



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 285 525**

51 Int. Cl.:  
**C07D 471/04** (2006.01)  
**C07D 275/06** (2006.01)  
**A61K 31/425** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **04786051 .5**  
86 Fecha de presentación : **09.07.2004**  
87 Número de publicación de la solicitud: **1648892**  
87 Fecha de publicación de la solicitud: **26.04.2006**

54 Título: **Análogos de benzo[d]isotiazol-3-ilamina sustituidos con arilo como moduladores de los receptores de capsaicina.**

30 Prioridad: **10.07.2003 US 485958 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**16.11.2007**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**16.11.2007**

73 Titular/es: **NEUROGEN CORPORATION**  
**35 N.E. Industrial Boulevard**  
**Branford, Connecticut 06405, US**

72 Inventor/es: **Blum, Charles, A. y**  
**Zheng, Xiazhang**

74 Agente: **Lehmann Novo, María Isabel**

ES 2 285 525 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

Análogos de benzo[d]isotiazol-3-ilamina sustituidos con arilo como moduladores de los receptores de capsaicina.

5 **Campo de la invención**

Esta invención se refiere en general a análogos de benzo[d]isotiazol-3-ilamina sustituidos con arilo que son moduladores de receptores de capsaicina, y al uso de tales compuestos para tratar afecciones relacionadas con la activación de los receptores de capsaicina. La invención se refiere adicionalmente al uso de tales compuestos como sondas para detectar y localizar receptores de capsaicina *in vitro*.

**Antecedentes de la invención**

La percepción del dolor, o nocicepción, está mediada por los terminales periféricos de un grupo de neuronas sensoras especializadas, denominadas “nociceptores”. Una gran diversidad de estímulos físicos y químicos inducen la activación de tales neuronas en los mamíferos, conduciendo al reconocimiento de un estímulo potencialmente dañino. Sin embargo, la activación inadecuada o excesiva de nociceptores, puede dar como resultado un dolor agudo o crónico debilitante.

El dolor neuropático implica transmisión de señales de dolor en ausencia de estímulo, y típicamente es el resultado del deterioro del sistema nervioso. En la mayoría de los casos, se cree que dicho dolor ocurre debido a la sensibilización en los sistemas nervioso periférico y central después de un deterioro inicial del sistema periférico (v.g., por lesión directa o enfermedad sistémica). El dolor neuropático es típicamente ardiente, punzante e implacable en su intensidad, y puede a veces ser más debilitante que el proceso inicial de lesión o enfermedad que lo indujo.

Los tratamientos existentes para el dolor neuropático son en gran parte eficaces. Los opiáceos, tales como la morfina, son analgésicos potentes, pero su utilidad es limitada debido a efectos secundarios adversos, tales como adictividad física y propiedades de retirada, así como depresión respiratoria, cambios de humor, y motilidad intestinal reducida con estreñimiento, náusea, vómitos, y alteraciones concomitantes en los sistemas endocrino y nervioso autónomo. Adicionalmente, el dolor neuropático es frecuentemente insensible o sólo parcialmente sensible a los regímenes analgésicos convencionales con opioides. Los tratamientos que emplean el antagonista de N-metil-D-aspartato quetamina o el agonista alfa (2)-adrenérgico clonidina pueden reducir el dolor agudo o crónico, y permiten una reducción en el consumo de opioides, pero estos agentes son a menudo mal tolerados debido a efectos secundarios.

El tratamiento tópico con capsaicina ha sido utilizado para tratar el dolor crónico y agudo, con inclusión del dolor neuropático. La capsaicina es una sustancia picante derivada de las plantas de la familia Solanáceas (que incluye los pimientos picantes chili) y parece actuar selectivamente sobre las fibras nerviosas aferentes de pequeño diámetro (fibras A-delta y C) que se cree median el dolor. La respuesta a la capsaicina se caracteriza por la activación persistente de nociceptores en los tejidos periféricos, seguida por desensibilización eventual de los nociceptores periféricos para uno o más estímulos. Como resultado de estudios en animales, parece ser que la capsaicina desencadena la despolarización de la membrana de las fibras C por apertura de canales catiónicos selectivos para calcio y sodio.

Respuestas similares son también evocadas por análogos estructurales de capsaicina que comparten un resto vainilloide común. Un análogo de este tipo es la resiniferatoxina (RTX), un producto natural de las plantas *Euphorbia*. El término receptor vainilloide (VR) fue acuñado para describir el sitio de reconocimiento de la membrana neuronal para capsaicina y compuestos irritantes afines de este tipo. La respuesta a la capsaicina es inhibida competitivamente (y antagonizada por tanto) por otro análogo de capsaicina, la capsazepina, y es inhibida también por el bloqueador de los canales catiónicos no selectivos rojo de rutenio. Estos antagonistas se fijan a VR con afinidad sólo moderada (típicamente con valores  $K_i$  no menores que 140  $\mu\text{M}$ ).

Receptores vainilloides de rata y humanos han sido clonados a partir de células ganglionares de raíz dorsal. El primer tipo de receptor vainilloide que ha sido identificado se conoce como receptor vainilloide tipo 1 (VR1), utilizándose los términos “VR1” y “receptor de capsaicina” intercambiabilmente en esta memoria para hacer referencia a receptores de rata y/o humanos de este tipo, así como homólogos de mamífero. El papel de VR1 en la sensación del dolor ha sido confirmado utilizando ratones que carecen de este receptor, que no exhiben comportamiento alguno de dolor evocado por vainilloides, ni respuestas deterioradas al calor y la inflamación. VR1 es un canal catiónico no selectivo con un umbral de apertura que tiene una respuesta disminuida a temperaturas elevadas, pH bajo y agonistas de receptores de capsaicina. Por ejemplo, el canal se abre usualmente a temperaturas mayores que aproximadamente 45°C. La apertura del canal receptor de capsaicina va seguida generalmente por la liberación de péptidos inflamatorios por neuronas que expresan el receptor y otras neuronas próximas, con aumento de la respuesta de dolor. Después de la activación inicial por la capsaicina, el receptor de capsaicina sufre una desensibilización rápida por la vía de fosforilación por una proteína-quinasa dependiente de cAMP.

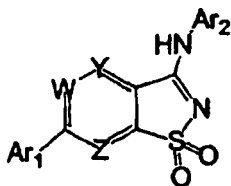
Debido a su aptitud para desensibilizar los nociceptores en los tejidos periféricos, los compuestos vainilloides agonistas de VR1 han sido utilizados como anestésicos tópicos. Sin embargo, la aplicación de agonistas puede causar por sí misma dolor ardiente, lo cual limita su uso terapéutico. Recientemente, se ha comunicado que los antagonistas de VR1, con inclusión de compuestos no vainilloides, son útiles también para el tratamiento del dolor (véase la Publicación de Solicitud de Patente Internacional PCT Número WO 02/08221, publicada en 31 de enero de 2002).

## ES 2 285 525 T3

Así pues, los compuestos que interaccionan con VR1, pero no provocan la sensación dolorosa inicial de los compuestos vainilloides agonistas de VR1, son deseables para el tratamiento del dolor agudo y crónico, con inclusión del dolor neuropático. Los antagonistas de este receptor son particularmente deseables para el tratamiento del dolor, así como condiciones tales como la exposición a gas lacrimógeno, prurito y afecciones del tracto urinario tales como incontinencia urinaria y vejiga hiperactiva. La presente invención satisface esta necesidad, y proporciona otras ventajas afines.

### Sumario de la invención

La presente invención proporciona moduladores de los receptores de capsaicina que alteran, preferiblemente inhiben, la activación de los receptores de capsaicina. En ciertos aspectos, los compuestos proporcionados en esta invención se caracterizan por la Fórmula I:



Fórmula I

o son una forma farmacéuticamente aceptable de la misma, en la cual:

W, Y y Z son independientemente N o CR<sub>1</sub>;

R<sub>1</sub> se selecciona independientemente en cada caso de hidrógeno, halógeno, ciano, amino, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, halo-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, halo-alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, y mono- y di-alquilamino C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido;

Ar<sub>1</sub> y Ar<sub>2</sub> se seleccionan independientemente de carbociclos y heterociclos aromáticos de 5 a 10 miembros, cada uno de los cuales está sustituido opcionalmente, preferiblemente con 0 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, ciano, nitro y grupos de la fórmula LR<sub>a</sub>;

L se selecciona independientemente en cada caso de un enlace covalente simple, O, C(=O), OC(=O), C(=O)O, O-C(=O)O, S(O)<sub>m</sub>, N(R<sub>x</sub>), C(=O)N(R<sub>x</sub>)-, N(R<sub>x</sub>)C(=O), N(R<sub>x</sub>)S(O)<sub>m</sub>, S(O)<sub>m</sub>N(R<sub>x</sub>) y N[S(O)<sub>m</sub>R<sub>x</sub>]S(O)<sub>m</sub>; en donde m se selecciona independientemente en cada caso de 0, 1 y 2; y R<sub>x</sub> se selecciona independientemente en cada caso de hidrógeno y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> opcionalmente sustituido, y

R<sub>a</sub> se selecciona independientemente en cada caso de:

(i) hidrógeno; y

(ii) alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, alquino C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, halo-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alquil-éter C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, mono- y di-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)amino y (heterociclo de 3 a 10 miembros)-alquilo C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, cada uno de los cuales está sustituido con 0 a 6 sustituyentes seleccionados independientemente de (a) hidrógeno, halógeno, amino, aminocarbonilo, ciano, nitro, oxo y COOH; y (b) alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alqueno C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alquino C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alquiltio C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alquiléter C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alcanofilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alcanona C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alcanoiloxi C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alcocarbonilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, hidroxialquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, haloalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, cianoalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, fenilalquilo C<sub>0</sub>-C<sub>8</sub>, mono- y di-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)aminoalquilo C<sub>0</sub>-C<sub>8</sub>, alquilsulfonilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alquilsulfonamido C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> y (heterociclo de 5 a 7 miembros)-alquilo C<sub>0</sub>-C<sub>8</sub>, cada uno de los cuales está sustituido opcionalmente.

En ciertos aspectos, los moduladores de VR1 que se describen en esta memoria exhiben un valor K<sub>i</sub> no mayor que 1 micromolar, 100 nanomolar, 50 nanomolar, 10 nanomolar o 1 nanomolar en un ensayo de fijación de receptores de capsaicina y/o tienen un valor CE<sub>50</sub> o CI<sub>50</sub> no mayor que 1 micromolar, 100 nanomolar, 50 nanomolar, 10 nanomolar o 1 nanomolar en un ensayo para determinación de la actividad agonista o antagonista de los receptores de capsaicina.

En ciertas realizaciones, los moduladores de VR1 que se describen en esta memoria son antagonistas de VR1 y no exhiben actividad agonista detectable alguna en un ensayo *in vitro* de activación de los receptores de capsaicina.

En ciertos aspectos, los moduladores de VR1 que se describen en esta memoria están marcados con un marcador detectable (v.g., radiomarcados o conjugados con fluoresceína).

En ciertos aspectos, los moduladores de VR1 y formas farmacéuticamente aceptables de los mismos que se describen en esta memoria están marcados con un marcador detectable (v.g., radiomarcados o conjugados con fluoresceína).

La presente invención proporciona adicionalmente, en otros aspectos, composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un modulador de VR1 como se describe en esta memoria (*es decir*, un compuesto como se proporciona

en esta invención o una forma farmacéuticamente aceptable del mismo) en combinación con un vehículo o excipiente fisiológicamente aceptable.

5 En aspectos adicionales, se proporcionan métodos para reducir la conductancia de calcio de un receptor celular de capsaicina, que comprende poner en contacto una célula (v.g., neuronal) que expresa un receptor de capsaicina con una cantidad moduladora de los receptores de capsaicina de al menos un modulador de VR1 como se describe en esta memoria. Dicho contacto tiene lugar *in vitro*.

10 Se proporcionan adicionalmente métodos para inhibir la fijación de un ligando vainilloide a un receptor de capsaicina. La inhibición tiene lugar *in vitro*. Tales métodos comprenden poner en contacto un receptor de capsaicina con al menos un modulador de VR1 como se describe en esta memoria, en condiciones y en cantidad suficientes para inhibir de modo detectable la fijación de ligandos vainilloides al receptor de capsaicina. Se describen también métodos en los cuales el receptor de capsaicina se encuentra en un paciente. Tales métodos comprenden poner en contacto células que expresan un receptor de capsaicina en un paciente con al menos un modulador de VR1 como se describe en esta memoria en una cantidad suficiente para inhibir detectablemente la fijación de ligandos vainilloides a células que expresan un receptor de capsaicina clonado *in vitro*, e inhibir con ello la fijación del ligando vainilloide al receptor de capsaicina en el paciente.

20 Se describen adicionalmente métodos para tratar una afección sensible a la modulación de los receptores de capsaicina en un paciente, que comprenden administrar al paciente una cantidad moduladora de los receptores de capsaicina de al menos un modulador de VR1 como se describe en esta memoria.

25 En otros aspectos, se describen métodos para tratamiento del dolor en un paciente, que comprenden administrar a un paciente que sufre dolor una cantidad moduladora de los receptores de capsaicina de al menos un modulador de VR1 como se describe en esta memoria.

30 Se describen adicionalmente métodos para tratamiento de prurito, incontinencia urinaria, vejiga hiperactiva, tos y/o hipo en un paciente, que comprenden administrar a un paciente que padece una o más de las afecciones que anteceden una cantidad moduladora de los receptores de capsaicina de al menos un modulador de VR1 como se describe en esta memoria.

35 Se describen adicionalmente métodos para promover la pérdida de peso en un paciente obeso, que comprenden administrar a un paciente obeso una cantidad moduladora de los receptores de capsaicina de al menos un modulador de VR1 como se describe en esta memoria.

40 En aspectos adicionales, la presente invención proporciona métodos para determinar la presencia o ausencia de un receptor de capsaicina en una muestra, que comprenden: (a) poner en contacto una muestra con un modulador de VR1 como se describe en esta memoria en afecciones que permiten la fijación del modulador de VR1 al receptor de capsaicina; y (b) detectar un nivel del modulador de VR1 fijado al receptor de capsaicina.

45 La presente invención proporciona también preparaciones farmacéuticas empaquetadas, que comprenden: (a) una composición farmacéutica como se describe en esta memoria en un envase; y (b) instrucciones para utilizar la composición con objeto de tratar una o más afecciones sensibles a la modulación de los receptores de capsaicina, tales como dolor, prurito, incontinencia urinaria, vejiga hiperactiva, tos, hipo y/u obesidad.

En otro aspecto adicional, la invención proporciona métodos de preparación de los compuestos descritos en esta memoria, con inclusión de los escalones intermedios.

50 Estos y otros aspectos de la presente invención resultarán evidentes tomando como referencia la descripción detallada que sigue.

### Descripción detallada

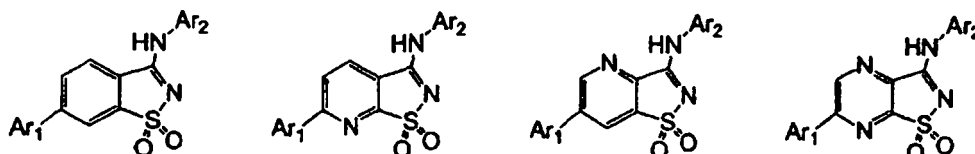
55 Como se ha indicado arriba, la presente invención proporciona moduladores de los receptores de capsaicina que son análogos de benzo[d]isotiazol-3-ilamina sustituidos con arilo. Tales moduladores se utilizan *in vitro* para modular (preferiblemente inhibir) la actividad de los receptores de capsaicina en una diversidad de contextos.

### Terminología

60 Los compuestos se describen generalmente en esta memoria utilizando nomenclatura estándar. Para los compuestos que tienen centros asimétricos, debe entenderse (a no ser que se especifique otra cosa) que están abarcados todos los isómeros ópticos y mezclas de los mismos. Adicionalmente, los compuestos con enlaces dobles carbono-carbono pueden existir en formas Z y E, estando incluidas en la presente invención todas las formas isómeras de los compuestos a no ser que se especifique otra cosa. En los casos en que un compuesto existe en diversas formas tautómeras, un compuesto citado no se limita a cualquier tautómero específico, sino que en lugar de ello debe entenderse que abarca la totalidad de las formas tautómeras. Ciertos compuestos se describen en esta memoria utilizando una fórmula general que incluye variables (v.g., R<sub>3</sub>, A<sub>1</sub>, X). A no ser que se especifique otra cosa, cada variable dentro una fórmula de este

tipo se define independientemente de cualquier otra variable, y cualquier variable que exista más de una vez en una fórmula se define independientemente en cada aparición.

El término “análogo de benzo[d]isotiazol-3-ilamina sustituido con arilo”, tal como se utiliza en esta memoria, abarca todos los compuestos que satisfacen la presente Fórmula I, así como compuestos de otras fórmulas proporcionadas en esta memoria y formas farmacéuticamente aceptables de tales compuestos. Dichos compuestos incluyen análogos en los cuales el núcleo de benzo[d]isotiazol está modificado en el número y/o la localización de los heteroátomos en el anillo, así como análogos en los cuales están unidos a una estructura de núcleo de este tipo diversos sustituyentes, tal como se describe con mayor detalle más adelante. A modo de ejemplo, y sin carácter limitante del alcance de la invención, compuestos que tienen las estructuras de núcleo siguientes (con o sin sustitución adicional en el anillo) están dentro del alcance de los análogos de benzo[d]isotiazol-3-ilamina sustituidos con arilo:



“Formas farmacéuticamente aceptables” de los compuestos citados en esta memoria son sales, hidratos, solvatos, formas cristalinas, polimorfos, quelatos, complejos no covalentes, ésteres, clatratos y profármacos farmacéuticamente aceptables de tales compuestos. Tal como se utiliza en esta memoria, una sal farmacéuticamente aceptable es una sal de ácido o de base que se considera generalmente en la técnica como adecuada para uso en contacto con los tejidos de los seres humanos o animales sin toxicidad, irritación, respuesta alérgica, u otro problema o complicación excesivos. Dichas sales incluyen sales de ácidos minerales y orgánicos de residuos básicos tales como aminas, así como sales alcalinas u orgánicas de residuos ácidos tales como ácidos carboxílicos. Sales farmacéuticas específicas incluyen, pero sin carácter limitante, sales de ácidos tales como los ácidos clorhídrico, fosfórico, bromhídrico, málico, glicólico, fumárico, sulfúrico, sulfámico, sulfanílico, fórmico, toluenosulfónico, metanosulfónico, bencenosulfónico, etandisulfónico, 2-hidroxiethylsulfónico, nítrico, benzoico, 2-acetoxibenzoico, cítrico, tartárico, láctico, esteárico, salicílico, glutámico, ascórbico, pamoico, succínico, fumárico, maleico, propiónico, hidroximaleico, yodhídrico, fenilacético, alcanico tal como acético,  $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$  donde n es 0-4, y análogos. De modo similar, cationes farmacéuticamente aceptables incluyen, pero sin carácter limitante, sodio, potasio, calcio, aluminio, litio y amonio. Las personas con experiencia ordinaria en la técnica reconocerán otras sales farmacéuticamente aceptables para los compuestos proporcionados en esta memoria, con inclusión de las enumeradas en *Remington's Pharmaceutical Sciences*, edición 17ª, Mack Publishing Company, Easton, PA, p. 1418 (1985). En general, una sal de ácido o base farmacéuticamente aceptable puede sintetizarse a partir de un compuesto originario que contiene un resto básico o ácido por cualquier método químico convencional. Resumidamente, dichas sales se pueden preparar por reacción de las formas de ácido o base libres de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base o ácido apropiada en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de ambos; generalmente, se prefiere el uso de medios no acuosos, tales como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetonitrilo.

Un “profármaco” es un compuesto que puede no satisfacer plenamente los requerimientos estructurales de los compuestos proporcionados en esta memoria, pero se modifica *in vivo*, después de la administración a un paciente, para producir un compuesto de Fórmula I, u otra fórmula proporcionada en esta memoria. Por ejemplo, un profármaco puede ser un derivado acilado de un compuesto como se proporciona en esta memoria. Profármacos incluyen compuestos en los cuales grupos hidroxilo, amina o sulfhidrilo están unidos a cualquier grupo que, una vez administrado a un individuo mamífero, se escinde para formar un grupo hidroxilo, amino, o sulfhidrilo libre, respectivamente. Ejemplos de profármacos incluyen, pero sin carácter limitante, derivados acetato, formiato y benzoato de grupos funcionales alcohol y amina en los compuestos proporcionados en esta memoria. Los profármacos de los compuestos proporcionados en esta invención pueden prepararse por modificación de grupos funcionales presentes en los compuestos de tal manera que las modificaciones se escinden para dar los compuestos originarios.

Tal como se utiliza en esta memoria, el término “alquilo” hace referencia a un hidrocarburo alifático saturado de cadena lineal o ramificada, o cíclico. Los grupos alquilo incluyen grupos que tienen de 1 a 8 átomos de carbono (alquilo  $\text{C}_1-\text{C}_8$ ), de 1 a 6 átomos de carbono (alquilo  $\text{C}_1-\text{C}_6$ ) y de 1 a 4 átomos de carbono (alquilo  $\text{C}_1-\text{C}_4$ ), tales como metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, *sec*-butilo, *terc*-butilo, pentilo, 2-pentilo, isopentilo, neopentilo, hexilo, 2-hexilo, 3-hexilo, 3-metilpentilo, ciclopropilo, ciclopropilmetilo, ciclopentilo, ciclopentilmetilo, ciclohexilo, cicloheptilo y norbornilo. “Alquilo  $\text{C}_0-\text{C}_4$ ” hace referencia a un enlace covalente simple ( $\text{C}_0$ ) o un grupo alquilo que tiene 1, 2, 3 ó 4 átomos de carbono; “alquilo  $\text{C}_0-\text{C}_6$ ” hace referencia a un enlace covalente simple o un grupo alquilo  $\text{C}_1-\text{C}_6$ ; “alquilo  $\text{C}_0-\text{C}_8$ ” hace referencia a un enlace covalente simple o un grupo alquilo  $\text{C}_1-\text{C}_8$ . En ciertas realizaciones, los grupos alquilo preferidos son de cadena lineal o ramificada. En algunos casos en esta memoria, se indica específicamente un sustituyente de un grupo alquilo. Por ejemplo, “ciano-alquilo  $\text{C}_1-\text{C}_4$ ” hace referencia a un grupo alquilo  $\text{C}_1-\text{C}_4$  que tiene al menos un sustituyente CN. Un grupo cianoalquilo ramificado representativo es  $-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CN}$ .

Análogamente, “alqueno” hace referencia a grupos alqueno de cadena lineal o ramificada o cíclicos, en los cuales está presente al menos un enlace doble insaturado carbono-carbono. Los grupos alqueno incluyen alqueno  $\text{C}_2-\text{C}_8$ , alqueno  $\text{C}_2-\text{C}_6$  y alqueno  $\text{C}_2-\text{C}_4$ , que tienen de 2 a 8, 2 a 6 ó 2 a 4 átomos de carbono, respectivamente, tales como etenilo, alilo o isopropenilo. “Alquino” hace referencia a grupos alquino de cadena lineal o ramificada o cíclicos,

## ES 2 285 525 T3

que tienen uno o más enlaces insaturados carbono-carbono, al menos uno de los cuales es un enlace triple. Grupos alquinilo incluyen grupos alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> y alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>, que tienen de 2 a 8, de 2 a 6 ó de 2 a 4 átomos de carbono, respectivamente. En ciertas realizaciones, los grupos alquinilo y alquenilo preferidos son de cadena lineal o ramificada.

5 Por “alcoxi”, tal como se utiliza en esta memoria, se entiende un grupo alquilo como se ha descrito arriba unido por un puente de oxígeno. Grupos alcoxi incluyen grupos alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, que tienen de 1 a 6 ó de 1 a 4 átomos de carbono, respectivamente. Metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, n-butoxi, *sec*-butoxi, *terc*-butoxi, n-pentoxi, 2-pentoxi, 3-pentoxi, isopentoxi, neopentoxi, hexoxi, 2-hexoxi, 3-hexoxi, y 3-metilpentoxi son grupos alcoxi  
10 específicos.

Análogamente, “alquiltio” hace referencia a un grupo alquilo, alquenilo o alquinilo como se ha descrito arriba unido por un puente de azufre. Grupos alcoxi y alquiltio preferidos son aquéllos en los cuales un grupo alquilo está unido por el puente heteroatómico.

15 El término “oxo”, tal como se utiliza en esta memoria, hace referencia a un grupo ceto (C=O). Un grupo oxo que es un sustituyente de un átomo de carbono no aromático da como resultado una conversión de -CH<sub>2</sub>- en -C(=O)-.

20 El término “alcanoílo” hace referencia a un grupo acilo en una configuración lineal o ramificada (v.g., -(C=O)-alquilo), en la cual la unión es a través del carbono del grupo ceto. Grupos alcanoílo incluyen alcanoílo C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, alcanoílo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> y alcanoílo C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>, que tienen de 2 a 8, 2 a 6 ó 2 a 4 átomos de carbono, respectivamente. “Alcanoílo C<sub>1</sub>” hace referencia a -(C=O)-H, que (junto con alcanoílo C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>) está abarcado por el término “alcanoílo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>”. Etanoílo es alcanoílo C<sub>2</sub>.

25 Una “alcanona” es un grupo cetona en el cual los átomos de carbono se encuentran en una configuración de alquilo lineal o ramificado. “Alcanona C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>”, “alcanona C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>” y “alcanona C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub>” hacen referencia a una alcanona que tiene de 3 a 8, 6 ó 4 átomos de carbono, respectivamente. A modo de ejemplo, un grupo alcanona C<sub>3</sub> tiene la estructura -CH<sub>2</sub>-(C=O)-CH<sub>3</sub>.

30 Análogamente, “alquil-éter” hace referencia a un sustituyente éter lineal o ramificado. Grupos alquil-éter incluyen grupos alquil-éter C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, alquil-éter C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> y alquil-éter C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>, que tienen 2 a 8, 6 ó 4 átomos de carbono, respectivamente. A modo de ejemplo, un grupo alquil-éter C<sub>2</sub> tiene la estructura -CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>3</sub>.

35 El término “alcoxicarbonilo” hace referencia a un grupo alcoxi enlazado por un carbonilo (*es decir*, un grupo que tiene la estructura general -C(=O)-O-alquilo). Grupos alcoxicarbonilo incluyen grupos alcoxicarbonilo C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> y C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>, que tienen de 2 a 8, 6 ó 4 átomos de carbono, respectivamente. “Alcoxicarbonilo C<sub>1</sub>” hace referencia a -C(=O)-OH, que está abarcado por el término “alcoxicarbonilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>”.

40 “Alcanoiloxi”, tal como se utiliza en esta memoria, hace referencia a un grupo alcanoílo enlazado por un puente de oxígeno (*es decir*, un grupo que tiene la estructura general -O-C(=O)-alquilo). Grupos alcanoiloxi incluyen grupos alcanoiloxi C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> y C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>, que tienen de 2 a 8, 6 ó 4 átomos de carbono, respectivamente.

45 “Alquilsulfonilo” hace referencia a grupos de la fórmula -(SO<sub>2</sub>)-alquilo, en la cual el átomo de azufre es el punto de unión. Los grupos alquilsulfonilo incluyen grupos alquilsulfonilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y alquilsulfonilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, que tienen de 1 a 6 ó 1 a 4 átomos de carbono, respectivamente. Metilsulfonilo es un grupo alquilsulfonilo representativo.

50 “Alquilsulfonamido” hace referencia a grupos de la fórmula -(SO<sub>2</sub>)-N(R)<sub>2</sub>, en la cual el átomo de azufre es el punto de unión y cada R es independientemente hidrógeno o alquilo. El término “mono- o di-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)sulfonamido” hace referencia a tales grupos en los cuales un R es alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y el otro R es hidrógeno o un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> seleccionado independientemente.

55 “Alquilamino” hace referencia a una amina secundaria o terciaria que tiene la estructura general -NH-alquilo o -N(alquil)(alquilo), en donde cada alquilo puede ser igual o diferente. Tales grupos incluyen, por ejemplo, mono- y di-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)amino, en los cuales cada grupo alquilo puede ser el mismo o diferente y puede contener de 1 a 8 átomos de carbono, así como grupos mono- y di-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)amino y grupos mono- y di-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)amino.

60 “Alquilaminoalquilo” hace referencia a un grupo alquilamino enlazado a través de un grupo alquilo (*es decir*, un grupo que tiene la estructura general -alquil-NH-alquilo o -alquil-N(alquil)(alquilo)) en la cual cada alquilo se selecciona independientemente. Tales grupos incluyen, por ejemplo, mono- y di-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)amino-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, mono- y di-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)amino-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y mono- y di-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)amino-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, en los cuales cada alquilo puede ser igual o diferente. “Mono- o di-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)amino-alquilo C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>” hace referencia a un grupo mono- o di-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)amino enlazado a través de un enlace directo o un grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>. Los siguientes son grupos alquilaminoalquilo representativos:



## ES 2 285 525 T3

El término “aminocarbonilo” hace referencia a un grupo amida (es decir,  $-(C=O)NH_2$ ). “Mono- o di-(alquilo  $C_1-C_8$ ) aminocarbonilo” es un grupo aminocarbonilo en el cual uno o los dos átomos de hidrógeno está(n) reemplazado(s) con alquilo  $C_1-C_8$ . Si están reemplazados de este modo los dos átomos de hidrógeno, los grupos alquilo  $C_1-C_8$  pueden ser iguales o diferentes.

5

El término “halógeno” hace referencia a flúor, cloro, bromo o yodo.

Un “haloalquilo” es un grupo alquilo ramificado, de cadena lineal o cíclico, sustituido con uno o más átomos de halógeno (v.g., los grupos “haloalquilo  $C_1-C_8$ ” tienen de 1 a 8 átomos de carbono; los grupos “haloalquilo  $C_1-C_6$ ” tienen de 1 a 6 átomos de carbono). Ejemplos de grupos haloalquilo incluyen, pero sin carácter limitante, mono- di- o tri-fluorometilo; mono-, di- o tri-clorometilo; mono- di-, tri-, tetra- o penta-fluoroetilo; mono-, di-, tri-, tetra- o penta-cloroetilo; y 1,2,2,2-tetrafluoro-1-trifluorometil-etilo. Grupos haloalquilo típicos son trifluorometilo y difluorometilo. El término “haloalcoxi” hace referencia a un grupo haloalquilo como se ha definido arriba unido a través de un puente de oxígeno. Los grupos “haloalcoxi  $C_1-C_8$ ” tienen 1 a 8 átomos de carbono.

15

Un guión (“-”) que no está entre dos letras o símbolos se utiliza para indicar un punto de unión para un sustituyente. Por ejemplo,  $-CONH_2$  está unido a través del átomo de carbono.

Un “carbociclo” o “grupo carbocíclico” comprende al menos un anillo formado enteramente por enlaces carbono-carbono (al que se hace referencia en esta memoria como anillo carbocíclico), y no contiene un anillo heterocíclico. A no ser que se especifique otra cosa, cada anillo carbocíclico dentro de un carbociclo puede ser saturado, parcialmente saturado o aromático. Un carbociclo tiene generalmente de 1 a 3 anillos condensados, colgantes o de tipo espiro; en ciertas realizaciones, los carbociclos tienen un solo anillo o dos anillos condensados. Típicamente, cada anillo contiene de 3 a 8 miembros de anillo (es decir,  $C_3-C_8$ ; en ciertas realizaciones se citan anillos  $C_5-C_7$ ). Los carbociclos que comprenden anillos condensados, colgantes o de tipo espiro contienen típicamente de 9 a 14 miembros de anillo. Ciertos carbociclos representativos son cicloalquilo (es decir, grupos que comprenden anillos saturados y/o parcialmente saturados, tales como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, adamantilo, decahidro-naftalenilo, octahidro-indenilo, y variantes parcialmente saturadas de cualquiera de los anteriores, tales como ciclohexenilo). Otros carbociclos son arilo (es decir, contienen al menos un anillo carbocíclico aromático). Tales carbociclos incluyen, por ejemplo, fenilo, naftilo, fluorenilo, indanilo y 1,2,3,4-tetrahidro-naftilo.

Ciertos carbociclos citados en esta memoria son grupos aril  $C_6-C_{10}$ -alquilo  $C_0-C_8$  (es decir, grupos en los cuales un grupo carbocíclico que contiene al menos un anillo aromático está enlazado por un enlace directo o un grupo alquilo  $C_1-C_8$ ). Tales grupos incluyen, por ejemplo, fenilo e indanilo, así como grupos en los cuales cualquiera de los anteriores está enlazado por alquilo  $C_1-C_8$ , preferiblemente por alquilo  $C_1-C_4$ . Los grupos fenilo enlazados por un enlace directo o grupo alquilo pueden designarse fenil-alquilo  $C_0-C_8$  (v.g., bencilo, 1-fenil-etilo, 1-fenil-propilo y 2-fenil-etilo).

Un “heterociclo” o “grupo heterocíclico” tiene de 1 a 3 anillos condensados, colgantes o de tipo espiro, al menos uno de los cuales es un anillo heterocíclico (es decir, uno o más átomos del anillo es un heteroátomo, siendo los átomos restantes del anillo átomos de carbono). Típicamente, un anillo heterocíclico comprende 1, 2, 3 ó 4 heteroátomos; en ciertas realizaciones, cada anillo heterocíclico tiene 1 ó 2 heteroátomos por anillo. Cada anillo heterocíclico contiene generalmente de 3 a 8 miembros de anillo (en ciertas realizaciones se citan anillos que tienen de 4 ó 5 a 7 miembros de anillo) y los heterociclos que comprenden anillos condensados, colgantes o de tipo espiro contienen típicamente de 9 a 14 miembros de anillo. Ciertos heterociclos comprenden un átomo de azufre como un miembro de anillo; en ciertas realizaciones, el átomo de azufre está oxidado a  $SO$  o  $SO_2$ . Los heterociclos pueden estar sustituidos opcionalmente con una diversidad de sustituyentes, tal como se indica. A no ser que se especifique otra cosa, un heterociclo puede ser un grupo heterocicloalquilo (es decir, cada anillo es saturado o parcialmente saturado) o un grupo heteroarilo (es decir, al menos un anillo dentro del grupo es aromático). Un grupo heterocíclico puede estar unido generalmente por cualquier anillo o átomo sustituyente, con la condición de que resulte un compuesto estable. Los grupos heterocíclicos unidos a N están enlazados por un componente que es un átomo de nitrógeno.

Grupos heterocíclicos incluyen, por ejemplo, azepanilo, azocinilo, bencimidazolilo, bencimidazolinilo, bencisotiazolilo, bencisoxazolilo, benzofuranilo, benzo-tiofuranilo, benzoxazolilo, benzotiazolilo, benzotetrazolilo, cromanilo, cromenilo, cinnolinilo, deca-hidroquinolinilo, dihidrofuro[2,3-b]tetrahidrofuranilo, dihidroisoquinolinilo, dihidrotetrahidrofuranilo, 1,4-dioxa-8-azaspiro[4.5]decilo, ditiazinilo, furanilo, furazanilo, imidazolinilo, imidazolidinilo, imidazolilo, indazolilo, indolenilo, indolinilo, indolizínilo, indolilo, isobenzofuranilo, isocromanilo, isoindazolilo, isoindolinilo, isoindolilo, isotiazolilo, isoxazolilo, isoquinolinilo, morfolinilo, naftiridinilo, octahidroisoquinolinilo, oxadiazolilo, oxazolidinilo, oxazolilo, ftalazinilo, piperazinilo, piperidinilo, piperidinilo, piperidonilo, pteridinilo, purinilo, piranilo, pirazinilo, pirazolidinilo, pirazolinilo, pirazolilo, piridazinilo, piridoimidazolilo, piridooxazolilo, piridotiazolilo, piridilo, pirimidilo, pirrolidinilo, pirrolidonilo, pirrolinilo, pirrolilo, quinazolinilo, quinolinilo, quinoxalinilo, quinuclidinilo, tetrahidroisoquinolinilo, tetrahidroquinolinilo, tetrazolilo, tiadiazinilo, tiadiazolilo, tiazolilo, tienotiazolilo, tienooxazolilo, tienoimidazolilo, tienilo, tiofenilo, tiomorfolinilo y variantes de los mismos en las cuales el átomo de azufre está oxidado, triazinilo, y cualquiera de los anteriores que están sustituidos con 1 a 4 sustituyentes como se han descrito arriba.

Un “heterociclo-alquilo  $C_0-C_6$ ” es un grupo heterociclo unido a través de un enlace directo o grupo alquilo  $C_1-C_8$ . Un (heterociclo de 3 a 10 miembros)-alquilo  $C_0-C_6$  es un grupo heterocíclico que tiene de 3 a 10 miembros de

anillo unidos a través de un enlace covalente simple o un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono. Si el heterociclo es heteroarilo, el grupo se designa (heteroaril de 5 a 10 miembros)-alquilo C<sub>0</sub>-C<sub>8</sub>. Un (heterociclo de 5 a 7 miembros)-alquilo C<sub>0</sub>-C<sub>8</sub> es un anillo heterocíclico de 5 a 7 miembros unido a través de un enlace covalente simple o un grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>.

Ciertos grupos heterocíclicos son grupos de 4 a 10 miembros, de 5 a 10 miembros, de 3 a 7 miembros, de 4 a 7 miembros o de 5 a 7 miembros que contienen 1 anillo heterocíclico o 2 anillos condensados o de tipo espiro, opcionalmente sustituidos. Grupos heterocicloalquilo de 4 a 10 miembros incluyen, por ejemplo, piperidinilo, piperazinilo, pirrolidinilo, azepanilo, 1,4-dioxa-8-aza-espiro[4.5]dec-8-ilo, morfolino, tiomorfolino y 1,1-dioxo-tiomorfolin-4-ilo. Tales grupos pueden estar sustituidos como se indica. Heterociclos aromáticos representativos son azocinilo, piridilo, pirimidilo, imidazolilo, tetrazolilo y 3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-ilo.

Un “sustituyente”, tal como se utiliza en esta memoria, hace referencia a un resto molecular que está enlazado covalentemente a un átomo dentro de una molécula de interés. Por ejemplo, un “sustituyente en el anillo” puede ser un resto tal como halógeno, grupo alquilo, grupo haloalquilo u otro grupo expuesto en esta memoria que está unido covalentemente a un átomo (preferiblemente un átomo de carbono o nitrógeno) que es un miembro del anillo. El término “sustitución” hace referencia al reemplazamiento de un átomo de hidrógeno en una estructura molecular con un sustituyente como se describe arriba, tal que la valencia en el átomo designado no se sobrepasa, y tal que de la sustitución resulta un compuesto químicamente estable (es decir, un compuesto que puede aislarse, caracterizarse, y ensayarse en cuanto a actividad biológica).

Grupos que están “opcionalmente sustituidos” están insustituidos o están sustituidos por un sustituyente distinto de hidrógeno en una o más posiciones disponibles, típicamente 1, 2, 3, 4 ó 5 posiciones, con uno o más grupos adecuados (que pueden ser iguales o diferentes). Tales sustituyentes opcionales incluyen, por ejemplo, hidroxilo, halógeno, ciano, nitro, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, alquino C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alquil-éter C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, alcanona C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>, alquiltio C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, amino, mono- o di-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)amino, haloalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, haloalcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alcanoilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alcanoloxi C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, alcocarbonilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, -COOH, -CONH<sub>2</sub>, mono- o di-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)aminocarbonilo, -SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, y/o mono- o di-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)sulfonamido, así como grupos carbocíclicos y heterocíclicos. La sustitución opcional se indica también por la frase “sustituido con 0 a X sustituyentes”, donde X es el número máximo de sustituyentes posibles. Ciertos grupos opcionalmente sustituidos están sustituidos con 0 a 2, 3 ó 4 sustituyentes seleccionados independientemente (es decir, están insustituidos o sustituidos con hasta el número máximo de sustituyentes indicado).

Los términos “VR1” y “receptor de capsaicina” se utilizan intercambiamente en esta memoria para hacer referencia a un receptor vainilloide de tipo 1. A no ser que se especifique otra cosa, estos términos abarcan receptores VR1 tanto de rata como humanos (v.g., Números de Acceso en GenBank AF327067, AJ277028 y NM\_018727; secuencias de ciertos cDNAs de VR1 humano se proporcionan en SEQ ID NOs: 1-3, y las secuencias de aminoácidos codificadas que se muestran en SEQ ID NOs: 4 y 5 de la patente U.S. No. 6.482.611), así como homólogos de los mismos encontrados en otras especies.

Un “modulador de VR1”, al que se hace referencia también en esta memoria como un “modulador”, es un compuesto que modula la activación de VR1 y/o la transducción de señales mediadas por VR1. Moduladores de VR1 proporcionados específicamente en esta memoria son compuestos de Fórmula I y formas farmacéuticamente aceptables de compuestos de Fórmula I. Un modulador de VR1 puede ser un agonista o antagonista de VR1. Un modulador se fija con “afinidad alta” si el valor K<sub>i</sub> en VR1 es menor que 1 micromolar, preferiblemente menor que 100 nanomolar, 10 nanomolar o 1 nanomolar. Un ensayo representativo para determinar K<sub>i</sub> en VR1 se proporciona en el Ejemplo 3 de esta memoria.

Un modulador se considera un “antagonista” si el mismo inhibe detectablemente la fijación de ligandos vainilloides a VR1 y/o la transducción de señales mediadas por VR1 (utilizando, por ejemplo, el ensayo representativo proporcionado en el Ejemplo 4); en general, un antagonista de este tipo inhibe la activación de VR1 con un valor CI<sub>50</sub> menor que 1 micromolar, preferiblemente menor que 100 nanomolar, y más preferiblemente menor que 10 nanomolar o 1 nanomolar en el ensayo proporcionado en el Ejemplo 4. Los antagonistas de VR1 incluyen antagonistas neutros y agonistas inversos. En ciertas realizaciones, los antagonistas de los receptores de capsaicina proporcionados en esta memoria no son vainilloides.

Un “agonista inverso” de VR1 es un compuesto que reduce la actividad de VR1 por debajo de su nivel de actividad basal en ausencia de ligando vainilloide añadido. Los agonistas inversos de VR1 pueden inhibir también la actividad del ligando vainilloide en VR1, y/o pueden inhibir también la fijación del ligando vainilloide a VR1. La capacidad de un compuesto para inhibir la fijación de ligando vainilloide a VR1 puede medirse por un ensayo de fijación, tal como el ensayo de fijación dado en el Ejemplo 3. La actividad basal de VR1, así como la reducción en la actividad de VR1 debida a la presencia de antagonista de VR1, puede determinarse por un ensayo de movilización de calcio, tal como el ensayo del Ejemplo 4.

Un “antagonista neutro” de VR1 es un compuesto que inhibe la actividad del ligando vainilloide en VR1, pero no cambia significativamente la actividad basal del receptor (a saber, en un ensayo de movilización de calcio como se describe en el Ejemplo 4 realizado en ausencia de ligando vainilloide, la actividad de VR1 se reduce en no más de 10%, más preferiblemente en no más de 5%, y aún más preferiblemente en no más de 2%; muy preferiblemente, no

## ES 2 285 525 T3

hay reducción detectable alguna en actividad). Los antagonistas neutros de VR1 pueden inhibir la fijación de ligando vainilloide a VR1.

5 Como se utiliza en esta memoria, un “agonista de receptores de capsaicina” o “agonista de VR1” es un compuesto que eleva la actividad del receptor por encima del nivel de actividad basal del receptor (es decir, aumenta la activación de VR1 y/o la transducción de señales mediada por VR1). La actividad antagonista del receptor de capsaicina puede identificarse utilizando el ensayo representativo proporcionado en el Ejemplo 4. En general, un agonista de este tipo tiene un valor  $CE_{50}$  menor que 1 micromolar, preferiblemente menor que 100 nanomolar, y más preferiblemente menor que 10 nanomolar en el ensayo proporcionado en el Ejemplo 4. En ciertas realizaciones, los agonistas del receptor de capsaicina proporcionados en esta memoria no son vainilloides.

15 Un “vainilloide” es capsaicina o cualquier análogo de capsaicina que comprende un anillo fenilo con dos átomos de oxígeno unidos a átomos de carbono adyacentes del anillo (uno de cuyos átomos de carbono está localizado en posición *para* respecto al punto de unión de un tercer resto que está unido al anillo fenilo). Un vainilloide es un “ligando vainilloide” si el mismo se fija a VR1 con un valor  $K_i$  (determinado como se describe en esta memoria) que es no mayor que  $10 \mu M$ . Los agonistas de ligandos vainilloides incluyen capsaicina, olvanil, N-araquidonoil-dopamina y resiniferotoxina (RTX). Los antagonistas de ligandos vainilloides incluyen capsazepina y yodo-resiniferatoxina.

20 Una “cantidad moduladora del receptor de capsaicina” es una cantidad que, después de administración a un paciente, alcanza una concentración de modulador de VR1 en un receptor de capsaicina en el cuerpo del paciente que es suficiente para alterar la fijación del ligando vainilloide a VR1 *in vitro* (utilizando el ensayo proporcionado en el Ejemplo 3) y/o transducción de señales mediadas por VR1 (utilizando un ensayo proporcionado en el Ejemplo 4). El receptor de capsaicina puede estar presente, por ejemplo, en un fluido corporal tal como sangre, plasma, suero, CSF, fluido sinovial, linfa, fluido celular intersticial, lágrimas u orina.

25 Una “cantidad terapéuticamente eficaz” es una cantidad que, después de la administración, es suficiente para proporcionar alivio detectable a un paciente respecto a una afección objeto de tratamiento. Dicho alivio puede detectarse utilizando cualesquiera criterios apropiados, con inclusión del alivio de uno o más síntomas tales como dolor.

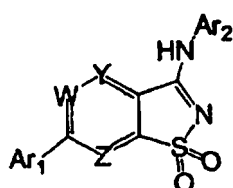
30 Un “paciente” es cualquier individuo tratado con un modulador de VR1 como se proporciona en esta memoria. Los pacientes incluyen humanos, así como otros animales tales como animales de compañía (v.g., perros y gatos) y ganado. Los pacientes pueden estar experimentando uno o más síntomas de una afección sensible a la modulación de receptores de capsaicina (v.g., dolor, exposición a ligandos vainilloides, prurito, incontinencia urinaria, vejiga hiperactiva, trastornos respiratorios, tos y/o hipo), o pueden estar exentos de dicho o dichos síntomas (es decir, el tratamiento puede ser profiláctico).

### Moduladores de VR1

40 Como se ha indicado arriba, la presente invención proporciona moduladores de VR1 que pueden utilizarse en una diversidad de contextos, con inclusión del tratamiento del dolor (v.g., dolor neuropático o dolor mediado por nervios periféricos); exposición a capsaicina; exposición a ácido, calor, luz, gases lacrimógenos, contaminantes del aire, spray de pimienta o agentes afines; afecciones respiratorias tales como asma o enfermedad pulmonar obstructiva crónica; prurito, incontinencia urinaria o vejiga hiperactiva, tos o hipo; y/u obesidad. Los moduladores de VR1 pueden utilizarse también en ensayos *in vitro* (v.g., ensayos para actividad de receptores), como sondas para detección y localización de VR1 y como patrones en ensayos de fijación de ligandos y transducción de señales mediadas por VR1.

45 Los moduladores de VR1 proporcionados en esta memoria son análogos de benzo[d]isotiazol-3-ilamina sustituidos con arilo que modulan detectablemente la fijación de capsaicina a VR1 a concentraciones nanomolares (es decir, submicromolares), preferiblemente a concentraciones subnanomolares, más preferiblemente a concentraciones inferiores a 100 picomolares, o incluso inferiores a 20 picomolares. Preferiblemente, tales moduladores no son vainilloides. Ciertos moduladores preferidos son antagonistas de VR1 y no tienen actividad agonista detectable alguna en el ensayo descrito en el Ejemplo 4. En ciertas realizaciones, tales moduladores se fijan adicionalmente con afinidad alta a VR1, y no inhiben sustancialmente la actividad de la tirosina-quinasa del receptor de EGF humano.

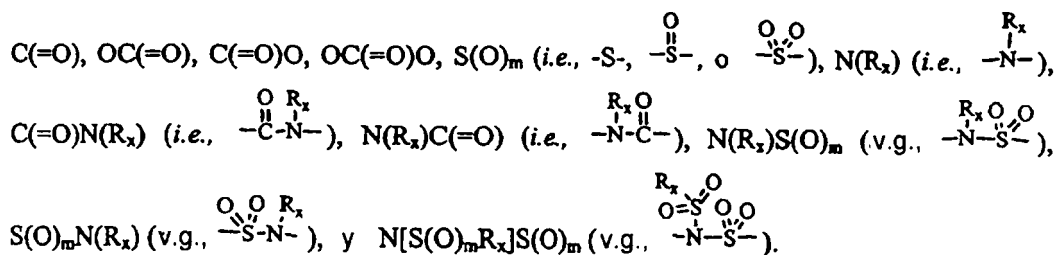
55 La presente invención está basada, en parte, en el descubrimiento de que pequeñas moléculas que tienen la fórmula general I (así como formas farmacéuticamente aceptables de las mismas) modulan la actividad de VR1. Variables para la Fórmula I son como se ha indicado anteriormente.



Fórmula I

## ES 2 285 525 T3

Como se ha indicado arriba, Ar<sub>1</sub> y Ar<sub>2</sub> son independientemente un carbociclo o heterociclo, opcionalmente sustituido. Ciertos sustituyentes se seleccionan de grupos de la fórmula LR<sub>a</sub>. Como se ha indicado arriba, L se selecciona independientemente en cada caso de: un enlace covalente simple, O,



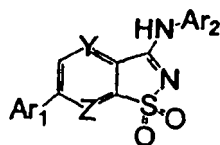
En ciertas realizaciones, Ar<sub>2</sub> es fenilo opcionalmente sustituido o un anillo aromático heterocíclico de 6 miembros opcionalmente sustituido. Tales grupos Ar<sub>2</sub> incluyen, pero sin carácter limitante, fenilo, piridilo y pirimidilo, cada uno de los cuales está sustituido con 1 ó 2 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, ciano, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, halo-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, halo-alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alquilsulfonilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y mono- y di-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)sulfonamido. Grupos Ar<sub>2</sub> representativos incluyen fenilo y piridilo (sustituidos opcionalmente con halógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> o halo-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>). En ciertas realizaciones, un sustituyente de Ar<sub>2</sub> está localizado en la posición del anillo que es *para* respecto al punto de unión. Dicho de otro modo, si Ar<sub>2</sub> es fenilo, el sustituyente está localizado en la posición 4. Análogamente, si Ar<sub>2</sub> es 2-piridilo, el sustituyente está localizado en la posición 5.

En ciertas realizaciones, Ar<sub>1</sub> es fenilo o piridilo, sustituido con 1 ó 2 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno (v.g., fluoro o cloro), ciano, COOH, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> (v.g., metilo), halo-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> (v.g., trifluorometilo), alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, halo-alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alquilsulfonilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y mono- y di-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)sulfonamido. En ciertas realizaciones, Ar<sub>1</sub> está monosustituido en la posición *orto* respecto al punto de unión (es decir, la posición 2 si Ar<sub>1</sub> es fenilo sustituido; la posición 3 si Ar<sub>1</sub> es 2-piridilo sustituido). Grupos Ar<sub>1</sub> preferidos son 2-piridilo, sustituido con 1 ó 2 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, ciano, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, halo-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, halo-alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alquilsulfonilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y mono- o di-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)sulfonamido. Ciertos grupos Ar<sub>1</sub> de este tipo son grupos 2-piridilo que están sustituidos en la posición 3; ejemplos de tales grupos son 3-metil-piridin-2-ilo, 3-cloro-piridin-2-ilo, 3-ciano-piridin-2-ilo y 3-trifluoro-metil-piridin-2-ilo.

W, Y, y Z, en ciertas realizaciones, son independientemente N o CH. Por ejemplo, uno de W, Y y Z puede ser N, siendo los otros CH. Alternativamente, uno de W, Y y Z puede ser CH, siendo los otros N. En ciertos compuestos, W es CH; e Y y Z son independientemente N o CH.

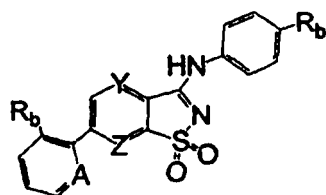
En los compuestos de Fórmula I, Ar<sub>1</sub> es fenilo o 2-piridilo, sustituido con 1 ó 2 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, ciano, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> y halo-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>; y Ar<sub>2</sub> es fenilo o piridilo, sustituido con 1 ó 2 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, ciano, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, halo-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alquilsulfonilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, y mono- y di-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)sulfonamido.

Ciertos compuestos proporcionados en esta memoria satisfacen adicionalmente la Fórmula II, en la cual Ar<sub>1</sub> y Ar<sub>2</sub> se seleccionan independientemente de fenilo sustituido, piridilo sustituido y pirimidilo sustituido, e Y y Z son como se describe para la Fórmula I.



Fórmula II

Ciertos compuestos proporcionados en esta memoria satisfacen adicionalmente la Fórmula III, en donde A es CH o N, cada R<sub>b</sub> es independientemente halógeno, ciano, nitro o LR<sub>a</sub>, y las otras variables son como se describe para la Fórmula I.



Fórmula III

## ES 2 285 525 T3

Compuestos representativos de Fórmula I, incluyen, pero sin carácter limitante, los proporcionados en esta memoria en el Ejemplo 1 y la Tabla I. Será evidente que los compuestos citados específicamente en esta memoria son únicamente representativos, y no tienen por objeto limitar el alcance de la presente invención. Adicionalmente, tal como se ha indicado arriba, todos los compuestos de la presente invención pueden estar presentes como una base libre o como una forma farmacéuticamente aceptable tal como una sal de adición de ácido.

Los análogos de benzo[d]isotiazol-3-ilamina sustituidos con arilo proporcionados en esta invención alteran (modulan) detectablemente la actividad de VR1, tal como se determina utilizando un ensayo de fijación de ligandos de VR1 *in vitro* y/o un ensayo funcional tal como un ensayo de movilización de calcio, ensayo de ganglios de la raíz dorsal o ensayo de alivio del dolor *in vivo*. Las referencias en esta memoria a un “ensayo de fijación de ligandos de VR1” tienen por objeto hacer referencia a un ensayo estándar de fijación de receptores *in vitro* tal como el proporcionado en el Ejemplo 3, y un “ensayo de movilización de calcio” (al que se hace referencia también en esta memoria como un “ensayo de transducción de señales”) puede realizarse como se describe en el Ejemplo 4. Resumidamente, para evaluar la fijación a VR1, puede realizarse un ensayo de competición en el cual una preparación de VR1 se incuba con un compuesto marcado (v.g.,  $^{125}\text{I}$  o  $^3\text{H}$ ) que se fija a VR1 (v.g., un agonista del receptor de capsaicina tal como RTX) y un compuesto de ensayo sin marcar. En los ensayos proporcionados en esta memoria, el VR1 utilizado es preferiblemente VR1 de mamífero, más preferiblemente VR1 humano o de rata. El receptor puede expresarse recombinantemente o expresarse naturalmente. La preparación de VR1 puede ser, por ejemplo, una preparación de membrana de células HEK293 o CHO que expresan recombinantemente VR1 humano. La incubación con un compuesto que modula detectablemente la fijación de ligandos vainilloides a VR1 da como resultado una disminución o un aumento en la cantidad de marcador fijada a la preparación de VR1, con relación a la cantidad de marcador fijada en ausencia del compuesto. Esta disminución o este aumento pueden utilizarse para determinar el valor  $K_i$  en VR1 como se describe en esta memoria. En general, se prefieren compuestos que reducen la cantidad de marcador fijada a la preparación de VR1 en un ensayo de este tipo.

Como se ha indicado arriba, en ciertas realizaciones se prefieren compuestos que son antagonistas de VR1. Los valores  $\text{CI}_{50}$  para tales compuestos pueden determinarse utilizando un ensayo estándar de inmovilización de calcio mediada por VR1 *in vitro*, tal como se proporciona en el Ejemplo 4. Resumidamente, células que expresan el receptor de capsaicina se ponen en contacto con un compuesto de interés y con un indicador de la concentración intracelular de calcio (v.g., un tinte de sensibilidad al calcio permeable a través de la membrana tal como Fluo-3 o Fura-2 (los dos cuales están disponibles, por ejemplo, de Molecular Probes, Eugene, OR), cada uno de los cuales produce una señal fluorescente cuando está fijado a  $\text{Ca}^{++}$ ). Dicho contacto se lleva a cabo preferiblemente por una o más incubaciones de las células en tampón o medio de cultivo que comprende uno cualquiera o ambos del compuesto y el indicador en solución. El contacto se mantiene durante un período de tiempo suficiente para permitir que el tinte entre en las células (v.g., 1-2 horas). Las células se lavan o se filtran para eliminar el exceso de tinte y se ponen luego en contacto con un agonista del receptor de vainilloides (v.g., capsaicina, RTX u olvanil), típicamente a una concentración igual a la concentración  $\text{CE}_{50}$ , y se mide una respuesta de fluorescencia. Cuando las células puestas en contacto con el agonista están en contacto con un compuesto que es un antagonista de VR1, la respuesta de fluorescencia se reduce generalmente al menos en un 20%, preferiblemente al menos en un 50%, y más preferiblemente al menos en un 80%, en comparación con las células que están en contacto con el agonista en ausencia de compuesto de ensayo. El valor  $\text{CI}_{50}$  para los antagonistas de VR1 proporcionados en esta invención es preferiblemente menor que 1 micromolar, menor que 100 nM, menor que 10 nM o menor que 1 nM.

En otras realizaciones, se prefieren compuestos que son agonistas del receptor de capsaicina. La actividad agonista de los receptores de capsaicina puede determinarse generalmente como se describe en el Ejemplo 4. Cuando las células se ponen en contacto con una concentración 1 micromolar de un compuesto que es un agonista de VR1, la respuesta de fluorescencia se incrementa generalmente en una cantidad que es al menos 30% del aumento observado cuando las células se ponen en contacto con capsaicina 100 nM. El valor  $\text{CE}_{50}$  para los agonistas de VR1 proporcionados en esta invención es preferiblemente menor que 1 micromolar, menor que 100 nM o menor que 10 nM.

La actividad moduladora de VR1 puede evaluarse asimismo o alternativamente, utilizando un ensayo de ganglios cultivados de la raíz dorsal como se proporciona en el Ejemplo 7 y/o un ensayo de alivio del dolor *in vivo* como se proporciona en el Ejemplo 8. Los compuestos proporcionados en esta invención tienen preferiblemente un efecto específico estadísticamente significativo sobre la actividad de VR1 en uno o más ensayos funcionales proporcionados en esta memoria.

En ciertas realizaciones, los moduladores de VR1 proporcionados en esta invención no modulan sustancialmente la fijación de ligandos a otros receptores de la superficie celular, tales como la tirosina-quinasa receptora de EGF o el receptor nicotínico de acetilcolina. Dicho de otro modo, tales moduladores no inhiben sustancialmente la actividad de un receptor de la superficie celular tal como el receptor tirosina-quinasa del factor de crecimiento epidérmico (EGF) humano o el receptor nicotínico de acetilcolina (v.g., el valor  $\text{CI}_{50}$  o  $\text{CI}_{40}$  para tal receptor es preferiblemente mayor que 1 micromolar, y muy preferiblemente mayor que 10 micromolar). Preferiblemente, un modulador no inhibe detectablemente la actividad del receptor de EGF o la actividad del receptor nicotínico de acetilcolina a una concentración de 0,5 micromolar, 1 micromolar o más preferiblemente 10 micromolar. Ensayos para determinar la actividad de los receptores de la superficie celular están disponibles comercialmente, e incluyen kits para el ensayo de tirosina-quinasa disponibles de Panvera (Madison, WI).

## ES 2 285 525 T3

Los moduladores de VR1 preferidos proporcionados en esta invención son no sedantes. En otras palabras, una dosis de modulador de VR1 que es dos veces la dosis mínima suficiente para proporcionar analgesia en un modelo animal a fin de determinar el alivio del dolor (tal como un modelo proporcionado en el Ejemplo 8, en esta memoria) causa solamente una sedación transitoria (es decir, que no dura más de la mitad del tiempo de duración del alivio del dolor) o preferiblemente no causa sedación alguna estadísticamente significativa en un ensayo de sedación en animales modelo (utilizando el método descrito por Fitzgerald *et al.* (1988) *Toxicology* 49(2-3): 433-9). Preferiblemente, una dosis que es 5 veces la dosis mínima suficiente para proporcionar analgesia no produce una sedación estadísticamente significativa. Más preferiblemente, un modulador de VR1 proporcionado en esta invención no produce sedación a dosis intravenosas menores que 25 mg/kg (preferiblemente menores que 10 mg/kg) o a dosis orales menores que 140 mg/kg (preferiblemente menores que 50 mg/kg, más preferiblemente menores que 30 mg/kg).

Si se desea, los moduladores de VR1 proporcionados en esta invención pueden evaluarse respecto a ciertas propiedades farmacológicas que incluyen, pero sin carácter limitante, biodisponibilidad oral (los compuestos preferidos están biodisponibles por vía oral en un grado que permite alcanzar concentraciones terapéuticamente eficaces del compuesto a dosis orales menores que 140 mg/kg, preferiblemente menores que 50 mg/kg, más preferiblemente menores que 30 mg/kg, aún más preferiblemente menores que 10 mg/kg, aún más preferiblemente menores que 1 mg/kg y muy preferiblemente menores que 0,1 mg/kg), toxicidad (un modulador de VR1 preferido es no tóxico cuando se administra una cantidad moduladora de los receptores de capsaicina a un paciente), efectos secundarios (un modulador de VR1 preferido produce efectos secundarios comparables al placebo cuando se administra a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto), fijación de proteínas del suero y semi-vida *in vitro* e *in vivo* (un modulador de VR1 preferido exhibe una semi-vida *in vitro* que es igual a una semi-vida *in vivo* permitiendo la dosificación cuatro veces al día, preferiblemente dosificación tres veces al día, más preferiblemente dosificación dos veces al día, y muy preferiblemente dosificación una sola vez al día). Adicionalmente, la penetración diferencial de la barrera hematoencefálica puede ser deseable para los moduladores de VR1 utilizados para tratar el dolor por modulación de la actividad de VR1 en el CNS de tal modo que dosis orales diarias totales como se han descrito arriba proporcionan dicha modulación en un grado terapéuticamente eficaz, si bien pueden preferirse niveles bajos en cerebro de los moduladores de VR1 utilizados para tratar el dolor mediado por los nervios periféricos (es decir, dichas dosis no proporcionan niveles en cerebro (*v.g.*, en el CSF) del compuesto suficientes para modular significativamente la actividad de VR1). Ensayos de rutina que son bien conocidos en la técnica pueden utilizarse para evaluar estas propiedades, e identificar compuestos superiores para un uso particular. Por ejemplo, los ensayos utilizados para predecir la biodisponibilidad incluyen el transporte a través de monocapas de células intestinales humanas, con inclusión de monocapas de células Caco-2. La penetración de la barrera hematoencefálica de un compuesto en humanos puede predecirse a partir de los niveles en cerebro del compuesto en animales de laboratorio a los que se administra el compuesto (*v.g.*, por vía intravenosa). La fijación de proteínas del suero puede predecirse a partir de ensayos de fijación de albúmina. La semi-vida de los compuestos es inversamente proporcional a la frecuencia de dosificación de un compuesto. Las semividas *in vitro* de los compuestos pueden predecirse a partir de ensayos de semi-vida de microsomas como se describen en el Ejemplo 5 de esta memoria.

Como se ha indicado arriba, los moduladores de VR1 preferidos proporcionados en esta invención son no tóxicos. En general, el término “no tóxico” tal como se utiliza en esta memoria debe entenderse en un sentido relativo y tiene por objeto hacer referencia a cualquier sustancia que haya sido aprobada por la administración de Alimentos y Fármacos de los Estados Unidos (“FDA”) para administración a mamíferos (preferiblemente humanos) o, en conformidad con criterios establecidos, es susceptible de aprobación por la FDA para administración a mamíferos (preferiblemente humanos). Adicionalmente, un compuesto no tóxico muy preferido satisface por regla general uno o más de los criterios siguientes: (1) no inhibe sustancialmente la producción de ATP celular; (2) no prolonga significativamente los intervalos cardiacos (QT); (3) no causa engrosamiento sustancial del hígado, y (4) no causa liberación sustancial de enzimas hepáticas.

Tal como se utiliza en esta memoria, un modulador de VR1 que “no inhibe sustancialmente la producción de ATP celular” es un compuesto que satisface los criterios expuestos en el Ejemplo 8 de esta memoria. Dicho de otro modo, las células tratadas como se describe en el Ejemplo 6 con 100  $\mu$ M de un compuesto de este tipo exhiben niveles de ATP que son al menos 50% de los niveles de ATP detectados en células sin tratar. En realizaciones más preferidas, dichas células exhiben niveles de ATP que son al menos 80% de los niveles de ATP detectados en células sin tratar.

Un modulador de VR1 que “no prolonga significativamente los intervalos cardiacos QT” es un compuesto que no da como resultado una prolongación estadísticamente significativa de los intervalos cardiacos QT (tal como se determina por electrocardiografía) en cobayos, lechones o perros después de administración de dos veces la dosis mínima que produce una concentración *in vivo* terapéuticamente eficaz. En ciertas realizaciones preferidas, una dosis de 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1, 5, 10, 40 ó 50 mg/kg administrada por vía parenteral u oral no da como resultado una prolongación estadísticamente significativa de los intervalos cardiacos QT. Por “estadísticamente significativo” se entienden resultados que varían con respecto al control al nivel de  $p < 0,1$  o más preferiblemente al nivel  $p < 0,05$  de significación, tal como se mide utilizando un ensayo paramétrico estándar de significación estadística tal como un ensayo T de Student.

Un modulador de VR1 “no causa engrosamiento sustancial del hígado” si el tratamiento diario de roedores de laboratorio (*v.g.*, ratones o ratas) durante 5-10 días con dos veces la dosis mínima que proporciona una concentración terapéuticamente eficaz *in vivo* da como resultado un aumento en la relación de peso de hígado a cuerpo que no es mayor que 100% con respecto a controles equiparables. En realizaciones más preferidas, dichas dosis no causan un

## ES 2 285 525 T3

engrosamiento del hígado mayor que 75% o 50% con respecto a controles equiparables. Si se utilizan mamíferos no roedores (v.g., perros), dichas dosis no deben dar como resultado un aumento de la relación en peso de hígado a cuerpo mayor que 50%, preferiblemente no mayor que 25%, y más preferiblemente no mayor que 10% con respecto a controles equiparables sin tratar. Dosis preferidas en tales ensayos incluyen 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1, 5, 10, 40 ó 50 mg/kg administradas por vías parenteral u oral.

Análogamente, un modulador de VR1 “no promueve una liberación sustancial de enzimas hepáticas” si la administración de dos veces la dosis mínima que proporciona una concentración terapéuticamente eficaz *in vivo* no eleva los niveles en suero de ALT, LDH o AST en roedores de laboratorio en más de 100% con respecto a controles equiparables falsamente tratados. En realizaciones más preferidas, dichas dosis no elevan tales niveles en suero en más de 75% o 50% con respecto a los controles equiparables. Alternativamente, un modulador de VR1 “no promueve una liberación sustancial de enzimas hepáticas” si, en un ensayo de hepatocitos *in vitro*, las concentraciones (en medios de cultivo u otras soluciones de este tipo que están en contacto y se incuban con hepatocitos *in vitro*) equivalentes a dos veces la concentración terapéutica mínima *in vivo* del compuesto no causan una liberación detectable de cualquiera de dichas enzimas hepáticas en el medio de cultivo por encima de los niveles de la línea base observados en medios de células de control equiparables falsamente tratadas. En realizaciones más preferidas, no existe liberación detectable alguna de cualquiera de dichas enzimas hepáticas en el medio de cultivo por encima de los niveles de la línea base cuando las concentraciones de dichos compuestos son 5 veces, y preferiblemente 10 veces, la concentración terapéutica mínima *in vivo* del compuesto.

En otras realizaciones, ciertos moduladores de VR1 preferidos no inhiben o inducen actividades de la enzima microsómica citocromo P450, tales como actividad de CYP1A2, actividad de CYP2A6, actividad de CYP2C9, actividad de CYP2C19, actividad de CYP2D6, actividad de CYP2E1 o actividad de CYP3A4 a una concentración igual a la concentración mínimaterapéuticamente eficaz *in vivo*.

Ciertos moduladores de VR1 preferidos no son clastógenos (v.g., tal como se determina utilizando un ensayo de micronúcleo de células precursoras de eritrocitos de ratón, un ensayo de micronúcleo Ames, un ensayo de micronúcleo espiral o análogos) a una concentración igual a la concentración mínima terapéuticamente eficaz *in vivo*. En otras realizaciones, ciertos moduladores de VR1 preferidos no inducen el intercambio de cromátidas hermanas (v.g., en células de ovario de hámster chino) a tales concentraciones.

Para propósitos de detección, tal como se expone con mayor detalle más adelante, los moduladores de VR1 proporcionados en esta invención pueden estar marcados isotópicamente o radiomarcados. Por ejemplo, los compuestos citados en las Fórmulas I-III pueden tener uno o más átomos reemplazados por un átomo del mismo elemento que tiene una masa atómica o número másico diferente de la masa atómica o número másico encontrado usualmente en la naturaleza. Ejemplos de isótopos que pueden estar presentes en los compuestos proporcionados en esta invención incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor y cloro, tales como  $^2\text{H}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{18}\text{O}$ ,  $^{17}\text{O}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{18}\text{F}$  y  $^{36}\text{Cl}$ . Adicionalmente, la sustitución con isótopos pesados tales como deuterio (es decir,  $^2\text{H}$ ) puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas resultantes de la mayor estabilidad metabólica, por ejemplo semi-vida *in vivo* incrementada o requerimientos de dosificación reducidos y, por consiguiente, puede ser preferida en ciertas circunstancias.

### Preparación de los moduladores de VR1

Los análogos de benzo[d]isoxazol-3-ilamina sustituidos pueden prepararse generalmente utilizando métodos de síntesis estándar, tales como los descritos por Kwon *et al.* (1996) *Arzneim. Forsch.*

46:966-971; Boshagen (1967) *Chem. Ber.* 100:954-960; Bishagen (1967) *Chem. Ber.* 100:3326-3330 (1967); y Yevich *et al.* (1986) *J. Med. Chem.* 29:359-369. En general los materiales de partida están disponibles comercialmente de suministradores tales como Sigma-Aldrich Corp. (St. Louis, MO), o pueden sintetizarse a partir de precursores disponibles comercialmente utilizando protocolos establecidos. A modo de ejemplo, puede utilizarse una ruta de síntesis similar a la representada en los Esquemas 1-3, junto con métodos de síntesis conocidos en la técnica de la química orgánica de síntesis, o variaciones de los mismos como serán apreciadas por los expertos en la técnica. Cada variable en los esquemas que siguen hace referencia a cualquier grupo consistente con la descripción de los compuestos proporcionados en esta memoria.

En los Esquemas que siguen, el término “catalizador” hace referencia a un catalizador de metal de transición adecuado tal como, pero sin carácter limitante, tetraquis(trifenilfosfina)paladio(0) o acetato de paladio(II). Adicionalmente, los sistemas catalíticos pueden incluir ligandos tales como, pero sin carácter limitante, 2-(dodiclohexilfosfina) bifenilo y tri-*terc*-butilfosfina, y pueden incluir también una base tal como  $\text{K}_3\text{PO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  o *terc*-butóxido de sodio o potasio. Las reacciones catalizadas por metales de transición pueden realizarse a la temperatura ambiente o a temperaturas elevadas utilizando diversos disolventes inertes que incluyen, pero sin carácter limitante, tolueno, dioxano, DMF, N-metilpirrol-idinona, etilenglicol, dimetil-éter, diglima y acetonitrilo. Pares reactivo/catalizador empleados corrientemente incluyen ácido aril-borónico/paladio(0) (reacción de Suzuki; Miyaura y Suzuki (1995) *Chemical Reviews* 95: 2457) y aril-trialquilestannano/paladio(0) (reacción de Stille; T.N. Mitchell (1992) *Synthesis* 9: 803-815), arilcinc/paladio(0) y aril-Grignard/níquel(II).

## ES 2 285 525 T3

El término “activar” hace referencia a una transformación por síntesis en la cual un carbonilo de un resto amida se convierte en un grupo lábil (L) adecuado. Reactivos adecuados para realizar esta transformación son bien conocidos por los expertos en la técnica de la síntesis orgánica e incluyen, pero sin carácter limitante,  $\text{SOCl}_2$ ,  $\text{POCl}_3$  y anhídrido tríflico. Ejemplos de grupos lábiles indicados por “L” en los esquemas siguientes incluyen Cl, Br u  $\text{O}(\text{C}=\text{O})\text{CF}_3$ .

5

Otras definiciones utilizadas en esta memoria son:

$\text{CDCl}_3$  Deuterocloroformo

10 d Desplazamiento químico

DCM Diclorometano

15 DME Etilenglicol-dimetiléter

DMF Dimetilformamida

EtOAc Acetato de etilo

20 EtOH Etanol

$^1\text{H NMR}$  Resonancia magnética nuclear del protón

HPLC Cromatografía líquida a alta presión

25

Hz Hertz

LCMS Cromatografía líquida/espectrometría de masas

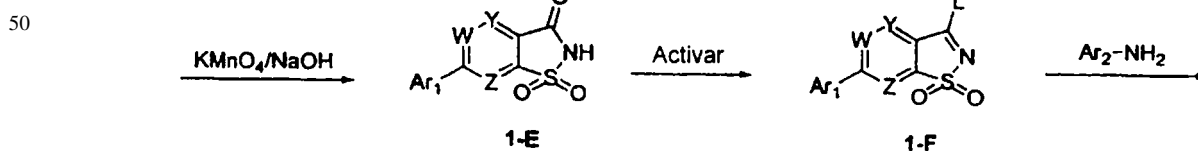
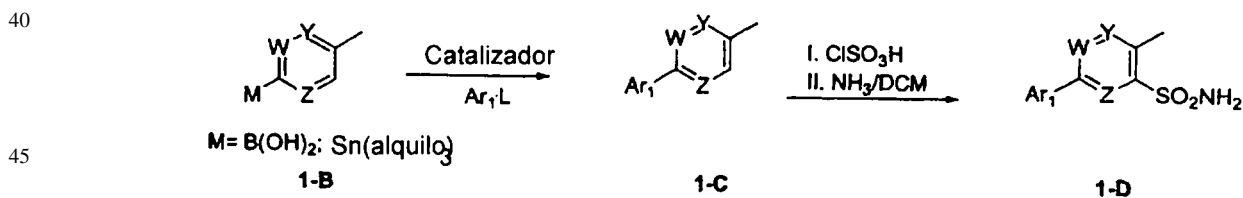
30 MS Espectrometría de masas

(M+1) Masa +1

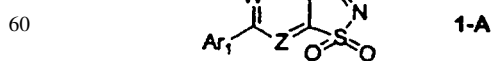
$\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  Tetraquis(trifenilfosfina)paladio(0)

35

Esquema 1



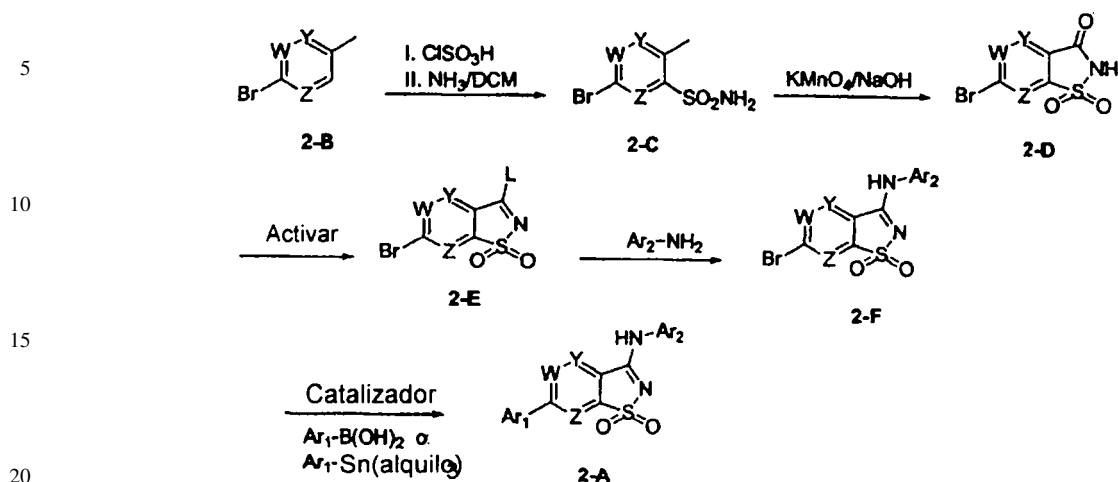
55



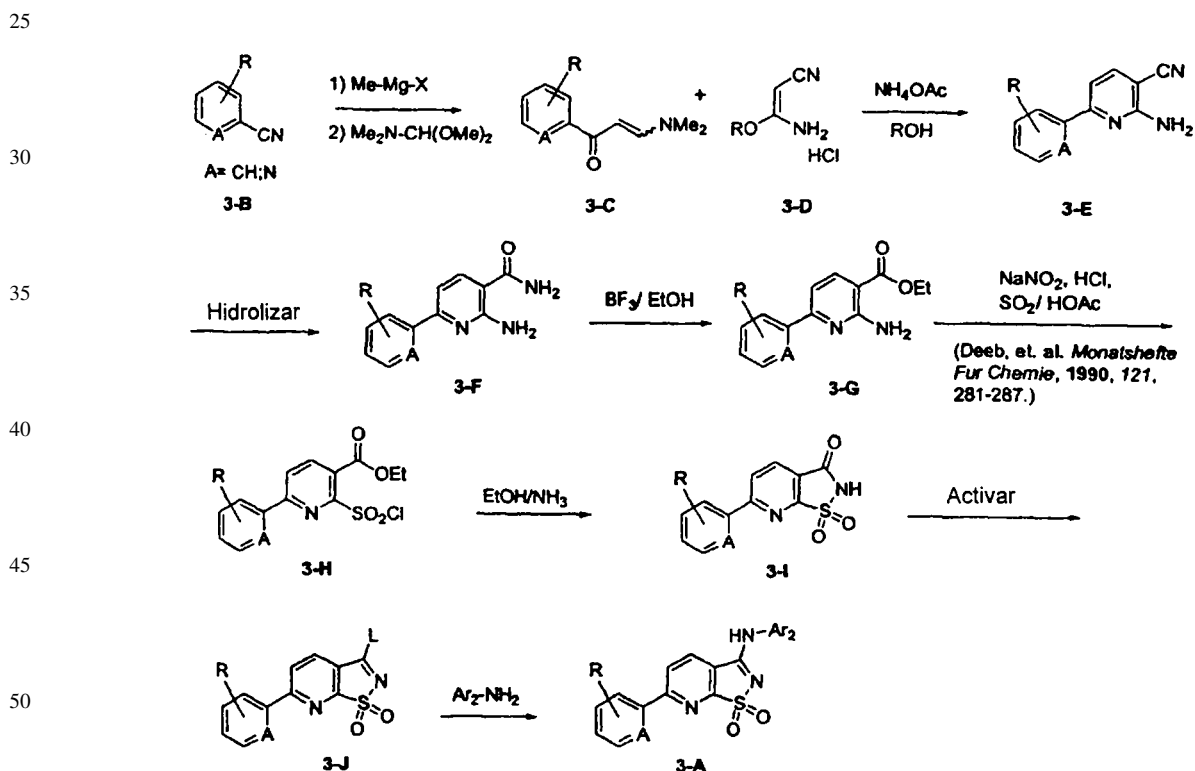
65

# ES 2 285 525 T3

## Esquema 2



## Esquema 3



En ciertas realizaciones, un modulador de VR1 puede contener uno o más átomos de carbono asimétricos, por lo que el compuesto puede existir en formas estereoisómeras diferentes. Dichas formas pueden ser, por ejemplo, racematos o formas ópticamente activas. Como se ha indicado arriba, todos los estereoisómeros están abarcados por la presente invención. Sin embargo, puede ser deseable obtener enantiómeros individuales (es decir, formas ópticamente activas). Métodos estándar para preparación de enantiómeros simples incluyen síntesis asimétrica y resolución de los racematos. La resolución de los racematos puede realizarse, por ejemplo, por métodos convencionales tales como cristalización en presencia de un agente de resolución, o cromatografía utilizando, por ejemplo, una columna HPLC quiral.

Los compuestos pueden radiomarcarse realizando su síntesis con utilización de precursores que comprenden al menos un átomo que es un radioisótopo. Cada radioisótopo es preferiblemente carbono (v.g., <sup>14</sup>C), hidrógeno (v.g., <sup>3</sup>H), azufre (v.g., <sup>35</sup>S), o yodo (v.g., <sup>125</sup>I). Pueden prepararse también catalíticamente compuestos marcados con tritio

por intercambio catalizado con platino en ácido acético tritiado, intercambio catalizado por ácido en ácido trifluoroacético tritiado, o intercambio catalizado heterogéneamente con tritio gaseoso utilizando el compuesto como sustrato. Adicionalmente, ciertos precursores pueden someterse a intercambio tritio-halógeno con tritio gaseoso, reducción con tritio gaseoso de enlaces insaturados, o reducción utilizando borotritiuro de sodio, en caso apropiado. La preparación de compuestos radiomarcados puede ser realizada convenientemente por un suministrador de radioisótopos que esté especializado en síntesis por encargo de compuestos sonda radiomarcados.

#### *Composiciones farmacéuticas*

La presente invención proporciona también composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más moduladores de VRI, junto con al menos un vehículo o excipiente fisiológicamente aceptable. Las composiciones farmacéuticas pueden comprender, por ejemplo, uno o más de agua, tampones (v.g., solución salina tamponada neutra o solución salina tamponada con fosfato), etanol, aceite mineral, aceite vegetal, dimetilsulfóxido, carbohidratos (v.g., glucosa, manosa, sacarosa o dextranos), manitol, proteínas, adyuvantes, polipéptidos o aminoácidos tales como glicina, antioxidantes, agentes quelantes tales como EDTA o glutatión y/o conservantes. Adicionalmente, se pueden incluir (aunque no es necesario) en las composiciones farmacéuticas proporcionadas en esta invención otros ingredientes activos.

Las composiciones farmacéuticas se pueden formular para cualquier modalidad de administración apropiada, con inclusión, por ejemplo, de administración tópica, oral, nasal, rectal o parenteral. El término parenteral, tal como se utiliza en esta memoria, incluye inyección subcutánea, intradérmica, intravascular (v.g., intravenosa), intramuscular, espinal, intracraneal, intratecal e intraperitoneal, así como cualquier técnica similar de inyección o infusión. En ciertas realizaciones, se prefieren composiciones adecuadas para uso oral. Tales composiciones, incluyen, por ejemplo, tabletas, trociscos, pastillas, suspensiones acuosas o aceitosas, polvos o gránulos dispersables, emulsión, cápsulas duras o blandas, o jarabes o elixires. En otras realizaciones adicionales, las composiciones de la presente invención pueden formularse como un liofilizado. La formulación para administración tópica puede preferirse para ciertas afecciones (v.g., en el tratamiento de afecciones de la piel tales como quemaduras o prurito). La formulación para administración directa en la vejiga (administración intravesicular) puede preferirse para el tratamiento de la incontinencia urinaria y la vejiga hiperactiva.

Las composiciones destinadas a uso oral pueden comprender adicionalmente uno o más componentes tales como agentes edulcorantes, agentes saborizantes, agentes colorantes y/o agentes conservantes a fin de proporcionar preparaciones atractivas y agradables al paladar. Las tabletas contienen el ingrediente activo en mezcla con excipientes fisiológicamente aceptables que son adecuados para la fabricación de tabletas. Dichos excipientes incluyen, por ejemplo, diluyentes inertes (v.g., carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfato de calcio o fosfato de sodio), agentes de granulación y desintegrantes (v.g., almidón de maíz o ácido algínico), agentes aglutinantes (v.g., almidón, gelatina o goma arábiga) y agentes lubricantes (v.g., estearato de magnesio, ácido esteárico o talco). Las tabletas pueden carecer de recubrimiento o pueden estar recubiertas por técnicas conocidas para retardar la desintegración y la absorción en el tracto gastrointestinal y proporcionar con ello una acción prolongada durante un período de tiempo más largo. Por ejemplo, puede emplearse un material de retardo temporal tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo.

Las formulaciones para uso oral pueden presentarse también como cápsulas de gelatina dura en las cuales el ingrediente activo está mezclado con un diluyente sólido inerte (v.g., carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín), o como cápsulas de gelatina blanda en las cuales el ingrediente activo está mezclado con agua o un medio aceitoso (v.g., aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva).

Las suspensiones acuosas contienen el o los materiales activos en mezcla con excipientes adecuados para la fabricación de suspensiones acuosas. Tales excipientes incluyen agentes de suspensión (v.g., carboximetilcelulosa sódica, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma tragacanto y goma arábiga); y agentes dispersantes o humectantes (v.g., fosfatos existentes naturalmente tales como lecitina, productos de condensación de un óxido de alquileno con ácidos grasos tales como poli(estearato de oxietileno), productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga tales como heptadecaetileno-oxicetanol, productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y un hexitol tales como poli(monooleato de oxietileno-sorbitol), o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol tales como poli(monooleato de etileno-sorbitán). Las suspensiones acuosas pueden comprender también uno o más conservantes, tales como p-hidroxibenzoato de etilo o n-propilo, uno o más agentes colorantes, uno o más agentes saborizantes, y uno o más agentes edulcorantes, tales como sacarosa o sacarina.

Las suspensiones aceitosas pueden formularse por suspensión del o de los ingredientes activos en un aceite vegetal (v.g., aceite de cacahuete, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco) o en un aceite mineral tal como parafina líquida. Las suspensiones aceitosas pueden contener un agente espesante tal como cera de abejas, parafina dura o alcohol cetílico. Pueden añadirse agentes edulcorantes tales como los expuestos anteriormente, y/o agentes saborizantes para proporcionar preparaciones orales agradables al paladar. Tales suspensiones pueden conservarse por adición de un anti-oxidante tal como ácido ascórbico.

Los polvos y gránulos dispersables adecuados para preparación de una suspensión acuosa por adición de agua proporcionan el ingrediente activo en mezcla con un agente dispersante o humectante, agente de suspensión y uno o más conservantes. Agentes dispersantes o humectantes adecuados y agentes de suspensión se ilustran por los ya men-

cionados anteriormente. Excipientes adicionales, tales como agentes edulcorantes, saborizantes y colorantes pueden estar presentes también.

Las composiciones farmacéuticas pueden formularse también como emulsiones de aceite en agua. La fase aceitosa puede ser un aceite vegetal (v.g., aceite de oliva o aceite de cacahuete), un aceite mineral (v.g., parafina líquida) o una mezcla de los mismos. Agentes emulsionantes adecuados incluyen gomas existentes naturalmente (v.g., goma arábiga o goma tragacanto), fosfátidos existentes naturalmente (v.g., lecitina de soja, y ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y hexitol), anhídridos (v.g., monooleato de sorbitán) y productos de condensación de ésteres parciales derivados de ácidos grasos y hexitol con óxido de etileno (v.g., poli(monooleato de oxietilen-sorbitán)). Una emulsión puede comprender también uno o más agentes edulcorantes y/o saborizantes.

Pueden formularse jarabes y elixires con agentes edulcorantes, tales como glicerol, propilenglicol, sorbitol o sacarosa. Tales formulaciones pueden comprender también uno o más demulcentes, conservantes, agentes saborizantes y/o agentes colorantes.

Las formulaciones para administración tópica comprenden típicamente un vehículo tópico combinado con uno o más agentes activos, con o sin componentes opcionales adicionales. Vehículos tópicos y componentes adicionales adecuados son bien conocidos en la técnica, y será evidente que la elección de un vehículo dependerá de la forma física y el modo de suministro particulares. Vehículos tópicos incluyen agua; disolventes orgánicos tales como alcoholes (v.g., etanol o alcohol isopropílico) o glicerina; glicoles (v.g., butilen- o propilenglicol); alcoholes alifáticos (v.g., lanolina); mezclas de agua y disolventes orgánicos y mezclas de disolventes orgánicos tales como alcohol y glicerina; materiales basados en lípidos tales como ácidos grasos, acilgliceroles (con inclusión de aceites, tales como aceite mineral, y grasas de origen natural o sintético), fosfoglicéridos, esfingolípidos y ceras; materiales basados en proteínas tales como colágeno y gelatina; materiales basados en siliconas (tanto no volátiles como volátiles); y materiales basados en hidrocarburos tales como microesponjas y matrices de polímero. Una composición puede incluir adicionalmente uno o más componentes adaptados para mejorar la estabilidad o eficacia de la formulación aplicada, tales como agentes estabilizadores, agentes de suspensión, agentes emulsionantes, ajustadores de la viscosidad, agentes gelificantes, conservantes, antioxidantes, mejoradores de la penetración en la piel, humidificadores y materiales de liberación sostenida. Ejemplos de tales componentes se describen en Martindale - the Extra Pharmacopoeia (Pharmaceutical Press, Londres 1993) y Martin (compilador), Remington's Pharmaceutical Sciences. Las formulaciones pueden comprender microcápsulas, tales como microcápsulas de hidroximetilcelulosa o gelatina, liposomas, microsferas de albúmina, microemulsiones, nanopartículas o nanocápsulas.

Una formulación tópica puede prepararse en una diversidad de formas físicas que incluyen, por ejemplo, sólidos, pastas, cremas, espumas, lociones, geles, polvos, líquidos acuosos y emulsiones. El aspecto físico y la viscosidad de tales formas farmacéuticamente aceptables pueden controlarse por la presencia y cantidad de uno o más emulsionantes y uno o más ajustadores de la viscosidad presentes en la formulación. Los sólidos son generalmente consistentes y no susceptibles de vertido y comúnmente se formulan como barras o varillas, o en forma de partículas; los sólidos pueden ser opacos o transparentes, y opcionalmente pueden contener disolventes, emulsionantes, humidificadores, emolientes, perfumes, tintes/colorantes, conservantes y otros ingredientes activos que aumentan o mejoran la eficacia del producto final. Las cremas y lociones son a menudo similares unas a otras, difiriendo principalmente en su viscosidad; tanto las lociones como las cremas pueden ser opacas, translúcidas o transparentes y a menudo contienen emulsionantes, disolventes, y agentes de ajuste de la viscosidad, así como humidificadores, emolientes, perfumes, tintes/colorantes, conservantes y otros ingredientes activos que aumentan o mejoran la eficacia del producto final. Los geles pueden prepararse dentro de una gama de viscosidades, desde espesos o de viscosidad alta a fluidos o de viscosidad baja. Estas formulaciones, como las de lociones y cremas, pueden contener también disolventes, emulsionantes, humidificadores, emolientes, perfumes, tintes/colorantes, conservantes y otros ingredientes activos que aumentan o mejoran la eficacia del producto final. Los líquidos son más fluidos que las cremas, lociones, o geles y a menudo no contienen emulsionantes. Los productos líquidos tópicos contienen a menudo disolventes, emulsionantes, humidificantes, emolientes, perfumes, tintes/colorantes, conservantes y otros ingredientes activos que aumentan o mejoran la eficacia del producto final.

Emulsionantes adecuados para uso en formulaciones tópicas incluyen, pero sin carácter limitante, emulsionantes iónicos, alcohol cetearílico, emulsionantes no iónicos tales como polioxietilen-oleil-éter, estearato PEG-40, cetearat-12, cetearat-20, cetearat-30, alcohol cetearílico, estearato de PEG-100 y estearato de glicerilo. Agentes de ajuste de la viscosidad adecuados incluyen, pero sin carácter limitante, coloides protectores o gomas no iónicas tales como hidroxietilcelulosa, goma de xantano, aluminosilicato de magnesio, sílice, cera microcristalina, cera de abejas, parafina, y palmitato de cetilo. Una composición de gel puede formarse por la adición de un agente gelificante tal como quitosano, metil-celulosa, etil-celulosa, poli(alcohol vinílico), policuaternarios, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carbómero o glicirricinato amoniacal. Agentes tensioactivos adicionales incluyen, pero sin carácter limitante, agentes tensioactivos no iónicos, anfóteros, iónicos y aniónicos. Por ejemplo, uno o más de dimeticona-copoliol, polisorbato 20, polisorbato 40, polisorbato 60, polisorbato 80, lauramida-DEA, cocoamida-DEA, y coamida-MEA, oleil-betaína, cloruro de cocoamidopropil-fosfatidil-PG-diamonio y lauret-sulfato de amonio pueden utilizarse en formulaciones tópicas. Conservantes adecuados incluyen, pero sin carácter limitante, antimicrobianos tales como metilparabén, propilparabén, ácido sórbico, ácido benzoico y formaldehído, así como estabilizadores físicos y antioxidantes tales como vitamina E, ascorbato de sodio/ácido ascórbico y galato de propilo. Humidificadores adecuados incluyen, pero sin carácter limitante, ácido láctico y otros hidroxiaácidos y sus sales, glicerina, propilenglicol, y butilenglicol. Emolientes adecuados incluyen alcohol lanolínico, lanolina, derivados de lanolina, colesterol, petro-

## ES 2 285 525 T3

latum, neopentanoato de isoestearilo y aceites minerales. Perfumes y colores adecuados incluyen, pero sin carácter limitante, FD&C Rojo No. 40 y FD&C Amarillo No. 5. Otros ingredientes adicionales adecuados que pueden incluirse en una formulación tópica incluyen, pero sin carácter limitante, abrasivos, absorbentes, agentes anti-apelmazantes, agentes anti-espumantes, agentes anti-estáticos, astringentes (v.g., olmo escocés, alcohol y extractos de hierbas tales como extracto de camomila), aglutinantes/excipientes, agentes tampón, agentes quelantes, agentes formadores de película, agentes de acondicionamiento, propelentes, agentes de opacificación, ajustadores del pH y agentes protectores.

Un ejemplo de un vehículo tópico adecuado para formulación de un gel es: hidroxipropilcelulosa (2,1%); alcohol isopropílico/agua 70/30 (90,9%); propilenglicol (5,1%); y Polisorbato 80 (1,9%). Un ejemplo de un vehículo tópico adecuado para formulación en forma de espuma es: alcohol cetílico (1,1%); alcohol estearílico (0,5%); Quaternium 52 (1,0%); propilenglicol (2,0%); etanol 95 PGF3 (61,05%); agua desionizada (30,05%); y propelente hidrocarbonado P75 (4,30%). Todos los porcentajes se expresan en peso.

Modos típicos de administración para composiciones tópicas incluyen aplicación utilizando los dedos; aplicación utilizando un aplicador físico tal como una tela, tejido, torunda, varilla o pincel; pulverización (con inclusión de nebulización, aerosol o pulverización de espuma); aplicación con cuentagotas; espolvoreo; impregnación; y lavado. También pueden utilizarse vehículos de liberación controlada.

Una composición farmacéutica puede prepararse como una suspensión acuosa u oleaginosa inyectable estéril. El modulador, dependiendo del vehículo y la concentración utilizada, puede estar o bien suspendido o disuelto en el vehículo. Una composición de este tipo puede formularse de acuerdo con la técnica anterior utilizando agentes dispersantes, humectantes y/o agentes de suspensión adecuados tales como los mencionados anteriormente. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse se encuentran agua, 1,3-butanodiol, solución de Ringer y solución isotónica de cloruro de sodio. Adicionalmente, pueden emplearse agentes estériles fijos como disolvente o medio de suspensión. Para este propósito, puede emplearse cualquier aceite no irritante fijo, con inclusión de mono- o diglicéridos sintéticos. Adicionalmente, ácidos grasos tales como el ácido oleico encuentran uso en la preparación de composiciones inyectables, y pueden disolverse en el vehículo adyuvantes tales como anestésicos locales, conservantes y/o agentes tampón.

Los moduladores pueden formularse también como supositorios (v.g., para administración rectal). Tales composiciones se pueden preparar por mezcla del fármaco con un excipiente no irritante adecuado que es sólido a las temperaturas ordinarias pero líquido a la temperatura rectal y por consiguiente fundirá en el recto para liberar el fármaco. Excipientes adecuados incluyen, por ejemplo, manteca de cacao y polietilenglicoles.

Las composiciones farmacéuticas pueden formularse como formulaciones de liberación sostenida (*es decir*, una formulación tal como una cápsula que efectúa una liberación lenta del modulador después de su administración). Tales formulaciones pueden prepararse generalmente utilizando tecnología bien conocida y administrarse mediante, por ejemplo, implantación oral, rectal o subcutánea, o por impregnación en el sitio diana deseado. Los vehículos para uso en tales formulaciones son biocompatibles, y pueden ser también biodegradables; preferiblemente, la formulación proporciona un nivel relativamente constante de liberación del modulador. La cantidad de modulador contenida en una formulación de liberación sostenida depende, por ejemplo, del sitio de implantación, la tasa y duración esperadas de liberación y la naturaleza de la afección a tratar o prevenir.

Además de o junto con los modos de administración anteriores, puede añadirse convenientemente un modulador al alimento o al agua de bebida (v.g., para administración a animales no humanos que incluyen animales de compañía (tales como perros y gatos) y ganado). Las composiciones para la alimentación y el agua de bebida de los animales pueden formularse de tal manera que el animal tome una cantidad apropiada de la composición junto con su dieta. Puede ser también conveniente presentar la composición como una premezcla para adición a la comida o al agua de bebida.

Los moduladores se administran generalmente en una cantidad moduladora de los receptores de capsaicina, y preferiblemente una cantidad terapéuticamente eficaz. Las dosis sistémicas preferidas son no mayores que 50 mg por kilogramo de peso corporal por día (v.g., comprendidas entre aproximadamente 0,001 mg y aproximadamente 50 mg por kilogramo de peso corporal por día), siendo las dosis orales por regla general aproximadamente 5-20 veces mayores que las dosis intravenosas (v.g., comprendidas entre 0,01 y 40 mg por kilogramo de peso corporal por día).

La cantidad de ingrediente activo que puede combinarse con los materiales vehículo para producir una unidad de dosificación simple variará dependiendo, por ejemplo, del paciente a tratar y el modo de administración particular. Las unidades de dosificación contendrán por regla general entre aproximadamente 10  $\mu$ g y aproximadamente 500 mg de un ingrediente activo. Las dosis óptimas pueden establecerse utilizando ensayos de rutina, y procedimientos que son bien conocidos en la técnica.

Las composiciones farmacéuticas pueden empaquetarse para tratar afecciones sensibles a la modulación de VR1 (v.g., tratamiento de exposición a ligando vainilloide, dolor, prurito, obesidad o incontinencia urinaria). Las composiciones farmacéuticas empaquetadas pueden incluir un envase que contiene una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un modulador de VR1 como se describe en esta memoria e instrucciones (v.g., etiquetado) que indican que la composición contenida debe utilizarse para el tratamiento de una afección sensible a la modulación de VR1 en el paciente.

## Métodos de uso

Los moduladores de VR1 proporcionados en esta invención pueden utilizarse para alterar la actividad y/o activación de los receptores de capsaicina en una diversidad de contextos *in vitro*. En ciertos aspectos, pueden utilizarse antagonistas de VR1 para inhibir la fijación de agonista de un ligando vainilloide (tal como capsaicina y/o RTX) al receptor de capsaicina *in vitro* o *in vivo*. En general, tales métodos comprenden el paso de poner en contacto un receptor de capsaicina con una cantidad moduladora del receptor de capsaicina de uno o más moduladores de VR1 proporcionados en esta invención, en presencia de ligando vainilloide en solución acuosa y en condiciones por lo demás adecuadas para la fijación del ligando al receptor de capsaicina. El receptor de capsaicina puede estar presente en solución o suspensión (v.g., en una membrana o preparación de células aislada), o en una célula cultivada o aislada.

Se proporcionan también en esta memoria métodos para modular, preferiblemente reducir, la actividad de transducción de señales (*es decir*, la conductancia de calcio) de un receptor de capsaicina celular. Dicha modulación puede conseguirse poniendo en contacto un receptor de capsaicina *in vitro* con una cantidad moduladora del receptor de capsaicina de uno o más moduladores de VR1 proporcionados en esta memoria en condiciones adecuadas para fijación del o de los moduladores al receptor. El receptor puede estar presente en solución o suspensión, en una preparación de células cultivadas o aisladas. La modulación de la actividad de transducción de señales puede evaluarse por detección de un efecto sobre la conductancia del ion calcio (a lo que se hace referencia también como movilización o flujo de calcio). La modulación de la actividad de transducción de señales puede evaluarse alternativamente por detección de una alteración de un síntoma (v.g., dolor, sensación de quemazón, bronco-constricción, inflamación, tos, hipo, prurito, incontinencia urinaria o vejiga hiperactiva) de un paciente que está siendo tratado con uno o más moduladores de VR1 proporcionados en esta invención.

El o los moduladores de VR1 proporcionados en esta invención se administran preferiblemente a un paciente (v.g., un humano) por vía oral o tópica, y están presentes en al menos un fluido corporal del animal mientras se modula la actividad de transducción de señales de VR1. Moduladores de VR1 preferidos para uso en tales métodos modulan la actividad de transducción de señales de VR1 *in vitro* en una concentración de 1 nanomolar o menos, preferiblemente 100 picomolar o menos, más preferiblemente 20 picomolar o menos, e *in vivo* a una concentración de 1 picomolar o menos, 500 nanomolar o menos, o 100 nanomolar o menos en un fluido corporal tal como la sangre.

Se describen también métodos para tratar afecciones sensibles a la modulación de VR1. En este contexto, el término "tratamiento" abarca tanto tratamiento modificador de la enfermedad como tratamiento sintomático, cualquiera de los cuales puede ser profiláctico (es decir, antes de la aparición de los síntomas, con objeto de prevenir, retardar o reducir la gravedad de los síntomas) como tratamiento terapéutico (es decir, después de la aparición de los síntomas, con objeto de reducir la gravedad y/o duración de los síntomas). Una afección es "sensible a la modulación de VR1" si la misma se caracteriza por actividad inadecuada de un receptor de capsaicina, con indiferencia de la cantidad de ligando vainilloide presente localmente, y/o si la modulación de la actividad del receptor de capsaicina da como resultado el alivio de la afección o un síntoma de la misma. Afecciones de este tipo incluyen, por ejemplo, síntomas resultantes de la exposición a estímulos activadores de VR1, dolor, trastornos respiratorios tales como asma y enfermedad pulmonar obstructiva crónica, prurito, incontinencia urinaria, vejiga hiperactiva, tos, hipo y obesidad, tal como se describe con mayor detalle más adelante. Las afecciones de este tipo pueden diagnosticarse y observarse utilizando criterios que han sido establecidos en la técnica. Los pacientes pueden incluir humanos, animales domésticos de compañía y ganado, con las dosificaciones que se han descrito anteriormente.

Los regímenes de tratamiento pueden variar dependiendo del compuesto utilizado y la afección particular a tratar. Sin embargo, para el tratamiento de la mayoría de los trastornos, se prefiere una frecuencia de administración de 4 dosis al día o menos. En general, es más preferido un régimen de dosificación de 2 veces al día, siendo particularmente preferida una sola vez al día. Para el tratamiento del dolor agudo, es deseable una dosis simple que alcanza rápidamente concentraciones eficaces. Se comprenderá, sin embargo, que el nivel de dosis y el régimen de tratamiento específico para cualquier paciente particular dependerán de una diversidad de factores que incluyen la actividad del compuesto específico empleado, la edad, el peso corporal, el estado general de salud, el sexo, la dieta, el tiempo de administración, la ruta de administración, y la tasa de excreción, la combinación de fármacos y la gravedad de la enfermedad particular sometida a terapia. En general, se prefiere el uso de la dosis mínima suficiente para proporcionar una terapia eficaz. Los pacientes pueden observarse generalmente en cuanto a eficacia terapéutica utilizando criterios médicos o veterinarios adecuados para la afección a tratar o prevenir.

Los pacientes que experimentan síntomas resultantes de la exposición a estímulos activadores de los receptores de capsaicina incluyen individuos con quemaduras causadas por calor, luz, gas lacrimógeno o ácido y aquéllos cuyas membranas mucosas están expuestas (v.g., por ingestión, inhalación o contacto con los ojos) a capsaicina (v.g., procedente de pimientos picantes o en spray de pimienta) o un irritante afín tal como ácido, gas lacrimógeno o contaminantes del aire. Los síntomas resultantes (que pueden tratarse utilizando los moduladores de VR1, especialmente antagonistas, proporcionados en esta invención) pueden incluir, por ejemplo, dolor, bronco-constricción e inflamación.

El dolor que puede tratarse utilizando los moduladores de VR1 proporcionados en esta invención puede ser crónico o agudo e incluye, pero sin carácter limitante, dolor mediado por los nervios periféricos (especialmente dolor neuropático). Los compuestos proporcionados en esta invención pueden utilizarse en el tratamiento de, por ejemplo, síndrome de dolor post-mastectomía, dolor de muñón, dolor de miembro fantasma, dolor neuropático oral, dolor de muelas (dolor dental), dolor de dentadura postiza, neuralgia post-herpética, neuropatía diabética, distrofia simpática

refleja, neuralgia del trigémino, osteoartritis, artritis reumatoide, fibromialgia, síndrome de Guillain-Barre, neuralgia parestésica, síndrome de boca ardiente y/o neuropatía periférica bilateral. Afecciones de dolor neuropático adicional incluyen causalgia (distrofia neuropática refleja - RSD, secundaria a lesión de un nervio periférico), neuritis (con inclusión, por ejemplo, de neuritis ciática, neuritis periférica, polineuritis, neuritis óptica, neuritis post-febril, neuritis migratoria, neuritis segmental y neuritis de Gombault), neuronitis, neuralgias (v.g., las arriba mencionadas), neuralgia cervicobraquial, neuralgia craneal, neuralgia geniculada, neuralgia glossofaríngea, neuralgia migrañosa, neuralgia idiopática, neuralgia intercostal, neuralgia mamaria, neuralgia de la articulación mandibular, neuralgia de Morton, neuralgia nasociliar, neuralgia occipital, neuralgia roja, neuralgia de Sluder, neuralgia esplenopalatina, neuralgia supraorbital y neuralgia vidiana), dolor relacionado con cirugía, dolor musculoesquelético, neuropatía afín al SIDA, neuropatía afín a MS, y dolor relacionado con lesiones de la médula espinal. El dolor de cabeza, con inclusión de los dolores de cabeza que implican actividad de nervios periféricos, tales como dolor de cabeza en seno, en racimo (es decir, neuralgia migrañosa) y algunos dolores de cabeza por tensión y migraña, pueden tratarse también como se describe en esta memoria. Por ejemplo, los dolores de cabeza migrañosos pueden prevenirse por administración de un compuesto proporcionado en esta invención tan pronto como es experimentada por el paciente un aura pre-migrañosa. Afecciones dolorosas adicionales que pueden tratarse como se describe en esta memoria incluyen “síndrome de boca ardiente”, dolores de parto, dolores de Charcot, dolores por gases intestinales, dolor menstrual, dolor de espalda agudo y crónico (v.g., dolor de la parte inferior de la espalda), dolor hemorroidal, dolores dispépticos, angina, dolor de raíces nerviosas, dolor homotópico y dolor heterotópico - con inclusión de dolor asociado al cáncer (v.g., en pacientes con cáncer de huesos), dolor (e inflamación) asociado con exposición a venenos (v.g., debidos a mordedura de serpiente, mordedura de araña, o picadura de insecto) y dolor asociado a traumatismos (v.g., dolor post-quirúrgico, dolor por cortes, contusiones y huesos rotos, y dolor de quemadura). Afecciones dolorosas adicionales que pueden tratarse como se describe en esta memoria incluyen dolor asociado con enfermedad inflamatoria intestinal, síndrome de colon irritable y/o enfermedad inflamatoria intestinal.

En ciertos aspectos, los moduladores de VR1 proporcionados en esta invención pueden utilizarse para el tratamiento del dolor mecánico. Tal como se utiliza en esta memoria, el término “dolor mecánico” hace referencia a dolor distinto del dolor de cabeza que no es neuropático o resultado de exposición a calor, frío o estímulos químicos externos. El dolor mecánico incluye traumatismos físicos (distintos de las quemaduras térmicas o químicas u otras exposiciones irritantes y/o dolorosas a productos químicos nocivos) tal como dolor post-quirúrgico y dolor por cortes, contusiones y huesos rotos; dolor de muelas, dolor de dentadura postiza; dolor de las raíces nerviosas; osteoartritis; artritis reumatoide; fibromialgia; meralgia parestésica; dolor de espalda; dolor asociado al cáncer; angina, síndrome de túnel carpiano, y dolor resultante de fractura ósea, parto, hemorroides, gas intestinal, dispepsia, y menstruación.

Afecciones de prurito que pueden ser tratadas incluyen prurito psoriásico, prurito debido a hemodiálisis, prurito acuagénico, y prurito asociado con vestibulitis vulvar, dermatitis de contacto, picaduras de insectos y alergias dermatológicas. Las afecciones del tracto urinario que pueden tratarse como se describe en esta memoria incluyen incontinencia urinaria (con inclusión de incontinencia por rebosamiento, incontinencia urgente e incontinencia por estrés), así como afecciones de vejiga hiperactiva o inestable (con inclusión de hiperflexia del detrusor de origen medular e hipersensibilidad de la vejiga). En ciertos métodos de tratamiento de este tipo, el modulador de VR1 se administra por la vía de un catéter o dispositivo similar, dando como resultado la inyección directa del modulador de VR1 en la vejiga. Los compuestos proporcionados en esta invención pueden utilizarse también como agentes anti-tusivos (para prevenir, aliviar o suprimir la tos) y para el tratamiento del hipo, así como para promover la pérdida de peso en un paciente obeso.

En otros aspectos, los moduladores de VR1 proporcionados en esta invención pueden utilizarse en terapia de combinación para el tratamiento de afecciones que implican componentes inflamatorios. Tales afecciones incluyen, por ejemplo, trastornos autoinmunes y respuestas patológicas autoinmunes que se sabe tienen un componente inflamatorio que incluyen, pero sin carácter limitante, artritis (especialmente artritis reumatoide), psoriasis, enfermedad de Crohn, lupus eritematoso, síndrome de colon irritable, rechazo de injertos de tejidos, y rechazo hiperagudo de órganos trasplantados. Otras afecciones de este tipo incluyen traumatismos (v.g., lesiones en la cabeza o la médula espinal), enfermedad cardio- y cerebro-vascular y ciertas enfermedades infecciosas.

En una terapia de combinación de este tipo, se administra a un paciente un modulador de VR1 junto con un agente anti-inflamatorio. El modular de VR1 y el agente anti-inflamatorio pueden estar presentes en la misma composición farmacéutica, o pueden administrarse por separado en cualquier orden. Agentes anti-inflamatorios incluyen, por ejemplo, fármacos anti-inflamatorios no esteroideos (NSAIDs), inhibidores inespecíficos y específicos de la enzima ciclooxigenasa ciclo-oxigenasa-2 (COX-2), compuestos de oro, corticosteroides, metotrexato, antagonistas del receptor del factor de necrosis tumoral (TNF), anticuerpos anti-TNF alfa, anticuerpos anti-C5, y antagonistas de los receptores de interleuquina-1 (IL-1). Ejemplos de NSAIDs incluyen, pero sin carácter limitante, ibuprofeno (v.g., ADVIL<sup>TM</sup>, MOTRIN<sup>TM</sup>) flurbiprofeno (ANSAID<sup>TM</sup>), naproxeno o naproxeno-sodio (v.g., NAPROSYN, ANAPROX, ALEVE<sup>TM</sup>), diclofenaco (v.g., CATAFLAM<sup>TM</sup>, VOLTAREN<sup>TM</sup>), combinaciones de diclofenaco-sodio y misoprostol (v.g., ARTHROTEC<sup>TM</sup>); sulindac (CLINORIL<sup>TM</sup>), oxaprozina (DAYPRO<sup>TM</sup>), diflunisal (DOLOBID<sup>TM</sup>), piroxicam (FELDENE<sup>TM</sup>), indometacina (INDOCIN<sup>TM</sup>), etodolac (LODINE<sup>TM</sup>), fenoprofeno-calcio (NALFON<sup>TM</sup>), que-toprofeneno (v.g., ORUDIS<sup>TM</sup>, ORUVAIL<sup>TM</sup>), sodio-nabumetona (RELAFEN<sup>TM</sup>), sulfasalazina (AZULFIDINE<sup>TM</sup>), tolmetil-sodio (TOLECTIN<sup>TM</sup>), e hidroxiclороquina (PLAQUENIL<sup>TM</sup>). Una clase particular de NSAIDs está constituida por compuestos que inhiben las enzimas ciclooxigenasa (COX), tales como celecoxib (CELEBREX<sup>TM</sup>) y rofecoxib (VIOXX<sup>TM</sup>). Los NSAIDs incluyen adicionalmente salicilatos tales como ácido acetil-salicílico o aspirina, salicilato de sodio, colina y salicilatos de magnesio (TRILISATE<sup>TM</sup>), y salsalato (DISALCID<sup>TM</sup>), así como corticosteroides ta-

les como cortisona (CORTONE™ acetato), dexametasona (v.g., DECADRON™), metilprednisolona (MEDROL™), prednisolona (PRELONE™), prednisolona-fosfato de sodio (PEDIAPRED™) y prednisona (v.g., PREDNICEN-M™, DELTASONE™, STERAPRED™).

5 Dosis adecuadas para el modulador de VR1 en dicha terapia de combinación son generalmente como se ha descrito arriba. Las dosificaciones y métodos de administración de los agentes anti-inflamatorios pueden encontrarse, por ejemplo, en las instrucciones de los fabricantes contenidas en la obra *Physician's Desk Reference*. En ciertas realizaciones, la administración en combinación de un modulador de VR1 con un agente anti-inflamatorio da como resultado una reducción de la dosificación del agente anti-inflamatorio requerida para producir un efecto terapéutico. Así, preferiblemente, la dosificación de agente anti-inflamatorio en una combinación o método de tratamiento de combinación de la invención es menor que la dosis máxima aconsejada por el fabricante para administración del agente anti-inflamatorio sin administración de combinación de un antagonista de VR1. Más preferiblemente, esta dosificación es menor que  $\frac{3}{4}$ , todavía más preferiblemente menor que  $\frac{1}{2}$ , y muy preferiblemente menor que  $\frac{1}{4}$  de la dosis máxima, mientras que muy preferiblemente, la dosis es menor que 10% de la dosis máxima aconsejada por el fabricante para administración del o de los agentes anti-inflamatorio(s) cuando se administran sin administración de combinación con un antagonista de VR1. Será evidente que la cantidad de dosificación del componente antagonista de VR1 de la combinación necesaria para alcanzar el efecto deseado puede verse afectada análogamente por la cantidad de dosificación y potencia del componente agente anti-inflamatorio de la combinación.

20 En ciertas realizaciones preferidas, la administración de combinación de un modulador de VR1 con un agente anti-inflamatorio se realiza por empaquetamiento de uno o más moduladores de VR1 y uno o más agentes anti-inflamatorios en el mismo paquete, sea en envases separados dentro del paquete o en el mismo contenido como una mezcla de uno o más antagonistas de VR1 y uno o más agentes anti-inflamatorios. Mezclas preferidas se formulan para administración oral (v.g., como píldoras, cápsulas, tabletas o análogas). En ciertas realizaciones, el paquete comprende una etiqueta que contiene indicaciones que advierten que el uno o más moduladores de VR1 y uno o más agentes anti-inflamatorios deben tomarse juntos para el tratamiento de una afección inflamatoria dolorosa. Una combinación muy preferida es una en la que el o los agentes anti-inflamatorios incluyen al menos un inhibidor de las enzimas ciclooxigenasas específico de COX-2 tal como valdecoxib (BEXTRA®), lumiracoxib (PREXIGE™), etoricoxib (ARCOXIA®), celecoxib (CELEBREX®) y/o rofecoxib (VIOXX®).

30 En otros aspectos, los moduladores de VR1 proporcionados en esta invención pueden utilizarse en combinación con una o más medicaciones adicionales de alivio del dolor. Algunas de tales medicaciones son también agentes anti-inflamatorios, y se enumeran anteriormente. Otras medicaciones de este tipo son agentes analgésicos narcóticos, que actúan típicamente sobre uno o más subtipos de receptores opioides (v.g.,  $\mu$ ,  $\kappa$  y/o  $\delta$ ), preferiblemente como agonistas o agonistas parciales. Dichos agentes incluyen opiáceos, derivados de opiáceos y opioides, así como sales farmacéuticamente aceptables e hidratos de las mismas. Ejemplos específicos de analgésicos narcóticos incluyen, en realizaciones preferidas, alfentanil, alfaprodina, anileridina, bezitramida, buprenorfina, codeína, diacetildihidromorfina, diacetilmorfina, dihidrocodeína, difenoxilato, etilmorfina, fentanil, heroína, hidrocodona, hidromorfona, isometadona, levometorfano, levorfano, levorfanol, meperidina, metazocina, metadona, metorfano, metopón, morfina, extractos de opio, extractos fluidos de opio, opio pulverizado, opio granulado, opio crudo, tintura de opio, oxícodona, oximorfona, paregoric, pentazocina, petidina, fenazozina, piminodina, propoxifeno, racemeterfano, racemorfano, tebaína y sales farmacéuticamente aceptables e hidratos de los agentes anteriores.

45 Otros ejemplos de agentes analgésicos narcóticos incluyen acetorfina, acetildihidrocodeína, acetilmetadol, alilprodina, alfracetilmetadol, alfameprodina, alfametadol, benzetidina, bencilmorfina, betacetilmetadol, betameprodina, betametadol, betaprodina, butorfanol, clonitazeno, metilbromuro de codeína, N-óxido de codeína, ciprenorfina, desomorfina, dextromoramida, diampromida, dietiltiambuteno, dihidromorfina, dimenoxadol, dimepheptanol, dimetiltiambuteno, butirato de dioxafetil, dipipanona, drotebanol, etanol, etilmetiltiambuteno, etonitazeno, etorfina, etoxeridina, furetidina, hidromorfinol, hidroxipetidina, quetobemidona, levomoramida, levofenacilmorfano, metildesorfina, metildihidromorfina, morferidina, morfina-metilpromida, metilsulfonato de morfina, N-óxido de morfina, mirofín, naloxona, nalbuifina, naltihexona, nicocodeína, nicomorfina, noracimetadol, norlevorfanol, normetadona, normorfina, norpipanona, pentazocaína, fenadoxona, fenampromida, fenomorfano, fenoperidina, piritramida, folcodina, proheptazoína, properidina, propirano, racemoramida, tabacón, trimeperidina y las sales e hidratos de los mismos farmacéuticamente aceptables.

55 Agentes analgésicos representativos específicos adicionales incluyen, por ejemplo: TALWIN® Nx y DEMEROL® (disponibles ambos de Sanofi Wintrop Pharmaceuticals; Nueva York, NY); LEVO-DROMORAN®; BUPRENEX® (Reckitt & Coleman Pharmaceuticals, Inc.; Richmond, VA); MSIR® (Purdue Pharma L.P.; Norwalk, CT); DILAUDID® (Knoll Pharmaceutical Co.; Mount Olive, NJ); SUBLIMAZE®; SUFENTA® (Janssen Pharmaceutical Inc.; Titusville, NJ); PERCOCET®, NUBAIN® y NUMORFAN® (disponibles todos ellos de Endo Pharmaceuticals Inc.; Chadds Ford, PA) HYDROSTAT® IR, MS/S y MS/L (disponibles todos ellos de Richwood Pharmaceutical Co. Inc.; Florence, KY), ORAMORPH® SR y ROXICÓDONE® (disponibles ambos de Roxanne Laboratories; Columbus OH) y STADOL® (Bristol-Myers Squibb; Nueva York, NY). Otros agentes analgésicos adicionales incluyen agonistas del receptor CB2, tales como AM1241, y compuestos que se fijan a la subunidad a2d, tales como Neurontin (Gabapentin) y pregabalin.

Las dosis adecuadas para el modulador de VR1 dentro de dicha terapia de combinación son generalmente como se ha descrito arriba. Las dosis y métodos de administración de otras medicaciones para alivio del dolor pueden

encontrarse, por ejemplo, en las instrucciones de los fabricantes en la obra *Physician's Desk Reference*. En ciertas realizaciones, la administración de combinación de un modulador de VR1 con una o más medicaciones adicionales contra el dolor da como resultado una reducción de la dosificación de cada agente terapéutico requerida para producir un efecto terapéutico (v.g., la dosificación de uno o ambos agentes puede ser menor que  $\frac{3}{4}$ , menor que  $\frac{1}{2}$ , menor que  $\frac{1}{4}$  o menor que 10% de la dosis máxima indicada anteriormente o aconsejada por el fabricante). En ciertas realizaciones preferidas, la administración de combinación de un modulador de VR1 con una o más medicaciones adicionales para alivio del dolor se realiza por empaquetado de uno o más moduladores de VR1 y una o más medicaciones para alivio del dolor en el mismo envase, tal como se ha descrito arriba.

Moduladores que son agonistas de VR1 pueden utilizarse adicionalmente, por ejemplo, en control de masas (como sustituto de gas lacrimógeno) o protección personal (v.g., en una formulación de spray) o como agentes farmacéuticos para el tratamiento de dolor, prurito, incontinencia urinaria o vejiga hiperactiva por desensibilización de los receptores de capsaicina. En general, los compuestos para uso en control de masas o protección personal se formulan y utilizan de acuerdo con la tecnología convencional del gas lacrimógeno o del spray de pimienta.

En aspectos separados, la presente invención proporciona una diversidad de usos no farmacéuticos *in vitro* para los compuestos formulados en esta memoria. Por ejemplo, tales compuestos pueden marcarse y utilizarse como sondas para la detección y localización de receptores de capsaicina (en muestras tales como preparaciones de células o secciones de tejidos, preparaciones o fracciones de los mismos). Los compuestos pueden utilizarse también como controles positivos en ensayos para actividad de receptores, como patrones para determinación de la aptitud de un agente candidato para fijarse al receptor de capsaicina, o como radiotrazadores para obtención de imágenes por tomografía de emisión de positrones (PET) o para tomografía computerizada de emisión de fotones simples (SPECT). Los compuestos pueden utilizarse para caracterizar los receptores de capsaicina en seres vivos. Por ejemplo, un modulador de VR1 puede marcarse utilizando cualquiera de una diversidad de técnicas bien conocidas (v.g., radiomarcado con un radionucleido tal como tritio, tal como se describe en esta memoria), e incubarse con una muestra durante un tiempo de incubación adecuado (v.g., determinado ensayando primeramente un transcurso de tiempo de fijación). Después de la incubación, se retira el compuesto no fijado (v.g., por lavado), y el compuesto fijado se detecta utilizando cualquier método adecuado para el marcador empleado (v.g., autorradiografía o recuento por centelleo para compuestos radiomarcados; pueden utilizarse métodos espectroscópicos para detectar grupos luminiscentes y grupos fluorescentes). Como control, puede procesarse de la misma manera una muestra equiparable que contenga compuesto marcado y una mayor cantidad (v.g., diez veces mayor) de compuesto sin marcar. Una mayor cantidad de marcador detectable que queda en la muestra de ensayo que en el control indica la presencia de receptor de capsaicina en la muestra. Ensayos de detección, que incluyen autorradiografía de receptores (mapeado de receptores) del receptor de capsaicina en células cultivadas o muestras de tejidos pueden realizarse como ha sido descrito por Kuhar en las secciones 8.1.1 a 8.1.9 de *Current Protocols in Pharmacology* (1998) John Wiley & Sons, Nueva York.

Los moduladores proporcionados en esta memoria pueden utilizarse también con una diversidad de métodos de separación de células bien conocidos. Por ejemplo, los moduladores pueden unirse a la superficie interior de una placa de cultivo de tejidos u otro soporte, para uso como ligandos de afinidad para inmovilización y aislamiento de este modo de receptores de capsaicina (v.g., para aislamiento de células que expresan el receptor) *in vitro*. En una realización preferida, un modulador enlazado a un marcador fluorescente, tal como fluoresceína, se pone en contacto con las células, en las cuales se analizan luego (o se aíslan) por clasificación de células activada por fluorescencia (FACS).

Los Ejemplos que siguen se ofrecen a modo de ilustración y no a modo de limitación. A no ser que se especifique otra cosa, todos los reactivos y disolventes son de calidad comercial estándar y se utilizan sin purificación ulterior. Utilizando modificaciones de rutina, los materiales de partida pueden modificarse y emplearse pasos adicionales para producir otros compuestos proporcionados en esta memoria.

## 50 Ejemplos

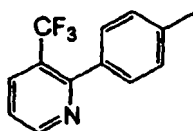
### Ejemplo 1

#### Preparación de Compuestos Representativos

Este ejemplo ilustra la preparación de análogos de benzo[d]isotiazol-3-ilamina sustituidos con arilo representativos.

#### A. [1,1-dioxo-6-(3-trifluorometil-piridin-2-il)1H- $\lambda^6$ -benzo[d]isotiazol-3-il]-(4-trifluorometil-fenil)-amina

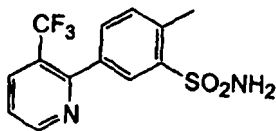
##### 1. 2-(4-Metilfenil)-3-(trifluorometil)-piridina



## ES 2 285 525 T3

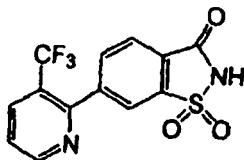
A una mezcla desgasificada de 2-cloro-3-(trifluoro-metil)-piridina (2,26 mmol), ácido 4-metil-fenilborónico (2,49 mmol) y  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  2M (5,65 mmol), en DME (10 ml) bajo nitrógeno, se añade  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  (0,069 mmol). Se agita la mezcla a  $80^\circ\text{C}$  durante una noche, se concentra, y se extrae con EtOAc. Se seca sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se concentra a vacío, y se purifica por cromatografía súbita (4:1 hexanos/EtOAc) para dar 2-(4-metilfenil)-3-(trifluoro-metil)-piridina.

### 2. 2-Metil-5-(3-trifluorometil-piridin-2-il)-bencenosulfonamida



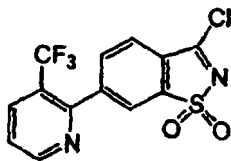
A ácido clorosulfónico enfriado con hielo y agua (211 mmol), se añade cuidadosamente 2-(4-metilfenil)-3-(trifluorometil)-piridina (42 mmol). Se agita la mezcla durante 1 hora a  $60^\circ\text{C}$ . Se enfría a la temperatura ambiente, se vierte la mezcla sobre agua con hielo (200 ml), se extrae con EtOAc, se seca sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , y se concentra a vacío. Se disuelve el residuo en DCM (200 ml), se borbotea a su través  $\text{NH}_3$  gaseoso durante 30 minutos y se agita la mezcla durante 1 hora a la temperatura ambiente. Se concentra, se reparte entre EtOAc y agua, se seca sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , y se concentra a vacío. Se recristaliza con EtOAc-hexanos para obtener 2-metil-5-(3-trifluorometil-piridin-2-il)-bencenosulfonamida.

### 3. 1,1-Dioxo-6-(3-trifluorometil-piridin-2-il)-1,2-dihidro-1 $\lambda^6$ -benzo[d]isotiazol-3-ona



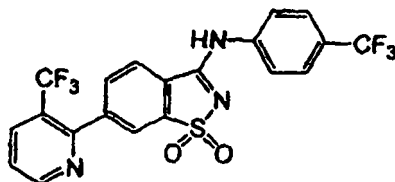
A una solución de 2-metil-5-(3-trifluorometil-piridin-2-il)-bencenosulfonamida (4,75 mmol) en NaOH 1N (5 ml), se añade permanganato de potasio (14,2 mmol). Se agita la mezcla 5 horas a  $80^\circ\text{C}$ . Se enfría a la temperatura ambiente, se filtra, se acidifica el filtrado a pH 3, y se recoge el precipitado para dar 1,1-dioxo-6-(3-trifluorometil-piridin-2-il)-1,2-dihidro-1 $\lambda^6$ -benzo[d]isotiazol-3-ona.

### 4. 3-Cloro-6-(3-trifluorometil-piridin-2-il)-benzo-[d]isotiazol-1,1-dióxido



Se calienta la mezcla de 1,1-dioxo-6-(3-trifluoro-metil-piridin-2-il)-1,2-dihidro-1 $\lambda^6$ -benzo[d]isotiazol-3-ona (1,5 mmol),  $\text{POCl}_3$  (3 ml) y  $\text{PCl}_5$  (2,0 mmol) durante 16 horas a  $160^\circ\text{C}$ . Se enfría bruscamente con hielo, se extrae con EtOAc, y se concentra para dar 3-cloro-6-(3-trifluorometil-piridin-2-il)-benzo[d]isotiazol-1,1-dióxido.

### 5. [1,1-Dioxo-6-(3-trifluorometil-piridin-2-il)-1H- $\lambda^6$ -benzo[d]isotiazol-3-il]-(4-trifluorometil-fenil)-amina

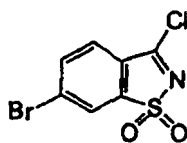


Se calienta la mezcla de 3-cloro-6-(3-trifluorometil-piridin-2-il)-benzo[d]isotiazol-1,1-dióxido (0,33 mmol) y 4-trifluorometil-anilina (0,33 mmol) en piridina (4 ml) durante 16 horas a  $80^\circ\text{C}$ . Se concentra y se purifica por cromatografía (EtOAc:hexanos/1:1) para dar [1,1-dioxo-6-(3-trifluorometil-piridin-2-il)-1H- $\lambda^6$ -benzo[d]isotiazol-3-il]-(4-trifluorometil-fenil)-amina.

## ES 2 285 525 T3

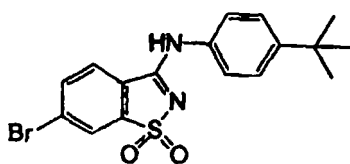
### B. [1,1-dioxo-6-(3-trifluorometil-fenil)1H- $\lambda^6$ -benzo[d]isotiazol-3-il]-(4-*terc*-butil-fenil)-amina

#### 1. 6-Bromo-3-cloro-benzo[d]isotiazol-1,1-dióxido



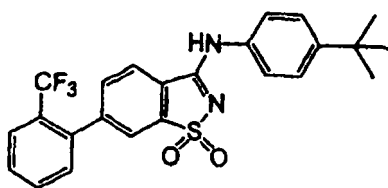
Se calienta una mezcla de 6-bromo-1,1-dioxo-1,2-dihidro-1 $\lambda^6$ -benzo[d]isotiazol-3-ona (Kwon *et al.* (1996) *Arzneim. Forsch.* 46(10): 966-971; 1,5 mmol), POCl<sub>3</sub> (3 ml) y PCl<sub>5</sub> (2,0 mmol) durante 36 horas a 160°C. Se enfría rápidamente con hielo, se extrae con EtOAc, y se concentra para dar 6-bromo-3-cloro-benzo[d]isotiazol-1,1-dióxido.

#### 2. (6-Bromo-1,1-dióxido-1H- $\lambda^6$ -benzo[d]isotiazol-3-il)-(4-*terc*-butil-fenil)-amina



Se calienta la mezcla de 6-bromo-3-cloro-benzo[d]isotiazol-1,1-dióxido (0,33 mmol) y 4-*terc*-butil-anilina (0,33 mmol) en piridina (4 ml) durante 16 horas a 80°C. Se concentra y se purifica por cromatografía (EtOAc-hexanos/1:1) para dar (6-bromo-1,1-dióxido-1H- $\lambda^6$ -benzo[d]isotiazol-3-il)-(4-*terc*-butil-fenil)-amina.

#### 3. 3-[1,1-Dioxo-6-(3-trifluorometil-fenil)1H- $\lambda^6$ -benzo[d]isotiazol-3-il]-(4-*terc*-butil-fenil)-amina



A una mezcla desgasificada de (6-bromo-1,1-dióxido-1H- $\lambda^6$ -benzo[d]isotiazol-3-il)-(4-*terc*-butil-fenil)-amina (0,32 mmol), ácido 2-trifluorometil-fenilborónico (0,40 mmol), y Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 2M (0,80 mmol) en DME (5 ml) bajo nitrógeno, se añade Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (0,012 mmol). Se agita la mezcla a 80°C durante una noche, se concentra y se extrae con EtOAc. Se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se concentra a vacío, y se purifica por cromatografía súbita (4:1 hexanos/EtOAc) para dar [1,1-dioxo-6-(3-trifluorometil-fenil)1H- $\lambda^6$ -benzo[d]isotiazol-3-il]-(4-*terc*-butil-fenil)-amina.

### C. Compuestos adicionales

Utilizando modificaciones de rutina, los materiales de partida pueden modificarse y emplearse pasos adicionales para producir otros compuestos proporcionados en esta invención. Los compuestos enumerados en la Tabla I se prepararon utilizando dichos métodos. El valor CI<sub>50</sub> para los compuestos enumerados en la Tabla I, determinado como se describe en esta memoria, es menor que 1 micromolar.

Los datos de espectroscopia de masas en la columna marcada "MS" se refieren a MS por Electropulverización, obtenida en modo de ion positivo con un voltaje de cono de 15 V o 30 V, utilizando un equipo LCT de tiempo de vuelo Micromasa, equipado con una bomba Waters 600, detector de red de fotodiodos Waters 996, automuestreador Gilson 215, y un microinyector Gilson 841. Se utilizó soporte lógico MassLynx (Advanced Chemistry Development, Inc.; Toronto, Canadá) versión 4.0 para la recogida de datos y el análisis. Se inyectó un volumen de muestra de 1 microlitro en una columna Chromolit SpeedROD C18 de 50 x 4,6 mm, y se eluyó utilizando un gradiente lineal de dos fases a un caudal de 6 ml/min. La muestra se detectó utilizando recuento total de absorbancia a lo largo del intervalo UV de 220-340 nm. Las condiciones de elución fueron: Fase Móvil A-95/5/0,05 agua/metanol/TFA; Fase Móvil B-5/95/0,025 agua/metanol/TFA.

ES 2 285 525 T3

Gradiente:	Tiempo (min)	% B
	0	10
	0,5	100
	1,2	100
	1,21	10

El tiempo de ejecución total fue 2 minutos de inyección a inyección.

TABLA I

*Ánlogos de Benzo[d]isotiazol-3-ilamina Sustituídos con Arilo Representativos*

Compuesto	Nombre	MS(M+1)	NMR
<p>1</p>	(4-terc-Butil-fenil)-[1,1-dioxo-6-(3-trifluorometil-piridin-2-il)-1H-1λ <sup>6</sup> -benzo[d]isotiazol-3-il]-amina	460,2	<sup>1</sup> H NMR (300 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ): 1,30 (s, 9H, C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> ); 7,50 (d, J=9,0 Hz, 2H); 7,71-7,79 (m, 3H); 8,98 (d, J=8,1 Hz, 1H); 8,12 (s, 1H); 8,40(d, J=8,1Hz, 1H); 8,57 (d, J=8,1Hz,1H); 8,97 (d, J=4,5 Hz, 1H); 10,97 (s, 1H,NH)
<p>2</p>	[1,1-Dioxo-6-(3-trifluorometil-piridin-2-il)-1H-1λ <sup>6</sup> -benzo[d]isotiazol-3-il]-(4-isopropil-fenil)-amina	446,2	<sup>1</sup> H NMR 300 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ): 1,21 (d, J=6,9 Hz, 6H, CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ); 2,92 (m, 1H, CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ); 7,36 (d, J=8,1 Hz, 2H); 7,74-7,78 (m, 3H); 8,00 (d, J=8,7 Hz, 1H); 8,12 (s, 1H); 8,40 (d, J=8,1 Hz, 1H); 8,58 (d, J=8,1 Hz, 1 H); 8,96 (d, J= 4,2 Hz, 1H); 10,96 (s, 1H, NH)
<p>3</p>	[1,1-Dioxo-6-(3-trifluorometil-piridin-2-il)-1H-1λ <sup>6</sup> -benzo[d]isotiazol-3-il]-(4-(1,2,2,2-tetrafluoro-1-trifluorometil-etil)-fenil)-amina	572,1	<sup>1</sup> H NMR (300 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ): δ 7,70-7,80 (m, 1H); 7,82 (d, J=8,7 Hz, 2H); 8,03 (d, J=8,1Hz, 1H); 8,14-8,20 (m, 3H); 8,40 (d, J=8,1Hz,1H); 8,61 (d, J=8,1Hz, 1H); 8,97 (d, J = 4,8 Hz, 1H);11,23 (s, 1H, NH)
<p>4</p>	[1,1-Dioxo-6-(3-trifluorometil-piridin-2-il)-1H-1λ <sup>6</sup> -benzo[d]isotiazol-3-il]-(4-trifluorometil-fenil)-amina	472,1	<sup>1</sup> H NMR (300 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ): 7,76-8,18 (m,7H);8,40(d, J=6,3 Hz,1H); 8,60 (d, J = 6,3 Hz,1H); 8,97 (s,1H);11,21(s,1H, NH)
<p>5</p>	(4-terc-Butil-fenil)-[1,1-dioxo-6-(2-trifluorometil-fenil)-1H-1λ <sup>6</sup> -benzo[d]isotiazol-3-il]-amina	459,2	<sup>1</sup> H NMR (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ): 1,30 (s, 9H, C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> ); 7,26 (d, J= 7,2 Hz,2H); 7,40 (d, J=8,4 Hz, 2H); 7,50-7,66 (m, 5H); 7,68-7,93 (m, 3H)

## Ejemplo 2

*Células y Preparaciones de Membrana Transfectadas con VR1*

5 Este ejemplo ilustra la preparación de células transfectadas con VR1 y preparaciones de membrana que contienen VR1 para uso en ensayos de fijación de capsaicina (Ejemplo 3).

10 Un cDNA que codificaba el receptor de capsaicina humana de longitud total (SEQ ID No.: 1, 2 ó 3 de la Patente U.S. No. 6.482.611) se subclonó en el plásmido pBK-CMV (Stratagene, La Jolla, CA) para expresión recombinante en células de mamífero.

15 Se transfectaron células de riñón de embrión humano (HEK293) con el constructo de expresión pBK-CMV que codificaba el receptor de capsaicina humana de longitud total utilizando métodos estándar. Las células transfectadas se seleccionaron durante dos semanas en medios que contenían G418 (400 µg/ml) para obtener una agrupación de células transfectadas de manera estable. Se aislaron clones independientes a partir de esta agrupación por dilución limitante a fin de obtener líneas de células estables clonadas para uso en experimentos subsiguientes.

20 Para experimentos de fijación de radioligandos, las células se sembraron en matraces de cultivo de células T175 en medios sin antibióticos y se dejaron crecer hasta aproximadamente 90% de confluencia. Los matraces se lavaron luego con PBS y se cosecharon en PBS que contenía EDTA 5 mM. Las células se redujeron a un sedimento por centrifugación suave y se guardaron a -80°C hasta su ensayo.

25 Las células previamente congeladas se disgregaron con ayuda de un homogeneizador de tejidos en tampón de homogeneización HEPES enfriado en hielo (KCl 5 mM, NaCl 5,8 mM, CaCl<sub>2</sub> 0,75 mM, MgCl<sub>2</sub> 2 mM, sacarosa 320 mM, y HEPES 10 mM, pH 7,4). Los homogeneizados de tejidos se centrifugaron primeramente durante 10 minutos a 1000 x g (4°C) a fin de eliminar la fracción nuclear y los residuos, y después de ello el sobrenadante procedente de la primera centrifugación se centrifuga ulteriormente durante 30 minutos a 35.000 x g (4°C) para obtener una fracción de membrana parcialmente purificada. Las membranas se resuspendieron en el tampón de homogeneización HEPES antes del ensayo. Una parte alícuota de este homogeneizado de membrana se utilizó para determinar la concentración de proteínas por el método Bradford (BIO-RAD Protein Assay Kit, #500-0001, BIO-RAD, Hercules, CA).

## Ejemplo 3

*Ensayo de Fijación del Receptor de Capsaicina*

35 Este ejemplo ilustra un ensayo representativo de fijación del receptor de capsaicina que puede utilizarse para determinar la afinidad de fijación de los compuestos para el receptor de capsaicina (VR1).

40 Estudios de fijación con [<sup>3</sup>H]-Resiniferatoxina (RTX) se llevaron a cabo esencialmente como ha sido descrito por Szallasi y Blumberg (1992) *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 262: 883-888. En este protocolo, la fijación inespecífica de RTX se reduce por adición de glicoproteína ácida alfa<sub>1</sub> de bovino (100 µg por tubo) después que ha terminado la reacción de fijación.

45 [<sup>3</sup>H]-RTX (37 Ci/mmol) se sintetiza por y se obtiene del Laboratorio de Síntesis y Análisis Químicos, National Cancer Institute-Frederick Cancer Research and Development Center, Frederick, MD. [<sup>3</sup>H]-RTX puede obtenerse también de vendedores comerciales (v.g., Amersham Pharmacia Biotech, Inc.; Piscataway, NJ).

50 El homogeneizado de membrana del Ejemplo 2 se centrifuga como anteriormente y se resuspende hasta una concentración de proteínas de 333 µg/ml en tampón de homogeneización. Las mezclas para el ensayo de fijación se ponen en hielo y contienen [<sup>3</sup>H]-RTX (actividad específica 2200 mCi/ml), 2 µl del compuesto de ensayo no radiactivo, 0,25 mg/ml de seroalbúmina bovina (fracción Cohn V), y 5 x 10<sup>4</sup> - 1 x 10<sup>5</sup> células transfectadas con VR1. El volumen final se ajusta a 500 µl (para ensayos de fijación de competición) o 1.000 µl (para ensayos de fijación de saturación) con la solución del tampón de homogeneización HEPES (pH 7,4) arriba descrita. La fijación inespecífica se define como la que tiene lugar en presencia de RTX no radiactiva 1 µM (Alexis Corp.; San Diego, CA). Para la fijación de saturación, se añade [<sup>3</sup>H]RTX en el intervalo de concentración de 7-1.000 pM, utilizando 1 a 2 diluciones. Típicamente se recogen 112 puntos de concentración para cada curva de fijación de saturación.

55 Los ensayos de fijación de competición se realizan en presencia de [3H]RTX 60 pM y concentraciones variables del compuesto de ensayo. Las reacciones de fijación se inician por transferencia de las mezclas de ensayo a un baño de agua a 37°C y se terminan después de un periodo de incubación de 60 minutos por enfriamiento de los tubos en hielo. La RTX fijada a la membrana se separa de la RTX libre, así como de cualquier RTX fijada a la glicoproteína alfa<sub>1</sub>-ácida, por filtración sobre filtros de fibra de vidrio WALLAC (PERKIN-ELMER, Gaitersburg, MD) que se han impregnado previamente con PEI (polietilenimina) al 1,0% durante 2 horas antes de su utilización. Se dejan secar los filtros durante una noche y se someten luego a recuento en un contador WALLAC 1205 BETA LATE después de adición de fluido de centelleo WALLAC BETA SCINT.

65 Los parámetros de fijación en equilibrio se determinan por ajuste de la ecuación alostérica de Hill a los valores medidos con ayuda del programa de ordenador FIT P (Biosoft, Ferguson, MO) como ha sido descrito por Szallasi, *et al.*

## ES 2 285 525 T3

(1993) *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 266: 678-683. Los compuestos proporcionados en esta memoria exhiben generalmente valores  $K_i$  para el receptor de capsaicina menores que 1  $\mu\text{M}$ , 100 nM, 50 nM, 25 nM, 10 nM, o 1 nM en este ensayo.

### Ejemplo 4

#### Ensayo de Movilización de Calcio

Este ejemplo ilustra ensayos de movilización de calcio representativos para uso en la evaluación de los compuestos de ensayo respecto a actividad agonista y antagonista.

Células transfectadas con plásmidos de expresión (como se describe en el Ejemplo 2) y que expresaban por tanto receptor de capsaicina humana se siembran y se dejan crecer hasta 70-90% de confluencia en placas de 96 pocillos con fondo claro y paredes negras FALCON (#3904, BECTON-DICKINSON, Franklin Lakes, NJ). El medio de cultivo se retira de las placas de 96 pocillos y se añade a cada pocillo tinte sensible al calcio Fluo-3 AM (Molecular Probes, Eugenio, OR) (solución de tinte: 1  $\mu\text{g}$  FLUO-3 AM, 440  $\mu\text{l}$  DMSO y 440  $\mu\text{l}$  de ácido plurónico al 20% en DMSO, diluido en relación 1:250 en tampón Krebs-Ringer HEPES (KRH) (HEPES 25 mM, KCl 5 mM,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  0,96 mM,  $\text{MgSO}_4$  1 mM,  $\text{CaCl}_2$  2 mM, glucosa 5 mM, probenecid 1 mM, pH 7,4), 50  $\mu\text{l}$  de solución diluida por pocillo). Las placas se cubren con lámina delgada de aluminio y se incuban a 37°C durante 1-2 horas en un ambiente que contiene 5% de  $\text{CO}_2$ . Después de la incubación, se vacía el tinte de las placas, y se lavan las células una sola vez con tampón KRH, después de lo cual se resuspenden en tampón KRH.

#### Determinación del valor $CE_{50}$ de la capsaicina

Para medir la aptitud de un compuesto de ensayo para agonizar o antagonizar una respuesta de movilización de calcio en células que expresan receptores de capsaicina u otro agonista vainilloide, se determina primeramente el valor  $CE_{50}$  del agonista de capsaicina. Se añaden a cada pocillo de células 20  $\mu\text{l}$  adicionales de tampón KRH y 1  $\mu\text{l}$  de DMSO, preparado como se ha descrito arriba. Se transfieren automáticamente 100  $\mu\text{l}$  de capsaicina en tampón KRH por el instrumento FLIPR a cada pocillo. La movilización de calcio inducida por capsaicina se observa utilizando los instrumentos FLUOROSKAN ASCENT (Labsystems; Franklin, MA) o FLIPR (sistema lector de placas de imágenes fluorométricas; Molecular Devices, Sunnyvale, CA). Los datos obtenidos entre 30 y 60 segundos después de la aplicación del agonista se utilizan para generar una curva de respuesta de concentración de 8 puntos, con concentraciones finales de capsaicina de 1 nM a 3  $\mu\text{M}$ . Se utiliza el soporte lógico KALEIDAGRAPH (Synergy Software, Reading, PA) para ajustar los datos a la ecuación:

$$y = a * (1 / (1 + (b/x)^c))$$

a fin de determinar la concentración excitadora del 50% ( $CE_{50}$ ) para la respuesta. En esta ecuación, y es la señal de fluorescencia máxima, X es la concentración del agonista o antagonista (en este caso, capsaicina), a es el valor  $M_{\text{max}}$ , b corresponde al valor  $CE_{50}$  y c es el coeficiente de Hill.

#### Determinación de la actividad agonista

Los compuestos de ensayo se disuelven en DMSO, se diluyen en tampón KRH, y se añaden inmediatamente a las células preparadas como se ha descrito arriba. Se añade también a las células capsaicina 100 nM (una concentración aproximada  $CE_{90}$ ) en la misma placa de 96 pocillos como control positivo. La concentración final de compuestos de ensayo en los pocillos de ensayo está comprendida entre 0,1 nM y 5  $\mu\text{M}$ .

La aptitud de un compuesto de ensayo para actuar como agonista del receptor de capsaicina se determina midiendo la respuesta de fluorescencia de las células que expresan receptores de capsaicina provocada por el compuesto como función de la concentración de compuesto. Este dato se ajusta como se ha descrito arriba para obtener el valor  $CE_{50}$ , que es generalmente menor que 1 micromolar, preferiblemente menor que 100 nM, y más preferiblemente menor que 10 nM. El grado de eficacia de cada compuesto de ensayo se determina también por cálculo de la respuesta provocada por una concentración de compuesto de ensayo (típicamente 1  $\mu\text{M}$ ) con relación a la respuesta provocada por capsaicina 100 nM. Este valor, denominado Porcentaje de Señal (POS), se calcula por la ecuación siguiente:

$$\text{POS} = 100 * \text{respuesta del compuesto de ensayo} / \text{respuesta capsaicina 100 nM}$$

Este análisis proporciona una evaluación cuantitativa tanto de la potencia como de la eficacia de los compuestos de ensayo como agonistas del receptor de capsaicina humano. Los agonistas del receptor de capsaicina humano provocan generalmente respuestas detectables a concentraciones menores que 100  $\mu\text{M}$ , o preferiblemente a concentraciones menores que 1  $\mu\text{M}$ , o muy preferiblemente a concentraciones menores que 10 nM. El grado de eficacia en el receptor de capsaicina humano es preferiblemente mayor que 30 POS, más preferiblemente mayor que 80 POS a una concentración de 1  $\mu\text{M}$ . Ciertos agonistas están esencialmente exentos de actividad antagonista como se demuestra por la ausencia de actividad antagonista detectable en el ensayo descrito a continuación para concentraciones de compuesto inferiores a 4 nM, más preferiblemente a concentraciones inferiores a 10  $\mu\text{M}$  y muy preferiblemente a concentraciones menores que o iguales a 100  $\mu\text{M}$ .

## ES 2 285 525 T3

### *Determinación de la actividad antagonista*

Los compuestos de ensayo se disuelven en DMSO, se diluyen en 20  $\mu$ l de tampón KRH de tal modo que la concentración final de compuestos de ensayo en el pocillo de ensayo está comprendida entre 1  $\mu$ M y 5  $\mu$ M, y se añaden a las células preparadas como se ha descrito arriba. Las placas de 96 pocillos que contienen células preparadas y compuestos de ensayo se incuban en la oscuridad, a la temperatura ambiente durante 0,5 a 6 horas. Es importante que la incubación no continúe más de 6 horas. Inmediatamente antes de determinar la respuesta de fluorescencia, se añaden automáticamente 100  $\mu$ l de capsaicina en tampón KRH al doble de la concentración de CE<sub>50</sub> determinada como se ha descrito arriba por medio del instrumento FLIPR a cada pocillo de la placa de 96 pocillos para un volumen final de muestra de 200  $\mu$ l y una concentración final de capsaicina igual al valor CE<sub>50</sub>. La concentración final de los compuestos de ensayo en los pocillos de ensayo está comprendida entre 1  $\mu$ M y 5  $\mu$ M. Los antagonistas del receptor de capsaicina reducen esta respuesta al menos aproximadamente en un 20%, con preferencia al menos aproximadamente en un 50%, y de modo muy preferible al menos en un 80%, en comparación con un control equiparable (*es decir*, células tratadas con capsaicina a dos veces la concentración CE<sub>50</sub> en ausencia de compuesto de ensayo), para una concentración de 10 micromolar o menos, preferiblemente 1 micromolar o menos. La concentración de antagonista requerida para proporcionar una disminución del 50%, con relación a la respuesta observada en presencia de capsaicina y sin antagonista, es el valor CI<sub>50</sub> para el antagonista, y es preferiblemente inferior a 1 micromolar, 100 nanomolar, 10 nanomolar o 1 nanomolar.

Ciertos moduladores de VR1 preferidos son antagonistas que están esencialmente exentos de actividad agonista como se demuestra por la ausencia de actividad agonista detectable en el ensayo descrito arriba para concentraciones de compuesto inferiores a 4 nM, más preferiblemente para concentraciones inferiores a 10  $\mu$ M y muy preferiblemente para concentraciones inferiores a o iguales a 100  $\mu$ M.

### Ejemplo 5

#### *Semi-vida de los Microsomas in vitro*

Este ejemplo ilustra la evaluación de los valores de semi-vida de los compuestos (valores t<sub>1/2</sub>) utilizando un ensayo de semi-vida de microsomas hepáticos representativo.

Se obtienen microsomas hepáticos humanos agrupados de XenoTech LLC (Kansas City, KS). Tales microsomas hepáticos pueden obtenerse también de *In Vitro* Technologies (Baltimore, MD) o Tissue Transformation Technologies (Edison, NJ). Se preparan seis reacciones de ensayo, cada una de las cuales contiene 25  $\mu$ l de microsomas, 5  $\mu$ l de una solución 100  $\mu$ M de compuesto de ensayo, y 399  $\mu$ l de tampón de fosfato 0,1M (19 ml de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,1M, 81 ml de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,1M, ajustado a pH 7,4 con H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>). Se prepara una séptima reacción como un control positivo que contiene 25  $\mu$ l de microsomas, 399  $\mu$ l de tampón de fosfato 0,1M, y 5  $\mu$ l de una solución 100  $\mu$ M de un compuesto con propiedades metabólicas conocidas (*v.g.*, DIAZEPAM o CLOZAPINE). Las reacciones se preincuban a 39°C durante 10 minutos.

Se prepara CoFactor Mixture por dilución de 16,2 mg de NADP y 45,4 mg de Glucosa-6-fosfato en 4 ml de MgCl<sub>2</sub> 100 mM. Se prepara una solución de Glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa por dilución de 214,3  $\mu$ l de suspensión de Glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa (Roche Molecular Biochemicals; Indianápolis, IN) en 1285,7  $\mu$ l de agua destilada. Se añaden 71  $\mu$ l de Starting Reaction Mixture (3 ml de CoFactor Mixture; 1,2 ml de solución de Glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa) a 5 de las 6 reacciones de ensayo y al control positivo. Se añaden 71  $\mu$ l de MgCl<sub>2</sub> 100 mM a la sexta reacción de ensayo, que se utiliza como control negativo. En cada momento puntual (0, 1, 3, 5 y 10 minutos), se pipetea 75  $\mu$ l de cada mezcla de reacción en un pocillo de una placa de pocillos profundos con 96 pocillos que contiene 75  $\mu$ l de acetonitrilo enfriado con hielo. Las muestras se agitan enérgicamente y se centrifugan durante 10 minutos a 3500 rpm (centrífuga Sorval T 6000D, rotor H1000B). Se transfieren 75  $\mu$ l de sobrenadante de cada reacción a un pocillo de una placa de 96 pocillos que contiene 150  $\mu$ l de una solución 0,5  $\mu$ M de un compuesto con un perfil LCMS conocido (patrón interno) por pocillo. Se realiza el análisis LCMS de cada muestra y se mide la cantidad de compuesto de ensayo no metabolizado como AUC, se representa gráficamente la concentración del compuesto frente al tiempo, y se extrapola el valor t<sub>1/2</sub> del compuesto de ensayo.

Los compuestos preferidos proporcionados en esta invención exhiben valores t<sub>1/2</sub> *in vitro* mayores que 10 minutos y menores que 4 horas, preferiblemente entre 30 minutos y 1 hora, en microsomas hepáticos humanos.

### Ejemplo 6

#### *Ensayo de Toxicidad MDCK*

Este ejemplo ilustra la evaluación de la toxicidad de los compuestos utilizando un ensayo de citotoxicidad de células Madin Darby de riñón canino (MDCK).

Se añade 1  $\mu$ l del compuesto de ensayo a cada pocillo de una placa de 96 pocillos con fondo claro (PACKARD, Meriden, CT) para dar una concentración final del compuesto en el ensayo de 10 micromolar, 100 micromolar o 200 micromolar. Se añade disolvente sin compuesto de ensayo a pocillos de control.

## ES 2 285 525 T3

Las células MDCK, ATCC No. CCL-34 (American Type Culture Collection, Manassas, VA) se mantienen en condiciones estériles siguiendo las instrucciones en la hoja de información de producción de la ATCC. Las células MDCK confluentes se tripsinizan, se recogen, y se diluyen a una concentración de  $0,1 \times 10^6$  células/ml con medio templado (37°C) (Medio Esencial Mínimo VITACELL de Eagle, catálogo ATCC #30-2003). Se añaden 100  $\mu$ l de células diluidas a cada pocillo, excepto a cinco pocillos estándar para control de la curva que contienen 100  $\mu$ l de medio templado sin células. La placa se incuba luego a 37°C bajo 95% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub> durante 2 horas con agitación constante mediante sacudidas. Después de la incubación, se añaden 50  $\mu$ l de solución de lisis de células de mamífero (del kit de detección de ATP PACKARD (Meriden, PT) ATP-LITE-M Luminiscent) por pocillo, se cubren los pocillos con adhesivos PACKARD TOPSEAL, y se agitan las placas mediante sacudidas a aproximadamente 700 rpm en un agitador de sacudidas adecuado durante 2 minutos.

Los compuestos causantes de toxicidad reducirán la producción de ATP, con relación a las células sin tratar. El kit de detección de ATP ATP-Lite-M-Luminiscent se utiliza generalmente de acuerdo con las instrucciones del fabricante para medir la producción de ATP en células MDCK tratadas y sin tratar. Se deja que los reactivos PACKARD ATP LITE-M alcancen el equilibrio a la temperatura ambiente. Una vez equilibrada, la solución sustrato liofilizada se reconstituye en 5,5 ml de solución tampón de sustrato (del kit). La solución estándar de ATP liofilizada se reconstituye en agua desionizada para dar un stock 10 mM. Para los 5 pocillos de control, se añaden 10  $\mu$ l del patrón PACKARD diluido serialmente a cada uno de los pocillos de control de la curva estándar para dar una concentración final en cada pocillo subsiguiente de 200 nM, 100 nM, 50 nM, 25 nM y 12,5 nM. Se añade a todos los pocillos solución sustrato PACKARD (50  $\mu$ l), los cuales se cubren luego, y las placas se agitan mediante sacudidas a aproximadamente 700 rpm en un agitador de sacudidas adecuado durante 2 minutos. Se fija al fondo de cada placa un adhesivo PACKARD blanco, y las muestras se adaptan a la oscuridad envolviendo las placas en papel metalizado y dejándolas en la oscuridad durante 10 minutos. Se mide luego la luminiscencia a 22°C utilizando un contador de luminiscencia (v.g., PACKARD TOPCOUNT Microplate Scintillation and Luminiscence Counter o TECAN SPECTRAFLUOR PLUS), y se calculan los niveles de ATP a partir de la curva estándar. Los niveles de ATP en las células tratadas con el o los compuestos de ensayo se comparan con los niveles determinados para las células sin tratar. Las células tratadas con 10  $\mu$ M de un compuesto de ensayo preferido exhiben niveles de ATP que son al menos 80%, preferiblemente al menos 90%, de las células sin tratar. Cuando se utiliza una concentración 100  $\mu$ M del compuesto de ensayo, las células tratadas con los compuestos de ensayo preferidos exhiben niveles de ATP que son al menos 50%, preferiblemente al menos 80%, de los niveles de ATP detectados en las células sin tratar.

### Ejemplo 7

#### *Ensayo de las Células Ganglionares de la Raíz Dorsal*

Este ejemplo ilustra un ensayo representativo de células ganglionares de la raíz dorsal para evaluación de la actividad antagonista o agonista de VR1 de un compuesto.

Se disecan DRG de ratas recién nacidas, se disocian y se cultivan utilizando métodos estándar (Aguayo y White (1992) *Brain Research* 570: 61-67). Después de 48 horas de incubación, se lavan las células una sola vez y se incuban durante 30-60 minutos con el tinte sensible al calcio Fluo 4 AM (2,5-10  $\mu$ g/ml; TefLabs, Austin, TX). Se lavan luego las células una sola vez. La adición de capsaicina a las células da como resultado un aumento dependiente de VR1 en los niveles de calcio intracelulares, que se observa por un cambio en la fluorescencia de Fluo-4 con un fluorómetro. Se recogen los datos durante 60-180 segundos para determinar la señal de fluorescencia máxima.

Para los ensayos de antagonistas, se añaden a las células diversas concentraciones de compuesto. Se representa luego gráficamente la señal fluorescente en función de la concentración de compuesto para identificar la concentración requerida para alcanzar una inhibición del 50% de la respuesta activada por capsaicina, o  $CI_{50}$ . Los antagonistas del receptor de capsaicina tienen preferiblemente un valor  $CI_{50}$  inferior a 1 micromolar, 100 nanomolar, 10 nanomolar o 1 nanomolar.

Para los ensayos de agonistas, se añaden diversas concentraciones de compuesto a las células sin la adición de capsaicina. Los compuestos que son agonistas del receptor de capsaicina dan como resultado un aumento dependiente de VR1 en los niveles de calcio intracelulares, que se observa por un cambio en la fluorescencia de Fluo-4 con un fluorómetro. El valor  $CE_{50}$ , o concentración requerida para alcanzar 50% de la señal máxima para una respuesta activada por capsaicina, es preferiblemente inferior a 1 micromolar, inferior a 100 nanomolar o inferior a 10 nanomolar.

### Ejemplo 8

#### *Modelos Animales para Determinación del Alivio del Dolor*

Este ejemplo ilustra métodos representativos para evaluación del grado de alivio del dolor proporcionado por un compuesto.

##### *A. Ensayo de Alivio del Dolor*

Pueden utilizarse los métodos siguientes para evaluar el alivio del dolor.

*Alodinia mecánica*

La alodinia mecánica (una respuesta anormal a un estímulo inocuo) se evalúa esencialmente como ha sido descrito por Chaplan *et al.* (1994) *J. Neurosci. Methods* 53: 55-63 y Tal y Eliav (1998) *Pain* 64(3): 511-518. Se aplican una serie de filamentos de von Frey de rigidez variable (típicamente 8-14 filamentos en una serie) a la superficie plantar de la pata posterior justamente con la fuerza suficiente para doblar el filamento. Se mantienen los filamentos en esta posición durante no más de 3 segundos o hasta que la rata exhibe una respuesta alodínica positiva. Una respuesta alodínica positiva consiste en levantamiento de la pata afectada seguido inmediatamente por lamedura o sacudida de la pata. El orden y la frecuencia con que se aplican los filamentos individuales se determinan utilizando el método ascendente/descendente de Dixon. El ensayo se inicia con el pelo medio de la serie, aplicándose filamentos subsiguientes de manera consecutiva, ascendente o descendente, dependiendo de si se obtiene una respuesta negativa o positiva, respectivamente, con el filamento inicial.

Los compuestos son eficaces en la inversión o prevención de los síntomas semejantes a la alodinia mecánica si las ratas tratadas con tales compuestos requieren estimulación con un filamento de von Frey de fuerza de rigidez mayor para provocar una respuesta alodínica positiva en comparación con las ratas de control sin tratar o tratadas con vehículo. Alternativa o adicionalmente, el ensayo de un animal en dolor crónico puede realizarse antes y después de la administración del compuesto. En dicho ensayo, un compuesto eficaz da como resultado un aumento en la rigidez del filamento necesario para inducir una respuesta después del tratamiento, en comparación con el filamento que induce una respuesta antes del tratamiento o en un animal que se encuentra también en estado de dolor crónico pero se deja sin tratar o se trata con vehículo. Los compuestos de ensayo se administran antes o después de la aparición del dolor. Cuando un compuesto de ensayo se administra después de la aparición del dolor, el ensayo se realiza 10 minutos a 3 horas después de la administración.

*Hiperalgnesia mecánica*

La hiperalgnesia mecánica (una respuesta exagerada al estímulo doloroso) se ensaya esencialmente como ha sido descrito por Koch *et al.* (1996) *Analgesia* 2(3): 157-164. Las ratas se mantienen en compartimientos individuales de una jaula con un suelo calentado de metal perforado. La duración de la retirada de la pata posterior (es decir, la cantidad de tiempo durante el cual el animal mantiene su pata levantada antes de ponerla de nuevo en el suelo) se mide después de un ligero pinchazo en la superficie plantar de cada pata posterior.

Los compuestos producen una reducción en la hiperalgnesia mecánica si existe una disminución estadísticamente significativa en la duración de la retirada de la pata posterior. El compuesto de ensayo puede administrarse antes o después de la aparición del dolor. Para los compuestos administrados después de la aparición del dolor, el ensayo se realiza 10 minutos a 3 horas después de la administración.

*Hiperalgnesia térmica*

La hiperalgnesia térmica (una respuesta exagerada a un estímulo térmico nocivo) se mide esencialmente como ha sido descrito por Hargreaves *et al.* (1988) *Pain*, 32(1): 77-88. Resumidamente, se aplica una fuente constante de calor radiante a la superficie plantar de cualquiera de las patas posteriores de los animales. El tiempo hasta la retirada (*es decir*, la cantidad de tiempo durante el cual se aplica calor antes que el animal mueva su pata), descrito de otro modo como umbral o latencia térmico(a) determina la sensibilidad al calor de la pata posterior del animal.

Los compuestos producen una reducción en la hiperalgnesia térmica si existe un aumento estadísticamente significativo en el tiempo hasta la retirada de la pata posterior (es decir, si se aumenta el umbral térmico hasta la respuesta o latencia). El compuesto de ensayo puede administrarse antes o después de la aparición del dolor. Para los compuestos administrados después de la aparición del dolor, el ensayo se realiza de 10 minutos a 3 horas después de la administración.

*D. Modelos de Dolor*

El dolor puede inducirse utilizando cualquiera de los métodos siguientes, para permitir el ensayo de la eficacia analgésica de un compuesto. En general, los compuestos proporcionados en esta invención dan como resultado una reducción estadísticamente significativa del dolor tal como se determina por al menos uno de los métodos de ensayo descritos anteriormente, utilizando ratas SD macho y al menos uno de los modelos siguientes.

*Modelo de dolor inflamatorio agudo*

Se induce dolor inflamatorio agudo utilizando el modelo del carragenano esencialmente como ha sido descrito por Field *et al.* (1997) *Br. J. Pharmacol.* 121(8): 1513-1522. Se inyectan en la pata posterior de las ratas 100-200  $\mu$ l de solución de carragenano al 1-2%. Tres a cuatro horas después de la inyección, se ensaya la sensibilidad de los animales a los estímulos térmicos y mecánicos utilizando los métodos arriba descritos. Se administra un compuesto de ensayo (0,01 a 50 mg/kg) al animal, antes del ensayo, o antes de la inyección de carragenano. El compuesto puede administrarse por vía oral o por cualquier vía parenteral, o tópicamente en la pata. Los compuestos que alivian el dolor en este modelo dan como resultado una reducción estadísticamente significativa en la alodinia mecánica y/o la hiperalgnesia térmica.

## ES 2 285 525 T3

### *Modelo de dolor inflamatorio crónico*

El dolor inflamatorio crónico se induce utilizando uno de los protocolos siguientes:

- 5 1. Esencialmente como ha sido descrito por Bertorelli *et al.* (1999) *Br. J. Pharmacol.* 128(6): 1252-1258, y Stein *et al.* (1998) *Pharmacol. Biochem. Behav.* 31(2): 455-51, se inyectan 200  $\mu$ l de Adyuvante Completo de Freund (0,1 mg de *M. tuberculosis* muertos por calentamiento y secados) en la pata posterior de las ratas: 100  $\mu$ l en la superficie dorsal y 100  $\mu$ l en la superficie plantar.
- 10 2. Esencialmente como ha sido descrito por Abbadie *et al.* (1994) *J. Neurosci.* 14(10): 5865-5871 se inyectan ratas con 150  $\mu$ l de CFA (1,5 mg) en la articulación tibio-tarsal.

Antes de la inyección con CFA en cualquier protocolo, se obtiene una sensibilidad de línea base individual a la estimulación mecánica y térmica de las patas posteriores de los animales para cada animal experimental.

15 Después de la inyección de CFA, se ensayan las ratas respecto a hiperalgesia térmica, alodinia mecánica e hiperalgesia mecánica como se ha descrito arriba. Para comprobar el desarrollo de los síntomas, se ensayan las ratas los días 5, 6, y 7 después de la inyección de CFA. El día 7, se tratan los animales con un compuesto de ensayo, morfina o vehículo. Una dosis oral de morfina de 1-5 mg/kg es adecuada como control positivo. Típicamente, se utiliza una  
20 dosis de 0,01-50 mg/kg de compuesto de ensayo. Los compuestos pueden administrarse como un bolus simple antes del ensayo o una, dos o tres veces al día, durante varios días antes del ensayo. Los fármacos se administran por vía oral o por cualquier vía parenteral, o se aplican tópicamente al animal.

Los resultados se expresan como Eficacia Potencial Máxima Porcentual (MPE). El 0% de MPE se define como efecto analgésico del vehículo, definiéndose 100% de MPE como un retorno del animal a la sensibilidad de la línea base pre-CFA. Los compuestos que alivian el dolor en este modelo dan como resultado un valor MPE de al menos 30%.

### *Modelo de dolor neuropático crónico*

30 Se induce el dolor neuropático crónico utilizando la lesión de constricción crónica (CCI) al nervio ciático de la rata esencialmente como ha sido descrito por Bennett y Xie (1988) *Pain* 33: 87-107. Las ratas se anestesian (*v.g.*, con una dosis intraperitoneal de 50-65 mg/kg de pentobarbital con dosis adicionales administradas en caso necesario). Se afeita y se desinfecta la superficie lateral de cada miembro posterior. Utilizando técnica aséptica, se practica una incisión en  
35 la superficie lateral del miembro posterior al nivel medio del muslo. Se disecciona directamente el bíceps femoral y se deja al descubierto el nervio ciático. En un miembro posterior de cada animal, se practican cuatro ligaduras flojas alrededor del nervio ciático con una separación aproximada de 1-2 mm. En el otro lado se deja sin ligar el nervio ciático y no se manipula. Se cierra el músculo conforme a una pauta continua y se cierra la piel con grapas para heridas o suturas. Se evalúan las ratas respecto a alodinia mecánica, hiperalgesia mecánica e hiperalgesia térmica como se ha descrito  
40 arriba.

Los compuestos que alivian el dolor en este modelo dan como resultado una reducción estadísticamente significativa en la alodinia mecánica, la hiperalgesia mecánica y/o la hiperalgesia térmica cuando se administran (0,01-50 mg/kg, por vía oral, parenteral o tópica) inmediatamente antes del ensayo como un bolus simple, o durante varios días: una o dos o tres veces al día antes del ensayo.

50

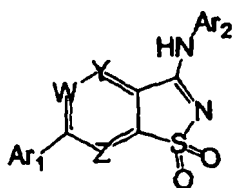
55

60

65

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula:



o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en la cual:

W, Y y Z son independientemente N o CR<sub>1</sub>;

R<sup>1</sup> se selecciona independientemente en cada caso de hidrógeno, halógeno, ciano, amino, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, halo-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y halo-alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

Ar<sub>1</sub> y Ar<sub>2</sub> se seleccionan independientemente de carbociclos y heterociclos aromáticos de 5 a 10 miembros, cada uno de los cuales está sustituido con 0 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, ciano, nitro y grupos de la fórmula LR<sub>a</sub>;

L se selecciona independientemente en cada caso de un enlace covalente simple, O, C(=O), OC(=O), C(=O)O, O-C(=O)O, S(O)<sub>m</sub>, N(R<sub>x</sub>), C(=O)N(R<sub>x</sub>)-, N(R<sub>x</sub>)C(=O), N(R<sub>x</sub>)S(O)<sub>m</sub>, S(O)<sub>m</sub>N(R<sub>x</sub>) y N[S(O)<sub>m</sub>R<sub>x</sub>]<sub>2</sub>S(O)<sub>m</sub>; en donde m se selecciona independientemente en cada caso de 0, 1 y 2; y R<sub>x</sub> se selecciona independientemente en cada caso de hidrógeno y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>; y

R<sub>a</sub> se selecciona independientemente en cada caso de:

(i) hidrógeno; y

(ii) alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, alquino C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, halo-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alquil-éter C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>, mono- y di-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)amino y (heterociclo de 3 a 10 miembros)-alquilo C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>, cada uno de los cuales está sustituido con 0 a 6 sustituyentes seleccionados independientemente de (a) hidroxilo, halógeno, amino, aminocarbonilo, ciano, nitro, oxo y COOH; y (b) alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alqueno C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alquino C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alquiltio C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alquiltio C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alquiltio C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alcanoilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alcanoilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alcanoilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alcanoilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alcoxycarbonilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, hidroxilo-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, halo-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, ciano-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, fenil-alquilo C<sub>0</sub>-C<sub>8</sub>, mono- y di-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)amino-alquilo C<sub>0</sub>-C<sub>8</sub>, alquilsulfonilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, alquilsulfonamido C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> y (heterociclo de 5 a 7 miembros)-alquilo C<sub>0</sub>-C<sub>8</sub>.

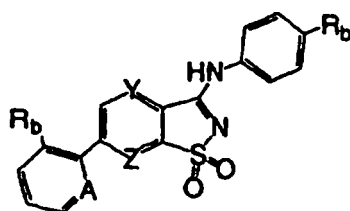
2. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de acuerdo con la reivindicación 1, en el cual Ar<sub>2</sub> es fenilo, piridilo o pirimidinilo, cada uno de los cuales está sustituido con 0 a 2 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, ciano, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, halo-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, halo-alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alquilsulfonilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y (alquilsulfonamido C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>).

3. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con la reivindicación 1, en el cual Ar<sub>1</sub> es fenilo o piridilo, sustituido con 1 ó 2 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, ciano, COOH, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, halo-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, halo-alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alquilsulfonilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y mono- y di-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)sulfonamido.

4. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con la reivindicación 1, en el cual W es CH; e Y y Z son independientemente N o CH.

5. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con la reivindicación 1, en el cual W, Y y Z son cada uno CH.

6. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con la reivindicación 1, en el cual el compuesto tiene la fórmula:



en la cual A es N o CH, y cada R<sub>b</sub> es independientemente halógeno, ciano, nitro o LR<sub>a</sub>.

## ES 2 285 525 T3

7. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con la reivindicación 1, en el cual el compuesto se selecciona de:

(4-terc-butil-fenil)-[1,1-dioxo-6-(3-trifluorometil-piridin-2-il)-1H-1λ<sup>6</sup>-benzo[d]isotiazol-3-il]-amina;

[1,1-dioxo-6-(3-trifluorometil-piridin-2-il)-1H-1λ<sup>6</sup>-benzo[d]isotiazol-3-il]-(4-isopropil-fenil)-amina;

[1,1-dioxo-6-(3-trifluorometil-piridin-2-il)-1H-1λ<sup>6</sup>-benzo[d]isotiazol-3-il]-[4-(1,2,2,2-tetrafluoro-1-trifluorometil-etil)-fenil]-amina;

[1,1-dioxo-6-(3-trifluorometil-piridin-2-il)-1H-1λ<sup>6</sup>-benzo[d]isotiazol-3-il]-(4-trifluorometil-fenil)-amina; y

[1,1-dioxo-6-(3-trifluorometil-fenil)-1H-1λ<sup>6</sup>-benzo[d]isotiazol-3-il]-(4-terc-butil-fenil)-amina.

8. Una composición farmacéutica, que comprende al menos un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-7 en combinación con un vehículo o excipiente fisiológicamente aceptable.

9. Un método para inhibir la fijación de un ligando vainilloide a un receptor de capsaicina *in vitro*, comprendiendo el método poner en contacto el receptor de capsaicina con al menos un compuesto o sal del mismo de acuerdo con la reivindicación 1, en condiciones y en cantidad suficientes para inhibir detectablemente la fijación del ligando vainilloide al receptor de capsaicina.

10. Una preparación farmacéutica empaquetada, que comprende:

(a) una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 8 en un envase; y

(b) instrucciones para utilizar la composición a fin de tratar dolor, tos, hipo, incontinencia urinaria, vejiga hiperactiva, u obesidad.

11. El uso de un compuesto o sal del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-7 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una afección sensible a la modulación de los receptores de capsaicina.

12. Un uso de acuerdo con la reivindicación 11, en el cual la afección es dolor, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, tos, hipo, obesidad, incontinencia urinaria, vejiga hiperactiva, exposición a capsaicina, quemadura o irritación debidas a exposición a calor, quemadura o irritación debidas a exposición a luz, quemaduras, broncoconstricción o irritación debidas a exposición a gas lacrimógeno, contaminantes del aire o spray de pimienta, o quemadura o irritación debidas a exposición a ácido.

13. Un uso de acuerdo con la reivindicación 11, en el cual la afección es prurito, tos o hipo.

14. Un uso de acuerdo con la reivindicación 11, en el cual la afección es dolor.

15. Un uso de acuerdo con la reivindicación 14, en el cual la afección es dolor neuropático.

16. Un uso de acuerdo con la reivindicación 14, en el cual la afección se selecciona de síndrome de dolor post-mastectomía, dolor de muñón, dolor de miembro fantasma, dolor neuropático oral, dolor de muelas, neuralgia post-herpética, neuropatía diabética, distrofia simpática refleja, neuralgia del trigémino, osteoartritis, artritis reumatoide, fibromialgia, síndrome de Guillain-Barre, meralgia parestésica, síndrome de boca ardiente, neuropatía periférica bilateral, causalgia, neuritis, neuronitis, neuralgia, neuropatía afín al SIDA, neuropatía afín a MS, dolor relacionado con lesión en la médula espinal, dolor relacionado con cirugía, dolor músculoesquelético, dolor de espalda, dolor de cabeza, migraña, angina, parto, hemorroides, dispepsia, dolores de Charcot, gases intestinales, menstruación, cáncer, exposición a venenos, síndrome de colon irritable, enfermedad intestinal inflamatoria y traumatismo.

17. Un uso de acuerdo con la reivindicación 11, en el cual la afección es incontinencia urinaria o vejiga hiperactiva.

18. Un uso de acuerdo con la reivindicación 11, en el cual la afección es obesidad.

19. Un uso de acuerdo con la reivindicación 11, en el cual la afección es asma o enfermedad pulmonar obstructiva crónica.