

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 399 928**

51 Int. Cl.:

C07D 471/04 (2006.01)

C07D 473/30 (2006.01)

C07D 513/04 (2006.01)

A61K 31/519 (2006.01)

A61K 31/522 (2006.01)

A61P 35/04 (2006.01)

A61P 3/04 (2006.01)

A61P 25/06 (2006.01)

A61P 25/02 (2006.01)

A61P 11/14 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.08.2007 E 07811503 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.12.2012 EP 2061794**

54 Título: **Análogos de 2-fenoxipirimidinona**

30 Prioridad:

23.08.2006 US 823258 P

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

04.04.2013

73 Titular/es:

**NEUROGEN CORPORATION (100.0%)
35 NORTHEAST INDUSTRIAL ROAD
BRANFORD, CT 06405, US**

72 Inventor/es:

**BAKTHAVATCHALAM, RAJAGOPAL;
CAPITOSTI, SCOTT, MICHAEL;
XU, JIANJUN;
CHENARD, BERTRAND, L.;
GHOSH, MANUKA y
BLUM, CHARLES, A.**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 399 928 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 2-fenoxipirimidinona

CAMPO DE LA INVENCION

5 Esta invención se refiere en general a análogos de 2-fenoxipirimidinona que tienen propiedades farmacológicas útiles. La invención se refiere además al uso de tales compuestos para tratar afecciones relacionadas con la activación de los receptores de capsaicina, para detectar otros agentes que se unen al receptor de capsaicina, y como sondas para sondas para detectar y localizar receptores de capsaicina.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

10 La percepción del dolor, o nocirrecepción, está mediada por los terminales periféricos de un grupo de neuronas sensoras especializadas, denominadas "nocirreceptores". 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 nocirreceptores puede dar como resultado un dolor agudo o crónico debilitante.

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

20 Los tratamientos existentes para el dolor neuropático son en gran medida ineficaces. Los opiáceos, tales como la morfina, son analgésicos potentes, pero su utilidad es limitada debido a efectos secundarios adversos, tales como adicción 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-
25 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.

30 El tratamiento tópico con capsaicina ha sido utilizado para tratar el dolor crónico y agudo, incluyendo dolor neuropático. La capsaicina es una sustancia picante derivada de las plantas de la familia de las 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 nocirreceptores en los tejidos periféricos, seguida de desensibilización eventual de los nocirreceptores periféricos a 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.
35

40 Respuestas similares son también provocadas 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 de ese modo antagonizada) por otro análogo de capsaicina, la capsazepina, y es inhibida también por el bloqueador de los canales catiónicos no selectivos rojo de rutenio, que se fija a VR con afinidad sólo moderada (típicamente con valores K_i no menores que 140 μM).

45 Receptores vainilloides de rata y humanos han sido clonados a partir de células ganglionales 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" de forma intercambiable 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 se ha confirmado utilizando ratones que carecen de este receptor, que no exhiben comportamiento alguno de dolor provocado por vainilloides, ni respuestas alteradas al calor y la inflamación. VR1 es un canal catiónico no selectivo con un umbral para la apertura que está reducido en respuesta a temperaturas elevadas, pH bajo y agonistas de receptores de capsaicina. La apertura del canal del receptor de capsaicina va seguida
50 generalmente de la liberación de péptidos inflamatorios a partir de neuronas que expresan el receptor y otras neuronas próximas, con aumento de la respuesta de dolor. Después de la activación inicial por capsaicina, el receptor de capsaicina sufre una desensibilización rápida vía fosforilación por una proteína cinasa dependiente de cAMP.

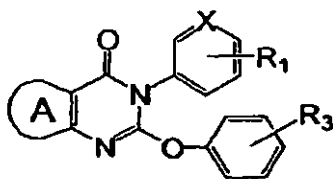
55 Debido a su aptitud para desensibilizar los nocirreceptores en los tejidos periféricos, los compuestos vainilloides agonistas de VR1 han sido utilizados como anestésicos tópicos. Sin embargo, la aplicación de agonistas puede causar por sí misma dolor ardiente, lo cual limita su uso terapéutico. Recientemente, se ha dado a conocer que los

antagonistas de VR1, incluyendo compuestos no vainilloides, son útiles también para el tratamiento del dolor (véanse, v.g., las Publicaciones de Solicitudes de Patentes Internacionales PCT Números WO 02/08221, WO 03/062209, WO04/054582, WO 04/055003, WO 04/055004, WO 04/056774, WO 05/007646, WO 05/007648, WO 05/007652, WO 05/009977, WO 05/009980, WO 05/009982, WO 05/049601, WO 05/049613, WO 06/122200 y WO 06/120481).

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, incluyendo el dolor neuropático, así como otras afecciones que son sensibles a la modulación del receptor de capsaicina. La presente invención satisface esta necesidad, y proporciona otras ventajas afines.

SUMARIO DE LA INVENCION

La presente invención proporciona análogos de 2-fenoxipirimidinona de Fórmula A:



Fórmula A

así como sales farmacéuticamente aceptables, solvatos (por ejemplo hidratos) y ésteres de tales compuestos. En la fórmula A:

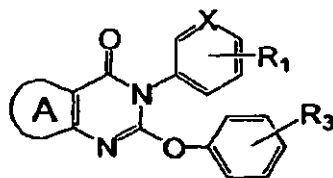


representa un heteroarilo de 5 ó 6 miembros condensado que contiene 1, 2 ó 3 heteroátomos en el anillo, seleccionándose dichos heteroátomos independientemente de O, N y S, siendo los átomos anulares restantes carbono, en el que el heteroarilo condensado está opcionalmente sustituido; preferiblemente, el heteroarilo condensado está sustituido con de 0 a 3, o de 0 a 2, sustituyentes seleccionados independientemente de amino, hidroxilo, alquilo de C₁-C₆, hidroxialquilo de C₁-C₆, (cicloalquil C₃-C₇)-alquilo de C₀-C₂, haloalquilo de C₁-C₆, alcoxi de C₁-C₆, alquil C₂-C₆-éter, alcanoil C₁-C₆-oxi, alquil C₁-C₆-sulfonilamino, alcanolil C₁-C₆-amino, y mono- o di-(alquil C₁-C₆)amino;

Ar es fenilo o un heteroarilo de 5 ó 6 miembros, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido, y cada uno de los cuales está preferiblemente sustituido con de 0 a 4 o de 0 a 3 sustituyentes que se seleccionan independientemente de halógeno, ciano, amino, nitro, alquilo de C₁-C₆, alqueno de C₂-C₆, alquino de C₂-C₆, haloalquilo de C₁-C₆, hidroxialquilo de C₁-C₆, alcoxi de C₁-C₆, haloalcoxi de C₁-C₆, (cicloalquil C₃-C₇)-alquilo de C₀-C₄, y mono- o di-(alquil C₁-C₆)amino; y

R₃ representa de 0 a 4, o de 0 a 3, sustituyentes, los cuales se seleccionan preferiblemente de forma independiente de halógeno, hidroxilo, ciano, amino, nitro, alquilo de C₁-C₆, alqueno de C₂-C₆, alquino de C₁-C₆, haloalquilo de C₁-C₆, hidroxialquilo de C₁-C₆, alcoxi de C₁-C₆, haloalcoxi de C₁-C₆, (cicloalquil C₃-C₇)-alquilo de C₀-C₄, mono- o di-(alquil C₁-C₆)amino, y mono- o di-(alquil C₁-C₆)aminosulfonilo.

La presente invención proporciona además análogos de 2-fenoxipirimidinona de Fórmula I:



Fórmula I

así como sales farmacéuticamente aceptables, solvatos (por ejemplo hidratos) y ésteres de tales compuestos. En la fórmula I:



y R₃ son como se describen para la Fórmula A;

X es N o CH, que está opcionalmente sustituido con un sustituyente representado por R₁; y

R₁ representa de 0 a 3 sustituyentes; sustituyentes los cuales se seleccionan preferiblemente de forma independiente de halógeno, ciano, amino, nitro, alquilo de C₁-C₆, alquenilo de C₂-C₆, alquinilo de C₂-C₆, haloalquilo de C₁-C₆, hidroxialquilo de C₁-C₆, alcoxi de C₁-C₆, haloalcoxi de C₁-C₆, (cicloalquil C₃-C₇)-alquilo de C₀-C₄, y mono- o di-(alquil C₁-C₆)amino.

En ciertos aspectos, los compuestos de Fórmula A y Fórmula I son moduladores de VR1 y exhiben una K_i no mayor que 1 micromolar, 500 nanomolar, 100 nanomolar, 50 nanomolar, 10 nanomolar o 1 nanomolar en un ensayo de unión a receptores de capsaicina, y/o tienen un valor EC₅₀ o IC₅₀ no mayor que 1 micromolar, 500 nanomolar, 100 nanomolar, 50 nanomolar, 10 nanomolar o 1 nanomolar en un ensayo *in vitro* para la determinación de la actividad agonista o antagonista de los receptores de capsaicina. En ciertas realizaciones, tales moduladores de VR1 son antagonistas de VR1 y no exhiben actividad agonista detectable en un ensayo *in vitro* de activación de los receptores de capsaicina (v.g., el ensayo proporcionado en el Ejemplo 6, aquí) a una concentración igual a la IC₅₀, 10 veces la IC₅₀ o 100 veces la IC₅₀.

En ciertos aspectos, los compuestos proporcionados 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 análogo de 2-fenoxipirimidinona en combinación con un vehículo o excipiente fisiológicamente aceptable.

En aspectos adicionales, se proporcionan métodos para reducir la conductancia de calcio de un receptor de capsaicina celular, que comprende poner en contacto una célula (v.g., neuronal, tales como células del sistema nervioso central o ganglios periféricos, urotelial o pulmón) que expresa un receptor de capsaicina con al menos un modulador de VR1 como se describe en esta memoria. Dicho contacto tiene lugar *in vitro*, y generalmente se lleva a cabo usando una concentración de modulador de VR1 que es suficiente para alterar la unión del ligando vainilloide a VR1 *in vitro* (usando el ensayo proporcionado en el Ejemplo 5) y/o la transducción de señales mediada por VR1 (usando un ensayo proporcionado en el Ejemplo 6).

Se proporcionan adicionalmente métodos para inhibir la unión 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 una cantidad o concentración suficientes para inhibir de modo detectable la unión de ligandos vainilloides al receptor de capsaicina.

La presente invención proporciona adicionalmente el uso de una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un modulador de VR1 como se describe en esta memoria para la fabricación de un medicamento para tratar una afección sensible a la modulación del receptor de capsaicina en un paciente, en el que la afección es asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, prurito, tos, hipo, obesidad, síntomas de la menopausia, incontinencia urinaria, vejiga hiperactiva, exposición a capsaicina, quemadura o irritación debida a exposición a calor, quemadura o irritación debida a exposición a luz, quemaduras, broncoconstricción o irritación debida a exposición a gas lacrimógeno, agentes infecciosos, contaminantes del aire o espray de pimienta, quemadura o irritación debida a exposición a ácido; dolor, en el que el dolor está asociado opcionalmente a una afección seleccionada de: síndrome de dolor tras 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 relacionada con SIDA, neuropatía relacionada con MS, dolor relacionado con lesión en la médula espinal, dolor relacionado con cirugía, dolor músculoesquelético, dorsalgia, cefalea, migraña, angina, parto, hemorroides, dispepsia, dolores de Charcot, gases intestinales, menstruación, cáncer, exposición a venenos, síndrome de intestino irritable, enfermedad intestinal inflamatoria y traumatismo; o dolor neuropático.

Adicionalmente se describen métodos para identificar un agente que se une a receptor de capsaicina, que comprende: (a) poner en contacto el receptor de capsaicina con un compuesto marcado como se describe en esta memoria en condiciones que permitan la unión del compuesto al receptor de capsaicina, generando de ese modo un compuesto marcado unido; (b) detectar una señal que corresponde a la cantidad de compuesto marcado unido, en ausencia de agente de ensayo; (c) poner en contacto el compuesto marcado unido con un agente de ensayo; (d) detectar una señal que corresponde a la cantidad de compuesto marcado unido en presencia de agente de ensayo; y (e) detectar una disminución en la señal detectada en la etapa (d), en comparación con la señal detectada en la etapa (b).

Se describen 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 compuesto como se describe en esta memoria en condiciones que permitan la unión del compuesto al receptor de capsaicina; y (b) detectar una señal indicativa de un nivel del compuesto unido al receptor de capsaicina.

La presente invención también proporciona 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 del receptor de capsaicina, tales como dolor, prurito, incontinencia urinaria, vejiga hiperactiva, síntomas de la menopausia, tos, hipo y/u obesidad.

5 Se describen métodos para preparar los compuestos descritos en esta memoria, incluyendo los intermedios.

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

DESCRIPCIÓN DETALLADA

10 Como se ha indicado anteriormente, la presente invención proporciona análogos de 2-fenoxipirimidinona. Tales compuestos se pueden usar *in vitro* o *in vivo*, para modular la actividad del receptor de capsaicina en una diversidad de contextos.

TERMINOLOGÍA

15 Los compuestos se describen generalmente en esta memoria utilizando nomenclatura estándar. Para 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 dobles enlaces 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 exista en diversas formas tautómeras, un compuesto citado no se limita a cualquier tautómero específico, sino que en su lugar debe entenderse que abarca la totalidad de las formas tautómeras. Ciertos compuestos se describen en esta memoria
20 utilizando una fórmula general que incluye variables (v.g., R₁, A). 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.

25 La frase “análogos de 2-fenoxipirimidinona”, tal como se usa en esta memoria, abarca todos los compuestos de Fórmula A, incluyendo aquellos de Fórmula I, así como compuestos de otras Fórmulas proporcionadas en esta memoria (incluyendo cualesquiera enantiómeros, racematos y estereoisómeros) y sales farmacéuticamente aceptables, solvatos y ésteres de tales compuestos.

30 Una “sal farmacéuticamente aceptable” de un compuesto citado aquí es una sal de ácido o de base que es adecuada para uso en contacto con los tejidos de seres humanos o animales sin toxicidad o carcinogenicidad excesiva, y preferiblemente sin irritación, respuesta alérgica, u otro problema o complicación. Dichas sales incluyen sales de ácidos minerales y orgánicos de restos básicos tales como aminas, así como sales alcalinas u orgánicas de restos ácidos tales como ácidos carboxílicos. Los aniones farmacéuticamente aceptables específicos para uso en la formación de sales incluyen, pero no se limitan a, acetato, 2-acetoxibenzoato, ascorbato, benzoato, bicarbonato, bromuro, edetato cálcico, carbonato, cloruro, citrato, dihidrocloruro, difosfato, ditartrato, edetato, estolato (etilsuccinato), formiato, fumarato, gluceptato, gluconato, glutamato, glicolato, glicolilarsanilato, hexilresorcinato, hidrabamina, hidrobromuro, hidrocloreuro, hidroyoduro, hidroximaleato, hidroxinaftoato, yoduro, isetionato, lactato, lactobionato, malato, maleato, mandelato, bromuro de metilo, nitrato de metilo, sulfato de metilo, mucato, napsilato, nitrato, pamoato, pantotenato, fenilacetato, fosfato, poligalacturonato, propionato, salicilato, estearato, subacetato, succinato, sulfamato, sulfanilato, sulfato, sulfonatos incluyendo besilato (bencenosulfonato), camsilato (canfosulfonato), edisilato (etano-1,2-disulfonato), esilato (etanosulfonato), 2-hidroxietilsulfonato, mesilato (metanosulfonato), triflato (trifluorometanosulfonato) y tosilato (p-toluenosulfonato), tannato, tartrato, teocloato y trietyoduro. De forma similar, los cationes farmacéuticamente aceptables para uso en la formación de sales incluyen, pero no se limitan a, amonio, benzatrina, cloroprocaína, colina, dietanolamina, etilendiamina, meglumina, procaína, y metales tales como aluminio, calcio, litio, magnesio, potasio, sodio y zinc. Las personas expertas normales en la técnica reconocerán otras sales farmacéuticamente aceptables para los compuestos proporcionados en esta memoria. En general, una sal de ácido o base farmacéuticamente aceptable puede sintetizarse a partir de un compuesto progenitor que contiene un resto básico o ácido por cualquier método químico convencional. De forma breve, dichas sales se pueden preparar haciendo reaccionar las formas de ácido o base libres de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base o ácido apropiado 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, metanol, isopropanol o acetonitrilo.
45
50

Será manifiesto que cada compuesto proporcionado en esta memoria se puede formular, aunque no es necesario, como un solvato (v.g., hidrato) o complejo no covalente. Además, las diversas formas cristalinas y polimorfos están dentro del alcance de la presente invención.

55 Tal como se utiliza en esta memoria, el término “alquilo” hace referencia a un hidrocarburo alifático saturado de cadena lineal o ramificada. Los grupos alquilo incluyen grupos que tienen de 1 a 8 átomos de carbono (alquilo de C₁–C₈), de 1 a 6 átomos de carbono (alquilo de C₁–C₆) y de 1 a 4 átomos de carbono (alquilo de C₁–C₄), tales como metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, terc-butilo, pentilo, 2-pentilo, isopentilo, neopentilo, hexilo, 2-hexilo, 3-hexilo, 3-metilpentilo. “Alquilo C₀–C_n” hace referencia a un único enlace covalente (C₀) o un grupo alquilo

que tiene 1 a n átomos de carbono; por ejemplo, "alquilo C₀-C₄" hace referencia a un único enlace covalente (C₀) o un grupo alquilo de C₁-C₄. En algunos casos, se indica específicamente un sustituyente de un grupo alquilo. Por ejemplo, "hidroxi-alquilo" hace referencia a un grupo alquilo que está sustituido con al menos un sustituyente hidroxilo.

5 "Alquilenilo" se refiere a un grupo alquilo divalente, como se define anteriormente. Alquilenilo de C₁-C₂ es metileno o etileno; alquilenilo de C₀-C₄ es un enlace covalente individual o un grupo alquilenilo que tiene 1, 2, 3 ó 4 átomos de carbono; alquilenilo de C₀-C₂ es un enlace covalente individual o un grupo alquilenilo que tiene 1 ó 2 átomos de carbono.

10 "Alquenilo" hace referencia a grupos alqueno de cadena lineal o ramificada, que comprenden al menos un doble enlace insaturado carbono-carbono. Los grupos alquenilo incluyen alquenilo de C₂-C₈, alquenilo de C₂-C₆ y alquenilo de C₂-C₄, que tienen de 2 a 8, 2 a 6 ó 2 a 4 átomos de carbono, respectivamente, tales como etenilo, alilo o isopropenilo. "Alquinilo" hace referencia a grupos alquino de cadena lineal o ramificada, que tienen uno o más enlaces insaturados carbono-carbono, al menos uno de los cuales es un enlace triple. Grupos alquinilo incluyen grupos alquinilo de C₂-C₈, alquinilo de C₂-C₆ y alquinilo de C₂-C₄, que tienen de 2 a 8, 2 a 6 ó 2 a 4 átomos de carbono, respectivamente.

15 Un "cicloalquilo" es un grupo que comprende uno o más anillos saturados, en el que todos los miembros anulares son carbono, tal como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, adamantilo, y variantes parcialmente saturadas de los anteriores, tal como ciclohexenilo. Los grupos cicloalquilo no comprenden un anillo aromático o un anillo heterocíclico. Ciertos grupos cicloalquilo son cicloalquilo de C₃-C₇, en los que el grupo cicloalquilo contiene un único anillo que tiene 3 a 7 miembros anulares, todos los cuales son carbono. Un
20 "(cicloalquilo de C₃-C₈)alquilo de C₀-C₄" es un grupo cicloalquilo de C₃-C₈ enlazado vía un enlace covalente individual o un grupo alquilenilo de C₁-C₄.

Por "alcoxi", tal como se utiliza en esta memoria, se entiende un grupo alquilo, como se ha descrito anteriormente, unido por un puente de oxígeno. Grupos alcoxi incluyen grupos alcoxi de C₁-C₆ y alcoxi de C₁-C₄, que tienen de 1 a 6 o 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 representativos.

Análogamente, "alquiltio" hace referencia a un grupo alquilo, como se ha descrito anteriormente, unido por un puente de azufre.

30 "Éter de alquilo" hace referencia a un sustituyente éter lineal o ramificado (es decir, un grupo alquilo que está sustituido con un grupo alcoxi). Grupos éter de alquilo incluyen grupos éter de alquilo de C₂-C₈, éter de alquilo de C₂-C₆ y éter de alquilo de C₂-C₄, que tienen 2 a 8, 6 ó 4 átomos de carbono, respectivamente. Un éter de alquilo de C₂ tiene la estructura -CH₂-O-CH₃.

35 El término "alcanoílo" hace referencia a un grupo acilo (v.g., -(C=O)-alquilo), en el cual los átomos de carbono están en una disposición de alquilo lineal o ramificado, y en el que la unión es a través del carbono del grupo ceto. Los grupos alcanoílo tienen el número indicado de átomos de carbono, incluyéndose el carbono del grupo ceto en los átomos de carbono numerados. Por ejemplo, un grupo alcanoílo de C₂ es un grupo acetilo que tiene la fórmula -(C=O)CH₃, "alcanoílo de C₁" se refiere a-(C=O)H. "Grupos alcanoílo de C₁-C₆" contienen de 1 a 6 átomos de carbono.

40 El término "alcanoiloxi", tal como se utiliza en esta memoria, hace referencia a un grupo alcanoílo unido por un enlazador de oxígeno (es decir, un grupo que tiene la estructura general -O-C(=O)-alquilo). Grupos alcanoiloxi incluyen, por ejemplo, grupos alcanoiloxi de C₁-C₆, que tienen de uno a seis átomos de carbono.

45 "Alcanoilamino", tal como se utiliza en esta memoria, hace referencia a un grupo alcanoílo unido a través de un enlazador de amino (es decir, un grupo que tiene la estructura general -N(R)-C(=O)-alquilo), en el que R es hidrógeno o alquilo de C₁-C₆). Los grupos alcanoilamino incluyen, por ejemplo, grupos alcanoilamino de C₁-C₆, que tienen de 1 a 6 átomos de carbono en la porción "alquilo" (es decir, el carbono del puente ceto no está incluido en el número de átomos de carbono indicado).

"Alquilsulfonilo" hace referencia a grupos de la fórmula -(SO₂)-alquilo, en la cual el átomo de azufre es el punto de unión. Los grupos alquilsulfonilo incluyen grupos alquilsulfonilo de C₁-C₆ y alquilsulfonilo de C₁-C₄, que tienen de 1 a 6 o de 1 a 4 átomos de carbono, respectivamente. Metilsulfonilo es un grupo alquilsulfonilo representativo.

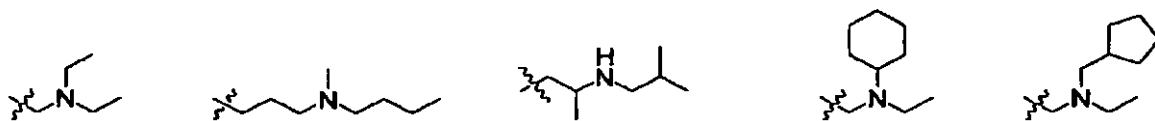
50 "Alquilsulfonilamino" se refiere a un grupo alquilsulfonilo unido mediante un enlazador de amino (es decir, un grupo que tiene la estructura general -N(R)-(SO₂)-alquilo), en el que R es hidrógeno o alquilo de C₁-C₆). Los grupos alquilsulfonilamino incluyen, por ejemplo, grupos alquilsulfonilamino de C₁-C₆, que tienen de 1 a 6 átomos de carbono.

55 "Aminosulfonilo" hace referencia a grupos de la fórmula -(SO₂)-NH₂, en la cual el átomo de azufre es el punto de unión. El término "mono- o di-(alquil C₁-C₆)aminosulfonilo" hace referencia a grupos que satisfacen la fórmula -

(SO₂)–NR₂, en la cual el átomo de azufre es el punto de unión, y en la cual un R es alquilo de C₁–C₆ y el otro R es hidrógeno o un alquilo de C₁–C₆ seleccionado independientemente.

“Alquilamino” se refiere a una amina secundaria o terciaria que tiene la estructura general –NH–alquilo o –N(alquilo)(alquilo), en la que cada alquilo se selecciona independientemente de grupos alquilo, cicloalquilo y (cicloalquil)alquilo. Tales grupos incluyen, por ejemplo, los grupos mono- y di-(alquilo de C₁–C₆)amino, en los que cada alquilo de C₁–C₆ puede ser igual o diferente.

“Alquilaminoalquilo” hace referencia a un grupo alquilamino enlazado a través de un grupo alquileo (es decir, un grupo que tiene la estructura general –alquileo–NH–alquilo o –alquileo–N(alquilo)(alquilo)) en la cual cada alquilo se selecciona independientemente de grupos alquilo, cicloalquilo y (cicloalquil)alquilo. Tales grupos alquilaminoalquilo incluyen, por ejemplo, mono- y di-(alquilo de C₁–C₈)amino–alquilo de C₁–C₈, mono- y di-(alquilo de C₁–C₆)amino–alquilo de C₁–C₆ y mono- y di-(alquilo de C₁–C₆)amino–alquilo de C₁–C₄. “Mono- o di-(alquilo de C₁–C₆)amino–alquilo de C₀–C₆” hace referencia a un grupo mono- o di-(alquilo de C₁–C₆)amino enlazado a través de un único enlace covalente o un grupo alquileo de C₁–C₆. Los siguientes son grupos alquilaminoalquilo representativos:



Será manifiesto que la definición de “alquilo”, como se usa en los términos “alquilamino” y “alquilaminoalquilo”, difiere de la definición de “alquilo” usada para todos los otros grupos que contienen alquilo, incluyendo grupos cicloalquilo y (cicloalquil)alquilo (v.g., (cicloalquil C₃–C₇)alquilo de C₀–C₄).

El término “aminocarbonilo” hace referencia a un grupo amida (es decir, –(C=O)NH₂). El término “mono- o di-(alquilo de C₁–C₆)aminocarbonilo” hace referencia a grupos de la fórmula –(C=O)–N(R)₂, en la cual el carbonilo es el punto de unión, un R es alquilo de C₁–C₆ y el otro R es hidrógeno o un alquilo de C₁–C₆ seleccionado independientemente.

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

Un “haloalquilo” es un grupo alquilo que está sustituido con 1 o más halógenos seleccionados independientemente (v.g., los grupos “haloalquilo de C₁–C₆” tienen de 1 a 6 átomos de carbono). Ejemplos de grupos haloalquilo incluyen, pero no se limitan a, 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 anteriormente que está enlazado a través de un puente de oxígeno.

Un guión (“–”) que no está entre dos letras o símbolos se utiliza para indicar un punto de unión para un sustituyente. Por ejemplo, –CONH₂ está unido a través del átomo de carbono.

Un “heteroarilo” es un grupo aromático en el que al menos un anillo aromático comprende al menos un heteroátomo seleccionado de N, O y S. Los heteroarilos incluyen, por ejemplo, heteroarilos de 5 y 6 miembros tales como imidazol, furano, furazano, isotiazol, isoxazol, oxadiazol, oxazol, pirazina, pirazol, piridazina, piridina, pirimidina, tetrazol, tiazol y tiofeno.

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 anular” puede ser un resto tal como halógeno, grupo alquilo, grupo haloalquilo u otro grupo que está enlazado covalentemente a un átomo (preferiblemente un átomo de carbono o nitrógeno) que es un miembro del anillo. Los sustituyentes de grupos aromáticos generalmente están enlazados covalentemente a un átomo de carbono anular. El término “sustitución” hace referencia a la sustitución de un átomo de hidrógeno en una estructura molecular por un sustituyente, de manera que la valencia en el átomo designado no se sobrepasa, y de manera que de la sustitución resulta un compuesto químicamente estable (es decir, un compuesto que puede aislarse, caracterizarse, y ensayarse en busca de su actividad biológica).

Grupos que están “opcionalmente sustituidos” están no sustituidos o están sustituidos con 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). La sustitución opcional se indica también por la frase “sustituido con 0 a X sustituyentes”, en el que X es el número máximo de sustituyentes posibles. Ciertos grupos opcionalmente sustituidos están sustituidos con de 0 a 2, 3 ó 4 sustituyentes seleccionados independientemente (es decir, están no sustituidos o sustituidos con hasta el número máximo de sustituyentes indicado). Otros grupos opcionalmente sustituidos están sustituidos con al menos un sustituyente (v.g., sustituidos con de 1 a 2, 3 ó 4 sustituyentes seleccionados independientemente).

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 de otro modo, estos términos abarcan receptores VR1 tanto de rata como humanos (v.g., Números de Acceso en GenBank AF327067, AJ277028 y NM_018727; las secuencias de ciertos ADNc de VR1 humano y las secuencias de aminoácidos codificadas se proporcionan en 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 A y sales farmacéuticamente aceptables, hidratos y ésteres de los mismos. Ciertos moduladores de VR1 preferidos no son vainilloides. Un modulador de VR1 puede ser un agonista o antagonista de VR1. Ciertos moduladores se unen a VR1 con un K_i que es menor que 1 micromolar, preferiblemente menor que 500 nanomolar, 100 nanomolar, 10 nanomolar o 1 nanomolar. Un ensayo representativo para determinar K_i en VR1 se proporciona en el Ejemplo 5 de esta memoria.

Un modulador se considera un “antagonista” si inhibe detectablemente la unión de ligandos vainilloides a VR1 y/o la transducción de señales mediada por VR1 (utilizando, por ejemplo, el ensayo representativo proporcionado en el Ejemplo 6); en general, un antagonista de este tipo inhibe la activación de VR1 con un valor IC_{50} menor que 1 micromolar, preferiblemente menor que 500 nanomolar, y más preferiblemente menor que 100 nanomolar, 10 nanomolar o 1 nanomolar, en el ensayo proporcionado en el Ejemplo 6. Los antagonistas de VR1 incluyen antagonistas neutros y agonistas inversos.

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 también pueden inhibir la actividad del ligando vainilloide en VR1, y/o también pueden inhibir la unión del ligando vainilloide a VR1. La actividad basal de VR1, así como la reducción en la actividad de VR1 debida a la presencia de antagonista de VR1, puede determinarse a partir de un ensayo de movilización de calcio, tal como el ensayo del Ejemplo 6.

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 (es decir, en un ensayo de movilización de calcio como se describe en el Ejemplo 6 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 más preferiblemente en no más de 2%; muy preferiblemente, no hay reducción detectable en actividad). Los antagonistas neutros de VR1 pueden inhibir la unión de ligando vainilloide a VR1.

Como se utiliza en esta memoria, un “agonista de receptor 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 agonista del receptor de capsaicina puede identificarse utilizando el ensayo representativo proporcionado en el Ejemplo 6. En general, un agonista de este tipo tiene un valor EC_{50} menor que 1 micromolar, preferiblemente menor que 500 nanomolar, y más preferiblemente menor que 100 nanomolar o 10 nanomolar en el ensayo proporcionado en el Ejemplo 6.

Un “vainilloide” es cualquier compuesto que comprende un anillo fenilo con dos átomos de oxígeno unidos a átomos de carbono anulares adyacentes (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). Capsaicina es un vainilloide representativo. Un “ligando vainilloide” es un vainilloide que se une a VR1 con un valor K_i (determinado como se describe en esta memoria) que es no mayor que 10 μ M. Los agonistas de ligandos vainilloides incluyen capsaicina, olvanilo, N-araquidonoil-dopamina y resiniferotoxina (RTX). Los antagonistas de ligandos vainilloides incluyen capsazepina y yodo-resiniferatoxina.

Una “cantidad terapéuticamente eficaz” (o dosis) es una cantidad que, con la administración a un paciente, da como resultado un beneficio discernible al paciente (v.g., proporciona alivio detectable de al menos una afección que está siendo tratada). Tal alivio se puede detectar usando cualquier criterio apropiado, incluyendo el alivio de uno o más síntomas tal como dolor. Una cantidad terapéuticamente eficaz o dosis generalmente da como resultado una concentración de compuesto en un fluido corporal (tal como sangre, plasma, suero, CSF, fluido sinovial, linfa, fluido intersticial celular, lágrimas u orina) que es suficiente para alterar la unión del ligando vainilloide a VR1 *in vitro* (usando el ensayo proporcionado en el Ejemplo 5) y/o la transducción de señales mediada por VR1 (usando un ensayo proporcionado en el Ejemplo 6). Será manifiesto que el beneficio discernible al paciente puede ser manifiesto tras la administración de una única dosis, o puede hacerse manifiesto tras la administración repetida de la dosis terapéuticamente eficaz según un régimen predeterminado, dependiendo de la indicación para la que se administra el compuesto.

Por “estadísticamente significativo”, como se usa en esta memoria, se entienden resultados que varían con respecto al control al nivel de $p < 0,1$ de significancia, tal como se mide utilizando un ensayo paramétrico estándar de significancia estadística tal como un ensayo de la *t* de Student.

Un “paciente” es cualquier individuo tratado con un compuesto como se proporciona en esta memoria. Los pacientes incluyen seres 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 del receptor de capsaicina (v.g., dolor, exposición a ligando vainilloide, prurito, incontinencia urinaria, vejiga hiperactiva, síntomas de la menopausia, trastornos respiratorios, tos y/o hipo), o pueden estar exentos de dicho o dichos síntomas (es decir, el tratamiento puede ser profiláctico en un paciente considerado en riesgo de desarrollar tales síntomas).

ANÁLOGOS DE 2-FENOXIPYRIMIDINONA

Como se ha indicado anteriormente, la presente invención proporciona análogos de 2-fenoxipirimidinona de Fórmula A. en ciertos aspectos, tales compuestos son moduladores de VR1 que pueden utilizarse en una diversidad de contextos, incluyendo en el 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 (tales como, por ejemplo, humo de tabaco), agentes infecciosos (incluyendo virus, bacterias y levaduras), espray de pimienta o agentes afines; afecciones respiratorias tales como asma o enfermedad pulmonar obstructiva crónica; prurito, incontinencia urinaria o vejiga hiperactiva, síntomas de la menopausia, tos o hipo; y/u obesidad. Tales compuestos pueden utilizarse también en ensayos *in vitro* (v.g., ensayos para determinar la actividad de receptores), como sondas para la detección y localización de VR1, y como patrones en ensayos de unión de ligandos y ensayos de transducción de señales mediada por VR1.

Se ha encontrado, dentro del contexto de la presente invención, que los análogos de 2-fenoxipirimidinona proporcionados en esta memoria exhiben una actividad moduladora de VR1 inesperadamente elevada, debido, al menos en parte, al resto fenoxi de Fórmula A y Fórmula I.

Como se señala anteriormente,



representa un heteroarilo condensado de 5 ó 6 miembros opcionalmente sustituido en el que 1, 2 ó 3 miembros anulares son heteroátomos seleccionados independientemente de O, N y S, y los miembros anulares restantes son carbono. En ciertas realizaciones,



está sustituido con 0 a 2 sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo de C₁-C₆, (cicloalquilo de C₃-C₇)alquilo de C₀-C₂ y haloalquilo de C₁-C₆. En realizaciones adicionales,



está sustituido con de 0 a 2 sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo de C₁-C₄, (cicloalquilo de C₃-C₅)alquilo de C₀-C₂ y haloalquilo de C₁-C₄.

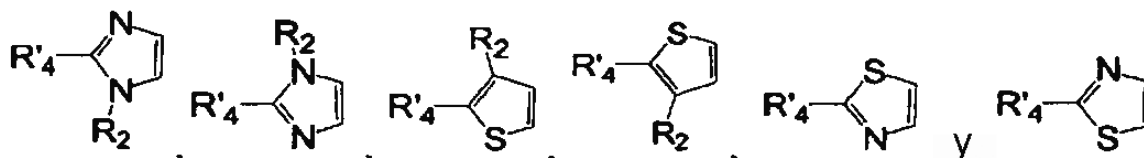
En ciertas realizaciones



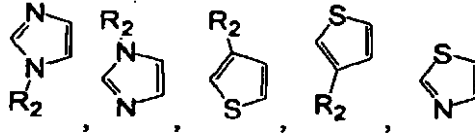
es un heteroarilo de 5 miembros que está sustituido con de 0 a 2 sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo de C₁-C₄, (cicloalquilo de C₃-C₅)alquilo de C₀-C₂ y haloalquilo de C₁-C₄. En otras realizaciones,



es un heteroarilo de 5 miembros representado por cualquiera de las fórmulas:



en las que R₄ es hidrógeno, alquilo de C₁-C₄, (cicloalquilo de C₃-C₅)alquilo de C₀-C₂, haloalquilo de C₁-C₄, hidroxialquilo de C₁-C₄, alcoxi de C₁-C₄, alcanoilamino de C₁-C₄ o alquilsulfonilamino de C₁-C₄. Los grupos representativos de este tipo incluyen, por ejemplo,



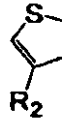
5 y



en las que R₂ es, por ejemplo, hidrógeno, ciano, arilo, heteroarilo, halógeno, alquilo de C₁-C₄, haloalquilo de C₁-C₄ o cicloalquilo de C₃-C₅. En ciertas realizaciones,



10 es



o



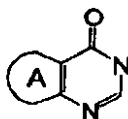
15 Será manifiesto que se pretende que la orientación de tales restos se retenga como se muestra (v.g. si



es

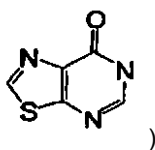


entonces el núcleo bicíclico



20

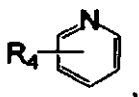
es



En otras realizaciones,



5 es un heteroarilo de 6 miembros que está sustituido con de 0 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de hidroxilo, alquilo de C₁-C₆, (cicloalquilo de C₃-C₇)alquilo de C₀-C₂, haloalquilo de C₁-C₆, hidroxialquilo de C₁-C₆, alcoxi de C₁-C₆, mono(alquilo de C₁-C₆)amino, alcanoilamino de C₁-C₆ o alquilsulfonilamino de C₁-C₆. Grupos representativos de este tipo incluyen, por ejemplo,

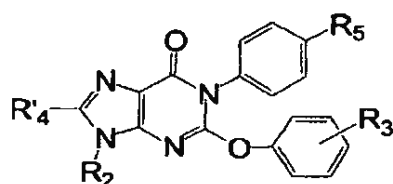


10 en el que R₄ representa de 0 a 3, preferiblemente de 1 a 3, sustituyentes seleccionados independientemente de hidroxilo, alquilo de C₁-C₄, (cicloalquilo de C₃-C₅)alquilo de C₀-C₂, haloalquilo de C₁-C₄, hidroxialquilo de C₁-C₄, alcoxi de C₁-C₄, mono(alquilo de C₁-C₄)amino, alcanoilamino de C₁-C₄ o alquilsulfonilamino de C₁-C₄.

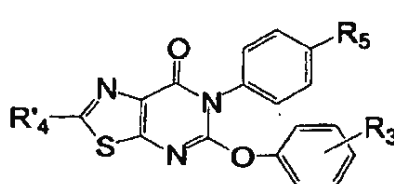
15 La variable R₁, en ciertas realizaciones, representa de 0 a 3, preferiblemente de 1 a 3, sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, ciano, alquilo de C₁-C₄ y haloalquilo de C₁-C₄. Por ejemplo, R₁ representa exactamente un sustituyente (v.g., en la posición *para* del anillo Ar) dentro de algunos de tales compuestos. En otros compuestos de este tipo, al menos un sustituyente representado por R₁ es un halógeno o CN; tal sustituyente está situado en la posición *para* de un resto Ar de 6 miembros en algunos de tales compuestos. Será manifiesto que, en la Fórmula I, la posición *para* se refiere a posición *para* con respecto al punto de unión del resto Ar al núcleo de pirimidinona; esto es, la posición 4 del anillo fenilo que resulta cuando X es CH, y la posición 6 del anillo de piridin-3-ilo que resulta cuando X es N.

20 En ciertas realizaciones, R₃ representa de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, ciano, alquilo de C₁-C₄, haloalquilo de C₁-C₄ y alcoxi de C₁-C₄.

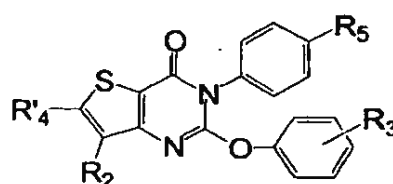
En ciertas realizaciones, los compuestos de Fórmula I satisfacen adicionalmente una de las Fórmulas II-VII:



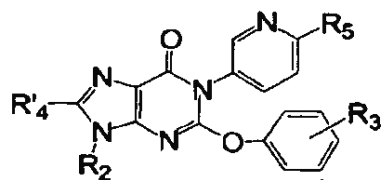
Fórmula II



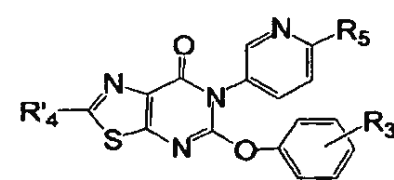
Fórmula III



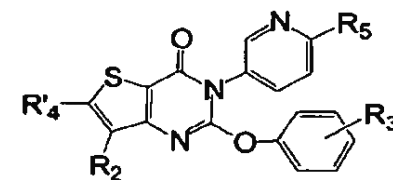
Fórmula IV



Fórmula V

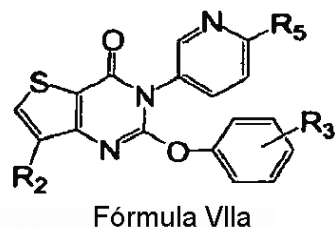
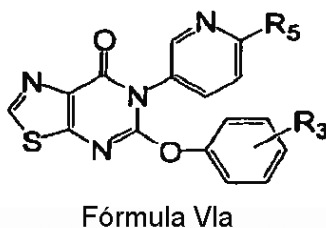
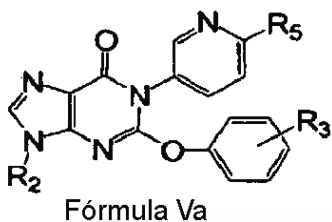
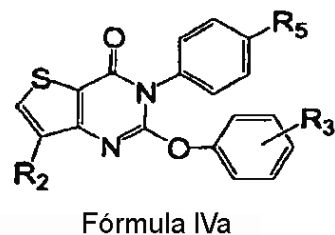
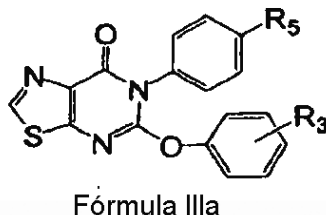
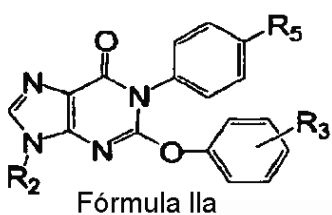


Fórmula VI

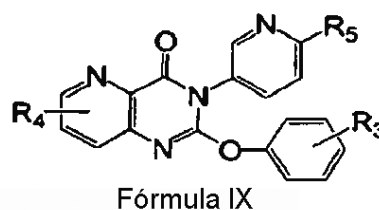
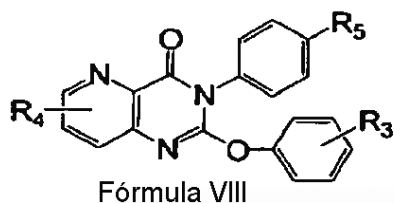


Fórmula VII

25 en las que R₂ es hidrógeno, alquilo de C₁-C₄, haloalquilo de C₁-C₄ o cicloalquilo de C₃-C₅; R₃ representa de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, ciano, alquilo de C₁-C₄, haloalquilo de C₁-C₄ y alcoxi de C₁-C₄; R₄ es hidrógeno, alquilo de C₁-C₄, (cicloalquilo de C₃-C₅)alquilo de C₀-C₂, haloalquilo de C₁-C₄, hidroxialquilo de C₁-C₄, alcoxi de C₁-C₄, alcanoilamino de C₁-C₄ o alquilsulfonilamino de C₁-C₄; y R₅ es halógeno o CN. En ciertas realizaciones de Fórmulas II-VII, R₄ es H (es decir, tales compuestos satisfacen además una de las Fórmulas III-VIIa:



en las cuales las variables son como se describen para las Fórmulas II-VII. En realizaciones adicionales, los compuestos de Fórmula I satisfacen además la Fórmula VIII o IX:



- 5 en las cuales R_3 representa de 1 a 33 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, ciano, alquilo de C_1-C_4 , haloalquilo de C_1-C_4 y alcoxi de C_1-C_4 ; R_4 representa de 0 a 2 sustituyentes seleccionados independientemente de hidroxilo, alquilo de C_1-C_4 , (cicloalquilo de C_3-C_5)alquilo de C_0-C_2 , haloalquilo de C_1-C_4 , hidroxialquilo de C_1-C_4 , alcoxi de C_1-C_4 , mono-(alquilo de C_1-C_4)amino, alcanoilamino de C_1-C_4 o alquilsulfonilamino de C_1-C_4 ; y R_5 es halógeno o CN.
- 10 Los análogos de 2-fenoxipirimidinona representativos e intermedios proporcionados en esta memoria incluyen, pero no se limitan a, aquellos descritos específicamente en los Ejemplos 1-3. Será manifiesto que los compuestos específicos citados en esta memoria son solamente representativos, y no pretenden limitar el alcance de la presente invención. Además, como se señala anteriormente, todos los compuestos de la presente invención pueden estar presentes como un ácido o base libre, o como una sal farmacéuticamente aceptable.
- 15 En ciertos aspectos de la presente invención, los análogos de 2-fenoxipirimidinona proporcionados en esta memoria alteran (modulan) detectablemente la actividad de VR1, tal como se determina utilizando un ensayo funcional de VR1 *in vitro* tal como un ensayo de movilización de calcio. Como cribado inicial para tal actividad, se puede usar un ensayo de unión de ligando de VR1. Las referencias en esta memoria a un "ensayo de unión de ligando de VR1" tienen por objeto hacer referencia a un ensayo estándar de unión de receptores *in Vitro*, tal como el proporcionado en el Ejemplo 5, 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 6. Resumidamente, para evaluar la unión a VR1, puede realizarse un ensayo de competición en el cual una preparación de VR1 se incubaba con un compuesto marcado (v.g., ^{125}I o 3H) que se une 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 unión de ligandos vainilloides a VR1 da como resultado una disminución o un aumento en la cantidad de marcador unido a la preparación de VR1, con relación a la cantidad de marcador unido 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 unido a la preparación de VR1 en un ensayo de este tipo.
- 20
- 25
- 30

Ciertos moduladores de VR1 proporcionados en esta memoria modulan de forma detectable la actividad de VR1 a concentraciones nanomolares (*es decir*, submicromolares), a concentraciones subnanomolares, o a concentraciones por debajo de 100 picomolar, 20 picomolar, 10 picomolar o 5 picomolar.

5 Como se ha indicado anteriormente, en ciertas realizaciones se prefieren compuestos que son antagonistas de VR1. Los valores IC_{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 6. Resumidamente, células que expresan el receptor de capsaicina se ponen en contacto con un compuesto de interés y con un indicador de la concentración de calcio intracelular (*v.g.*, un tinte de sensibilidad al calcio permeable a través de la membrana, tal como Fluo-3 o Fura-2 (Molecular Probes, Eugene, OR), cada uno de los cuales produce una señal fluorescente cuando se une a Ca^{++}).
10 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 disolución. 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 olvanilo), típicamente a una concentración igual a la concentración EC_{50} , y se mide una respuesta de fluorescencia. Cuando las células puestas en contacto con el agonista se ponen en contacto con un compuesto que es un antagonista de VR1, la respuesta de fluorescencia se reduce generalmente en al menos un 20%, preferiblemente en al menos un 50%, y más preferiblemente en al menos un 80%, en comparación con las células que están en contacto con el agonista en ausencia de compuesto de ensayo. El valor IC_{50} para los antagonistas de VR1 proporcionados en esta memoria es preferiblemente menor que 1 micromolar, menor que 100 nM, menor que 10 nM o menor que 1 nM. En ciertas realizaciones, los antagonistas de VR1 proporcionados en esta memoria no exhiben actividad agonista detectable en un ensayo *in vitro* de agonismo del receptor de capsaicina a una concentración de compuesto igual a la IC_{50} . Algunos de tales antagonistas no exhiben actividad agonista detectable en un ensayo *in vitro* de agonismo del receptor de capsaicina a una concentración de compuesto que es 100 veces mayor que la IC_{50} .

25 En otras realizaciones, se prefieren compuestos que son agonistas del receptor de capsaicina. La actividad agonista del receptor de capsaicina puede determinarse generalmente como se describe en el Ejemplo 6. 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 EC_{50} para los agonistas de VR1 proporcionados en esta memoria es preferiblemente menor que 1 micromolar, menor que 100 nM o menor que 10 nM.

35 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 moduladores de VR1 proporcionados en esta memoria tienen preferiblemente un efecto específico estadísticamente significativo sobre la actividad de VR1 en uno o más ensayos funcionales proporcionados en esta memoria.

40 En ciertas realizaciones, los moduladores de VR1 proporcionados en esta memoria no modulan sustancialmente la unión de ligandos a otros receptores de la superficie celular, tales como la tirosina–cinasa 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 la tirosina–cinasa receptora del factor de crecimiento epidérmico (EGF) humano o el receptor nicotínico de acetilcolina (*v.g.*, el valor IC_{50} o IC_{40} en 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 comercialmente disponibles, e incluyen kits para el ensayo de tirosina–cinasa disponibles de Panvera (Madison, WI).

50 En ciertas realizaciones, los moduladores de VR1 preferidos 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 ninguna sedación estadísticamente significativa en un ensayo de sedación en modelo animal (utilizando el método descrito por Fitzgerald et al. (1988) *Toxicology* 49(2–3): 433–9). Preferiblemente, una dosis que es cinco veces la dosis mínima suficiente para proporcionar analgesia no produce sedación estadísticamente significativa. Más preferiblemente, un modulador de VR1 proporcionado en esta memoria 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).

60 Si se desea, los compuestos proporcionados en esta memoria pueden evaluarse en busca de ciertas propiedades farmacológicas que incluyen, pero sin limitarse a, 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 compuesto preferido es no tóxico cuando se administra una cantidad terapéuticamente eficaz a un paciente), efectos secundarios (un compuesto preferido produce efectos secundarios comparables al placebo cuando se administra a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto), unión de proteínas del suero y semi-vida *in vitro* e *in vivo* (un compuesto preferido exhibe una semi-vida *in vitro* que permite 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 SNC, de tal modo que dosis orales diarias totales como se han descrito anteriormente proporcionan dicha modulación en un grado terapéuticamente eficaz, si bien pueden preferirse niveles cerebrales bajos de los moduladores de VR1 utilizados para tratar el dolor mediado por los nervios periféricos (*es decir*, dichas dosis no proporcionan niveles cerebrales (*v.g.*, en el CSF) del compuesto suficientes para modular significativamente la actividad de VR1). Ensayos normales 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, incluyendo monocapas de células Caco-2. La penetración de la barrera hematoencefálica de un compuesto en seres humanos puede predecirse a partir de los niveles cerebrales del compuesto en animales de laboratorio a los que se administra el compuesto (*v.g.*, por vía intravenosa). La unión de proteínas del suero puede predecirse a partir de ensayos de unión 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, por ejemplo, en el Ejemplo 7 de la Publicación de Solicitud de Patente U.S. número 2005/0070547.

Como se ha indicado anteriormente, los compuestos preferidos proporcionados en esta memoria son no tóxicos. En general, la expresión “no tóxico” 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 la 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 siguientes criterios: (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 compuesto que “no inhibe sustancialmente la producción de ATP celular” es un compuesto que satisface los criterios expuestos en el Ejemplo 8 de la Publicación de Solicitud de Patente U.S. número 2005/0070547. Dicho de otro modo, las células tratadas como se describe allí con 100 μM 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 mucho más preferidas, dichas células exhiben niveles de ATP que son al menos 80% de los niveles de ATP detectados en células sin tratar.

Un compuesto 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 cobayas, lechones o perros después de la administración de una dosis que produce una concentración sérica igual a la EC_{50} o IC_{50} para el compuesto. 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.

Un compuesto no causa engrosamiento sustancial del hígado si el tratamiento diario de roedores de laboratorio (*v.g.*, ratones o ratas) durante 5–10 días con una dosis que proporciona una concentración sérica igual a la EC_{50} o IC_{50} para el compuesto 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 muy preferidas, dichas dosis no causan un 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 compuesto no promueve una liberación sustancial de enzimas hepáticas si la administración de dos veces la dosis mínima que proporciona una concentración sérica igual a la EC_{50} o IC_{50} en VR1 para el compuesto no eleva los niveles séricos de ALT, LDH o AST en animales de laboratorio (*v.g.*, roedores) en más de 100% con respecto a controles equiparables falsamente tratados. En realizaciones muy preferidas, dichas dosis no elevan tales niveles séricos en más de 75% o 50% con respecto a los controles equiparables. Alternativamente, un compuesto no promueve una liberación sustancial de enzimas hepáticas si, en un ensayo de hepatocitos *in vitro*, las concentraciones (en medios de cultivo u otras disoluciones de este tipo que están en contacto y se incuban con hepatocitos *in vitro*) que son iguales a la EC_{50} o IC_{50} para el 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 muy preferidas, no

existe ninguna liberación detectable 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 cinco veces, y preferiblemente diez veces la EC₅₀ o IC₅₀ para el compuesto.

5 En otras realizaciones, ciertos compuestos 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 EC₅₀ o IC₅₀ en VR1 para el compuesto.

10 Ciertos compuestos 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 similares) a una concentración igual a la EC₅₀ o IC₅₀ para el compuesto. En otras realizaciones, ciertos compuestos preferidos no inducen el intercambio de cromátidas hermanas (*v.g.*, en células de ovario de hámster chino) a tales concentraciones.

15 Para los fines de detección, tal como se expone con mayor detalle más adelante, los moduladores de VR1 proporcionados en esta memoria pueden estar marcados isotópicamente o radiomarcados. Por ejemplo, los compuestos 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 memoria incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor y cloro, tales como ²H, ³H, ¹¹C, ¹³C, ¹⁴C, ¹⁵N, ¹⁸O, ¹⁷O, ³¹P, ³²P, ³⁵S, ¹⁸F y ³⁶Cl. Adicionalmente, la sustitución con isótopos pesados, tales como deuterio (*es decir*, ²H),
20 puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas que resultan de la mayor estabilidad metabólica, por ejemplo semi-vida *in vivo* incrementada o menores requisitos de dosificación, y, por consiguiente, puede ser preferida en ciertas circunstancias.

PREPARACIÓN DE ANÁLOGOS DE 2-FENOXIPIRIMIDINONA

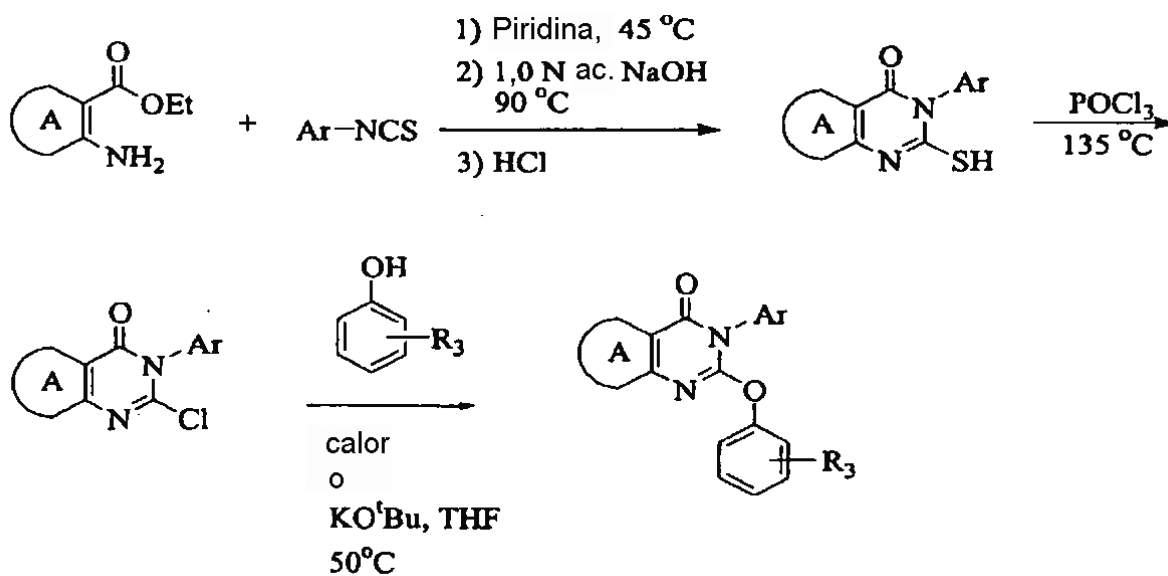
25 Los análogos de 2-fenoxipirimidinona pueden prepararse generalmente utilizando métodos de síntesis estándar. Los materiales de partida están comercialmente disponibles de proveedores tales como Sigma–Aldrich Corp. (St. Louis, MO), o pueden sintetizarse a partir de precursores comercialmente disponibles utilizando protocolos establecidos. A modo de ejemplo, puede utilizarse una ruta de síntesis similar a la representada en cualquiera de los Esquemas, junto con métodos de síntesis conocidos en la técnica de la química orgánica de síntesis. Cada variable en los esquemas que siguen hace referencia a cualquier grupo consistente con la descripción de los compuestos
30 proporcionados en esta memoria.

Ciertas abreviaturas usadas en los siguientes Esquemas y en cualquier otra parte incluyen:

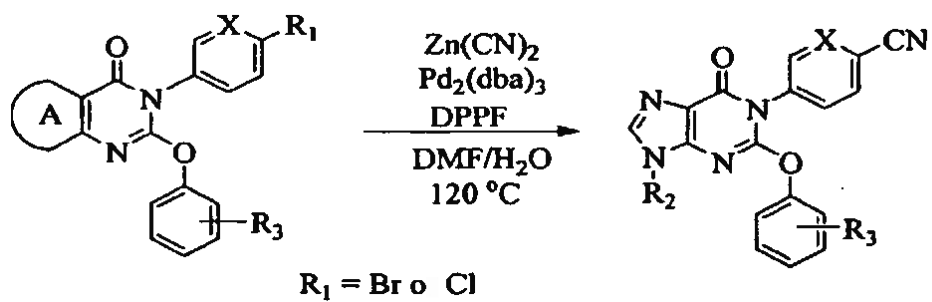
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
δ	Desplazamiento químico
DCM	Diclorometano
DMAP	4-Dimetilaminopiridina
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
DPPF	1,1'-Bis(difenilfosfino)ferroceno
Et	Etilo
EtOAc	Acetato de etilo
EtOH	Etanol
h	Hora(s)
RMN ¹ H	Resonancia magnética nuclear de protón
HPLC	Cromatografía de líquidos a alta presión
Hz	Hercios
LCMS	Cromatografía líquida/espectrometría de masas
KO ^t Bu	<i>tert</i> -Butóxido de potasio

min	Minuto(s)
MS	Espectrometría de masas
(M+1)	Masa +1
Pd ₂ (dba) ₃	Tris(dibencilideno)dipaladio(0)
TA	Temperatura ambiente
TFA	Ácido trifluoroacético

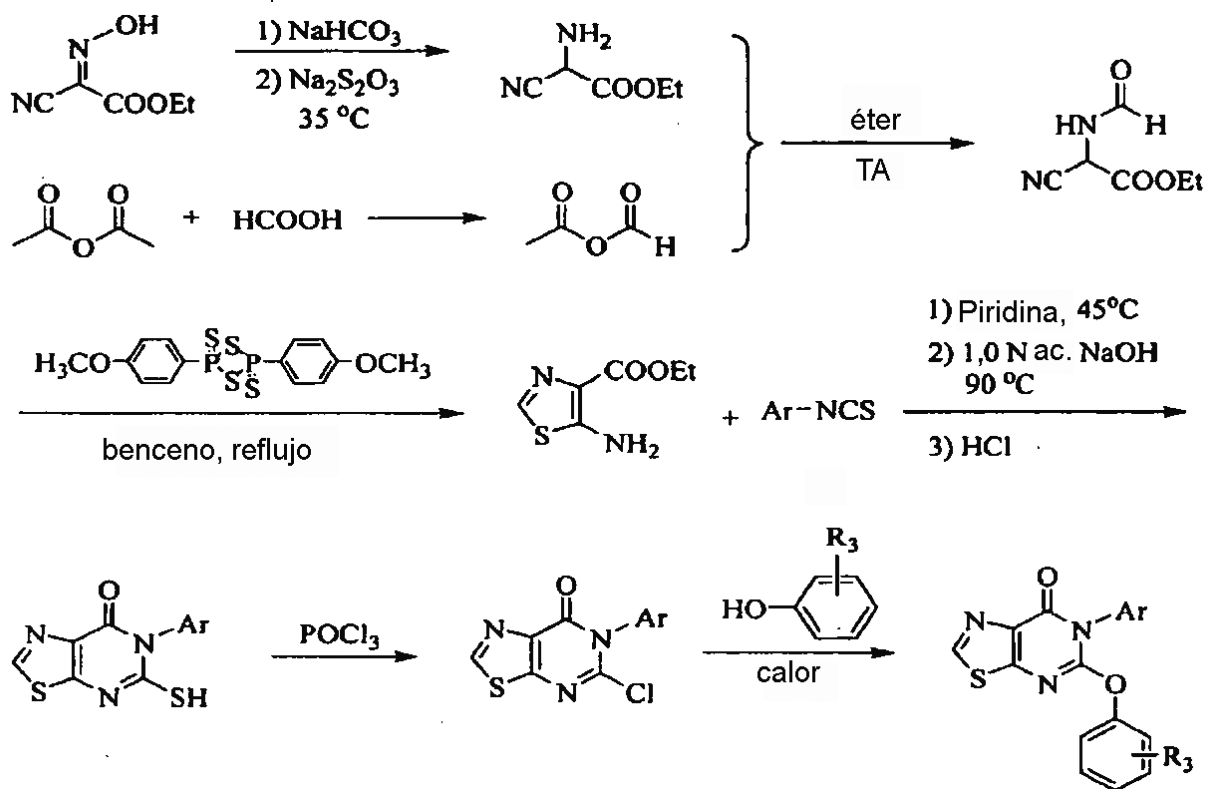
Esquema 1



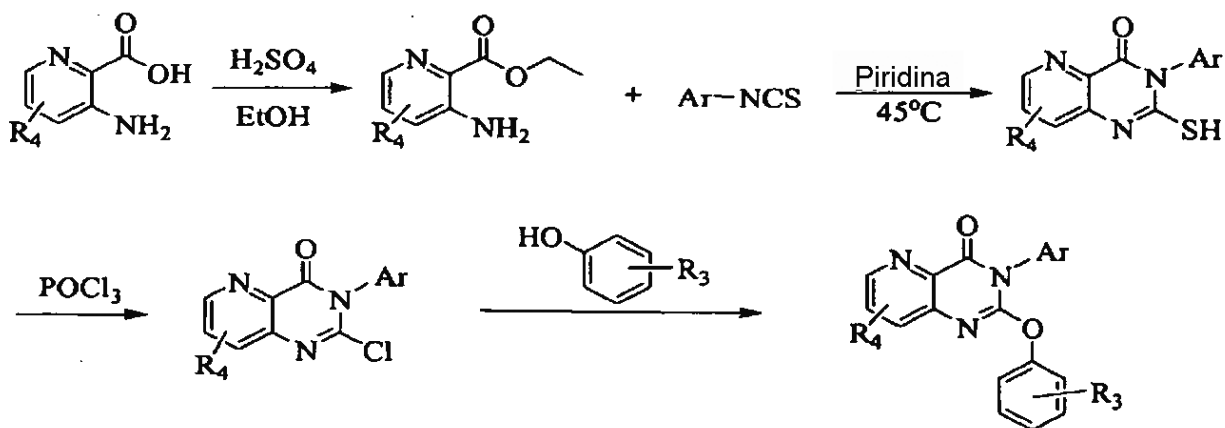
Esquema 2



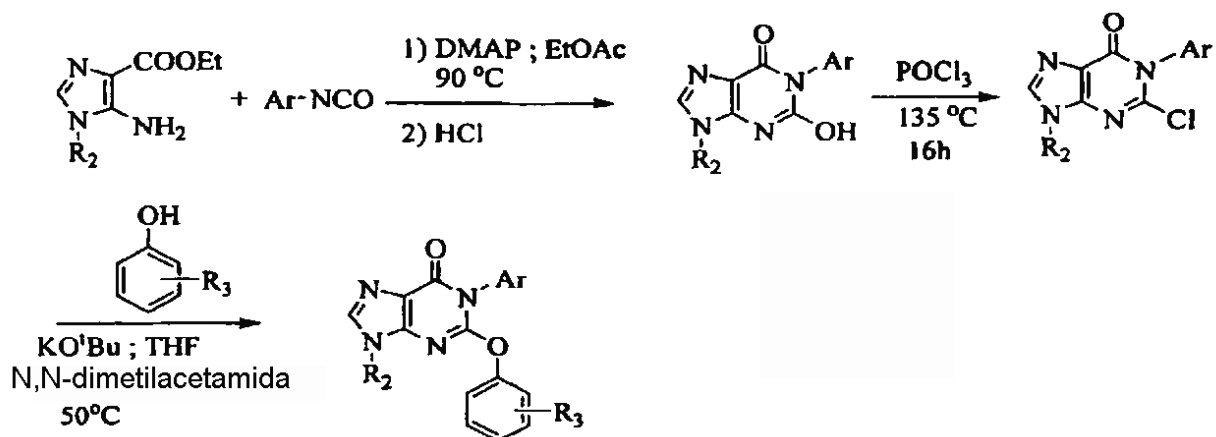
Esquema 3



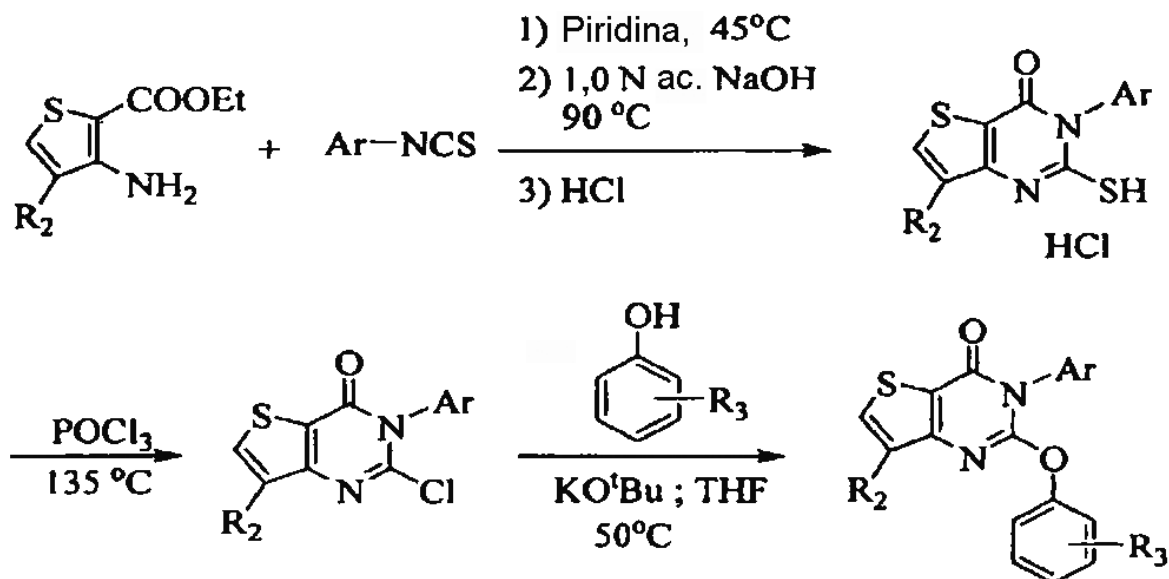
Esquema 4



Esquema 5



Esquema 6



En ciertas realizaciones, un compuesto proporcionado en esta memoria 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 anteriormente, todos los estereoisómeros están abarcados por la presente invención. No obstante, puede ser deseable obtener enantiómeros individuales (*es decir*, formas ópticamente activas). Métodos estándar para preparar enantiómeros individuales 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 llevando a cabo su síntesis usando precursores que comprenden al menos un átomo que es un radioisótopo. Cada radioisótopo es preferiblemente carbono (*v.g.*, ¹⁴C), hidrógeno (*v.g.*, ³H), azufre (*v.g.*, ³⁵S), o yodo (*v.g.*, ¹²⁵I). Pueden prepararse también 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, según sea apropiado. La preparación de compuestos radiomarcados puede ser realizada convenientemente por un proveedor 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 compuestos proporcionados en esta memoria, 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.*, disolución salina tamponada neutra o disolución 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 glutatona y/o conservantes. Adicionalmente, se pueden incluir (aunque no es necesario) en las composiciones farmacéuticas proporcionadas en esta memoria otros ingredientes activos.

Las composiciones farmacéuticas se pueden formular para cualquier modalidad de administración apropiada, incluyendo, por ejemplo, la 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, comprimidos, 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 farmacéuticas 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. Los comprimidos contienen el ingrediente activo en mezcla con excipientes fisiológicamente aceptables que son adecuados para la fabricación de comprimidos. 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 disgregantes (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 estearico o talco). Los comprimidos se pueden formar usando técnicas estándar, incluyendo granulación directa, compresión directa y granulación en húmedo. Los comprimidos pueden carecer de recubrimiento o pueden estar recubiertos por técnicas conocidas.

Las formulaciones para uso oral pueden presentarse también como cápsulas de gelatina duras 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 blandas, 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, tales como 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., fosfátidos existentes naturalmente tales como lecitina, productos de condensación de un óxido de alquileno con ácidos grasos tales como estearato de polioxietileno, 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 monooleato de polioxietilensorbitol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol tales como monooleato de polietilensorbitán). 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 mencionados anteriormente. También pueden estar presentes excipientes adicionales, tales como agentes edulcorantes, saborizantes y colorantes.

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., monooleato de polioxietilensorbitán). 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 emolientes, 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-, isopren- 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 (incluyendo 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, humectantes y materiales de liberación sostenida. Ejemplos de tales componentes se describen en Martindale –

– the Extra Pharmacopoeia (Pharmaceutical Press, Londres 1993) y Remington's Pharmaceutical Sciences, 21ª ed., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA (2005). Las formulaciones pueden comprender microcápsulas, tales como microcápsulas de hidroximetilcelulosa o de gelatina, liposomas, microesferas de albúmina, microemulsiones, nanopartículas o nanocápsulas.

5 Una formulación tópica puede prepararse en una diversidad de formas físicas, incluyendo, 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
10 consistentes y no susceptibles de vertido, y comúnmente se formulan como barras o barritas, o en forma de partículas; los sólidos pueden ser opacos o transparentes, y opcionalmente pueden contener disolventes, emulsionantes, humectantes, 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
15 humectantes, emolientes, perfumes, tintes/colorantes, conservantes y otros ingredientes activos que aumentan o mejoran la eficacia del producto final. Los geles pueden prepararse dentro de un intervalo 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, humectantes, emolientes, perfumes, tintes/colorantes, conservantes y otros ingredientes activos que aumentan o mejoran la eficacia del producto final. Los líquidos son
20 más fluidos que las cremas, lociones, o geles, y a menudo no contienen emulsionantes. Los productos líquidos tópicos contienen a menudo disolventes, emulsionantes, humectantes, 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 limitarse a, emulsionantes iónicos, alcohol cetearílico, emulsionantes no iónicos tales como polioxietileno-oleil-éter, estearato de PEG-40, cetearato-12, cetearato-20, cetearato-30, alcohol cetearílico, estearato de PEG-100 y estearato de glicerilo. Agentes de ajuste de la viscosidad adecuados incluyen, pero sin limitarse a, coloides protectores o gomas no iónicas tales como hidroxietilcelulosa, goma de xantano, silicato de aluminio y magnesio, sílice, cera microcristalina, cera de abejas, parafina, y palmitato de cetilo. Una composición de gel puede formarse por adición de un agente gelificante tal como quitosano, metil-celulosa, etil-celulosa, poli(alcohol vinílico), policuaternios, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carbómero o glicirricinato amoniacal. Agentes tensioactivos adecuados incluyen, pero sin limitarse a, agentes tensioactivos no iónicos, anfóteros, iónicos y aniónicos. Por ejemplo, en formulaciones tópicas pueden utilizarse uno o más de dimeticona-copolíol, polisorbato 20, polisorbato 40, polisorbato 60, polisorbato 80, lauramida-DEA, cocoamida-DEA, y cocoamida-MEA, oleil-betaína, cloruro de cocoamidopropil-fosfatidil-PG-diamonio y lauret-sulfato de amonio. Conservantes adecuados incluyen, pero sin limitarse a, antimicrobianos tales como metilparabeno, propilparabeno, 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. Humectantes adecuados incluyen, pero sin limitarse a, ácido láctico y otros hidroxiácidos y sus sales, glicerina, propilenglicol, y butilenglicol. Emolientes adecuados incluyen alcohol lanolínico, lanolina, derivados de lanolina, colesterol, vaselina, neopentanoato de isoestearilo y aceites minerales. Perfumes y colores adecuados incluyen, pero sin limitarse a, FD&C Rojo No. 40 y FD&C Amarillo No. 5. Otros ingredientes adicionales adecuados que pueden incluirse en una
40 formulación tópica incluyen, pero sin limitarse a, abrasivos, absorbentes, agentes antiapelmazantes, agentes antiespumantes, agentes antiestáticos, astringentes (v.g., olmo escocés, alcohol y extractos de hierbas tales como extracto de camomila), aglutinantes/excipientes, agentes tamponantes, agentes quelantes, agentes formadores de película, agentes acondicionadores, propelentes, agentes opacificantes, ajustadores del pH y agentes protectores.

45 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.

50 Modos típicos de suministro para composiciones tópicas incluyen aplicación utilizando los dedos; aplicación utilizando un aplicador físico tal como una tela, tejido, torunda, varilla o pincel; pulverización (incluyendo nebulización, aerosol o pulverización de espuma); aplicación con cuentagotas; espolvoreo; impregnación; y lavado.

Una composición farmacéutica puede prepararse como una suspensión acuosa u oleaginosa inyectable estéril. El compuesto o compuestos proporcionados en esta memoria, dependiendo del vehículo y la concentración utilizada, pueden estar o bien suspendidos o disueltos 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, disolución de Ringer y disolución isotónica de cloruro de sodio. Adicionalmente, pueden emplearse como disolvente o medio de suspensión agentes estériles fijos. Para este fin, puede emplearse cualquier aceite no irritante fijo, incluyendo mono- o diglicéridos sintéticos. Adicionalmente, ácidos grasos tales como 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 tamponantes.

Las composiciones farmacéuticas pueden formularse también como supositorios (v.g., para administración rectal). Tales composiciones se pueden preparar mezclando el 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.

- 5 Las composiciones para inhalación se pueden proporcionar típicamente en forma de una disolución, suspensión o emulsión, que se puede administrar como un polvo seco o en forma de un aerosol usando un propelente convencional (v.g., diclorodifluorometano o triclorofluorometano).

10 Las composiciones farmacéuticas se pueden formular para la liberación a una velocidad determinada. La liberación instantánea se puede lograr, por ejemplo, vía administración sublingual (*es decir*, administración por la boca de tal manera que el ingrediente o ingredientes activos se absorban rápidamente vía los vasos sanguíneos bajo la lengua en vez de vía el tubo digestivo). Las formulaciones de liberación controlada (*es decir*, formulaciones tales como una cápsula, comprimido o comprimido revestido que ralentiza y/o retrasa la liberación del ingrediente o ingredientes activos tras la administración) se pueden administrar, por ejemplo, mediante implantación oral, rectal o subcutánea, o mediante implantación en un sitio diana. En general, una formulación de liberación controlada comprende una matriz y/o un revestimiento que retrasa la disgregación y absorción en el tubo digestivo (o sitio de implantación), y de ese modo proporciona una acción retrasada o una acción sostenida a lo largo de un período más prolongado. Un tipo de formulación de liberación controlada es una formulación de liberación sostenida, en la que al menos un ingrediente activo se libera de forma continua durante un período de tiempo a una velocidad constante. Preferiblemente, el agente terapéutico se libera a una velocidad tal que las concentraciones sanguíneas (v.g., plasmáticas) se mantienen en el intervalo terapéutico, pero por debajo de niveles tóxicos, durante un período de tiempo que es al menos 4 horas, preferiblemente al menos 8 horas, y más preferiblemente al menos 12 horas. Tales formulaciones pueden prepararse generalmente utilizando tecnología bien conocida y pueden administrarse mediante, por ejemplo, implantación oral, rectal o subcutánea, o por implantación en el sitio diana deseado. Los vehículos para uso en tales formulaciones son biocompatibles, y también pueden ser 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, de la velocidad y duración esperada de liberación y de la naturaleza de la afección a tratar o prevenir.

15 La liberación controlada se puede lograr combinando el ingrediente o ingredientes activos con un material matriz que en sí mismo altera la velocidad de liberación, y/o mediante el uso de un revestimiento de liberación controlada. La velocidad de liberación se puede variar usando métodos bien conocidos en la técnica, incluyendo (a) variando el grosor o composición de un revestimiento, (b) alterando la cantidad o manera de añadir plastificante en un revestimiento, (c) incluyendo ingredientes adicionales, tales como agentes que modifican la liberación, (d) alterando la composición, el tamaño de partículas o la forma de las partículas de la matriz, y (e) proporcionando uno o más conductos a través del revestimiento. La cantidad de modulador contenido en una formulación de liberación sostenida depende, por ejemplo, del método de administración (por ejemplo, del sitio de implantación), la velocidad y duración esperada de liberación, y la naturaleza de la afección a tratar o prevenir.

20 El material matriz, que puede servir o no él mismo una función de liberación controlada, es generalmente cualquier material que soporta el ingrediente o ingredientes activos. Por ejemplo, se puede emplear un material de retraso en el tiempo, tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo. El ingrediente o ingredientes activos se pueden combinar con material matriz antes de la formación de la forma de dosificación (v.g., un comprimido). Como alternativa, o además, el ingrediente o ingredientes activos se pueden revestir sobre la superficie de una partícula, gránulo, esfera, microesfera, perla o pelete que comprende el material matriz. Tal revestimiento se puede lograr por medios convencionales, tal como disolviendo el ingrediente o ingredientes activos en agua u otro disolvente adecuado, y pulverizando. Opcionalmente, los ingredientes adicionales se añaden antes del revestimiento (v.g., para ayudar a la unión del ingrediente o ingredientes activos al material matriz, o para colorear la disolución). La matriz se puede revestir entonces con un agente barrera antes de la aplicación del revestimiento de liberación controlada. Si se desea, se pueden encapsular múltiples unidades de matriz revestidas para generar la forma de dosificación final.

25 En ciertas realizaciones, una liberación controlada se logra mediante el uso de un revestimiento de liberación controlada (*es decir*, un revestimiento que permite la liberación del ingrediente o ingredientes activos a una velocidad controlada en medio acuoso). El revestimiento de liberación controlada debería ser una película continua resistente que es lisa, capaz de soportar pigmentos y otros aditivos, no tóxica, inerte y libre de pegajosidad. Los revestimientos que regulan la liberación del modulador incluyen revestimientos independientes del pH, revestimientos dependientes del pH (que se pueden usar para liberar modulador en el estómago) y revestimientos entéricos (que permiten que la formulación pase intacta a través del estómago y en el intestino delgado, donde el revestimiento se disuelve y los contenidos son absorbidos por el cuerpo). Será manifiesto que se pueden emplear múltiples revestimientos (v.g., para permitir la liberación de una porción de la dosis en el estómago, y una porción posteriormente a lo largo del tubo digestivo). Por ejemplo, una porción del ingrediente o ingredientes activos se puede revestir sobre un revestimiento entérico, y de ese modo se puede liberar en el estómago, mientras que el resto del ingrediente o ingredientes activos en el núcleo de la matriz se protege mediante el revestimiento entérico y es liberado posteriormente en el tubo digestivo. Los revestimientos dependientes del pH incluyen, por ejemplo, goma laca, acetato-ftalato de celulosa, acetato-ftalato de polivinilo, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, copolímeros de éster de ácido metacrílico, y ceína.

En ciertas realizaciones, el revestimiento es un material hidrófobo, usado preferiblemente en una cantidad eficaz para ralentizar la hidratación del agente gelificante tras la administración. Los materiales hidrófobos adecuados incluyen alquilcelulosas (v.g., etilcelulosa o carboximetilcelulosa), éteres de celulosa, ésteres de celulosa, polímeros acrílicos (v.g., poli(ácido acrílico), poli(ácido metacrílico), copolímeros de ácido acrílico y ácido metacrílico, copolímeros de metacrilato de metilo, metacrilatos de etoxietilo, metacrilato de cianoetilo, copolímero de alcamida de ácido metacrílico, poli(metacrilato de metilo), poli(acrilamida, copolímero de metacrilato de amonio, copolímero de metacrilato de aminoalquilo, poli(anhídrido de ácido metacrílico) y copolímeros de metacrilato de glicidilo) y mezclas de los anteriores. Las dispersiones acuosas representativas de etilcelulosa incluyen, por ejemplo, AQUACOAT® (FMC Corp., Philadelphia, PA) y SURELEASE® (Colorcon, Inc., West Point, PA), las cuales se pueden aplicar al sustrato según las instrucciones del fabricante. Los polímeros acrílicos representativos incluyen, por ejemplo, los diversos polímeros EUDRAGIT® (Rohm America, Piscataway, NJ), que se pueden usar de forma individual o en combinación, dependiendo del perfil de liberación deseado, según las instrucciones del fabricante.

Las propiedades físicas de revestimientos que comprenden una dispersión acuosa de un material hidrófobo se pueden mejorar mediante adición de uno o más plastificantes. Los plastificantes adecuados para alquilcelulosas incluyen, por ejemplo, sebacato de dibutilo, ftalato de dietilo, citrato de trietilo, citrato de tributilo y triacetina. Los plastificantes adecuados para polímeros acrílicos incluyen, por ejemplo, ésteres de ácido cítrico tales como citrato de trietilo y citrato de tributilo, ftalato de dibutilo, polietilenglicoles, propilenglicol, ftalato de dietilo, aceite de ricino y triacetina.

Los revestimientos de liberación controlada se aplican generalmente usando técnicas convencionales, tal como mediante pulverización en forma de una dispersión acuosa. Si se desea, el revestimiento puede comprender poros o canales, o para facilitar la liberación de ingrediente activo. Los poros y canales se pueden generar mediante métodos bien conocidos, incluyendo la adición de material orgánico o inorgánico que se disuelve, extrae o lixivia del revestimiento en el entorno de uso. Algunos de tales materiales formadores de poros incluyen polímeros hidrófilos, tales como hidroxialquilcelulosas (v.g., hidroxipropilmetilcelulosa), éteres de celulosa, polímeros sintéticos solubles en agua (v.g., polivinilpirrolidona, polivinilpirrolidona reticulada y polióxido de etileno), povidex troso soluble en agua, sacáridos y polisacáridos, y sales de metales alcalinos. Como alternativa, o además, un revestimiento de liberación controlada puede incluir uno o más orificios, que se pueden formar mediante métodos tales como los descritos en las patentes US n^{os} 3.845.770; 4.034.758; 4.077.407; 4.088.864; 4.783.337 y 5.071.607. La liberación controlada también se puede lograr mediante el uso de parches transdérmicos, usando tecnología convencional (véase, v.g., la patente US n^o 4.668.232).

Otros ejemplos de formulaciones de liberación controlada, y sus componentes, se pueden encontrar, por ejemplo, en las patentes US n^{os} 5.524.060; 4.572.833; 4.587.117; 4.606.909; 4.610.870; 4.684.516; 4.777.049; 4.994.276; 4.996.058; 5.128.143; 5.202.128; 5.376.384; 5.384.133; 5.445.829; 5.510.119; 5.618.560; 5.643.604; 5.891.474; 5.958.456; 6.039.980; 6.143.353; 6.126.969; 6.156.342; 6.197.347; 6.387.394; 6.399.096; 6.437.000; 6.447.796; 6.475.493; 6.491.950; 6.524.615; 6.838.094; 6.905.709; 6.923.984; 6.923.988; y 6.911.217, por su enseñanza de la preparación de formas de dosificación de liberación controlada.

Además de o junto con los modos de administración anteriores, un compuesto proporcionado en esta memoria puede añadirse convenientemente al alimento o al agua de bebida (v.g., para administración a animales no humanos, incluyendo 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 ingiera una cantidad apropiada de la composición junto con su dieta. También puede ser conveniente presentar la composición como una premezcla para añadir a la comida o al agua de bebida.

Los compuestos se administran generalmente en 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 alrededor de 0,001 mg y alrededor de 50 mg por kilogramo de peso corporal por día), siendo las dosis orales por regla general alrededor de 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 única dosis unitaria variará dependiendo, por ejemplo, del paciente a tratar, del modo de administración particular y de cualesquiera otros fármacos coadministrados. Las unidades de dosificación contendrán por regla general entre alrededor de 10 µg y alrededor de 500 mg de ingrediente activo. Las dosis óptimas pueden establecerse utilizando ensayos normales, 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 u otro agente irritante, dolor, prurito, obesidad o incontinencia urinaria). Las composiciones farmacéuticas empaquetadas incluyen generalmente (i) un recipiente que comprende al menos un modulador de VR1 como se describe en esta memoria, y (ii) instrucciones (v.g., etiquetado o inserto en el envase) 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 memoria pueden utilizarse para alterar la actividad y/o activación de los receptores de capsaicina en una diversidad de contextos, tanto *in vitro* como *in vivo*. En ciertos aspectos, los antagonistas de VR1 pueden utilizarse para inhibir la unión del agonista de un ligando vainilloide (tal como capsaicina y/o RTX) al receptor de capsaicina *in vitro*. En general, tales métodos comprenden la etapa de poner en contacto un receptor de capsaicina con uno o más moduladores de VR1 proporcionados en esta memoria, en presencia de ligando vainilloide en disolución acuosa y en condiciones de otro modo adecuadas para la unión del ligando al receptor de capsaicina. El modulador o moduladores de VR1 están presentes generalmente a una concentración que es suficiente para alterar la unión del ligando vainilloide a VR1 *in vitro* (usando el ensayo proporcionado en el Ejemplo 5) y/o la transducción de señales mediada por VR1 (usando un ensayo proporcionado en el Ejemplo z. El receptor de capsaicina puede estar presente en disolución o suspensión (*v.g.*, en una membrana aislada o preparación celular), 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 uno o más moduladores de VR1 proporcionados en esta memoria en condiciones adecuadas para la unión del o de los moduladores al receptor. El modulador o moduladores de VR1 están presentes generalmente a una concentración que es suficiente para alterar la unión del ligando vainilloide a VR1 *in vitro* y/o la transducción de señales mediada por VR1 como se describe en esta memoria. El receptor puede estar presente en disolución o suspensión, en una preparación de células cultivadas o aisladas.

Por ejemplo, la célula puede ser una célula neuronal.

Como alternativa, la célula puede ser una célula epitelial, tal como una célula epitelial de la vejiga urinaria (célula urotelial) o una célula epitelial de las vías respiratorias. La modulación de la actividad de transducción de señales puede evaluarse detectando 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 detectando una alteración de un síntoma (*v.g.*, dolor, sensación de quemazón, broncoconstricción, inflamación, tos, hipo, prurito, síntomas de la menopausia, incontinencia urinaria o vejiga hiperactiva) de un paciente que está siendo tratado con uno o más moduladores de VR1 proporcionados en esta memoria.

El o los moduladores de VR1 proporcionados en esta memoria se administran preferiblemente a un paciente (*v.g.*, un ser 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.

La presente invención proporciona además el uso de los compuestos de la invención para la fabricación de un medicamento para tratar afecciones sensibles a la modulación de VR1. En el contexto de la presente invención, 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, retrasar o reducir la gravedad de los síntomas) o 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 independencia 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 que resultan de la exposición a estímulos activadores de VR1, dolor, trastornos respiratorios (tales como tos, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, bronquitis crónica, fibrosis quística y rinitis, incluyendo rinitis alérgica, tal como rinitis estacional y perenne, y rinitis no alérgica), depresión, prurito, síntomas de la menopausia, incontinencia urinaria, vejiga hiperactiva, lesión acústica (*v.g.*, de la cóclea), acúfenos, hiperacusia, diabetes y afecciones prediabéticas (*v.g.*, resistencia a insulina o tolerancia a la glucosa), hipo y obesidad, como se describe con mayor detalle más adelante. Las afecciones de este tipo pueden diagnosticarse y monitorizarse utilizando criterios que han sido establecidos en la técnica. Los pacientes pueden incluir seres humanos, animales domésticos de compañía y ganado, con dosificaciones como 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 veces al día o menos. En general, es más preferido un régimen de dosificación de 2 veces al día, siendo particularmente preferida una dosificación de una sola vez al día. Para el tratamiento del dolor agudo, es deseable una única dosis que alcanza rápidamente concentraciones eficaces. Se comprenderá, sin embargo, que el nivel de dosis y el régimen de tratamiento específicos para cualquier paciente particular dependerán de una diversidad de factores, incluyendo 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 vía de administración, y la velocidad 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 monitorizarse

generalmente para determinar la eficacia terapéutica utilizando criterios médicos o veterinarios adecuados para la afección a tratar o prevenir.

Los pacientes que experimentan síntomas que resultan de la exposición a estímulos activadores del receptor 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 espray de pimienta) o un irritante afín, tal como ácido, gas lacrimógeno, agente o agentes infecciosos o contaminante o contaminantes del aire. Los síntomas resultantes (que pueden tratarse utilizando los moduladores de VR1, especialmente antagonistas, proporcionados en esta memoria) pueden incluir, por ejemplo, dolor, bronco–constricción e inflamación.

El dolor que puede tratarse utilizando los moduladores de VR1 proporcionados en esta memoria puede ser crónico o agudo, e incluye, pero sin limitarse a, dolor mediado por los nervios periféricos (especialmente dolor neuropático). Los compuestos proporcionados en esta memoria 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 (dentalgia), dolor de dentadura postiza, neuralgia post–herpética, neuropatía diabética, neuropatía inducida por quimioterapia, distrofia simpática refleja, neuralgia del trigémino, osteoartritis, artritis reumatoide, fibromialgia, síndrome de Guillain–Barre, neuralgia parestésica, síndrome de boca ardiente y/o dolor asociado a daño a los nervios y a la raíz, incluyendo dolor asociado a trastornos de nervios periféricos (v.g., pizamiento de nervios y desgarrar del plexo braquial, amputación, neuropatías periféricas incluyendo neuropatía periférica bilateral, tic doloroso, dolor facial atípico, daño de la raíz del nervio, y aracnoiditis). Afecciones de dolor neuropático adicionales incluyen causalgia (distrofia simpática refleja – RSD, como consecuencia a la lesión de un nervio periférico), neuritis (incluyendo, por ejemplo, neuritis ciática, neuritis periférica, polineuritis, neuritis óptica, neuritis post–febril, neuritis migratoria, neuritis segmental y neuritis de Gombault), neuronitis, neuralgias (v.g., las mencionadas anteriormente, 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, síndromes de dolor miofascial, neuropatía relacionada con SIDA, neuropatía relacionada con MS, dolor del sistema nervioso central (v.g., dolor del tronco cerebral, ciática, y espondilitis anquilosante), y dolor espinal, incluyendo dolor relacionado con lesiones de la médula espinal. El dolor de cabeza, incluyendo los dolores de cabeza que implican actividad de nervios periféricos, también se puede tratar como se describe en esta memoria. Tal dolor incluye, por ejemplo, dolor de cabeza en seno, en racimo (es decir, neuralgia migrañosa) y algunos dolores de cabeza por tensión, migraña, dolor temporomandibular y dolor de senos maxilares. Por ejemplo, los dolores de cabeza migrañosos pueden prevenirse mediante administración de un compuesto proporcionado en esta memoria tan pronto como se experimenta por el paciente un aura pre–migrañosa. Afecciones adicionales que pueden tratarse como se describe en esta memoria incluyen dolores de Charcot, dolores por gases intestinales, dolor de oído, dolor cardiaco, dolor muscular, dolor ocular, dolor orofacial (v.g., odontalgia), dolor abdominal, dolor ginecológico (v.g., dolor menstrual, dismenorrea, dolor asociado a cistitis, dolor del parto, dolor pélvico crónico, proctitis crónica y endometriosis), dorsalgia aguda y crónica (v.g., lumbalgia), gota, dolor cicatrizal, dolor hemorroidal, dolores dispépticos, angina, dolor de raíces nerviosas, neuropatías “no dolorosas”, síndrome de dolor regional complejo, dolor homotópico y dolor heterotópico – incluyendo dolor asociado a carcinoma, a menudo denominado como dolor por 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 episiotomía, dolor por cortes, dolor musculoesquelético, contusiones y huesos rotos, y dolor de quemadura, especialmente hiperalgesia primaria asociada con él). Afecciones dolorosas adicionales que pueden tratarse como se describe en esta memoria incluyen dolor asociado a trastornos inmunológicos como se describe anteriormente, enfermedades autoinmunitarias, trastornos de inmunodeficiencia, sofocos, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad de reflujo esofágico (GERD), síndrome de intestino irritable y/o enfermedad inflamatoria intestinal.

En ciertos aspectos, los moduladores de VR1 proporcionados en esta memoria pueden utilizarse para el tratamiento de dolor mecánico. Tal como se utiliza en esta memoria, la expresión “dolor mecánico” hace referencia a dolor distinto del dolor de cabeza que no es neuropático o un 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; dorsalgia; dolor asociado al cáncer; angina, síndrome de túnel carpiano, y dolor que resulta 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 aparato urinario que pueden tratarse como se describe en esta memoria incluyen incontinencia urinaria (incluyendo incontinencia por rebosamiento, incontinencia urgente e incontinencia por estrés), así como afecciones de vejiga hiperactiva o inestable (incluyendo hiperflexia del detrusor de la vejiga, 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 vía un catéter o dispositivo similar, dando como resultado la inyección directa del

modulador de VR1 en la vejiga. Los compuestos proporcionados en esta memoria pueden utilizarse también como agentes anti-tusivos (para prevenir, aliviar o suprimir la tos, incluyendo tos inducida por medicaciones tales como inhibidores de ACE) y para el tratamiento del hipo, para el tratamiento de los síntomas de la menopausia, tales como sofocos, y para promover la pérdida de peso en un paciente obeso.

5 En otros aspectos, los moduladores de VR1 proporcionados en esta memoria pueden utilizarse en terapia de combinación para el tratamiento de afecciones que implican dolor y/o componentes inflamatorios. Tales afecciones incluyen, por ejemplo, trastornos autoinmunes y respuestas patológicas autoinmunes que se sabe que tienen un componente inflamatorio, incluyendo, pero sin limitarse a, artritis (especialmente artritis reumatoide), psoriasis, enfermedad de Crohn, lupus eritematoso, síndrome de colon irritable, rechazo de injertos de tejidos, y rechazo
10 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.

Dosis adecuadas para el modulador de VR1 en dicha terapia de combinación son generalmente como se ha descrito anteriormente. Las dosis y métodos de administración de los agentes antiinflamatorios 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 antiinflamatorio da como resultado una reducción de la dosis del agente antiinflamatorio requerido para producir un efecto terapéutico (es decir, una disminución en la cantidad mínima terapéuticamente eficaz). Así, preferiblemente, la dosis de agente antiinflamatorio en una combinación o método de tratamiento de combinación es menor que la dosis máxima aconsejada por el fabricante para administración del agente antiinflamatorio sin administración de combinación de un antagonista de VR1. Más preferiblemente, esta dosis 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 antiinflamatorio(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 del agente antiinflamatorio de la combinación.

En ciertas realizaciones preferidas, la administración de combinación de un modulador de VR1 con un agente antiinflamatorio se realiza por empaquetamiento de uno o más moduladores de VR1 y uno o más agentes antiinflamatorios en el mismo envase, sea en recipientes separados dentro del envase o en el mismo contenido como una mezcla de uno o más antagonistas de VR1 y uno o más agentes antiinflamatorios. Mezclas preferidas se formulan para administración oral (v.g., como píldoras, cápsulas, comprimidos o similares). En ciertas realizaciones, el envase comprende una etiqueta que contiene indicaciones que advierten que el uno o más moduladores de VR1 y uno o más agentes antiinflamatorios deben tomarse juntos para el tratamiento de una afección inflamatoria dolorosa.

En otros aspectos, los moduladores de VR1 proporcionados en esta memoria pueden utilizarse en combinación con una o más medicaciones adicionales de alivio del dolor. Algunas de tales medicaciones son también agentes antiinflamatorios, y se enumeran anteriormente. Otras medicaciones de este tipo son agentes analgésicos incluyendo agentes narcóticos, que actúan típicamente sobre uno o más subtipos de receptores de opioides (v.g., μ , κ y/o δ), preferiblemente como agonistas o agonistas parciales. Dichos agentes incluyen opiáceos, derivados de opiáceos, y opioides, así como sales farmacéuticamente aceptables e hidratos de los mismos. Ejemplos específicos de analgésicos narcóticos incluyen, en realizaciones preferidas, alfentanilo, alfaprodina, anileridina, bezitramida, buprenorfina, butorfanol, codeína, diacetildihidromorfina, diacilmorfina, dihidrocodeína, difenoxilato, etilmorfina, fentanilo, heroína, hidrocodona, hidromorfona, isometadona, levometorfanol, levorfano, levorfanol, meperidina, metazocina, metadona, metorfanol, metopón, morfina, nalbufina, extractos de opio, extractos fluidos de opio, opio pulverizado, opio granulado, opio crudo, tintura de opio, oxycodona, oximorfona, paregoric, pentazocina, petidina, fenazozina, piminodina, propoxifeno, racemtorfanol, racemorfano, sulfentanilo, tebaína y sales farmacéuticamente aceptables e hidratos de los agentes anteriores.

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

Otros agentes analgésicos representativos específicos incluyen, por ejemplo, acetaminofeno (paracetamol); ibuprofeno; aspirina y otros NSAIDs descritos anteriormente; antagonistas de NR2B; antagonistas de bradiquinina; agentes contra la migraña; anticonvulsivos tales como oxcarbazepina y carbamazepina; antidepresivos (tales como TCAs, SSRIs, SNRIs, antagonistas de la sustancia P, etc.); bloqueadores espinales; pentazocina/naloxona;

meperidina; levorfanol; buprenorfina; hidromorfoma; fentanilo; sufentanilo; oxicodona; oxicodona/acetaminofeno, nalbufina y oximorfona. Todavía otros agentes analgésicos incluyen agonistas del receptor de CB2, tales como AM 1241, antagonistas del receptor de capsaicina y compuestos que se unen a la subunidad $\alpha 2\delta$ de canales de calcio que se abren y se cierran mediante voltaje, tales como gabapentina y pregabalina.

- 5 Los agentes contra la migraña representativos para uso en combinación con un modulador de VR1 proporcionados en esta memoria incluyen antagonistas de CGRP, ergotaminas y agonistas de 5-HT₁, tales como sumatripán, naratripán, zolmatriptán y rizatriptán.

En aún aspectos adicionales, los moduladores proporcionados en esta memoria se pueden usar, por ejemplo, en el tratamiento de trastornos pulmonares tales como asma, en combinación con uno o más agonistas del receptor beta(2)-adrenérgico o antagonistas del receptor de leucotrienos (v.g., agentes que inhiben el receptor de cisteinil leucotrieno CysLT₁). Los antagonistas de CysLT₁ incluyen montelukast, zafirlukast, y pranlukast.

Para el tratamiento o prevención de tos, un modulador de VR1 como se proporciona en esta memoria se puede usar en combinación con otra medicación diseñada para tratar esta afección, tal como antibióticos, agentes antiinflamatorios, cistinil leucotrienos, antagonistas de histamina, corticosteroides, opioides, antagonistas de NMDA, inhibidores de la bomba de protones, nociceptina, antagonistas de los receptores de neuroquinina (NK1, NK2 y NK3) y bradiquinina (BK1 y BK2), cannabinoides, bloqueadores de los canales dependientes de Na⁺ y activadores de los canales K⁺ dependientes de Ca⁺² de gran conductancia. Los agentes específicos incluyen dexbronfeniramina más pseudoefedrina, loratadina, oximetazolina, ipratropio, albuterol, beclometasona, morfina, codeína, folcodeína y dextrometorfano.

20 La presente invención proporciona además terapia de combinación para el tratamiento de incontinencia urinaria. En tales aspectos, un modulador de VR1 proporcionado en esta memoria se puede usar en combinación con otra medicación diseñada para tratar esta afección, tal como terapia de sustitución de estrógenos, congéneres de progesterona, estimulación eléctrica, bloqueadores de canales de calcio, agentes antiespasmódicos, antagonistas colinérgicos, fármacos antimuscarínicos, antidepresivos tricíclicos, SNRIs, agonistas beta adrenerreceptores, inhibidores de fosfodiesterasa, agentes que abren los canales de potasio, agonistas de nociceptina/orfanina FQ (OP4), antagonistas de neuroquinina (NK1 y NK2), antagonistas de P2X3, fármacos musculotróficos y neuromodulación sacral. Los agentes específicos incluyen oxibutinina, emepronio, tolterodina, flavoxato, flurbiprofeno, tolterodina, dicitlomina, propiverina, propantelina, dicitlomina, imipramina, doxepina, duloxetina, 1-desamino-8-D-arginina vasopresina, antagonistas del receptor muscarínico tales como tolterodina, y agentes anticolinérgicos tales como oxibutinina.

Las dosis adecuadas para el modulador de VR1 dentro de dicha terapia de combinación son generalmente como se ha descrito anteriormente. Las dosis y métodos de administración de otras medicaciones para el 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 dosis de cada agente terapéutico requerida para producir un efecto terapéutico (v.g., la dosis de uno o ambos agentes puede ser menor que ¾, menor que ½, menor que ¼ o menor que 10% de la dosis máxima indicada anteriormente o aconsejada por el fabricante).

Para uso en terapia de combinación, las composiciones farmacéuticas como se describen anteriormente pueden comprender además una o más medicaciones adicionales como se describe anteriormente. En algunas de tales composiciones, la medicación adicional es un analgésico. También se proporcionan en esta memoria preparaciones farmacéuticas envasadas que comprenden uno o más moduladores de VR1 y una o más medicaciones adicionales (v.g., analgésicos) en el mismo envase. Tals preparaciones farmacéuticas envasadas incluyen generalmente (i) un recipiente para contener una composición farmacéutica que comprende al menos un modulador de VR1 como se describe en esta memoria; (ii) un recipiente para contener una composición farmacéutica que comprende al menos una medicación adicional (tal como una medicación para el alivio del dolor y/o antiinflamatoria) como se describe anteriormente, y (iii) instrucciones (v.g., una etiqueta o un inserto de envase) que indica que las composiciones se van a usar simultáneamente, separadamente o secuencialmente para tratar o prevenir una afección sensible a la modulación de VR1 en el paciente (tal como una afección en la que predomina dolor y/o inflamación).

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

En otros aspectos, la presente invención proporciona una diversidad de usos no farmacéuticos *in vitro* e *in vivo* para los compuestos proporcionados 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). Además, los compuestos proporcionados en esta memoria que comprenden un grupo reactivo adecuado (tal como un grupo arilo, carbonilo, nitro o azida) se

pueden usar en estudios de marcaje para fotoafinidad de sitios de unión a receptores. Además, los compuestos proporcionados en esta memoria pueden utilizarse también como controles positivos en ensayos para determinar la actividad de receptores, como patrones para determinar la capacidad de un agente candidato para unirse 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 un solo fotón (SPECT). Tales métodos pueden utilizarse para caracterizar 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 radionúcleo 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 unión). Después de la incubación, se retira el compuesto no unido (v.g., por lavado), y el compuesto unido 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, incluyendo autorradiografía de receptores (cartografiado de receptores) del receptor de capsaicina en células cultivadas o muestras de tejidos pueden realizarse como se ha 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 compuestos proporcionados en esta memoria pueden utilizarse también con una diversidad de métodos de separación de células bien conocidos. Por ejemplo, los moduladores pueden enlazarse a la superficie interior de una placa de cultivo de tejidos u otro soporte, para uso como ligandos de afinidad para la 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, las cuales se analizan luego (o se aíslan) por clasificación de células activada por fluorescencia (FACS).

Los moduladores de VR1 proporcionados en esta memoria se pueden usar adicionalmente en ensayos para la identificación de otros agentes que se unen a receptor de capsaicina. En general, tales ensayos son ensayos de unión por competición estándar, en los cuales el modulador de VR1 marcado unido es desplazado por un compuesto de ensayo. De forma breve, tales ensayos se llevan a cabo: (a) poniendo en contacto receptor de capsaicina con un modulador de VR1 radiomarcado como se describe en esta memoria, en condiciones que permiten la unión del modulador de VR1 al receptor de capsaicina, generando de ese modo modulador de VR1 marcado unido; (b) detectar una señal que corresponde a la cantidad de modulador de VR1 marcado unido, en ausencia de agente de ensayo; (c) poner en contacto el modulador de VR1 marcado unido con un agente de ensayo; (d) detectar una señal que corresponde a la cantidad de modulador de VR1 marcado unido, en presencia de agente de ensayo; y (e) detectar una disminución en la señal detectada en la etapa (d), en comparación con la señal detectada en la etapa (b).

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

EJEMPLOS

Los datos de espectroscopia de masas proporcionados en los siguientes ejemplos es MS por Electropulverización, obtenida en modo de ion positivo con un voltaje de cono de 15 V o 30 V, utilizando un equipo Micromass Time-of-Flight LCT, equipado con una bomba Waters 600, detector de conjunto de fotodiodos Waters 996, automuestreador Gilson 215, y un microinyector Gilson 841. Se utilizó software 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.

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

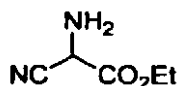
El tiempo total del experimento es 2 minutos de inyección a inyección.

EJEMPLO 1

Preparación de intermedios representativos

Este Ejemplo ilustra la preparación de intermedios representativos útiles en la síntesis de derivados de 2-fenoxipirimidinona.

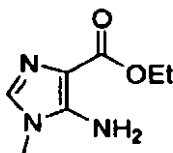
5 A. 3-Nitriloalaninato de etilo



10

Una mezcla de 2-oxima de cianogloxilato de etilo (50 g, 352 mmoles) en 440 ml de agua se trata cuidadosamente con 340 ml de NaHCO₃ acuoso saturado, seguido de adición en porciones de hidrosulfito de sodio (165 g, 950 mmoles). La reacción se calienta entonces hasta una temperatura interna de 35°C durante 35 min. Tras enfriar hasta RT, la reacción se satura con NaCl (aprox. 250 g) y se extrae con CH₂Cl₂ (6 x 150 ml). Los extractos de CH₂Cl₂ combinados se secan (Na₂SO₄), se filtran, y se concentran *a vacío* para dar el compuesto del título como un aceite marrón. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 4,43 (1H, s), 4,34 (2H, q, *J* 7,2), 2,30 (2H, bs), 1,35 (3H, t, *J* 7,2).

B. 5-Amino-1-metil-1H-imidazol-4-carboxilato de etilo

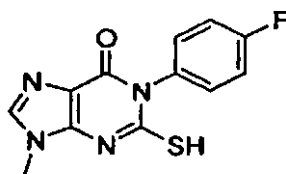


15

Una mezcla de 3-nitriloalaninato de etilo (26,7 g, 208 mmoles) y ortoformiato de trietilo (34,6 ml, 208 mmoles) en 340 ml de acetonitrilo se calienta hasta 90°C y se agita durante 70 min. Tras enfriar hasta RT, se añade metilamina (25,9 ml de una disolución al 33% en peso en EtOH, 208 mmoles), seguido de 20 h de agitación a RT. La mezcla de reacción se concentra entonces *a vacío*, y se disuelve en aprox. 200 ml de HCl 1N. La disolución acuosa se lava con CH₂Cl₂ (3 x 100 ml), se basicifica hasta pH = 9-10 con NaHCO₃ sólido, y se extrae con CH₂Cl₂ (5 x 100 ml). Los extractos de CH₂Cl₂ combinados se secan (Na₂SO₄), se filtran, y se concentran para dar un sólido marrón. El sólido se pone en suspensión en EtOAc, se filtra, y se lava con Et₂O para dar el compuesto del título como un sólido blancuzco. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,03 (1H, s), 4,88 (2H, bs), 4,33 (2H, q, *J* 7,2), 3,45 (3H, s), 1,37 (3H, t, *J* 7,2).

20

C. Hidrocloruro de 1-(4-fluorofenil)-9-metil-2-tioxo-1,2,3,9-tetrahidro-6H-purin-6-ona



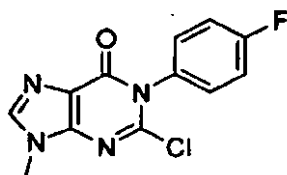
25

Se agitan 5-amino-1-metil-1H-imidazol-4-carboxilato de etilo (8,45 g, 0,05 moles) e isotiocianato de 4-fluorofenilo (7,65 g, 0,05 moles) en piridina (125 ml) a 45°C durante 20 h. La mezcla de reacción se concentra a vacío y se diluye mediante adición de agua enfriada con hielo. La mezcla de reacción se extrae con CH₂Cl₂ (2 x 250 ml), se lava con agua (200 ml) y se seca sobre MgSO₄. El filtrado se evapora *a vacío* para dar intermedio bruto como un aceite viscoso naranja rojizo. El aceite se pone en suspensión en disolución acuosa al 1% de hidróxido de sodio (300 ml) y se calienta a 90°C durante 20 h. La mezcla de reacción se enfría, y el sólido se filtra. El filtrado se evapora *a vacío* hasta un volumen reducido (100 ml). La mezcla se acidifica usando HCl concentrado hasta pH 4,0 y se deja reposar a RT toda la noche. El sólido amarillo que se separa se filtra y se seca a 70°C para producir el compuesto del título. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,8 (1 H, s), 7,2-7,4 (4H, m), 3,74 (3H, s).

30

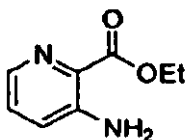
35

D. 2-Cloro-1-(4-fluorofenil)-9-etil-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona



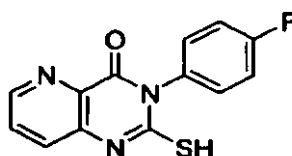
5 Se suspende hidrocloreto de 1-(4-fluorofenil)-9-metil-2-tioxo-1,2,3,9-tetrahidro-6H-purin-6-ona (6,5 g, 0,021 moles) en gran exceso de oxicluro de fósforo (150 ml) y se calienta a 135°C durante 40 h. La mezcla de reacción se enfría, se evapora *a vacío*, y se destila azeotrópicamente dos veces con tolueno. El aceite marrón pegajoso resultante se disuelve en DCM (200 ml), y después se neutraliza con NaHCO₃ saturado (acuoso). La capa acuosa se extrae con DCM (2 x 200 ml) y se seca (MgSO₄). El extracto seco se filtra y se concentra a vacío para producir producto bruto como un sólido marrón claro. El producto bruto se purifica mediante cromatografía en columna ultrarrápida usando 1-2,5% de MeOH/CH₂Cl₂ para producir el compuesto del título como un sólido blanco. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,75 (1H, s), 7,2-7,35 (4H, m), 3,85 (3H, s).

10 E. 3-Aminopiridin-2-carboxilato de etilo



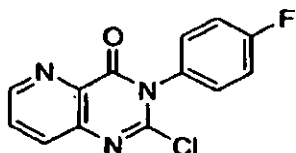
15 Una mezcla de ácido 3-aminopiridin-2-carboxílico (6,4 g, 46,3 mmoles) en 26 ml de EtOH y 8 ml de ácido sulfúrico concentrado se calienta a reflujo durante 2 días. Tras enfriar, la mezcla se concentra a alrededor de 15-20 ml y se vierte en 20 g de hielo. La mezcla se basicifica hasta pH 8-9 con NH₄OH concentrado mientras se enfría en un baño de hielo. El precipitado marrón resultante se separa por filtración, y el filtrado se extrae con éter (4 x 60 ml). Los extractos etéreos combinados se lavan con salmuera (4 x 60 ml), se secan (Na₂SO₄), se filtran, y se evaporan para dar un sólido amarillo/marrón. Este sólido se combina con el procedente de la filtración anterior, y el conjunto se tritura con éter frío para dar el compuesto del título como un sólido marrón claro. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,08 (1H, m), 7,21 (1H, m), 7,03 (1H, m), 5,74 (2H, bs), 4,44 (2H, q, J 7,2, 6,9), 1,45 (3H, t, J 6,9).

20 F. 3-(4-Fluorofenil)-2-tioxo-2,3-dihidropirido[3,2-d]pirimidin-4(1H)-ona



25 Una mezcla de 3-aminopiridin-2-carboxilato de etilo (2,0 g, 12,0 mmoles) e isotiocianato de 4-fluorofenilo (1,84 g, 12,0 mmoles) en 7 ml de piridina anhidra se agita a 45°C durante 21 h. Tras enfriar, la piridina se evapora *a vacío*, y se añade agua con hielo al residuo. La mezcla resultante se pone en suspensión en EtOAc y se filtra para dar el compuesto del título como un sólido blanco. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,59 (1H, m), 7,79 (2H, m), 7,33 (4H, m).

G. 2-Cloro-3-(4-fluorofenil)pirido[3,2-d]pirimidin-4(3H)-ona



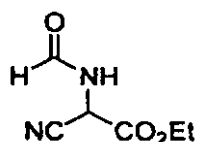
30 Una mezcla de 3-(4-fluorofenil)-2-tioxo-2,3-dihidropirido[3,2-d]pirimidin-4(1H)-ona (2,6 g, 9,5 mmoles) en 30 ml de POCl₃ se calienta hasta 135°C y se agita durante 2 días. Tras enfriar hasta RT, el POCl₃ en exceso se elimina *a vacío*, y el residuo se destila azeotrópicamente dos veces con tolueno. La mezcla de aceite marrón pegajoso/sólido resultante se disuelve en CH₂Cl₂ y se neutraliza hasta pH 7-8 con NaHCO₃ saturado. Las capas se separan, y la capa de CH₂Cl₂ se seca (Na₂SO₄), se filtra, y se evapora para dar un sólido pegajoso marrón. La purificación mediante cromatografía en columna (gradiente desde CH₂Cl₂ hasta 20% de EtOAc/CH₂Cl₂) produce el compuesto

del título como un sólido blancuzco. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,91 (1H, m), 8,05 (1H, m), 7,74 (1H, m), 7,28 (4H, m).

H. Anhídrido fórmico acético

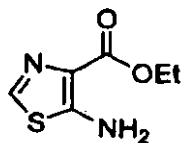
5 Se añaden anhídrido acético (35,94 g, 352 mmoles) y ácido fórmico (16,20 g, 352 mmoles) a un matraz de fondo redondo, y se calienta a 55°C durante 3 h. La mezcla de reacción se usa en el Ejemplo 11 sin purificación adicional.

I. N-Formil-3-nitriloalaninato de etilo



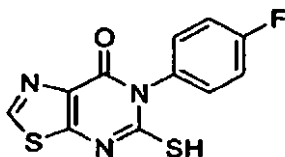
10 Se disuelve 3-nitriloalaninato de etilo (26,9 g, 210 mmoles) en éter anhidro (200 ml), y se enfría en un baño de hielo/agua. Se añade gota a gota anhídrido fórmico acético (preparado como una mezcla como se describe anteriormente). Cuando se termina la adición, la mezcla de reacción se deja calentar hasta RT y se agita a RT toda la noche. La mayoría de los volátiles se eliminan a vacío, y los disolventes que quedan se eliminan mediante co-evaporación con tolueno (100 ml x 4). El aceite rojo obtenido precipita al raspar en éter, y los sólidos resultantes se recrystalizan en éter para dar el compuesto del título como un sólido blanco. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) 8,32 (1H, s), 7,26 (1H, s), 6,46 (1H, bs.), 5,56 (1H, d, J 7,8), 4,39 (2H, q), 1,37 (3H, t).

15 J. 5-Amino-1,3-tiazol-4-carboxilato de etilo



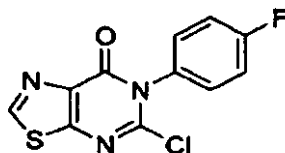
20 Se disuelve N-formil-3-nitriloalaninato de etilo (11,22 g, 71,86 mmoles) en benceno anhidro (220 ml). Tras la adición de reactivo de Lawesson (14,53 g, 35,93 mmoles), la suspensión se pone a reflujo durante 24 h. La mayoría del disolvente se elimina a vacío, y el residuo rojo viscoso se absorbe en gel de sílice y se carga en una columna de gel de sílice (disolvente de elución: EtOAc:hexanos = 50:50). El compuesto del título se obtiene como sólidos amarillos. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) 7,87 (1H, s), 7,26 (1H, s), 6,01 (2H, s ancho), 4,38 (2H, q), 1,41 (3H, t).

K. Hidrocloruro de 6-(4-fluorofenil-5-mercapto[1.3]tiazolo[5.4-d]pirimidin-7(6H)-ona



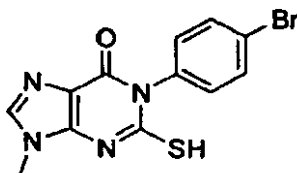
25 Se añaden 5-amino-1,3-tiazol-4-carboxilato de etilo (1,05 g, 6,10 mmoles) e isotiocianato de 4-fluorofenilo (0,93 g, 6,10 mmoles) a piridina (3,5 ml), y se calienta a 45°C durante 15 h. La mayoría del disolvente se elimina a vacío, y los sólidos amarillos resultantes se disuelven en CH₂Cl₂ (150 ml) y se lavan con H₂O (20 ml x 2) y salmuera (20 ml x 2). La fase de CH₂Cl₂ se seca sobre MgSO₄, y el disolvente se elimina a presión reducida. El residuo resultante se trata con disolución al 1% de NaOH (37 ml) y se calienta a 90°C durante 15 h. La mezcla de reacción se filtra, y el filtrado se ajusta hasta pH 3 mediante adición de HCl concentrado. La mayoría del agua se elimina a vacío, y el sólido amarillo que se separa se filtra y se seca para dar el compuesto del título como un sólido amarillo. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) 8,90 (1H, s), 7,31 (4H, m).

L. 5-Cloro-6-(4-fluorofenil)[1,3]tiazolo[5,4-d]pirimidin-7(6H)-ona



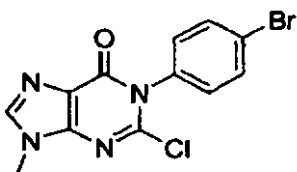
5 Se añade hidrocloreto de 6-(4-fluorofenil)-5-mercapto[1,3]tiazolo[5,4-d]pirimidin-7(6H)-ona (0,2 g, 0,633 mmoles) a POCl₃ (10 ml), y la disolución resultante se pone a reflujo a 135°C durante 41 h. La mayoría de los volátiles se eliminan a presión reducida, y el disolvente que queda se coevapora con tolueno (50 ml x 3). El sólido oscuro obtenido se disuelve en CH₂Cl₂ (200 ml) y se lava con disolución saturada de NaHCO₃ (100 ml x 5), con salmuera (50 ml x 2), y se seca sobre MgSO₄. Tras eliminar el disolvente, la cromatografía en columna en gel de sílice (EtOAc:hexanos = 50:50) produce el compuesto del título como un sólido amarillo. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) 8,88 (1H, s), 7,26 (4H, m).

M. Hidrocloreto de 1-(4-bromofenil)-2-mercapto-9-metil-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona



10 Se añaden 5-amino-1-metil-1H-imidazol-4-carboxilato de etilo (3,50 g, 20,69 mmoles) e isotiocianato de 4-bromofenilo (4,43 g, 20,69 mmoles) a piridina (12 ml). La disolución se calienta a 45°C durante 3 h. La mayoría del disolvente se elimina a vacío, y el sólido resultante se disuelve en CH₂Cl₂ (300 ml). La disolución de CH₂Cl₂ se lava con agua (30 ml x 2), con salmuera (30 ml x 2), se seca sobre MgSO₄, y se concentra a vacío. El sólido amarillo resultante se trata con disolución acuosa al 1% de NaOH (125 ml) y se calienta a 90°C durante 18 h. La mezcla de reacción se filtra, y el filtrado se ajusta hasta pH 3 mediante adición de HCl concentrado. La mayoría del agua se elimina a presión reducida. El sólido resultante se recoge mediante filtración, el sólido se destila azeotrópicamente con tolueno (30 ml x 3) para dar el compuesto del título como un sólido amarillo. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) 8,10 (1H, s), 7,65 (2H, d), 7,14 (2H, d), 3,85 (3H, s).

N. 1-(4-Bromofenil)-2-cloro-9-metil-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona

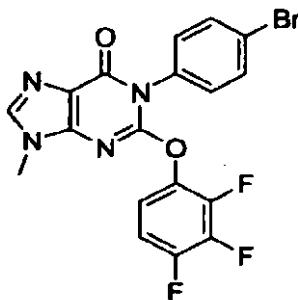


20 Se añade hidrocloreto de 1-(4-bromofenil)-2-mercapto-9-metil-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona (2,05 g, 5,49 mmoles) a POCl₃ (87 ml), y la disolución resultante se pone a reflujo a 135°C durante 38 h. La mayoría de los volátiles se eliminan a vacío, y los disolventes que quedan se co-evaporan con tolueno (50 ml x 3). El sólido oscuro resultante se disuelve en CH₂Cl₂ (300 ml), se lava con disolución saturada de NaHCO₃ (100 ml x 5), con salmuera (50 ml x 2), y se seca sobre MgSO₄. Tras eliminar el disolvente a vacío, la cromatografía en columna en gel de sílice (EtOAc:hexanos = 50:50) da el compuesto del título como un sólido amarillo. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) 7,51 (1H, s), 7,67 (2H, d), 7,14 (2H, d), 3,83 (3H, s); m/z (ES⁺) 340,90 (M⁺).

EJEMPLO 2

Síntesis de derivados de 2-fenoxipirimidinona representativos

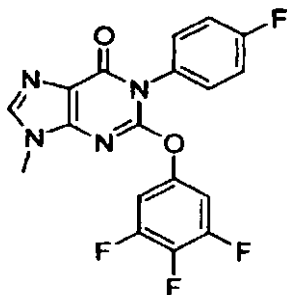
30 A. 1-(4-Bromofenil)-9-metil-2-(2,3,4-trifluorofenoxi)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona (Compuesto 1)



Se añaden 1-(4-bromofenil)-2-cloro-9-metil-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona (150 mg, 0,4417 mmoles) y 2,3,4-trifluorofenol (130,8 mg, 0,8834 mmoles) a un vial, y la mezcla cerrada herméticamente se calienta con agitación a 140°C durante 23 h. La cromatografía en columna en gel de sílice (MeOH:CH₂Cl₂ = 0,5:99,5) da el compuesto del título como un sólido blanco. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) 7,66 (3H, m), 7,24 (2H, m), 7,00 (2H, m), 3,58 (3H, s). MS (M+1): 451,08; R_T = 1,31 min. La IC₅₀ determinada como se describe en el Ejemplo 6 es 100 nanomolar o inferior.

5

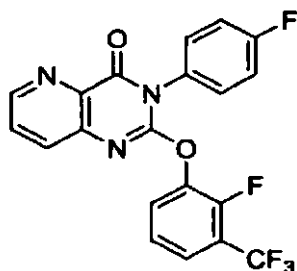
B. 1-(4-Fluorofenil)-9-metil-2-(3,4,5-trifluorofenoxi)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona (Compuesto 2)



Una mezcla de 2-cloro-1-(4-fluorofenil)-9-etil-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona (55,6 mg, 0,20 mmoles) y 3,4,5-trifluorofenol (0,40 mmoles) se calienta hasta 140°C durante 36 h. Tras enfriar hasta RT, la mezcla bruta se purifica mediante HPLC preparativa para dar el compuesto del título como un sólido blanco. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) 7,98 (1H, s), 7,55 (2H, m), 7,45 (2H, m), 7,34 (2H, m), 3,53 (3H, s). m/z = 391,05 (M+1); R_T = 0,78 min.

10

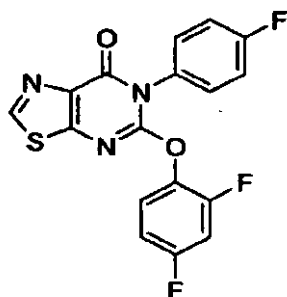
C. 3-(4-Fluorofenil)-2-[2-fluoro-3-(trifluorometil)fenoxi]pirido[3,2-d]pirimidin-4(3H)-ona (Compuesto 3)



Una mezcla de 2-cloro-3-(4-fluorofenil)pirido[3,2-d]pirimidin-4(3H)-ona (55 mg, 0,20 mmoles) y 2-fluoro-3-trifluorometilfenol (50 ml, 0,40 mmoles) se calienta hasta 140°C durante 18 horas. Tras enfriar hasta RT, la mezcla bruta se purifica mediante cromatografía en columna (gradiente desde CH₂Cl₂ hasta 20% de EtOAc/CH₂Cl₂) para dar el compuesto del título como un sólido blanco. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) 8,71 (1H, m), 7,83 (2H, m), 7,70 (4H, m), 7,45 (3H, m). MS (M+1): 420,07; R_T = 1,13 min.

15

D. 5-(2,4-Difluorofenoxi)-6-(4-fluorofenil)[1,3]tiazolo[5,4-d]pirimidin-7(6H)-ona (Compuesto 4)

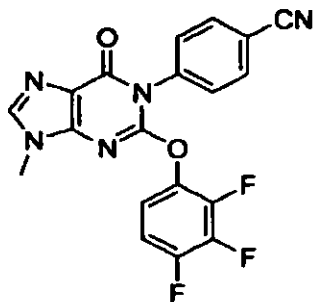


20

Se añaden 5-cloro-6-(4-fluorofenil)[1,3]tiazolo[5,4-d]pirimidin-7(6H)-ona (0,2 mmoles) y 2,4-difluorofenol (0,4 mmoles) a un vial, y la mezcla cerrada herméticamente se calienta con agitación a 140°C durante 48 h. La cromatografía en columna en gel de sílice (MeOH:CH₂Cl₂ = 0,5:99,5) da el compuesto del título como un sólido ligeramente amarillo. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) 8,70 (1H, s), 7,36 (2H, m), 7,26 (2H, m), 7,14 (1H, m), 6,94 (2H, m). MS (M+1): 376,03; R_T = 1,33 min.

25

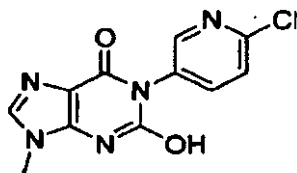
E. 4-[9-Metil-6-oxo-2-(2,3,4-trifluorofenoxi)-6,9-dihidro-1H-purin-1-il]benzonitrilo (Compuesto 5)



5 Se añaden 1-(4-bromofenil)-9-metil-2-(2,3,4-trifluorofenoxi)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona (68 mg, 0,1507 mmoles), $Zn(CN)_2$ (10,6 mg, 0,0904 mmoles), $Pd_2(dba)_3$ (4,1 mg, 0,0045 mmoles) y 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno (5,0 mg, 0,0090 mmoles) a DMF (1,2 ml) y H_2O (0,012 ml). La mezcla se purga con N_2 durante 3 min., y después se calienta a $120^\circ C$ durante 18 h. La mezcla se hace pasar a través de celita. Se añade agua (30 ml), y la mezcla resultante se extrae con CH_2Cl_2 (50 ml x 4). Después de secar el CH_2Cl_2 sobre $MgSO_4$, el disolvente se elimina a vacío. El producto bruto se purifica mediante cromatografía en columna ($MeOH:CH_2Cl_2 = 2:98$) para producir el compuesto del título como un sólido marrón. RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) 7,86 (2H, d, J8), 7,65 (1H, s), 7,53 (2h, d, J8), 6,95 (2H, m), 3,59 (3H, s). MS (M+1): 398,03; $R_T = 1,22$ min.

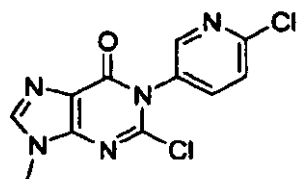
10 F. 1-(6-Cloropiridin-3-il)-9-metil-2-(3,4,5-trifluorofenoxi)-1H-purin-6(9H)-ona (Compuesto 6)

Etapa 1. 2-Hidroxi-1-(6-cloropiridin-3-il)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona



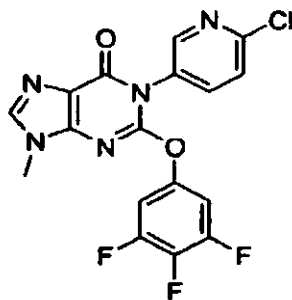
15 Se suspenden 5-amino-1-metil-1H-imidazol-4-carboxilato de metilo (1,0 g, 0,006 moles), 2-cloro-5-isocianopiridina (1,0 g, 0,006 moles) y DMAP (0,4 g, 0,003 moles) en EtOAc (150 ml), y la mezcla de reacción resultante se pone a reflujo toda la noche. La mezcla de reacción se filtra, se lava con EtOAc, y se concentra a vacío. El residuo blanco se suspende en NaOH acuoso al 1% (53 ml) y se agita a $90^\circ C$ durante 20 h. La mezcla de reacción se neutraliza con HCl 6N y se extrae con DCM para producir el compuesto del título.

Etapa 2. 2-Cloro-1-(6-cloropiridin-3-il)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona



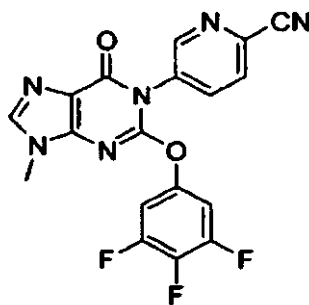
20 La 2-hidroxi-1-(6-cloropiridin-3-il)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona procedente de la reacción anterior se suspende en un gran exceso de oxicloruro de fósforo (150 ml) y se calienta a $135^\circ C$ durante 24 h. La mezcla de reacción se enfría, se evapora a vacío, y se añade tolueno adicional y se evapora (2x) a presión reducida. El aceite marrón pegajoso resultante se disuelve en DCM (200 ml), y después se neutraliza con $NaHCO_3$ saturado (acuoso). La capa acuosa se extrae con DCM (2 x 200 ml) y se seca ($MgSO_4$). El extracto seco se filtra y se concentra a vacío para producir
25 producto bruto como un sólido marrón claro. El producto bruto se purifica mediante cromatografía en columna ultrarrápida usando 1-2,5% de $MeOH/CH_2Cl_2$ para producir el compuesto del título como un sólido blanco. RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,33 (s, 1H), 7,78 (s, 1H), 7,58 (d, $J = 6$ Hz, 1H), 7,53 (d, $J = 6$ Hz, 1H).

Etapa 3. 1-(6-Cloropiridin-3-il)-9-metil-2-(3,4,5-trifluorofenoxi)-1H-purin-6(9H)-ona (Compuesto 6)



Se añade KO^tBu 1,0 M en isopropanol (2 ml) a la disolución de 3,4,5-trifluorofenol (0,29 g, 1,86 mmoles) y se agita durante 20 minutos a RT. A la disolución de fenóxido resultante se añade una disolución de 2-cloro-1-(6-cloropiridin-3-il)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona (0,5 g, 1,69 mmoles) en dimetilacetamida (3 ml), y la mezcla resultante se agita toda la noche a 50°C. La mezcla de reacción resultante se enfría, se paraliza con disolución saturada de NH₄Cl, se extrae con DCM (2 x 50 ml) y se seca (Na₂SO₄). La capa orgánica se filtra y se concentra a vacío para producir el producto bruto como un sólido marrón claro. El producto bruto se purifica adicionalmente mediante cromatografía en columna ultrarrápida usando 5% de MeOH/CH₂Cl₂ para producir el compuesto del título como un sólido blanco. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 8,41 (s, 1H), 7,55-7,81 (m, 2H), 7,4 (brs, 1H), 6,71-7,02 (m, 2H), 3,85 (s, 3H). MS (M+1): 408,04; R_T = 1,48 min. La IC₅₀ determinada como se describe en el Ejemplo 6 es 100 nanomolar o inferior.

G. 5-(9-Metil-6-oxo-2-(3,4,5-trifluorofenoxy)-6H-purin-1(9H)-il)picolinonitrilo (Compuesto 7)



Se añaden 1-(6-cloropiridin-3-il)-9-metil-2-(3,4,5-trifluorofenoxy)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona (0,3 g, 0,73 mmoles), Zn(CN)₂ (0,43 mg, 3,65 mmoles), Pd₂(dba)₃ (0,07 g, 0,073 mmoles) y DPPF (0,04 g, 0,073 mmoles) a DMF (3 ml). La mezcla se purga con N₂ durante 3 min., y después se calienta a 120°C durante 18 h. Se añade agua (20 ml), y la mezcla resultante se extrae con DCM (2 x 20 ml). La capa orgánica se hace pasar a través de celita y Na₂SO₄, y el disolvente se elimina a vacío. El producto bruto se purifica mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (MeOH:CH₂Cl₂ = 2:98) para producir el compuesto del título como un sólido blanco. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 8,71 (s, 1H), 7,90 (s, 2H), 7,68 (s, 1H), 7,25 (s, 2H), 6,85-6,89 (m, 2H), 3,65 (s, 3H, s). MS (M+1): 399,07; R_T = 1,41 min. La IC₅₀ determinada como se describe en el Ejemplo 6 es 100 nanomolar o inferior.

EJEMPLO 3

Derivados de 2-fenoxipirimidinona representativos adicionales

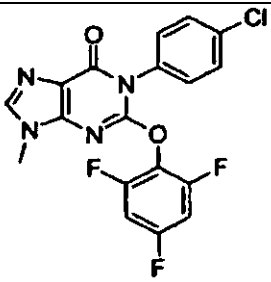
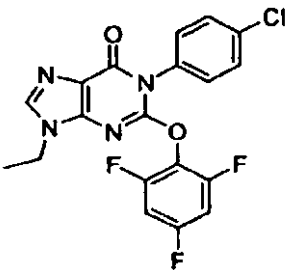
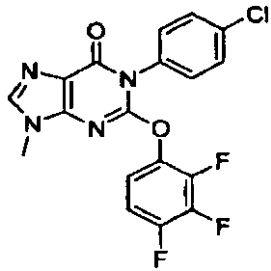
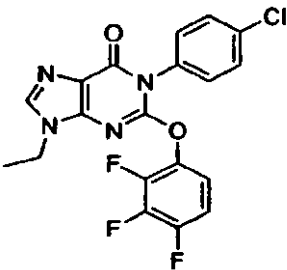
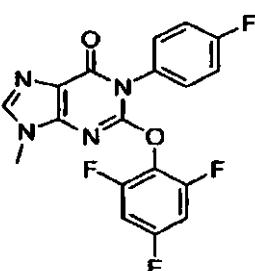
Utilizando modificaciones habituales, los materiales de partida pueden modificarse y pueden emplearse etapas adicionales para producir otros compuestos proporcionados en esta memoria. Los compuestos enumerados en la Tabla I se prepararon utilizando dichos métodos. En la columna marcada "IC₅₀", un * indica que la IC₅₀ determinada como se describe en el Ejemplo 6 es 100 nanomolar o menos (es decir, la concentración de dichos compuestos que se requiere para proporcionar una disminución del 50% en la respuesta de fluorescencia de las células expuestas a una IC₅₀ de capsaicina es 100 nanomolar o menos). Los datos de espectroscopia de masas obtenidos como se describe anteriormente se presentan como M+1 en la columna encabezada "MS", y los tiempos de retención se proporcionan en la columna encabezada "R_T", en minutos.

Tabla I

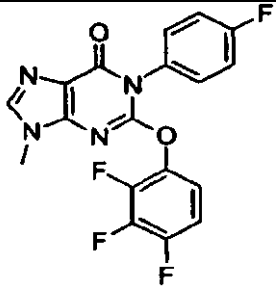
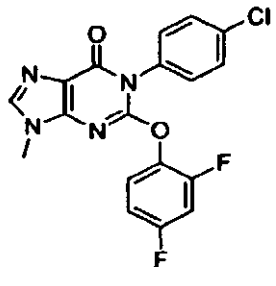
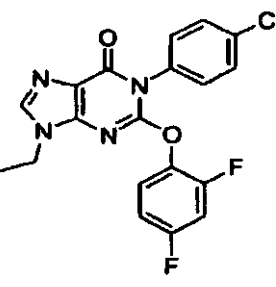
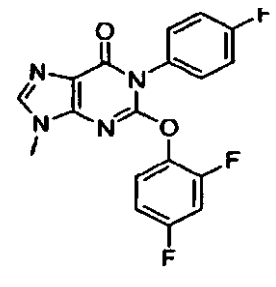
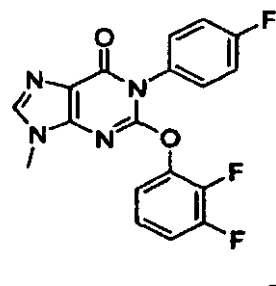
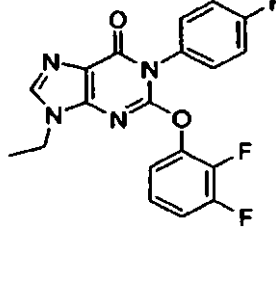
Derivados de 2-fenoxipirimidinona representativos

Compuesto	Nombre	MS	R _{XT}	IC ₅₀
-----------	--------	----	-----------------	------------------

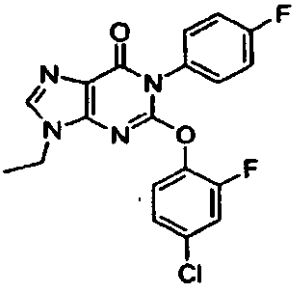
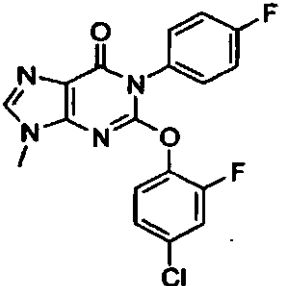
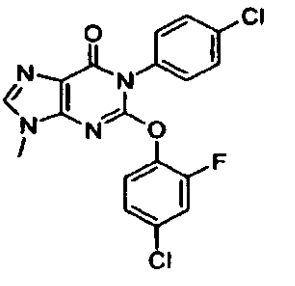
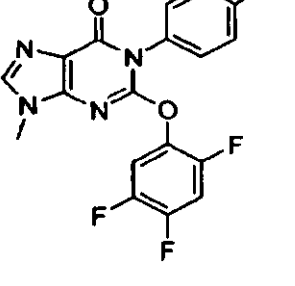
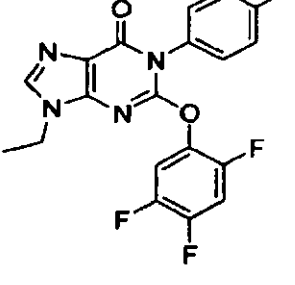
ES 2 399 928 T3

Compuesto	Nombre	MS	R _{XT}	IC ₅₀
	1-(4-clorofenil)-9-metil-2-(2,4,6-trifluorofenoxi)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona	406,99	1,27	*
	9-etil-1-(4-fluorofenil)-2-(2,4,6-trifluorofenoxi)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona	405,03	1,25	*
	1-(4-clorofenil)-9-metil-2-(2,3,4-trifluorofenoxi)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona	407,00	1,28	*
	9-etil-1-(4-fluorofenil)-2-(2,3,4-trifluorofenoxi)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona	405,04	1,26	*
	1-(4-fluorofenil)-9-metil-2-(2,4,6-trifluorofenoxi)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona	391,03	1,23	*

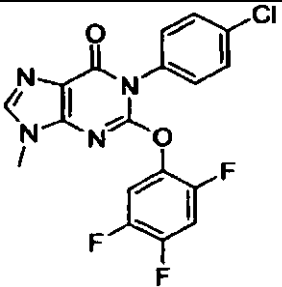
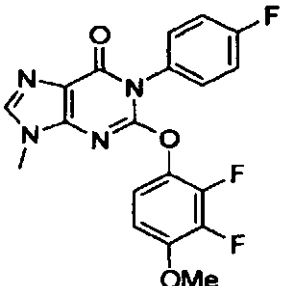
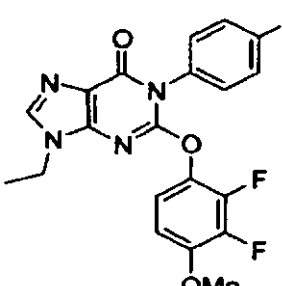
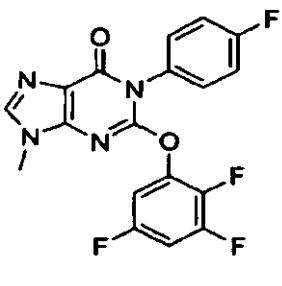
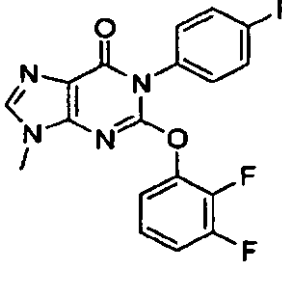
ES 2 399 928 T3

Compuesto	Nombre	MS	R _{XT}	IC ₅₀
	1-(4-fluorofenil)-9-metil-2-(2,3,4-trifluorofenoxi)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona	391,04	1,24	*
	1-(4-clorofenil)-2-(2,4-difluorofenoxi)-9-metil-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona	389,02	1,25	*
	2-(2,4-difluorofenoxi)-9-etil-1-(4-fluorofenil)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona	387,06	1,24	*
	2-(2,4-difluorofenoxi)-1-(4-fluorofenil)-9-metil-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona	373,03	1,22	*
	2-(2,3-difluorofenoxi)-1-(4-fluorofenil)-9-metil-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona	373,05	1,22	*
	2-(2,3-difluorofenoxi)-9-etil-1-(4-fluorofenil)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona	387,05	1,24	*

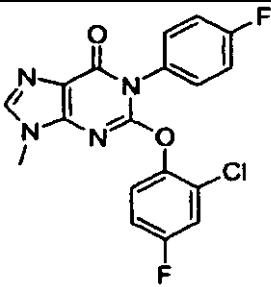
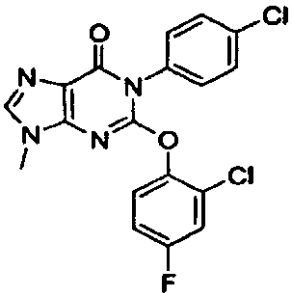
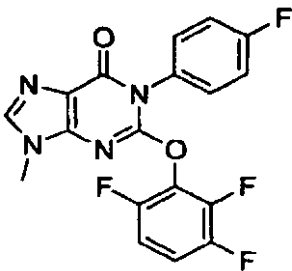
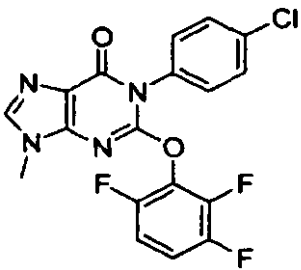
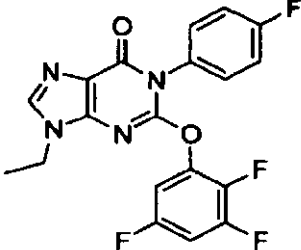
ES 2 399 928 T3

Compuesto	Nombre	MS	R _{XT}	IC ₅₀
	2-(4-cloro-2-fluorofenoxi)-9-etil-1-(4-fluorofenil)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona	403,00	1,28	*
	2-(4-cloro-2-fluorofenoxi)-1-(4-fluorofenil)-9-metil-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona	389,00	1,26	*
	2-(4-cloro-2-fluorofenoxi)-1-(4-clorofenil)-9-metil-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona	404,96	1,3	*
	1-(4-fluorofenil)-9-metil-2-(2,4,5-trifluorofenoxi)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona	391,07	1,18	*
	9-etil-1-(4-fluorofenil)-2-(2,4,5-trifluorofenoxi)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona	405,09	1,11	*

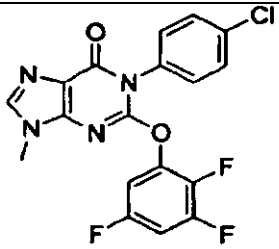
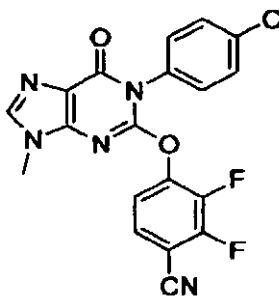
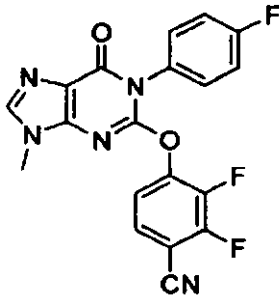
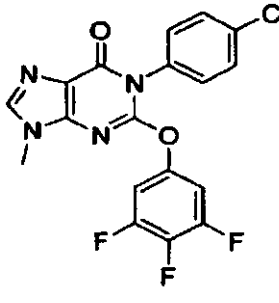
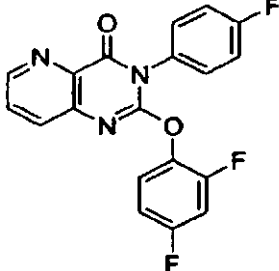
ES 2 399 928 T3

Compuesto	Nombre	MS	R _{XT}	IC ₅₀
	1-(4-clorofenil)-9-metil-2-(2,4,5-trifluorofenoxi)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona	407,04	1,3	*
	2-(2,3-difluoro-4-metoxifenoxi)-1-(4-fluorofenil)-9-metil-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona	403,09	0,89	*
	2-(2,3-difluoro-4-metoxifenoxi)-9-etil-1-(4-fluorofenil)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona	417,11	0,56	*
	1-(4-fluorofenil)-9-metil-2-(2,3,5-trifluorofenoxi)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona	391,07	1,21	*
	1-(4-clorofenil)-2-(2,3-difluorofenoxi)-9-metil-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona	389,05	1,26	*

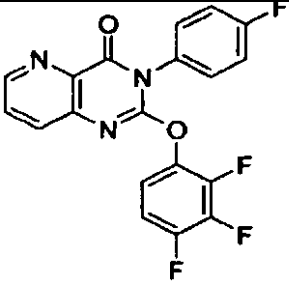
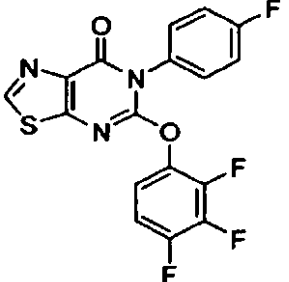
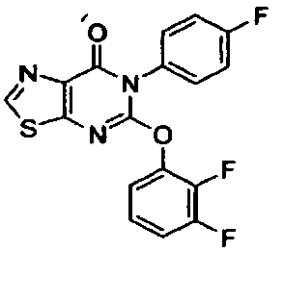
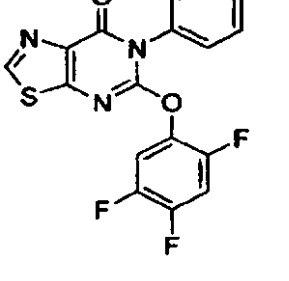
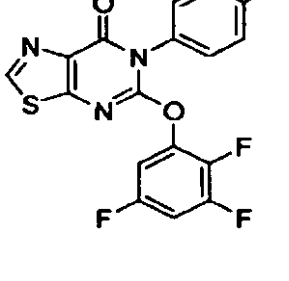
ES 2 399 928 T3

Compuesto	Nombre	MS	R _{XT}	IC ₅₀
	2-(2-cloro-4-fluorofenoxi)-1-(4-fluorofenil)-9-metil-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona	389,05	1,22	*
	2-(2-cloro-4-fluorofenoxi)-1-(4-clorofenil)-9-metil-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona	405,02	0,6	*
	1-(4-fluorofenil)-9-metil-2-(2,3,6-trifluorofenoxi)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona	391,07	1,18	*
	1-(4-clorofenil)-9-metil-2-(2,3,6-trifluorofenoxi)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona	407,04	0,62	*
	9-etil-1-(4-fluorofenil)-2-(2,3,5-trifluorofenoxi)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona	405,09	0,72	*

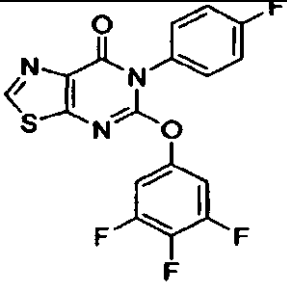
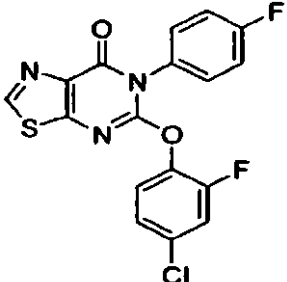
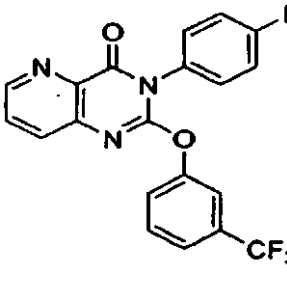
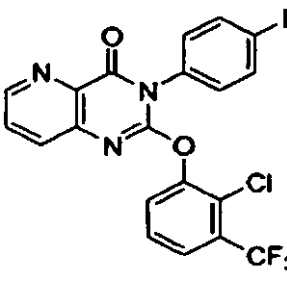
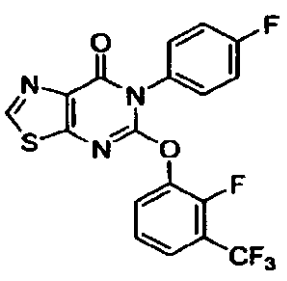
ES 2 399 928 T3

Compuesto	Nombre	MS	R _{XT}	IC ₅₀
	1-(4-clorofenil)-9-metil-2-(2,3,5-trifluorofenoxi)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona	407,04	0,69	*
	4-[[1-(4-clorofenil)-9-metil-6-oxo-6,9-dihidro-1H-purin-2-il]oxi]-2,3-difluorobenzonitrilo	414,06	1,25	*
	2,3-difluoro-4-[[1-(4-fluorofenil)-9-metil-6-oxo-6,9-dihidro-1H-purin-2-il]oxi]benzonitrilo	398,07	1,22	*
	1-(4-clorofenil)-9-metil-2-(3,4,5-trifluorofenoxi)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona	407,04	1,39	*
	2-(2,4-difluorofenoxi)-3-(4-fluorofenil)pirido[3,2-d]pirimidin-4(3H)-ona	370,11	1,26	*

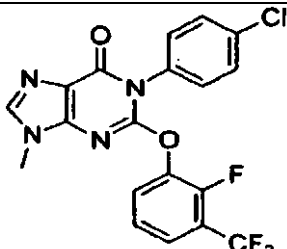
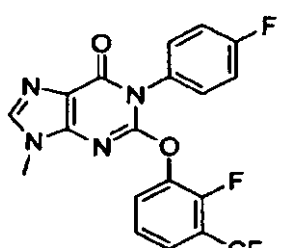
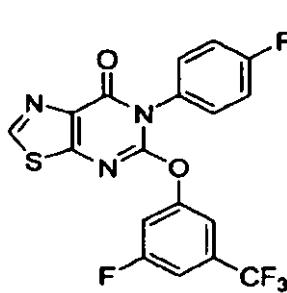
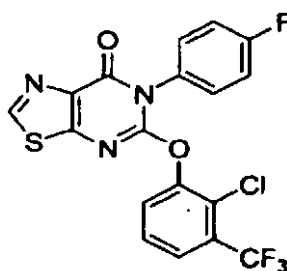
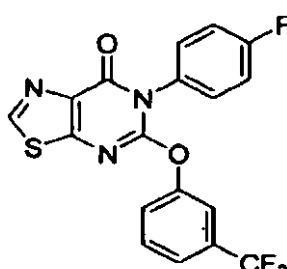
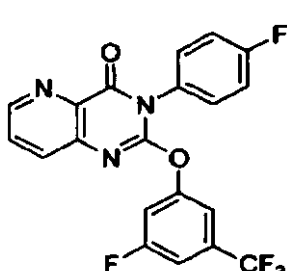
ES 2 399 928 T3

Compuesto	Nombre	MS	R _{XT}	IC ₅₀
	3-(4-fluorofenil)-2-(2,3,4-trifluorofenoxi)pirido[3,2-d]pirimidin-4-(3H)-ona	388,09	1,3	*
	6-(4-fluorofenil)-5-(2,3,4-trifluorofenoxi)[1,3]tiazolo[5,4-d]-pirimidin-7(6H)-ona	394,02	1,39	*
	5-(2,3-difluorofenoxi)-6-(4-fluorofenil)-[1,3]tiazolo[5,4-d]pirimidin-7(6H)-ona	376,02	1,27	*
	6-(4-fluorofenil)-5-(2,4,5-trifluorofenoxi)[1,3]tiazolo[5,4-d]pirimidin-7(6H)-ona	394,02	0,66	*
	6-(4-fluorofenil)-5-(2,3,5-trifluorofenoxi)[1,3]tiazolo[5,4-d]pirimidin-7(6H)-ona	394,01	1,29	*

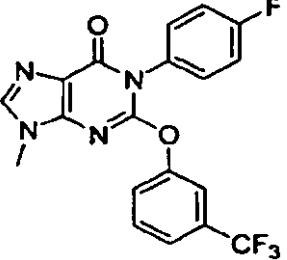
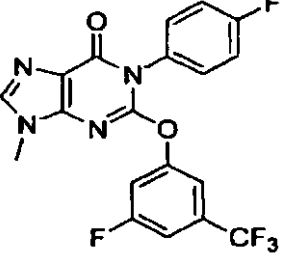
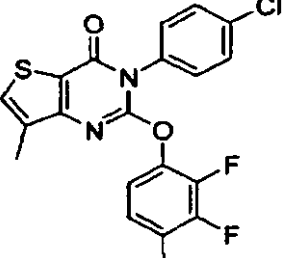
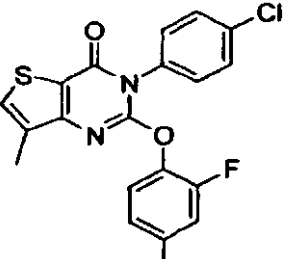
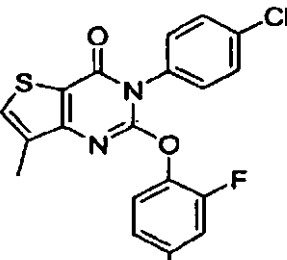
ES 2 399 928 T3

Compuesto	Nombre	MS	R _{XT}	IC ₅₀
	6-(4-fluorofenil)-5-(3,4,5-trifluorofenoxi)[1,3]-tiazolo[5,4-d]pirimidin-7(6H)-ona	394,02	1,41	*
	5-(4-cloro-2-fluorofenoxi)-6-(4-fluorofenil)[1,3]-tiazolo[5,4-d]pirimidin-7-(6H)-ona	392,00	1,09	*
	3-(4-fluorofenil)-2-[3-(trifluorometil)fenoxi]pirido[3,2-d]pirimidin-4(3H)-ona	402,08	1,44	
	2-[2-cloro-3-(trifluorometil)fenoxi]-3-(4-fluorofenil)pirido[3,2-d]pirimidin-4(3H)-ona	436,04	0,51	
	6-(4-fluorofenil)-5-[2-fluoro-3-(trifluorometil)fenoxi][1,3]tiazolo[5,4-d]pirimidin-7(6H)-ona	426,03	0,63	

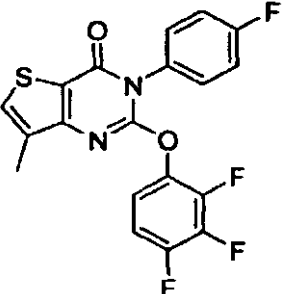
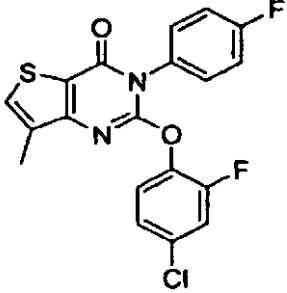
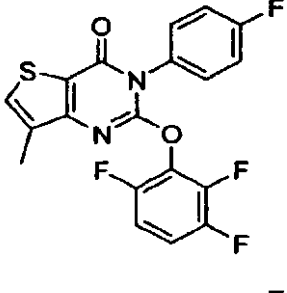
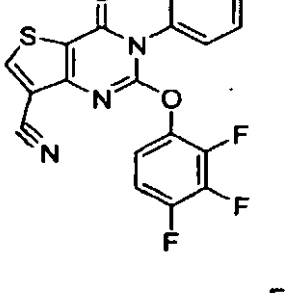
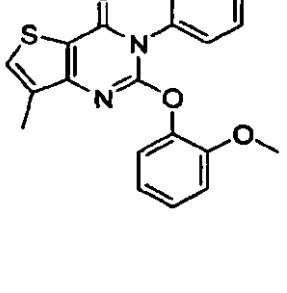
ES 2 399 928 T3

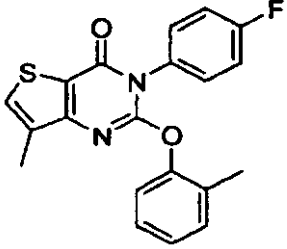
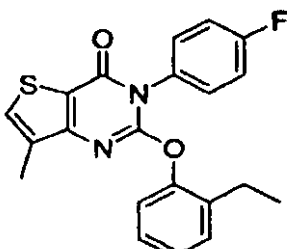
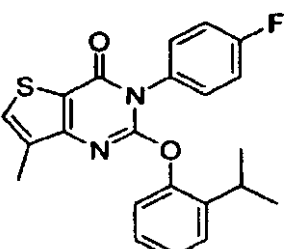
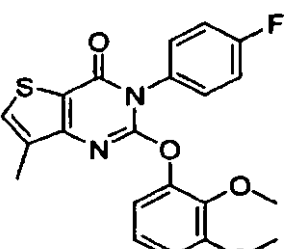
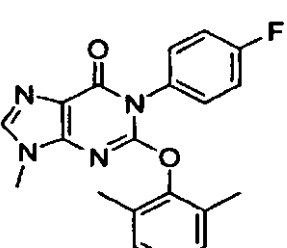
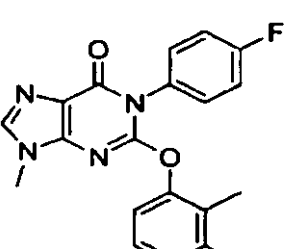
Compuesto	Nombre	MS	R _{XT}	IC ₅₀
	1-(4-clorofenil)-2-[2-fluoro-3-(trifluorometil)fenoxi]-9-metil-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona	439,05	0,63	*
	1-(4-fluorofenil)-2-[2-fluoro-3-(trifluorometil)fenoxi]-9-metil-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona	423,08	1,39	*
	6-(4-fluorofenil)-5-[3-fluoro-5-(trifluorometil)fenoxi][1,3]tiazolo[5,4-d]pirimidin-7(6H)-ona	426,03	0,51	*
	5-[2-cloro-3-(trifluorometil)fenoxi]-6-(4-fluorofenil)[1,3]tiazolo[5,4-d]pirimidin-7(6H)-ona	442,00	0,51	
	6-(4-fluorofenil)-5-(3-(trifluorometil)fenoxi)-tiazolo[5,4-d]pirimidin-7(6H)-ona	408,04	1,48	*
	3-(4-fluorofenil)-2-[3-fluoro-5-(trifluorometil)fenoxi]pirido[3,2-d]pirimidin-4(3H)-ona	420,07	0,52	

ES 2 399 928 T3

Compuesto	Nombre	MS	R _{XT}	IC ₅₀
	1-(4-fluorofenil)-9-metil-2-[3-(trifluorometil)-fenoxi]-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona	405,09	0,54	*
	1-(4-fluorofenil)-2-[3-fluoro-5-(trifluorometil)fenoxi]-9-metil-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona	423,08	1,36	*
	3-(4-clorofenil)-7-metil-2-(2,3,4-trifluorofenoxi)tieno[3,2-d]pirimidin-4(3H)-ona	423,03	1,4	*
	2-(4-cloro-2-fluorofenoxi)-3-(4-clorofenil)-7-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4(3H)-ona	421,00	1,41	*
	3-(4-clorofenil)-2-(2,4-difluorofenoxi)-7-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4(3H)-ona	405,05	1,37	*

ES 2 399 928 T3

Compuesto	Nombre	MS	R _{XT}	IC ₅₀
	3-(4-fluorofenil)-7-metil-2-(2,3,4-trifluorofenoxi)thieno[3,2-d]pirimidin-4-(3H)-ona	405,07	1,4	*
	2-(4-cloro-2-fluorofenoxi)-3-(4-fluorofenil)-7-metiltieno[3,2-d]-pirimidin-4(3H)-ona	405,02	0,65	*
	3-(4-fluorofenil)-7-metil-2-(2,3,6-trifluorofenoxi)tieno[3,2-d]pirimidin-4-(3H)-ona	407,07	1,36	*
	3-(4-fluorofenil)-4-oxo-2-(2,3,4-trifluorofenoxi)-3,4-dihidrotieno[3,2-d]-pirimidin-7-carbonitrilo	417,99	1,31	
	3-(4-fluorofenil)-2-(2-metoxifenoxi)-7-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4(3H)-ona	383,09	1,31	

Compuesto	Nombre	MS	R _{XT}	IC ₅₀
	3-(4-fluorofenil)-7-metil-2-(2-metilfenoxi)tieno[3,2-d]pirimidin-4-(3H)-ona	367,09	1,36	
	2-(2-etilfenoxi)-3-(4-fluorofenil)-7-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4(3H)-ona	381,11	1,38	
	3-(4-fluorofenil)-2-(2-isopropilfenoxi)-7-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4(3H)-ona	395,12	1,39	
	2-(2,3-dimetoxifenoxi)-3-(4-fluorofenil)-7-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4(3H)-ona	413,09	1,3	
	2-(2,6-dimetilfenoxi)-1-(4-fluorofenil)-9-metil-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona	365,14	1,28	
	2-(2,3-dimetilfenoxi)-1-(4-fluorofenil)-9-metil-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona	365,13	1,28	*

EJEMPLO 4

Células Transfectadas con VR1 y Preparaciones de Membrana

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

Un ADNc que codifica el receptor de capsaicina humano de longitud completa (SEC 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 la expresión recombinante en células de mamífero.

Se transfectaron células de riñón embrionarias humanas (HEK293) con el constructo de expresión pBK-CMV que codifica el receptor de capsaicina humano de longitud completa utilizando métodos estándar. Las células transfectadas se seleccionaron durante dos semanas en medios que contenían G418 (400 µg/ml) para obtener un conjunto de células transfectadas de manera estable. Se aislaron clones independientes a partir de este conjunto por dilución limitante a fin de obtener líneas de células estables clonales para uso en experimentos subsiguientes.

Para experimentos de unión 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 peletizaron por centrifugación suave y se guardaron a -80°C hasta su ensayo.

Las células previamente congeladas se disgregaron con la ayuda de un homogeneizador de tejidos en tampón de homogeneización HEPES enfriado en hielo (KCl 5 mM, NaCl 5,8 mM, CaCl₂ 0,75 mM, MgCl₂ 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 desechos, y después 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 5

Ensayo de Unión al Receptor de Capsaicina

Este ejemplo ilustra un ensayo representativo de unión al receptor de capsaicina que puede utilizarse para determinar la afinidad de unión de los compuestos por el receptor de capsaicina (VR1).

Se llevaron a cabo estudios de unión con [³H]-Resiniferatoxina (RTX) esencialmente como se ha descrito por Szallasi y Blumberg (1992) J. Pharmacol. Exp. Ther. 262: 883-888. En este protocolo, la unión inespecífica de RTX se reduce por adición de glucoproteína ácida alfa₁ bovina (100 µg por tubo) después de que ha terminado la reacción de unión.

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

El homogeneizado de membrana del Ejemplo 4 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 unión se ponen en hielo y contienen [³H]-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 $5 \times 10^4 - 1 \times 10^5$ células transfectadas con VR1. El volumen final se ajusta a 500 µl (para ensayos de unión de competición) o 1.000 µl (para ensayos de unión de saturación) con la disolución del tampón de homogeneización HEPES (pH 7,4) enfriada en hielo descrita anteriormente. La unión inespecífica se define como aquella que tiene lugar en presencia de RTX no radiactiva 1 µM (Alexis Corp.; San Diego, CA). Para la unión de saturación, se añade [³H]RTX en el intervalo de concentración de 7-1.000 pM, utilizando 1 a 2 diluciones. Típicamente, se recogen 11 puntos de concentración para cada curva de unión de saturación.

Los ensayos de unión de competición se realizan en presencia de [³H]RTX 60 pM y diversas concentraciones del compuesto de ensayo. Las reacciones de unión se inician transfiriendo 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 unida a la membrana se separa de la RTX libre, así como de cualquier RTX unida a la glucoproteína alfa₁-ácida, por filtración sobre filtros de fibra de vidrio WALLAC (PERKIN-ELMER, Gaitersburg, MD) que se han impregnado previamente con PEI (polietilénimina) al 1,0% durante 2 horas antes de su utilización. Los filtros se dejan secar toda la noche y se someten luego a recuento en un contador WALLAC 1205 BETA PLATE después de la adición de líquido de centelleo WALLAC BETA SCINT.

Los parámetros de unión en el equilibrio se determinan ajustando la ecuación alostérica de Hill a los valores medidos con la ayuda del programa de ordenador FIT P (Biosoft, Ferguson, MO) como se ha descrito por Szallasi, et al. (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 μM , 100 nM, 50 nM, 25 nM, 10 nM, o 1 nM en este ensayo.

EJEMPLO 6

Ensayo de Movilización de Calcio

5 Este Ejemplo ilustra ensayos de movilización de calcio representativos para uso en la evaluación de los compuestos de ensayo en busca de la actividad agonista y antagonista.

10 Células transfectadas con plásmidos de expresión (como se describe en el Ejemplo 4), y que expresaban de ese modo receptor de capsaicina humana, se siembran y se dejan crecer hasta 70–90% de confluencia en placas de 96 pocillos con fondo transparente 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, Eugeno, OR) (disolución de tinte: 1 mg de FLUO-3 AM, 440 μl de DMSO y 440 μl de ácido plurónico al 20% en DMSO, diluido en relación 1:250 en tampón Krebs–Ringer HEPES (KRH) (HEPES 25 mM, KCl 5 mM, NaH_2PO_4 0,96 mM, MgSO_4 1 mM, CaCl_2 2 mM, glucosa 5 mM, probenecid 1 mM, pH 7,4), 50 μl de disolución 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 CO_2 . Después de la incubación, se vacía el tinte de las placas, y las células se lavan una sola vez con tampón KRH, después de lo cual se resuspenden en tampón KRH.

DETERMINACIÓN DEL VALOR EC_{50} DE LA CAPSAICINA

20 Para medir la capacidad 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 EC_{50} del agonista capsaicina. Se añaden a cada pocillo de células 20 μl adicionales de tampón KRH y 1 μl de DMSO, preparado como se ha descrito anteriormente. Se transfieren automáticamente a cada pocillo 100 μl de capsaicina en tampón KRH mediante el instrumento FLIPR. La movilización de calcio inducida por capsaicina se monitorea 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 8 puntos de respuesta frente a la concentración, con concentraciones finales de capsaicina de 1 nM a 3 μM . Se utiliza el software KALEIDAGRAPH (Synergy Software, Reading, PA) para ajustar los datos a la ecuación:

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

30 a fin de determinar la concentración excitadora del 50% (EC_{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 E_{max} , b corresponde al valor EC_{50} y c es el coeficiente de Hill.

DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD AGONISTA

35 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 anteriormente. Se añade también a las células capsaicina 100 nM (una concentración aproximada EC_{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 μM .

40 La capacidad 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 anteriormente para obtener el valor EC_{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 calculando la respuesta provocada por una concentración de compuesto de ensayo (típicamente 1 μM) con respecto a la respuesta provocada por capsaicina 100 nM. Este valor, denominado Porcentaje de Señal (POS), se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$45 \quad \text{POS} = 100 * \text{respuesta del compuesto de ensayo} / \text{respuesta capsaicina 100 nM}$$

50 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 μM , o preferiblemente a concentraciones menores que 1 μM , 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 μM . 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 μM y muy preferiblemente a concentraciones menores que o iguales a 100 μM .

DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTAGONISTA

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

El dato se analiza según lo siguiente. En primer lugar, la respuesta de unidad fluorescente relativa (RFU) máxima promedio de los pocillos de control negativo (sin agonista) se resta de la respuesta máxima detectada para cada uno de los otros pocillos experimentales. En segundo lugar, la respuesta RFU máxima promedio se calcula para los pocillos de control positivo (pocillos con agonista). Después, se calcula el porcentaje de inhibición para cada compuesto ensayado usando la ecuación:

$$\text{Porcentaje de inhibición} = 100 - 100 \times (\text{Señal pico en células de ensayo} / \text{Señal pico en células de control})$$

El dato de % de inhibición se representa gráficamente como función de la concentración de compuesto de ensayo, y la IC_{50} del compuesto de ensayo se determina usando, por ejemplo, el software KALEIDAGRAPH software (Synergy Software, Reading, PA) que mejor ajusta los datos a la ecuación:

$$y = m_1 * (1 / (1 + (m_2 / m_0)^{m_3}))$$

en la que y es el porcentaje de inhibición, m_0 es la concentración del agonista, m_1 es la RFU máxima, m_2 corresponde a la IC_{50} del compuesto de ensayo (la concentración requerida para proporcionar una disminución del 50%, con respecto a la respuesta observada en presencia de agonista y sin agonista), y m_3 es el coeficiente de Hill. Como alternativa, la IC_{50} del compuesto de ensayo se determina usando una regresión lineal en la que x es $\ln(\text{concentración de compuesto de ensayo})$ e y es $\ln(\text{porcentaje de inhibición} / (100 - \text{porcentaje de inhibición}))$. Los datos con un porcentaje de inhibición que es mayor que 90% o menor que 15% se rechazan y no se utilizan en la regresión. La IC_{50} calculada de esta manera es $e^{(-\text{intersección/pendiente})}$.

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 anteriormente a concentraciones de compuesto inferiores a 4 nM, más preferiblemente a concentraciones inferiores a 10 μM , y muy preferiblemente a concentraciones inferiores a o iguales a 100 μM .

EJEMPLO 7

Ensayo de las Células Ganglionales de la Raíz Dorsal

Este Ejemplo ilustra un ensayo representativo de células ganglionales de la raíz dorsal para evaluar 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, las células se lavan una sola vez y se incuban durante 30–60 minutos con el tinte sensible al calcio Fluo 4 AM (2,5–10 $\mu\text{g/ml}$; TefLabs, Austin, TX). Las células se lavan luego 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 monitoriza por un cambio en la fluorescencia de Fluo—con un fluorómetro. Los datos se recogen 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. La señal fluorescente se representa luego gráficamente 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 IC_{50} . Los antagonistas del receptor de capsaicina tienen preferiblemente un valor IC_{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 monitoriza mediante un cambio en la fluorescencia de Fluo-4 con un fluorómetro. El valor EC_{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 Determinar el Alivio del Dolor

Este Ejemplo ilustra métodos representativos para evaluar el grado de alivio del dolor proporcionado por un compuesto.

A. Ensayo de Alivio del Dolor

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

ALODINIA MECÁNICA

La alodinia mecánica (una respuesta anormal a un estímulo inocuo) se evalúa esencialmente como se ha descrito por Chaplan et al. (1994) *J. Neurosci. Methods* 53:55–63 y Tal y Eliav (1998) *Pain* 64(3): 511–518. Se aplica 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 con la fuerza justamente suficiente para doblar el filamento. Los filamentos se mantienen en esta posición durante no más de tres segundos o hasta que la rata exhibe una respuesta alodínica positiva. Una respuesta alodínica positiva consiste en el levantamiento de la pata afectada, seguido inmediatamente de la 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 invirtiendo o previniendo los síntomas semejantes a la alodinia mecánica si las ratas tratadas con tales compuestos requieren estimulación con un filamento de von Frey de mayor fuerza de rigidez 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 tres horas después de la administración.

HIPERALGESIA MECÁNICA

La hiperalgesia mecánica (una respuesta exagerada al estímulo doloroso) se ensaya esencialmente como se ha 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 hiperalgesia 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 tres horas después de la administración.

HIPERALGESIA TÉRMICA

La hiperalgesia térmica (una respuesta exagerada a un estímulo térmico nocivo) se mide esencialmente como se ha 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 térmica(a), determina la sensibilidad de la pata posterior del animal al calor.

Los compuestos producen una reducción en la hiperalgesia 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 tres horas después de la administración.

B. Modelos de Dolor

El dolor puede inducirse utilizando cualquiera de los siguientes métodos, para permitir el ensayo de la eficacia analgésica de un compuesto. En general, los compuestos proporcionados en esta memoria dan como resultado una reducción estadísticamente significativa del dolor tal como se determina por al menos uno de los métodos de ensayo descritos previamente, 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 de carragenano, esencialmente como se ha descrito por Field et al. (1997) Br. J. Pharmacol. 121(8):1513–1522. Se inyectan en la pata posterior de las ratas 100–200 µl de disolución 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 descritos anteriormente. 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 hiperalgesia térmica.

MODELO DE DOLOR INFLAMATORIO CRÓNICO

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

1. Esencialmente como se ha 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 µl de Adyuvante Completo de Freund (0,1 mg de *M. tuberculosis* muertas por calentamiento y secadas) en la pata posterior de las ratas: 100 µl en la superficie dorsal y 100 µl en la superficie plantar.

2. Esencialmente como se ha descrito por Abbadie et al. (1994) J. Neurosci. 14(10): 5865–5871, se inyectan ratas con 150 µl 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.

Después de la inyección de CFA, las ratas se ensayan para determinar la hiperalgesia térmica, alodinia mecánica e hiperalgesia mecánica como se describe anteriormente. Para comprobar el desarrollo de los síntomas, las ratas se ensayan los días 5, 6, y 7 después de la inyección de CFA. El día 7, los animales se tratan 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 dosis de 0,01–50 mg/kg de compuesto de ensayo. Los compuestos pueden administrarse como un bolo individual 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%.

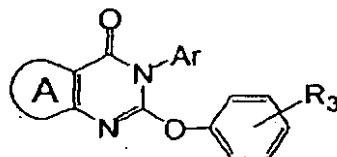
MODELO DE DOLOR NEUROPÁTICO CRÓNICO

Se induce dolor neuropático crónico utilizando la lesión de constricción crónica (CCI) al nervio ciático de la rata, esencialmente como se describe 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 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, el nervio ciático se deja sin ligar y no se manipula. El músculo se cierra conforme a una pauta continua, y la piel se cierra con grapas para heridas o con suturas. Las ratas se evalúan para determinar la alodinia mecánica, la hiperalgesia mecánica y la hiperalgesia térmica como se describe anteriormente.

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 bolo individual, o durante varios días: una o dos o tres veces al día antes del ensayo.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula



o una sal farmacéuticamente aceptable o hidrato del mismo, en la que:



5

representa un heteroarilo de 5 ó 6 miembros condensado que contiene 1, 2 ó 3 heteroátomos seleccionados independientemente de O, N y S, siendo los átomos anulares restantes carbono, en el que el heteroarilo condensado está opcionalmente sustituido con de 0 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de amino, hidroxilo, alquilo de C₁-C₆, hidroxialquilo de C₁-C₆, (cicloalquil C₃-C₇)-alquilo de C₀-C₂, haloalquilo de C₁-C₆, alcoxi de C₁-C₆, alquil C₂-C₆-éter, alcanoil C₁-C₆-oxi, alquil C₁-C₆-sulfonilamino, alcanoil C₁-C₆-amino, y mono- o di-(alquil C₁-C₆)amino;

10

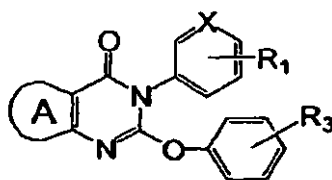
Ar es fenilo o un heteroarilo de 5 ó 6 miembros, cada uno de los cuales está sustituido con de 0 a 4 sustituyentes que se seleccionan independientemente de halógeno, ciano, amino, nitro, alquilo de C₁-C₆, alquenilo de C₂-C₆, alquinilo de C₂-C₆, haloalquilo de C₁-C₆, hidroxialquilo de C₁-C₆, alcoxi de C₁-C₆, haloalcoxi de C₁-C₆, (cicloalquil C₃-C₇)-alquilo de C₀-C₄, y mono- o di-(alquil C₁-C₆)amino; y

15

R₃ representa de 0 a 4 sustituyentes, los cuales se seleccionan de forma independiente de halógeno, hidroxilo, ciano, amino, nitro, alquilo de C₁-C₆, alquenilo de C₂-C₆, alquinilo de C₂-C₆, haloalquilo de C₁-C₆, hidroxialquilo de C₁-C₆, alcoxi de C₁-C₆, haloalcoxi de C₁-C₆, (cicloalquil C₃-C₇)-alquilo de C₀-C₄, mono- o di-(alquil C₁-C₆)amino, y mono- o di-(alquil C₁-C₆)aminosulfonilo, en el que el compuesto está opcionalmente radiomarcado.

20

2. Un compuesto o sal o hidrato del mismo según la reivindicación 1, en el que el compuesto tiene la fórmula:



en la que:



25

representa un heteroarilo de 5 ó 6 miembros condensado que contiene 1, 2 ó 3 heteroátomos seleccionados independientemente de O, N y S, y está sustituido con de 0 a 2 sustituyentes seleccionados independientemente de amino, hidroxilo, alquilo de C₁-C₆, hidroxialquilo de C₁-C₆, (cicloalquil C₃-C₇)-alquilo de C₀-C₂, haloalquilo de C₁-C₆, alcoxi de C₁-C₆, alquil C₂-C₆-éter, alcanoil C₁-C₆-oxi, alquil C₁-C₆-sulfonilamino, alcanoil C₁-C₆-amino, y mono- o di-(alquil C₁-C₆)amino;

30

X es N o CH, que está opcionalmente sustituido con un sustituyente representado por R₁;

R₁ representa de 0 a 3 sustituyentes seleccionados de forma independiente de halógeno, ciano, amino, nitro, alquilo de C₁-C₆, alquenilo de C₂-C₆, alquinilo de C₂-C₆, haloalquilo de C₁-C₆, hidroxialquilo de C₁-C₆, alcoxi de C₁-C₆, haloalcoxi de C₁-C₆, (cicloalquil C₃-C₇)-alquilo de C₀-C₄, y mono- o di-(alquil C₁-C₆)amino; y

35

R₃ representa de 0 a 3, sustituyentes seleccionados de forma independiente de halógeno, hidroxilo, ciano, amino, nitro, alquilo de C₁-C₆, alquenilo de C₂-C₆, alquinilo de C₂-C₆, haloalquilo de C₁-C₆, hidroxialquilo de C₁-C₆, alcoxi de C₁-C₆, haloalcoxi de C₁-C₆, (cicloalquil C₃-C₇)-alquilo de C₀-C₄, mono- o di-(alquil C₁-C₆)amino, y mono- o di-(alquil C₁-C₆)aminosulfonilo.

3. Un compuesto o sal o hidrato del mismo según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que

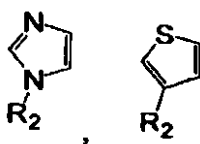


es un heteroarilo de 5 miembros que está sustituido con de 0 a 2 sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo de C₁-C₄, (cicloalquilo de C₃-C₅)alquilo de C₀-C₂ y haloalquilo de C₁-C₄.

5 4. Un compuesto o sal o hidrato del mismo según la reivindicación 3, en el que



es



o



10 en las que R₂ es hidrógeno, alquilo de C₁-C₄, haloalquilo de C₁-C₄ o cicloalquilo de C₃-C₅.

5. Un compuesto o sal o hidrato del mismo según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que

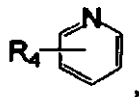


15 es un heteroarilo de 6 miembros que está sustituido con de 0 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de hidroxilo, alquilo de C₁-C₆, (cicloalquilo de C₃-C₇)alquilo de C₀-C₂, haloalquilo de C₁-C₆, hidroxialquilo de C₁-C₆, alcoxi de C₁-C₆, mono(alquilo de C₁-C₆)amino, alcanoilamino de C₁-C₆ o alquilsulfonilamino de C₁-C₆.

6. Un compuesto o sal o hidrato del mismo según la reivindicación 5, en el que



es



20 en el que R₄ representa de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de hidroxilo, alquilo de C₁-C₄, (cicloalquilo de C₃-C₅)alquilo de C₀-C₂, haloalquilo de C₁-C₄, hidroxialquilo de C₁-C₄, alcoxi de C₁-C₄, mono(alquilo de C₁-C₄)amino, alcanoilamino de C₁-C₄ o alquilsulfonilamino de C₁-C₄.

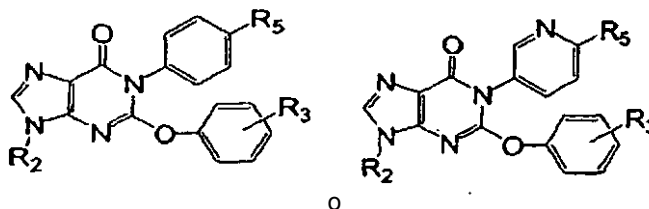
25 7. Un compuesto o sal o hidrato del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 2-6, en el que R₁ representa de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, ciano, alquilo de C₁-C₄ y haloalquilo de C₁-C₄.

8. Un compuesto o sal o hidrato del mismo según la reivindicación 7, en el que un sustituyente representado por R₁ es un halógeno o un ciano en la posición *para*.

30 9. Un compuesto o sal o hidrato del mismo según la reivindicación 7 o reivindicación 8, en el que R₁ representa exactamente un sustituyente.

10. Un compuesto o sal o hidrato del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en el que R₃ representa de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, ciano, alquilo de C₁-C₆, haloalquilo de C₁-C₆ y alcoxi de C₁-C₆.

11. Un compuesto o sal o hidrato del mismo según la reivindicación 2, en el que el compuesto tiene la fórmula:



5

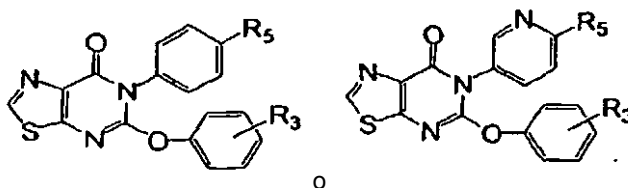
en las que:

R₂ es hidrógeno, alquilo de C₁-C₄, haloalquilo de C₁-C₄ o cicloalquilo de C₃-C₅;

R₃ representa de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, ciano, alquilo de C₁-C₄, haloalquilo de C₁-C₄ y alcoxi de C₁-C₄;

10 y R₅ es halógeno o CN,

o en el que el compuesto tiene la fórmula:



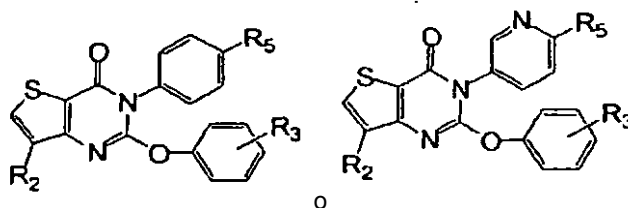
15

en las que:

R₃ representa de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, ciano, alquilo de C₁-C₄, haloalquilo de C₁-C₄ y alcoxi de C₁-C₄; y

R₅ es halógeno o CN,

o en el que el compuesto tiene la fórmula:



20

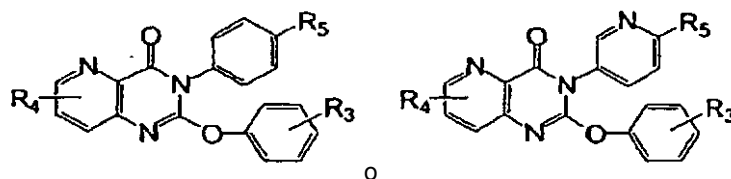
en las que:

R₂ es hidrógeno, alquilo de C₁-C₄, haloalquilo de C₁-C₄ o cicloalquilo de C₃-C₅;

R₃ representa de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, ciano, alquilo de C₁-C₄, haloalquilo de C₁-C₄ y alcoxi de C₁-C₄; y

R₅ es halógeno o CN,

o en el que el compuesto tiene la fórmula:



en las que:

R₃ representa de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, ciano, alquilo de C₁-C₄, haloalquilo de C₁-C₄ y alcoxi de C₁-C₄;

5 R₄ representa de 0 a 2 sustituyentes seleccionados independientemente de hidroxilo, alquilo de C₁-C₄, (cicloalquil C₃-C₅)-alquilo de C₀-C₂, haloalquilo de C₁-C₄, hidroxialquilo de C₁-C₄, alcoxi de C₁-C₄, mono-(alquil C₁-C₄)amino, alcanoil C₁-C₄-amino o alquil C₁-C₄-sulfonilamino; y

R₅ es halógeno o CN.

12. Un compuesto o sal o hidrato del mismo según la reivindicación 1, en el que el compuesto es:

- 10 1-(4-bromofenil)-9-metil-2-(2,3,4-trifluorofenoxi)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona;
 1-(4-clorofenil)-2-(2,3-difluorofenoxi)-9-metil-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona;
 1-(4-clorofenil)-2-(2,4-difluorofenoxi)-9-metil-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona;
 1-(4-clorofenil)-2-[2-fluoro-3-(trifluorometil)fenoxi]-9-metil-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona;
 1-(4-clorofenil)-9-metil-2-(2,3,4-trifluorofenoxi)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona;
- 15 1-(4-clorofenil)-9-metil-2-(2,3,5-trifluorofenoxi)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona;
 1-(4-clorofenil)-9-metil-2-(2,3,6-trifluorofenoxi)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona;
 1-(4-clorofenil)-9-metil-2-(2,4,5-trifluorofenoxi)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona;
 1-(4-clorofenil)-9-metil-2-(2,4,6-trifluorofenoxi)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona;
 1-(4-clorofenil)-9-metil-2-(3,4,5-trifluorofenoxi)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona;
- 20 1-(4-fluorofenil)-2-[2-fluoro-3-(trifluorometil)fenoxi]-9-metil-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona;
 1-(4-fluorofenil)-2-[3-fluoro-5-(trifluorometil)fenoxi]-9-metil-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona;
 1-(4-fluorofenil)-9-metil-2-(2,3,4-trifluorofenoxi)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona;
 1-(4-fluorofenil)-9-metil-2-(2,3,5-trifluorofenoxi)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona;
 1-(4-fluorofenil)-9-metil-2-(2,3,6-trifluorofenoxi)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona;
- 25 1-(4-fluorofenil)-9-metil-2-(2,4,5-trifluorofenoxi)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona;
 1-(4-fluorofenil)-9-metil-2-(2,4,6-trifluorofenoxi)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona;
 1-(4-fluorofenil)-9-metil-2-[3-(trifluorometil)fenoxi]-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona;
 1-(6-cloropiridin-3-il)-9-metil-2-(3,4,5-trifluorofenoxi)-1H-purin-6(9H)-ona;
 2-(2,3-difluoro-4-metoxifenoxi)-1-(4-fluorofenil)-9-metil-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona;
- 30 2-(2,3-difluoro-4-metoxifenoxi)-9-etil-1-(4-fluorofenil)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona;
 2-(2,3-difluorofenoxi)-1-(4-fluorofenil)-9-metil-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona;
 2-(2,3-difluorofenoxi)-9-etil-1-(4-fluorofenil)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona;
 2-(2,3-dimetoxifenoxi)-3-(4-fluorofenil)-7-metilieno[3,2-d]pirimidin-4(3H)-ona;
 2-(2,3-dimetilfenoxi)-1-(4-fluorofenil)-9-metil-1,9-dihidro-6H-purin-ona;
- 35 2-(2,4-difluorofenoxi)-1-(4-fluorofenil)-9-metil-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona;

- 2-(2,4-difluorofenoxi)-3-(4-fluorofenil)pirido[3,2-d]pirimidin-4(3H)-ona;
 2-(2,4-difluorofenoxi)-9-etil-1-(4-fluorofenil)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona;
 2-(2,6-dimetilfenoxi)-1-(4-fluorofenil)-9-metil-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona;
 2-(2-cloro-4-fluorofenoxi)-1-(4-clorofenil)-9-metil-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona;
 5 2-(2-cloro-4-fluorofenoxi)-1-(4-fluorofenil)-9-metil-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona;
 2-(2-etilfenoxi)-3-(4-fluorofenil)-7-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4(3H)-ona;
 2-(4-cloro-2-fluorofenoxi)-1-(4-clorofenil)-9-metil-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona;
 2-(4-cloro-2-fluorofenoxi)-1-(4-fluorofenil)-9-metil-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona;
 2-(4-cloro-2-fluorofenoxi)-3-(4-clorofenil)-7-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4(3H)-ona;
 10 2-(4-cloro-2-fluorofenoxi)-3-(4-fluorofenil)-7-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4(3H)-ona;
 2-(4-cloro-2-fluorofenoxi)-9-etil-1-(4-fluorofenil)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona;
 2,3-difluoro-4-[[1-(4-fluorofenil)-9-metil-6-oxo-6,9-dihidro-1H-purin-2-il]oxi]benzonnitrilo;
 2-[2-cloro-3-(trifluorometil)fenoxi]-3-(4-fluorofenil)pirido[3,2-d]pirimidin-4(3H)-ona;
 3-(4-clorofenil)-2-(2,4-difluorofenoxi)-7-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4(3H)-ona;
 15 3-(4-clorofenil)-7-metil-2-(2,3,4-trifluorofenoxi)tieno[3,2-d]pirimidin-4(3H)-ona;
 3-(4-fluorofenil)-2-(2,3,4-trifluorofenoxi)pirido[3,2-d]pirimidin-4(3H)-ona;
 3-(4-fluorofenil)-2-(2-isopropilfenoxi)-7-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4(3H)-ona;
 3-(4-fluorofenil)-2-(2-metoxifenoxi)-7-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4(3H)-ona;
 3-(4-fluorofenil)-2-[3-(trifluorometil)fenoxi]pirido[3,2-d]pirimidin-4(3H)-ona;
 20 3-(4-fluorofenil)-2-[3-fluoro-5-(trifluorometil)fenoxi]pirido[3,2-d]pirimidin-4(3H)-ona;
 3-(4-fluorofenil)-4-oxo-2-(2,3,4-trifluorofenoxi)-3,4-dihidrotieno[3,2-d]pirimidin-7-carbonitrilo;
 3-(4-fluorofenil)-7-metil-2-(2,3,4-trifluorofenoxi)tieno[3,2-d]pirimidin-4(3H)-ona;
 3-(4-fluorofenil)-7-metil-2-(2,3,6-trifluorofenoxi)tieno[3,2-d]pirimidin-4(3H)-ona;
 3-(4-fluorofenil)-7-metil-2-(2-metilfenoxi)tieno[3,2-d]pirimidin-4(3H)-ona;
 25 4-[[1-(4-clorofenil)-9-metil-6-oxo-6,9-dihidro-1H-purin-2-il]oxi]-2,3-difluorobenzonnitrilo;
 5-(2,3-difluorofenoxi)-6-(4-fluorofenil)[1,3]tiazolo[5,4-d]pirimidin-7(6H)-ona;
 5-(4-cloro-2-fluorofenoxi)-6-(4-fluorofenil)[1,3]tiazolo[5,4-d]pirimidin-7(6H)-ona;
 5-(9-Metil-6-oxo-2-(3,4,5-trifluorofenoxi)-6H-purin-1(9H)-il)picolinonitrilo;
 5-[2-cloro-3-(trifluorometil)fenoxi]-6-(4-fluorofenil)[1,3]tiazolo[5,4-d]pirimidin-7(6H)-ona;
 30 6-(4-fluorofenil)-5-(2,3,4-trifluorofenoxi)[1,3]tiazolo[5,4-d]pirimidin-7(6H)-ona;
 6-(4-fluorofenil)-5-(2,3,5-trifluorofenoxi)[1,3]tiazolo[5,4-d]pirimidin-7(6H)-ona;
 6-(4-fluorofenil)-5-(2,4,5-trifluorofenoxi)[1,3]tiazolo[5,4-d]pirimidin-7(6H)-ona;
 6-(4-fluorofenil)-5-(3-(trifluorometil)fenoxi)tiazolo[5,4-d]pirimidin-7(6H)-ona;
 6-(4-fluorofenil)-5-(3,4,5-trifluorofenoxi)[1,3]tiazolo[5,4-d]pirimidin-7(6H)-ona;
 35 6-(4-fluorofenil)-5-[2-fluoro-3-(trifluorometil)fenoxi][1,3]tiazolo[5,4-d]pirimidin-7(6H)-ona;
 6-(4-fluorofenil)-5-[3-fluoro-5-(trifluorometil)fenoxi][1,3]tiazolo[5,4-d]pirimidin-7(6H)-ona;
 9-etil-1-(4-fluorofenil)-2-(2,3,4-trifluorofenoxi)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona;

9-etil-1-(4-fluorofenil)-2-(2,3,5-trifluorofenoxi)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona;

9-etil-1-(4-fluorofenil)-2-(2,4,5-trifluorofenoxi)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona; o

9-etil-1-(4-fluorofenil)-2-(2,4,6-trifluorofenoxi)-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona.

5 13. Una composición farmacéutica, que comprende al menos un compuesto o sal o hidrato del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1–12, en combinación con un vehículo o excipiente fisiológicamente aceptable.

14. Un método *in vitro* para reducir la conductancia del calcio de un receptor de capsaicina celular, que comprende poner en contacto una célula que expresa un receptor de capsaicina con al menos un compuesto o sal o hidrato del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1–12, y reducir de ese modo la conductancia del calcio del receptor de capsaicina.

10 15. Un método para inhibir la unión 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 o hidrato del mismo según cualquiera de las reivindicaciones 1-12., en condiciones y en cantidad suficientes para inhibir detectablemente la unión del ligando vainilloide al receptor de capsaicina.

16. Una preparación farmacéutica empaquetada, que comprende:

15 (a) una composición farmacéutica según la reivindicación 13 en un recipiente; y

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

20 17. El uso de un compuesto o sal o hidrato del mismo según cualquiera de las reivindicaciones 1-12 para la fabricación de un medicamento para tratar una afección sensible a la modulación del receptor de capsaicina, en el que la afección es asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, prurito, tos, hipo, obesidad, síntomas de la menopausia, incontinencia urinaria, vejiga hiperactiva, exposición a capsaicina, quemadura o irritación debida a exposición a calor, quemadura o irritación debida a exposición a luz, quemadura, broncoconstricción o irritación debida a exposición a gas lacrimógeno, agentes infecciosos, contaminantes del aire o spray de pimienta, quemadura o irritación debida a exposición a ácido; dolor, en el que el dolor está asociado opcionalmente a una
25 afección seleccionada de: síndrome de dolor tras 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 relacionada con SIDA, neuropatía relacionada con MS, dolor relacionado con lesión en la médula espinal,
30 dolor relacionado con cirugía, dolor músculoesquelético, dorsalgia, cefalea, migraña, angina, parto, hemorroides, dispepsia, dolores de Charcot, gases intestinales, menstruación, cáncer, exposición a venenos, síndrome de intestino irritable, enfermedad intestinal inflamatoria y traumatismo; o dolor neuropático.