



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 365 473**

51 Int. Cl.:
A61K 31/52 (2006.01)
A61K 31/7076 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **01971222 .3**
96 Fecha de presentación : **20.09.2001**
97 Número de publicación de la solicitud: **1328236**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **23.07.2003**

54 Título: **Procedimientos para reducir o prevenir el dolor usando derivados de espicamicina.**

30 Prioridad: **20.09.2000 US 234382 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
06.10.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
06.10.2011

73 Titular/es: **The General Hospital Corporation
55 Fruit Street
Boston, Massachusetts 02114, US**

72 Inventor/es: **Borsook, David**

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 365 473 T3

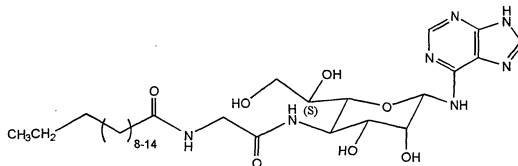
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar 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

Procedimientos para reducir o prevenir el dolor usando derivados de espicamicina

Antecedentes de la Invención

La espicamicina (SPM) es un antibiótico antitumoral producido por la bacteria *Streptomyces*



alanosinicus 879-MT₃ (Hayakawa y col., Agric. Biol. Chem. 49:2685-2691, 1985). La espicamicina y sus derivados también se usan para alivio del dolor (Patente de Estados Unidos N° 5.905.069). La SPM de origen natural tiene la siguiente estructura general, variando solamente en el resto de ácido graso:

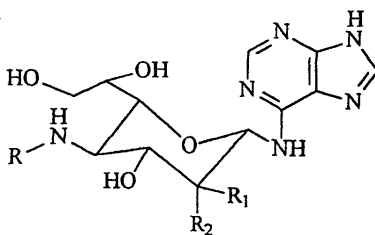
Fórmula I: Espicamicina

Se describen variantes sintéticas de espicamicina y su uso como un agente antitumoral en Otake y col., Patentes de Estados Unidos N° 5.461.036 y 5.631.238.

Sumario de la Invención

La invención se basa en el descubrimiento inesperado de que la retirada sustancial del resto de ácido graso en una subclase de derivados de espicamicina da como resultado fármacos especialmente útiles para el tratamiento del dolor. Esta subclase de derivados de espicamicina muestra aumento de solubilidad en agua relativa a derivados que contienen ácidos grasos y por lo tanto son más susceptibles de formulaciones adecuadas para administración humana (por ejemplo, formulaciones que contienen un tampón fisiológico acuoso). Además, la toxicidad potencial de las formulaciones farmacéuticas que contienen esta subclase de derivados de espicamicina puede reducirse debido a que no se requieren vehículos lipófilos tóxicos para solubilizar los principios activos.

Por lo tanto, la invención presenta un compuesto de Fórmula II eficaz para proporcionar alivio del dolor significativo en el sujeto para su uso al proporcionar alivio de dolor en un sujeto (por ejemplo, un mamífero, tal como un ser humano, perro, gato o caballo) que necesite alivio del dolor.

**Fórmula II**

R₁ y R₂ son diferentes entre sí y representan -H o -OH y R representa (1) un alquilo sustituido o no sustituido que tiene uno o dos átomos de carbono (es decir, no más de dos átomos de carbono) o (2) -H. Por ejemplo, R puede contener un grupo amino (por ejemplo, un grupo amino primario), un grupo carbonilo o ambos. Cuando R es -COCH₂NH₂, R₁ es -H y R₂ es -OH, el compuesto se conoce como 4'-N-glicil espicamicina amino nucleósido (SAN-Gly). Cuando R es -H, el compuesto se conoce como SAN. Véase, por ejemplo, Kamishohara y col., Oncology Res. 6:383-390; 1994. También puede usarse una sal del compuesto de Fórmula II en la invención.

Los compuestos (y sales de los mismos) de Fórmula II útiles para proporcionar alivio del dolor también son en los que R₁ y R₂ son independientemente H o OH, en los que R₁ y R₂ no son simultáneamente el mismo y R representa (1) un alquilo sustituido o no sustituido que tiene uno o dos átomos de carbono o (2) -H.

El término "alquilo" indica una cadena de hidrocarburo ramificada o sencilla que contiene átomos de carbono o restos de hidrocarburo cíclico. Estos grupos alquilo también pueden contener uno o más dobles enlaces o triples enlaces. Por "alquilo sustituido" se entiende un alquilo en el que un átomo del alquilo se sustituye con, por ejemplo, un átomo de carbono, nitrógeno, azufre, oxígeno o halógeno o como alternativa un átomo de nitrógeno, azufre, oxígeno o halógeno.

Los ejemplos de sustituyentes que pueden unirse a cualquier átomo del grupo alquilo en un “alquilo sustituido” incluyen grupos heterocíclicos; grupos heteroarilo, grupos amino, grupos amido, grupos alcoxi, grupos aciloxi, grupos tioalcoxi, grupos acil tioalcoxi, grupos halógenos, grupos sulfonato, grupos sulfonamida, grupos éster, ácidos carboxílicos, oxígeno (por ejemplo, un grupo carbonilo) y azufre (por ejemplo un grupo tiocarbonilo). Los sustituyentes también incluyen cualquier grupo funcional químico que transmita solubilidad en agua mejorada a la molécula (por ejemplo, ácido carboxílico, éster carboxílico, carboxamido, morfolino, piperazinilo, imidazolilo, tiomorfolino o grupos tetrazolilo; tanto sustituidos como no sustituidos).

Los términos “halo” y “halógeno” se refieren a cualquier radical de flúor, cloro, bromo o yodo. Las expresiones “anillo” y “sistema de anillos” se refiere a un anillo que comprende el número de átomos indicado, siendo dichos átomos carbono o, cuando se indique, un heteroátomo tal como nitrógeno, oxígeno o azufre. El anillo en sí mismo, así como cualquier sustituyente en el mismo, puede unirse a cualquier átomo que permita que se forme un compuesto estable.

El término “arilo” se refiere a un sistema de anillos aromático monocíclico de 6 carbonos o bicíclico de 10 carbonos en el que 0, 1, 2 ó 3 átomos de cada anillo pueden sustituirse por un sustituyente. Los ejemplos de grupos arilo incluyen fenil, naftil y similares. El término “heteroarilo” se refiere a un sistema de anillos aromático monocíclico de 5-8 miembros, bicíclico de 8-12 miembros o tricíclico de 11-14 miembros que comprende 1-3 heteroátomos si es monocíclico, 1-6 heteroátomos si es bicíclico o 1-9 heteroátomos si es tricíclico, seleccionándose dichos heteroátomos de O, N o S, en el que 0, 1, 2 ó 3 átomos de cada anillo pueden sustituirse por un sustituyente. Los ejemplos de grupos heteroarilo incluyen piridilo, furilo o furanilo, imidazolilo, bencimidazolilo, pirimidinilo, tiofenilo o tienilo, quinolinilo, indolilo, tiazolilo y similares.

El término “heterociclilo” se refiere a un sistema de anillos no aromático monocíclico de 5-8 miembros, bicíclico de 8-12 miembros o tricíclico de 11-14 miembros que comprende 1-3 heteroátomos si es monocíclico, 1-6 heteroátomos si es bicíclico o 1-9 heteroátomos si es tricíclico, seleccionándose dichos heteroátomos de O, N o S, en el que 0, 1, 2 ó 3 átomos de cada anillo pueden sustituirse por un sustituyente. Los ejemplos de grupos heterociclilo incluyen piperizinilo, pirrolidinilo, dioxanilo, morfolinilo, tetrahidrofuranilo y similares.

Las combinaciones de sustituyentes y variables previstas por la presente invención son solamente las que dan como resultado la formación de compuestos estables. El término “estable”, como se usa en el presente documento, se refiere a compuestos que poseen estabilidad suficiente para permitir la fabricación y que mantiene la integridad del compuesto durante un periodo de tiempo suficiente para ser útil para los fines detallados en el presente documento (por ejemplo, administración terapéutica o profiláctica a un sujeto o aplicaciones antisépticas, de impregnación de apósitos, esterilizantes o desinfectantes).

Un “sujeto que necesita alivio del dolor” no experimenta necesariamente dolor actualmente y “alivio del dolor” incluye menos de 100 % de reducción del dolor. Por ejemplo, la invención puede usarse para tratar a un mamífero incluyendo un paciente humano, un perro, un gato o un caballo, para dolor neuropático atribuible a cualquier causa, por ejemplo, neuralgia postherpética, dolor de muñón de amputación o fantasma, neuropatía diabética, neuropatía de síndrome de inmunodeficiencia adquirida, dolor de espalda y dolor visceral (por ejemplo, pancreatitis crónica). Por “dolor neuropático” se entiende dolor que surge de lesión o perturbación del sistema nervioso periférico.

El compuesto puede administrarse por vía local o vía sistémica, por ejemplo, mediante un implante (para liberación lenta, por ejemplo) o por inyección de embolada intravenosa o infusión. Un “implante” es cualquier dispositivo que reside en un tejido más profundo que la piel, en el que el dispositivo produce una liberación regulada o continua de un compuesto. Tales dispositivos se conocen bien en la técnica del suministro farmacéutico (véase, por ejemplo, Patente de Estados Unidos N° 6.013.853). Por ejemplo, un compuesto de Fórmula II puede prepararse con vehículos que protegerán el compuesto frente a eliminación rápida del cuerpo, tal como una formulación de liberación controlada, incluyendo sistemas de suministro microencapsulados. Pueden usarse polímeros biodegradables, biocompatibles, tales como etilen vinil acetato, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, polioctoésteres y ácido poliláctico. Los procedimientos para la preparación de tales formulaciones resultarán evidentes para los expertos en la materia. Los materiales también pueden obtenerse comercialmente de Alza Corporation y Nova Pharmaceuticals, Inc. También pueden usarse suspensiones liposomales como vehículos farmacéuticamente aceptables. Estas pueden prepararse de acuerdo con procedimientos conocidos por los expertos en la materia, por ejemplo, como se describe en la Patente de Estados Unidos N° 4.522.811. La cantidad de compuesto administrado a la vez puede ser de aproximadamente 1 ng a 4 mg/m² de área de superficie corporal (por ejemplo, 80 ng a 1mg/m² de área de superficie corporal) y el compuesto puede formularse en una solución acuosa que contiene opcionalmente vehículos farmacéuticamente aceptables. Otras dosificaciones adecuadas incluyen aproximadamente de 1 a 1.000 mg/kg de peso corporal (por ejemplo, aproximadamente de 10 a 500 o aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal).

El tratamiento de acuerdo con la invención produce alivio del dolor en pacientes cuyo dolor actual es resistente a otros procedimientos de alivio del dolor, tales como usando fármacos opioides. La invención también puede usarse en anticipación de dolor para prevenir el dolor.

La invención se refiere adicionalmente a un compuesto (o composición) de cualquiera de las fórmulas indicadas en el presente documento, incluyendo las de Fórmula II para su uso para inhibir, tratar o prevenir selectivamente dolor

neuropático. En otro aspecto, la invención se refiere a un compuesto (o composición) de cualquiera de las fórmulas indicadas en el presente documento para su uso para inhibir, tratar o prevenir selectivamente dolor neuropático selectivamente frente a dolor nociceptivo. Cuando se usa en el presente documento, selectivamente se refiere a inhibir el dolor neuropático en mayor medida que el dolor nociceptivo. Como alternativa, selectivamente se refiere a inhibir el dolor neuropático al menos 50 % más (por ejemplo, > 100 % más, > 200 % más, > 500 % más) que el dolor nociceptivo según se determina por modelos de dolor convencionales, incluyendo los indicados en Borsook y col., documento U.S. 5.905.069 y Abdi y col., Anesth. Analg. 91, 955-999 (2000).

A no ser que se definan de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tiene el mismo significado que se entiende habitualmente por un experto en la materia a la que pertenece la presente invención. Aunque se describen posteriormente procedimientos y materiales adecuados, pueden usarse procedimientos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente documento en la práctica o ensayo de la presente invención.

En caso de conflicto, la presente memoria descriptiva, incluyendo definiciones, regirá. Además, los materiales, procedimientos y ejemplos son solamente ilustrativos y no pretenden ser limitantes.

Otras características y ventajas de la invención resultarán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada y a partir de las reivindicaciones.

Breve Descripción de los Dibujos

La Figura 1 es una gráfica de barras de fuerza en gramos (fuerza alta se correlaciona con umbral del dolor alto) frente a tiempo de ensayo, para ratas no tratadas y ratas tratadas con SAN-Gly. Las barras de error representan una desviación típica.

La Figura 2 es una gráfica de barras de fuerza en gramos (fuerza alta se correlaciona con umbral del dolor alto) frente a tiempo de ensayo, para ratas no tratadas y ratas tratadas con SAN-Gly a 100 mg/kg, 200 mg/kg y 300 mg/kg. Las barras de error representan una desviación típica.

Descripción Detallada

La invención se refiere a un derivado de espicamicina soluble en agua (Fórmula 11) en una cantidad suficiente para reducir o prevenir el dolor para su uso en la reducción o prevención del dolor en un sujeto. En consecuencia, el compuesto de la presente invención puede administrarse mediante cualquier vía apropiada, por ejemplo, por vía intravenosa, vía intraarterial, vía tópica, vía nasal, mediante inhalación en los pulmones, por vía intraperitoneal, vía intrapleural, vía oral, vía subcutánea, vía intramuscular, vía sublingual, vía intraepidérmica, vía vaginal o vía rectal. El compuesto puede formularse como una solución, suspensión, supositorio, comprimido, gránulos, polvo, cápsulas, pomada o crema. Pueden añadirse una diversidad de aditivos a estas formulaciones, tales como un disolvente (por ejemplo, agua o solución salina fisiológica), agente solubilizador (por ejemplo, etanol, Polisorbatos o Cremophor EL7[®]), agente para conseguir isotonicidad, conservante, agente antioxidante, excipiente (por ejemplo, lactosa, almidón, celulosa cristalina, manitol, maltosa, hidrogeno fosfato cálcico, anhídrido de ácido silícico ligero o carbonato cálcico), aglutinante (por ejemplo, almidón, polivinil pirrolidona, hidroxipropil celulosa, etil celulosa, carboximetil celulosa o goma arábiga), lubricante (por ejemplo, estearato de magnesio, talco o aceites endurecidos) o estabilizante (por ejemplo, lactosa, manitol, maltosa, polisorbatos, macrogeles o aceites de ricino endurecidos con polioxi-etileno). Si resulta adecuado, pueden añadirse también los siguientes compuestos: glicerina, dimetilacetamida, lactato sódico, un tensioactivo o una sustancia básica tal hidróxido sódico, etilendiamina, etanolamina, bicarbonato sódico, arginina, meglumina o trisaminometano. Como se analizado anteriormente, no se requieren disolventes orgánicos (por ejemplo, etanol) para formulaciones farmacéuticas que contienen compuestos de Fórmula II. Sin embargo, los agentes solubilizantes y materiales orgánicos enumerados anteriormente pueden usarse si se incluye un material hidrófobo (por ejemplo, un segundo analgésico) en la formulación o si las características farmacocinéticas de la formulación deben modularse. Pueden formarse formulaciones farmacéuticas tales como soluciones, comprimidos, gránulos o cápsulas con estos componentes o similares.

La dosis del compuesto de la presente invención se determina en consideración de los resultados de experimentos animales y diversas condiciones. Por ejemplo, cualquier compuesto candidato para alivio del dolor puede ensayarse en los modelos animales descritos en el ejemplo posterior. Dosis más específicas varían obviamente dependiendo del modo de administración, la condición del sujeto tal como edad, peso corporal, sexo, sensibilidad, alimentos comidos, intervalos de dosificación, medicinas administradas en combinación y la fuente, gravedad y grado del dolor. La dosis óptima y la frecuencia de administración en una condición dada deben determinarse por el ensayo de dosificación apropiado de un especialista médico basándose en la guía anteriormente mencionada.

Pueden prepararse derivados de espicamicina solubles en agua, no tóxicos o menos tóxicos tales como SAN y SAN-Gly usando procedimientos conocidos en la técnica. Por ejemplo, se describen estrategias sintéticas generales en las Patentes de Estados Unidos N° 5.461.036 y 5.631.238. Estas estrategias pueden adaptarse para unir cualquier grupo R que contenga uno o dos carbonos a un grupo de azúcar, como se muestra en Fórmula II. Una estrategia semi-sintética específica para preparar SAN y SAN-Gly se describe en Kamishohara y col., J. Antibiotics 46:1439-1446, 1993; Kamishohara y col., Oncology Res. 6:383-390, 1994; y Patentes de Estados Unidos N° 5.461.036 y

5.631.238. Se conocen en la técnica transformaciones químicas sintéticas y metodologías de grupos protectores (protección y desprotección) útiles en la síntesis de los compuestos inhibidores descritos en el presente documento e incluyen, por ejemplo, las descritas en R. Larock, *Comprehensive Organic Transformations*, VCH Publishers (1989); T.W. Greene y P.G.M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2ª. Ed., John Wiley and Sons (1991); L. Fieser y M. Fieser, *Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis*, John Wiley and Sons (1994); y L. Paquette, ed., *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*, John Wiley and Sons (1995), y ediciones posteriores respectivas de los mismos.

Los compuestos aplicados en la presente invención incluyen todas las formas de sales de los mismos. Los ejemplos de tales sales incluyen las derivadas de ácidos y bases inorgánicos y orgánicos farmacéuticamente aceptables. Los ejemplos de sales ácidas adecuadas incluyen acetato, adipato, alginato, aspartato, benzoato, butirato, citrato, fumarato, glicolato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, 2-hidroxiitanesulfonato, lactato, maleato, malonato, metanesulfonato, nicotinato, nitrato, oxalato, palmoato, pectinato, persulfato, picrato, pivalato, propionato, salicilato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, tosilato y undecanoato. Otros ácidos tales como oxálico, aunque no son en sí mismos farmacéuticamente aceptables, pueden emplearse en la preparación de sales útiles como intermedios para obtener los compuestos de la invención y sus sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables. Las sales derivadas de bases apropiadas incluyen sales de metales alcalinos (por ejemplo, sodio, potasio), metales alcalinotérreos (por ejemplo, magnesio), amonio y N-(alquilo)₄⁺. Los compuestos de las fórmulas en el presente documento incluyen los que tienen cuaternización de cualquier grupo que contiene nitrógeno básico de los mismos. Los compuestos aplicados en la presente invención pueden contener uno o más centros asimétricos y por lo tanto aparecen como racematos y mezclas racémicas, enantiómeros sencillos, diastereómeros individuales y mezclas diastereoméricas. Todas las formas isoméricas tales de estos compuestos se incluyen expresamente en la presente invención.

El dolor neuropático es dolor derivado de una lesión o trastorno del sistema nervioso periférico (revisado en Woolf, *Acta Neurochir.* 58:125-130, 1993, y Bennett, *Neuropathic Pain*. En: *Textbook of Pain*, P.D. Wall y R. Malzack, eds., 201-224, Churchill Livingstone, Edinburgo (1994)). Los pacientes con dolor neuropático típicamente presentan un conjunto característico de trastornos sensoriales independientes de la causa, incluyendo un dolor de ardor o escozor constante, una pérdida parcial de sensibilidad, alodinia táctil o fría o hiperpatia a estimulación repetida. El dolor neuropático periférico incluye varias afecciones diversas, las más comunes de las cuales son neuralgia del trigémino, neuralgia postherpética, neuropatía diabética dolorosa y las distrofias simpáticas reflejas incluyendo causalgia, mononeuropatías y lesión de nervio periférico.

El dolor nociceptivo es dolor causado por una lesión o enfermedad fuera del sistema nervioso. Con frecuencia es una presión o dolor sordo constante, en lugar del dolor tipo traumatismo más agudo más característico del dolor neuropático. Los ejemplos de dolor nociceptivo incluyen dolor de cáncer o artritis, esguinces, fracturas óseas, quemaduras, golpes, heridas. Con dolor agudo, la gravedad del dolor se correlaciona directamente con el nivel de daño tisular. Esto proporciona un reflejo protector, tal como el reflejo de mover la mano inmediatamente si se toca un objeto afilado o caliente. Este tipo de dolor es un síntoma de tejido lesionado o enfermo, de modo que cuando el problema subyacente se cura el dolor desaparece. En dolor crónico, el dolor difiere de dolor agudo puesto que no cumple una función protectora o biológica de otro tipo. En su lugar, los nervios continúan enviando mensajes de dolor al cerebro incluso aunque no haya un daño tisular continuo.

Debido a las diferencias en el mecanismo y los tipos de dolor, puede ser ventajoso tratar o prevenir selectivamente el dolor neuropático selectivamente frente a dolor nociceptivo. En otros casos, el dolor o los síntomas del dolor pueden ser una combinación de tanto neuropático como nociceptivo, en estos casos el tratamiento de ambos tipos de dolor puede ser apropiado.

Existen pocas alternativas no quirúrgicas para un paciente con un dolor incapacitador resistente a fármacos opioides. Los usos de los compuestos (o composiciones descritos en el presente documento) proporcionan analgésicos solubles en agua alternativos a dichos pacientes. La solubilidad aumentada en agua puede aumentar la absorción en la circulación sistémica cuando se administran por vía oral a un sujeto, aumentando de este modo la biodisponibilidad de un fármaco.

Además, los derivados solubles en agua de espicamicina, tales como SAN-Gly, son menos citotóxicos que derivados insolubles en agua de espicamicina, tales como KRN5500 (Kamishohara y col., *Oncology Res.* 6:383-390, 1994). Esto implica que los derivados solubles en agua de espicamicina son más seguros para pacientes que reciben administraciones repetidas, según puede requerirse para tratar dolor crónico.

La invención también contempla formulaciones de combinación que contienen un derivado de espicamicina soluble en agua y un segundo analgésico o fármaco, tal como un agente antiinflamatorio (por ejemplo, aspirina, acetaminofeno, ibuprofeno, naproxeno, diclofenaco, celecoxib, AINE, inhibidores de COX-1, inhibidores de COX-2, esteroides, derivados de esteroides, glucocorticoides) para su uso para proporcionar alivio del dolor.

Sin elaboración adicional, se cree que un experto en la materia puede, basándose en la divulgación anterior y la descripción posterior, utilizar la presente invención en todo su alcance. El siguiente ejemplo debe interpretarse como

meramente ilustrativo de cómo un experto en la materia puede realizar la práctica de la invención y no es limitante del resto de la divulgación de ningún modo.

Ejemplo 1

5 Para determinar si derivados de espicamicina menos tóxicos relativamente solubles en agua son útiles para alivio del dolor, el compuesto SAN-Gly se preparó de forma semi-sintética como se ha descrito en la Patente de Estados Unidos N° 5.631.238. SAN-Gly se formuló después en solución salina.

10 Se usaron ratas macho Sprague-Dawley (Charles River Laboratories) que pesaban 150-200 g para evaluar las propiedades analgésicas de la formulación de SAN-Gly. Los animales se alojaron en grupos de tres en jaulas de plástico con cama blanda y en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas. El alimento y el agua estaban disponibles a voluntad. Después de una semana de aclimatación a las condiciones del laboratorio, todos los animales se ensayaron para establecer una alodinia mecánica de línea basal.

15 Puesto que diferentes modelos animales de dolor pueden proporcionar diferentes resultados experimentales, se ensayó SAN-Gly usando dos modelos de rata. Todos los experimentos se realizaron de una manera de ciego sencillo, es decir, el experimentador no sabía qué ratas recibieron la solución salina control y qué ratas recibieron la formulación de SAN-Gly.

20 Un modelo de rata usado se basó en una lesión de nervio espinal segmental producida experimentalmente (Kim y col., Pain 50:355-363, 1992). Una semana después de la aclimatación a las condiciones del laboratorio se registraron mediciones basales y se realizó cirugía como se ha descrito en Kim y col, mencionado anteriormente. Se anestesió a las ratas con halotano en oxígeno y se colocaron en una posición decúbita prona. Se realizó una incisión en la piel de línea media en L4-S2 y se separaron los músculos paraespinales de las apófisis espinosas en la región L4-S2. Los nervios espinales izquierdos L5 y L6 se identificaron y se ligaron estrechamente con hilo de seda 6-O. después se cerró la herida. Al final de la cirugía, se retiró la anestesia y los animales se devolvieron a sus celdas con sedimentos de alimento y agua a voluntad. Los animales se recuperaron de la anestesia en aproximadamente 10 minutos.

25 Se permitió a las ratas recuperarse de la cirugía durante al menos una semana. De 10 a 12 días después de la cirugía, se ensayó a los animales con respecto a alodinia controlando la hipersensibilidad a pinchazos con filamentos de von Frey (VFF). Los animales se situaron en un suelo de rejilla y se cubrieron con una caja de plástico transparente abierta en el fondo. Se aplicaron VFF calibrados (3,61, 3,84, 4,08, 4,31, 4,56, 4,74, 4,93 y 5,16) a la piel plantar de la almohadilla plantar izquierda usando el procedimiento arriba-abajo y una retirada del pie del 50 % (retracción de la pata) como el umbral del dolor. Cada VFF se ensayó insertándolo desde debajo de la rata y a través del suelo de rejilla y aplicándolo al segundo, tercer y cuarto dígitos del pie hasta que el filamento se doblaba (Chaplan y col., J. Neurosci. Methods 53:55-63, 1994). Un ensayo consistía en cuatro aplicaciones de VFF repetidas (a una frecuencia de una cada 10-15 segundos). Después se separaron las ratas en dos grupos, uno que recibió solución salina y el otro que recibió la formulación de SAN-Gly (100 mg/kg de peso corporal; embolada sencilla en la vena de la cola). Se controló después a ambos grupos con respecto a alodinia en diversos puntos temporales después de la cirugía.

40 El otro modelo de rata se basó en una lesión nerviosa de constricción crónica inducida experimentalmente (Bennett y col., Pain 33:87-107, 1988). Se produjo mononeuropatía periférica en ratas como se describe en Bennett y col., mencionado anteriormente. Se realizó cirugía en ratas con anestesia de halotano para exponer el nervio ciático común. Después se colocaron ligaduras constrictivas sueltas alrededor del nervio, se cerró la herida y se permitió a los animales recuperarse durante al menos una semana. Los animales se ensayaron después con respecto a alodinia, se separaron en dos grupos y se volvieron a ensayar como se ha descrito anteriormente.

45 Los resultados usando ambos modelos animales se combinaron y se resumen en la Figura 1. La inyección sencilla de SAN-Gly dio como resultado una recuperación del 60 % de comportamiento de dolor basal y este aumento de la tolerancia al dolor persistió durante al menos 7 días después de la cirugía. Por lo tanto SAN-Gly demostró ser útil como un analgésico en dos modelos animales de dolor.

Ejemplo 2

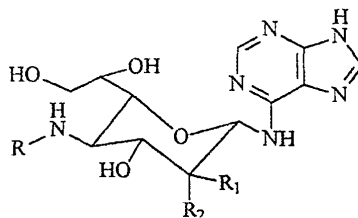
50 Se realizaron registros electrofisiológicos en cortes transversales de 650 μm de grosor de la médula espinal lumbar (a partir de animales con lesión que no afecta a los nervios) con raíz dorsal L4 unida que se perfundieron con solución de Krebs helada ([en mM]: NaCl 117, KCl 3,6, CaCl₂ 2,5, MgCl₂ 1,2, NaH₂PO₄ 1,2, NaHCO₃ 25 y glucosa 11) saturada con O₂ 95 % y CO₂ 5 %. Para registrar las corrientes postsinápticas excitadoras inducidas por aferente primario (EPSC) de lámina II, se realizó pinzamiento zonal de células completas y después se realizó fijación de voltaje a -70 mV. Se realizó una estimulación ortodrómica de la raíz dorsal L4 con un electrodo de succión unido a un estimulador de corriente constante y se usó estimulación de intensidad medida suficiente para reclutar diferentes poblaciones aferentes (fibras A β , A δ y C). Las resistencias de las pipetas de la pinza fue de 5-10 MW cuando se llenaron con (en mM): Cs₂SO₄ 110, CaCl₂ 0,5, MgCl₂ 2, EGTA 5, HEPES 5, TEA 5, sal de ATP-Mg 5. Se amplificaron las corrientes (Axopatch 200A), se filtraron a 2 kHz, se digitalizaron a 5 kHz y se analizaron usando pCLAMP 6 (Axon Instruments). Se disolvió SAN-Gly en Krebs helado y se aplicó en baño a dos concentraciones (10 y 100 mM).

Se observó en tres de cinco células que SAN-Gly 100 mM aumentó el tiempo de espera y redujo la amplitud de EPSC, lo que es coherente con la hipótesis de que podría desempeñar un papel en la inhibición de la transmisión sináptica en el asta dorsal. Este efecto se revirtió tras el lavado del fármaco. Además, como se esperaba, la misma concentración de SAN no tuvo efecto. Este ejemplo demuestra que SAN-Gly y sus derivados son útiles en el

5

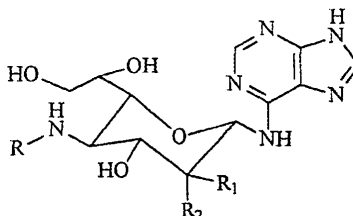
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula II, o una sal del mismo,



Fórmula II

- 5 en la que R_1 y R_2 son diferentes entre sí y representan -H o -OH y R representa (1) un alquilo sustituido o no sustituido que tiene uno o dos átomos de carbono o (2) -H, para su uso para proporcionar alivio del dolor en un sujeto que necesite alivio del dolor.
2. El compuesto de la reivindicación 1 para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R es un alquilo sustituido.
- 10 3. El compuesto de la reivindicación 1 para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R tiene dos átomos de carbono.
4. El compuesto de la reivindicación 1 para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R comprende un enlace peptídico.
- 15 5. El compuesto de la reivindicación 1 para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R comprende un grupo amino.
6. El compuesto de la reivindicación 5, en el que el grupo amino es un grupo amino primario.
7. Un compuesto de Fórmula II, o una sal del mismo,



Fórmula II

- 20 en la que R_1 y R_2 son diferentes entre sí y representan -H o -OH y R es $-\text{COCH}_2\text{NH}_2$ para su uso para proporcionar alivio del dolor en un sujeto que necesite alivio del dolor.
8. El compuesto de la reivindicación 7 para el uso de acuerdo con la reivindicación 7, en el que R_1 es -H y R_2 es -OH.
9. El compuesto de la reivindicación 1 para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R_1 es -H y R_2 es -OH.
- 25 10. El compuesto de la reivindicación 1 ó 7 para el uso de acuerdo con la reivindicación 1 ó 7, en el que el dolor es dolor neuropático.
11. El compuesto de la reivindicación 10, en el que el dolor es neuralgia postherpética, dolor de muñón de amputación o fantasma, neuropatía diabética, neuropatía de síndrome de inmunodeficiencia adquirida, dolor de espalda, dolor visceral o neuropatía pancreática crónica.
- 30 12. El compuesto de la reivindicación 1 ó 7 para el uso de acuerdo con la reivindicación 1 ó 7, en el que el dolor es resistente a opioides.

13. El compuesto de la reivindicación 1 ó 7 para el uso de acuerdo con la reivindicación 1 ó 7, en el que el sujeto es un mamífero.
14. El compuesto de la reivindicación 1 ó 7 para el uso de acuerdo con la reivindicación 1 ó 7, en el que el sujeto es un ser humano.
- 5 15. El compuesto de la reivindicación 1 ó 7 para el uso de acuerdo con la reivindicación 1 ó 7, en el que el compuesto es para administrarse por vía sistémica.
16. El compuesto de la reivindicación 1 ó 7 para el uso de acuerdo con la reivindicación 1 ó 7, en el que el compuesto es para administrarse en un sitio de dolor en el sujeto.
- 10 17. El compuesto de la reivindicación 1 ó 7 para el uso de acuerdo con la reivindicación 1 ó 7, en el que el compuesto es para administrarse mediante un implante.
18. El compuesto de la reivindicación 17, en el que el implante proporciona liberación lenta del compuesto.
19. El compuesto de la reivindicación 1 ó 7 para el uso de acuerdo con la reivindicación 1 ó 7, en el que el compuesto es para administrarse por vía intravenosa.
- 15 20. El compuesto de la reivindicación 1 ó 7 para el uso de acuerdo con la reivindicación 1 ó 7, en el que la cantidad administrada es de aproximadamente 1 ng a 4 mg/m² de área de superficie corporal.
21. El compuesto de la reivindicación 1 ó 7 para el uso de acuerdo con la reivindicación 1 ó 7, en el que la cantidad administrada es de aproximadamente 80 ng a 1 mg/m² de área de superficie corporal.
22. El compuesto de la reivindicación 1 ó 7 para el uso de acuerdo con la reivindicación 1 ó 7, en el que la cantidad administrada es de aproximadamente 10 a 100 mg/kg de peso corporal.
- 20 23. El compuesto de la reivindicación 22, en el que la cantidad administrada es de aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal.
24. El compuesto de la reivindicación 1 ó 7 para el uso de acuerdo con la reivindicación 1 ó 7, en el que el compuesto es para administrarse en una solución acuosa.
- 25 25. El compuesto de la reivindicación 1 ó 7 para el uso de acuerdo con la reivindicación 1 ó 7, en el que el dolor neuropático se alivia selectivamente frente a dolor nociceptivo.
26. El compuesto de la reivindicación 1 ó 7 para el uso de acuerdo con la reivindicación 1 ó 7, en el que el compuesto de Fórmula II es para administrarse en una formulación de combinación que comprende el compuesto de Fórmula II y un segundo analgésico o fármaco.
27. El compuesto de la reivindicación 26, en el que el segundo analgésico o fármaco es un agente antiinflamatorio.
- 30

San Gly con Modelo de SNI

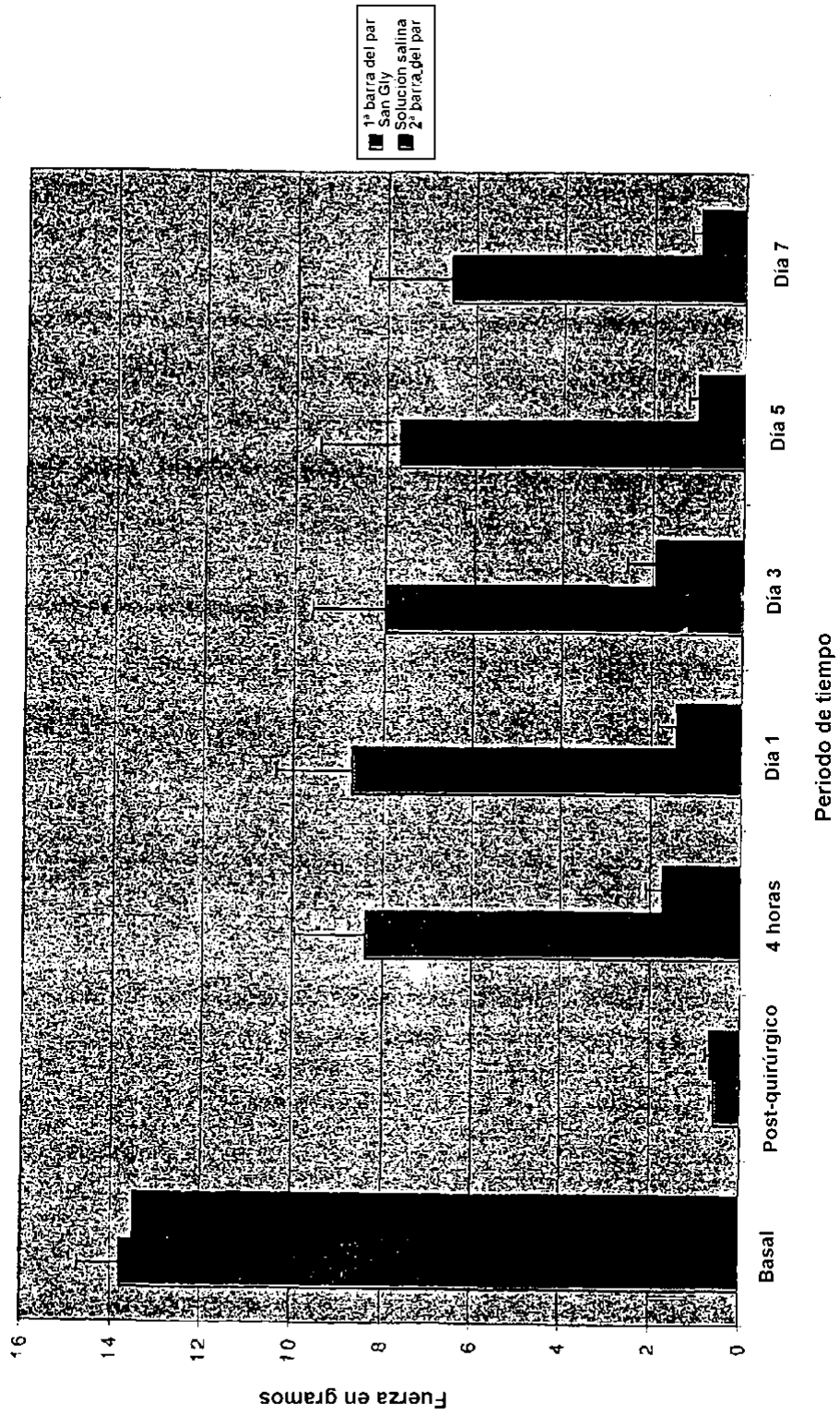


FIG. 1

Efecto San-Gly

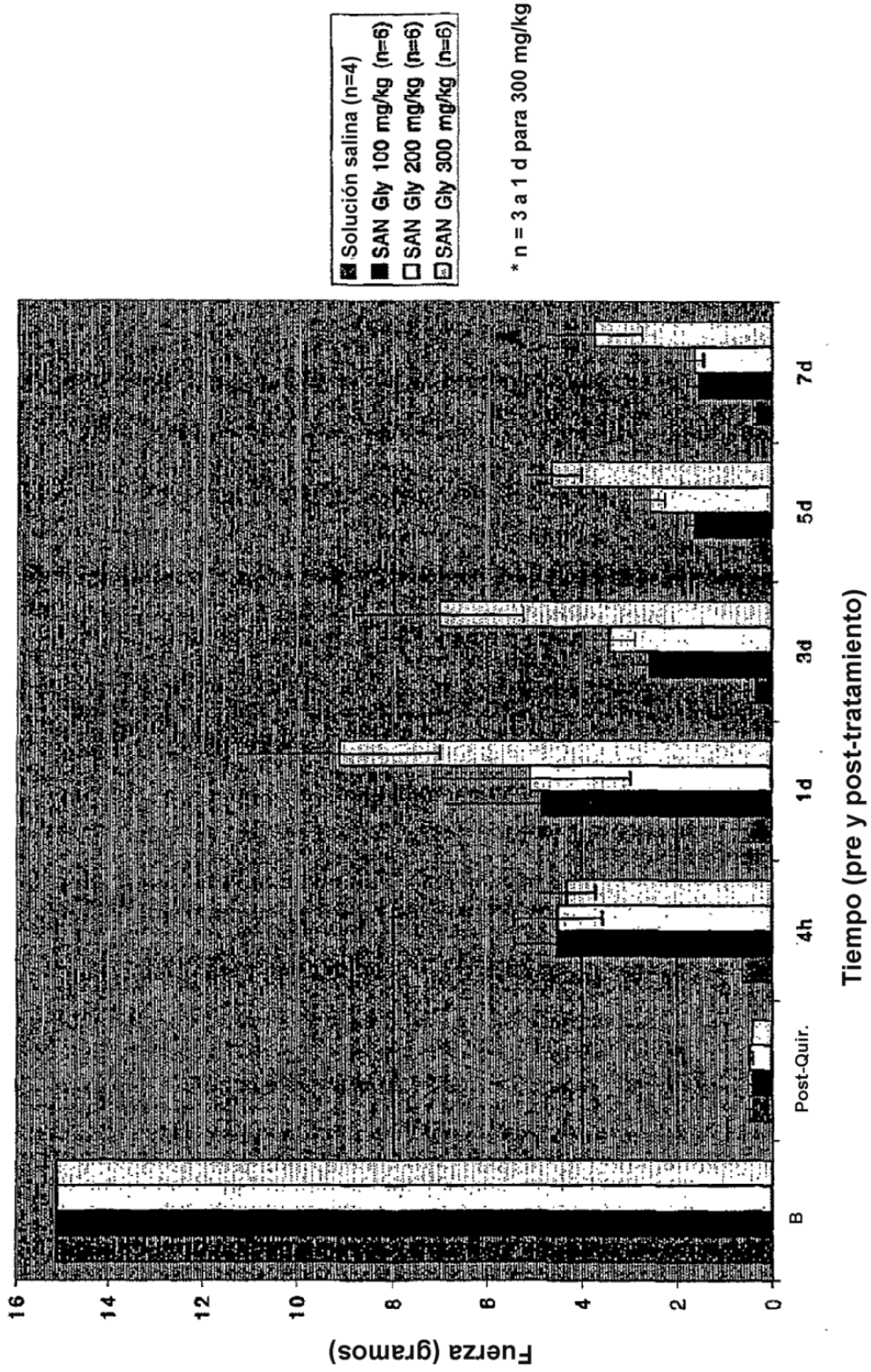


FIG. 2