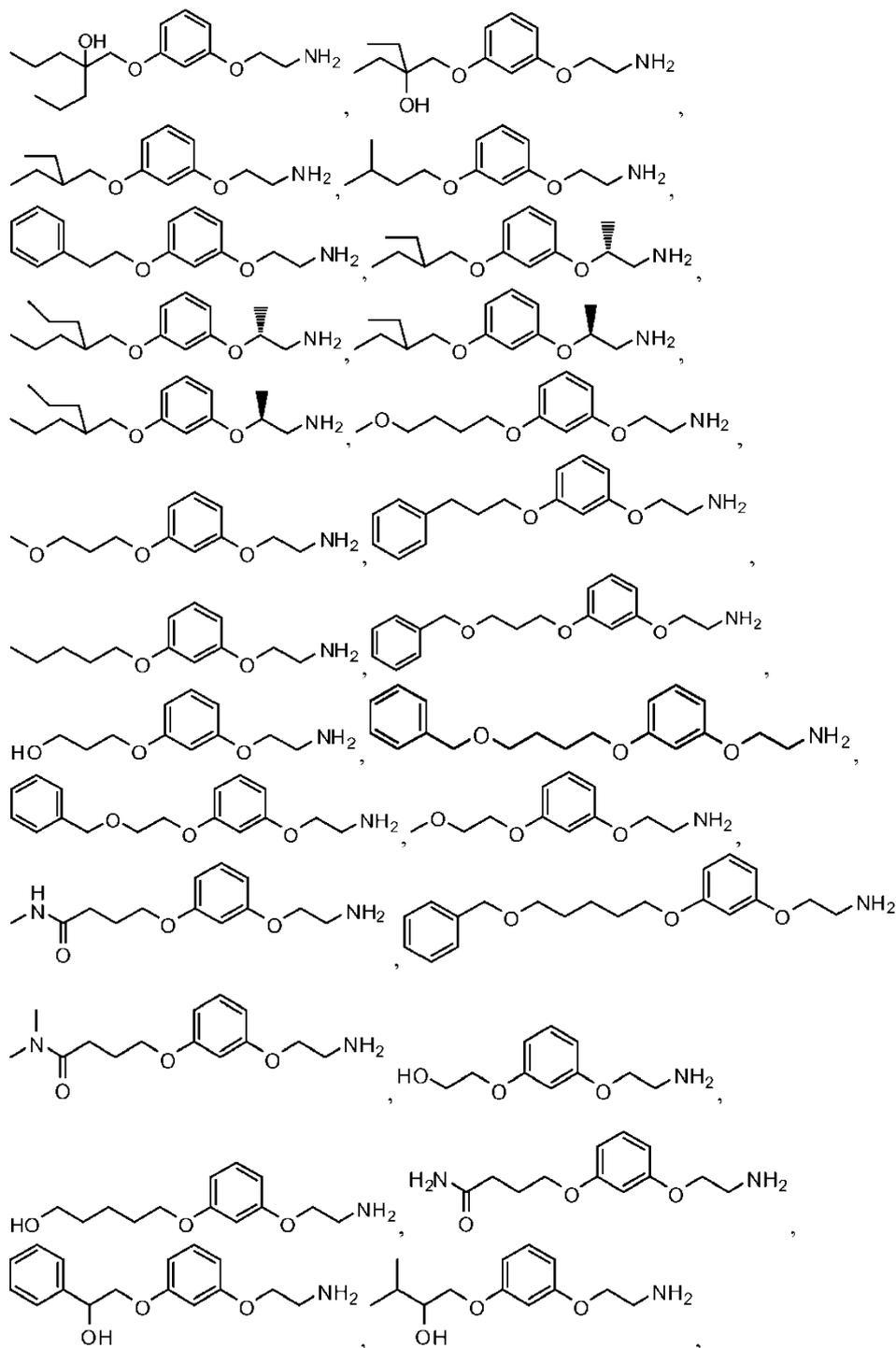
Número de ejemplo	Estructura	Nombre
1		3-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)propán-1-amina
4		(R y/o S)-3-amino-1-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)propán-1-ol
5		3-amino-1-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)propán-1-ona
6		1-amino-3-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)propán-2-ol

Número ejemplo	de	Estructura	Nombre
14			3-(3-(cicloheptilmetoxi)fenil)propán-1-amina
15			3-amino-1-(3-(cicloheptilmetoxi)fenil)propán-1-ol
16			3-amino-1-(3-(cicloheptilmetoxi)fenil)propán-1-ona
10			1-((3-(3-aminopropil)fenoxi)metil)ciclohexanol
11			1-((3-(3-aminopropil)fenoxi)metil)cicloheptanol



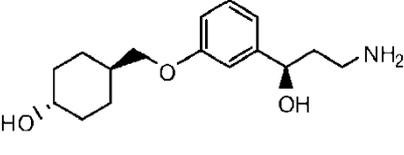
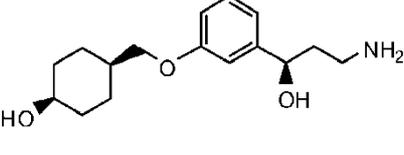
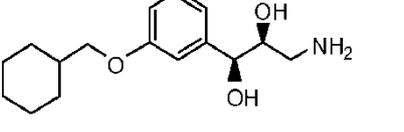
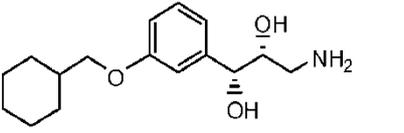
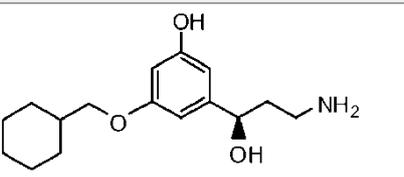
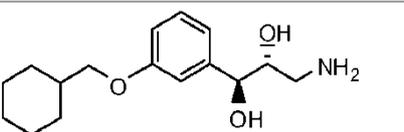
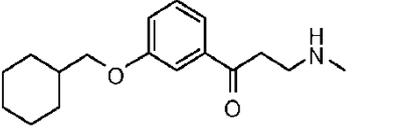
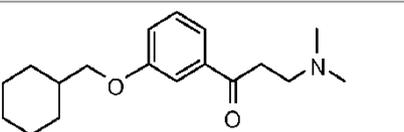
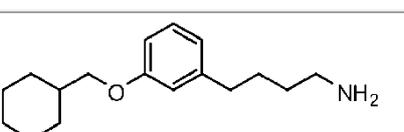
Número de ejemplo	Estructura	Nombre
78		3-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)but-3-en-1-amina

Número de ejemplo	Estructura	Nombre
81		3-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)bután-1-amina
73		(1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)-3-amino-1-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)-2-metilpropán-1-ol
74		(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-3-amino-1-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)-2-etilpropán-1-ol
75		(1 <i>R</i> ,2 <i>S</i>)-3-amino-1-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)-2-metilpropán-1-ol
48		3-amino-1-(3-(biciclo[2.2.1]heptán-2-ilmetoxi)fenil)propán-1-ol
49		(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-2-(aminometil)-1-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)bután-1-ol
60		3-(3-(ciclopropilmetoxi)fenil)propán-1-amina
61		3-(3-(ciclobutilmetoxi)fenil)propán-1-amina
71		3-amino-1-(3-(ciclopropilmetoxi)fenil)propán-1-ol
76		(1 <i>S</i> ,2 <i>R</i>)-3-amino-1-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)-2-metilpropán-1-ol

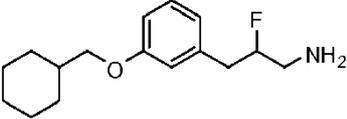


Número de ejemplo	Estructura	Nombre
147		(1,2- <i>cis</i>)-2-((3-(3-aminopropil)fenoxi)metil)ciclohexanol

Número de ejemplo	Estructura	Nombre
148		(1,2- <i>trans</i>)-2-((3-(3-aminopropil)fenoxi)metil)ciclohexanol
162		3-(3-((tetrahydro-2 <i>H</i> -pirán-2-il)metoxi)fenil)propán-1-amina
142		(3-(3-aminopropil)-5-(ciclohexilmetoxi)fenil)metanol
169		3-amino-1-(3-((4,4-difluorociclohexil)metoxi)fenil)propán-1-ol
170		3-(3-aminopropil)-5-(ciclohexilmetoxi)benzoato de metilo
174		acetato de (1,2- <i>cis</i>)-2-((3-((<i>R</i>)-3-amino-1-hidroxi)propil)fenoxi)metil)ciclohexilo
173		acetato de (1,2- <i>trans</i>)-2-((3-((<i>R</i>)-3-amino-1-hidroxi)propil)fenoxi)metil)ciclohexilo
175		(1,2- <i>trans</i>)-2-((3-((<i>R</i>)-3-amino-1-hidroxi)propil)fenoxi)metil)ciclohexanol
176		(1,2- <i>cis</i>)-2-((3-((<i>R</i>)-3-amino-1-hidroxi)propil)fenoxi)metil)ciclohexanol

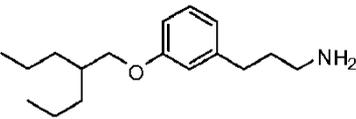
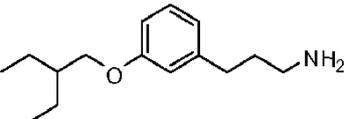
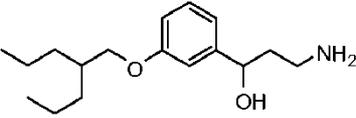
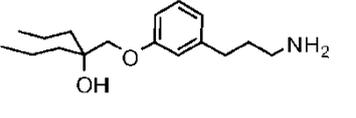
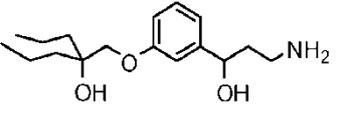
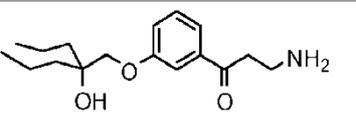
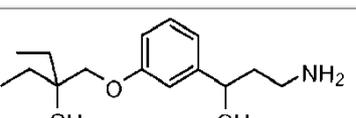
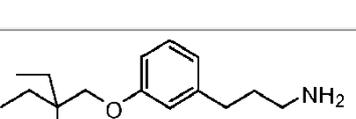
Número de ejemplo	Estructura	Nombre
172		(1,4- <i>trans</i>)-4-((3-((<i>R</i>)-3-amino-1-hidroxi)propil)fenoxi)metil)ciclohexanol
171		(1,4- <i>cis</i>)-4-((3-((<i>R</i>)-3-amino-1-hidroxi)propil)fenoxi)metil)ciclohexanol
177		(1 <i>S</i> ,2 <i>S</i>)-3-amino-1-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)propano-1,2-diol
178		(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-3-amino-1-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)propano-1,2-diol
179		(<i>R</i>)-3-(3-amino-1-hidroxi)propil)-5-(ciclohexilmetoxi)fenol
180		(1 <i>S</i> ,2 <i>R</i>)-3-amino-1-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)propano-1,2-diol
181		1-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)-3-(metilamino)propán-1-ona
182		1-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)-3-(dimetilamino)propán-1-ona
184		4-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)bután-1-amina

Número de ejemplo	Estructura	Nombre
185		2-(3-(ciclohexilmetoxi)enciloxi)etanamina
186		3-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)-N-metilpropán-1-amina
187		1-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)-3-(metilamino)propán-1-ol
188		1-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)-3-(dimetilamino)propán-1-ol
189		<i>(R)</i> -N-(3-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)-3-hidroxi)propil)-2,2,2-trifluoroacetamida
190		1-(3-(ciclohexilmetoxi)encil)guanidina
191		<i>(R)</i> -1-(3-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)-3-hidroxi)propil)guanidina
192		3-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)-3-metoxi)propán-1-amina
193		3-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)-3-fluoropropán-1-amina
194		1-amino-3-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)propán-2-ona

Número de ejemplo	Estructura	Nombre
195		3-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)-2-fluoropropán-1-amina

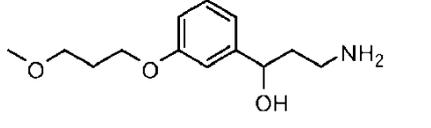
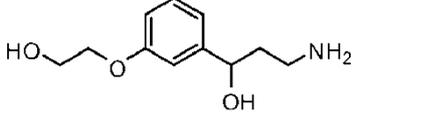
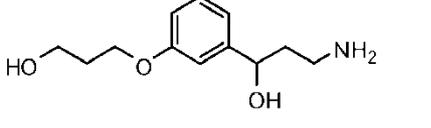
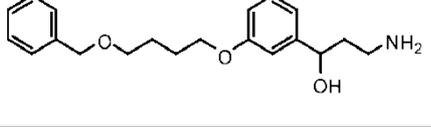
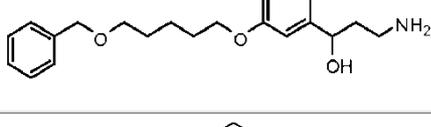
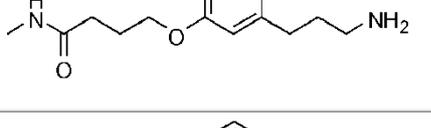
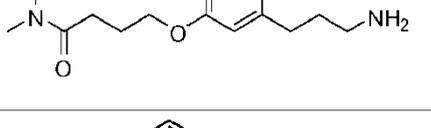
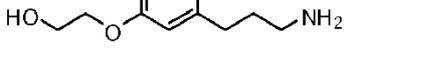
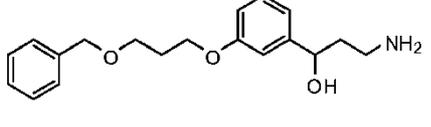
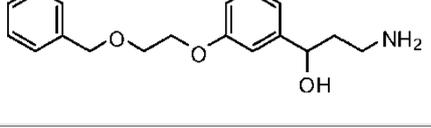
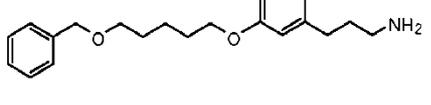
Determinados compuestos descritos en la presente memoria tienen las estructuras mostradas en la tabla 2.

Tabla 2

Número de ejemplo	Estructura	Nombre
2		3-(3-(2-(propilpentiloxi)fenil)propán-1-amina
3		3-(3-(2-(etilbutoxi)fenil)propán-1-amina
17		3-amino-1-(3-(2-propilpentiloxi)fenil)propán-1-ol
21		4-((3-(3-aminopropil)fenoxi)metil)heptán-4-ol
20		4-((3-(3-amino-1-hidroxipropil)fenoxi)metil)heptán-4-ol
23		3-amino-1-(3-(2-hidroxi-2-propilpentiloxi)fenil)propán-1-ona
30		3-((3-(3-amino-1-hidroxipropil)fenoxi)metil)pentán-3-ol
32		3-((3-(3-aminopropil)fenoxi)metil)pentán-3-ol

Número de ejemplo	Estructura	Nombre
33		3-(3-(isopentiloxi)fenil)propán-1-amina
39		4-(3-(3-aminopropil)fenoxi)butanamida
40		3-(3-(2-(metoxietoxi)fenil)propán-1-amina
41		3-(3-(4-(metoxibutoxi)fenil)propán-1-amina
42		3-(3-(4-(benciloxi)butoxi)fenil)propán-1-amina
43		4-(3-(3-aminopropil)fenoxi)bután-1-ol
44		3-(3-(pentiloxi)fenil)propán-1-amina
45		3-amino-1-(3-(2-etilbutoxi)fenil)propán-1-ol
72		(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-3-amino-1-(3-(2-etilbutoxi)fenil)-2-metilpropán-1-ol
54		3-amino-1-(3-fenetoxifenil)propán-1-ol
55		(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-3-amino-2-metil-1-(3-(2-propilpentiloxi)fenil)propán-1-ol
70		3-(3-(fenetoxifenil)propán-1-amina

Número de ejemplo	Estructura	Nombre
66		(S)-1-amino-3-(3-(2-etilbutoxi)fenil)propán-2-ol
67		(S)-1-amino-3-(3-(2-propilpentiloxi)fenil)propán-2-ol
68		(R)-1-amino-3-(3-(2-propilpentiloxi)fenil)propán-2-ol
69		(R)-1-amino-3-(3-(2-etilbutoxi)fenil)propán-2-ol
86		3-amino-1-(3-(2-metoxietoxi)fenil)propán-1-ol
87		3-amino-1-(3-(pentiloxi)fenil)propán-1-ol
88		3-amino-1-(3-(4-metoxibutoxi)fenil)propán-1-ol
96		3-(3-(3-fenilpropoxi)fenil)propán-1-amina
97		3-(3-(3-(benciloxi)propoxi)fenil)propán-1-amina
98		3-(3-(3-aminopropil)fenoxi)propán-1-ol
102		3-(3-(2-(benciloxi)etoxi)fenil)propán-1-amina
107		3-amino-1-(3-(isopentiloxi)fenil)propán-1-ol

Número de ejemplo	Estructura	Nombre
108		3-amino-1-(3-(3-metoxipropoxi)fenil)propán-1-ol
109		3-amino-1-(3-(2-hidroxi-etoxi)fenil)propán-1-ol
110		3-amino-1-(3-(3-hidroxi-propoxi)fenil)propán-1-ol
114		3-amino-1-(3-(4-benciloxi)butoxi)fenil)propán-1-ol
115		3-amino-1-(3-(5-benciloxi)pentiloxi)fenil)propán-1-ol
116		4-(3-(3-aminopropil)fenoxi)- <i>N</i> -metilbutanamida
117		4-(3-(3-aminopropil)fenoxi)- <i>N,N</i> -dimetilbutanamida
118		2-(3-(3-aminopropil)fenoxi)etanol
131		3-amino-1-(3-(3-(benciloxi)propoxi)fenil)propán-1-ol
132		3-amino-1-(3-(2-(benciloxi)etoxi)fenil)propán-1-ol
136		3-(3-(5-(benciloxi)pentiloxi)fenil)propán-1-amina

Número de ejemplo	Estructura	Nombre
155		4-(3-(3-amino-1-hidroxipropil)fenoxi)- <i>N</i> -metilbutanamida
150		2-(3-(3-aminopropil)fenoxi)-1-feniletanol
151		5-(3-(3-aminopropil)fenoxi)pentán-1-ol
152		1-(3-(3-aminopropil)fenoxi)metilbután-2-ol
149		4-(3-(3-amino-1-hidroxipropil)fenoxi)butanamida
157		4-(3-(3-amino-1-hidroxipropil)fenoxi)- <i>N,N</i> -dimetilbutanamida
158		1-(3-(3-amino-1-hidroxipropil)fenoxi)-3-metilbután-2-ol
161		3-amino-1-(3-(2-hidroxi-2-feniletoksi)fenil)propán-1-ol
163		1-(3-(3-amino-1-hidroxipropil)fenoxi)pentán-2-ol
165		4-(3-(3-amino-1-hidroxipropil)fenoxi)bután-1-ol
166		5-(3-(3-amino-1-hidroxipropil)fenoxi)pentán-1-ol

Número de ejemplo	Estructura	Nombre
167		1-(3-(3-aminopropil)fenoxi)pentán-2-ol
183		(3-(2-(propilpentiloxi)fenil)metanamina

Determinados compuestos descritos en la presente memoria tienen las estructuras mostradas en la tabla 3.

Tabla 3

Número de ejemplo	Estructura	Nombre
7		2-(3-(ciclohexilmetoxi)fenoxi)etanamina
9		2-(3-(cicloheptilmetoxi)fenoxi)etanamina
26		1-((3-(2-aminoetoxi)fenoxi)metil)ciclohexanol
18		1-((3-(2-aminoetoxi)fenoxi)metil)cicloheptanol
52		(<i>R</i>)-2-(3-(ciclopentilmetoxi)fenoxi)propán-1-amina
53		(<i>R</i>)-2-(3-(ciclohexilmetoxi)fenoxi)propán-1-amina
57		2-(3-(ciclopropilmetoxi)fenoxi)etanamina

Número ejemplo	de	Estructura	Nombre
58			2-(3-(ciclobutilmetoxi)fenoxi)etanamina
64			(S)-2-(3-(ciclopentilmetoxi)fenoxi)propán-1-amina
65			(S)-2-(3-(ciclohexilmetoxi)fenoxi)propán-1-amina
93			2-(3-(ciclooctilmetoxi)fenoxi)etanamina
104			2-(3-(ciclopentilmetoxi)fenoxi)etanamina
111			2-(3-((tetrahidro-2H-pirán-2-il)metoxi)fenoxi)etanamina
154			2-(3-(ciclohexilmetoxi)-5-metilfenoxi)etanamina
139			1-((3-(2-aminoetoxi)fenoxi)metil)ciclooctanol
160			2-(5-(ciclohexilmetoxi)-2-metilfenoxi)etanamina
164			2-(3-(ciclohexilmetoxi)-2-metilfenoxi)etanamina

Determinados compuestos descritos en la presente memoria tienen las estructuras mostradas en la tabla 4.

Tabla 4

Número ejemplo	de	Estructura	Nombre
25			2-(3-(2-propilpentiloxi)fenoxi)etanamina
27			4-((3-(2-aminoetoxi)fenoxi)metil)heptán-4-ol
31			3-((3-(2-aminoetoxi)fenoxi)metil)pentán-3-ol
36			2-(3-(2-etilbutoxi)fenoxi)etanamina
46			2-(3-(isopentiloxi)fenoxi)etanamina
47			2-(3-fenoxifenoxi)etanamina
50			(<i>R</i>)-2-(3-(2-etilbutoxi)fenoxi)propán-1-amina
51			(<i>R</i>)-2-(3-(2-propilpentiloxi)fenoxi)propán-1-amina
62			(<i>S</i>)-2-(3-(2-etilbutoxi)fenoxi)propán-1-amina
63			(<i>S</i>)-2-(3-(2-propilpentiloxi)fenoxi)propán-1-amina
82			2-(3-(4-metoxibutoxi)fenoxi)etanamina
85			2-(3-(3-metoxipropoxi)fenoxi)etanamina

Número ejemplo	de	Estructura	Nombre
89			2-(3-(3-fenilpropoxi)fenoxi)etanamina
90			2-(3-(pentiloxi)fenoxi)etanamina
94			2-(3-(3-(benciloxi)propoxi)fenoxi)etanamina
95			3-(3-(2-aminoetoxy)fenoxi)propán-1-ol
100			2-(3-(4-(benciloxi)butoxi)fenoxi)etanamina
112			2-(3-(2-(benciloxi)etoxi)fenoxi)etanamina
113			2-(3-(2-metoxietoxi)fenoxi)etanamina
133			4-(3-(2-aminoetoxy)fenoxi)- <i>N</i> -metilbutanamida
134			2-(3-(5-(benciloxi)pentiloxi)fenoxi)etanamina
138			4-(3-(2-aminoetoxy)fenoxi)- <i>N,N</i> -dimetilbutanamida
141			2-(3-(2-aminoetoxy)fenoxi)etanol
143			5-(3-(2-aminoetoxy)fenoxi)pentán-1-ol

Número ejemplo	de	Estructura	Nombre
144			4-(3-(2-aminoethoxy)fenoxi)butanamida
145			2-(3-(2-aminoethoxy)fenoxi)-1-feniletanol
153			1-(3-(2-aminoethoxy)fenoxi)-3-metilbután-2-ol
156			4-(3-(2-aminoethoxy)fenoxi)bután-1-ol
159			1-(3-(2-aminoethoxy)fenoxi)pentán-2-ol

Determinados compuestos descritos en la presente memoria tienen las estructuras mostradas en la tabla 5.

Tabla 5

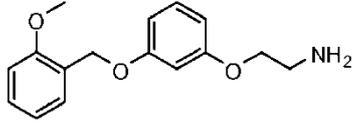
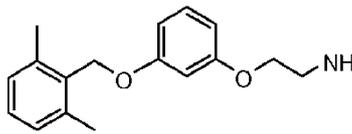
Número ejemplo	de	Estructura	Nombre
37			3-amino-1-(3-(benciloxi)fenil)propán-1-ol
38			3-(3-(2-metoxibenciloxi)fenil)propán-1-amina
59			3-(3-(benciloxi)fenil)propán-1-amina
91			3-(3-(2,6-diclorobenciloxi)fenil)propán-1-amina

Número ejemplo	de	Estructura	Nombre
92			3-amino-1-(3-(2-metoxibenciloxi)fenil)propán-1-ol
105			3-amino-1-(3-(2,6-diclorobenciloxi)fenil)propán-1-ol
119			3-(3-(4-(metilbenciloxi)fenil)propán-1-amina
120			3-(3-(4-clorobenciloxi)fenil)propán-1-amina
121			3-(3-(4-metoxibenciloxi)fenil)propán-1-amina
137			3-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)fenil)propán-1-amina

Determinados compuestos descritos en la presente memoria tienen las estructuras mostradas en la tabla 6.

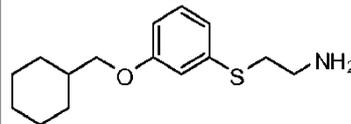
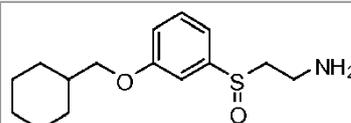
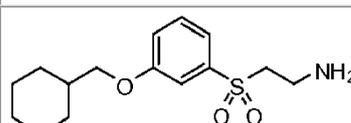
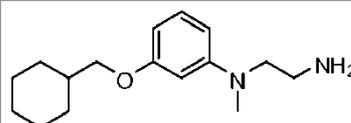
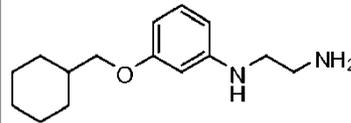
Tabla 6

Número ejemplo	de	Estructura	Nombre
8			2-(3-(benciloxi)fenoxi)etanamina
84			2-(3-(2,6-diclorobenciloxi)fenoxi)etanamina

Número ejemplo	de	Estructura	Nombre
101			2-(3-(2-metoxibenciloxi)fenoxi)etanamina
140			2-(3-(2,6-dimetilbenciloxi)fenoxi)etanamina

Determinados compuestos descritos en la presente memoria tienen las estructuras mostradas en la tabla 7.

Tabla 7

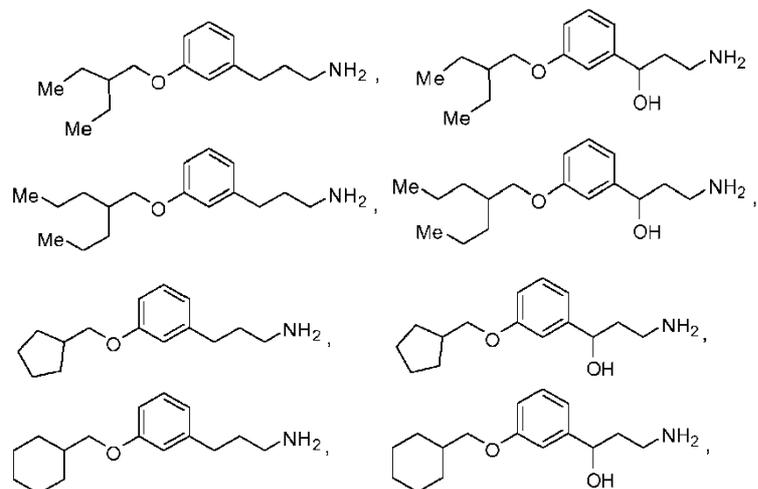
Número ejemplo	de	Estructura	Nombre
123			2-(3-(ciclohexilmetoxi)feniltio)etanamina
124			2-(3-(ciclohexilmetoxi)fenilsulfinil)etanamina
125			2-(3-(ciclohexilmetoxi)fenilsulfonil)etanamina
128			<i>N</i> ¹ -(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)- <i>N</i> ¹ -metiletano-1,2-diamina
129			<i>N</i> ¹ -(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)etano-1,2-diamina

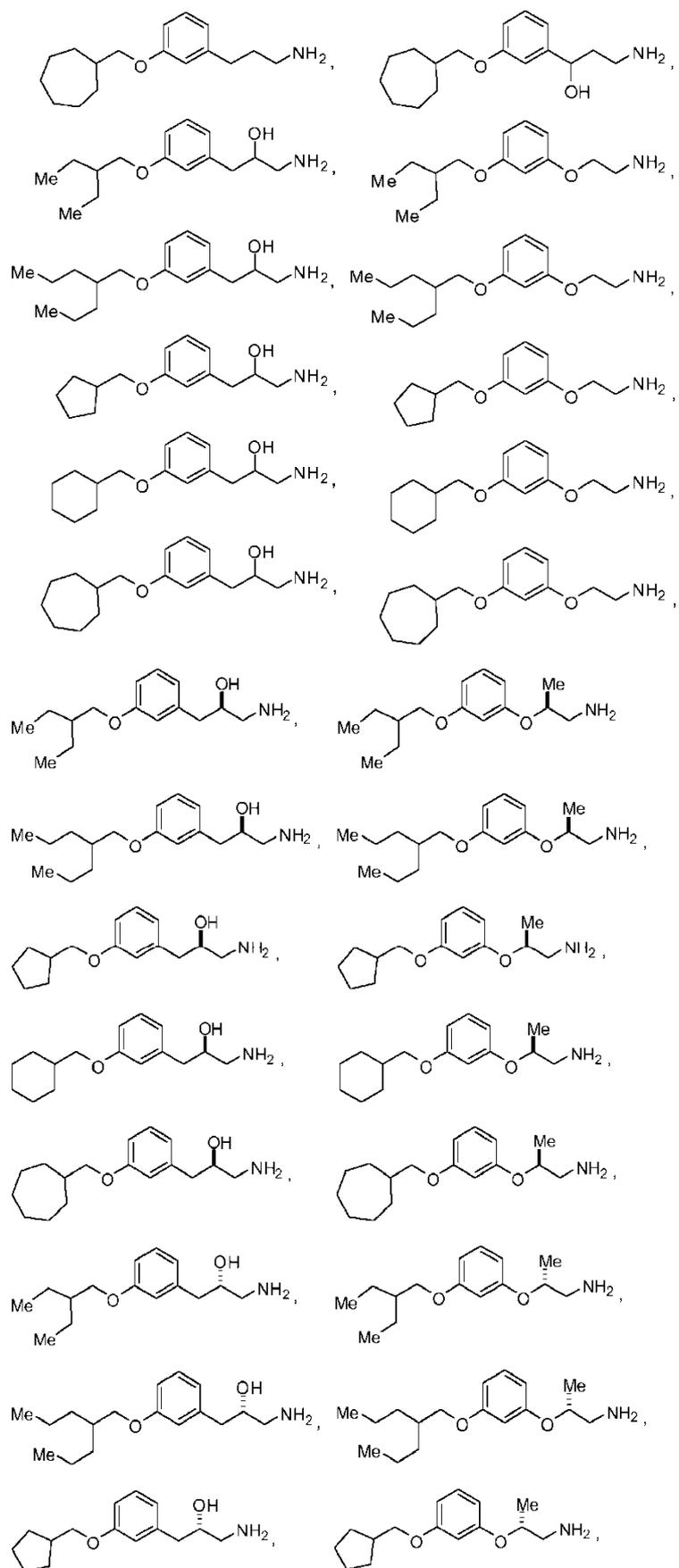
Determinados compuestos descritos en la presente memoria tienen las estructuras mostradas en la tabla 8.

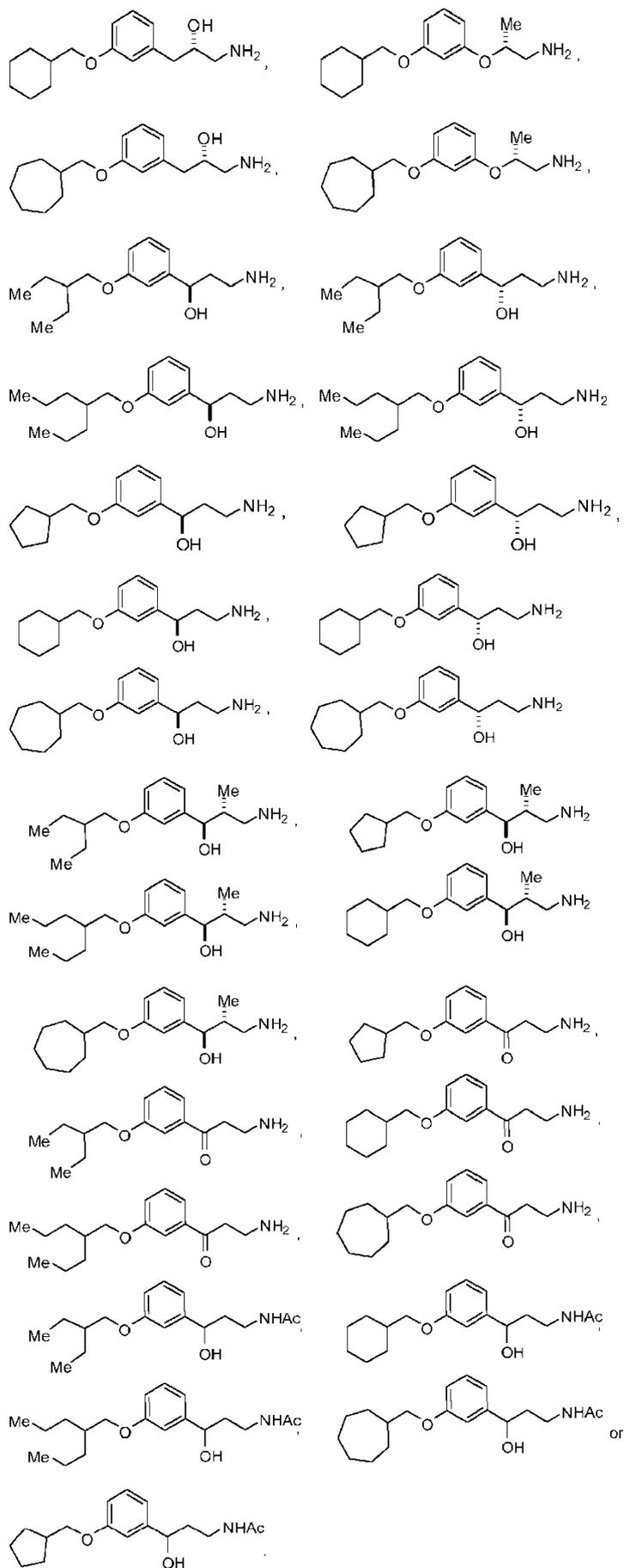
Tabla 8

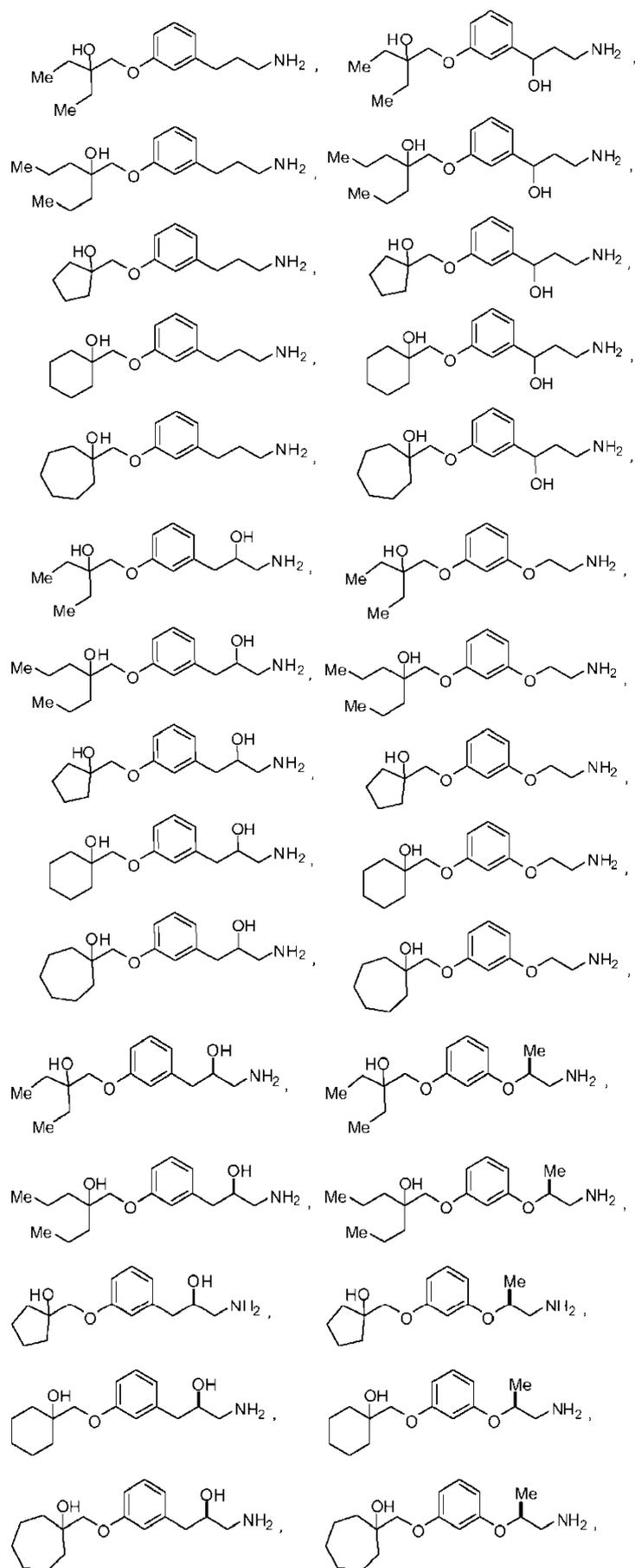
Número ejemplo	de	Estructura	Nombre
127			2-amino-1-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)etanol
196			4-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)but-3-in-1-amina
197			3-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)prop-2-in-1-amina
198			3-(3-(ciclohexilmetoxi)-5-fluorofenil)prop-2-en-1-amina

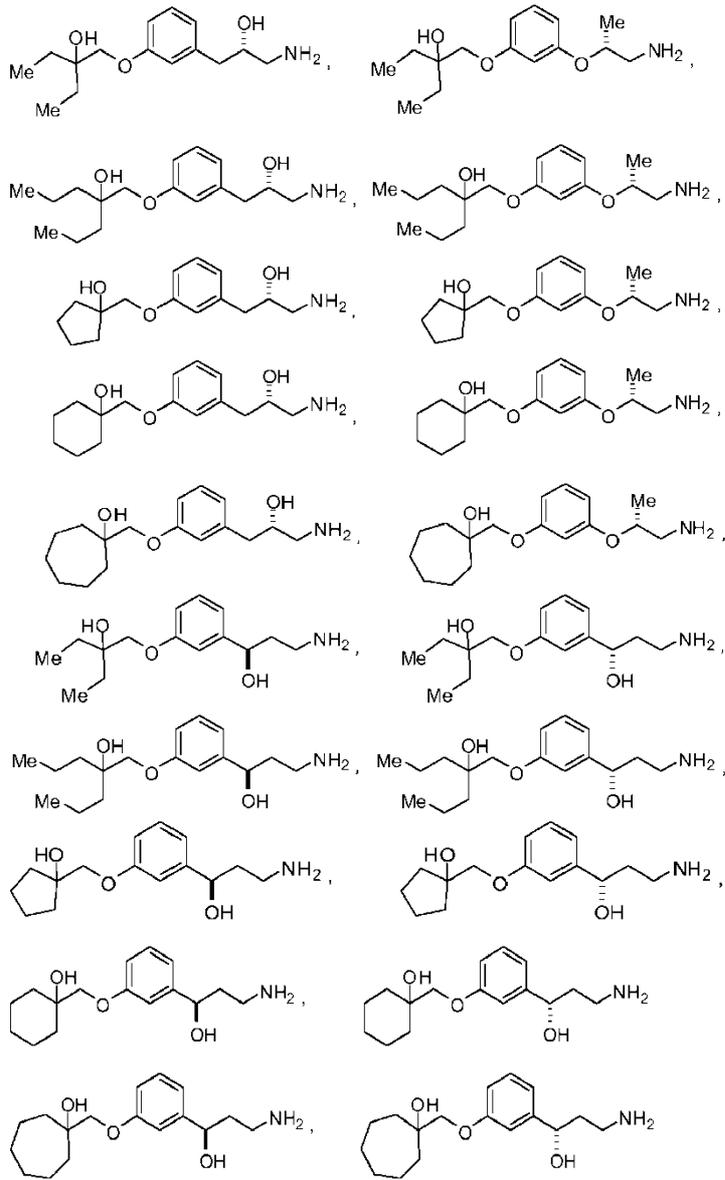
En un caso adicional, es un compuesto seleccionado de:

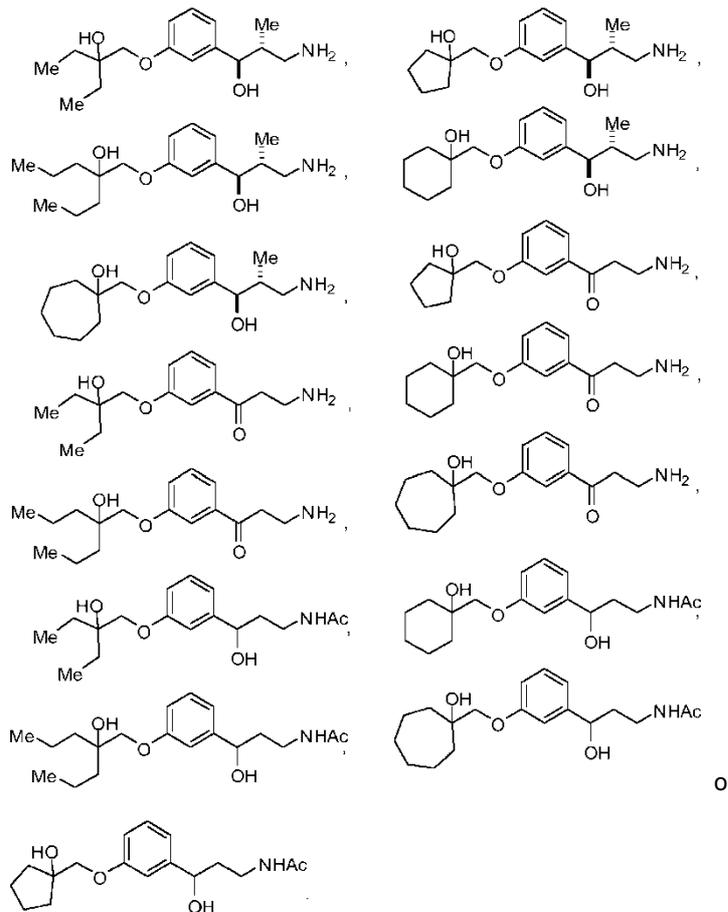






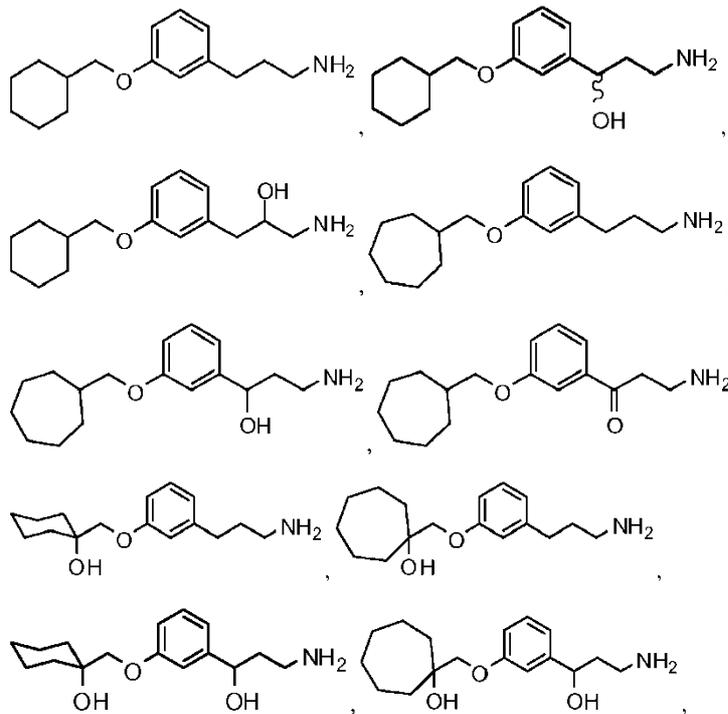


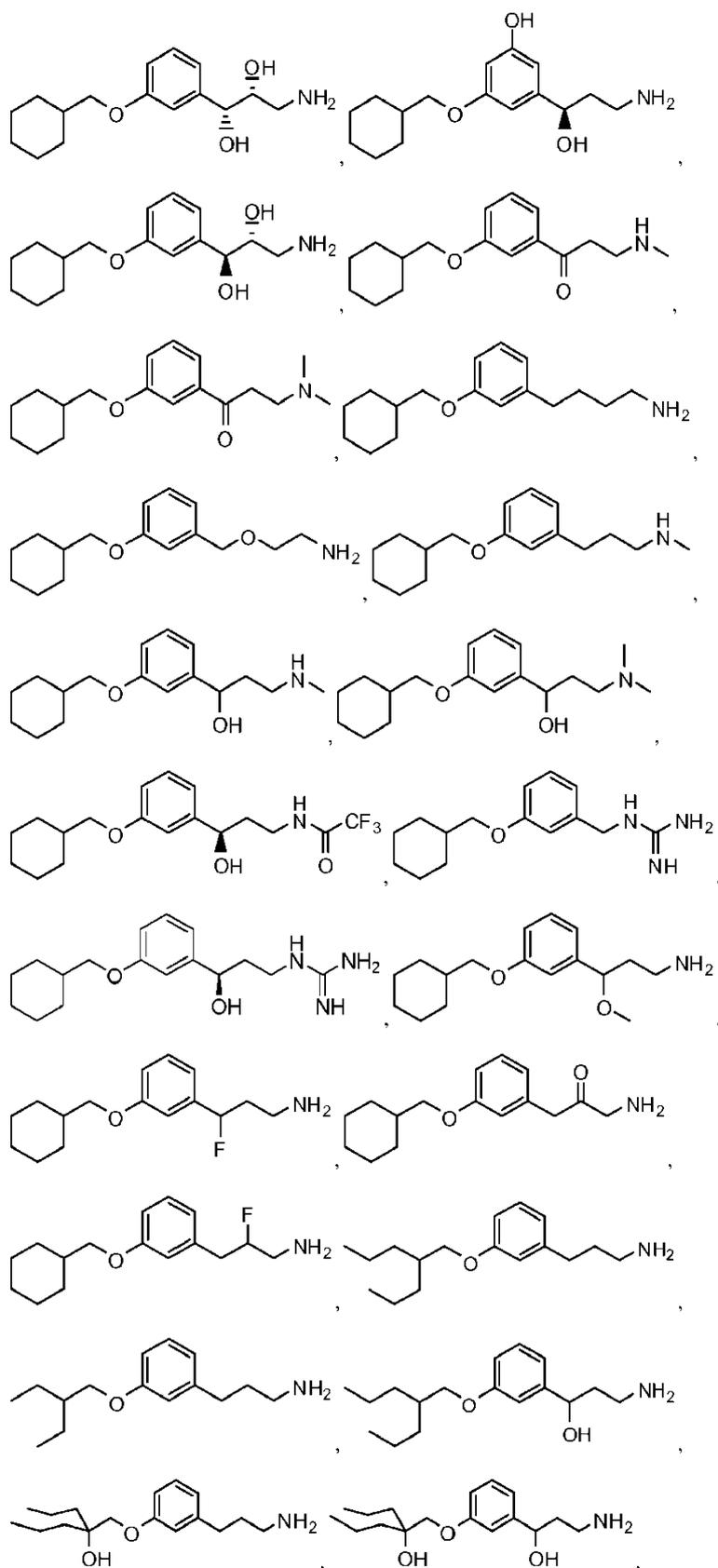


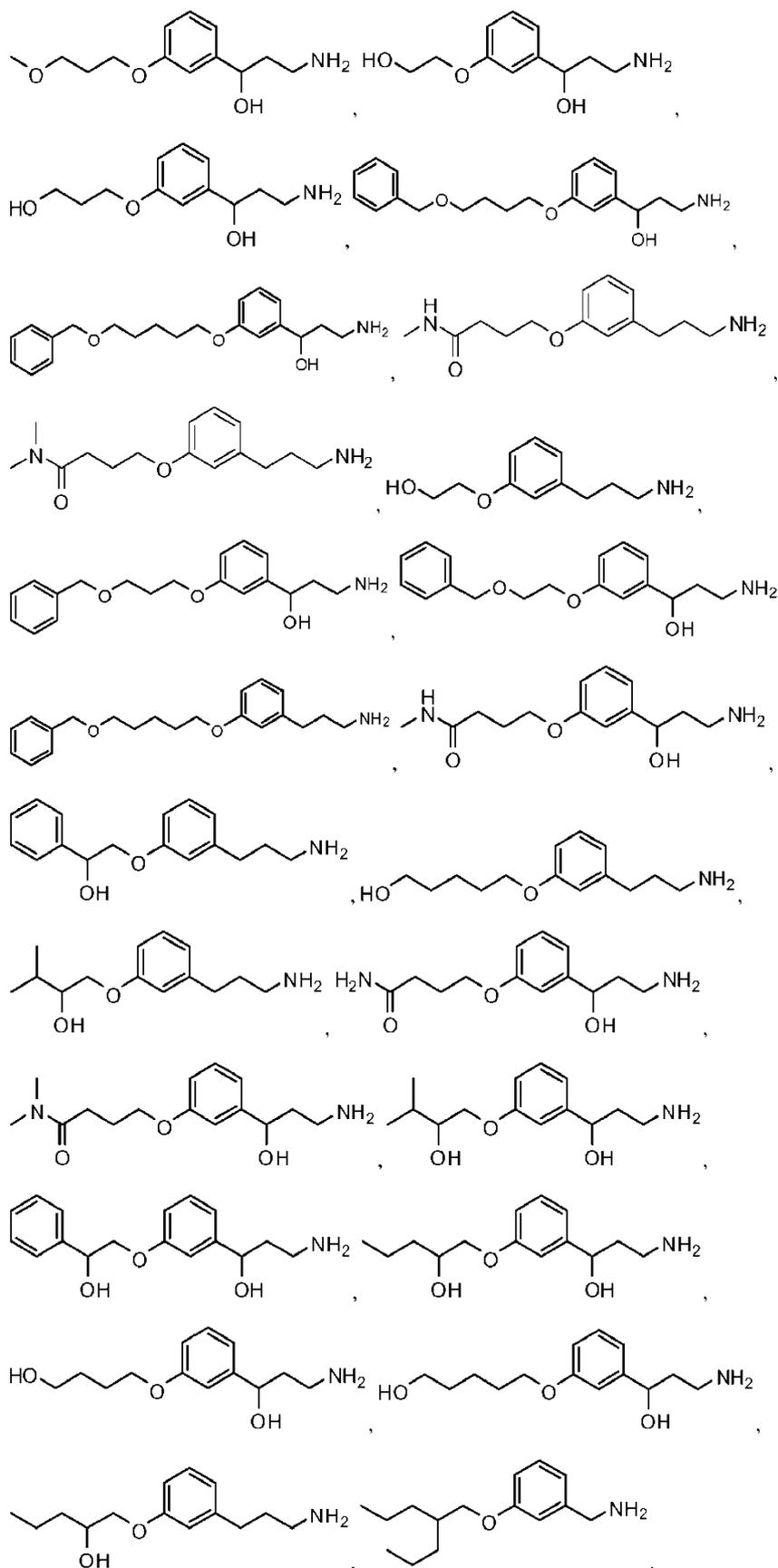


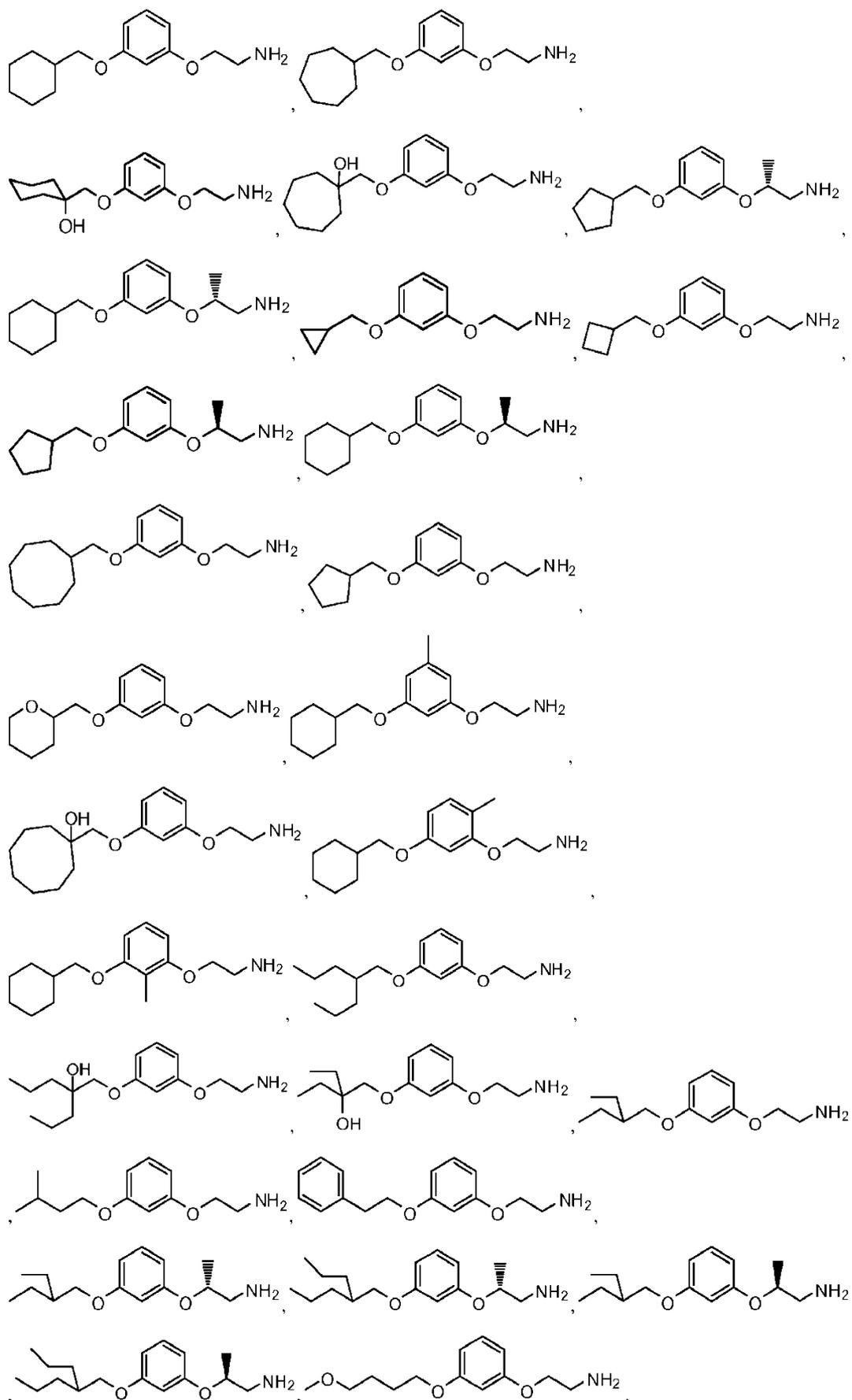
o

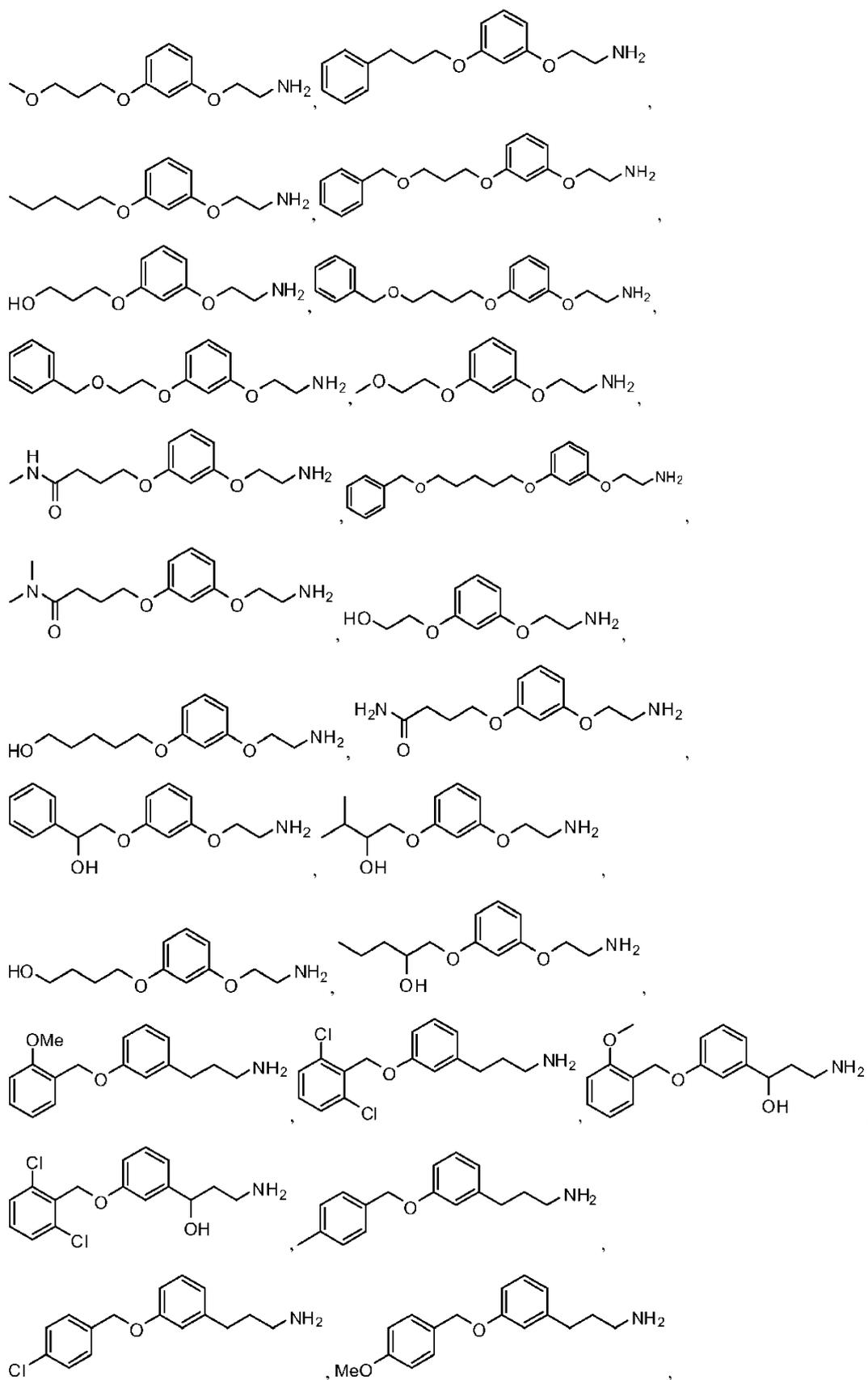
En un caso adicional, es un compuesto seleccionado del grupo que consiste en:

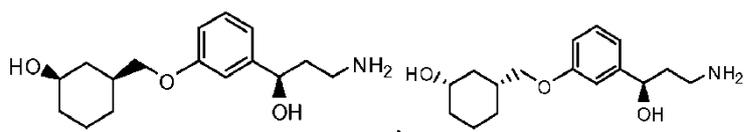
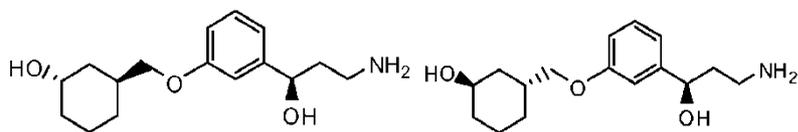
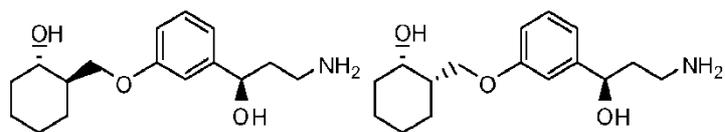
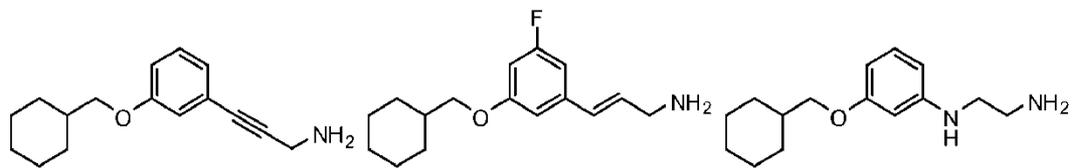
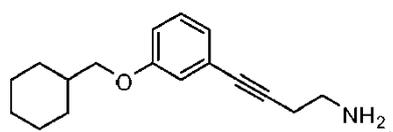
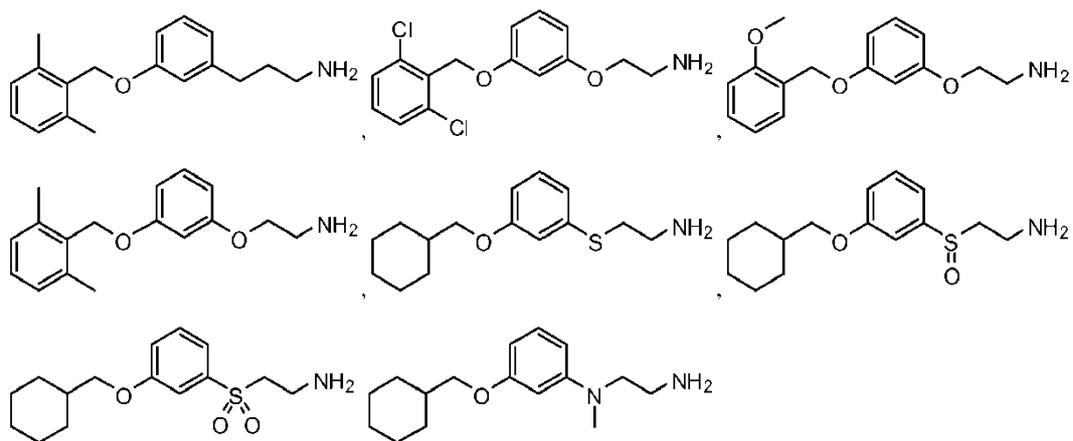




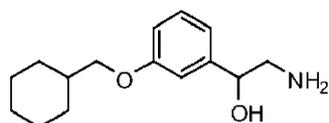








y



10

«Alquilo» se refiere a un radical de cadena de hidrocarburo lineal o ramificado que consiste únicamente en átomos de carbono e hidrógeno, que no contiene insaturaciones, y que tiene de uno a quince átomos de carbono (p. ej., alquilo(C₁-C₁₅)).

15

«Alqueno» se refiere a un grupo radical de cadena de hidrocarburo lineal o ramificado que consiste únicamente en átomos de carbono e hidrógeno, que contiene al menos un doble enlace, y que tiene de dos a doce átomos de carbono.

«Alquino» se refiere a un grupo radical de cadena de hidrocarburo lineal o ramificada que consiste únicamente en átomos de carbono e hidrógeno, que contiene al menos un triple enlace, y que tiene de dos a doce átomos de carbono.

20

«Ariilo» se refiere a un radical derivado de un sistema de anillo de hidrocarburo monocíclico o multicíclico aromático

por retirada de un átomo de hidrógeno de un átomo de carbono del anillo. Los grupos arílicos incluyen, pero sin limitarse a ellos, grupos tales como fenilo, fluorenilo y naftilo.

«Aralquilo» se refiere a un radical de la fórmula $-R^c$ -arilo, en donde R^c es una cadena de alquileo tal y como se define más arriba, por ejemplo, bencilo, difenilmetilo y similares.

- 5 «Aralquenilo» se refiere a un radical de la fórmula $-R^d$ -arilo, en donde R^d es una cadena de alquenileno tal y como se define más arriba.

«Aralquinilo» se refiere a un radical de la fórmula $-R^e$ -arilo, en donde R^e es una cadena de alquinileno tal y como se define más arriba.

- 10 «Carbociclilo» se refiere a un radical estable de hidrocarburo monocíclico o policíclico no aromático que consiste únicamente en átomos de carbono e hidrógeno, que puede incluir sistemas de anillos fusionados o puenteados, y que tiene de tres a quince átomos de carbono.

«Carbocicilalquilo» se refiere a un radical de la fórmula $-R^c$ -carbociclilo, en donde R^c es una cadena de alquileo tal y como se define más arriba. «Halo» o «halógeno» se refiere a sustituyentes de bromo, cloro, fluoro o yodo.

- 15 «Fluoroalquilo» se refiere a un radical de alquilo, tal y como se define más arriba, con sustituciones de uno o varios radicales de fluoro, tal y como se define más arriba.

«Heterociclilo» se refiere a un radical estable de anillo no aromático de 3 a 18 miembros que comprende de dos a doce átomos de carbono y de una a seis heteroátomos seleccionados de nitrógeno, oxígeno y azufre.

- 20 «N-heterociclilo» o «heterociclilo unido en N» se refiere a un radical heterociclilo tal y como se define más arriba que contiene al menos un nitrógeno y en donde el punto de unión del radical heterociclo al resto de la molécula es a través de un átomo de nitrógeno del radical heterociclilo.

«C-heterociclilo» o «heterociclilo unido en C» se refiere a un radical heterociclilo tal y como se define más arriba que contiene al menos un heteroátomo y en donde el punto de unión del radical heterociclo al resto de la molécula es a través de un átomo de carbono del radical heterociclilo.

- 25 «Heterocicilalquilo» se refiere a un radical de la fórmula $-R^c$ -heterociclilo, en donde R^c es una cadena de alquileo tal y como se define más arriba.

- 30 «Heteroarilo» se refiere a un radical derivado de radical de anillo aromático de 3 a 18 miembros que comprende de dos a 17 átomos de carbono y de uno a seis heteroátomos seleccionados de nitrógeno, oxígeno y azufre. Tal y como se emplea en esta memoria, el radical heteroarilo podría ser un sistema de anillos monocíclico, bicíclico, tricíclico o tetracíclico, en donde al menos uno de los anillos del sistema de anillos está totalmente insaturado, a saber, contiene un sistema cíclico de electrones π deslocalizados $(4n+2)$ de acuerdo con la teoría de Hückel.

«Heteroarilalquilo» se refiere a un radical de la fórmula $-R^c$ -heteroarilo, en donde R^c es una cadena de alquileo, tal y como se define más arriba.

- 35 Los compuestos, o sus sales farmacéuticamente aceptables, podrían contener uno o varios centros de asimetría, y podrían dar lugar por tanto a enantiómeros, diastereómeros, y otras formas estereoisoméricas que se podrían definir, en términos de estereoquímica absoluta, como (R)- o (S)-, o como (D)- o (L)- para los aminoácidos. Cuando los compuestos descritos en la presente memoria contienen dobles enlaces olefínicos u otros centros de asimetría geométrica y, a menos que se especifique de otra manera, se pretende que los compuestos incluyan isómeros geométricos *E* y *Z* (p. ej., *cis* o *trans*.) Asimismo, también se pretende que queden incluidos todos los isómeros posibles, así como sus formas racémicas y ópticamente puras, y todas las formas tautoméricas.

- 40 Un «estereoisómero» se refiere a un compuesto hecho de los mismos átomos unidos por los mismos enlaces, pero que tienen diferentes estructuras tridimensionales que no son intercambiables. Por lo tanto, se contempla que diferentes estereoisómeros y mezclas de los mismos e incluye «enantiómeros», que se refiere a dos estereoisómeros cuyas moléculas son imágenes especulares no superponibles la una a la otra.

- 45 «Sal farmacéuticamente aceptable» incluye las sales por adición tanto de ácido como de base. Una sal farmacéuticamente aceptable de uno cualquiera de los compuestos derivados por la unión de amina a alcoxifenilo descritos en la presente memoria se pretende que abarque cualquiera y todas las formas de sales farmacéuticamente aceptables. Las sales farmacéuticamente aceptables preferidas de los compuestos descritos en la presente memoria son sales por adición de ácido farmacéuticamente aceptables y sales por adición de base farmacéuticamente aceptables.

- 50 «Sal por adición de ácido farmacéuticamente aceptable» se refiere a las sales que conservan la eficacia biológica y las propiedades de las bases libres, que no son indeseables ni desde el punto de vista biológico ni de ningún otro, y que se forman con ácidos inorgánicos, tales como el ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, ácido yodhídrico, ácido fluorhídrico, ácido fosforoso y similares. También se incluyen las

sales que se forman con ácidos orgánicos, tales como ácidos mono- y dicarboxílicos, ácidos alcanóicos sustituidos con fenilo, ácidos hidroxialcanóicos, ácidos alcanodioicos, ácidos aromáticos, ácidos sulfónicos alifáticos y aromáticos, etc., e incluyen, por ejemplo, ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido maleico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido *p*-toluenosulfónico, ácido salicílico y similares. Así pues, las sales de ejemplo incluyen sulfatos, piro-sulfatos, bisulfatos, sulfitos, bisulfitos, nitratos, fosfatos, monohidrogenofosfatos, dihidrogenofosfatos, metafosfatos, pirofosfatos, cloruros, bromuros, yoduros, acetatos, trifluoroacetatos, propionatos, caprilatos, isobutiratos, oxalatos, malonatos, suberatos de succinato, sebacatos, fumaratos, maleatos, mandelatos, benzoatos, clorobenzoatos, metilbenzoatos, dinitrobenzoatos, ftalatos, bencenosulfonatos, toluenosulfonatos, fenilacetatos, citratos, lactatos, malatos, tartratos, metanosulfonatos y similares. También se contemplan sales de aminoácidos, tales como arginatos, gluconatos y galacturonatos (véase, por ejemplo, Berge S. M. et al., «Pharmaceutical Salts», *Journal of Pharmaceutical Science*, 66: 1-19 (1997), que se incorpora por referencia en su totalidad). Las sales por adición de ácido de los compuestos básicos se podrían preparar al poner en contacto las formas de base libre con una cantidad suficiente del ácido deseado para producir la sal de acuerdo con los métodos y las técnicas con las que el experto en la materia está familiarizado.

«Compuesto no retinoide» se refiere a cualquier compuesto que no es un retinoide. Un retinoide es un compuesto que tiene un esqueleto de diterpeno que posee un anillo de trimetilciclohexenilo y una cadena poliénica que acaba con un grupo terminal polar. Los ejemplos de retinoides incluyen retinaldehído y derivados con imina/hidrazida/oxima, retinol y cualquier éster derivado, retinilamina y cualquier amida derivada, ácido retinoico y cualquier éster o amida derivados. Un compuesto no retinoide puede comprender, aunque no lo requiere, un grupo cíclico interno (p. ej., un grupo aromático). Un compuesto no retinoide puede contener, aunque no lo requiere, un grupo amina unido a alcoxifenilo.

Tal y como se emplea en esta memoria, «tratamiento» o «para tratar» o «para paliar» o «que mejora» o «para mejorar» se utilizan indistintamente en la presente memoria. Estos términos se refieren a una estrategia para obtener resultados beneficiosos o deseados que incluyen, pero no se limitan a ellos, un beneficio terapéutico y/o un beneficio profiláctico. Con «beneficio terapéutico» se quiere decir la erradicación o la mejora del trastorno subyacente que se trata. De igual forma, se consigue un beneficio terapéutico con la erradicación o la mejora de uno o varios de los síntomas fisiológicos asociados al trastorno subyacente, de tal manera que se observa una mejora del paciente a pesar de que el paciente pueda seguir afectado por el trastorno subyacente. Para el beneficio profiláctico, las composiciones se podrían administrar a un paciente con riesgo de desarrollar una enfermedad concreta o a un paciente que presenta uno o varios de los síntomas fisiológicos de una enfermedad, incluso aunque no se le haya hecho un diagnóstico de esta enfermedad.

Preparación de los compuestos derivados por la unión de amina a alcoxifenilo

Los compuestos utilizados en las reacciones descritas en la presente memoria se fabrican de acuerdo con las técnicas de síntesis orgánica conocidas por los expertos en esta técnica, a partir de las sustancias químicas disponibles en el mercado y/o de los compuestos descritos en la bibliografía química. Las «sustancias químicas disponibles en el mercado» se obtienen de fuentes comerciales estándares que incluyen Acros Organics (Pittsburgh PA), Aldrich Chemical (Milwaukee WI, que incluye Sigma Chemical and Fluka), Apin Chemicals Ltd. (Milton Park, GB), Avocado Research (Lancashire, GB), BDH Inc. (Toronto, Canadá), Bionet (Cornwall, GB), Chemservice Inc. (West Chester PA), Crescent Chemical Co. (Hauppauge NY), Eastman Organic Chemicals, Eastman Kodak Company (Rochester NY), Fisher Scientific Co. (Pittsburgh PA), Fisons Chemicals (Leicestershire, GB), Frontier Scientific (Logan UT), ICN Biomedicals, Inc. (Costa Mesa CA), Key Organics (Cornwall, GB), Lancaster Synthesis (Windham NH), Maybridge Chemical Co. Ltd. (Cornwall, GB), Parish Chemical Co. (Orem UT), Pfaltz & Bauer, Inc. (Waterbury CN), Polyorganix (Houston TX), Pierce Chemical Co. (Rockford IL), Riedel de Haen AG (Hanover, Alemania), Spectrum Quality Product, Inc. (New Brunswick, NJ), TCI America (Portland OR), Trans World Chemicals, Inc. (Rockville MD) y Wako Chemicals USA, Inc. (Richmond VA).

Los métodos conocidos por los expertos en la técnica se identifican a través de diferentes libros y bases de datos de referencia. Los libros y tratados de referencia idóneos que detallan la síntesis de reactivos útiles para la preparación de los compuestos descritos en la presente memoria, o que proporcionan referencias a artículos que describen la preparación, incluyen, por ejemplo, «Synthetic Organic Chemistry», John Wiley & Sons, Inc., Nueva York; S. R. Sandler et al., «Organic Functional Group Preparations», 2.^a ed., Academic Press, Nueva York, 1983; H. O. House, «Modern Synthetic Reactions», 2.^a ed., W. A. Benjamin, Inc. Menlo Park, Calif. 1972; T. L. Gilchrist, «Heterocyclic Chemistry», 2.^a ed., John Wiley & Sons, Nueva York, 1992; J. March, «Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms and Structure», 4.^a ed., Wiley-Interscience, Nueva York, 1992. Otros libros y tratados de referencia e idóneos que detallan la síntesis de reactivos útiles para la preparación de los compuestos descritos en la presente memoria o que proporcionan referencias a artículos que describen la preparación incluyen, por ejemplo, Fuhrhop, J. y Penzlin G. «Organic Synthesis: Concepts, Methods, Starting Materials», Segunda edición revisada y aumentada (1994) John Wiley & Sons ISBN: 3-527-29074-5; Hoffman, R. V. «Organic Chemistry, An Intermediate Text» (1996) Oxford University Press, ISBN 0-19-509618-5; Larock, R. C. «Comprehensive Organic Transformations: A Guide to Functional Group Preparations» 2.^a edición (1999) Wiley-VCH, ISBN: 0-471-19031-4; March, J. «Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure» 4.^a edición (1992) John Wiley & Sons, ISBN: 0-471-60180-2;

- Otera, J. (editor) «Modern Carbonyl Chemistry» (2000) Wiley-VCH, ISBN: 3-527-29871-1; Patai, S. «Patai's 1992 Guide to the Chemistry of Functional Groups» (1992) Interscience, ISBN: 0-471-93022-9; Quin, L. D. et al. «A Guide to Organophosphorus Chemistry» (2000) Wiley-Interscience, ISBN: 0-471-31824-8; Solomons, T. W. G. «Organic Chemistry» 7.^a edición (2000) John Wiley & Sons, ISBN: 0-471-19095-0; Stowell, J. C., «Intermediate Organic Chemistry» 2.^a edición (1993) Wiley-Interscience, ISBN: 0-471-57456-2; «Industrial Organic Chemicals: Starting Materials and Intermediates»: An Ullmann's Encyclopedia (1999) John Wiley & Sons, ISBN: 3-527-29645-X, en 8 volúmenes; «Organic Reactions» (1942-2000) John Wiley & Sons, en aproximadamente 55 volúmenes; y «Chemistry of Functional Groups» John Wiley & Sons, en 73 volúmenes.

Los reactantes específicos y análogos se podrían identificar también a través de los índices de sustancias químicas conocidas preparados por el Chemical Abstract Service de la American Chemical Society, que está disponible en la mayoría de bibliotecas universitarias y públicas, así como a través de bases de datos en línea (para más detalles, se podría entrar en contacto con la American Chemical Society, Washington, D. C.). Las sustancias químicas que se conocen, pero que no están disponibles en el mercado en catálogos, las podrían preparar casas de síntesis química, en donde muchas de las casas de suministro de sustancias químicas estándares (p. ej., las recogidas más arriba) proporcionan servicios de síntesis personalizada. Una referencia para la preparación y selección de sales farmacéuticas de los compuestos derivados por la unión de amina a alcoxifenilo descritos en la presente memoria es P. H. Stahl y C. G. Wennuth «Handbook of Pharmaceutical Salts», Verlag Helvetica Chimica Acta, Zurich, 2002.

Los compuestos descritos en la presente memoria se pueden preparar por etapas, lo que implica la alquilación de un fenol y la construcción del conector con la amina.

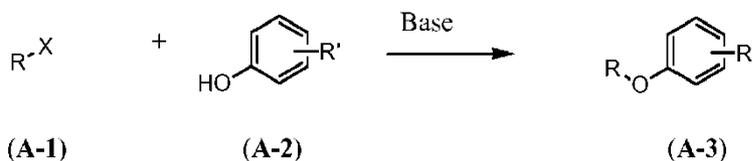
Alquilación:

Los métodos A - B que vienen a continuación describen diferentes estrategias para la alquilación.

Más específicamente, el método A ilustra la construcción de un intermedio de alcoxi (A-3) a través de la alquilación de un fenol (A-2). El agente alquilante (A-1) comprende un resto (X) capaz de reaccionar con el hidrógeno ácido del fenol. X puede ser, por ejemplo, halógeno, mesilato, tosilato, triflato y similares. Tal y como se muestra, el proceso de alquilación elimina una molécula de HX.

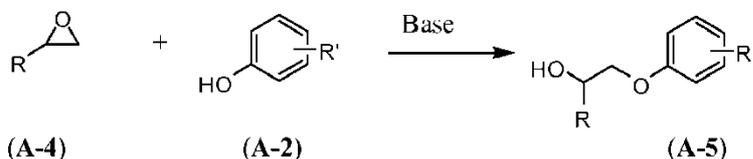
Se puede utilizar una base para facilitar la desprotonación del fenol. Las bases adecuadas son típicamente las bases moderadas, tales como carbonatos alcalinos (p. ej., K_2CO_3). En función de X, se pueden utilizar otros reactantes (p. ej., PPh_3 en combinación con DEAD) para facilitar el proceso de alquilación.

MÉTODO A



El método B muestra la construcción de un intermedio de alcoxi (A-5) mediante la apertura del anillo de un epóxido (A-4).

MÉTODO B



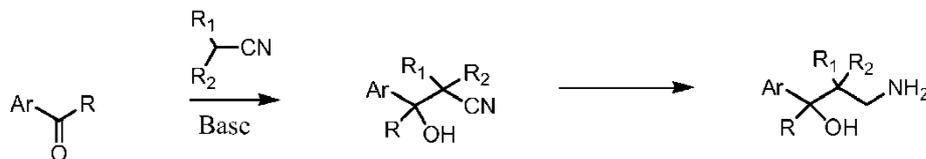
Formación y modificación de la cadena lateral:

Los métodos C-P que vienen a continuación describen diferentes estrategias para la formación y modificación de la cadena lateral.

En términos generales, un derivado de arilo idóneamente sustituido (p. ej., alcoxifenilo) se puede acoplar a un amplio margen de cadenas laterales, que además se podrían modificar para proporcionar los enlaces finales y los restos que contienen nitrógeno de los compuestos descritos en la presente memoria.

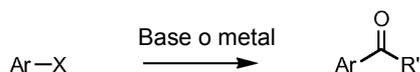
El método C ilustra una condensación aldólica entre un aldehído arílico o una cetona arífica con un reactante nitrílico que comprende al menos un α -hidrógeno. El intermedio de condensación resultante se puede reducir posteriormente a una amina ($-NH_2$).

MÉTODO C

R = H, Me, CF₃

- 5 El método D muestra una reacción de acilación para formar un enlace a partir de cetona. El experto en la técnica reconocerá que el grupo R' comprende grupos funcionales que pueden modificarse adicionalmente.

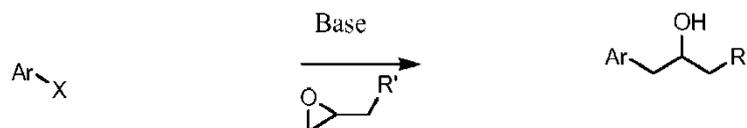
MÉTODO D



X = Br, I

El método E muestra una reacción de apertura del anillo de un reactante epóxido para formar un enlace a una cadena lateral de 3 carbonos. R' se puede modificar adicionalmente.

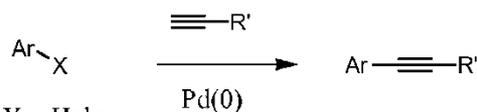
10 MÉTODO E



X = Hal

- 15 El método F muestra la formación de un triple enlace basado en una reacción de Sonogashira. Típicamente, el catalizador de paladio(0) se utiliza en combinación con una base para acoplar un halogenuro de arilo con un derivado de acetileno. R' se puede modificar adicionalmente, tal y como se describe en la presente memoria. El enlace de acetileno se puede modificar adicionalmente, por ejemplo, por hidrogenación para proporcionar un enlace de alqueno o alquenileno.

MÉTODO F

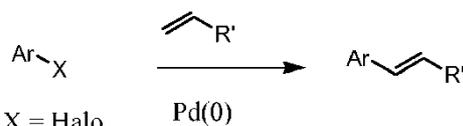


X = Halo

- 20 Los catalizadores de paladio idóneos para las reacciones de acoplamiento están entre lo que conoce el experto en la técnica. Los catalizadores de paladio(0) de ejemplo incluyen, por ejemplo, tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0) [Pd(PPh₃)₄] y tetrakis(tri(o-tolilfosfina)paladio(0), tetrakis(dimetilfenilfosfina)paladio(0), tetrakis(tris-p-metoxifenilfosfina)paladio(0) y similares. Se sabe que también se puede utilizar una sal de paladio(II), que genera el catalizador de paladio(0) *in situ*. Las sales de paladio(II) idóneas incluyen, por ejemplo, diacetato de paladio [Pd(OAc)₂], diacetato de bis(trifenilfosfina)paladio y similares.

- 25 El método G muestra la formación de un doble enlace basado en una reacción de Heck. Típicamente, el catalizador de paladio(0) se utiliza en combinación con una base para acoplar un halogenuro de arilo con un derivado de vinilo. R' se puede modificar adicionalmente, tal y como se describe en la presente memoria.

MÉTODO G

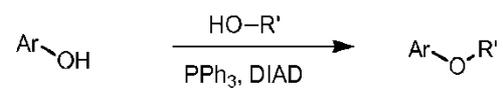


X = Halo

- 30 Los métodos H-P ilustran las uniones de los restos de la cadena lateral mediante heteroátomos. El método H muestra un precursor de cadena lateral (R'OH) unido a un derivado de arilo a través de un átomo de oxígeno en una reacción de condensación en la que se elimina una molécula de agua. R' comprende grupos funcionales que se pueden modificar adicionalmente para preparar enlaces y restos que contienen nitrógeno de los compuestos

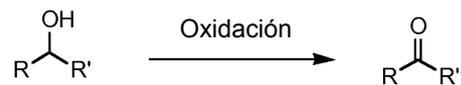
descritos en la presente memoria.

MÉTODO H

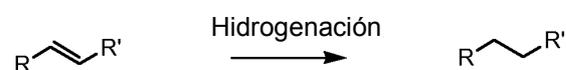


5 Las modificaciones adicionales o alternativas se pueden realizar de acuerdo con los métodos que se ilustran a continuación.

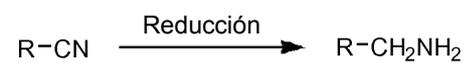
MÉTODO I



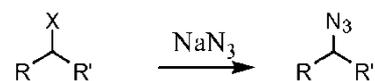
MÉTODO J



10 MÉTODO K



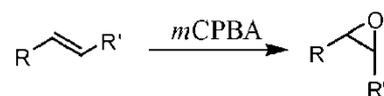
MÉTODO L



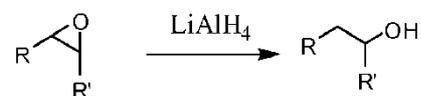
MÉTODO M



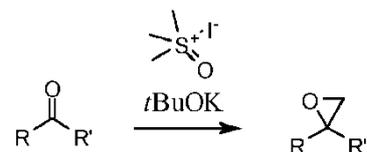
MÉTODO N



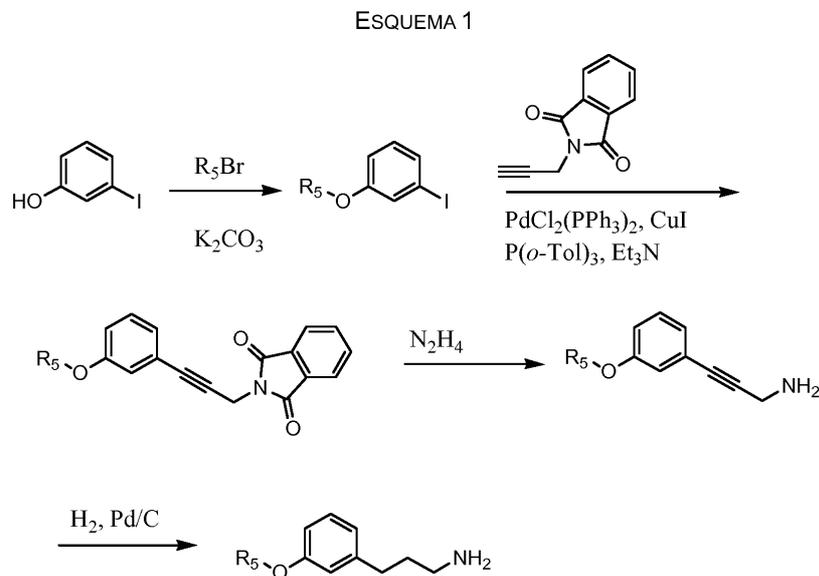
MÉTODO O



20 MÉTODO P



El esquema 1 ilustra una secuencia sintética completa para preparar un compuesto descrito en la presente memoria.



En el esquema 1, el intermedio de alcoxi se forma por la alquilación de un fenol. La cadena lateral se introduce mediante un acoplamiento de Sonogashira. La desprotección de la amina, seguida de la hidrogenación del acetileno, da el compuesto deseado. Otros restos que contienen nitrógeno se pueden derivar adicionalmente desde la amina terminal, de acuerdo con los métodos conocidos en la técnica.

Además de los esquemas de reacción genéricos y de los métodos explicados más arriba, también se dan a conocer otros esquemas de reacción de ejemplo para ilustrar los métodos de preparación de cualquier compuesto de las fórmulas (A)-(E), (I), (II), (IIa), (IIb) descritos en la presente memoria o cualquiera de sus estructuras subgenéricas.

10 Tratamiento de las enfermedades y trastornos oftálmicos

En un caso adicional, es un compuesto no retinoide que inhibe una reacción de isomerasa que da lugar a la producción de 11-*cis* retinol, en donde dicha reacción de isomerasa se produce en el EPR, y en donde dicho compuesto tiene un valor de DE₅₀ de 1 mg/kg o menor cuando se administra a un sujeto. En otro caso más, es el compuesto no retinoide en donde el valor de DE₅₀ se mide después de administrar una dosis única del compuesto a dicho sujeto durante aproximadamente 2 horas o más. En otro caso más, es el compuesto no retinoide, en donde el compuesto no retinoide es un compuesto alcoxilico. En un caso adicional, es una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un compuesto no retinoide tal y como se describe en la presente memoria. En un caso adicional, es un método para tratar una enfermedad o trastorno oftálmico en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un compuesto no retinoide tal y como se describe en la presente memoria.

En un caso adicional, es un compuesto que inhibe la producción de 11-*cis*-retinol con una CI₅₀ de aproximadamente 1 μM o menor cuando se ensaya *in vitro*, con el uso de extracto de células que expresan RPE65 y LRAT, en donde el extracto comprende además CRALBP, en donde el compuesto es estable en solución durante al menos aproximadamente 1 semana a temperatura ambiente. En otro caso, el compuesto inhibe la producción de 11-*cis*-retinol con una CI₅₀ de aproximadamente 0,1 μM o menor. En otro caso, el compuesto inhibe la producción de 11-*cis*-retinol con una CI₅₀ de aproximadamente 0,01 μM o menor. En otro caso, el compuesto que inhibe la producción de 11-*cis*-retinol es un compuesto no retinoide. En un caso adicional, es una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un compuesto que inhibe la producción de 11-*cis*-retinol tal y como se describe en la presente memoria. En un caso adicional, es un método para tratar una enfermedad o trastorno oftálmicos en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un compuesto que inhibe la producción de 11-*cis* retinol tal y como se describe en la presente memoria. En un caso adicional, es un método para modular el flujo de cromóforos en un ciclo retinoide que comprende introducir en un sujeto un compuesto que inhibe la producción de 11-*cis*-retinol tal y como se describe en la presente memoria.

En un caso adicional, es un método para modular el flujo de cromóforos en un ciclo retinoide que comprende introducir en un sujeto una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (F). En otro caso más, es el método que da lugar a que se reduzca la acumulación del pigmento de lipofuscina en un ojo del sujeto. En otro caso más, es el método que da lugar a que se reduzca la acumulación del pigmento de lipofuscina en un ojo del sujeto, en donde el pigmento de lipofuscina es la *N*-retinilideno-*N*-retiniletanolamina (A2E).

En otro caso, es un método para inhibir la adaptación a la oscuridad de una célula fotorreceptora de tipo bastón de la retina, que comprende poner en contacto la retina con una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (F).

5 En otro caso, es un método para inhibir la regeneración de la rodopsina en una célula fotorreceptora de tipo bastón de la retina, que comprende poner en contacto la retina con una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (F).

En un caso adicional, es un método para inhibir la degeneración de una célula retiniana en una retina, que comprende poner en contacto la retina con una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (F).

10 Los compuestos derivados por la unión de amina a alcoxifenilo tal y como se describen en detalle en la presente memoria, que incluyen un compuesto que tiene la estructura de cualquiera de las fórmulas que se presentan en la presente memoria, y las subestructuras de las mismas, y los compuestos específicos con la amina unida a alcoxifenilo descritos en la presente memoria que podrían ser útiles para tratar una enfermedad o trastorno oftálmico podrían inhibir una o varias etapas del ciclo visual, por ejemplo, al inhibir o bloquear una actividad funcional de una isomerasa *trans-cis* del ciclo visual (que también incluye una *trans-cis* isomerohidrolasa del ciclo visual). Los
15 compuestos descritos en la presente memoria podrían inhibir, bloquear o, de alguna manera, interferir con la etapa de isomerización del ciclo visual. En un caso concreto, el compuesto inhibe la isomerización de un éster de todo-*trans*-retinilo; en algunos casos, el éster de todo-*trans*-retinilo es un éster de ácido graso de todo-*trans*-retinol, y el compuesto inhibe la isomerización del todo-*trans*-retinol en el 11-*cis*-retinol. El compuesto podría unirse a, o de alguna manera interactuar con, e inhibir, la actividad isomérica de al menos una isomerasa del ciclo visual, a lo que también se puede hacer referencia en la presente memoria y en la técnica como una retinal isomerasa o una isomerohidrolasa. El compuesto podría bloquear o inhibir la fijación de un sustrato de éster del todo-*trans*-retinilo a una isomerasa. Como alternativa, o además, el compuesto podría fijarse al sitio o región catalíticas de la isomerasa, con lo que inhibiría la capacidad que tiene la enzima para catalizar la isomerización de un sustrato de tipo éster de todo-*trans*-retinilo. Basándose en los datos científicos hasta la fecha, se cree que al menos una isomerasa que cataliza la isomerización de los ésteres de todo-*trans*-retinilo está localizada en el citoplasma de las células del EPR. Tal y como se explica en la presente memoria, todavía quedan por dilucidar cada etapa, enzima, sustrato, intermedio y producto del ciclo visual (véase, p. ej., Moiseyev et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 12413-18 (2004); Chen et al., *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 47: 1177-84 (2006); Lamb et al., véase más arriba).

30 Un método para determinar el efecto de un compuesto sobre la actividad isomerasa se podría llevar a cabo *in vitro* tal y como se describe en la presente memoria y en la técnica (Stecher et al., *J. Biol Chem* 274: 8577-85 (1999); véase también, Golczak et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 8162-67 (2005)). Las membranas de los microsomas del epitelio pigmentario de la retina (EPR) aisladas de un animal (tal como bovino, porcino, humano, por ejemplo) podrían servir como fuente de la isomerasa. La capacidad de los compuestos derivados por la unión de amina a alcoxifenilo para inhibir la isomerasa también se podría determinar mediante un ensayo de la isomerasa murina *in vivo*. La breve exposición del ojo a la luz intensa («fotoblanqueo» del pigmento visual o simplemente «blanqueo») se sabe que fotoisomeriza casi todo el 11-*cis*-retinal de la retina. La recuperación del 11-*cis*-retinal después del blanqueo se puede utilizar para estimar la actividad isomérica *in vivo* (véase, p. ej., Maeda et al., *J. Neurochem* 85: 944-956 (2003); Van Hooser et al., *J Biol Chem* 277: 19173-82, 2002). El registro electroretinográfico (ERG) se podría realizar como se ha descrito previamente (Haeseleer et al., *Nat. Neurosci.* 7: 1079-87 (2004); Sugitomo et al., *J. Toxicol. Sci.* 22 Supl 2: 315-25 (1997); Keating et al., *Documenta Ophthalmologica* 100: 77-92 (2000)). Véase también Deigner et al., *Science*, 244: 968-971 (1989); Gollapalli et al., *Biochim Biophys Acta.* 1651: 93-101 (2003); Parish, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 14609-13 (1998); Radu, et al., *Proc Natl Acad Sci USA* 101: 5928-33 (2004)). En determinados casos, los compuestos que son útiles para el tratamiento de un sujeto que tiene o que está en riesgo de desarrollar cualquiera de las enfermedades o trastornos oftálmicos y retinianos descritos en la presente memoria tienen unos valores de CI_{50} (concentración del compuesto a la que se inhibe el 50% de la actividad isomerasa) que se miden en los ensayos de la isomerasa descritos en la presente memoria o que se conocen en la técnica que es de menos de aproximadamente 1 μ M; en otros casos, el valor de CI_{50} determinado es de menos de aproximadamente 10 nM; en otros casos, el valor de CI_{50} determinado es de menos de aproximadamente 50 nM; en otros casos concretos, el valor de CI_{50} determinado es de menos de aproximadamente 100 nM; en otros casos concretos, el valor de CI_{50} determinado es de menos de aproximadamente 10 μ M; en otros casos concretos, el valor de CI_{50} determinado es de menos de aproximadamente 50 μ M; en otros casos concretos, el valor de CI_{50} determinado es de menos de aproximadamente 100 μ M o aproximadamente 500 μ M; en otros casos, el valor de CI_{50} determinado está entre aproximadamente 1 μ M y 10 μ M; en otros casos, el valor de CI_{50} determinado está entre aproximadamente 1 nM y 10 nM. Cuando se administra a un sujeto, uno o varios compuestos de la presente invención muestran un valor de DE_{50} de aproximadamente 5 mg/kg, 5 mg/kg o menos, según se determina mediante la inhibición de una reacción de la isomerasa que da lugar a la producción de 11-*cis* retinol. En algunos casos, los compuestos de la presente invención tienen valores de DE_{50} de aproximadamente 1 mg/kg cuando se administran a un sujeto. En otros casos, los compuestos de la presente invención tienen valores de DE_{50} de aproximadamente 0,1 mg/kg cuando se administran a un sujeto. Los valores de DE_{50} se pueden medir después de aproximadamente 2 horas, 4 horas, 6 horas, 8 horas o más tras la administración a un sujeto de un compuesto o una composición farmacéutica del mismo.

Los compuestos descritos en la presente memoria podrían ser útiles para el tratamiento de un sujeto que tiene una enfermedad o trastorno oftálmico, en concreto una enfermedad o trastorno retiniano, tal como la degeneración macular relacionada con la edad o la distrofia macular de Stargardt. En un caso, los compuestos descritos en la presente memoria podrían inhibir (a saber, impedir, reducir, enlentecer, anular o disminuir al mínimo) la acumulación de los pigmentos de lipofuscina y de las moléculas relacionadas y/o asociadas a la lipofuscina en el ojo. En otro caso, los compuestos podrían inhibir (a saber, impedir, reducir, enlentecer, anular o disminuir al mínimo) la acumulación de *N*-retinilideno-*N*-retiniletanolamina (A2E) en el ojo. La enfermedad oftálmica podría ser el resultado, al menos en parte, de la acumulación de pigmentos de lipofuscina y/o de la acumulación de la A2E en el ojo. De acuerdo con esto, en determinados casos, se dan a conocer métodos para inhibir o impedir la acumulación de los pigmentos de lipofuscina y/o A2E en el ojo de un sujeto. Estos métodos comprenden la administración al sujeto de una composición que comprende un excipiente farmacéuticamente aceptable o idóneo (a saber, un vehículo farmacéuticamente aceptable o idóneo) y un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo tal y como se describe con detalle en la presente memoria, que incluye un compuesto que tiene la estructura que se presenta en cualquiera de las fórmulas (A)-(E), (I), (II), (IIa), (IIb), y subestructuras de las mismas, y los compuestos con la amina unida a alcoxifenilo específicos descritos en la presente memoria.

La acumulación de los pigmentos de lipofuscina en las células del epitelio pigmentario de la retina (EPR) se ha relacionado con la progresión de las enfermedades retinianas que dan lugar a ceguera, entre ellas la degeneración macular relacionada con la edad (De Laey et al., *Retina* 15: 399-406 (1995)). Los gránulos de lipofuscina son cuerpos residuales lisosómicos y fluorescentes (también denominados pigmentos de la edad). La principal especie fluorescente de la lipofuscina es la A2E (un fluoróforo que emite en el naranja), que es un producto de condensación de base de Schiff cargado positivamente formado por todo-*trans*-retinaldehído con fosfatidiletanolamina (razón 2:1) (véase, p. ej., Eldred et al., *Nature* 361: 724-6 (1993); véase también, Sparrow, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100: 4353-54 (2003)). Se cree que gran parte del pigmento de lipofuscina indigerible se origina en las células fotorreceptoras; el depósito en el EPR se produce porque el EPR internaliza el desecho membranoso que se descarta diariamente desde las células fotorreceptoras. La formación de este compuesto no se cree que se produzca por la catálisis de una enzima, sino que, más bien, la A2E se forma por una reacción de ciclación espontánea. Además, la A2E tiene una estructura de bisretinoide de piridinio que, una vez formado, no se puede degradar enzimáticamente. La lipofuscina y así pues la A2E, se acumula con el envejecimiento del ojo humano y también se acumula en una forma juvenil de degeneración macular llamada enfermedad de Stargardt, y en otras muchas distrofias retinianas congénitas.

La A2E podría inducir el daño de la retina mediante muchos mecanismos diferentes. A concentraciones bajas, la A2E inhibe la proteólisis normal en los lisosomas (Holz et al., *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 40: 737-43 (1999)). A concentraciones suficientes más altas, la A2E podría actuar como un detergente lisosomótropro cargado positivamente, que disuelve las membranas celulares y que podría alterar la función de los lisosomas, liberar proteínas proapoptóticas desde la mitocondria y, finalmente, destruir las células del EPR (véase, p. ej., Eldred et al., más arriba; Sparrow et al., *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 40: 2988-95 (1999); Holz et al., véase más arriba; Finneman et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99: 3842-347 (2002); Suter et al., *J. Biol. Chem.*, 275: 39625-30 (2000). La A2E es fototóxica e inicia la apoptosis inducida por la luz azul en las células del EPR (véase, p. ej., Sparrow et al., *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 43: 1222-27 (2002)). Tras la exposición a la luz azul, se forman los productos fotooxidativos de la A2E (p. ej., epóxidos) que dañan las macromoléculas celulares, entre ellas el ADN (Sparrow et al., *J. Biol. Chem.* 278(20): 18207-13 (2003)). La A2E autogenera el oxígeno singulete que reacciona con la A2E para generar epóxidos en los dobles enlaces carbono-carbono (Sparrow et al., véase más arriba). La generación de las especies reactivas del oxígeno tras la fotoexcitación de la A2E ocasiona el daño oxidativo de la célula, que a menudo da lugar a la muerte celular. Se ha descrito un método indirecto para bloquear la formación de la A2E mediante la inhibición de la biosíntesis del precursor directo de la A2E, el todo-*trans*-retinal (véase, la publicación de solicitud de patente de los EE. UU. n.º 2003/0032078). Sin embargo, la utilidad del método descrito en ésta es escasa debido a que la generación del todo-*trans*-retinal es un componente importante del ciclo visual. Otros tratamientos descritos incluyen la neutralización del daño ocasionado por las especies radicales oxidativas mediante el uso de imitadores de la superóxido dismutasa (véase, p. ej., publicación de la solicitud de la patente de los EE. UU. n.º 2004/0116403) y la inhibición de la inducción de la citocromo *c* oxidasa debida a la A2E en las células retinianas con fosfolípidos cargados negativamente (véase, p. ej., la publicación de la solicitud de patente de los EE. UU. n.º. 2003/0050283).

Los compuestos derivados por la unión de amina a alcoxifenilo descritos en la presente memoria podrían ser útiles para impedir, reducir o disminuir la acumulación (a saber, depósito) de la A2E, y de las moléculas derivadas y/o relacionadas con la A2E, en el EPR. Sin desear comprometerse con la teoría, ya que el EPR es decisivo para el mantenimiento de la integridad de las células fotorreceptoras, impedir, reducir o inhibir el daño del EPR podría inhibir la degeneración (a saber, mejorar la supervivencia o incrementar o prolongar la viabilidad celular) de las células neuronales retinianas, en particular de las células fotorreceptoras. Los compuestos que se fijan o interaccionan específicamente con la A2E, moléculas derivadas y/o relacionadas con la A2E, o que afectan a la formación o acumulación de la A2E también podrían reducir, inhibir, impedir o disminuir uno o varios efectos tóxicos de la A2E o de las moléculas derivadas y/o relacionadas con la A2E que dan lugar al daño, pérdida o neurodegeneración de las células neuronales retinianas (que incluyen las células fotorreceptoras), o de algún modo disminuyen la viabilidad de las células neuronales retinianas. Tales efectos tóxicos incluyen la inducción de la apoptosis, autogeneración de oxígeno singulete y la generación de especies reactivas del oxígeno; la autogeneración de oxígeno singulete para

formar epóxidos de A2E que inducen lesiones en el ADN, lo que daña el ADN celular e induce el daño celular; la solución de las membranas celulares; la alteración de la función lisosómica; y la liberación de las proteínas proapoptóticas desde las mitocondrias.

5 En otros casos, los compuestos descritos en la presente memoria se podrían utilizar para tratar otras enfermedades o trastornos oftálmicos, por ejemplo, glaucoma, distrofia de conos y bastones, desprendimiento de retina, retinopatía hemorrágica o hipertensiva, retinosis pigmentaria, neuropatía óptica, enfermedad retiniana inflamatoria, vitreorretinopatía proliferativa, distrofias retinianas genéticas, lesión traumática del nervio óptico (tal como por lesión física, exposición excesiva a la luz o luz de láser), neuropatía óptica hereditaria, neuropatía debido a un agente tóxico u ocasionada por reacciones adversas a fármacos o deficiencia de vitaminas, distrofia de Sorsby en fondo, 10 uveítis, un trastorno retiniano relacionado a la enfermedad de Alzheimer, un trastorno retiniano asociado a la esclerosis múltiple; un trastorno retiniano asociado a una infección vírica (citomegalovirus o virus del herpes simple), un trastorno retiniano asociado a la enfermedad de Parkinson, un trastorno retiniano asociado al sida u otras formas de atrofia o degeneración retiniana progresiva. En otro caso específico, la enfermedad o trastorno es el resultado de la lesión mecánica, lesión inducida por fármacos o sustancias químicas, lesión térmica, lesión por irradiación, lesión por luz, lesión por láser. Los compuestos en cuestión son útiles para tratar la distrofia retiniana, tanto la hereditaria como la no hereditaria. Estos métodos son también útiles para impedir la lesión oftálmica debida a factores ambientales, tales como el daño retiniano oxidativo inducido por la luz, daño retiniano inducido por láser, «lesión por destello de bomba» o «deslumbramiento», errores refractivos que incluyen, pero sin limitación, la miopía (véase, p. 15 ej., Quinn GE et al. *Nature* 1999; 399: 113-114; Zadnik et al., *Nature* 2000; 404: 143-144; Gwiazda J et al., *Nature* 2000; 404: 144), etc.

En otros casos, en la presente memoria se dan a conocer métodos para inhibir la neovascularización (que incluye, pero sin limitación, al glaucoma neovascular) de la retina mediante el uso de uno cualquiera o varios compuestos derivados por la unión de amina a alcoxifenilo tal y como se describe en detalle en la presente memoria, que incluye un compuesto que tiene la estructura que se presenta en cualquiera de las fórmulas de la presente memoria y las subestructuras de las mismas, y los compuestos con la amina unida a alcoxifenilo descritos en la presente memoria. 25 En otros casos determinados, se dan a conocer métodos para reducir la hipoxia en la retina mediante el uso de los compuestos descritos en la presente memoria. Estos métodos comprenden administrar a un sujeto que necesita la misma una composición que comprende un excipiente farmacéuticamente aceptable o idóneo (a saber, un vehículo farmacéuticamente aceptable o idóneo) y un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo tal y como se describe en detalle en la presente memoria, que incluye un compuesto que tiene la estructura que se presenta en cualquiera de las fórmulas (I), (II), (IIa), (IIb), y las subestructuras de las mismas, y los compuestos específicos con la amina unida a alcoxifenilo descritos en la presente memoria. 30

Simplemente a modo de explicación y sin desear comprometerse con la teoría, y como se explicó con más detalle en la presente memoria, los bastones fotorreceptores adaptados a la oscuridad engendran unas necesidades metabólicas muy elevadas (a saber, gasto de energía (consumo de ATP) y consumo de oxígeno). La hipoxia resultante podría ocasionar y/o exacerbar la degeneración retiniana, que probablemente sea exagerada en las afecciones en las que la vasculatura retiniana ya está comprometida, que incluye, pero sin limitarse a ellas, afecciones tales como la retinopatía diabética, el edema macular, maculopatía diabética, oclusión de vasos sanguíneos retinianos (que incluye la oclusión venosa retiniana y la oclusión arterial retiniana), retinopatía del prematuro, lesión retiniana relacionada con la reperusión por isquemia, así como en la forma húmeda de la degeneración macular relacionada con la edad (DMS). Además, la degeneración retiniana y la hipoxia podrían conducir a la neovascularización, lo que a su vez podría empeorar la extensión de la degeneración retiniana. Los compuestos derivados con la amina alcoxifenilica descritos en la presente memoria que modulan el ciclo visual se pueden administrar para impedir, inhibir y/o retrasar la adaptación a la oscuridad de las células fotorreceptoras de tipo bastón y podrían, por lo tanto, reducir las necesidades metabólicas, con lo que reduciría la hipoxia y se inhibiría la neovascularización. 40 45

A modo de antecedentes, el oxígeno es un metabolito decisivo para conservar el funcionamiento de la retina en los mamíferos, y la hipoxia retiniana podría ser un factor en muchas enfermedades y trastornos retinianos que tienen la isquemia entre sus componentes. En la mayoría de los mamíferos (incluidos los humanos) con un suministro vascular dual a la retina, la oxigenación de la retina interna se consigue a través de la microvasculatura intrarretiniana, que es escasa en comparación con los coriocapilares que suministran el oxígeno al EPR y a los fotorreceptores. Las diferentes redes de suministro vascular crean una tensión de oxígeno desigual por todo el grosor de la retina (Cringle et al., *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 43: 1922-27 (2002)). La fluctuación del oxígeno por las capas de la retina está relacionada con las diferencias en la densidad capilar y también con la disparidad del consumo de oxígeno de muchas neuronas retinianas y neuroglíocitos. 50 55

La tensión local de oxígeno puede perjudicar significativamente la retina y su microvasculatura mediante la regulación de una matriz de agentes vasoactivos que incluyen, por ejemplo, el factor de crecimiento del endotelio vascular (FCEV) (véase, p. ej., Werdich et al., *Exp. Eye Res.* 79: 623 (2004); Arden et al., *Br. J. Ophthalmol.* 89: 764 (2005)). Se cree que los fotorreceptores tienen la velocidad metabólica más alta de cualquier célula del cuerpo (véase, p. ej., Arden et al., más arriba). Durante la adaptación a la oscuridad, los bastones fotorreceptores recuperan su elevada concentración citoplásmica de calcio a través de los canales de calcio sensibles al cGMP con la extrusión concomitante de iones de sodio y agua. La salida del sodio desde la célula es un proceso dependiente de ATP, de 60

tal manera que las neuronas retinianas se estima que consumen hasta cinco veces más oxígeno en las condiciones escotópicas (a saber, adaptadas a la oscuridad) en comparación con las condiciones fotópicas (a saber, adaptadas a la luz). Así pues, durante la adaptación a la oscuridad característica de los fotorreceptores, la alta exigencia metabólica conduce a una reducción local significativa de la cantidad de oxígeno en la retina adaptada a la oscuridad (Ahmed et al., *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 34: 516 (1993)).

Sin desear comprometerse con ninguna teoría, la hipoxia retiniana podría además incrementarse en la retina de los sujetos que tienen enfermedades o afecciones tales como, por ejemplo, la oclusión venosa retiniana central en la que la vasculatura retiniana ya está comprometida. El incremento de la hipoxia podría incrementar la propensión a la neovascularización retiniana potencialmente dañina para la vista. La neovascularización es la formación de nuevas redes microvasculares funcionales con la perfusión de los glóbulos rojos, y es una característica de los trastornos degenerativos retinianos que incluyen, pero sin limitarse a ellos, retinopatía diabética, retinopatía del prematuro, DMS húmeda y oclusiones venosas retinianas centrales. La prevención o la inhibición de la adaptación a la oscuridad de las células fotorreceptoras de tipo bastón, con lo que se disminuye el gasto de energía y el consumo de oxígeno (a saber, reducción de las exigencias metabólicas) podría inhibir o enlentecer la degeneración retiniana y/o podría promover la regeneración de las células retinianas, incluidas las células fotorreceptoras de tipo bastón y las células del epitelio pigmentario de la retina (EPR), y podría reducir la hipoxia y podría inhibir la neovascularización.

En la presente memoria se describen métodos para inhibir (a saber, reducir, impedir, enlentecer o retrasar, de una manera significativa desde los puntos de vista biológico y estadístico) la degeneración de las células retinianas (que incluyen las células neuronales retinianas, tal y como se describe en la presente memoria, y las células del EPR) y/o para reducir (a saber, impedir o enlentecer, inhibir, anular de una manera significativa desde los puntos de vista biológico y estadístico) la isquemia retiniana. También se dan a conocer métodos para inhibir (a saber, reducir, impedir, enlentecer o retrasar, de una manera significativa desde los puntos de vista biológico y estadístico) la neovascularización del ojo, en particular de la retina. Tales métodos comprenden poner en contacto la retina y, así pues, poner en contacto las células retinianas (que incluyen las células neuronales retinianas tales como las células fotorreceptoras de tipo bastón y las células del EPR) con al menos uno de los compuestos derivados con la amina alcoxifenilica descritos en la presente memoria que inhibe al menos una *trans-cis* isomerasa del ciclo visual (que podría incluir la inhibición de la isomerización de un éster de todo-*trans*-retinilo), en las condiciones y durante un tiempo que podría impedir, inhibir o retrasar la adaptación a la oscuridad de una célula fotorreceptora de tipo bastón en la retina. Tal y como se describe con más detalle en la presente memoria, en determinados casos, el compuesto que entra en contacto con la retina interacciona con una enzima o un complejo enzimático con actividad isomerasa en una célula del EPR de la retina e inhibe, bloquea o, de alguna manera, interfiere con la actividad catalítica de la isomerasa. Así pues, se inhibe o reduce la isomerización de un éster de todo-*trans*-retinilo. El al menos un compuesto derivado de estrenilo (o composición que comprende al menos un compuesto) se podría administrar a un sujeto que ha desarrollado y manifestado una enfermedad o trastorno oftálmico, o que está en riesgo de desarrollar una enfermedad o trastorno oftálmico, o a un sujeto que presenta o que está en riesgo de presentar una afección, tal como la neovascularización retiniana o la isquemia retiniana.

A modo de antecedentes, el ciclo visual (también denominado ciclo retinoide) se refiere a la serie conversiones enzimáticas y mediadas por luz entre las formas 11-*cis* y todo-*trans* del retinol/retinal que se producen en las células fotorreceptoras y del epitelio pigmentario de la retina (EPR) del ojo. En las células fotorreceptoras de los vertebrados, la irradiación de un fotón ocasiona la isomerización del cromóforo 11-*cis*-retinilideno en todo-*trans*-retinilideno unido a los receptores visuales con opsina. Esta fotoisomerización desencadena los cambios conformacionales de las opsinas que, a su vez, inician la cadena de reacciones bioquímicas denominada fototransducción (Filipek et al., *Annu. Rev. Physiol.* 65: 851-79 (2003)). Después de la absorción de la luz y de la fotoisomerización del 11-*cis*-retinal a todo-*trans*-retinal, la regeneración del cromóforo visual es una etapa decisiva a la hora de devolver los fotorreceptores a su estado adaptado a la oscuridad. La regeneración del pigmento visual requiere que el cromóforo se devuelva a la configuración 11-*cis* (revisado en McBee et al., *Prog. Retin. Eye Res.* 20: 469-52 (2001)). El cromóforo se desconecta de la opsina y se reduce en el fotorreceptor mediante las retinol deshidrogenasas. El producto, el todo-*trans*-retinol, queda atrapado en el epitelio pigmentario de la retina (EPR) adyacente en forma de ésteres insolubles de ácidos grasos en las estructuras subcelulares conocidas como retinosomas (Imanishi et al., *J. Cell Biol.* 164: 373-78 (2004)).

Durante el ciclo visual en las células receptoras de tipo bastón, el cromóforo 11-*cis*-retinal que hay en la molécula del pigmento visual, que se denomina rodopsina, absorbe un fotón de luz y se isomeriza a la configuración todo-*trans*, con lo que se activa la cascada de la fototransducción. La rodopsina es un receptor acoplado a proteínas G (GPCR, por su nombre en inglés) que consiste en siete hélices transmembranarias que están interconectadas mediante bucles extracelulares y citoplasmáticos. Cuando la forma todo-*trans* del retinoide todavía está unida covalentemente a la molécula de pigmento, el pigmento se denomina metarrodopsina, que existe en diferentes formas (p. ej., metarrodopsina I y metarrodopsina II). A continuación, se hidroliza el retinoide todo-*trans* y el pigmento visual está en la forma de apoproteína, la opsina, que también se denomina aporrodopsina en la técnica y en la presente memoria. Este retinoide todo-*trans* se transporta o chaperoniza al exterior de la célula fotorreceptora y atraviesa el espacio extracelular hasta las células del EPR, donde el retinoide se convierte en el isómero 11-*cis*. El movimiento de los retinoides entre el EPR y las células fotorreceptoras se cree que es llevado a cabo por diferentes chaperonas polipeptídicas en cada uno de los tipos celulares. Véase Lamb et al., *Progress in Retinal and Eye Research* 23: 307-80 (2004).

En las condiciones de luz, la rodopsina transita continuamente por las tres formas, rodopsina, metarrodopsina y aporrodopsina. Cuando la mayor parte del pigmento visual está en forma de rodopsina (a saber, unido al 11-*cis*-retinal), la célula fotorreceptora de tipo bastón está en un estado «adaptado a la oscuridad». Cuando el pigmento visual está predominantemente en la forma de metarrodopsina (a saber, unido al todo-*trans*-retinal), el estado de la célula fotorreceptora se denomina «adaptado a la luz», y cuando el pigmento visual es aporrodopsina (u opsina) y ya no está unido al cromóforo, el estado de la célula fotorreceptora se denomina «desrodopsinado». Cada uno de los tres estados de la célula fotorreceptora tiene diferentes necesidades energéticas y se consumen diferentes cantidades de ATP y oxígeno. En el estado adaptado a la oscuridad, la rodopsina no tiene efecto regulador sobre los canales de cationes, que están abiertos, lo que da lugar a una afluencia de cationes (Na^+/K^+ y Ca^{2+}). Para mantener el nivel adecuado de estos cationes en la célula durante el estado de oscuridad, las células fotorreceptoras transportan activamente los cationes fuera de la célula a través de bombas dependientes de ATP. Así pues, el mantenimiento de esta «corriente oscura» necesita una gran cantidad de energía. En el estado adaptado a la luz, la metarrodopsina desencadena un proceso de la cascada enzimática que da lugar a la hidrólisis del GMP que, a su vez, cierra los canales específicos de cationes de la membrana de la célula fotorreceptora. En el estado desrodopsinado, el cromóforo se hidroliza desde la metarrodopsina para formar la apoproteína, la opsina (aporrodopsina), que regula parcialmente los canales de cationes, de tal manera que las células fotorreceptoras de tipo bastón muestran una corriente atenuada en comparación con el fotorreceptor en el estado adaptado a la oscuridad, lo que da lugar a unas necesidades metabólicas moderadas.

En condiciones normales de luz, la incidencia de los bastones fotorreceptores en el estado adaptado a la oscuridad es pequeño, en general, el 2% o menos, y las células están principalmente en los estados adaptado a la luz o desrodopsinado, lo que de forma global necesita una actividad metabólica relativamente baja en comparación con las células en el estado adaptado a la oscuridad. Durante la noche, sin embargo, la incidencia relativa del estado de fotorreceptor adaptado a la oscuridad se incrementa profundamente, debido a la ausencia de la adaptación a la luz y a que el ciclo visual «de oscuridad» esta continuamente operativo en las células del EPR, lo que reabastece de 11-*cis*-retinal a las células fotorreceptoras de tipo bastón. Este cambio a la adaptación a la oscuridad de los bastones fotorreceptores ocasiona un incremento de las necesidades metabólicas (es decir, se incrementa el consumo de ATP y oxígeno), lo que conduce finalmente a la hipoxia retiniana y la posterior iniciación de la angiogénesis. Por lo tanto, la mayoría de las lesiones isquémicas de la retina se producen en la oscuridad, por ejemplo, de noche durante el sueño.

Sin desear comprometerse con la teoría, la intervención terapéutica durante el ciclo visual «de la oscuridad» podría impedir la hipoxia retiniana y la neovascularización que están ocasionadas por la elevada actividad metabólica de la célula fotorreceptora de tipo bastón adaptada a la oscuridad. Simplemente a modo de ejemplo, la alteración del ciclo visual «de la oscuridad» por la administración de cualquiera de los compuestos descritos en la presente memoria, que es un inhibidor de la isomerasa, podría reducir o agotar la cantidad de rodopsina (a saber, unida a 11-*cis*-retinal), lo que impediría o inhibiría la adaptación a la oscuridad de los bastones fotorreceptores. Esto, a su vez, podría reducir las necesidades metabólicas de la retina, lo que atenuaría el riesgo nocturno de isquemia retiniana y la neovascularización, gracias a lo cual se inhibiría o enlentecería la degeneración retiniana.

En un caso, al menos uno de los compuestos descritos en la presente memoria (a saber, un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo, tal y como se describe en detalle en la presente memoria, que incluye un compuesto que tiene la estructura que se presenta en la presente memoria, y los compuestos específicos con la amina unida a alcoxifenilo descritos en la presente memoria) que, por ejemplo, bloquea, reduce, inhibe o, de alguna manera, atenúa la actividad catalítica de una isomerasa del ciclo visual de una manera significativa desde los puntos de vista estadístico o biológico, podría impedir, inhibir o retrasar la adaptación a la oscuridad de una célula fotorreceptora de tipo bastón, con lo que se inhibe (a saber, reduce, anula, impide, enlentece la progresión de, o disminuye de una manera significativa desde los puntos de vista estadístico o biológico) la degeneración de las células retinianas (o mejora la supervivencia de las células retinianas) de la retina de un ojo. En otro caso, los compuestos derivados por la unión de amina a alcoxifenilo podrían impedir o inhibir la adaptación a la oscuridad de una célula fotorreceptora de tipo bastón, lo que reduce la isquemia (a saber, disminuye, impide, inhibe, enlentece la progresión de la isquemia de una manera significativa desde los puntos de vista estadístico o biológico). Aún en otro caso, cualquiera de los compuestos derivados por la unión de amina a alcoxifenilo descritos en la presente memoria podrían impedir la adaptación a la oscuridad de una célula fotorreceptora de tipo bastón, con lo que se inhibe la neovascularización de la retina de un ojo. De acuerdo con esto, en la presente memoria se dan a conocer métodos para inhibir la degeneración de las células retinianas, para inhibir la neovascularización de la retina de un ojo de un sujeto, y para reducir la isquemia en un ojo de un sujeto, en donde los métodos comprenden la administración de al menos un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo descrito en la presente memoria, en las condiciones y durante un tiempo suficientes para impedir, inhibir o retrasar la adaptación a la oscuridad de una célula fotorreceptora de tipo bastón. Estos métodos y composiciones son, por lo tanto, útiles para tratar una enfermedad o trastorno oftálmico que incluyen, pero sin limitarse a ellos, retinopatía diabética, maculopatía diabética, oclusión de los vasos sanguíneos retinianos, retinopatía del prematuro, o lesión retiniana relacionada con la reperusión por isquemia.

Los compuestos derivados por la unión de amina a alcoxifenilo descritos en la presente memoria (a saber, un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo, tal y como se describe con detalle en la presente memoria, que incluye un compuesto que tiene la estructura que se presenta en la presente memoria y las subestructuras de la

misma, y los compuestos específicos con la amina unida a alcoxifenilo descritos en la presente memoria) podrían impedir (a saber, retrasar, enlentecer, inhibir o disminuir) la recuperación del cromóforo del pigmento visual, lo que podría impedir o inhibir o retrasar la formación de los retinales y podría incrementar la cantidad de ésteres de retinilo, lo que altera el ciclo visual, lo que inhibe la regeneración de la rodopsina, e impide, enlentece, retrasa o inhibe la adaptación a la oscuridad de una célula fotorreceptora de tipo bastón. En algunos casos, cuando se impide la adaptación a la oscuridad de las células fotorreceptoras de tipo bastón en presencia del compuesto, la adaptación a la oscuridad está sustancialmente impedida y se incrementa el número o porcentaje de células fotorreceptoras de tipo bastón que están desrodopsinadas o adaptadas a la luz en comparación con el número o el porcentaje de células que están desrodopsinadas o adaptadas a la luz en ausencia del agente. Así pues, en algunos casos, cuando se impide la adaptación a la oscuridad de las células fotorreceptoras de tipo bastón (a saber, se impide sustancialmente), solo al menos el 2% de las células fotorreceptoras de tipo bastón están adaptadas a la oscuridad, de modo similar al porcentaje o número de células que están en un estado adaptado a la oscuridad durante las condiciones de luz normales. En otros casos concretos, al menos el 5-10%, 10-20%, 20-30%, 30-40%, 40-50%, 50-60%, o 60-70% de las células fotorreceptoras de tipo bastón están adaptadas a la oscuridad después de la administración de un agente. En otros casos, el compuesto actúa para retrasar la adaptación a la oscuridad y en presencia del compuesto, la adaptación a la oscuridad de las células fotorreceptoras de tipo bastón se podría retrasar 30 minutos, una hora, dos horas, tres horas o cuatro horas en comparación con la adaptación a la oscuridad de los bastones fotorreceptores en ausencia del compuesto. En cambio, cuando un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo se administra de tal manera que el compuesto inhibe con eficacia la isomerización del sustrato durante las condiciones adaptadas a la luz, el compuesto se administra de tal manera que se disminuye al mínimo el porcentaje de células fotorreceptoras de tipo bastón que están adaptadas a la oscuridad, por ejemplo, sólo el 2%, 5%, 10%, 20% o 25% de los bastones fotorreceptores están adaptados a la oscuridad (véanse, p. ej., la publicación de la solicitud de patente de los EE. UU. n.º 2006/0069078; solicitud de patente n.º PCT/US2007/002330).

En la retina en presencia de al menos un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo, se podría inhibir la regeneración de la rodopsina en una célula fotorreceptora de tipo bastón o se podría reducir (a saber, inhibir, reducir o disminuir de una manera significativa desde los puntos de vista estadístico o biológico) el ritmo de regeneración, al menos en parte, al impedir la formación de retinales, lo que reduce la cantidad de retinales y/o incrementa la cantidad de ésteres de retinilo. Para determinar el nivel de regeneración de la rodopsina en una célula fotorreceptora de tipo bastón, el nivel de regeneración de rodopsina (que se podría denominar un primer nivel) se podría determinar antes de permitir el contacto entre el compuesto y la retina (a saber, antes de la administración del agente). Después de un tiempo suficiente para que interaccionen el compuesto, la retina y las células de la retina (esto es, después de la administración del compuesto), se podría determinar el nivel de regeneración de la rodopsina (que se podría denominar un segundo nivel). Una disminución del segundo nivel en comparación con el primer nivel indica que el compuesto inhibe la regeneración de rodopsina. El nivel de generación de rodopsina se podría determinar después de cada dosis o después de cualquier número de dosis, o durante la pauta terapéutica, para caracterizar el efecto del agente sobre la regeneración de la rodopsina.

En algunos casos, el sujeto que necesita los tratamientos descritos en la presente memoria podría tener una enfermedad o trastorno que da lugar u ocasiona el deterioro de la capacidad que tienen los bastones fotorreceptores para regenerar la rodopsina en la retina. A modo de ejemplo, la inhibición de la regeneración de la rodopsina (o la reducción del ritmo de regeneración de la rodopsina) podría ser sintomática en los pacientes con diabetes. Además de determinar el nivel de regeneración de la rodopsina en el sujeto que tiene diabetes antes y después de la administración de un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo descrito en la presente memoria, el efecto del compuesto también se podría caracterizar mediante la comparación de la inhibición de la regeneración de la rodopsina en un primer sujeto (o un primer grupo o multitud de sujetos) a quienes se administra el compuesto, con un segundo sujeto (o un segundo grupo o multitud de sujetos) que tiene diabetes, pero que no recibe el agente.

En otro caso, se da a conocer un método para impedir o inhibir la adaptación a la oscuridad de una célula fotorreceptora de tipo bastón (o una multitud de células fotorreceptoras de tipo bastón) en una retina que comprende poner en contacto la retina y al menos uno de los compuestos derivados por la unión de amina a alcoxifenilo descritos en la presente memoria (a saber, un compuesto que se describe con detalle en la presente memoria, entre ellos un compuesto que tiene la estructura que se presenta en la presente memoria y subestructuras de la misma, y los compuestos específicos con la amina unida a alcoxifenilo descritos en la presente memoria) en las condiciones y durante un tiempo suficientes para permitir la interacción entre el agente y una isomerasa presente en una célula retiniana (tal como una célula del EPR). Se podría determinar una primera cantidad de 11-*cis*-retinal en una célula fotorreceptora de tipo bastón en presencia del compuesto y se podría comparar con una segunda cantidad de 11-*cis*-retinal en una célula fotorreceptora de tipo bastón en ausencia del compuesto. El impedimento o la inhibición de la adaptación a la oscuridad de la célula fotorreceptora de tipo bastón se indica cuando la primera cantidad de 11-*cis*-retinal es menor que la segunda cantidad de 11-*cis*-retinal.

El impedimento de la regeneración de la rodopsina también podría incluir el incremento de la cantidad de ésteres de 11-*cis*-retinilo presentes en la célula del EPR en presencia del compuesto en comparación con la cantidad de ésteres de 11-*cis*-retinilo presentes en las células del EPR en ausencia del compuesto (a saber, antes de la administración del agente). Se podría utilizar una técnica de toma de imágenes de dos fotones para ver y analizar las estructuras del retinosoma en el EPR, pues dichas estructuras se cree que almacenan los ésteres de retinilo

(véase, p. ej., Imanishi et al., *J. Cell Biol.* 164: 373-83 (2004), Epub de 26 de enero del 2004). Se podría administrar una primera cantidad de ésteres de retinilo antes de la administración del compuesto y una segunda cantidad de ésteres de retinilo se podría determinar después de la administración de una primera dosis o cualquier dosis posterior, en donde un incremento de la segunda cantidad en comparación con la primera cantidad indica que el compuesto inhibe la regeneración de la rodopsina.

Los ésteres de retinilo se podrían analizar por HPLC en gradiente de acuerdo con los métodos que se practican en la técnica (véase, por ejemplo, Mata et al., *Neuron* 36: 69-80 (2002); Trevino et al. *J. Exp. Biol.* 208: 4151-57 (2005)). Para medir el 11-*cis*-retinal y el todo-*trans*-retinal, se podrían extraer los retinoides mediante el método con formaldehído (véase, p. ej., Suzuki et al., *Vis. Res.* 28: 1061-70 (1988); Okajima y Pepperberg, *Exp. Eye Res.* 65: 331-40 (1997)) o mediante un método de hidroxilamina (véase, p. ej., Groenendijk et al., *Biochim. Biophys. Acta.* 617: 430-38 (1980)) antes de analizarse en una HPLC isocrática (véase, p. ej., Trevino et al., más arriba). Los retinoides se podrían monitorizar por espectrofotometría (véase, p. ej., Maeda et al., *J. Neurochem.* 85: 944-956 (2003); Van Hooser et al., *J. Biol. Chem.*, 277: 19173-82 (2002)).

En otro caso de los métodos descritos en la presente memoria para tratar una enfermedad o trastorno oftálmico, para inhibir la degeneración de las células retinianas (o mejorar la supervivencia de las células retinianas), para inhibir la neovascularización y para reducir la isquemia de la retina, impedir o inhibir la adaptación a la oscuridad de una célula fotorreceptora de tipo bastón de la retina, comprende el incremento del nivel de aporrodopsina (también llamada opsina) en la célula fotorreceptora. La concentración total del pigmento visual se aproxima a la suma de rodopsina y aporrodopsina, y la concentración total permanece constante. Por lo tanto, impedir, retrasar o inhibir la adaptación a la oscuridad de la célula fotorreceptora de tipo bastón podría alterar la razón de aporrodopsina por rodopsina. En casos concretos, impedir, retrasar o inhibir la adaptación a la oscuridad mediante la administración de un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo descrito en la presente memoria podría incrementar la razón de la cantidad de aporrodopsina por la cantidad de rodopsina en comparación con la razón en ausencia del agente (por ejemplo, antes de la administración del agente). Un incremento de la razón (a saber, un incremento significativo desde el punto de vista estadístico o biológico) de aporrodopsina por rodopsina indica que se incrementa el porcentaje o el número de células fotorreceptoras de tipo bastón que están desrodopsinadas y que disminuye el porcentaje o el número de células fotorreceptoras de tipo bastón que están adaptadas a la oscuridad. La razón de aporrodopsina por rodopsina se podría determinar durante el ciclo de tratamiento para monitorizar el efecto del agente.

La determinación o caracterización de la capacidad que tiene el compuesto para impedir, retrasar o inhibir la adaptación a la oscuridad de una célula fotorreceptora de tipo bastón se podría determinar en estudios con modelos animales. La cantidad de rodopsina y la razón de aporrodopsina por rodopsina se podría determinar antes de la administración del agente (que se podría denominar una primera cantidad o primera razón, respectivamente) y a continuación, después de la administración de una primera dosis o dosis posterior del agente (que se podría denominar una segunda cantidad o una segunda razón, respectivamente) para determinar y para demostrar que la cantidad de aporrodopsina es mayor que la cantidad de aporrodopsina en la retina de los animales que no recibieron el agente. La cantidad de rodopsina en las células fotorreceptoras de tipo bastón se podría realizar de acuerdo con los métodos que se ponen en práctica en la técnica y que se dan a conocer en la presente memoria (véase, p. ej., Yan et al. *J. Biol. Chem.* 279: 48189-96 (2004)).

Un sujeto que necesita tal tratamiento podría ser un humano o podría ser un primate no humano u otro animal (a saber, uso veterinario) que haya desarrollado síntomas de una enfermedad o trastorno oftálmico, o que está en riesgo de desarrollar una enfermedad o trastorno oftálmico. Los ejemplos de primates no humanos u otros animales incluyen, pero sin limitarse a ellos, animales de granja, mascotas y animales de zoológicos (p. ej., caballos, vacas, búfalos, llamas, cabras, conejos, gatos, perros, chimpancés, orangutanes, gorilas, monos, elefantes, osos, grandes felinos, etc.).

También se dan a conocer en la presente memoria métodos para inhibir (reducir, enlentecer, impedir) la degeneración y mejorar la supervivencia de las células neuronales retinianas (o prolongar la viabilidad celular) que comprende administrar a un sujeto una composición que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo descrito con detalle en la presente memoria, que incluye un compuesto que tiene una de las estructuras presentadas en la presente memoria y los compuestos específicos con la amina unida a alcoxifenilo citados en la presente memoria. Las células neuronales retinianas incluyen células fotorreceptoras, células bipolares, células horizontales, células ganglionares y células amacrinas. En otro caso, se dan a conocer métodos para mejorar la supervivencia o inhibir la degeneración de una célula retiniana madura, tal como una célula del EPR o un neuroglíocito de Müller. En otros casos, se da a conocer un método para prevenir o inhibir la degeneración de los fotorreceptores en un ojo de un sujeto. Un método que previene o inhibe la degeneración de fotorreceptores podría incluir un método para restaurar el funcionamiento de los fotorreceptores de un ojo de un sujeto. Tales métodos comprenden la administración al sujeto de una composición que comprende un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo que se describe en la presente memoria y un vehículo farmacéuticamente aceptable (a saber, excipiente o vehículo). Más específicamente, estos métodos comprenden la administración a un sujeto de un excipiente farmacéuticamente aceptable y de un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo descrito en la presente memoria, que incluye un compuesto que tiene cualquiera de las estructuras presentes en la presente memoria. Sin desear comprometerse con la teoría, los compuestos descritos en

la presente memoria podrían inhibir una etapa de isomerización del ciclo retinoide (a saber, ciclo visual) y/o podrían enlentecer el flujo de cromóforos en un ciclo retinoide del ojo.

La enfermedad oftálmica podría ser el resultado, al menos en parte, de la acumulación de uno o varios pigmentos de lipofuscina y/o de la acumulación de *N*-retinilideno-*N*-retiniletanolamina (A2E) en el ojo. De acuerdo con esto, en determinados casos, se dan a conocer métodos para inhibir o impedir la acumulación de uno o varios pigmentos de lipofuscina y/o A2E en el ojo de un sujeto. Estos métodos comprenden la administración al sujeto de una composición que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y de un compuesto con la amina unida a alcoxifenilo que se describe con detalle en la presente memoria, que incluye un compuesto que tiene la estructura que se presenta en la presente memoria.

Un compuesto con la amina unida a alcoxifenilo se puede administrar a un sujeto que tiene excesos de un retinoide en un ojo (p. ej., un exceso de 11-*cis*-retinol u 11-*cis*-retinal), un exceso de productos retinoides de desecho o intermedios del reciclaje del todo-*trans*-retinal, o similares. Los métodos descritos en la presente memoria y que se practican en la técnica se podrían utilizar para determinar si está alterada la cantidad de uno o varios retinoides endógenos en un sujeto (se incrementa o disminuye de una manera significativa desde los puntos de vista estadístico o biológico) durante o después de la administración de cualquiera de los compuestos descritos en la presente memoria. La rodopsina, que se compone de la proteína opsina y del retinal (una forma de vitamina A) está localizada en la membrana de la célula fotorreceptora en la retina del ojo y cataliza solo la etapa sensible a la luz en la visión. El cromóforo 11-*cis*-retinal está situado en un bolsillo de la proteína y se isomeriza a todo-*trans*-retinal cuando se absorbe la luz. La isomerización del retinal conduce a que la rodopsina cambie de forma, lo que desencadena una cascada de reacciones que conducen a un impulso nervioso que se transmite al cerebro por el nervio óptico.

Los métodos para determinar la cantidad de retinoides endógenos en el ojo de un vertebrado y un exceso o deficiencia de tales retinoides se describen en, por ejemplo, la publicación de la solicitud de patente de los EE. UU. n.º 2005/0159662 (cuya descripción se incorpora por referencia en la presente memoria en su totalidad). Otros métodos para determinar la cantidad de retinoides endógenos en un sujeto, que es útil para determinar si la cantidad de tales retinoides está por encima del margen normal, e incluyen, por ejemplo, el análisis de los retinoides por cromatografía líquida de alta presión (HPLC) en una muestra biológica de un sujeto. Por ejemplo, la cantidad de retinoides se puede determinar en una muestra biológica que es una muestra de sangre (que incluye suero o plasma) de un sujeto. Una muestra biológica también podría incluir humor vítreo, humor acuoso, líquido intraocular, líquido subretiniano o lágrimas.

Por ejemplo, se puede obtener una muestra de sangre de un sujeto y diferentes compuestos de retinoides, y se puede separar y analizar la cantidad de uno o varios de los compuestos retinoides en la muestra por cromatografía líquida de alta presión (HPLC) en fase normal (p. ej., con una HPLC HP1100 y una columna de 4,6 mm × 250 mm Ultrasphere-Si, de Beckman, con el uso de acetato de etilo al 10%/hexano al 90% a una velocidad de flujo de 1,4 ml/minuto). Los retinoides se pueden detectar mediante, por ejemplo, la detección a 325 nm con un detector de matriz de fotodiodos y el programa informático HP Chemstation A.03.03. Se puede determinar un exceso de retinoides, por ejemplo, mediante la comparación del perfil de retinoides (a saber, cualitativa, p. ej., identidad de los compuestos específicos, y cuantitativa, p. ej., la cantidad de cada compuesto específico) en la muestra con una muestra de un sujeto normal. Las personas expertas en la técnica que están familiarizadas con tales ensayos y técnicas, comprenderán con facilidad que están incluidos los controles adecuados.

Tal y como se utilizan en la presente memoria, el incremento o exceso de la cantidad de retinoide endógeno, tal como 11-*cis*-retinol u 11-*cis*-retinal, hace referencia a la cantidad de retinoide endógeno que es más alta que la encontrada en un ojo sano de un vertebrado joven de la misma especie. La administración de un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo reduce o elimina la necesidad del retinoide endógeno. En determinados casos, la cantidad de retinoide endógeno se podría comparar antes y después de una cualquiera o varias dosis de un compuesto con la amina unida a alcoxifenilo que se administra a un sujeto para determinar el efecto del compuesto sobre la cantidad de retinoides endógenos del sujeto.

En otro caso, los métodos descritos en la presente memoria para tratar una enfermedad o trastorno oftálmico, para inhibir la neovascularización y para reducir la isquemia de la retina comprenden administrar al menos uno de los compuestos con la amina unida a alcoxifenilo descritos en la presente memoria, con lo que consigue una disminución de las necesidades metabólicas, lo que incluye efectuar una reducción del consumo de ATP y del consumo de oxígeno en las células fotorreceptoras de tipo bastón. Tal y como se describe en la presente memoria, el consumo de ATP y oxígeno en una célula fotorreceptora de tipo bastón adaptada a la oscuridad es mayor que en las células fotorreceptoras de tipo bastón que están adaptadas a la luz o desrodopsinadas; así pues, el uso de los compuestos en los métodos descritos en la presente memoria podría reducir el consumo de ATP en las células fotorreceptoras de tipo bastón en las que se impide, inhibe o retrasa la adaptación a la oscuridad en comparación con las células fotorreceptoras de tipo bastón que están adaptadas a la oscuridad (tales como las células antes de la administración o en contacto con el compuesto, o las células que nunca se han expuesto al compuesto).

Los métodos descritos en la presente memoria que podrían impedir o inhibir la adaptación a la oscuridad de una célula fotorreceptora de tipo bastón podrían, por lo tanto, reducir la hipoxia (a saber, reducir de una manera

significativa desde los puntos de vista estadístico o biológico) de la retina. Por ejemplo, el nivel de hipoxia (un primer nivel) se podría determinar antes del inicio de la pauta de tratamiento, es decir, antes de la primera dosificación del compuesto (o de una composición, tal y como se describe en la presente memoria, que comprende el compuesto). El nivel de hipoxia (por ejemplo, un segundo nivel) se podría determinar después de la primera dosificación y/o después de cualquier segunda o posterior dosificación para monitorizar y caracterizar la hipoxia a través de la pauta de tratamiento. Una disminución (reducción) del segundo (o cualquier posterior) nivel de hipoxia en comparación con el nivel de hipoxia antes de la administración inicial indica que el compuesto y la pauta de tratamiento impiden la adaptación a la oscuridad de las células fotorreceptoras de tipo bastón y que se podría utilizar para tratar las enfermedades y trastornos oftálmicos. El consumo de oxígeno, la oxigenación de la retina y/o la hipoxia de la retina se podrían determinar con los métodos que se practican en la técnica. Por ejemplo, la oxigenación de la retina se podría determinar al medir la fluorescencia de las flavoproteínas en la retina (véase, p. ej., la patente de los EE. UU. n.º 4.569.354). Otro método de ejemplo es la oximetría retiniana que mide la saturación de oxígeno en la sangre en los grandes vasos de la retina cerca del disco óptico. Tales métodos se podrían utilizar para identificar y determinar la extensión de la hipoxia retiniana antes de que se puedan detectar los cambios en la arquitectura de los vasos retinianos.

Una muestra biológica podría ser una muestra de sangre (de la cual se podría preparar el suero o el plasma), espécimen de biopsia, líquidos corporales (p. ej., humor vítreo, humor acuoso, líquido intraocular, líquido subretiniano o lágrimas), explante de tejido, cultivo de órganos y cualquier otra preparación de tejido o células de un sujeto o una fuente biológica. Una muestra podría además referirse a una preparación de tejido o células en la que se ha alterado la integridad morfológica o el estado físico, por ejemplo, mediante disección, disociación, solubilización, fraccionamiento, homogeneización, extracción bioquímica o química, pulverización, liofilización, tratamiento con ultrasonidos y cualquier otro medio para procesar una muestra obtenida de un sujeto o fuente biológica. El sujeto o fuente biológica podría ser un humano o animal no humano, un cultivo primario de células (p. ej., un cultivo de células retinianas) o una línea de células adaptadas al cultivo, entre ellas, pero sin limitarse a ellas, líneas celulares creadas por ingeniería genética que podrían contener secuencias de ácido nucleico recombinantes en episomas o integradas en el cromosoma, líneas de células inmortalizadas o inmortalizables, líneas celulares híbridas de células somáticas, líneas de células diferenciadas o diferenciables, líneas celulares transformadas y similares. Las células retinianas maduras, entre ellas las células neuronales retinianas, células del EPR y neuroglíocitos de Müller, podrían estar presentes o aislarse de una muestra biológica, tal y como se describe en la presente memoria. Por ejemplo, la célula retiniana madura se podría obtener de un cultivo primario de células o de un cultivo a largo plazo, o podría estar presente o aislarse de una muestra biológica obtenida de un sujeto (humano o animal no humano).

Células retinianas

La retina es una capa delgada de tejido nervioso localizado entre el cuerpo vítreo y la coroides del ojo. Los principales distintivos de la retina son la fovea, la mácula y el disco óptico. La retina es más gruesa cerca de las secciones posteriores y se hace más delgada cerca de la periferia. La mácula está localizada en la retina posterior y contiene la fovea y la foveola. La foveola contiene el área de la densidad máxima de conos y, así pues, confiere la agudeza visual más elevada de la retina. La foveola está contenida dentro de la fovea, que está contenida dentro de la mácula.

La porción periférica de la retina incrementa el campo de visión. La retina periférica se extiende anterior al cuerpo ciliar y se divide en cuatro regiones: la periferia cercana (lo más posterior), la periferia media, la periferia lejana y la *ora serrata* (lo más anterior). La *ora serrata* señala la terminación de la retina.

El término neurona (o célula nerviosa), tal y como se conoce en la técnica y se utiliza en la presente memoria, se refiere a una célula que surge de los precursores de las células neuroepiteliales. Las neuronas maduras (a saber, células totalmente diferenciadas) muestran varios marcadores antigénicos específicos. Las neuronas se pueden clasificar desde el punto de vista funcional en cuatro grupos: (1) neuronas aferentes (o neuronas sensitivas) que transmiten información al cerebro para la percepción consciente y la coordinación motora; (2) neuronas motoras que transmiten comandos a los músculos y a las glándulas; (3) interneuronas que son responsables de los circuitos locales; y (4) interneuronas con prolongaciones que transmiten información desde una región del cerebro a otra región y, por lo tanto, tiene axones largos. Las interneuronas procesan la información dentro de subregiones específicas del cerebro y tienen axones relativamente más cortos. Una neurona típicamente tiene cuatro regiones definidas: el cuerpo celular (o soma); un axón; dendritas; y terminaciones presinápticas. Las dendritas sirven de entrada principal para la información desde otras células neurales. El axón lleva las señales eléctricas que se inician en el cuerpo celular a otras neuronas o a los órganos efectores. En las terminaciones presinápticas, la neurona transmite información a otra célula (la célula posináptica) que podría ser otra neurona, una célula muscular o una célula secretora.

La retina está compuesta por varios tipos de células neuronales. Tal y como se describe en la presente memoria, los tipos de células neuronales retinales que se podrían cultivar *in vitro* mediante este método incluyen células fotorreceptoras, células ganglionares e interneuronas tales como células bipolares, células horizontales y células amacrinas. Los fotorreceptores son células neurales especializadas y reactivas a la luz, y comprenden dos clases principales, bastones y conos. Los bastones están implicados en la visión de luz escotópica u oscura, mientras que

la visión fotópica o de luz brillante se origina en los conos. Muchas enfermedades neurodegenerativas, tales como la DMS, que dan lugar a la ceguera afectan a los fotorreceptores.

Extendiéndose desde los cuerpos celulares, los fotorreceptores tienen dos regiones diferentes desde el punto de vista morfológico, los segmentos interno y externo. El segmento externo está situado más lejano del cuerpo de la célula fotorreceptora y contiene discos que convierten la energía luminosa entrante en impulsos eléctricos (fototransducción). El segmento externo está unido al segmento interno con un cilio muy pequeño y frágil. El tamaño y la forma de los segmentos externos varían entre los bastones y los conos, y dependen de la posición dentro de la retina. Véase Hogan, «Retina» en *Histology of the Human Eye: an Atlas and Text Book* (Hogan et al. (eds). WB Saunders; Filadelfia, PA (1971)); *Eye and Orbit*, 8.^a ed., Bron et al., (Chapman y Hall, 1997).

Las células ganglionares son neuronas de salida que conducen la información desde las interneuronas retinianas (que incluyen células horizontales, células bipolares y células amacrinas) al cerebro. Las células bipolares se denominan por su forma y reciben la entrada desde los fotorreceptores, conectan con las células amacrinas y envían la salida de forma radial a las células ganglionares. Las células amacrinas tienen prolongaciones paralelas al plano de la retina y tienen típicamente una salida inhibitoria de las células ganglionares. Las células amacrinas se subclasifican a menudo por el neurotransmisor o neuromodulador o péptido (tal como calretinina o calbindina), e interaccionan las unas con las otras, con las células bipolares y con los fotorreceptores. Las células bipolares son interneuronas retinianas que se denominan así por su morfología; las células bipolares reciben la entrada de los fotorreceptores y envían la salida a las células ganglionares. Las células horizontales modulan y transforman la información visual de un gran número de fotorreceptores y tienen una integración horizontal (mientras que las células bipolares transmiten la información de forma radial por la retina).

Otras células retinianas que podrían estar presentes en los cultivos de células retinianas descritos en la presente memoria incluyen neuroglíocitos, tales como neuroglíocitos de Müller, y células del epitelio pigmentario de la retina (EPR). Los neuroglíocitos rodean los cuerpos y axones de las células nerviosas. Los neuroglíocitos no transportan los impulsos eléctricos, pero contribuyen a mantener el funcionamiento normal del cerebro normal. Los neuroglíocitos de Müller, el tipo predominante de neuroglíocito dentro de la retina, proporcionan el soporte estructural de la retina y están implicados en el metabolismo de la retina (p. ej., contribuyen a la regulación de la concentración de los iones, la degradación de los neurotransmisores y retiran determinados metabolitos (véase, p. ej., Kljavin et al., *J. Neurosci.* 11: 2985 (1991))). Las fibras de Müller (también conocidas como fibras sustentaculares de la retina) son neuroglíocitos sustentaculares de la retina que transcurren por el grosor de la retina desde la membrana interna limitante hasta la base de los bastones y los conos, donde forman una fila de complejos de unión.

Las células del epitelio pigmentario de la retina (EPR) forman la capa más externa de la retina, separada de los coroides enriquecidos en vasos sanguíneos mediante la membrana de Bruch. Las células del EPR son un tipo de célula epitelial fagocítica, con algunas funciones que son de tipo macrófago, que se localizan inmediatamente por debajo de los fotorreceptores retinianos. La superficie dorsal de la célula del EPR está en yuxtaposición a los extremos de los bastones y, como discos, se desprenden del segmento más externo del bastón, y se internalizan y digieren en las células del EPR. Un proceso similar se produce con el disco de los conos. Las células del EPR también producen, almacenan y transportan una serie de factores que contribuyen al funcionamiento normal y a la supervivencia de los fotorreceptores. Otra función de las células del EPR es reciclar la vitamina A a medida que se mueve entre los fotorreceptores y el EPR durante la adaptación a la luz y la oscuridad en el proceso conocido como el ciclo visual.

Se describe en la presente memoria un sistema de cultivo de células a largo plazo *in vitro* de ejemplo que permite y promueve la supervivencia en cultivo de las células retinianas maduras, entre ellas las neuronas retinianas, durante al menos 2-4 semanas, más de 2 meses o hasta 6 meses. El sistema de cultivo de células se podría utilizar para identificar y caracterizar los compuestos derivados por la unión de amina a alcoxifenilo que son útiles en los métodos descritos en la presente memoria para tratar y/o impedir una enfermedad o trastorno oftálmicos o para impedir o inhibir la acumulación de lipofuscina(s) y/o A2E en el ojo. Las células retinianas están aisladas de tejido no embrionario y no oncogénico, y no se han inmortalizado mediante ningún método tal como, por ejemplo, la transformación o infección con un virus oncogénico. El sistema de cultivo de células comprende todos los tipos de células neuronales retinianas importantes (fotorreceptores, células bipolares, células horizontales, células amacrinas y célula ganglionares) y también podría incluir otras células retinianas maduras, tal como las células del epitelio pigmentario de la retina y los neuroglíocitos de Müller.

Por ejemplo, se puede obtener una muestra de sangre de un sujeto y diferentes compuestos retinoides, y se puede separar y analizar la cantidad de uno o varios de los compuestos retinoides en la muestra por cromatografía líquida de alta presión (HPLC) en fase normal (p. ej., con una HPLC HP1100 y una columna de 4,6 mm × 250 mm Ultrasphere-Si, de Beckman, con el uso de acetato de etilo al 10%/hexano al 90% a una velocidad de flujo de 1,4 ml/minuto). Los retinoides se pueden detectar mediante, por ejemplo, la detección a 325 nm con un detector de matriz de fotodiodos y el programa informático HP Chemstation A.03.03. Se puede determinar un exceso de retinoides, por ejemplo, mediante la comparación del perfil de retinoides (a saber, cualitativa, p. ej., identidad de los compuestos específicos, y cuantitativa, p. ej., la cantidad de cada compuesto específico) en la muestra con una muestra de un sujeto normal. Las personas expertas en la técnica que están familiarizadas con tales ensayos y técnicas comprenderán con facilidad que están incluidos los controles adecuados.

Tal y como se utilizan en la presente memoria, el incremento o exceso de la cantidad de retinoide endógeno, tal como 11-*cis*-retinol u 11-*cis*-retinal, hace referencia a la cantidad de retinoide endógeno que es más alta que la encontrada en un ojo sano de un vertebrado joven de la misma especie. La administración de un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo reduce o elimina la necesidad del retinoide endógeno.

5 Métodos *in vivo* e *in vitro* para determinar la eficacia terapéutica de los compuestos

En un caso, se dan a conocer métodos para utilizar los compuestos descritos en la presente memoria para mejorar o prolongar la supervivencia de las células retinianas, que incluyen la supervivencia de las células neuronales retinianas y la supervivencia de las células del EPR. También se dan a conocer en la presente memoria métodos para inhibir o impedir la degeneración de una célula retiniana, que incluye una célula neuronal retiniana (p. ej., una célula fotorreceptora, una célula amacrina, una célula horizontal, una célula bipolar y una célula ganglionar) y otras células retinianas maduras, tales como las células del epitelio pigmentario de la retina y los neuroglíocitos de Müller, que utilizan los compuestos descritos en la presente memoria. Tales métodos comprenden, en determinados casos, la administración de un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo tal y como se describe en la presente memoria. Tal compuesto es útil para mejorar la supervivencia de las células retinianas, que incluye la supervivencia de las células fotorreceptoras y la supervivencia del epitelio pigmentario de la retina, que inhibe o enlentece la degeneración de una célula retiniana y, así pues, incrementa la viabilidad de las células retinianas, lo que puede dar lugar a enlenteecer o detener la progresión de una enfermedad o trastorno oftálmico, o una lesión retiniana, según se describen en la presente memoria.

El efecto de un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo sobre la supervivencia de las células retinianas (y/o degeneración de las células retinianas) se podría determinar mediante el uso de modelos de cultivo de células, modelos de animales y otros métodos que se describen en la presente memoria y ponen en práctica los expertos en la técnica. A modo de ejemplo, y sin limitación, tales métodos y ensayos incluyen los descritos en Oglivie et al., *Exp. Neurol.* 161: 675-856 (2000); patente de Estados Unidos n.º 6.406.840; solicitud de patente internacional WO 01/81551; solicitud de patente internacional WO 98/12303; solicitud de patente de Estados Unidos n.º US 2002/0009713; solicitud de patente internacional WO 00/40699; patentes de Estados Unidos n.ºs US 6.117.675; US 5.736.516; solicitud de patente internacional WO 99/29279; solicitud de patente internacional WO 01/83714; solicitud de patente internacional WO 01/42784; patentes de Estados Unidos n.ºs US 6.183.735; US 6.090.624; solicitud de patente internacional WO 01/09327; patente de Estados Unidos n.º 5.641.750; publicación de la solicitud de patente de Estados Unidos n.º 2004/0147019; y publicación de la solicitud de patente de Estados Unidos n.º 2005/0059148.

Los compuestos descritos en la presente memoria que podrían ser útiles para tratar una enfermedad o trastorno oftálmicos (que incluyen una enfermedad o trastorno retiniano) podrían inhibir, bloquear, deteriorar o, de alguna manera, interferir con una o varias etapas del ciclo visual (también denominado ciclo retinoide en la presente memoria y en la técnica). Sin desear comprometerse con una determinada teoría, un derivado por la unión de amina a alcoxifenilo podría inhibir o bloquear una etapa de isomerización del ciclo visual, por ejemplo, al inhibir o bloquear una actividad funcional de una isomerasa *trans-cis* del ciclo visual. Los compuestos descritos en la presente memoria podrían inhibir, directa o indirectamente, la isomerización del todo-*trans*-retinol en 11-*cis*-retinol. Los compuestos podrían fijarse, o de alguna manera interaccionar, e inhibir, la actividad isomérica de al menos una isomerasa en una célula de la retina. Cualquiera de los compuestos descritos en la presente memoria también podría inhibir o reducir directa o indirectamente la actividad de una isomerasa del ciclo visual. El compuesto podría bloquear o inhibir la capacidad de la isomerasa para fijarse a uno o varios sustratos, entre ellos, pero sin limitarse a ellos, un sustrato de tipo éster de todo-*trans*-retinilo o todo-*trans*-retinol. Como alternativa, o además, el compuesto podría fijarse al sitio o región catalíticas de la isomerasa, con lo que inhibe la capacidad de la enzima para catalizar la isomerización de al menos un sustrato. Basándose en los datos científicos hasta la fecha, se cree que al menos una isomerasa que cataliza la isomerización de un sustrato durante el ciclo visual está localizada en el citoplasma de las células del EPR. Tal y como se explica en la presente memoria, todavía no se ha dilucidado cada etapa, enzima, sustrato, intermedio y producto del ciclo visual. Aunque se ha propuesto que un polipéptido denominado RPE65, que se encuentra en el citoplasma y fijado a la membrana en las células del EPR, tiene actividad isomerasa (y también se ha mencionado en la técnica que tiene actividad isomerohidrolasa) (véase, p. ej., Moiseyev et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 12413-18 (2004); Chen et al., *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 47: 1177-84 (2006)), otras personas expertas en la técnica creen que RPE65 actúa principalmente como una chaperona para los ésteres del todo-*trans*-retinilo (véase, p. ej., Lamb et al., más arriba).

Los métodos de ejemplo se describen en la presente memoria y los practican los expertos en la técnica para determinar el nivel de la actividad enzimática de una isomerasa del ciclo visual en presencia de cualquiera de los compuestos descritos en la presente memoria. Un compuesto que disminuye la actividad isomérica podría ser útil para tratar una enfermedad o trastorno oftálmico. Así pues, en la presente memoria se dan a conocer métodos para detectar la inhibición de la actividad isomerasa que comprenden poner en contacto (a saber, mezclar, combinar o de alguna manera permitir que interaccionen el compuesto y la isomerasa) una muestra biológica que comprende la isomerasa y un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo descrito en la presente memoria, y a continuación determinar el nivel de la actividad enzimática de tipo isomerasa. Una persona experta en la técnica apreciará que, a modo de control, se puede determinar el nivel de actividad isomerasa en ausencia de un compuesto o en presencia de un compuesto que se sabe que no altera la actividad enzimática de la isomerasa, y compararlo con

5 el nivel de actividad en presencia del compuesto. Una disminución del nivel de la actividad isomerasa en presencia del compuesto en comparación con el nivel de la actividad isomerasa en ausencia del compuesto indica que el compuesto podría ser útil para tratar una enfermedad o trastorno oftálmico, tal como la degeneración macular relacionada con la edad o la enfermedad de Stargardt. Una disminución del nivel de actividad isomerasa en presencia del compuesto en comparación con el nivel de actividad isomerasa en ausencia del compuesto indica que el compuesto también podría ser útil en los métodos descritos en la presente memoria para inhibir o impedir la adaptación a la oscuridad, inhibir la neovascularización y reducir la hipoxia, y, así pues, útil para tratar una enfermedad o trastorno oftálmico, por ejemplo, retinopatía diabética, maculopatía diabética, oclusión de los vasos sanguíneos retinianos, retinopatía del prematuro o lesión retiniana relacionada con la reperusión por isquemia.

10 Mediante ensayos *in vitro* y/o modelos animales *in vivo* se podría determinar la capacidad que tiene un compuesto con la amina unida a alcoxifenilo descrito en la presente memoria para inhibir o impedir la adaptación a la oscuridad de una célula fotorreceptora de tipo bastón al inhibir la regeneración de la rodopsina. A modo de ejemplo, la inhibición de la regeneración se podría determinar en un modelo de ratón en el que la afección de tipo diabetes está inducida químicamente o en un modelo murino de diabetes (véase, p. ej., Phipps et al., *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 47: 3187-94 (2006); Ramsey et al., *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 47: 5116-24 (2006)). La cantidad de rodopsina (una primera cantidad) se podría determinar (por ejemplo, por espectrofotometría) en la retina de los animales antes de la administración del agente y luego se podría comparar con la cantidad (una segunda cantidad) de rodopsina medida en la retina de los animales después de la administración del agente. Una disminución de la segunda cantidad de rodopsina en comparación con la primera cantidad de rodopsina indica que el agente inhibe la regeneración de la rodopsina. Los controles adecuados y el diseño de estudio para determinar si la regeneración de la rodopsina está inhibida de una manera significativa desde los puntos de vista estadístico o biológico se puede determinar con facilidad y lo pueden aplicar las personas expertas en la técnica.

15 Los métodos y técnicas para determinar o caracterizar el efecto de cualquiera de los compuestos descritos en la presente memoria sobre la adaptación a la oscuridad y la regeneración de la rodopsina en las células fotorreceptoras de tipo bastón de un mamífero, incluido un humano, se podrían realizar de acuerdo con los procedimientos descritos en la presente memoria y que se practican en la técnica. Por ejemplo, la detección de un estímulo visual después de la exposición a la luz (a saber, fotoblanqueo) frente al tiempo en la oscuridad se podría determinar antes de la administración de la primera dosis del compuesto y a un tiempo después de la primera dosis y/o dosis posterior. Un segundo método para determinar la prevención o la inhibición de la adaptación a la oscuridad debida a las células fotorreceptoras de tipo bastón incluye la medición de la amplitud de al menos uno, al menos dos, al menos tres o más componentes del electroretinograma, que incluye, por ejemplo, la onda a y la onda b. Véase, por ejemplo, Lamb et al., más arriba; Así et al., *Documenta Ophthalmologica* 79: 125-39 (1992).

20 La inhibición de la regeneración de la rodopsina mediante un compuesto con la amina unida a alcoxifenilo descrito en la presente memoria comprende la reducción de la cantidad de cromóforo, el 11-*cis*-retinal, que se produce en las células del EPR y está presente en ellas, y en consecuencia la reducción de la cantidad de 11-*cis*-retinal que está presente en la célula fotorreceptora. Así pues, el compuesto, cuando se permite que entre en contacto con la retina en condiciones idóneas y durante un tiempo suficientes para impedir la adaptación a la oscuridad de una célula fotorreceptora de tipo bastón y para inhibir la regeneración de la rodopsina en la célula fotorreceptora de tipo bastón, reduce la cantidad de 11-*cis*-retinal en una célula fotorreceptora de tipo bastón (a saber, una reducción significativa desde los puntos de vista estadístico o biológico). Es decir, la cantidad de 11-*cis*-retinal de una célula fotorreceptora de tipo bastón es mayor antes de la administración del compuesto cuando se compara con la cantidad de 11-*cis*-retinal de la célula fotorreceptora después de la primera y/o cualquier administración posterior del compuesto. Se podría determinar una primera cantidad de 11-*cis*-retinal antes de la administración del compuesto y una segunda cantidad de 11-*cis*-retinal se podría determinar después de la administración de una primera dosis o cualquier dosis posterior para monitorizar el efecto del compuesto. Una disminución de la segunda cantidad en comparación con la primera cantidad indica que el compuesto inhibe la regeneración de la rodopsina y, así pues, inhibe o impide la adaptación a la oscuridad de las células fotorreceptoras de tipo bastón.

25 Un método de ejemplo para determinar o caracterizar la capacidad que tiene un compuesto con la amina unida a alcoxifenilo para reducir la hipoxia retiniana incluye medir el nivel de oxigenación retiniana, por ejemplo, mediante imágenes de resonancia magnética (RMN) para medir los cambios de la presión de oxígeno (véase, p. ej., Luan et al., *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 47: 320-28 (2006)). Los métodos están también disponibles y se practican sistemáticamente en la técnica para determinar o caracterizar la capacidad que tienen los compuestos descritos en la presente memoria para inhibir la degeneración de una célula retiniana (véase, p. ej., Wenzel et al., *Prog. Retin. Eye Res.* 24: 275-306 (2005)).

30 Los modelos animales se podrían utilizar para caracterizar e identificar los compuestos que se podrían utilizar para tratar las enfermedades y trastornos retinianos. Un modelo de animal desarrollado recientemente, y que podría ser útil para evaluar los tratamientos contra la degeneración macular, ha sido descrito por Ambati et al. (*Nat. Med.* 9: 1390-97 (2003); Epub 19 de octubre de 2003). Este modelo de animal es uno de solo unos pocos modelos de animales de ejemplo disponibles en la actualidad para evaluar un compuesto o cualquier molécula para ser usada en el tratamiento (que incluye la prevención) de la progresión o el desarrollo de una enfermedad o trastorno retiniano. Los modelos de animales en los que el gen *ABCR*, que codifica un transportador con casete de fijación a ATP que se sitúa en los bordes de los discos del segmento externo de los fotorreceptores, se podrían utilizar para evaluar el

efecto de un compuesto. Las mutaciones en el gen *ABCR* están asociadas a la enfermedad de Stargardt y las mutaciones heterocigotas en *ABCR* se han asociado a la DMS. De acuerdo con esto, se han generado animales con una pérdida parcial o total de la función de *ABCR* y se podrían utilizar para caracterizar los compuestos con la amina unida a alcoxifenilo descritos en la presente memoria (véase, p. ej., Mata et al., *Invest. Ophthalmol. Sci.* 42: 1685-90 (2001); Weng et al., *Cell* 98: 13-23 (1999); Mata et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97: 7154-49 (2000); patentes de Estados Unidos n.ºs US 2003/0032078; US 6.713.300). Otros modelos animales incluyen el uso de ratones transgénicos mutantes *ELOVL4* para determinar la acumulación de lipofuscina, la electrofisiología y la degeneración de los fotorreceptores, o la prevención o inhibición de la misma (véase, p. ej., Karan et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 4164-69 (2005)).

El efecto de cualquiera de los compuestos descritos en la presente memoria se podría determinar en un modelo animal con retinopatía diabética, tal y como se describe en Luan et al., o se podría determinar en un modelo de animal normal, en el que los animales se han adaptado a la luz o la oscuridad en presencia o ausencia de cualquiera de los compuestos descritos en la presente memoria. Otro método de ejemplo para determinar la capacidad que tiene el agente para reducir la hipoxia retiniana mide la hipoxia retiniana mediante el depósito de una hidroxisonda (véase, p. ej., de Gooyer et al. (*Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 47: 5553-60 (2006)). Tal técnica se podría realizar en un modelo animal que utiliza ratones genosuprimidos *Rho/Rho* (véase de Gooyer et al., más arriba) en la que al menos un compuesto descrito en la presente memoria se administra a uno o varios grupos de animales en presencia y ausencia de al menos un compuesto, o se podría realizar en animales de tipo silvestre y normales en los que al menos un compuesto descrito en la presente memoria se administra a uno o varios grupos de animales en presencia o ausencia de al menos un compuesto. Otros modelos animales incluyen los modelos para la determinación del funcionamiento de los fotorreceptores, tales como modelos de rata que miden los potenciales oscilatorios electroretinográficos (ERG) (véase, p. ej., Liu et al., *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 47: 5447-52 (2006); Akula et al., *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 48: 4351-59 (2007); Liu et al., *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 47: 2639-47 (2006); Dembinska et al., *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 43: 2481-90 (2002); Penn et al., *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 35: 3429-35 (1994); Hancock et al., *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 45: 1002-1008 (2004)).

Un método para determinar el efecto de un compuesto sobre la actividad isomerasa se podría llevar a cabo *in vitro* tal y como se describe en la presente memoria y en la técnica (Stecher et al., *J. Biol. Chem* 274: 8577-85 (1999); véase también, Golczak et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 8162-67 (2005)). Las membranas de los microsomas del epitelio pigmentario de la retina (EPR) aisladas de un animal (tal como bovino, porcino, humano, por ejemplo) podrían servir como fuente de la isomerasa. La capacidad que tienen los compuestos derivados por la unión de amina a alcoxifenilo para inhibir la isomerasa también se podría determinar mediante un ensayo de la isomerasa murina *in vivo*. La breve exposición del ojo a la luz intensa («fotoblanqueo» del pigmento visual o simplemente «blanqueo») se sabe que fotoisomeriza casi todo el 11-*cis*-retinal de la retina. La recuperación del 11-*cis*-retinal después del blanqueo se puede utilizar para estimar la actividad isomerasa *in vivo* (véase, p. ej., Maeda et al., *J. Neurochem.* 85: 944-956 (2003); Van Hooser et al., *J. Biol. Chem.*, 277: 19173-82, (2002). El registro electroretinográfico (ERG) se puede realizar como se describió previamente (Haeseleer et al., *Nat. Neurosci.* 7: 1079-87 (2004); Sugitomo et al., *J. Toxicol. Sci.* 22 Supl 2: 315-25 (1997); Keating et al., *Documenta Ophthalmologica* 100: 77-92 (2000)). Véase también Deigner et al., *Science*, 244: 968-971 (1989); Gollapalli et al., *Biochim. Biophys. Acta* 1651: 93-101 (2003); Parish, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 14609-13 (1998); Radu et al., *Proc Natl Acad Sci USA* 101: 5928-33 (2004).

Los métodos de cultivo de células, tal como el método descrito en la presente memoria, son también útiles para determinar el efecto que tiene un compuesto descrito en la presente memoria sobre la supervivencia de las células neuronales retinianas. Los modelos de cultivo de células de ejemplo se describen en la presente memoria y se describen con detalle en la publicación de la solicitud de patente de los EE. UU. n.º US 2005-0059148 y la publicación de solicitud de patente de los EE. UU. n.º US 2004-0147019 (que se incorporan por referencia en su totalidad), que son útiles para determinar la capacidad que tiene un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo, tal y como se describe en la presente memoria, para mejorar o prolongar la supervivencia de las células neuronales, en particular de las células neuronales retinianas y de las células del epitelio pigmentario de la retina, e inhiben, impiden, enlentecen o retrasan la degeneración de un ojo, o la retina o las células retinianas del mismo, o el EPR, y que dichos compuestos son útiles para tratar enfermedades y trastornos oftálmicos.

El modelo de cultivo de células comprende un cultivo a largo plazo o extendido de células retinianas maduras, que incluyen las células neuronales retinianas (p. ej., células fotorreceptoras, células amacrinas, células ganglionares, células horizontales y células bipolares). El sistema de cultivo de células y los métodos para producir el sistema de cultivo de células dan a conocer el cultivo extenso de células fotorreceptoras. El sistema de cultivo de células podría también comprender las células del epitelio pigmentario de la retina (EPR) y los neuroglíocitos de Müller.

El sistema de cultivo de células retinianas también podría comprender un agresivo celular. La aplicación o la presencia del factor agresivo afecta a las células retinianas maduras, que incluyen las células neuronales retinianas, *in vitro*, de una manera que es útil para estudiar la patología de la enfermedad que se observa en una enfermedad o trastorno retiniano. El modelo de cultivo de células da a conocer un sistema de cultivo de células neuronales *in vitro* que será útil para la identificación y el ensayo biológico de un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo que es idóneo para el tratamiento de las enfermedades o trastornos neurológicos en general y para el tratamiento de las enfermedades degenerativas del ojo y del cerebro en particular. La capacidad para mantener las

células cultivadas *in vitro* primarias del tejido retiniano maduro, entre ellas las neuronas retinianas, durante un periodo extenso de tiempo en presencia de un factor agresivo permite la exploración de las interacciones entre células, la selección y el análisis de los compuestos y los materiales neuroactivos, el uso de un sistema de cultivo de células controlado *in vitro* para el SNC y las pruebas oftálmicas, y el análisis de los efectos sobre células únicas sacadas de una población coherente de células retinianas.

El sistema de cultivo de células y el modelo de agresión de las células retinianas comprenden células retinianas maduras cultivadas, neuronas retinianas y un factor agresivo de las células retinianas, que se podrían utilizar para cribar y caracterizar un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo que es capaz de inducir o estimular la regeneración del tejido del SNC que se ha dañado por la enfermedad. El sistema de cultivo de células da a conocer un cultivo de células retinianas madura que es una mezcla de células neuronales retinianas maduras y células retinianas no neuronales. El sistema de cultivo de células comprende todos los tipos de células neuronales retinianas importantes (fotorreceptores, células bipolares, células horizontales, células amacrinas y células ganglionares), y también podría incluir otras células retinianas maduras, tales como las células del EPR y los neuroglíocitos de Müller. Al incorporar estos diferentes tipos de células en el sistema de cultivo *in vitro*, el sistema se parece esencialmente a un «órgano artificial» que es más afín al estado natural *in vivo* de la retina.

La viabilidad de uno o varios tipos de células retinianas maduras que se aíslan (recogen) del tejido retiniano y se siembran en placas para el cultivo de tejido se podría mantener durante un periodo de tiempo extenso, por ejemplo, durante dos semanas a seis meses. La viabilidad de las células retinianas se podría determinar de acuerdo con los métodos descritos en la presente memoria y que se conocen en la técnica. Las células neuronales retinianas, similares a las células neuronales en general, no son células que se dividen activamente *in vivo* y, así pues, la división celular de las células neuronales retinianas no sería necesariamente indicativa de la viabilidad. Una ventaja del sistema de cultivo de células es la capacidad para cultivar células amacrinas, fotorreceptores y neuronas con prolongaciones asociadas a ganglios y otras células retinianas maduras durante periodos extensos de tiempo, con lo que da la oportunidad de determinar la eficacia que tiene un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo descrito en la presente memoria para el tratamiento de la enfermedad retiniana.

La fuente biológica de las células retinianas o del tejido retiniano podría ser mamífero (p. ej., humano, primate no humano, ungulado, roedor, canino, porcino, bovino u otra fuente de mamíferos), aviar o de otro género. Se podrían utilizar las células retinianas que incluyen neuronas retinianas de los primates no humanos recién nacidos, cerdos recién nacidos o pollos recién nacidos, pero cualquier tejido retiniano de adulto o de recién nacido podría ser idóneo para ser usado en este sistema de cultivo de células retinianas.

En determinados casos, el sistema de cultivo de células podría proporcionar una supervivencia robusta a largo plazo de las células retinianas sin inclusión de las células procedentes o aisladas o purificadas del tejido no retiniano. Tal sistema de cultivo de células comprende las células aisladas únicamente de la retina del ojo y, así pues, está sustancialmente libre de los tipos de células de otras partes o regiones del ojo que no forman parte de la retina, tal como el cuerpo ciliar, iris, coroides y cuerpo vítreo. Otros métodos de cultivo de células incluyen la adición de células no retinianas, tales como las células del cuerpo ciliar y/o las células madre (que podrían ser o no ser células madre retinianas) y/o neuroglíocitos purificados adicionalmente.

Los sistemas de cultivo de células retinianas *in vitro* descritos en la presente memoria podrían servir como modelos retinianos fisiológicos que se pueden utilizar para caracterizar aspectos de la fisiología de la retina. Este modelo retiniano fisiológico podría también utilizarse como un modelo de neurobiología general más amplio. En el sistema de cultivo de células modelo se podría incluir un agresivo celular. Un agresivo celular, que se describe en la presente memoria, es un factor agresivo para las células de la retina, que afecta de manera adversa a la viabilidad o reduce la viabilidad de uno o varios de los diferentes tipos de células retinianas, que incluyen tipos e células neuronales retinianas, en el sistema de cultivo de células. Una persona experta en la técnica apreciaría y comprendería con facilidad que, según se describe en la presente memoria, una célula retiniana que muestra una viabilidad reducida significa que se reduce o disminuye la cantidad de tiempo en el que una célula retiniana sobrevive en el sistema de cultivo celular (disminución de la esperanza de vida) y/o que la célula retiniana muestra una disminución, inhibición o efecto adverso de una función biológica o bioquímica (p. ej., metabolismo disminuido o anormal; inicio de la apoptosis; etc.) en comparación con una célula retiniana cultivada en un sistema de células de control adecuado (p. ej., el sistema de cultivo de células descrito en la presente memoria en ausencia del agresivo celular). La reducción de la viabilidad de una célula retiniana se podría indicar mediante la muerte celular; una alteración o cambio en la estructura o morfología celular; la inducción y/o progresión de la apoptosis; el inicio, mejora y/o aceleración de la neurodegeneración de las células neuronales de la retina (o lesión de las células neuronales).

Los métodos y las técnicas para determinar la viabilidad celular se describen con detalle en la presente memoria y son aquellos con los que los expertos en la técnica están familiarizados. Estos métodos y técnicas para determinar la viabilidad celular se podrían utilizar para monitorizar la salud y el estado de las células retinianas en el sistema de cultivo celular y para determinar la capacidad que tienen los compuestos derivados por la unión de amina a alcoxifenilo descritos en la presente memoria para alterar (preferiblemente incrementar, prolongar, potenciar, mejorar) las células retinianas o la viabilidad de las células del epitelio pigmentario de la retina, o la supervivencia de las células retinianas.

La adición de un agresivo celular al sistema de cultivo de células es útil para determinar la capacidad que tiene un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo para anular, inhibir, eliminar o reducir el efecto del factor agresivo. El sistema de cultivo de células retinianas podría incluir un agresivo celular que es una sustancia química (p. ej., A2E, concentrado de humo de cigarrillo); sustancia biológica (por ejemplo, exposición a toxinas; β -amiloide; lipopolisacáridos); o sustancias no químicas, tales como una agresión física, agresión ambiental, o una fuerza mecánica (p. ej., incremento de la presión o exposición a la luz) (véase, p. ej., US 2005-0059148).

El sistema modelo del factor agresivo de las células retinianas podría también incluir un agresivo celular tal como, pero sin limitarse a ellos, un factor agresivo que podría ser un factor de riesgo en una enfermedad o trastorno o que podría contribuir al desarrollo o progresión de una enfermedad o trastorno, entre ellos, pero sin limitarse a ellos, luz de diferentes longitudes de onda e intensidades; A2E; exposición al humo de cigarrillo condensado; estrés oxidativo (p. ej., estrés relacionado con la presencia o exposición al peróxido de hidrógeno, nitroprusiato, Zn^{++} o Fe^{++}); incremento de la presión (p. ej., presión atmosférica o presión hidrostática), glutamato o antagonista del glutamato (p. ej., *N*-metil-D-aspartato (NMDA); α -amino-3-hidroxi-5-metilisoxazol-4-propionato (AMPA); ácido kainico; ácido quisquálico; ácido iboténico; ácido quinolínico; aspartato; *trans*-1-aminociclopentil-1,3-dicarboxilato (ACPD)); aminoácidos (p. ej., aspartato, L-cisteína; β -*N*-metilamina-L-alanina); metales pesados (tal como plomo); diferentes toxinas (por ejemplo, toxinas mitocondriales (p. ej., malonato, ácido 3-nitropropiónico; rotenona, cianuro); MPTP (1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina), que se metaboliza en su metabolito tóxico activo MPP^+ (1-metil-4-fenilpiridina)); 6-hidroxi-dopamina; α -sinucleína; activadores de la proteína cinasa C (p. ej., acetato de miristato de forbol); estimulantes de aminobiógenos (por ejemplo, metanfetamina, MDMA (3-4 metilendioxi-metanfetamina)); o una combinación de uno o varios factores agresivos. Los agresivos útiles para las células retinianas incluyen los que imitan una enfermedad neurodegenerativa que afecta a una cualquiera o varias de las células retinianas maduras descritas en la presente memoria. Un modelo de enfermedad crónica es de particular importancia debido a que la mayoría de enfermedades neurodegenerativas son crónicas. Mediante el uso de este sistema de cultivo de células *in vitro* se podrían identificar los primeros acontecimientos en los procesos de la enfermedad a largo plazo, ya que se dispone de un periodo de tiempo extenso para el análisis celular.

Un factor agresivo de células retinianas podría alterar (a saber, incrementar o disminuir de una manera estadísticamente significativa) la viabilidad de las células retinianas, tal como por alteración de la supervivencia de las células retinianas, que incluye las células neuronales retinianas y las células del EPR, o por alteración de la neurodegeneración de las células neuronales retinianas y/o de las células del EPR. Preferiblemente, un factor agresivo de las células retinianas afecta de manera adversa a una célula neuronal retiniana o a una célula del EPR, de tal manera que disminuye o resulta afectada de manera adversa la supervivencia de una célula neuronal retiniana o de célula del EPR (a saber, en presencia del factor agresivo disminuye la duración del tiempo durante el cual las células son viables), o se incrementa o mejora la neurodegeneración (o la lesión de las células neuronales) de la célula. El factor agresivo podría afectar solo a un único tipo de célula retiniana en el cultivo de células retiniana o el factor agresivo podría afectar a dos, tres, cuatro o más de los diferentes tipos de células. Por ejemplo, un factor agresivo podría alterar la viabilidad y la supervivencia de las células fotorreceptoras, pero no afectar a todos los otros tipos de células principales (p. ej., células ganglionares, células amacrinas, células horizontales, células bipolares, EPR y neuroglíocitos de Müller). Los factores agresivos podrían acortar la duración de la supervivencia de una célula retiniana (*in vivo* o *in vitro*), incrementar la rapidez o la extensión de la neurodegeneración de una célula retiniana o de alguna otra manera afectar adversamente a la viabilidad, morfología, madurez o esperanza de vida de la célula retiniana.

El efecto de un agresivo celular (en presencia y ausencia de un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo) sobre la viabilidad de las células retinianas en el sistema de cultivo de células se podría determinar para uno o varios de los diferentes tipos de células retinianas. La determinación de la viabilidad celular podría incluir la evaluación de la estructura y/o función de una célula retiniana continuamente a intervalos durante un tiempo o en un punto del tiempo concreto después de preparar el cultivo de células retinianas. La viabilidad o la supervivencia a largo plazo de uno o varios tipos de células retinianas diferentes o uno o varios tipos de células neuronales retinianas diferentes se podrían examinar de acuerdo con uno o varios parámetros bioquímicos o biológicos que son indicativos de la reducción de la viabilidad, tales como la apoptosis o una disminución de una función metabólica, antes de la observación de una alteración morfológica o estructural.

Un agresivo celular de naturaleza química, biológica o física podría reducir la viabilidad de uno o varios de los tipos de células retinianas presentes en el sistema de cultivo celular cuando el factor agresivo se añade al cultivo de células en las condiciones descritas en la presente memoria para mantener el cultivo de células a largo plazo. Como alternativa, una o varias condiciones del cultivo se podrían ajustar de tal modo que el efecto del factor agresivo sobre las células retinianas se pueda observar con más facilidad. Por ejemplo, la concentración o el porcentaje del suero bovino fetal se podría reducir o eliminar del cultivo celular cuando las células se exponen a un agresivo celular concreto (véase, p. ej., el documento US 2005-0059148). Como alternativa, las células retinianas cultivadas en el medio que contiene el suero a una concentración concreta para el mantenimiento de las células se podría exponer de manera abrupta al medio que no contiene ninguna cantidad de suero.

El cultivo de células retinianas se podría exponer a un agresivo celular durante un periodo de tiempo que se determina para reducir la viabilidad de uno o varios tipos de células retinianas en el sistema de cultivo de células retinianas. Las células se podrían exponer a un agresivo celular inmediatamente después de la siembra en placas

- de las células retinianas tras el aislamiento del tejido retiniano. Como alternativa, el cultivo de células retinianas se podría exponer a un factor agresivo después de establecer el cultivo o en cualquier momento a partir de entonces. Cuando se incluyen dos o más agresivos celulares en el sistema de cultivo de células retinianas, cada factor agresivo se podría añadir al sistema de cultivo de células a la vez y durante el mismo intervalo de tiempo, o se podría añadir por separado en puntos temporales diferentes durante el mismo intervalo de tiempo o durante diferentes duraciones de tiempo durante el cultivo del sistema de células retinianas. Un compuesto con la amina unida a alcoxifenilo se podría añadir antes de exponer el cultivo de células retinianas a un agresivo celular, se podría añadir a la vez que el agresivo celular, o se podría añadir después de la exposición del cultivo de células retinianas al factor agresivo.
- 5 Los fotorreceptores se podrían identificar con anticuerpos que se fijan específicamente a proteínas específicas de fotorreceptores, tales como opsinas, periféricas y similares. Los fotorreceptores en el cultivo celular también se podrían identificar como un subconjunto morfológico de células marcadas inmunocitoquímicamente con un marcador panneuronal o se podrían identificar morfológicamente en imágenes de contraste realizadas de cultivos vivos. Los segmentos externos se pueden detectar morfológicamente como uniones a fotorreceptores.
- 10 Las células retinianas, incluidos los fotorreceptores, también se pueden detectar mediante el análisis funcional. Por ejemplo, los métodos y técnicas de electrofisiología se podrían utilizar para medir la respuesta de los fotorreceptores a la luz. Los fotorreceptores muestran la cinética específica de una reacción graduada por la luz. También se pueden utilizar colorantes sensibles al calcio para detectar las reacciones graduadas por la luz dentro de los cultivos que contienen los fotorreceptores activos. Para analizar los compuestos que inducen la agresión o los posibles neuroterápicos, los cultivos de células de la retina se pueden procesar para inmunocitoquímica, y los fotorreceptores y/u otras células retinianas se pueden contar a mano o mediante un programa informático con técnicas de fotomicroscopía e imagen. Otros inmunoensayos conocidos en la técnica (p. ej., ELISA, inmunotransferencia, citometría de flujo) también podrían ser útiles para identificar y caracterizar las células retinianas y las células neuronales retinianas del sistema de modelo de cultivo celular descrito en la presente memoria.
- 15 Los modelos de agresión del cultivo de células retinianas también podrían ser útiles para identificar los efectos directos e indirectos del agente farmacológico mediante el agente bioactivo de interés, tal como el compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo que se describe en la presente memoria. Por ejemplo, la adición de un agente bioactivo al sistema de cultivo de células en presencia de uno o varios agresivos celulares retinianos podría estimular un tipo de célula de una manera que mejora o disminuye la supervivencia de otros tipos de células. Las interacciones entre las células y las interacciones entre la célula y los componentes extracelulares podrían ser importantes para conocer los mecanismos de la enfermedad y el funcionamiento del fármaco. Por ejemplo, un tipo de célula neuronal podría secretar factores tróficos que afecten al crecimiento o a la supervivencia de otro tipo de célula neuronal (véase, p. ej., la solicitud de patente internacional WO 99/29279).
- 20 En otro caso, el compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo se incorpora en ensayos de cribado que comprenden el sistema modelo de agresión del cultivo de células retinianas descrito en la presente memoria para determinar si y/o a qué nivel o grado el compuesto incrementa o prolonga la viabilidad (a saber, incrementa de una manera significativa desde el punto de vista estadístico o biológico) de multitud de células retinianas. El experto en la técnica apreciará con facilidad y conocerá que, tal y como se describe en la presente memoria, una célula retiniana que incrementa su viabilidad significa que se incrementa la duración del tiempo que una célula retiniana sobrevive en el sistema de cultivo de células (incremento de la esperanza de vida) y/o que la célula retiniana mantiene una función biológica o bioquímica (normalidad en el metabolismo y el funcionamiento de los orgánulos; ausencia de la apoptosis; etc.) en comparación con una célula retiniana cultivada en un sistema de células de control adecuado (p. ej., el sistema de cultivo de células descrito en la presente memoria en ausencia del compuesto). El incremento de la viabilidad de una célula retiniana podría estar indicado por un retraso de la muerte celular o una reducción del número de células muertas o que se están muriendo; mantenimiento de la estructura y/o forma; ausencia o retraso del inicio de la apoptosis; retraso, inhibición, enlentecimiento de la progresión y/o anulación de la neurodegeneración de las células neuronales retinales, o retraso a anulación o prevención de los efectos de la lesión de las células neuronales. Los métodos y técnicas para determinar la viabilidad de una célula retiniana y así pues si una célula retiniana muestra un incremento de la viabilidad se describen con más detalle en la presente memoria y los conocen los expertos en la técnica.
- 25 En algunos casos, se da a conocer un método para determinar si un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo mejora la supervivencia de las células fotorreceptoras. Un método comprende poner en contacto un sistema de cultivo de células retinianas como el descrito en la presente memoria con un compuesto con la amina unida a alcoxifenilo en las condiciones y durante un tiempo suficientes para permitir la interacción entre las células neuronales retinianas y el compuesto. La mejora de la supervivencia (prolongación de la supervivencia) se podría medir de acuerdo con los métodos descritos en la presente memoria y que se conocen en la técnica, que incluyen detectar la expresión de la rodopsina.
- 30 La capacidad que tiene un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo para incrementar la viabilidad de las células retinianas y/o para mejorar, promover o prolongar la supervivencia celular (es decir, extender el periodo de tiempo en el que son viables las células retinianas, entre ellas las células neuronales retinianas) y/o deteriorar, inhibir o impedir la degeneración como un resultado directo o indirecto de la presente memoria describió que la
- 35
- 40
- 45
- 50
- 55
- 60

agresión se podría determinar mediante cualquiera de diferentes métodos conocidos por los expertos en la técnica. Por ejemplo, los cambios de la morfología celular en ausencia y presencia del compuesto se podrían determinar mediante la inspección visual, tal como por microscopía óptica, microscopía confocal u otros métodos de microscopía conocidos en la técnica. La supervivencia de las células también se puede determinar contando las células viables y/o no viables, por ejemplo. Se podrían utilizar técnicas de inmunquímica o inmunohistológicas (tales como la tinción de células fijadas o la citometría de flujo) para identificar y evaluar la estructura citoesquelética (p. ej., con anticuerpos específicos de las proteínas citoesqueléticas, tales como la proteína ácida fibrilar neuroglial, fibronectina, actina, vimentina, tubulina o similares), o para evaluar la expresión de los marcadores celulares tal y como se describe en la presente memoria. El efecto que tiene un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo sobre la integridad, morfología y/o supervivencia celulares se podría determinar también al medir el estado de fosforilación de los polipéptidos de las células neuronales, por ejemplo, los polipéptidos citoesqueléticos (véase, p. ej., Shanna et al., *J. Biol. Chem.* 274:9600-06 (1999); Li et al., *J. Neurosci.* 20: 6055-62 (2000)). La supervivencia celular o, como alternativa, la muerte celular, se podrían determinar también de acuerdo con los métodos descritos en la presente memoria y que se conocen en la técnica para medir la apoptosis (por ejemplo, fijación a la anexina V, ensayos de fragmentación del ADN, activación de caspasas, análisis de marcadores, p. ej., poli(ADP-ribosa) polimerasa (PARP), etc.).

En el ojo de los vertebrados, por ejemplo, un ojo de mamífero, la formación de la A2E es un proceso dependiente de la luz y su acumulación conduce a una serie de efectos negativos en el ojo. Estos incluyen la desestabilización de las membranas del epitelio pigmentario de la retina (EPR), sensibilización de las células al daño de la luz azul y deficiencias en la degradación de los fosfolípidos. Los productos de la oxidación de la A2E (y de las moléculas relacionadas con la A2E) mediante el oxígeno molecular (oxiranos) se mostró que inducían el daño del ADN en las células cultivadas del EPR. Todos estos factores conducen a una disminución gradual de la agudeza visual y, finalmente, a la pérdida de la vista. Si fuera posible reducir la formación de retinales durante los procesos de visión, esta reducción conduciría a una disminución de la cantidad de A2E en el ojo. Sin desear comprometerse con la teoría, la disminución de la acumulación de A2E podría reducir o retrasar los procesos degenerativos en el EPR y la retina y, así pues, podría enlentecer o impedir la pérdida de visión en la DMS seca y en la enfermedad de Stargardt.

En otro caso, se dan a conocer métodos para tratar y/o impedir las enfermedades y trastornos degenerativos, entre ellos las retinopatías neurodegenerativas y las oftamopatías, y las enfermedades y trastornos retinianos que se describen en la presente memoria. Un sujeto que necesita tal tratamiento podría ser un humano o primate no humano u otro animal que haya desarrollado síntomas de una enfermedad retiniana degenerativa o que esté en riesgo de desarrollar una enfermedad retiniana degenerativa. Tal y como se describe en la presente memoria, se da a conocer un método para tratar (que incluye la prevención o profilaxis) una enfermedad o trastorno oftálmico al administrar a un sujeto una composición que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo (p. ej., un compuesto que tiene la estructura de cualquiera de las fórmulas de la presente memoria y las subestructuras de las mismas). Tal y como se describe en la presente memoria, se da a conocer un método para mejorar la supervivencia de las células neuronales, tales como las células neuronales retinianas, que incluyen las células fotorreceptoras, y/o inhibir la degeneración de células neuronales retinianas al administrar las composiciones farmacéuticas descritas en la presente memoria que comprenden un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo.

La mejora de la supervivencia (o la prolongación o extensión de la supervivencia) de uno o varios tipos de células retinianas en presencia de un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo indica que el compuesto podría ser un agente eficaz para el tratamiento de una enfermedad degenerativa, en particular una enfermedad o trastorno retiniano, y que incluye una enfermedad o trastorno retiniano neurodegenerativo. La supervivencia celular y la mejora de la supervivencia celular se podría determinar de acuerdo con los métodos descritos en la presente memoria y que conoce el experto en la técnica, que incluyen los ensayos de viabilidad y los ensayos para detectar la expresión de las proteínas marcadoras de las células retinianas. Para determinar la mejora de la supervivencia de las células fotorreceptoras se podrían detectar las opsinas, por ejemplo, lo que incluye la proteína rodopsina que expresan los bastones.

En otro caso, al sujeto se le trata la enfermedad de Stargardt o la degeneración macular de Stargardt. En la enfermedad de Stargardt, que está asociada a mutaciones en el transportador ABCA4 (también denominada ABCR), se ha propuesto que la acumulación de todo-*trans*-retinal es responsable de la formación de un pigmento de lipofuscina, A2E, que es tóxico para las células retinianas y ocasiona la degeneración retiniana y, en consecuencia, la pérdida de visión.

Aún en otro caso, al sujeto se le trata la degeneración macular relacionada con la edad (DMS). En diferentes casos, la DMS puede ser la forma húmeda o la seca. En la DMS, la pérdida de visión se produce principalmente cuando las complicaciones tardías de la enfermedad hacen que crezcan bajo la mácula nuevos vasos sanguíneos o que se atrofie la mácula. Sin desear comprometerse con ninguna teoría concreta, la acumulación de todo-*trans*-retinal se ha propuesto que es responsable de la formación de un pigmento de lipofuscina, la *N*-retinilideno-*N*-retiniletanolamina (A2E) y las moléculas relacionadas con la A2E, que son tóxicas para el EPR y las células retinianas, y ocasiona la degeneración retiniana y la consiguiente pérdida de visión.

Una enfermedad o trastorno retiniano neurodegenerativo para el que los compuestos y los métodos descritos en la

presente memoria se podrían utilizar para tratar, curar, prevenir, mejorar sus síntomas, o enlentecer, inhibir o detener su progresión, es una enfermedad o trastorno que conduce o que se caracteriza por la pérdida de las células neuronales retinianas, que es la causa del deterioro de la vista. Tal enfermedad o trastorno incluye, pero sin limitarse a ellas, la degeneración macular relacionada con la edad (que incluye la forma seca y la forma húmeda de la degeneración macular) y la distrofia macular de Stargardt.

La degeneración macular relacionada con la edad que se describe en la presente memoria es un trastorno que afecta a la mácula (la región central de la retina) y que da lugar al declive y la pérdida de la visión central. La degeneración macular relacionada con la edad se produce típicamente en los individuos con unos 55 años de edad. Las causas de la degeneración macular relacionada con la edad pueden incluir tanto influencias del entorno como componentes genéticos (véase, p. ej., Lyengar et al., *Am. J. Hum. Genet.* 74: 20-39 (2004) (Epub 19 de diciembre de 2003); Kenealy al., *Mol. Vis.* 10: 57-61 (2004); Gorin et al., *Mol. Vis.* 5: 29 (1999)). Más raramente, la degeneración macular se produce en individuos más jóvenes, que incluyen niños y lactantes y, por lo general, estos trastornos son el resultado de una mutación genética. Los tipos de degeneración macular juvenil incluyen la enfermedad de Stargardt (véase, p. ej., Glazer et al., *Ophthalmol. Clin. North Am.* 15: 93-100, viii (2002); Weng et al., *Cell* 98: 13-23 (1999)); distrofia retiniana en panal de Doyme (véase, p. ej., Kennani et al., *Hum. Genet.* 104: 77-82 (1999)); distrofia de Sorsby en fondo, *Malattia Leventinese*, fondo flavimaculado y distrofia macular hemorrágica autosómica dominante (véase también Seddon et al., *Ophthalmology* 108: 2060-67 (2001); Yates et al., *J. Med. Genet.* 37: 83-7 (2000); Jaakson et al., *Hum. Mutat.* 22: 395-403 (2003)). La atrofia geográfica del EPR es una forma avanzada de degeneración macular relacionada con la edad de tipo seco no neovascular y está asociada a la atrofia de la capa corioideocapilar, EPR y retina.

La degeneración macular de Stargardt, una enfermedad hereditaria resesiva, es una ceguera hereditaria de los niños. El defecto patológico primario en la enfermedad de Stargardt es también una acumulación de los pigmentos de lipofuscina tóxicos, tales como A2E en las células del epitelio pigmentario de la retina (EPR). Esta acumulación aparece como la responsable de la muerte de los fotorreceptores y de la pérdida grave de la vista encontrada en los pacientes con degeneración de Stargardt. Los compuestos descritos en la presente memoria podrían enlentecer la síntesis del 11-*cis*-retinaldehído (11cRAL o retinal) y la regeneración de la rodopsina al inhibir la isomerasa en el ciclo visual. La activación de la rodopsina por la luz da lugar a su liberación desde el todo-*trans*-retinal, lo que constituye el primer reactivo de la biosíntesis de la A2E. El tratamiento con los compuestos derivados por la unión de amina a alcoxifenilo podría inhibir la acumulación de la lipofuscina y, así pues, retrasar el comienzo de la pérdida de vista en los pacientes con degeneración de Stargardt y con DMS sin efectos tóxicos que imposibilitarían el tratamiento con un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo. Los compuestos descritos en la presente memoria se podrían utilizar para el tratamiento eficaz de otras formas de degeneración retiniana o macular asociada a la acumulación de lipofuscina.

La administración de un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo a un sujeto puede impedir la formación del pigmento de lipofuscina, la A2E (y las moléculas relacionadas con la A2E), que es tóxico para las células retinianas y que ocasiona la degeneración retiniana. En algunos casos, la administración de un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo puede reducir la producción de los productos de desecho, p. ej. pigmento de lipofuscina, A2E (y las moléculas relacionadas con la A2E), mejorar el desarrollo de la DMS (p. ej., forma seca) y de la enfermedad de Stargardt, y reducir o enlentecer la pérdida de vista (p. ej., neovascularización corioidea y/o atrofia coriorretiniana). En los estudios previos, el ácido 13-*cis*-retinoico (Accutane® o isotretinoína), un fármaco utilizado de forma habitual para el tratamiento del acné y un inhibidor de la 11-*cis*-retinol deshidrogenasa, se ha administrado a los pacientes para impedir la acumulación de la A2E en el EPR. No obstante, un inconveniente importante de este tratamiento propuesto es que el ácido 13-*cis*-retinoico se puede isomerizar con facilidad en el ácido todo-*trans*-retinoico. El ácido todo-*trans*-retinoico es un compuesto teratógeno muy potente que afecta adversamente a la proliferación y desarrollo de las células. El ácido retinoico se acumula también en el hígado y podría ser un factor que contribuya a las enfermedades hepáticas.

Aún en otros casos, se administra un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo a un sujeto, tal como un humano con una mutación en el transportador ABCA4 en el ojo. El compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo también se puede administrar a un sujeto anciano. Tal y como se utiliza en la presente memoria, un sujeto humano anciano tiene típicamente al menos 45, o al menos 50, o al menos 60, o al menos 65, años de edad. En la enfermedad de Stargardt, que está asociada a mutaciones en el transportador ABCA4, se ha propuesto que la acumulación del todo-*trans*-retinal es responsable de la formación de un pigmento de lipofuscina, la A2E (y las moléculas relacionadas con la A2E) que es tóxico para las células retinianas y ocasiona la degeneración retiniana y en consecuencia la pérdida de vista. Sin desear comprometerse con la teoría, un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo descrito en la presente memoria podría ser un inhibidor fuerte de una isomerasa implicada en el ciclo visual. El tratamiento de los pacientes con un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo que se describe en la presente memoria podría impedir o enlentecer la formación de la A2E (y de las moléculas relacionadas con la A2E) y puede tener propiedades protectoras de la visión normal.

En otros casos determinados, uno o varios de los compuestos descritos en la presente memoria se podrían utilizar para tratar otras enfermedades o trastornos oftálmicos, por ejemplo, glaucoma, desprendimiento de retina, retinopatía hemorrágica, retinosis pigmentaria, una enfermedad retiniana inflamatoria, vitreoretinopatía proliferativa, distrofia retiniana, neuropatía óptica hereditaria, distrofia de Sorsby en fondo, uveítis, una lesión retiniana, neuropatía

5 óptica y trastornos retinianos asociados a otras enfermedades neurodegenerativas, tales como la enfermedad de Alzheimer, esclerosis múltiple, enfermedad de Parkinson u otras enfermedades neurodegenerativas que afectan a las células del cerebro, un trastorno retiniano asociado a infección vírica u otras afecciones, tales como el sida. Un trastorno retiniano también incluye el daño de la luz sobre la retina que está relacionado con un incremento de la exposición a la luz (a saber, sobreexposición a la luz), por ejemplo, una exposición accidental a la luz fuerte o intensa durante una intervención quirúrgica; una exposición a la luz solar fuerte, intensa o prolongada, tal como en un desierto o en un terreno cubierto por la nieve; durante el combate, por ejemplo, cuando se observa un resplandor o explosión, o de un dispositivo con láser, y similares. Las enfermedades retinianas pueden ser de naturaleza degenerativa o no degenerativa. Ejemplos no limitantes de las enfermedades retinianas degenerativas incluyen la degeneración macular relacionada con la edad y la distrofia macular de Stargardt. Ejemplos de enfermedades retinianas no degenerativas incluyen, pero sin limitarse a ellas, la retinopatía hemorrágica, retinosis pigmentaria, neuropatía óptica, enfermedad retiniana inflamatoria, retinopatía diabética, maculopatía diabética, oclusión de los vasos sanguíneos retinianos, retinopatía del prematuro, o lesión retiniana relacionada con la reperfusión por isquemia, vitreorretinopatía proliferativa, distrofia retiniana, neuropatía óptica hereditaria, distrofia de Sorsby en fondo, uveítis, una lesión retiniana, un trastorno retiniano asociado a la enfermedad de Alzheimer, un trastorno retiniano asociado a la esclerosis múltiple, un trastorno retiniano asociado a la enfermedad de Parkinson, un trastorno retiniano asociado a infección vírica, un trastorno retiniano relacionado con la sobreexposición a la luz, y un trastorno retiniano asociado al sida.

20 En otros casos, al menos uno de los compuestos descritos en la presente memoria se podrían utilizar para tratar, curar, impedir, mejorar sus síntomas o enlentecer, inhibir o detener la progresión de determinadas enfermedades y trastornos oftálmicos que incluyen, pero sin limitarse a ellos, retinopatía diabética, maculopatía diabética, edema macular diabético, isquemia retiniana, lesión retiniana relacionada con la reperfusión por isquemia y oclusión de los vasos sanguíneos retinianos (que incluye la oclusión venosa y la oclusión arterial).

25 La retinopatía diabética es la causa principal de ceguera en los humanos y es una complicación de la diabetes. La retinopatía diabética se produce cuando la diabetes daña los vasos sanguíneos del interior de la retina. La retinopatía no proliferativa es una forma corriente, normalmente leve, que no suele interferir con la vista. Las anomalías se limitan a la retina y la vista se deteriora sólo si la mácula está afectada. Si no se trata, la retinopatía puede progresar a retinopatía proliferativa, la forma más grave de retinopatía diabética. La retinopatía proliferativa se produce cuando los nuevos vasos sanguíneos proliferan en la retina y alrededor de ella. En consecuencia, se puede producir hemorragia en el cuerpo vítreo, tumefacción de la retina y/o desprendimiento de retina, lo que conduce a ceguera.

35 Otras enfermedades y trastornos oftálmicos que se podrían tratar con los métodos y composiciones descritos en la presente memoria incluyen enfermedades, trastornos y afecciones que están asociados a la isquemia de la retina, que la empeoran o que están causados por ella. La isquemia retiniana incluye la isquemia de la retina interna y de la retina externa. La isquemia retiniana se puede deber a enfermedades vasculares coroideas o retinianas, tales como la oclusión de la visión central o lateral de la retina, enfermedades vasculares del colágeno y púrpura trombocitopénica. La vasculitis y la oclusión retinianas se observan con la enfermedad de Eales y el lupus eritematoso diseminado.

40 La isquemia retiniana podría estar asociada a la oclusión de los vasos sanguíneos retinianos. En Estados Unidos, las oclusiones tanto de la vena retiniana central como de sus ramas son la segunda enfermedad vascular retiniana más frecuente después de la retinopatía diabética. Aproximadamente del 7% al 10% de los pacientes que tienen una enfermedad oclusiva venosa retiniana en un ojo acaban finalmente teniendo la enfermedad bilateral. La pérdida del campo visual se suele producir por el edema macular, la isquemia o la hemorragia vítrea secundaria a la neovascularización retiniana o del disco inducida por la liberación del factor del crecimiento del endotelio vascular.

45 La arterioesclerosis en los sitios de los cruzamientos arteriovenosos retinianos (áreas en las que las arterias y las venas comparten una vaina adventicia común) ocasiona la constricción de la pared de una vena retiniana por una arteria cruzante. La constricción da lugar a la formación de un trombo y la posterior oclusión de la vena. La vena bloqueada podría conducir al edema macular y a la hemorragia secundaria hasta la degradación de la barrera hematorretiniana en el área drenada por la vena, la interrupción de la circulación con turbulencia en el torrente venoso, el daño endotelial, y la isquemia. Clínicamente, las áreas de la retina isquémica aparecen como regiones blancas plumosas denominadas exudados algodonosos.

50 Las oclusiones de las ramas venosas retinianas con abundante isquemia ocasionan una pérdida aguda del campo visual central y paracentral que corresponde a la localización de los cuadrantes retinianos implicados. La neovascularización retiniana debida a la isquemia podría conducir a hemorragia vítrea y a pérdida de la vista subaguda o aguda.

55 Se podrían producir dos tipos de oclusión de la vena retiniana central, isquémica y no isquémica, dependiendo de si está presente la isquemia retiniana extensa. Incluso en el tipo no isquémico, la mácula podría todavía ser isquémica. Aproximadamente el 25% de la oclusión de la vena retiniana central es isquémica. El diagnóstico de la oclusión de la vena retiniana central puede normalmente realizarse basándose en hallazgos oftalmoscópicos característicos, que incluyen la hemorragia retiniana en todos los cuadrantes, venas dilatadas y tortuosas, y exudados algodonosos. El

edema macular y la isquemia de la fóvea pueden conducir a pérdida de vista. El líquido extracelular incrementa la presión intersticial, lo que podría dar lugar a regiones retinianas con cierre de capilares (a saber, blanqueamiento retiniano isquémico desigual) u oclusión de una arteria cilioretiniana.

5 Los pacientes con oclusión isquémica de la vena retiniana central tienen más probabilidades de presentar un comienzo repentino de la pérdida de la vista y tienen una agudeza visual de menos de 20/200, un defecto pupilar aferente relativo, hemorragias intrarretinianas abundantes y ausencia de perfusión extensa sobre la angiografía con fluoresceína. La evolución clínica de la oclusión isquémica de la vena retiniana central está asociada a malos resultados: al final, aproximadamente dos terceras partes de los pacientes que tienen oclusión isquémica de la vena retiniana central tendrán neovascularización ocular y un tercio tendrán un glaucoma neovascular. La última afección es un tipo grave de glaucoma que podría conducir a una pérdida rápida del campo visual y de la vista, edema epitelial de la córnea con erosión epitelial secundaria y predisposición a la queratitis bacteriana, dolor intenso, náuseas y vómitos y, al final, ptisis bulbi (atrofia del globo sin ninguna percepción de luz).

10 Tal y como se utiliza en la presente memoria, un paciente (o sujeto) podría ser cualquier mamífero, entre ellos un humano, que pudiera tener o estar afectado con una enfermedad o afección neurodegenerativa, que incluye una enfermedad o trastorno oftálmico, o que podría estar libre de una enfermedad detectable. De acuerdo con esto, el tratamiento se podría administrar a un sujeto que tiene una enfermedad existente, o el tratamiento podría ser preventivo, administrarse a un sujeto que está en riesgo de desarrollar la enfermedad o afección. Tratar o tratamiento se refiere a cualquier indicio de éxito en el tratamiento o mejora de una lesión, patología o afección, que incluye cualquier parámetro objetivo o subjetivo, tal como el abatimiento; remisión; disminución de los síntomas o hacer que la lesión, patología o afección sea más tolerable para el paciente; enlentecimiento del ritmo de degeneración o retroceso; hacer que el punto final de la degeneración sea menos debilitante; o mejorar el bienestar mental o físico del sujeto.

15 El tratamiento o la mejora de los síntomas se puede basar en parámetros objetivos o subjetivos; que incluyen los resultados de una exploración física. De acuerdo con esto, el término «que trata» incluye la administración de los compuestos o agentes descritos en la presente memoria para tratar el dolor, hiperalgesia, alodinia o acontecimientos nocirreceptores, y para impedir o retrasar, aliviar, o detener o inhibir el desarrollo de los síntomas o afecciones asociados al dolor, hiperalgesia, alodinia, acontecimientos nocirreceptores, u otros trastornos. El término «efecto terapéutico» se refiere a la reducción, eliminación o prevención de la enfermedad, síntomas de la enfermedad o secuelas de la enfermedad en el sujeto. El tratamiento también incluye la restauración o mejora de las funciones de las células neuronales retinianas (que incluye la función fotorreceptora) en un sistema visual de vertebrado, por ejemplo, tal como las pruebas de la agudeza visual y del campo visual, etc., según se midió con el tiempo (p. ej., según se midió en semanas o meses). El tratamiento también incluye la estabilización de la progresión de la enfermedad (a saber, enlentecer, disminuir al mínimo o detener la progresión de una enfermedad oftálmica y los síntomas asociados) y disminuir al mínimo la degeneración adicional de un sistema visual de vertebrado. El tratamiento también incluye la prevención y se refiere a la administración de un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo a un sujeto para impedir la degeneración, o degeneración adicional, o deterioro, o deterioro adicional, del sistema visual de vertebrado del sujeto, y para impedir o inhibir el desarrollo de la enfermedad y/o de los síntomas relacionados y de las secuelas.

20 Diferentes métodos y técnicas que el experto en la técnica médica y oftalmológica practica para determinar y evaluar un estado de enfermedad y/o para monitorizar y valorar una pauta terapéutica incluyen, por ejemplo, angiograma con fluoresceína, fotografía del fondo de ojo, rastreo del sistema circulatorio coroideo con el colorante verde de indocianina, oftalmoscopia, tomografía de coherencia óptica (TCO) y prueba de agudeza visual.

25 El angiograma con fluoresceína implica la inyección de un colorante de fluoresceína por vía intravenosa y a continuación observar cualquier fuga del colorante a medida que circula por el ojo. La inyección intravenosa del colorante verde de indocianina también se podría utilizar para determinar si los vasos del ojo están comprometidos, en particular en el sistema circulatorio coroideo que está justo por detrás de la retina. La fotografía del fondo de ojo se puede utilizar para examinar el nervio óptico, mácula, vasos sanguíneos, retina y el cuerpo vítreo. Los microaneurismas son lesiones visibles en la retinopatía diabética que se podrían detectar en las imágenes digitales del fondo de ojo al comienzo de la enfermedad (véase, p. ej. publicación de la solicitud de patente de los EE. UU. n.º 2007/0002275). Se podría utilizar un oftalmoscopio para explorar la retina y el cuerpo vítreo. La oftalmoscopia se suele realizar con las pupilas dilatadas, para permitir la mejor visión dentro del ojo. Se pueden utilizar dos tipos de oftalmoscopio: directo e indirecto. El oftalmoscopio directo se suele utilizar para observar el nervio óptico y la retina central. La periferia o toda la retina se podrían ver con un oftalmoscopio indirecto. La tomografía de coherencia óptica (TCO) produce imágenes de gran resolución, muy rápidas, no invasivas y transversales del tejido corporal. La TCO no es invasiva y proporciona la detección de los primeros signos microscópicos de la alteración en los tejidos.

30 Un sujeto o paciente se refiere a cualquier paciente o sujeto vertebrado o mamífero al cual se pueden administrar las composiciones descritas en la presente memoria. El término «vertebrado» o «mamífero» incluye humanos y primates no humanos, así como animales experimentales, tales como conejos, ratas y ratones, y otros animales, tales como animales domésticos (tales como gatos, perros, caballos), animales de granja y animales de zoológico. Los sujetos que necesitan el tratamiento que utiliza los métodos descritos en la presente memoria se pueden identificar de acuerdo con los métodos de cribado aceptados en la técnica médica que se emplean para determinar

los factores de riesgo o los síntomas asociados a una enfermedad o afección oftálmica descrita en la presente memoria, o para determinar el estado de una enfermedad o afección oftálmica ya existente en un sujeto. Estos y otros métodos convencionales permiten al médico seleccionar los pacientes que necesitan el tratamiento que usa los métodos y las formulaciones descritos en la presente memoria.

5 Composiciones farmacéuticas

En algunos casos, un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo se puede administrar como una sustancia química pura. En otros casos, el compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo se puede combinar con un vehículo farmacéuticamente aceptable o idóneo (también denominado en la presente memoria un excipiente farmacéuticamente idóneo (o aceptable), un excipiente fisiológicamente idóneo (o aceptable) o un vehículo fisiológicamente idóneo (o aceptable), seleccionado sobre la base de la vía de administración elegida y la práctica farmacéutica convencional, tal y como se describe, por ejemplo, en *Remington: The Science and Practice of Pharmacy* (Gennaro, 21.ª ed. Mack Pub. Co., Easton, PA (2005)), cuya descripción se incorpora en la presente memoria por referencia, en su totalidad.

De acuerdo con esto, en la presente memoria se da a conocer una composición farmacéutica que comprende uno o varios compuestos derivados por la unión de amina a alcoxifenilo, o un estereoisómero, profármaco, sal farmacéuticamente aceptable, hidrato, solvato, hidrato de sal de ácido, *N*-óxido o forma cristalina isomórfica del mismo, de un compuesto descrito en la presente memoria junto con uno o varios vehículos farmacéuticamente aceptables y, opcionalmente, otros ingredientes terapéuticos y/o profilácticos. El vehículo o vehículos (o excipientes) son aceptables o adecuados si el vehículo es compatible con los otros ingredientes de la composición y no es perjudicial para el destinatario (a saber, el sujeto) de la composición. Una composición farmacéuticamente aceptable o idónea incluye una composición oftalmológicamente adecuada o idónea.

Así pues, otro caso da a conocer una composición farmacéutica que comprende un excipiente farmacéuticamente aceptable y un compuesto que tiene una estructura descrita en la presente memoria:

Una composición farmacéutica (p. ej., para la administración por vía oral o para la administración mediante inyección, o dispositivos combinados, o para la aplicación como una gota ocular) podría ser en forma de un líquido o sólido. Una composición farmacéutica líquida puede incluir, por ejemplo, uno o varios de los siguientes: diluyentes estériles tales como agua para inyección, solución salina, preferiblemente solución salina fisiológica, solución de Ringer, cloruro de sodio isotónico, aceites no volátiles que pueden servir como el solvente o el medio de suspensión, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol u otros solventes; antibacterianos; antioxidantes; quelantes; tamponantes y agentes para el ajuste de la tonicidad, tal como el cloruro de sodio o la dextrosa. Una preparación parenteral puede encerrarse en ampollas, jeringuillas desechables o viales de varias dosis hechos de vidrio o plástico. La solución salina fisiológica se utiliza corrientemente como un excipiente, y una composición farmacéutica inyectable o una composición que se administra por vía ocular es preferiblemente estéril.

Al menos un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo se puede administrar a un humano u otros vertebrados no humanos. En determinados casos, el compuesto es sustancialmente puro, ya que contiene menos de aproximadamente el 5%, o menos de aproximadamente el 1%, o menos de aproximadamente el 0,1%, de otras moléculas orgánicas pequeñas, tales como intermedios contaminantes o subproductos que se crean, por ejemplo, en una o varias de las etapas de un método de síntesis. En otros casos, se puede administrar una combinación de uno o varios compuestos derivados con la amina unida a alcoxifenilo.

Un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo se puede administrar a un sujeto mediante cualquier medio adecuado que incluye, por ejemplo, la administración oral, parenteral, intraocular, intravenosa, intraperitoneal, intranasal (u otros métodos de administración a las membranas mucosas, por ejemplo, de la nariz, garganta y bronquios), o mediante administración local al ojo o mediante un dispositivo intraocular o periocular. Los modos de administración local pueden incluir, por ejemplo, colirios, inyección intraocular o inyección periocular. La inyección periocular implica típicamente la inyección del inhibidor de isomerización sintético, a saber, el compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo bajo la conjuntiva o en el espacio de Tenon (por debajo del tejido fibroso que recubre el ojo). La inyección intraocular implica típicamente la inyección del compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo en el cuerpo vítreo. En algunos casos, la administración no es invasiva, tales como mediante colirios o forma farmacéutica oral, o como un dispositivo combinado.

Un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo se puede formular para la administración mediante el uso de vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables (idóneos) así como con las técnicas utilizadas convencionalmente en la técnica. Un vehículo farmacéuticamente aceptable o idóneo incluye un vehículo oftalmológicamente aceptable o idóneo. Un vehículo se selecciona de acuerdo con la solubilidad del compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo. Las composiciones oftalmológicas adecuadas incluyen las que se administran localmente en el ojo, tales como mediante colirios, inyección o similares. En el caso de los colirios, la formulación puede también incluir opcionalmente, por ejemplo, agentes oftalmológicamente compatibles, tales como isotónicos, tales como cloruro de sodio, glicerina concentrada y similares; tamponantes, tales como fosfato de sodio, acetato de sodio y similares; tensioactivos, tales como monooleato de polioxietilensorbitano (también denominado Polysorbate 80), estereato de polioxilo 40, aceite de ricino con polioxietileno hidrogenado y similares; estabilizantes,

tales como citrato de sodio, edentato de sodio y similares; conservantes, tales como cloruro de benzalconio, parabenos y similares; y otros ingredientes. Se pueden emplear conservantes, por ejemplo, a un nivel de aproximadamente del 0,001 a aproximadamente el 1,0% en peso/volumen. El pH de la formulación está normalmente dentro del margen aceptable para las formulaciones oftalmológicas, tales como dentro del margen de aproximadamente un pH de 4 a 8.

Para la inyección, el compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo se puede dar a conocer en una solución salina de calidad para inyección, en forma de una solución de liposomas inyectable, sistema polimérico de liberación lenta o similares. Las inyecciones intraoculares y perioculares las conocen los expertos en la técnica y se describen en numerosas publicaciones, que incluyen, por ejemplo, Spaeth, Ed., *Ophthalmic Sugery. Principles of Practice*, W. B. Sanders Co., Filadelfia, Pa., 85-87, 1990.

Para la administración de una composición que comprende al menos uno de los compuestos descritos en la presente memoria por la vía mucosa, que incluye la administración a las fosas nasales, garganta y vías aéreas, la composición se podría administrar en forma de un aerosol. El compuesto podría estar en una forma líquida o de polvo para la administración intramucosa. Por ejemplo, la composición se podría administrar mediante un contenedor de aerosol presurizado con un propulsor idóneo, tal como un propulsor de tipo hidrocarburo (p. ej., propano, butano, isobuteno). La composición se podría administrar a través de un sistema de administración sin presurizar, tal como un nebulizador o atomizador.

Las formas farmacéuticas orales idóneas incluyen, por ejemplo, comprimidos, píldoras, bolsitas o cápsulas de gelatina dura o blanda, metilcelulosa o de otro material idóneo de fácil disolución en el tubo digestivo. Se pueden utilizar vehículos sólidos no tóxicos idóneos que incluyen, por ejemplo, manitol, lactosa, almidón, estereato de magnesio, sacarina de sodio, talco, celulosa, glucosa, sacarosa, carbonato de magnesio y similares, de calidad farmacéutica (véase, p. ej., *Remington: The Science and Practice of Pharmacy* (Gennaro, 21.^a ed., Mack Pub. Co., Easton, PA (2005)).

Los compuestos derivados por la unión de amina a alcoxifenilo descritos en la presente memoria se podrían formular para la liberación prolongada o para la liberación lenta. Tales composiciones se podrían preparar por lo general con la tecnología bien conocida y administrarse mediante, por ejemplo, implantación oral, periorcular, intraocular, rectal o subcutánea, o mediante la implantación en el sitio destinatario deseado. Las formulaciones de liberación prolongada podrían contener un agente dispersado en una matriz de vehículo y/o estar contenidas dentro de un reservorio rodeado por una membrana que controla la velocidad de liberación. Los excipientes para ser usados dentro de tales formulaciones son biocompatibles y también podrían ser biodegradables; preferiblemente, la formulación proporciona una cantidad relativamente constante de la liberación del componente activo. La cantidad del compuesto activo contenido dentro de una formulación de liberación prolongada depende del sitio de implantación, la velocidad y la duración esperada de la liberación, y de la naturaleza de la afección a tratar o prevenir.

La absorción sistémica de fármacos de un fármaco o composición administrado por vía ocular la conocen los expertos en la técnica (véase, p. ej., Lee et al., *Int. J. Pharm.*, 233: 1-18 (2002)). En un caso, un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo se administra mediante un método de administración tópica ocular (véase, p. ej., *Curr. Drug Metab.* 4: 213-22 (2003)). La composición podría ser en forma de un colirio, bálsamo o ungüento o similares, tales como colirios acuosos, suspensiones oftálmicas acuosas, colirios no acuosos y suspensiones oftálmicas no acuosas, geles, ungüentos oftálmicos, etc. Para preparar un gel, se puede utilizar, por ejemplo, polímero de carboxivinilo, metilcelulosa, alginato de sodio, hidroxipropilcelulosa, polímero de anhídrido maleico y etileno y similares.

La dosis de la composición que comprende al menos uno de los compuestos derivados por la unión de amina a alcoxifenilo descritos en la presente memoria podría diferir, según la afección del paciente (p. ej., humano), es decir, el estadio de la enfermedad, estado de salud general, edad y otros factores que el experto en la técnica médica utilizará para determinar la dosis. Cuando la composición se utiliza como colirio, por ejemplo, una o varias gotas por dosis unitaria, preferiblemente 1 o 2 gotas (aproximadamente 50 µl por 1 gota) se podría aplicar aproximadamente de 1 a aproximadamente 6 veces al día.

Las composiciones farmacéuticas se podrían administrar de una manera adecuada para la enfermedad a tratar (o prevenir), tal y como determinarán los expertos en la medicina. Una dosis adecuada y una duración y frecuencia de administración idóneas se determinarán por factores tales como la afección del paciente, el tipo y la gravedad de la enfermedad del paciente, la forma concreta del ingrediente activo y el método de administración. En general, una dosis y una pauta de tratamiento adecuados proporcionan la composición o composiciones en una cantidad suficiente para proporcionar el beneficio terapéutico y/o profiláctico (p. ej., una mejora del resultado clínico, tal como remisiones completas o parciales más frecuentes, o una supervivencia libre de enfermedad y/o total más larga, o una reducción de la intensidad de los síntomas). Para el uso profiláctico, debería ser suficiente una dosis para prevenir, retrasar el comienzo, o disminuir la gravedad de una enfermedad asociada a la neurodegeneración de las células neuronales retinianas y/o a la degeneración de otras células retinianas maduras, tales como las células del EPR. Las dosis óptimas se podrían determinar por lo general mediante modelos experimentales y/o ensayos clínicos. La dosis óptima podría depender de la masa corporal, el peso o la volemia del paciente.

Las dosis de los compuestos derivados por la unión de amina a alcoxifenilo se pueden seleccionar idóneamente según el cuadro clínico, afección y edad del sujeto, forma farmacéutica y similares. En el caso de los colirios, se puede administrar un compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo, por ejemplo, de aproximadamente 0,01 mg, de aproximadamente 0,1 mg o de aproximadamente 1 mg, a aproximadamente 25 mg, a aproximadamente 50 mg, a aproximadamente 90 mg, por dosis única. Se pueden administrar colirios una o varias veces al día, según se necesite. En el caso de las inyecciones, las dosis idóneas pueden ser, por ejemplo, de aproximadamente 0,0001 mg, de aproximadamente 0,01 mg o de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 10 mg, a aproximadamente 25 mg, a aproximadamente 50 mg, o a aproximadamente 90 mg, del compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo, de una a siete veces por semana. En otros casos, se pueden administrar de aproximadamente 1,0 a aproximadamente 30 mg del compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo de una a siete veces por semana.

Las dosis orales pueden típicamente oscilar de 1,0 a 1000 mg, de una a cuatro veces, o más, al día. Un margen de dosificación de ejemplo para la administración oral es de 10 a 250 mg de una a tres veces al día. Si la composición es una formulación líquida, la composición comprende al menos un compuesto activo al 0,1% a una masa o peso particular (p. ej., de 1,0 a 1000 mg) por volumen unitario del vehículo, por ejemplo, de aproximadamente el 2% a aproximadamente el 60%.

En determinados casos, al menos un compuesto con la amina unida a alcoxifenilo descrito en la presente memoria se podría administrar en las condiciones y durante un tiempo que inhibe o impide la adaptación a la oscuridad de las células fotorreceptoras de tipo bastón. En determinados casos, el compuesto se administra a un sujeto al menos 30 minutos (media hora), 60 minutos (una hora), 90 minutos (1,5 horas) o 120 minutos (2 horas) antes de dormir. En determinados casos, el compuesto se podría administrar por la noche antes de que se duerma el sujeto. En otros casos, se podría bloquear o retirar un estímulo de luz durante el día o en condiciones de luz normales al colocar al sujeto en un medio en el que se retira la luz, de tal modo que se retira el sujeto a una habitación oscura o se le aplica un antifaz sobre los ojos del sujeto. Cuando el estímulo luminoso se retira de tal manera o mediante otros medios contemplados en la técnica, el agente se podría administrar antes de dormir.

Las dosis de los compuestos que se podrían administrar para impedir o inhibir la adaptación a la oscuridad de una célula fotorreceptora de tipo bastón se pueden seleccionar idóneamente según el cuadro clínico, afección y edad del sujeto, forma farmacéutica y similares. En el caso de los colirios, se puede administrar el compuesto (o la composición que comprende el compuesto), por ejemplo, de aproximadamente 0,01 mg, de aproximadamente 0,1 mg o de aproximadamente 1 mg, a aproximadamente 25 mg, a aproximadamente 50 mg, a aproximadamente 90 mg, por dosis única. En el caso de las inyecciones, las dosis idóneas pueden ser, por ejemplo, de aproximadamente 0,0001 mg, de aproximadamente 0,001 mg, de aproximadamente 0,01 mg, o de aproximadamente 0,1 mg, a aproximadamente 10 mg, a aproximadamente 25 mg, a aproximadamente 50 mg, o a aproximadamente 90 mg, del compuesto, administradas cualquier número de días entre uno y siete días a la semana antes de dormir o antes de retirar al sujeto de todas las fuentes de luz. En otros casos, para la administración del compuesto mediante colirios o inyección, la dosis está entre 1 y 10 mg (compuesto)/kg (masa corporal del sujeto) (a saber, por ejemplo, de 80 a 800 mg totales por dosis para un sujeto que pesa 80 kg). En otros casos, se pueden administrar aproximadamente de 1,0 a aproximadamente 30 mg del compuesto derivado por la unión de amina a alcoxifenilo de una a siete veces por semana. Las dosis orales pueden oscilar típicamente de aproximadamente 1,0 a aproximadamente 1000 mg, administradas cualquier número de días entre uno a siete días a la semana. Un margen de dosificación de ejemplo para la administración oral es de aproximadamente 10 a aproximadamente 800 mg una vez al día antes de dormir. En otros casos, la composición se podría administrar por vía intravítrea.

También se dan a conocer métodos para fabricar los compuestos y las composiciones farmacéuticas descritos en la presente memoria. Una composición que comprende un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable y al menos uno de los compuestos derivados por la unión de amina a alcoxifenilo descritos en la presente memoria se podrían preparar al sintetizar el compuesto de acuerdo con cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria o que se practican en la técnica, y a continuación formular el compuesto con un vehículo farmacéuticamente aceptable. La formulación de la composición será adecuada y dependerá de varios factores, entre ellos, pero sin limitarse a ellos, vía de administración, dosis y estabilidad del compuesto.

Otros casos y usos serán evidentes para el experto en la técnica a la luz de las presentes descripciones. Los siguientes ejemplos se dan a conocer simplemente para ilustrar los diferentes casos y no se debe interpretar que limitan la invención de ninguna manera.

Ejemplos

A menos que se mencione de otra manera, los reactantes y solventes se utilizaron tal cual se recibieron de los proveedores comerciales. Se utilizaron los solventes en estado anhidro para las transformaciones sintéticas que se suelen considerar sensibles a la humedad. La cromatografía rápida en columna y la cromatografía en capa fina (TLC, por su nombre en inglés) se realizaron en un gel de sílice a menos que se indique otra cosa. La cromatografía rápida en columna en gradiente se realizó en un instrumento Biotage. Los espectros de resonancia magnética nuclear de protones y carbonos se obtuvieron en un espectrómetro Varian 400/54 a 400 MHz para los protones y a 125 MHz para los carbonos, como se indica. Los espectros se dan en ppm (δ) y las constantes de acoplamiento, J,

se describen en hercios (Hz). El solvente protonado residual se utilizó como el pico de referencia para los espectros de protones y carbonos.

Los análisis de RP HPLC se obtuvieron con una columna Gemini C18 (150 × 4,6 mm, 5μ, Phenomenex) con la detección a 220 nm y el uso de un programa estándar de gradiente de solventes.

5 Método 1

Tiempo (min)	Flujo (ml/min)	% de A	% de B
0,0	1,0	70,0	30,0
6,0	1,0	20,0	80,0
9,0	1,0	5,0	95,0
11,0	1,0	70,0	30,0
15,0	1,0	30,0	30,0

A = Agua con ácido trifluoroacético al 0,05%
 B = Acetonitrilo con ácido trifluoroacético al 0,05%

Método 2

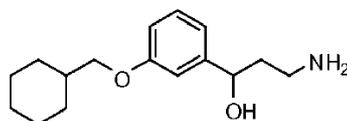
Tiempo (min)	Flujo (ml/min)	% de A	% de B
0,0	1,0	70,0	30,0
14,2	1,0	20,0	80,0
17,0	1,0	5,0	95,0
20,0	1,0	70,0	30,0
24,0	1,0	30,0	30,0

A = Agua con ácido trifluoroacético al 0,05%
 B = Acetonitrilo con ácido trifluoroacético al 0,05%

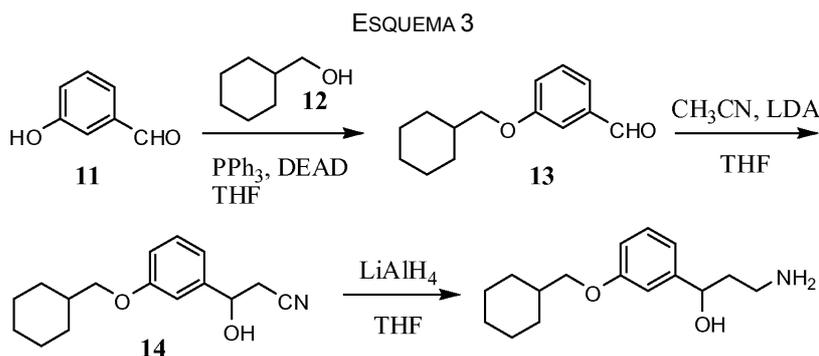
10 Los análisis por HPLC quirales se obtuvieron con una columna Chiralpak IA (4,6 mm x 250 mm, 5μ) con una detección con matriz de yoduros. El eluyente utilizado era heptanos al 95%, EtOH al 5%:ácido etanosulfónico al 0,1%. La velocidad de flujo era de 1 ml/min; la temperatura de la columna era de 25 °C.

Ejemplo 1

Preparación del 3-amino-1-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)propán-1-ol



15 Se preparó el 3-amino-1-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)propán-1-ol siguiendo el método mostrado en el esquema 3:



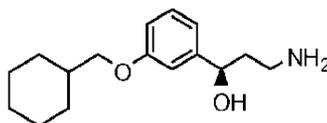
Etapa 1: El acoplamiento del 3-hidroxibenzaldehído (11) (2,3 g, 18,9 mmol) al ciclohexilmetanol (12) (2,1 g, 18,9 mmol) se realizó siguiendo el procedimiento dado para el ejemplo 2, salvo que la adición de azodicarboxilato de dietilo se realizó a 0 °C y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida y el residuo se trituró con éter dietílico (100 ml). El precipitado blanco resultante se retiró por filtración. Se repitió la trituración y la filtración. El filtrado se volvió a filtrar a través de sílice (con el eluyente al 10% de EtOAc-hexanos) y se concentró a presión reducida para dar un aceite amarillo pálido. La purificación por cromatografía rápida (gradiente del 0 al 20% de EtOAc-hexanos) seguida por una TLC preparativa (25% de EtOAc-hexanos) de las fracciones impuras dio el éter 13 como un aceite amarillo pálido. Rendimiento (1,6 g, 39%): ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,95 (s, 1H), 7,45-7,5 (m, 2H), 7,38-7,39 (m, 1H), 7,22-7,25 (m, 1H), 3,82 (d, *J* = 6,4 Hz, 2H), 1,74-1,81 (m, 2H), 1,58-1,73 (m, 4H), 1,10-1,28 (m, 3H), 0,98-1,08 (m, 2H).

Etapa 2: A una solución a -78 °C de acetonitrilo (0,578 ml, 10,99 mmol) en THF anhidro (20 ml) en argón se le añadió gota a gota una solución de LDA (5,85 ml de una solución a 2 M en THF, 11,73 mmol). La mezcla resultante se agitó a -78 °C durante 1 h. Se le añadió gota a gota una solución de aldehído 13 (1,6 g, 7,3 mmol) en THF (20 ml). La mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente durante 30 min. La reacción se paró con agua (50 ml) y la mezcla se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. La purificación por cromatografía rápida (gradiente del 20 al 60% de EtOAc-hexanos) dio el alcohol 14 como un aceite amarillo. Rendimiento (1,3 g, 68%): ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,27-7,31 (m, 1H), 6,92-6,95 (m, 2H), 6,85-6,88 (m, 1H), 5,00 (t, *J* = 6,4 Hz, 1H), 3,76 (d, *J* = 6,4 Hz, 2H), 2,77 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H), 2,75 (s, 1H), 1,82-1,89 (m, 2H), 1,68-1,82 (m, 4H), 1,14-1,36 (m, 4H), 1,01-1,10 (m, 2H).

Etapa 3: A una solución enfriada en hielo del nitrilo 14 (1,3 g, 5 mmol) en THF seco (20 ml) en argón se le añadió gota a gota LiAlH₄ (5 ml de una solución a 2 M en THF, 10 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 30 min. La reacción se paró mediante la adición de Na₂SO₄ acuoso saturado hasta que cesó la evolución a gas. La mezcla se filtró por Celite y la Celite se enjuagó con THF. La solución se concentró a presión reducida. La purificación por cromatografía rápida (de 5 al 10% de NH₃ a 7 M en MeOH-EtOAc) dio el ejemplo 4 como un aceite incoloro. Rendimiento (0,705 g, 53%): ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,22 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,95 (t, *J* = 1,6 Hz, 1H), 6,90 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 6,77 (ddd, *J* = 8,0, 2,4, 0,8 Hz, 1H), 4,90 (dd, *J* = 8,8, 3,2 Hz, 1H), 3,75 (d, *J* = 6,4 Hz, 2H), 3,12 (s ancho, 2H), 3,06 (ddd, *J* = 12,4, 6,0, 4,0 Hz, 1H), 2,90-2,96 (m, 1H), 1,82-1,89 (m, 3H), 1,67-1,81 (m, 6H), 1,15-1,34 (m, 3H), 0,99-1,09 (m, 2H).

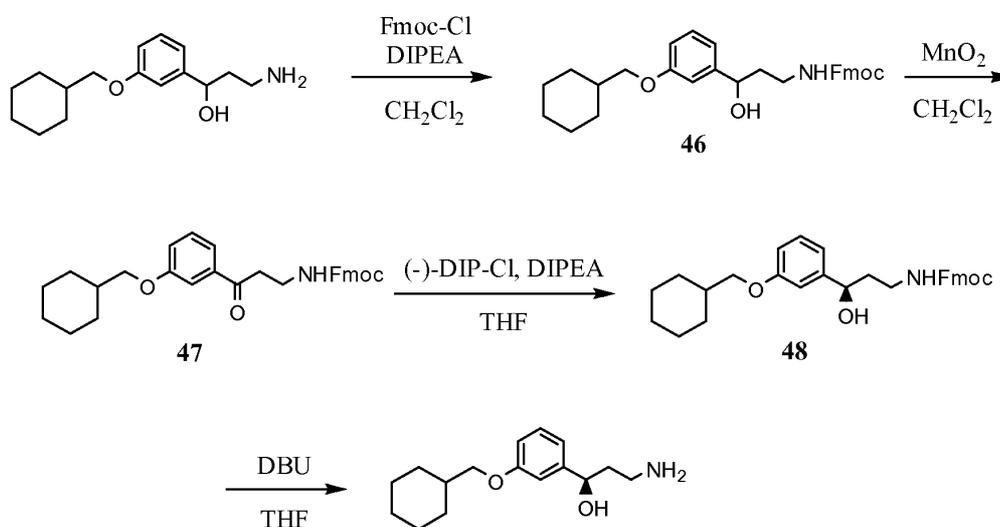
Ejemplo 2

Preparación del (*R*)-3-amino-1-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)propán-1-ol



Se preparó el (*R*)-3-amino-1-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)propán-1-ol siguiendo el método mostrado en el esquema 14:

ESQUEMA 14



Etapa 1: A una solución de 3-amino-1-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)propán-1-ol (3,76 g, 14,3 mmol) en CH₂Cl₂ (40 ml) se le añadió diisopropiletilamina (3,0 ml, 17,2 mmol) y una solución de cloruro de 9-fluorenilmetoxicarbonilo (4,09 g, 15,8 mmol) en CH₂Cl₂ (5 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 30 min y se concentró a continuación a presión reducida. La purificación por cromatografía rápida (gradiente del 20 al 70% de EtOAc-hexanos) dio el alcohol 46 como un aceite amarillo. Rendimiento (5,02 g, 72%): ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,90 (d, *J* = 10,0 Hz, 2H), 7,70 (d, *J* = 10,0 Hz, 2H), 7,42 (t, *J* = 9,6 Hz, 1H), 7,18-7,36 (m, 4H), 6,75-6,89 (m, 3H), 5,21 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H), 4,53 (q, *J* = 6,4 Hz, 1H), 4,20-4,32 (m, 3H), 3,74 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 3,06 (q, *J* = 9,2 Hz, 2H), 1,69-1,82 (m, 8H), 0,98-1,30 (m, 6H).

Etapa 2: A una solución del alcohol 46 en CH₂Cl₂ (50 ml) se le añadió MnO₂ (18,2 g, 209 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Se le añadieron más MnO₂ (5,02 g, 57,8 mmol) y CH₂Cl₂ (40 ml) y se continuó la agitación durante 64 h. Se retiraron los sólidos de la mezcla mediante filtración y el filtrado se concentró a presión reducida. La purificación por cromatografía rápida (gradiente del 10 al 50% de EtOAc-hexanos) dio la cetona 47 como un aceite amarillo. Rendimiento (3,49 g, 70%): ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,85 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H), 7,64 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H), 7,49 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,36-7,41 (m, 3H), 7,26-31 (m, 3H), 7,15-7,20 (m, 1H), 4,26 (d, *J* = 6,8 Hz, 2H), 4,14-4,18 (m, 1H), 3,79 (q, *J* = 6,0 Hz, 2H), 3,26-3,34 (m, 2H), 3,14 (t, *J* = 6,4 Hz, 2H), 1,60-1,84 (m, 6H), 0,91-1,26 (m, 6H).

Etapa 3: Preparación de la solución de (-)-*B*-clorodiisopinocanfeilborano ((-)-DIP-Cl): A una solución enfriada en hielo de (-)- α -pineno (7,42 g, 54,56 mmol) en hexanos (5 ml) en argón se le añadió el complejo de cloroborano-sulfuro de metilo (2,55 ml, 24,46 mmol) durante 1,5 min. La mezcla se agitó durante 2,5 min y a continuación se dejó calentar durante 3 min. La mezcla de reacción se calentó a 30 °C durante 2,5 h. La solución resultante estaba aproximadamente a 1,5 M.

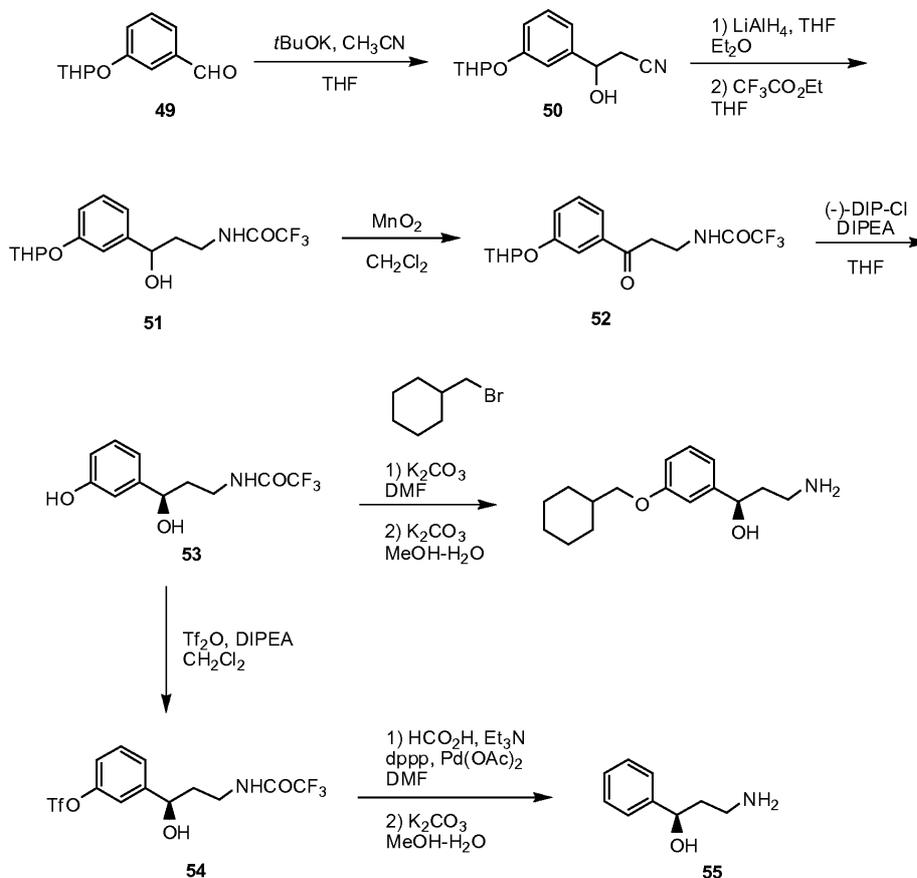
A una solución a -25 °C de la cetona 47 (1,23 g, 2,53 mmol) y etilamina de diisopropilo (0,110 ml, 0,63 mmol) en THF (10 ml) se le añadió una solución de (-)-DIP-Cl (3,0 ml de la solución de 1,5 M preparada más arriba, 4,5 mmol). Se dejó calentar la mezcla de reacción a 0 °C durante 11 min y a continuación a temperatura ambiente durante 45 min. Se agitó a temperatura ambiente durante 2 h y a continuación se repartió entre EtOAc y NaHCO₃ acuoso saturado. La combinación de las capas orgánicas se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄ y se concentró a presión reducida. La purificación por cromatografía rápida (gradiente del 10 al 70% de EtOAc-hexanos) dio el alcohol 48. Rendimiento (0,896 g, 73%).

Etapa 4: A una solución del alcohol 48 (0,896 g, 1,85 mmol) en THF (10 ml) se le añadió 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (0,31 ml, 2,07 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min y a continuación se concentró a presión reducida. Purificación por cromatografía rápida (gradiente de 50:10:40 a 0:20:80 hexanos:NH₃ a 7 M en MeOH:EtOAc) dio el ejemplo 21 como un aceite. Rendimiento (0,280 g, 58%): Los datos de la ¹H RMN concordaban con los del ejemplo 1. HPLC quiral, enantiómero mayor al 96,9% (ABC), *t_R* = 29,485 min (enantiómero menor: 3,1%, *t_R* = 37,007 min). [α]_D = +19,66 (26,7 °C, *c* = 1,125 g/100 ml en EtOH).

Determinación de la estereoquímica absoluta

La estereoquímica absoluta del ejemplo 2 se determinó mediante el método mostrado en el esquema 15, donde el ejemplo 2 y el (*R*)-3-amino-1-fenilpropán-1-ol se sintetizaron a partir de un intermedio común (el fenol 53). La rotación óptica del (*R*)-3-amino-1-fenilpropán-1-ol se emparejó con el valor descrito en la bibliografía (Mitchell, D.; Koenig, T. M. *Synthetic Communications*, 1995, 25(8), 1231-1238).

ESQUEMA 15



Etapa 1: A una solución a -50°C de *tert*-butóxido de potasio (26 ml de una solución a 1,0 M en THF, 26 mmol) en THF (10 ml) se le añadió acetonitrilo (1,25 ml, 23,75 mmol) durante 5 min y a continuación la mezcla se agitó durante 45 min. Se le añadió una solución del aldehído 49 (4,11 g, 19,93 mmol) en THF (10 ml) durante 3-5 min. La reacción se agitó a -50°C durante 10 min, a continuación se dejó calentar a 0°C y se agitó durante 25 min. Se le añadió una solución acuosa de NH_4Cl al 30% (30 ml) y la mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente. La mezcla se extrajo con MTBE y las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua y salmuera, se secaron sobre MgSO_4 y se concentraron a presión reducida. La purificación por cromatografía rápida (gradiente del 10 al 70% de EtOAc-hexanos) dio el nitrilo 50 como un aceite. Rendimiento (2,78 g, 57%): $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, DMSO-d_6) δ 7,21-7,25 (m, 1H), 7,04 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 6,99 (t, $J = 6,4$ Hz, 1H), 6,91 (dd, $J = 8,4$, 2,0 Hz, 1H), 5,90 (dd, $J = 4,4$, 2,0 Hz, 1H), 5,43 (t, $J = 2,8$ Hz, 1H), 4,82 (q, $J = 5,2$ Hz, 1H), 3,74 (t, $J = 9,2$ Hz, 1H), 3,49-3,53 (m, 1H), 2,73-2,88 (m, 2H), 1,49-1,88 (m, 6H).

Etapa 2: A una solución enfriada en hielo del nitrilo 50 (2,78 g, 11,25 mmol) en éter dietílico (50 ml) se le añadió una solución de LiAlH_4 (10 ml de 2,0 M en THF, 20 mmol) y la reacción se agitó durante 10 min. La mezcla de reacción se paró con la adición lenta de Na_2SO_4 acuoso saturado y se agitó a continuación a 0°C hasta que se formó el precipitado blanco (~ 40 min). La solución se secó sobre MgSO_4 y se concentró a presión reducida para dar el 3-amino-1-(3-(tetrahydro-2*H*-pirán-2-iloxi)fenil)propán-1-ol como un aceite. Este material se usó en la siguiente etapa sintética sin purificación. Rendimiento (2,87 g, cuant.).

A una solución de 3-amino-1-(3-(tetrahydro-2*H*-pirán-2-iloxi)fenil)propán-1-ol (2,87 g, $\sim 11,25$ mmol) en THF (20 ml) se le añadió trifluoroacetato de etilo (2,7 ml, 22,6 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 50 min y a continuación se concentró a presión reducida. La purificación por cromatografía rápida (gradiente del 10 al 50% de EtOAc-hexanos) dio la trifluoroacetamida 51 como un aceite. Rendimiento (3,05 g, 78% para las dos etapas): $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9,32 (s ancho, 1H), 7,18-7,22 (m, 1H), 6,96 (t, $J = 6,4$ Hz, 1H), 6,91 (dd, $J = 7,6$, 3,6 Hz, 1H), 6,84 (dd, $J = 8,4$, 2,0 Hz, 1H), 5,41 (d, $J = 2,8$ Hz, 1H), 5,29 (dd, $J = 4,4$, 2,0 Hz, 1H), 4,48-4,56 (m, 1H), 3,71-3,77 (m, 1H), 3,49-3,54 (m, 1H), 3,22 (q, $J = 5,2$ Hz, 2H), 1,48-1,87 (m, 8H).

Etapa 3: A una solución de la trifluoroacetamida 51 (3,05 g, 8,78 mmol) en CH_2Cl_2 (50 ml) se le añadió MnO_2 (20,18 g, 232 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 67 h. Los sólidos se retiraron por filtración y el filtrado se concentró a presión reducida para dar la cetona 52 como un aceite. Este material se usó en la siguiente etapa sintética sin purificación. Rendimiento (2,4737 g, 82%): $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9,40 (s ancho, 1H),

7,53-7,58 (m, 2H), 7,43 (t, $J = 6,4$ Hz, 1H), 7,26-7,29 (m, 1H), 5,54 (t, $J = 3,64$ Hz, 1H), 3,69-3,74 (m, 1H), 3,28-3,56 (m, 3H), 3,27 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H), 1,50-1,87 (m, 6H).

5 Etapa 4: A una solución enfriada en hielo de la cetona 52 (1,95 g, 5,65 mmol) en THF (12 ml) se le añadió diisopropiletilamina (0,25 ml, 1,44 mmol) y (-)-DIP-Cl (preparación descrita más arriba; 6,0 ml de una solución a 1,67 M en hexanos, 10,2 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 2 h y a continuación se le añadió más (-)-DIP-Cl (2,0 ml, 3,3 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 15 min y a continuación se le añadió más (-)-DIP-Cl (2,0 ml, 3,3 mmol). Después de la agitación durante otra hora, se le añadió más (-)-DIP-Cl (1,0 ml, 1,7 mmol) y la agitación se continuó durante 15 min. La mezcla de reacción se vertió en NaHCO₃ acuoso saturado y se extrajo con EtOAc. Se lavó la combinación de las capas orgánicas con NaHCO₃ acuoso saturado y salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, y se concentró a presión reducida. La purificación dos veces por cromatografía rápida (gradiente del 10 al 100% de EtOAc-hexanos; gradiente del 30 al 80% de EtOAc-hexanos) dio el fenol 53 como un aceite. Rendimiento (1,23 g, 83%): ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,43 (s ancho, 1H), 7,22 (t, $J = 6,4$ Hz, 1H), 6,82-6,87 (m, 2H), 6,76 (dd, $J = 8,0, 3,6$ Hz, 1H), 5,49 (s, 1H), 4,79-4,83 (m, 1H), 3,59-3,66 (m, 1H), 3,37-3,44 (m, 1H), 2,48 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H), 1,92-1,99 (m, 2H).

15 Etapa 5: A una solución de fenol 53 (0,2004 g, 0,76 mmol) en DMF (5 ml) se le añadió K₂CO₃ (0,1278 g, 0,93 mmol) y (bromometil)ciclohexano (0,1547 g, 0,87 mmol). La mezcla se agitó a 50 °C durante 25 min y a continuación a 60 °C durante 4 h y 20 min. Después de enfriarla a temperatura ambiente, la mezcla se concentró a presión reducida. La purificación por cromatografía rápida (gradiente del 10 al 50% de EtOAc-hexanos) dio la (*R*)-*N*-(3-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)-3-hidroxiopropil)-2,2,2-trifluoroacetamida como un aceite. Rendimiento (0,0683 g, 25%): ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,47 (s ancho, 1H), 7,24 (t, $J = 6,4$ Hz, 1H), 6,79-6,87 (m, 3H), 4,80-4,81 (m, 1H), 3,73 (d, $J = 6,4$ Hz, 2H), 3,57-3,64 (m, 1H), 3,34-3,40 (m, 1H), 2,63 (s, 1H), 1,68-2,01 (m, 8H), 1,17-1,34 (m, 3H), 0,99-1,09 (m, 2H).

25 Etapa 6: A una solución de la (*R*)-*N*-(3-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)-3-hidroxiopropil)-2,2,2-trifluoroacetamida (0,0683 g, 0,19 mmol) en MeOH-H₂O (2:1, 6 ml) se le añadió K₂CO₃ (1,22 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 10 min. A continuación, la reacción se calentó a 50 °C durante 1 h. Después de enfriarla a temperatura ambiente, la mezcla se concentró a presión reducida. Purificación por cromatografía rápida (gradiente de 50:10:40 a 0:20:80 hexanos:NH₃ a 7 M en MeOH:EtOAc) dio el ejemplo 2 como un aceite. Rendimiento (0,0353 g, 71%): la ¹H RMN concordaba con la del ejemplo 1. [α]_D = +17,15 (23,8 °C, $c = 1,765$ g/100 ml en EtOH).

Preparación del (*R*)-3-amino-1-fenilpropán-1-ol a partir del fenol 53:

30 Etapa 1: A una solución enfriada en hielo del fenol 53 (0,3506 g, 1,33 mmol) en CH₂Cl₂ (10 ml) se le añadió diisopropiletilamina (0,7 ml, 4,0 mmol) y una solución de anhídrido trifluorometanosulfónico (0,23 ml, 1,37 mmol) en CH₂Cl₂ (0,75 ml). La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 1,5 h. La mezcla se repartió entre CH₂Cl₂ y agua, y la combinación de las capas orgánicas se lavó con agua y salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró a través de Celite y el filtrado se concentró a presión reducida. La purificación por cromatografía rápida (gradiente del 10 al 80% de EtOAc-hexanos) dio el triflato 54 como un aceite. Rendimiento (0,4423 g, 84%).

40 Etapa 2: A una solución del triflato 54 (0,4380 g, 1,1 mmol) en DMF (6 ml) se le añadió trietilamina (0,8 ml, 5,7 mmol), a continuación ácido fórmico (0,17 ml, 4,4 mmol) lentamente, y la mezcla se agitó durante 3 min. Se le añadieron 1,3-bis(difenilfosfino)propano (dppp, 0,0319 g, 0,077 mmol) y acetato de paladio (0,0185 g, 0,082 mmol) y se desgasificó la mezcla tres veces (ciclo de vacío/argón). La reacción se calentó a 60 °C durante 2 h y 20 min, y a continuación se concentró a presión reducida. La purificación por cromatografía rápida (gradiente del 10 al 70% de EtOAc-hexanos) dio la (*R*)-2,2,2-trifluoro-*N*-(3-hidroxi-3-fenilpropil)acetamida como un aceite. Rendimiento (0,2348 g, 86%): ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 9,33 (s ancho, 1H), 7,51 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H), 7,44 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,39 (s, 1H), 7,33 (ddd, $J = 8,4, 2,8, 0,8$ Hz, 1H), 5,59 (d, $J = 4,8$ Hz, 1H), 4,66 (dt, $J = 8,0, 4,4$ Hz, 1H), 3,19-3,28 (m, 2H), 1,71-1,86 (m, 2H).

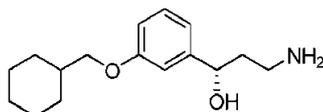
45 La (*R*)-2,2,2-trifluoro-*N*-(3-hidroxi-3-fenilpropil)acetamida se desprotegió de acuerdo con el método para la síntesis del ejemplo 28, esquema 15. Purificación por cromatografía rápida (gradiente de 50:10:40 a 0:20:80 hexanos:NH₃ a 7 M en MeOH:EtOAc) dio el (*R*)-3-amino-1-fenilpropán-1-ol como un aceite. Rendimiento (0,1035 g, 72%): ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,31-7,38 (m, 4H), 7,21-7,25 (m, 1H), 4,94 (dd, $J = 8,8, 3,2$ Hz, 1H), 3,05-3,10 (m, 1H), 2,91-2,97 (m, 1H), 2,62 (s ancho, 3H), 1,82-1,89 (m, 1H), 1,70-1,79 (m, 1H).

50 Como alternativa, se preparó el (*R*)-3-amino-1-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)propán-1-ol mediante el siguiente procedimiento. El complejo borano-sulfuro de metilo (2,80 l, 31,3 mol) se cargó a una solución de 3-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)-3-hidroxiopropanonitrilo (6,20 kg, 23,9 mol) en THF (17,9 l) mientras se mantenía la temperatura por debajo de 67 °C y se dejó retirar por destilación el sulfuro de metilo/THF. Una vez que se completó la adición, se continuó con la destilación de sulfuro de metilo/THF hasta que se recogieron aproximadamente 6 l. El volumen retirado se reemplazó con la carga de 6 l más de THF. La mezcla de reacción se calentó a reflujo (66 a 68 °C) hasta que la reacción se encontró que era completa por HPLC (normalmente unas 2 h). La mezcla de reacción se enfrió a ~15 °C y se paró la reacción con la adición de 8,1 l de ácido clorhídrico a 3 N, mientras que se mantenía la temperatura por debajo de 50 °C. La mezcla resultante se dejó enfriar a temperatura ambiente, mientras que se agitaba durante 18 a 24 h. El pH de la mezcla de reacción se ajustó a 12 por la adición de ~2,1 l de hidróxido de

sodio acuoso al 50% en porciones, se diluyó con 9 l de agua y se extrajo con 25 l de MTBE. La solución orgánica se lavó con 20 l de hidróxido de sodio acuoso a 1 N, 20 l de cloruro de sodio acuoso al 5%, y 10 l de cloruro de sodio acuoso al 25%. La solución de MTBE se secó sobre 1 kg de sulfato de sodio anhidro y se filtró para retirar el agente de secado. Se utilizaron 6 l más de MTBE para ayudar a la filtración. El ácido (*R*)-mandélico (3,60 kg, 23,7 mol) se añadió a los filtrados combinados y esta mezcla se calentó a ~50 °C. Una vez que se observó una solución homogénea transparente, se dejó enfriar la mezcla. Se añadieron cristales nucleadores (6,0 g) a 40 °C. La mezcla se enfrió adicionalmente a 10 °C, el producto se recogió por filtración y se lavó con dos porciones de 3 l de MTBE. El producto se secó en un horno al vacío a 30 o 35 °C para producir 3,60 kg (36,4%) de mandelato de (*R*)-3-amino-1-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)propán-1-ol como un sólido cristalino blanco. Se disolvió el mandelato de (*R*)-3-amino-1-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)propán-1-ol (3,60 kg) en 25,2 l de agua/2-propanol (9:1) por calentamiento a 55 a 60 °C. La solución se enfrió lentamente y se inoculó con 5,5 g de cristales para nucleación a 50 a 52 °C. Esta mezcla se enfrió a 10 °C, el producto se recogió por filtración y se lavó con dos porciones de 3,6 l de agua/2-propanol (9:1). El sólido cristalino blanco se secó en un horno al vacío a 30 a 35 °C para dar 3,40 kg (91,6%) del mandelato de (*R*)-3-amino-1-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)propán-1-ol. Una solución del mandelato de (*R*)-3-amino-1-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)propán-1-ol (3,25 kg, 7,82 mol) en 17 l de acetato de isopropilo (iPrOAc) se extrajo dos veces con hidróxido de sodio acuoso a 1 N (17 l y 8,5 l) seguido por cloruro de sodio acuoso al 25% (8,5 l) y se secó sobre 300 g de sulfato de sodio anhidro. Esta solución se filtró para retirar el agente de secado y se refinó por filtración a través de un filtro secundario de 0,45 µm. Se utilizó más iPrOAc (6,0 l) para ayudar en la filtración. La combinación de los filtrados se calentó a 40 °C y se le añadió cloruro de hidrógeno en 2-propanol (4,52 M, 2,10 l, 9,49 mol) mientras que se mantenía la temperatura entre 40 y 50 °C. Se le añadieron 11 l más de iPrOAc y la mezcla se enfrió a 0 a 5 °C. El producto se recogió por filtración, se lavó con dos porciones de 1,7 l de iPrOAc y se secó en un horno de vacío (35 a 45 °C) para producir 2,10 kg (89,4%) del hidrocloreto de (*R*)-3-amino-1-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)propán-1-ol.

Ejemplo 3

Preparación del (*S*)-3-amino-1-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)propán-1-ol



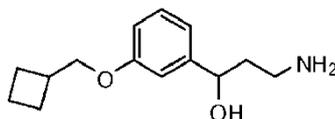
Se preparó el (*S*)-3-amino-1-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)propán-1-ol siguiendo el método utilizado en el ejemplo 2.

Etapa 1: La cetona 47 se redujo con (+)-*B*-clorodiisopinocanfeilborano tal y como se describió para el ejemplo 28 para dar el 3-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)-3-hidroxiopropilcarbamato de (*S*)-(9*H*-fluorén-9-il)metilo. Rendimiento (1,33 g, 98%).

Etapa 2: El grupo protector Fmoc se retiró del 3-(3-(ciclohexilmetoxi)fenil)-3-hidroxiopropilcarbamato de (*S*)-(9*H*-fluorén-9-il)metilo siguiendo el método utilizado en el ejemplo 28 para dar el ejemplo 29 como un aceite. Rendimiento (0,397 g, 55%). Los datos de la ¹H RMN concordaban con los del ejemplo 4. HPLC quiral, enantiómero mayor al 96,6% (ABC), *t_R* = 36,289 min (enantiómero menor: 3,4%, *t_R* = 29,036 min). [α]_D = -21,05 (26,4 °C, c = 1,18 g/100 ml en EtOH).

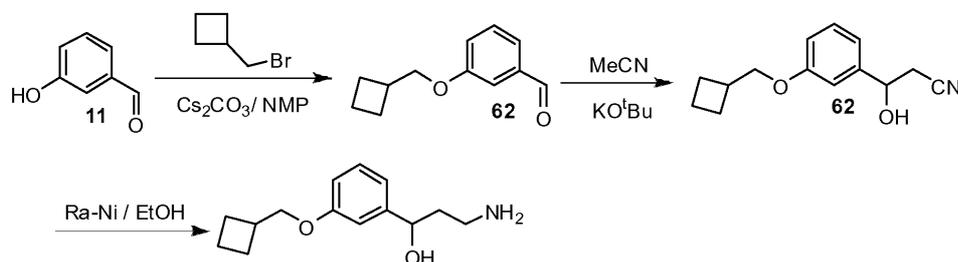
Ejemplo 4

Preparación del 3-amino-1-(3-(ciclobutilmetoxi)fenil)propán-1-ol



Se preparó el 3-amino-1-(3-(ciclobutilmetoxi)fenil)propán-1-ol siguiendo el método mostrado en el esquema 18.

ESQUEMA 18



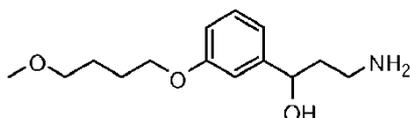
Etapa 1: Se calentó a 60 °C durante una noche una mezcla de 3-hidroxibenzaldehído (11) (1,5 g, 12,2 mmol), bromuro de ciclobutilmetilo (2,19 g, 14,7 mmol) y carbonato de cesio (5,98 g, 18,4 mmol) en NMP (15 ml). La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y a continuación se vertió en agua enfriada con hielo. Esta mezcla se extrajo con EtOAc y la capa orgánica se lavó con agua, a continuación con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a presión reducida. La purificación por cromatografía rápida (gradiente del 0 al 10% de EtOAc-hexanos) dio el éter 61 como un aceite transparente. Rendimiento (1,7 g, 49%): ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 9,97 (s, 1H), 7,43-7,46 (m, 2H), 7,38-7,46 (m, 2H), 7,39 (d, J = 2,0, 1H), 7,16-7,20 (m, 1H), 3,99 (d, J = 6,8, 2H), 2,72-2,83 (m, 1H), 2,12-2,20 (m, 1H), 1,83-2,02 (m, 5H).

Etapa 2: A una suspensión agitada de *t*-BuOK (1,308 g, 10 mmol) en THF (10 ml), enfriada a -50 °C, se le añadió acetonitrilo (0,51 ml, 9,8 mmol), gota a gota durante un periodo de 5 min. La mezcla resultante se agitó a -50 °C durante 30 min tras lo cual se le añadió lentamente una solución de 61 (1,7 g, mmol) en THF (10 ml) durante un periodo de 10 min. A continuación, se dejó calentar a 0 °C y se agitó durante otras 3 horas, durante las cuales se halló que la reacción se había completado. La reacción se paró mediante la adición lenta de agua helada y la mezcla se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua, salmuera y se secaron sobre Na₂SO₄. La solución se concentró a presión reducida. La purificación por cromatografía rápida (gradiente del 0 al 20% de EtOAc-hexanos) dio el nitrilo 62. Rendimiento (1,07 g, 52%): ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,27-7,32 (m, 1H), 6,93-6,97 (m, 2H), 6,86-6,90 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 5,01 (m, 1H), 3,94 (d, J = 11,6 Hz, 2H), 2,70-2,82 (m, 3H), 2,30-2,33 (m, 1H), 2,10-2,20 (m, 2H), 1,80-2,00 (m, 4H).

Etapa 3: A una solución del nitrilo 61 (1,07 g, 4,6 mmol) en EtOH (10 ml) se le añadió NH₄OH concentrado (1 ml) seguido de la adición de Raney-Ni recién preparado (100 mg). La mezcla resultante se agitó a 40 °C durante 4 h en un globo de hidrógeno. La mezcla se filtró a través de Celite y se lavó con EtOAc. El filtrado combinado se concentró a presión reducida. La purificación por cromatografía rápida (gradiente del 0 al 15% de (9:1 MeOH-NH₃)-DCM) dio el ejemplo 4 como un aceite transparente. Rendimiento (0,4 g, 38%): ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,19 (t, J = 7,6 Hz, 1H), 6,85-6,90 (m, 2H), 6,75 (dd, J = 5,6, 4,0 Hz, 1H), 4,60 (t, J = 6,4 Hz, 1H), 3,91 (d, J = 6,8 Hz, 2H), 2,58-2,65 (m, 3H), 2,03-2,10 (m, 2H), 1,79-1,95 (m, 4H), 1,58-1,65 (m, 2H). ¹³C RMN (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 158,6, 148,3, 128,9, 117,8, 112,4, 111,7, 71,3, 71,2, 42,2, 34,0, 24,4, 18,1. MS: 236 [M+1]⁺.

Ejemplo 5

Preparación del 3-amino-1-(3-(4-metoxibutoxi)fenil)propán-1-ol



Se preparó el 3-amino-1-(3-(4-metoxibutoxi)fenil)propán-1-ol siguiendo el método descrito en el ejemplo 4.

Ejemplos biológicos

Ejemplo 6

Ensayo *in vitro* de inhibición de la isomerasa

Se determinó la capacidad que tienen los compuestos descritos en la presente memoria para inhibir la actividad de una isomerasa del ciclo visual.

Las reacciones de inhibición de la isomerasa se realizaron esencialmente tal y como está descrito (Stecher et al., *J. Biol. Chem.* 274: 8577-85 (1999); véase también, Golczak et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 8162-67 (2005)). Las membranas de microsomas del epitelio pigmentario de la retina (EPR) bovino fueron la fuente de una isomerasa del ciclo visual.

Preparación de membranas de microsomas del EPR

Los extractos de membranas de microsomas del EPR bovino se prepararon de acuerdo con los métodos descritos (Golczak et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 8162-67 (2005)) y se conservaron a -80° C. Los extractos de microsomas brutos del EPR se descongelaron en un baño María a 37 °C y a continuación se colocaron inmediatamente en hielo. Se colocaron 50 ml de los microsomas brutos del EPR en un homogeneizador de vidrio de Teflon de 50 ml (Fisher Scientific, n.º de catálogo 0841416M) en hielo, conectado a un taladro manual DeWalt, y se homogeneizaron diez veces arriba y abajo en hielo a la velocidad máxima. Este proceso se repitió hasta que se homogeneizó la solución de microsomas brutos del EPR. A continuación, el homogeneizado se sometió a centrifugación (rotor 50.2 Ti (Beckman, Fullerton, CA), 13.000 rpm; 15.360 Rcf) durante 15 minutos a 4 °C. El sobrenadante se recogió y se sometió a centrifugación a 42.000 rpm (160.000 Rcf; rotor 50.2 Ti) durante 1 hora a 4 °C. Se retiró el sobrenadante y los sedimentos se suspendieron en 12 ml (volumen final) de tampón frío con MOPS a 10 mM, pH 7,0. Las membranas del EPR resuspendidas en alícuotas de 5 ml se homogeneizaron en un homogeneizador de vidrio contra vidrio (Fisher Scientific, n.º de catálogo K885500-0021) hasta una homogeneidad

alta. La concentración de proteínas se cuantificó con el ensayo de proteínas de BCA de acuerdo con el protocolo del fabricante (Pierce, Rockford, IL). Las preparaciones del EPR homogeneizadas se conservaron a -80 °C.

Aislamiento de la apoproteína de fijación al retinaldehído celular de humanos (CRALBP)

5 La apoproteína de fijación al retinaldehído celular (apo-CRALBP) de humanos se clonó y se expresó de acuerdo con los métodos de biología molecular estándares (véase Crabb et al., *Protein Science* 7: 746-57 (1998); Crabb et al., *J. Biol. Chem.*, 263: 18688-92 (1988). Brevemente, el ARN total se preparó de células ARPE19 (American Type Culture Collection, Manassas, VA) en confluencia, se sintetizó el ADNc con un cebador de tipo oligo(dT)₁₂₋₁₈ y a continuación el ADN que codifica la CRALBP se amplificó mediante dos reacciones en cadena de la polimerasa secuencial (véase Crabb et al., *J. Biol. Chem.* 263: 18688-92 (1988); Intres et al., *J. Biol. Chem.*, 269: 25411-18, 10 (1994); N.º de acceso a GenBank L34219.1). El producto de la PCR se subclonó en un vector pTrcHis2-TOPO TA de acuerdo con el protocolo del fabricante (Invitrogen Inc., Carlsbad, CA; n.º de catálogo K4400-01) y a continuación se confirmó la secuencia de acuerdo con las técnicas estándares de secuenciación de nucleótidos. Se expresó la CRALBP de humano recombinante etiquetada con 6xHis en las células de *E. coli* químicamente competentes One Shot TOP 10 (Invitrogen) y el polipéptido recombinante se aisló de los lisados de células de *E. coli* por cromatografía de afinidad con níquel en columnas Sepharose XK16-20 con níquel (Ni) para HPLC (Amersham Bioscience, Pittsburgh, PA; n.º de catálogo 17-5268-02). La CRALBP de humano etiquetada con 6xHis y purificada se dializó 15 contra bis-tris-propano (BTP) a 10 mM y se analizó por SDS-PAGE. La masa molecular de la CRALBP de humano recombinante era de aproximadamente 39 kDal.

Ensayo de la isomerasa

20 Los compuestos descritos en la presente memoria y los compuestos de control se reconstituyeron en etanol a 0,1 M. Para el análisis en el ensayo de la isomerasa se prepararon diluciones seriadas de cada compuesto de diez en diez (10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} M) en etanol.

El ensayo de la isomerasa se realizó en el tampón con bis-tris-propano (BTP) a 10 mM, pH 7,5, SAB al 0,5% (diluida en el tampón con BTP), pirofosfato de sodio a 1 mM, todo-*trans*-retinol a 20 µM (en etanol) y apo-CRALBP a 6 µM. 25 Los compuestos problema (2 µl) (dilución final de 1/15 de la solución madre de las diluciones seriadas) se añadieron a la mezcla de reacción anterior a la cual se habían añadido los microsomas del EPR. El mismo volumen de etanol se añadió a la reacción de control (ausencia del compuesto problema). A continuación, se le añadieron los microsomas del EPR bovino (9 µl) (véase más arriba) y las mezclas se transfirieron a 37 °C para iniciar la reacción (volumen total = 150 µl). Las reacciones se pararon al cabo de 30 minutos por la adición de metanol (300 µl). Se 30 añadió heptano (300 µl) y se mezcló con la mezcla de reacción con una pipeta. Se extrajo el retinoide por agitación de las mezclas de reacción, seguido de la centrifugación en una microcentrífuga. La fase orgánica superior se transfirió a viales de HPLC y a continuación se analizó por HPLC con un sistema de HPLC Agilent 1100 con una columna de fase normal: sílice (Agilent Technologies, dp 5µ, 4,6 mmX, 25CM; el método de cromatografía tenía una velocidad de flujo de 1,5 ml/min; el volumen de inyección era de 100 µl). Los componentes del solvente eran 20% de 35 isopropanol al 2% en EtOAc y 80% de hexano al 100%.

El área bajo la curva de la A₃₁₈ nm representó el pico de 11-*cis*-retinol, que se calculó con el programa Agilent Chemstation y se registró manualmente. Los valores de CI₅₀ (concentración del compuesto da una inhibición del 50% de la formación del 11-*cis*-retinol *in vitro*) se calcularon con el programa informático GraphPad Prism® 4 (Irvine, CA). Todos los ensayos se realizaron por duplicado. El valor del CI₅₀ para el compuesto 28 se muestra en la figura 4.

40 El efecto, dependiente de la concentración, de los compuestos descritos en la presente memoria sobre la reacción de isomerización del retinol también se evaluó con un sistema de enzimas humanas recombinantes. En particular, el ensayo *in vitro* de la isomerasa de humano se realizó esencialmente como en Golczak et al. 2005, *PNAS* 102: 8162-8167, ref.3). Un homogeneizado del clon de células HEK293 que expresa RPE65 y LRAT de humano recombinantes fue la fuente de las enzimas visuales, y como sustrato se utilizó el todo-*trans*-retinol exógeno (aproximadamente a 45 20 µM). La CRALBP de humano recombinante (aproximadamente a 80 µg/ml) se añadió para mejorar la formación del 11-*cis*-retinal. La mezcla de reacción con los 200 µl de tampón de bis-Tris fosfato (10 mM, pH 7,2) también contiene SAB al 0,5% y NaPPi a 1 mM. En este ensayo, la reacción se realizó a 37 °C por duplicado durante 1 hora y se detuvo con la adición de 300 µl de metanol. La cantidad del producto de reacción, el 11-*cis*-retinol, se midió por análisis de HPLC tras la extracción con heptano de la mezcla de reacción. Se registraron las unidades del área del 50 pico (UAP) que corresponden al 11-*cis*-retinol en los cromatogramas de HPLC y se analizaron las curvas dependientes de la concentración mediante GraphPad Prism para los valores de CI₅₀. Se cuantifica la capacidad que tienen numerosos compuestos descritos en la presente memoria para inhibir la reacción de isomerización y se determina el correspondiente valor de CI₅₀. Las tablas 9A y 9B que vienen a continuación resumen los valores de CI₅₀ de los diferentes compuestos descritos en la presente memoria determinados mediante cualquiera de los dos 55 métodos descritos más arriba.

Tabla 9A. Datos humanos de inhibición *in vitro*

CI ₅₀ (µM)	Compuesto/número de ejemplo
≤0,01 µM	4, 13, 15, 17, 28, 30, 34, 35, 45, 48, 55, 56, 72, 74, 87, 88, 169, 171, 172, 175, 176
>0,01 µM - ≤0,1 µM	1, 2, 3, 5, 6, 7, 9, 10, 12, 16, 20, 25, 29, 32, 36, 37, 46, 47, 49, 54, 66, 67, 68, 69, 71, 73, 75, 81, 83, 90, 92, 93, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 114, 115, 123, 130, 131, 147, 148, 154, 158, 161, 163, 166, 170, 173, 174, 178, 179, 180, 187, 193, 197
>0,1 µM - ≤1 µM	8, 11, 14, 18, 26, 31, 33, 38, 41, 44, 50, 51, 52, 53, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 70, 78, 80, 82, 84, 85, 86, 89, 91, 94, 96, 99, 101, 102, 122, 124, 125, 126, 127, 129, 135, 139, 140, 143, 150, 151, 152, 153, 156, 157, 162, 164, 165, 167, 168, 177, 181, 198
>1 µM - ≤10 µM	40, 42, 76, 77, 79, 95, 98, 100, 109, 113, 128, 133, 134, 136, 137, 138, 142, 144, 145, 146, 149, 159, 160, 184, 190, 196
>10 µM	170, 182
Actividad indetectable	119, 120, 121, 141

Tabla 9B. Datos bovinos de inhibición *in vitro*

CI ₅₀ (µM)	Compuesto/número de ejemplo
≤1 µM	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 20, 28, 29
>1 µM - ≤10 µM	8, 18, 19

5 Ejemplo 7

Preparación del sistema de cultivo de células neuronales retinianas

Este ejemplo describe métodos para preparar un cultivo a largo plazo de las células neuronales retinianas. Todos los compuestos y reactantes se pueden obtener de Aldrich Chemical Corporation (St. Louis, MO) u otros vendedores idóneos.

10 Cultivo de células neuronales retinianas

Los ojos de los cerdos se obtuvieron de Kapowsin Meats, Inc. (Graham, WA). Se enuclean los ojos, y el músculo y el tejido se limpian de la órbita. Los ojos se cortan por la mitad a lo largo del ecuador y la retina neural se disecciona desde la parte anterior del ojo en una solución salina tamponada, de acuerdo con los métodos estándares conocidos en la técnica. Brevemente, la retina, el cuerpo ciliar y el cuerpo vítreo se diseccionan de la mitad anterior del ojo en una pieza y la retina se desprende con suavidad del cuerpo vítreo transparente. Cada retina se disocia con papaína (Worthington Biochemical Corporation, Lakewood, NJ), seguido de la inactivación con suero bovino fetal (SBF) y la adición de 134 unidades Kunitz/ml de ADNasa I. Se trituran las células disociadas enzimáticamente y se recogen por centrifugación, se resuspenden en el medio de Eagle modificado de Dulbecco (DMEM)/medio F12 (Gibco BRL, Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA) que contiene aproximadamente 25 µg/ml de insulina, aproximadamente 100 µg/ml de transferrina, putrescina a aproximadamente 60 µM, selenio a aproximadamente 30 nM, progesterona a aproximadamente 20 nM, aproximadamente 100 U/ml de penicilina, aproximadamente 100 µg/ml de estreptomina, Hepes a aproximadamente 0,05 M y SBF a aproximadamente el 10%. Las células retinianas primarias disociadas se siembran en placas sobre cubreobjetos de vidrio revestidos con poli-D-lisina y Matrigel (BD, Franklin Lakes, NJ) que se colocan en placas de cultivo de 24 pocillos (Falcon Tissue Culture Plates, Fisher Scientific, Pittsburgh, PA). Las células se mantienen en cultivo durante 5 días a un mes en 0,5 ml del medio (como más arriba, excepto con SBF sólo al 1%) a 37 °C y CO₂ al 5%.

Análisis de inmunocitoquímica

Las células neuronales retinianas se cultivan durante aproximadamente 1, 3, 6 y 8 semanas, y las células se analizan mediante inmunohistoquímica en cada punto de tiempo. El análisis de inmunocitoquímica se realiza de acuerdo con las técnicas estándares conocidas en la técnica. Los fotorreceptores de tipo bastón se identifican mediante marcación con un anticuerpo específico contra la rodopsina (monoclonal de ratón, diluido aproximadamente 1:500; Chemicon, Temecula, CA). Se utiliza un anticuerpo contra el neurofilamento de peso medio (NFM policlonal de conejo, diluido aproximadamente 1:10.000, Chemicon) para identificar las células ganglionares; un anticuerpo contra la β3-tubulina (G7121 monoclonal de ratón, diluido aproximadamente 1:1000, Promega, Madison, WI) se utiliza para identificar por lo general interneuronas y células ganglionares, y los anticuerpos contra la calbindina (AB1778 policlonal de conejo, diluido aproximadamente 1:250, Chemicon) y la calretinina (AB5054

- 5 policlonal de conejo, diluido aproximadamente 1:5000, Chemicon) se utilizan para identificar las subpoblaciones de interneneuronas que expresan calbindina y calretinina en la capa nuclear interna. Brevemente, los cultivos de células retinianas se fijan con paraformaldehído al 4% (Polysciences, Inc, Warrington, PA) y/o etanol, se enjuagan en la disolución salina tamponada con fosfato de Dulbecco (DPBS) y se incuban con el anticuerpo primario durante
- 10 aproximadamente 1 hora a 37 °C. A continuación, las células se enjuagan con DPBS, se incuban con un anticuerpo secundario (anticuerpos secundarios conjugados con Alexa 488 o Alexa 568 (Molecular Probes, Eugene, OR)) y se enjuagan con DPBS. Se tiñen los núcleos con 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI, Molecular Probes), y los cultivos se enjuagan con DPBS antes de retirar los cubreobjetos de vidrio y de montarlos con Fluoromount-G (Southern Biotech, Birmingham, AL) sobre portaobjetos de vidrio para la visualización y el análisis.
- 15 La supervivencia de las neuronas retinianas maduras después de diferentes tiempos de cultivo se indica mediante los análisis histoquímicos. Las células fotorreceptoras se identifican con un anticuerpo contra la rodopsina; las células ganglionares se identifican con un anticuerpo NFM; y las células amacrinias y horizontales se identifican mediante tinción con un anticuerpo específico contra la calretinina.
- 20 Los cultivos se analizan mediante el recuento de los fotorreceptores marcados con rodopsina y de las células ganglionares marcadas con NFM con un microscopio Olympus IX81 o CZX41 (Olympus, Tokyo, Japón). Se cuentan 20 campos visuales por cubreobjeto con una lente de objetivo de 20x. Se analizan seis cubreobjetos mediante este método para cada afección en cada experimento. Se cuentan las células que no están expuestas a ningún factor agresivo, y las células expuestas a un factor agresivo se normalizan por el número de células del control. Se espera que los compuestos presentes en esta descripción promuevan la supervivencia, dependiente de la dosis y dependiente del tiempo, de las neuronas retinianas maduras.

Ejemplo 8

Efecto de los compuestos sobre la supervivencia de las células retinianas

- 25 Este ejemplo describe el uso del sistema de cultivo de células retinianas maduras que comprende un agresivo celular para determinar los efectos que tiene cualquier compuesto descrito en la presente memoria sobre la viabilidad de las células retinianas.

- 30 Los cultivos de células retinianas se preparan tal y como se describe en el ejemplo 7. La A2E se añade como un agresivo celular retiniano. Después de cultivar las células durante aproximadamente 1 semana, se aplica una agresión química con la A2E. La A2E se diluye en etanol y se añade a los cultivos de células retinianas a una concentración de aproximadamente 0, 10 μ M, 20 μ M y 40 μ M. Los cultivos se tratan durante aproximadamente 24 y 48 horas. La A2E se obtiene de Dr. Koji Nakanishi (Universidad de Columbia, Nueva York, NY) o se sintetiza de acuerdo con el método de Parish et al. (*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 14602-13 (1998)). Se añade entonces al cultivo cualquier compuesto descrito en la presente memoria. A otros cultivos de células retinianas se les añade cualquier compuesto descrito en la presente memoria antes de la aplicación del factor agresivo o se les añade al mismo tiempo que la A2E se añade al cultivo de células retinianas. Los cultivos se mantienen en incubadores de cultivo de células mientras dure el factor agresivo a 37 °C y CO₂ al 5%. A continuación, las células se analizan por inmunocitoquímica tal y como se describe en el ejemplo 7.

Análisis de la apoptosis

- 40 Los cultivos de células retinianas se preparan tal y como se describe en el ejemplo 7 y se cultivan durante aproximadamente 2 semanas, y a continuación se exponen a la agresión con luz blanca a aproximadamente 6000 lux durante unas 24 horas seguido de un periodo de reposo de 13 horas. Se construyó un dispositivo para dispensar uniformemente la luz de las longitudes de onda especificadas a los pocillos específicos de las placas de 24 pocillos. El dispositivo contiene una bombilla fluorescente de blanco frío (GE P/N FC12T9/CW) conectada a un suministro eléctrico de corriente alterna. La bombilla se monta dentro del incubador estándar de cultivo de tejidos. La agresión con luz blanca se aplica mediante la colocación de las placas de células directamente bajo la bombilla fluorescente.
- 45 La concentración de CO₂ se mantiene a aproximadamente el 5% y la temperatura en la placa de células se mantiene a 37 °C. Se monitoriza la temperatura con termopares delgados. La intensidad de la luz de todos los dispositivos se mide y se ajusta utilizando un luminómetro de Extech Instruments Corporation (P/N 401025; Waltham, MA). Cualquier compuesto descrito en la presente memoria se añade a los pocillos de las placas de cultivo antes de la exposición de las células a la luz blanca, y se añade a otros pocillos de los cultivos después de la exposición a la luz blanca. Para valorar la apoptosis, se realiza TUNEL, tal y como se describe en la presente memoria.

- 50 El análisis de la apoptosis se realiza también después de la exposición de las células retinianas a la luz azul. Los cultivos de células retinianas se cultivan tal y como se describe en el ejemplo 7. Después de cultivar las células durante aproximadamente 1 semana, se aplica una agresión con luz azul. La luz azul se dispensa desde una fuente de luz construida a medida, que consiste en dos matrices de 24 (4 × 6) diodos emisores de luz azul (Sunbrite LED P/N SSP-01TWB7UWB12), diseñadas de tal manera que cada LED está registrado en un único pocillo de una placa desechable de 24 pocillos. La primera matriz se coloca en la parte superior de una placa de 24 pocillos llena de células, mientras que la segunda se coloca por debajo de la placa de células, lo que permite que ambas matrices proporcionen a la vez una agresión lumínica a la placa de células. Todo el aparato se monta dentro de un incubador

estándar de cultivo de tejidos. La concentración de CO₂ se mantiene a aproximadamente el 5% y la temperatura en la placa de células se mantiene a unos 37 °C. Se monitoriza la temperatura con termopares delgados. La corriente a cada LED se controla individualmente mediante un potenciómetro independiente, lo que permite que salga una luz uniforme desde todos los LED. Las placas de células están expuestas a unos 2000 lux de agresión con luz azul durante unas 2 horas o bien 48 horas, seguido de un periodo de descanso de unas 14 horas. Uno o varios compuestos descritos en la presente memoria se añaden a los pocillos de las placas de cultivo antes de la exposición de las células a la luz azul y se añade a otros pocillos de los cultivos después de la exposición a la luz azul. Para valorar la apoptosis, se realiza TUNEL tal y como se describe en la presente memoria.

Para valorar la apoptosis, se realiza TUNEL de acuerdo con las técnicas estándares que se ponen en práctica en la técnica y de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Brevemente, los cultivos de células retinianas se fijan primero con paraformaldehído al 4%, a continuación con etanol y luego se enjuagan en DPBS. Las células fijadas se incuban con la enzima TdT (a la concentración final de 0,2 unidades/μl) en el tampón de reacción (Fermentas, Hanover, MD) combinado con Alexa568-5-dUTP de Chroma-Tide (a la concentración final de 0,1 μM) (Molecular Probes) durante aproximadamente 1 hora a 37 °C. Los cultivos se enjuagan con DPBS y se incuban con el anticuerpo primario durante una noche a 4 °C, o bien durante aproximadamente 1 hora a 37 °C. A continuación, las células se enjuagan con DPBS, se incuban con anticuerpos secundarios conjugados a Alexa 488 y se enjuagan con DPBS. Los núcleos se tiñen con DAPI y los cultivos se enjuagan con DPBS antes de retirar los cubreobjetos de vidrio y montarlos con Fluoromount-G en portaobjetos de vidrio para la visualización y el análisis.

Los cultivos se analizan mediante el recuento de los núcleos marcados con TUNEL con un microscopio Olympus IX81 o CZX41 (Olympus, Tokio, Japón). Se cuentan 20 campos visuales por cubreobjeto con una lente de objetivo de 20×. Se analizan seis cubreobjetos con este método para cada afección. Se cuentan las células que no están expuestas a un compuesto problema y las células expuestas al anticuerpo se normalizan por el número de células del control. Los datos se analizan con la prueba de la *t* de Student sin emparejamiento. Se espera que los compuestos de esta descripción reduzcan la apoptosis y la muerte celular inducidas por la A2E en los cultivos de células retinianas de una manera dependiente de la dosis y dependiente del tiempo.

Ejemplo 9

Modelo *in vivo* de ratón a la luz

Este ejemplo describe el efecto de un compuesto descrito en la presente memoria sobre un modelo de ratón con daño por luz *in vivo*.

La exposición del ojo a la luz blanca intensa puede ocasionar fotodaños en la retina. La extensión del daño después del tratamiento con la luz se puede evaluar midiendo el contenido de fragmentos de ADN asociados a histonas citoplasmáticas (mono- y oligonucleosomas) en el ojo (véase, p. ej., Wenzel et al., *Prog. Retin. Eye Res.* 24: 275-306 (2005)).

Los ratones Balb/c macho adaptados a la oscuridad (albino, 10/grupo) se alimentaron por sonda gástrica con el compuesto del ejemplo 1 (compuesto 4) a diferentes dosis (0,03, 0,1, 0,3, 1, y 3 mg/kg) o se administró solo el vehículo. Seis horas después de la dosificación, los animales se sometieron al tratamiento con luz (8.000 lux de luz blanca durante 1 hora). Los ratones se sacrificaron después de 40 horas de recuperación en la oscuridad y se les diseccionó la retina. Se realizó un ensayo ELISA de detección de muerte celular de acuerdo con las instrucciones del fabricante (ROCHE APPLIED SCIENCE, kit Plus de ELISA de detección de muerte celular). El contenido del ADN fragmentado en cada retina se midió para estimar la actividad protectora de la retina que posee el compuesto 4; Los resultados se presentan en la Figura 7. El compuesto 4 tenía una DE₅₀ de 0,3 mg/kg.

Ejemplo 10

Estudio electroretinográfico (ERG)

Los experimentos ERG se realizaron con ratones BALB/c de 11-16 semanas de edad de los dos géneros (n = 5). Todos los estudios implicaban la valoración farmacodinámica de las respuestas ERG adaptadas a la oscuridad (escotópica, dominada por bastones) y adaptada a la luz (fotópica, dominada por conos). Los experimentos se realizaron con el compuesto del ejemplo 1 (compuesto 4). Todos los procedimientos de registro se realizaron de acuerdo con el mismo protocolo y con el mismo equipo. Los datos se agregaron a través de estudios individuales para generar gráficos de compendio.

Los resultados de cuatro estudios independientes se combinaron para construir la función de respuesta a la dosis entre la administración del compuesto 4 y los cambios de la amplitud de la onda b escotópica (0,01 cd.s/m²), 4 horas después de la administración oral única del fármaco (en forma de base, disuelto en aceite de maíz). La relación resultante se presenta en la figura 8. Tal y como se muestra en la figura 8, una función sigmoidea típica de respuesta a la dosis se ajustó relativamente bien a los datos (R² = 0,62). Basándose en el ajuste, se determinó un valor de DE₅₀ de 0,23 mg/kg.

El efecto sobre el sistema de conos se estimó basándose en el registro y la medición de la función de respuesta a la

intensidad de la onda b en la ERG en las condiciones fotópicas. En tales estudios, se evalúan típicamente dos parámetros: la respuesta máxima ($V_{m\acute{a}x}$), medida en microvoltios, y la constante de semisaturación (k), medida en $cd.s/m^2$.

- 5 Los resultados de tres estudios independientes se combinaron para estimar el efecto de una única dosis del compuesto 4 sobre el ERG fotópico (ratones BALB/c de 11-16 semanas de edad de ambos géneros, n = 5). Tal y como se muestra en la figura 9, el compuesto 4 no tenía efecto sobre la respuesta fotópica máxima ($V_{m\acute{a}x}$). Sin embargo, la constante de semisaturación (k fotópica) se incrementó con una DE_{50} estimada de 0,36 mg/kg.

Ejemplo 11

Efecto de los compuestos sobre la reducción de los fluoróforos de lipofuscina

- 10 Este ejemplo describe la capacidad que tiene el compuesto descrito en la presente memoria para reducir la cantidad de A2E que existe en la retina de los ratones, así como la prevención de la formación de A2E.

15 Los ojos de ratones mutantes sin abca4 ($abca4^{-/-}$) (véase, p. ej., Weng et al., *Cell* 98: 13-23 (1999) tienen un incremento de la acumulación de los fluoróforos de lipofuscina, tales como la A2E (véase, p. ej., Karan et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 4164-69 (2005)). El compuesto del ejemplo 1 (compuesto 4) (1 mg/kg) o el vehículo se administró cada día durante tres meses mediante sonda nasogástrica oral a los ratones $abca4^{-/-}$ que tenían aproximadamente 2 meses de edad. Se sacrificaron los ratones al cabo de tres meses de tratamiento. Las retinas y el EPR se extrajeron para el análisis de la A2E.

20 El compuesto 4-HCl redujo significativamente la cantidad de A2E (10,4 pmol/ojo) en la retina de ratones $abca4^{-/-}$ tratados con 1 mg/kg al día durante tres meses en comparación con los ratones $abca4^{-/-}$ tratados con el vehículo (18,9 pmol/ojo, $p < 0,001$). Los datos se presentan en la figura 10.

Se realizó un experimento parecido con los ratones balb/c ancianos (10 meses de edad). Los ratones problema se trataron con 1 mg/kg al día del compuesto 4 durante tres meses y los ratones de control se trataron con el vehículo. Los resultados se presentan en la figura 11. Este experimento demuestra que un compuesto objeto muestra la capacidad de reducir la cantidad existente de A2E.

- 25 Ejemplo 12

Efecto de los compuestos sobre la actividad de los receptores nucleares de retinoides

La actividad del receptor nuclear retinoide está asociada a la transducción de las señales retinoides no visuales fisiológicas, farmacológicas y toxicológicas que afectan al crecimiento, desarrollo, diferenciación y homeostasis del tejido y órgano.

- 30 El efecto de los compuestos de los ejemplos 1, 2 y 3 (compuesto 4, compuesto 28 y compuesto 29) y el efecto de un agonista del receptor del ácido retinoico (RAR) (ácido *E*-4-[2-(5,6,7,8-tetrahidro-5,5,8,8-tetrametil-2-naftilenoil)-1-propenil]benzoico) (TTNPB), y del ácido todo-*trans*-retinoico (at-RA, por su nombre en inglés), que es un agonista del receptor del retinoide X (RXR) y del RAR, se estudiaron en los receptores RAR y RXR esencialmente como se describió en Achkar et al. (*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93: 4879-84 (1996)). Los resultados de estos ensayos se presentan en la tabla 11. Las cantidades de hasta 10 μ M de cada uno de los compuestos 4-HCl, compuesto 28-HCl y compuesto 29-HCl no mostraron ningún efecto significativo sobre los receptores nucleares retinoides (RAR y RXR). En comparación, el TTNPB y el at-RA activaron los receptores RXR_{α} , RAR_{α} , RAR_{β} y RAR_{γ} tal y como se esperaba (tabla 11).

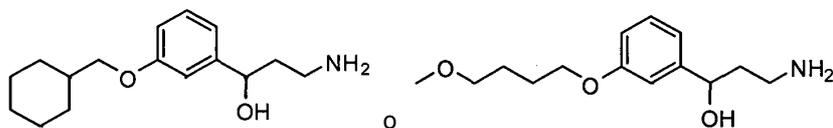
Tabla 11

Compuesto	CE_{50} (nM) de RAR_{α}	CE_{50} (nM) de RAR_{β}	CE_{50} (nM) de RAR_{γ}	CE_{50} (nM) de RXR_{α}
TTNPB	5,5 ± 4,5	0,3 ± 0,1	0,065 ± 0,005	N/A
at-RA	N/A	N/A	N/A	316 ± 57
Comp 4	N/D	N/D	N/D	N/D
Comp 28	N/D	N/D	N/D	N/D
Comp 29	N/D	N/D	N/D	N/D

N/D = Actividad no detectada; N/A = No aplicable

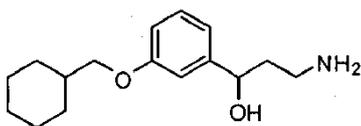
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la estructura:



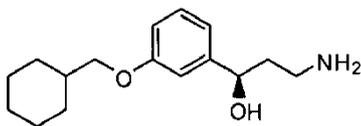
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que tiene la estructura:



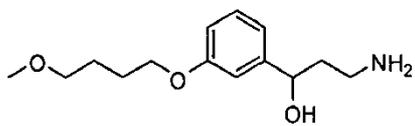
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que tiene la estructura:



10 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

4. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que tiene la estructura:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que es una sal de tipo hidrocioruro.

15 6. Una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

7. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 6, que comprende una sal farmacéuticamente aceptable que es la sal de tipo hidrocioruro.

20 8. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, para ser usado para el tratamiento de la degeneración macular relacionada con la edad.

9. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 8, en donde la degeneración macular relacionada con la edad es la degeneración macular relacionada con la edad seca.

10. Una composición de acuerdo con las reivindicaciones 6 o 7, para ser usada para el tratamiento de la degeneración macular relacionada con la edad.

25 11. Una composición para ser usada de acuerdo con la reivindicación 10, en donde la degeneración macular relacionada con la edad es la degeneración macular relacionada con la edad seca.

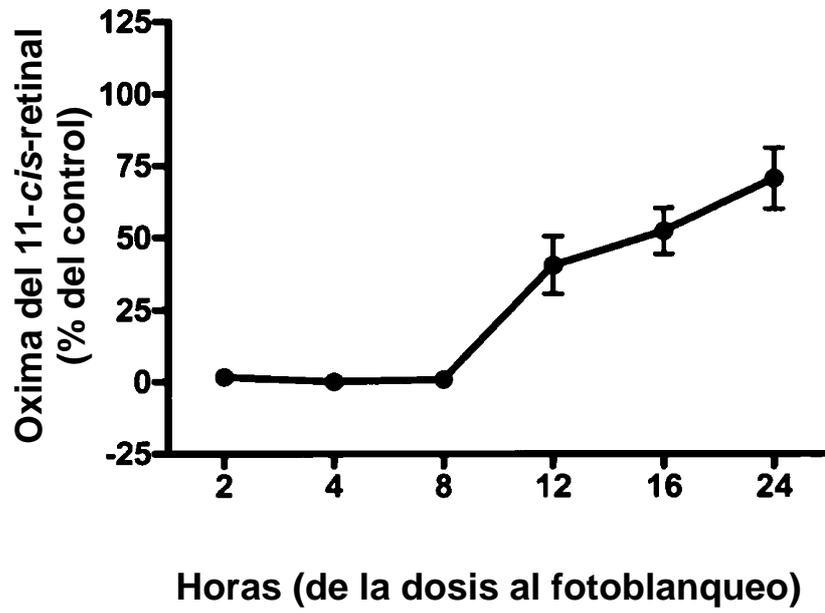


FIGURA 1

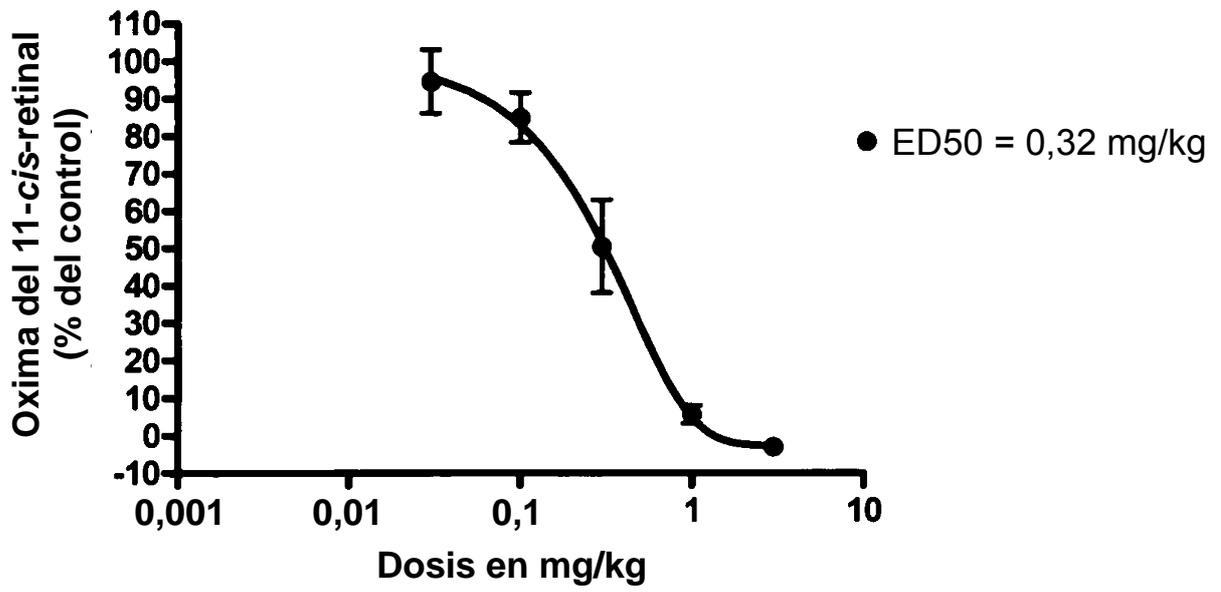


FIGURA 2

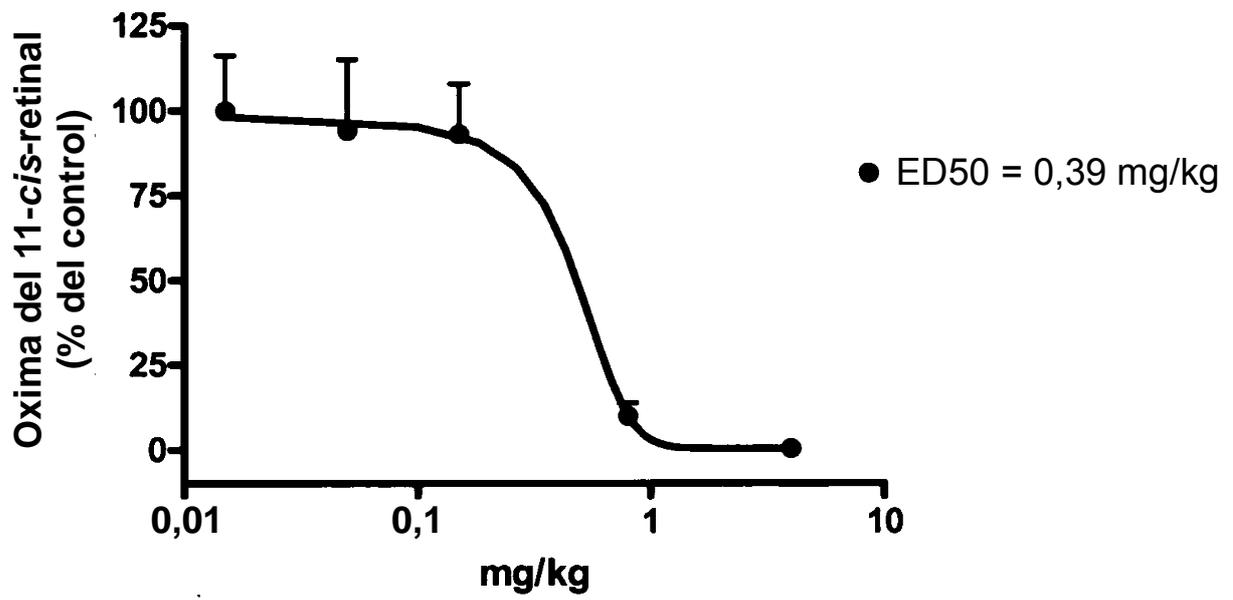


FIGURA 3

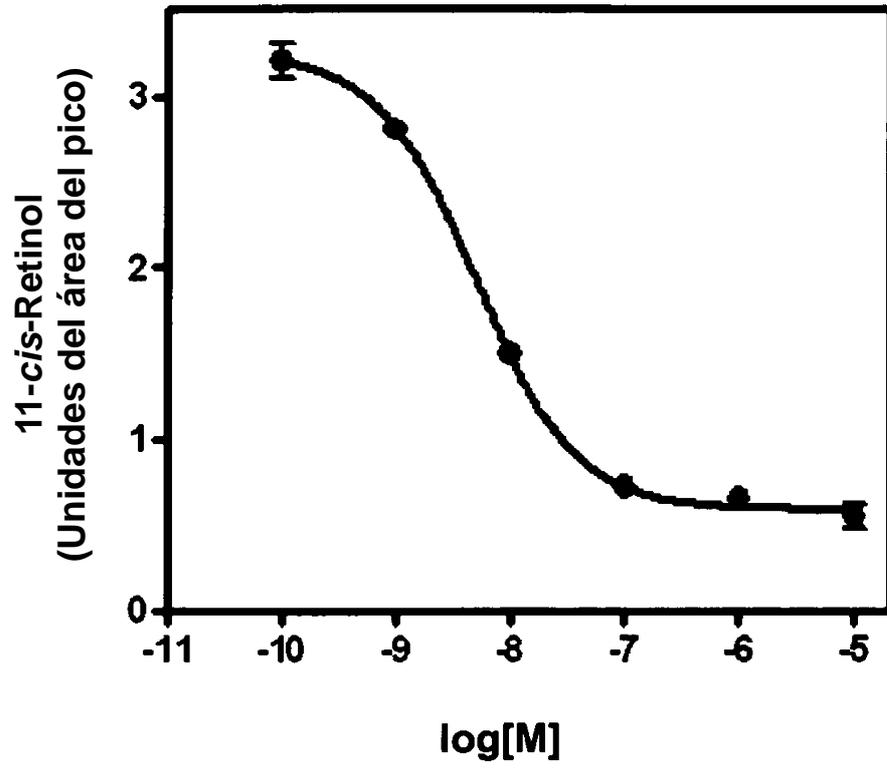


FIGURA 4

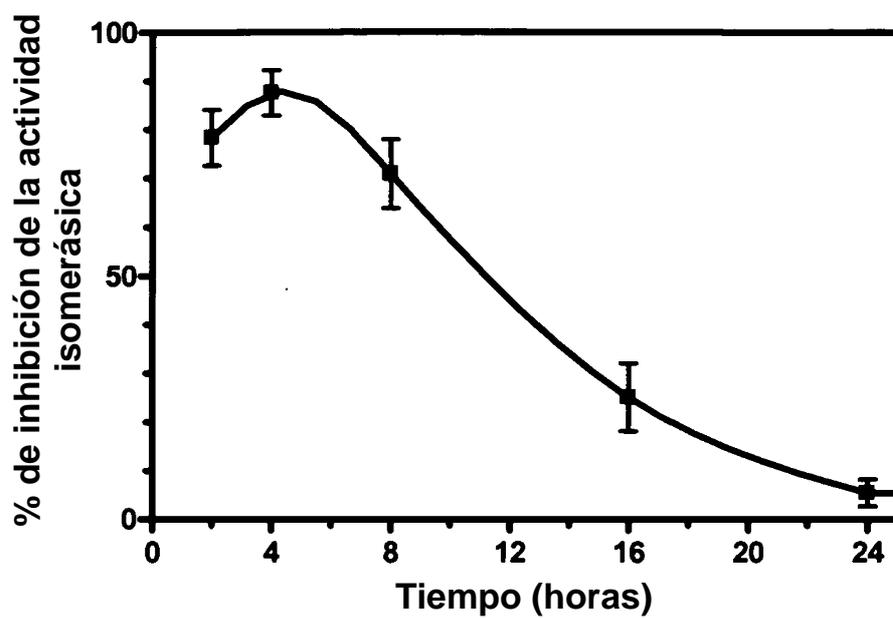


FIGURA 5

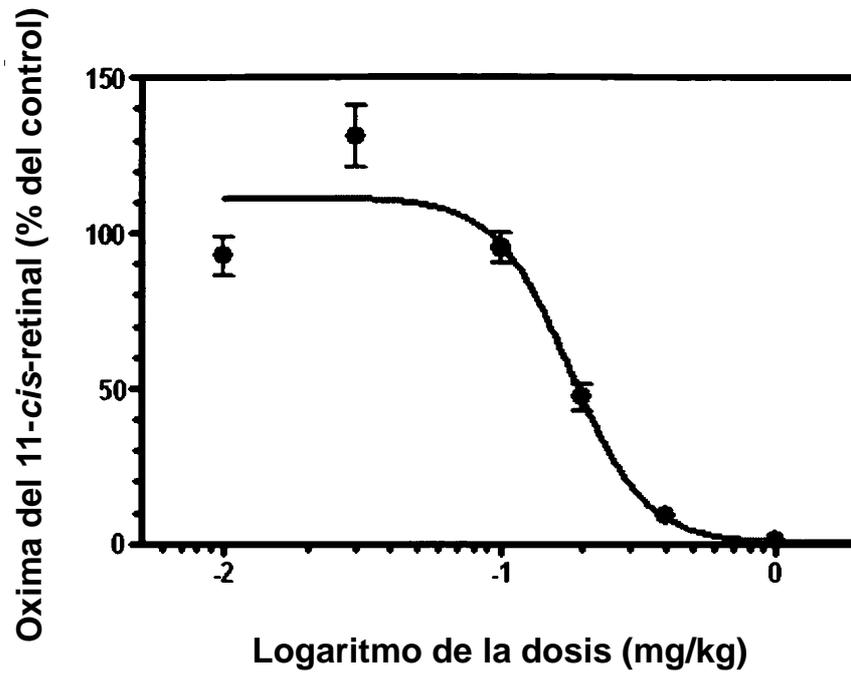


FIGURA 6

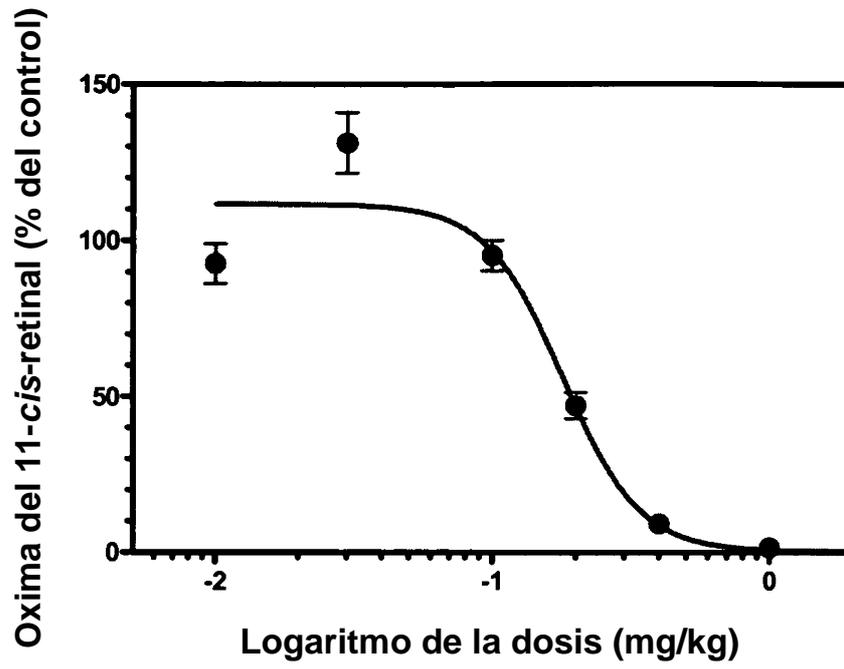


FIGURA 7

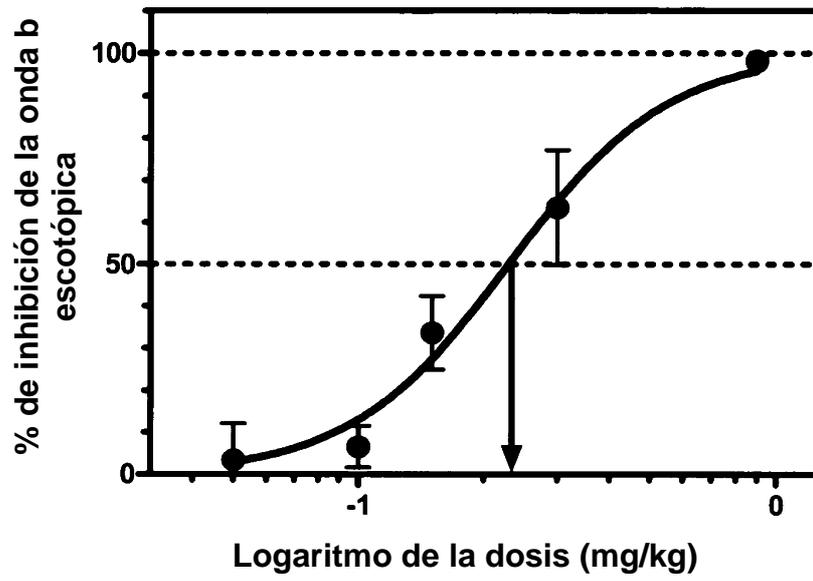


FIGURA 8

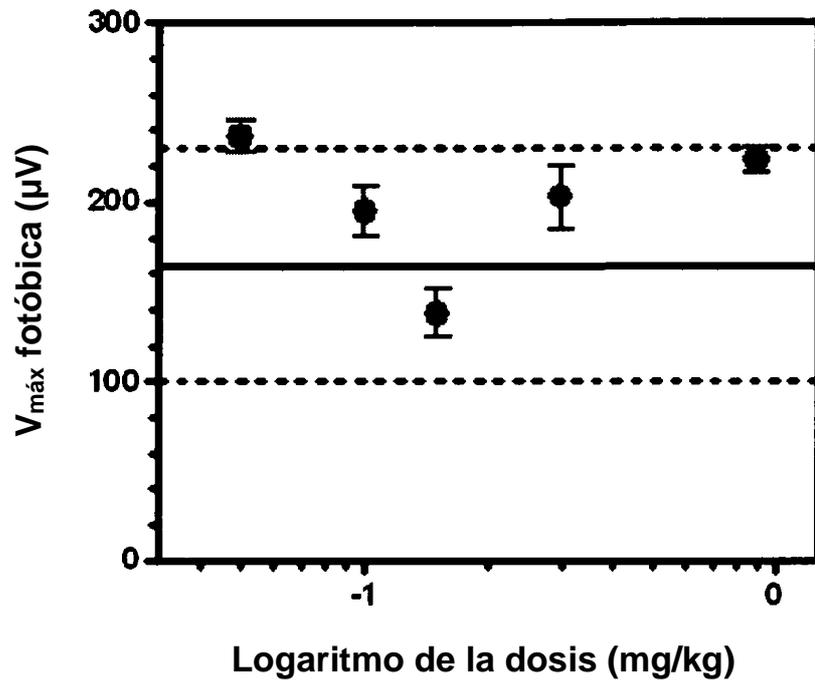


FIGURA 9

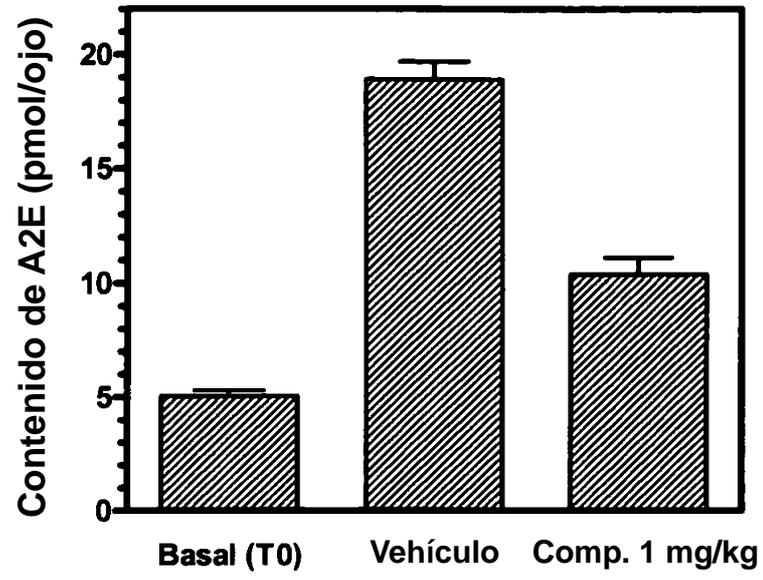
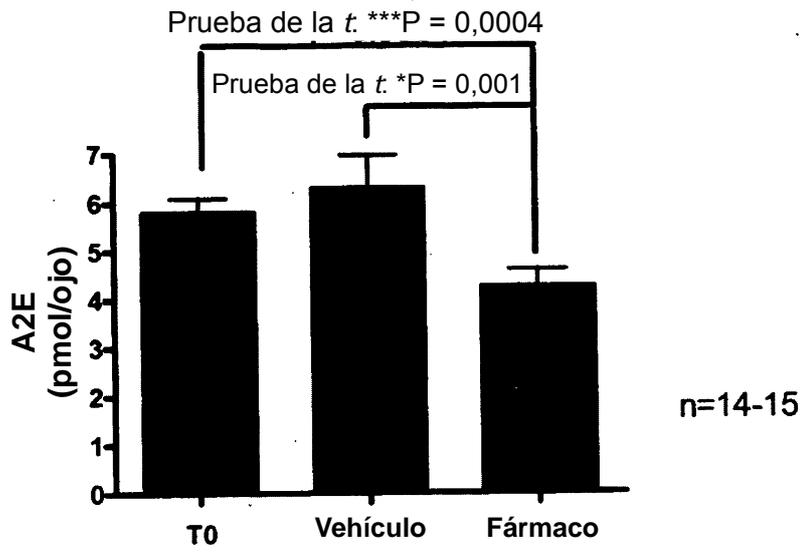


FIGURA 10



**

Valor de P del análisis de varianza de una cola | 0,0061

FIGURA 11