



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 354 417**

51 Int. Cl.:
A61K 31/165 (2006.01)
A61P 23/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **02727436 .4**
96 Fecha de presentación : **19.03.2002**
97 Número de publicación de la solicitud: **1383487**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **28.01.2004**

54 Título: **Nuevo uso de una clase de compuestos peptídicos para tratar alodinia u otros tipos diferentes de dolor crónico o fantasma.**

30 Prioridad: **21.03.2001 EP 01107026**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
14.03.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
14.03.2011

73 Titular/es: **UCB PHARMA GmbH**
Alfred-Nobel-Strasse 10
40789 Monheim, DE

72 Inventor/es: **Selve, Norma**

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

ES 2 354 417 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

NUEVO USO DE UNA CLASE DE COMPUESTOS PEPTÍDICOS PARA TRATAR ALODINIA U OTROS TIPOS DIFERENTES DE DOLOR CRÓNICO O FANTASMA

5

Antecedentes de la invención

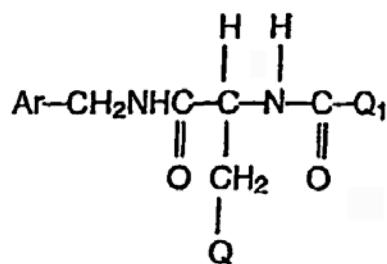
La presente invención se refiere al nuevo uso de un grupo de derivados de aminoácidos específicos según la Fórmula I para la preparación de composiciones farmacéuticas útiles para el tratamiento de dolor fantasma o acúfenos. Particularmente, la presente invención se refiere al nuevo uso de harkoserida y sus derivados para la preparación de composiciones farmacéuticas útiles para el tratamiento de dolor fantasma o acúfenos.

El nombre químico de SPM 927, que también se denomina aquí como harkoserida, es (R)-2-acetamido-N-bencil-3-metoxipropionamida.

Los compuestos de la invención son agentes conocidos útiles en terapia anticonvulsiva para trastornos del sistema nervioso central tales como epilepsia, apoplejía e isquemia cerebral.

La presente invención se refiere al nuevo uso de un compuesto de Fórmula I más abajo para la preparación de composiciones farmacéuticas útiles para el tratamiento de dolor, particularmente para el tratamiento de trastornos de dolor crónico y especialmente para el tratamiento de dolor fantasma y acúfenos.

Según la invención, los compuestos son aquellos de la Fórmula I



(Fórmula I)

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la cual

5 Ar es fenilo que está no sustituido o sustituido con al menos un grupo halo;

Q es alcoxi inferior que contiene 1-3 átomos de carbono y Q₁ es metilo;

se incluyen en la invención los diastereoisómeros y enantiómeros de los compuestos de Fórmula I.

Compuestos preferidos de la invención son aquellos compuestos de acuerdo con la Fórmula I en la cual los compuestos son un isómero (R), (S), o (R,S).

15 El compuesto más preferido de la invención es (R)-2-acetamido-N-bencil-3-metoxipropionamida o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

El dolor es una experiencia subjetiva, y la percepción del dolor tiene lugar en partes particulares del Sistema Nervioso Ce (SNC).

20 Habitualmente, los estímulos nocivos (periféricos) se transmiten al Sistema Nervioso Central (SNC) con antelación, pero el dolor no siempre está asociado con la nocirrecepción.

25 Existe una gran diversidad de tipos diferentes de dolor clínico, que derivan de diferentes mecanismos patofisiológicos subyacentes y que precisarán enfoques de tratamiento diferentes.

La percepción del dolor puede caracterizarse por tres tipos principales de dolor clínico:

- dolor agudo
- 5 - dolor crónico
- dolor neuropático

El dolor clínico agudo resulta típicamente de inflamación o lesión de tejidos blandos. Este tipo de dolor es adaptable y tiene la función biológicamente relevante de advertir y hacer posible que se produzca sin perturbaciones la curación y reparación de una parte del cuerpo ya lesionada. Una función protectora se logra haciendo que el área lesionada/inflamada y el tejido circundante sean hipersensibles a todos los estímulos, de tal manera que se evite el contacto con cualquier estímulo externo. Los mecanismos neuronales que subyacen a este tipo de dolor clínico están bastante bien comprendidos, y se dispone de control farmacológico eficaz del dolor clínico agudo por medio de, por ejemplo, fármacos antiinflamatorios no esteroideos (NSAID) hasta opioides, dependiendo del tipo y alcance de la sensación.

El dolor clínico crónico aparece como anomalías sensoriales prolongadas que resultan de una patología periférica continuada, tal como cáncer o inflamación crónica (por ejemplo artritis), o puede ser independiente de los desencadenantes iniciales. Este último es inadaptable, no ofrece ventaja alguna de supervivencia y muy a menudo no se dispone de tratamiento eficaz.

El dolor neuropático está causado por lesión o infección de nervios sensoriales periféricos. Incluye, pero sin carácter limitante, dolor procedente de traumatismo

de nervios periféricos, infección por virus del herpes, diabetes mellitus, causalgia, avulsión de plexos, neuro-
ma, amputación de miembros, y vasculitis. El dolor neu-
ropático está causado también por lesión nerviosa
5 provocada por alcoholismo crónico, infección por el virus
de la inmunodeficiencia humana, hipotiroidismo, uremia, o
deficiencias vitamínicas. El dolor neuropático incluye,
pero sin carácter limitante, dolor causado por lesión
nerviosa tal como, por ejemplo, el dolor que padecen los
10 diabéticos.

El dolor neuropático presenta dos mecanismos patofi-
siológicos diferentes que tienen que ser considerados:

En primer lugar, la actividad incrementada de neuro-
15 nas aferentes nocirreceptivas tras la sensibilización
de las neuronas (durmientes) (por ejemplo, dolor in-
flamatorio, dolor debido a cáncer, cefalea, lumbal-
gia, dolor visceral, migraña) permaneciendo intacta
la neurona nocirreceptiva aferente primaria, aunque
20 se modifica la actividad del receptor y se encuentran
típicamente umbrales reducidos, aumento de las tasas
de disparo y comienzo de o aumento de la actividad
espontánea.

25 En segundo lugar, la actividad ectópica de neuronas
nocirreceptivas aferentes tras lesiones de sus axones
(por ejemplo, dolor neuropático periférico y cen-
tral), deteriorándose la neurona aferente primaria.
Esto conduce a cambios irreversibles bioquímicos,
30 morfológicos y funcionales periféricos y centrales.
Por esta razón, la neuropatía (periférica) se define

generalmente como una enfermedad del sistema nervioso (periférico).

Existen varias causas de neuropatía humana con va-
5 riabilidad considerable en los síntomas y déficits neu-
rológicos. Las neuropatías dolorosas se definen como
trastornos neurológicos caracterizados por la persisten-
cia de dolor e hipersensibilidad en una región del cuer-
po, de la cual se ha dañado la inervación sensorial, pero
10 el daño a los nervios sensoriales no siempre produce do-
lor neuropático, observándose habitualmente pérdida de
sensación más bien que hipersensibilidad o dolor.

Los trastornos somatosensoriales específicos se de-
nominan alodinia (la estimulación somatosensorial inocua
15 provoca una sensación anormal de dolor intenso con carác-
ter radiante y explosivo que a menudo dura más que la du-
ración del estímulo como un disparo), hiperalgesia (la
estimulación nociva induce sensaciones dolorosas más in-
tensas y prolongadas), parestesia (sensaciones espontáneas
20 as de rechazo pero no dolorosas, descritas como hormiguelo
o "alfileres y agujas"), disestesia (sensaciones anorma-
les provocadas así como espontáneas).

Varios sucesos clave están reconocidos como sucesos
patofisiológicos comunes de estados anormales de dolor
25 particularmente tras la lesión de nervios periféricos.
Así, una descarga espontánea de alta frecuencia desde un
sitio ectópico va seguida de una sensibilidad incrementa-
da de las neuronas de las astas dorsales y de una expan-
sión del campo receptor, a menudo definido como
30 sensibilización central.

Los analgésicos comunes tales como los opioides y
fármacos anti-inflamatorios no esteroideos (NSAID) mejo-

ran sólo insuficientemente los síndromes de dolor crónico anormal. En la búsqueda de regímenes de tratamiento alternativos para producir un alivio satisfactorio y prolongado del dolor, se han ensayado corticosteroides, bloqueo de la conducción, glicerol, antidepresivos, anestésicos locales, gangliósidos y electroestimulación, pero principalmente los anti-convulsivos se han encontrado útiles contra diversos tipos de estados de dolor neuropático, pero parecen ser los más eficaces en casos de sucesos paroxísticos lancinantes, por ejemplo la neuralgia del trigémino.

Si la sobreactividad general y la activación de umbral bajo no conducida de las neuronas sensoriales se consideran como uno de los síndromes principales de neuropatía y sensación de dolor neuropático con una mecanaoalodinia acusada como el síntoma clínico más discapacitante, la inhibición selectiva de este suceso patofisiológico en lugar de la inhibición general de los estímulos nocivos de umbral alto (por ejemplo, por anestésicos locales) de la nocirrecepción sensorial normal proporciona ventajas claras.

Es sabido que las afecciones enumeradas anteriormente son tratadas deficientemente por los analgésicos actualmente comercializados, tales como opioides o fármacos anti-inflamatorios no esteroideos (NSAID) debido a la eficacia insuficiente o efectos secundarios limitantes.

Es un objeto de esta invención proporcionar un nuevo uso de compuestos según la Fórmula I mencionada anteriormente y sus derivados para la preparación de composiciones farmacéuticas útiles para el tratamiento de dolor fantasma o acúfenos.

Particularmente, es un objeto de esta invención proporcionar un nuevo uso de harkoserida para la preparación de composiciones farmacéuticas útiles para el tratamiento de dolor fantasma o acúfenos.

5 La harkoserida, cuyo nombre químico es (R)-2-acetamido-N-bencil-3-metoxipropionamida, es un derivado seleccionado del grupo de los derivados de aminoácidos específicos.

Este grupo de sustancias se describe en los documentos 10 US 5.378.729; US 5.654.301 y 5.773.475. Muestran actividad para el tratamiento de la epilepsia y apoplejía. Pero no se da descripción alguna en las referencias anteriores que haga obvia la presente invención.

Los compuestos de la presente invención pueden formar 15 sales farmacéuticamente aceptables con ácidos o bases tanto orgánicos como inorgánicos.

Por ejemplo, las sales de adición de ácidos de los compuestos básicos se preparan disolviendo la base libre en una disolución acuosa o acuoso alcohólica o en otros 20 disolventes adecuados que contienen el ácido apropiado, y aislando la sal por evaporación de la disolución.

Ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables son hidroccloruros, hidrobromuros, hidrosulfatos, etc., así como sales de sodio, potasio y magnesio, etc.

25 Los compuestos de la presente invención pueden contener uno o varios átomos de carbono asimétricos. La invención incluye los diastereoisómeros o enantiómeros individuales, y sus mezclas. Los diastereoisómeros o enantiómeros individuales se pueden preparar o aislar por 30 métodos ya bien conocidos en la técnica.

Según la invención, se prefiere que los compuestos estén en la configuración (R). Se prefiere que los com-

puestos sean sustancialmente enantiopuros. El compuesto más preferido es (R)-2-acetamido-N-bencil-3-metoxipropionamida.

Los compuestos de esta invención se pueden sintetizar como se describe en los documentos USP 5.378.729; USP 5.654.301 y USP 5.773.475.

Los compuestos fabricados por los métodos sintéticos se pueden usar como composiciones farmacéuticas como agente en el tratamiento de dolor cuando se usa una cantidad eficaz de un compuesto de la Fórmula I, junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable. El agente farmacéutico se puede usar en un método para tratar tales trastornos en mamíferos, incluyendo el ser humano, que padecen dichos trastornos, administrando a tales mamíferos una cantidad eficaz de los compuestos descritos anteriormente en forma de dosificación unitaria.

El compuesto farmacéutico, obtenido según la presente invención, se puede preparar y administrar en una gran diversidad de formas de dosificación por vías de administración oral o parenteral. Por ejemplo, estas composiciones farmacéuticas se pueden preparar en vehículos inertes, farmacéuticamente aceptables, que son sólidos o líquidos. Preparaciones en forma sólida incluyen polvos, comprimidos, gránulos dispersables, cápsulas, sellos, y supositorios. Otras preparaciones en forma sólida y líquida podrían producirse de acuerdo con métodos conocidos de la técnica, y se podrían administrar por vía oral en una formulación apropiada, o por vía parenteral tal como inyección intravenosa, intramuscular, o subcutánea, como formulación líquida.

La cantidad de compuesto activo en una dosis de preparación unitaria se puede variar o ajustar de alrededor

de 1 mg a alrededor de 2 x 300 mg por día por paciente. Se prefiere un intervalo de dosificación diaria de alrededor de 1 mg a alrededor de 300m g. Las dosificaciones, sin embargo, se pueden modificar dependiendo de la necesidad de un paciente, la gravedad de la afección que se esté tratando, y el compuesto que se emplee. La determinación de la dosificación apropiada para situaciones particulares está dentro de la experiencia en la técnica.

Los ejemplos prácticos que siguen, seleccionados a partir de modelos animales específicos, muestran la actividad anti-dolor neuropático de harkoserida y sus derivados en general, y la eficacia antialodínica de harkoserida y sus derivados en particular.

1. Ejemplo 1:

Ensayo de la formalina en la rata

La eficacia significativa y dependiente de la dosis de harkoserida pudo demostrarse en la fase tardía del ensayo de la formalina en la rata.

El ensayo de la formalina es un modelo de dolor tónico inducido químicamente en el cual se evalúan los cambios bifásicos del comportamiento nocirreceptivo, y la plasticidad espinal/supraespinal de la nocirrecepción se considera como una base molecular para el dolor neuropático, particularmente durante la segunda fase (= tardía) del ensayo, durante la cual son activos la mayor parte de los fármacos usados clínicamente contra el dolor neuropático. Estas características han dado como resultado que el ensayo de la formalina esté aceptado como un modelo válido de dolor clínico persistente.

El compuesto se ensayó en lo referente a sus propiedades anti-nocirreceptivas mediante el uso del método de puntuación ponderada de comportamiento: Los animales que se movían libremente se sometieron a evaluación por observación de la posición de la pata posterior izquierda de acuerdo con una puntuación de evaluación en una escala de 0 a 3 antes y 10, 20, 30 y 40 min después de la inyección de 0,05 ml de formalina estéril al 2,5% bajo la piel en la superficie dorsal de la pata. La harkoserida, administrada por vía intraperitoneal inmediatamente antes de la inyección de formalina, producía una reducción dependiente de la dosis del comportamiento nocirreceptivo inflamatorio tónico inducido por la formalina, como se muestra en la tabla 1 (puntuaciones de dolor ponderadas \pm SEM, n = 11-12/grupo).

Tabla 1: Puntuación de dolor ponderada, ensayo de la formalina, rata

| Dosis [mg/kg] | No. de animales | LINEA BASE | Tiempo tras la inyección de formalina y SPM 927 | | | |
|---------------|-----------------|-----------------|---|------------------|------------------|------------------|
| | | | 10 MIN | 20 MIN | 30 MIN | 40 MIN |
| 0 | 11 | 0,00 \pm 0,00 | 0,30 \pm 0,16 | 0,93 \pm 0,21 | 1,84 \pm 0,19 | 2,10 \pm 0,24 |
| 5 | 12 | 0,01 \pm 0,01 | 0,31 \pm 0,11 | 0,78 \pm 0,23 | 1,47 \pm 0,20 | 1,46 \pm 0,19* |
| 10 | 11 | 0,00 \pm 0,00 | 0,42 \pm 0,17 | 0,33 \pm 0,16* | 1,02 \pm 0,27* | 1,05 \pm 0,19* |
| 20 | 12 | 0,00 \pm 0,00 | 0,48 \pm 0,18 | 0,57 \pm 0,14 | 0,78 \pm 0,18* | 1,02 \pm 0,24* |
| 40 | 12 | 0,00 \pm 0,00 | 0,12 \pm 0,05 | 0,10 \pm 0,04* | 0,09 \pm 0,06* | 0,12 \pm 0,06* |

* = Diferencia significativa del vehículo (ANOVA corregido para comparaciones múltiples, $p \leq 0,05$).

El término ANOVA significa Análisis de Varianza.

Estos resultados apoyan y confirman la actividad anti-dolor neuropático formulada como hipótesis del compuesto.

Los datos aquí consignados apoyan y proporcionan la base científica necesaria para la actividad observada anteriormente en el ensayo de retorcimiento y el ensayo de la formalina en el ratón. Los datos primitivos resultaban limitados debido al hecho de que el ensayo de retorcimiento se considera un ensayo muy inespecífico con algunos aspectos nocirreceptivos tónicos inducidos químicamente, que da habitualmente resultados positivos para todos los fármacos psicoactivos, relajantes musculares, etc., no siendo por lo tanto suficientemente específico para reivindicar una actividad específica. Además, los resultados primitivos obtenidos en el ensayo de la formalina en el ratón carecen de pruebas claras de relación con la dosis, y por lo tanto de especificidad de los efectos observados para harkoserida. Adicionalmente, ya se encontró que la dosis única y más elevada que producía efectos significativos en la primera investigación provoca claros efectos secundarios de comportamiento. Por lo tanto, dado que estos fármacos incluyen cambios en el comportamiento, estos cambios relacionados con los fármacos no pueden reivindicarse ya como antinocirreceptivos.

Por lo tanto, únicamente los datos nuevamente consignados proporcionados aquí se pueden considerar como un efecto antinocirreceptivo demostrado in vivo de la harkoserida, sirviendo la dependencia de la dosis como medida de la especificidad y mejora del comportamiento antinocirreceptivo, por no estar asociada con efectos tóxicos.

Ejemplo 2:

30

Lesión por constricción crónica (CCI, modelo de Bennett)

La eficacia de la harkoserida en la reducción del dolor crónico espontáneo, la alodinia mecánica, y la hiperalgesia térmica se ensayó usando el modelo de neuropatía periférica de la lesión por constricción crónica (CCI), uno de los modelos animales in vivo mejor caracterizados usados para estudiar el dolor crónico debido a lesión de nervios periféricos. En este modelo, se aplican ligaduras débiles alrededor del nervio ciático, lo cual produce hinchamiento axonal y una desafuerenciación parcial manifestada como una pérdida significativa pero incompleta de axones en la porción distal del nervio periférico. Uno de los comportamientos destacados observados después de la ligación del nervio ciático es la aparición de protección de la pata posterior, que se considera como una indicación de un dolor crónico espontáneo continuado. El soporte para esta idea se deriva de informes de actividad neural incrementada de la médula espinal, y descarga neuronal espontánea incrementada en las neuronas del tracto espinotalámico y en el tálamo ventrobasal en ausencia de estimulación periférica manifiesta. Además de la aparición de comportamientos de dolor espontáneo, se producen varias anormalidades en el dolor provocado por el estímulo como resultado de la CCI, que incluyen hiperalgesia térmica y alodinia mecánica. Se ha dado a conocer también que el desarrollo de estos dolores anormales provocados por el estímulo ocurre en áreas situadas fuera del territorio del nervio lesionado, áreas inervadas por nervios no lesionados.

Se realizaron ensayos de comportamiento para dolor espontáneo, hiperalgesia térmica, y alodinia mecánica, a fin de evaluar diferentes componentes del dolor neuropático. Antes de cualquier procedimiento experimental, se

recogieron datos iniciales para cada ensayo; además, todos los animales se ensayaron para determinar el desarrollo de comportamientos de dolor crónico 13-25 días después de la cirugía CCI, un día antes del día de la administración de vehículo (0,04 ml de agua estéril/10 g de peso corporal) o del fármaco, y después de la administración de vehículo/fármaco. La secuencia de los ensayos fue (1) comportamiento relacionado con dolor espontáneo, (2) alodinia mecánica, (3) hiperalgesia térmica, a fin de minimizar la influencia de un ensayo sobre el resultado del siguiente. Los procedimientos de ensayo y los resultados se presentan por separado para cada aspecto de dolor crónico. Se administraron 0 (vehículo, 0,04 ml/10 g de peso corporal), 5, 10, 20 ó 40 mg/kg de SPM 927 (n = 7-23/grupo) por vía intraperitoneal 15 minutos antes del primer ensayo de comportamiento.

El dolor espontáneo (dolor continuado sin un estímulo externo aparente) de la pata ligada se evaluó durante 5 min después de un periodo de aclimatación de 10 min, mediante el uso de una puntuación de evaluación (puntuación ponderada de comportamiento en una escala de 0-5).

La harkoserida no cambió el nivel de dolor espontáneo inducido por la lesión por constricción crónica unilateral, como se muestra en la tabla 2 (puntuaciones ponderadas de dolor \pm SEM).

Tabla 2: Nocirrecepción espontánea, modelo CCI, rata

| Dosis [mg/kg] | No. de animales | Valor inicial | Post-op | Post-op + fármaco |
|---------------|-----------------|---------------|----------------|-------------------|
| 0 | 23 | 0 \pm 0 | 1,4 \pm 0,15 | 1,2 \pm 0,14 |
| 5 | 9 | 0 \pm 0 | 2,0 \pm 0,10 | 1,8 \pm 0,18 |

| | | | | |
|----|----|-----------------|------------|------------|
| 10 | 20 | 0,0019 ± 0,0019 | 1,5 ± 0,10 | 1,5 ± 0,11 |
| 20 | 8 | 0 ± 0 | 1,1 ± 0,17 | 0,9 ± 0,14 |
| 40 | 10 | 0,0004 ± 0,0004 | 1,3 ± 0,12 | 0,8 ± 0,28 |

La hiperalgesia térmica se evaluó por medio de la latencia de retirada en respuesta al calor radiante aplicado a la superficie subplantar de la pata posterior ligada de la rata. En comparación con la latencia del valor inicial (s), una disminución significativa en la latencia (postoperativa) de la retirada de la pata en respuesta al estímulo térmico se interpretó como indicativa de la presencia de hiperalgesia térmica después de la lesión por constricción crónica.

La dosis de harkoserida redujo de forma dependiente de la dosis la hiperalgesia térmica inducida por la lesión por constricción crónica, como se muestra en la tabla 3 [latencias (s) ± SEM]. Se observaron efectos significativos solamente a las dosis más elevadas ensayadas (20 y 40 mg/kg, i.p.), observándose el efecto máximo ya a 20 mg/kg, i.p.

Tabla 3: Hiperalgesia térmica, modelo CCI en la rata

| Dosis [mg/kg] | No. de animales | Valor inicial | Post-op | Post-op + fármaco |
|---------------|-----------------|---------------|------------|-------------------|
| 0 | 13 | 9,8 ± 0,74 | 7,0 ± 0,29 | 7,3 ± 0,43 |
| 5 | 7 | 10,5 ± 0,68 | 8,1 ± 0,59 | 9,2 ± 0,98 |
| 10 | 7 | 9,2 ± 0,68 | 7,1 ± 0,60 | 8,1 ± 0,59 |
| 20 | 8 | 10,0 ± 0,70 | 7,0 ± 0,56 | 9,7 ± 0,96* |
| 40 | 8 | 8,3 ± 0,57 | 7,4 ± 0,48 | 10,2 ± 0,75* |

* = Diferencia significativa a partir del vehículo (ANOVA corregido para comparaciones múltiples, $p \leq 0,05$).

20

La sensibilidad mecánica y la alodinia de la pata posterior ligada de la rata se cuantificaron mediante la retirada brusca de la pata en respuesta a los estímulos mecánicos normalmente inocuos como se ha descrito previamente. La sensibilidad a los estímulos mecánicos se ensayó con un algómetro de presión electrónico calibrado de Von Frey, conectado a un sistema de recogida de datos por ordenador en línea. Una disminución significativa en el periodo post-operativo, comparada con la presión del valor inicial (g/mm^2) necesaria para provocar una retirada brusca de la pata en respuesta a este estímulo mecánico, se interpreta como alodinia mecánica.

La harkoserida redujo de manera dependiente de la dosis la intensidad de la alodinia mecánica inducida por la ligación del nervio unilateral, como se muestra en la tabla 4 [presión (g/mm^2) \pm SEM]. El análisis por regresión mostró una correlación lineal positiva entre la dosis de harkoserida y el incremento en la cantidad de fuerza requerida para producir la retirada de la pata.

Tabla 4: Alodinia mecánica, modelo CCI, rata

| Dosis [mg/kg] | No. de animales | Valor inicial | Post-op | Post-op + fármaco |
|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-------------------|
| 0 | 20 | 41,6 \pm 2,20 | 18,8 \pm 2,09 | 20,2 \pm 1,90 |
| 5 | 11 | 53,6 \pm 3,35 | 16,4 \pm 2,56 | 21,8 \pm 2,34 |
| 10 | 17 | 42,9 \pm 2,55 | 21,2 \pm 2,13 | 29,2 \pm 2,85* |
| 20 | 8 | 46,1 \pm 2,62 | 24,7 \pm 2,78 | 39,6 \pm 3,62* |
| 40 | 9 | 48,4 \pm 3,84 | 23,9 \pm 2,23 | 43,0 \pm 5,48* |

* = Diferencia significativa a partir del vehículo (ANOVA corregido para comparaciones múltiples, $p \leq 0,05$).

Estos resultados apoyan y confirman la eficacia anti-alodínica formulada como hipótesis de la harkoserida. Adicionalmente, este efecto está relacionado además con dolor neuropático, y por lo tanto apoya el uso clínico potencial del compuesto imitando tanto como sea posible la situación clínica del tratamiento relacionado con el síntoma.

Una prueba adicional de la especificidad del efecto anti-alodínico de la harkoserida se obtuvo por los resultados negativos en el ensayo de sacudidas de la cola que excluye la analgesia típica de tipo opioide del compuesto. Los datos primitivos obtenidos en ratones se pudieron repetir y confirmar en una segunda especie, la rata, por medios adicionales de elección más apropiada de las dosis ensayadas:

Ejemplo 3

Ensayo de sacudidas de la cola, rata

La harkoserida se ensayó adicionalmente para determinar la actividad potencial en la nocirrecepción térmica medular aguda usando el ensayo de sacudidas de la cola. En este modelo de hiperalgesia térmica aguda medular/refleja se aplica calor radiante a la cola del animal aproximadamente a 2 cm de la punta y se evalúa automáticamente por medio de un algómetro el tiempo de latencia para la reacción de retirada, evitándose la lesión del tejido por un tiempo máximo definido del estímulo. Este ensayo es usado ampliamente como ensayo para la eficacia anti-nocirreceptiva de los agentes farmacológicos, y es altamente predictivo de la eficacia analgésica aguda en

seres humanos. Los analgésicos habitualmente puros de tipo opioide son los más activos; ni los adyuvantes como la amitriptilina, ni los anti-epilépticos ni tampoco los NSAIDs (fármacos anti-inflamatorios no esteroideos) son
5 activos.

Los resultados para 20 y 40 mg/kg de harkoserida por vía intraperitoneal se muestran en la tabla 5 [antinoci-
rrecepción porcentual, calculada como $\frac{\{(latencia\ post-fármaco) - (latencia\ pre-fármaco)\}}{\{(latencia\ máxima) - (latencia\ pre-fármaco)\}} \times 100] \pm SEM, n = 12/grupo].$ Se
10 determinó un valor inicial o latencia de la sacudida de la cola pre-fármaco promediando 5 medidas consecutivas tomadas con 2 minutos de diferencia. Entonces se administró vehículo (agua estéril, 0,04 ml/10 g de peso cor-
poral) o harkoserida, y se registraron las latencias de
15 las sacudidas de la cola a intervalos de 10 minutos durante los 60 minutos siguientes. Incluso a dosis que proporcionaban el efecto máximo en el ensayo de la formalina en la rata (véase más arriba), la harkoserida tenía poco
o ningún efecto sobre la latencia del reflejo de las sa-
20 cudidas de la cola.

Tabla 5: Hiperalgnesia térmica aguda, sacudidas de la cola, rata

| Tiempo después de SPM 927 [min] | Efecto anti-nocirreceptivo [%] de diferentes dosis [mg/kg] de harkoserida i.p. | | |
|---------------------------------|--|------------|---------------|
| | 0 | 20 | 40 |
| 10 | -2,1 ± 3,08 | 5,0 ± 3,94 | -1,6 ± 12,82 |
| 20 | -0,5 ± 3,19 | 9,7 ± 7,51 | -4,3 ± 14,04 |
| 30 | 4,4 ± 4,71 | 9,7 ± 2,37 | -2,3 ± 9,14 |
| 40 | 10,4 ± 5,91 | 1,7 ± 7,42 | - 4,4 ± 11,44 |

| | Efecto anti-nocirreceptivo [%] de diferentes dosis [mg/kg] de harkoserida i.p. | | |
|-----------|---|------------|--------------|
| 50 | 7,6 ± 4,58 | 5,4 ± 4,12 | 0,3 ± 15,50 |
| 60 | 7,4 ± 6,07 | 8,1 ± 5,20 | -5,5 ± 14,11 |

Por lo tanto, no era detectable efecto anti-nocirreceptivo alguno de la harkoserida en el ensayo de la sacudida de la cola, lo cual apoya el perfil formulado como hipótesis de la harkoserida con propiedades anti-
5 alodínicas altamente específicas y que no es activa en condiciones de dolor agudo.

Ejemplo 4

10

Actividad anti-nocirreceptiva de harkoserida en comparación con gabapentina

En el siguiente estudio explicado, la harkoserida usada se abrevia en lo sucesivo como SPM 927, y la gabapentina se abrevia en lo sucesivo como GBP.
15

OBJETIVO:

20 El propósito principal de este estudio fue evaluar la actividad anti-nocirreceptiva de SPM 927 y gabapentina (GBP) en modelos de roedores para dolor inflamatorio, y comparar los efectos in vivo de cada fármaco entre sí.

25 MÉTODOS:

Se indujo hiperalgesia mecánica inducida por carrageenano en ratas mediante inyección subplantar de 0,1 ml

de una suspensión de carrageenano al 2%, y se midió 3 h después mediante el ensayo de presión en la pata (Randall-Sellito).

Se indujo nocirrecepción inflamatoria subcrónica en ratones mediante la inyección subplantar de formalina (0,02 ml de una disolución al 5%). El comportamiento nocirreceptivo (lamer la pata) se midió y se cuantificó entre 0 y 5 min. (dolor agudo) y entre 20 y 30 min. (dolor inflamatorio subcrónico) después de la inyección de formalina.

Fármacos y diseño experimental: SPM 927 y GBP se suspendieron en metilcelulosa al 1%, y se administraron i.p. a dosis de 10 mg/kg, 20 mg/kg y 40 mg/kg. El tiempo de pretratamiento fue 30 min. antes de la medida del dolor. Un grupo de animales sirvió como controles, y recibió en consecuencia una inyección de disolvente (10 ml/kg), y otro grupo de animales recibió un compuesto de referencia (ensayo de carrageenano: 10 mg/kg de indometacina; ensayo de formalina: 10 mg/kg de morfina). Cada compuesto se ensayó en un experimento separado, y cada experimento incluyó un grupo de control y un grupo de referencia. Se usaron 10 ratas por grupo en el ensayo de carrageenano, y 6 ratones por grupo en el ensayo de formalina.

25

RESULTADOS:

Hiperalgnesia mecánica inducida por carrageenano en ratas: los resultados se resumen en la siguiente tabla 6.

30

Tabla 6

| | VEHÍCULO pata no inflamada | VEHÍCULO pata in- flamada | SPM 927 [10] | SPM 927 [20] | SPM 927 [40] | Indometacina [10] |
|--|----------------------------------|---------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------|
| Umbral noci- rreceptivo | 330±16 | 164±15 ^a | 324±15 ^b | 426±24 ^b | 444±13 ^b | 384±11 ^b |
| | VEHÍCULO pata no inflamada | VEHÍCULO pata in- flamada | GBP [10] | GBP [20] | GBP [40] | Indometacina (10) |
| Umbral noci- rreceptivo | 396±15 | 204±10 ^a | 254±39 | 296±31 | 282±33 | 370±15 ^b |
| ^a indica una diferencia significativa en comparación con la pata no inflamada (p<0,05; prueba de la t de Student) | | | | | | |
| ^b indica una diferencia significativa en comparación con el grupo tratado con el vehículo (p<0,05; test de Dunnett) | | | | | | |

En los tres experimentos, se desarrolló hiperalgesia mecánica significativa, como se muestra por las diferen-
5 cias significativas en el umbral nocirreceptivo en la pata inflamada en comparación con la pata no inflamada.

Todas las dosis de SPM 927 dieron como resultado una inversión total de la hiperalgesia mecánica inducida por carrageenano.

10 La antinocirrepción de SPM 927 fue comparable a la del compuesto de referencia indometacina.

A las dosis ensayadas, la GBP no tuvo ningún efecto significativo sobre la hiperalgesia mecánica inducida por carrageenano.

15 Nocirrepción inflamatoria subcrónica en ratones (ensayo de formalina): los resultados se resumen en la siguiente tabla 7.

20

Tabla 7

| | Fase | VEHÍCULO | SPM 927 [10] | SPM 927 [20] | SPM 927 [40] | Morfina [10] |
|--|----------|----------|--------------------|-----------------|--------------------|-------------------|
| Umbral nocirre- ceptivo [s] | Temprana | 84±16 | 67±15 | 69±8 | 8±8 ^a | 6±3 ^a |
| | Tardía | 119±18 | 58±16 ^a | 128±16 | 17±17 ^a | 10±8 ^a |
| | | VEHÍCULO | GBP [10] | GBP [20] | GBP [40] | Morfina (10) |
| Umbral nocirre- ceptivo [s] | Temprana | 106±15 | 98±20 | 102±17 | 72±10 | 8±6 ^a |
| | Tardía | 111±24 | 133±30 | 118±13 | 73±13 | 0±0 ^a |
| ^a indica una diferencia significativa en comparación con el grupo tratado con el vehículo (p<0,05; test de Dunnett) | | | | | | |

La formalina indujo una clara respuesta nocirreceptiva. SPM-927 suprimió de forma dependiente de la dosis la respuesta nocirreceptiva. La eficacia de SPM 927 fue similar a la de morfina, es decir, una inversión casi completa de la nocirrecepción inducida por formalina. GBP inhibió ligeramente pero no de forma significativa la respuesta nocirreceptiva inducida por formalina.

10 Ejemplo 5

Las siguientes Tablas 8 y 9 muestran los efectos de harkoserida (en lo sucesivo denominada SPM 927), carbamazepina, levetiracetam, gabapentina y morfina en el ensayo de dolor neuropático (CHUNG) en la rata. Se usaron ocho (8) ratas por grupo.

La Tabla 8 muestra los efectos examinados por estimulación táctil sobre la pata lesionada.

La Tabla 9 muestra los efectos examinados por estimulación térmica sobre la pata lesionada.

En general, todos los compuestos mostraron efectos más pronunciados sobre la estimulación nocirreceptiva táctil que sobre la estimulación nocirreceptiva térmica,

y SPM 927 fue como mínimo comparable, pero habitualmente más potente que los compuestos de referencia.

TABLA 8

| EFFECTOS DE SPM 927, CARBAMAZEPINA, LEVETIRACETAM, GABAPENTINA Y MORFINA EN EL ENSAYO DE DOLOR NEUROPÁTICO (CHUNG) EN LA RATA (8 RATAS POR GRUPO) ESTIMULACIÓN TÁCTIL | | | |
|--|---|------------|-------------|
| (pata lesionada) | | | |
| TRATAMIENTO (mg/kg) i.p. -30 min | FUERZA QUE INDUCE LA RETIRADA DE LA PATA (g) | | |
| | media ± s.e.m. | valor de p | % de cambio |
| Control simulado | 63,3±4,5 | - | - |
| Control lesionado | 17,4±2,2*** (a) | 0,000 | -73% (a) |
| SPM 927 (8) | 27,2±4,9 NS (b) | 0,094 | +56% (b) |
| SPM 927 (16) | 24,4±3,0 NS (b) | 0,086 | +40% (b) |
| SPM 927 (32) | 37,6±6,1 ** (b) | 0,008 | +116% (b) |
| Carbamazepina (16) | 21,0±2,3 NS (b) | 0,275 | +21% (b) |
| Carbamazepina (32) | 38,4±8,1 * (b) | 0,026 | +121% (b) |
| Carbamazepina (64) | 39,2±9,1 * (b) | 0,036 | +125% (b) |
| Levetiracetam (16) | 23,0±4,0 NS (b) | 0,243 | +32% (b) |
| Levetiracetam (32) | 25,0±5,2 NS (b) | 0,199 | +44% (b) |
| Levetiracetam (64) | 19,8±4,1 NS (b) | 0,612 | +14% (b) |
| Gabapentina (32) | 17,2±3,0 NS (b) | 0,959 | -1% (b) |
| Gabapentina (64) | 23,5±4,2 NS (b) | 0,219 | +35% (b) |
| Gabapentina (128) | 33,6±6,7 * (b) | 0,038 | +93% (b) |
| Morfina (16) | 45,9±8,8 ** (b) | 0,007 | +164% (b) |

Prueba de la t de Student (no pareada) : NS = No Significativo; * = p < 0,05; ** = p < 0,01; *** = p < 0,001
(a) comparado con el control simulado
(b) comparado con el control lesionado

TABLA 9

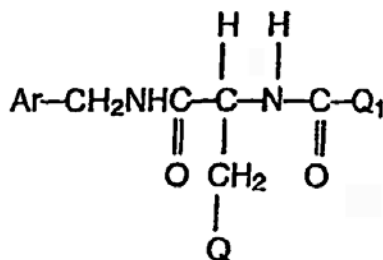
| EFFECTOS DE SPM 927, CARBAMAZEPINA, LEVETIRACETAM, GABAPENTINA Y MORFINA EN EL ENSAYO DE DOLOR NEUROPÁTICO (CHUNG) EN LA RATA (8 RATAS POR GRUPO) ESTIMULACIÓN TÉRMICA | | | |
|---|--|------------|-------------|
| (pata lesionada) | | | |
| TRATAMIENTO (mg/kg) i.p. -30 min. | LATENCIA DE RETIRADA DE LA PATA (s) | | |
| | media ± s.e.m. | valor de p | % de cambio |
| Control simulado | 40,6±2,2 | - | - |
| control lesionado | 16,3±4,4 *** (a) | 0,000 | -60% (a) |
| SPM 927 (8) | 26,1±5,4 NS (b) | 0,180 | +60% (b) |
| SPM 927 (16) | 16,8±4,5 NS (b) | 0,933 | +3% (b) |
| SPM 927 (32) | 21,1±5,6 NS (b) | 0,512 | +29% (b) |
| Carbamazepina (16) | 35,6±4,1 ** (b) | 0,006 | +118% (b) |
| Carbamazepina (32) | 22,7±4,3 NS (b) | 0,315 | +39% (b) |
| Carbamazepina | 28,8±6,9 NS (b) | 0,147 | +77% (b) |
| Levetiracetam (16) | 19,0±3,6 NS (b) | 0,641 | +17% (b) |
| Levetiracetam | 17,1±2,9 NS (b) | 0,882 | +5% (b) |
| Levetiracetam (64) | 26,6±6,0 NS (b) | 0,187 | +63% (b) |
| Gabapentina (32) | 19,3±3,6 NS (b) | 0,611 | +18% (b) |
| Gabapentina (64) | 28,5±5,4 NS (b) | 0,101 | +75% (b) |
| Gabapentina (128) | 27,1±5,2 NS (b) | 0,135 | +66% (b) |
| Morfina (16) | 42,4±1,9 *** (b) | 0,000 | +160% (b) |

Prueba de la t de Student (no pareada) : NS = No Significativo; ** = p < 0,01; *** = p < 0,001

(a) comparado con el control simulado
(b) comparado con el control lesionado

REIVINDICACIONES

1.- Uso de un compuesto que tiene la fórmula (I)



5

(Fórmula I)

en la cual

Ar es fenilo que está no sustituido o sustituido con al menos un grupo halo,

10 Q es alcoxi inferior que contiene 1-3 átomos de carbono y Q₁ es metilo,

o de una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento de dolor fantasma o acúfenos.

15 2.- Uso según la reivindicación 1, en el que el compuesto o una de sus sales farmacéuticamente aceptables se encuentra en la configuración R.

3.- Uso según la reivindicación 1 ó 2, en el que el compuesto es sustancialmente enantiopuro.

20 4.- Uso de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que Ar es fenilo no sustituido.

5.- Uso de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que halo es fluoro.

25 6.- Uso según la reivindicación 1, en el que el compuesto de fórmula (I) es (R)-2-acetamido-N-bencil-3-metoxipropionamida o su sal farmacéuticamente aceptable.

7.- Uso según la reivindicación 6, en el que el compuesto de fórmula (I) es (R)-2-acetamido-N-bencil-3-metoxipropionamida.