(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 527 468**

(51) Int. CI.:

A61K 31/192 (2006.01)
A61P 25/24 (2006.01)
A61P 25/22 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
A61K 31/167 (2006.01)
A61K 31/196 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.02.2010 E 10738778 (9)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.10.2014 EP 2394645**

(54) Título: **Uso médico de derivados del ácido 5-bencilaminosalicílico o sales de los mismos**

(30) Prioridad:

09.02.2009 KR 20090010068
08.02.2010 KR 20100011521

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
26.01.2015

(73) Titular/es:

NEUROTECH PHARMACEUTICALS CO., LTD. (100.0%)
14F. Gyeonggi Bio Center 864-1 lui-dong Yeongtong-gu
Suwon-si, Gyeonggi-do 443-270, KR

(72) Inventor/es:

GWAG, BYOUNG-JOO;
SON, SUN-JOO;
NOH, JAE-SUNG y
SHIN, JIN-HEE

(74) Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

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

Uso médico de derivados del ácido 5-bencilaminosalicílico o sales de los mismos

Campo técnico

La presente invención se refiere al campo de una composición farmacéutica para tratar o prevenir trastorno por estrés o depresión, que comprende derivado del ácido 5-bencilaminosalicílico o sus sales farmacéuticamente aceptables.

Antecedentes de la técnica

Se produce estrés cuando una persona no puede responder apropiadamente a amenazas emocionales o físicas y está acompañado a menudo por síntomas tales como daño tisular, hemorragia, infección, hipoglucemia, dolor, etc. Además, el estrés excesivo es la causa de enfermedad mental tal como depresión o trastornos de ansiedad.

La depresión, una enfermedad mental relacionada con el estrés, reaparece frecuentemente, tiende a ser crónica y provoca consecuencias graves tales como el suicido. Los síntomas principales de la depresión son emoción y estado de ánimo deprimidos y aparecen junto con la pérdida resultante de sueño, apetito e interés, y ansiedad, impotencia, culpa, aislamiento y futilidad, impulsividad al suicidio. El cambio de peso es grave y el comportamiento se vuelve muy torpe y lento. Y la depresión está acompañada por sentimientos de inutilidad, culpa inapropiada y disminución de la concentración y la memoria. Los pacientes con depresión se sienten cansados de forma crónica y no pueden dormir en muchos casos y duermen mal por la noche. Además de cambios en las emociones, los pensamientos y los deseos, aparecen síntomas físicos tales como cefalea, indigestión, rigidez de cuello y hombros, opresión en el pecho, etcétera. En caso de depresión grave, pueden producirse delirios y alucinaciones.

Se sabe que la depresión está provocada no sólo por factores sociales y ambientales tales como varios factores psicológicos, choque o estrés, etc., sino también por factores biológicos tales como trastornos del sistema nervioso o el sistema endocrino.

Las ingestas de fármacos tales como fármacos antihipertensores, ansiolíticos, fármacos psicotrópicos y estimulantes del sistema nervioso central pueden ser causa de depresión. La diabetes, el cáncer de páncreas o una enfermedad endocrina también pueden ser causa de depresión.

Desde los años 1950, empezaron a usarse los antidepresivos tricíclicos (ATC) como terapia de primera línea eficaz para la depresión a través del mecanismo que aumenta la concentración de serotonina y epinefrina en la sinapsis. Aunque la eficacia de los ATC es muy buena, los efectos secundarios en el sistema nervioso central tales como sedación, confusión, delirios, trastorno compulsivo, cefaleas, alteraciones del suelo y efectos secundarios cardiovasculares tales como hipotensión postural y taquicardia, y efectos secundarios anticolinérgicos siguen siendo problemas considerables. Después de esto, desde los años 1980, el lanzamiento de inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS) que tienen efectos similares pero son superiores en cuanto a los efectos secundarios y la seguridad en comparación con los ATC ha traído consigo grandes cambios en la terapia de la depresión. Actualmente, están disponibles comercialmente fluoxetina, citalopram, sertralina, paroxetina y escitalopram, representando aproximadamente el 70% de los antidepresivos.

Sin embargo, estos ISRS también muestran cefalea, náuseas, inhibición del apetito, disfunción sexual, alteraciones del sueño, fatiga, cambio de peso, ideas suicidas y efectos secundarios extrapiramidales. Recientemente, se han usado fármacos antidepresivos con acciones farmacológicas compuestas para potenciar los efectos terapéuticos incluyendo inhibidores de la recaptación de serotonina y norepinefrina (IRSN) tales como venlafaxina y milnaciprán, un antidepresivo noradrenérgico y serotonérgico específico (ANSE), mirtazapina, e inhibidores de la recaptación de norepinefrina y dopamina (IRND), bupropión.

Los síntomas clínicos y los medicamentos de la depresión mayor tienden a solaparse con trastornos de ansiedad incluyendo síndrome de pánico con agorafobia, fobias graves, trastorno de ansiedad generalizada (TAG), trastorno de ansiedad social, trastorno por estrés postraumático (TEPT) y trastorno obsesivo-compulsivo (TOC). De hecho, los antidepresivos tales como los antidepresivos tricíclicos y los inhibidores de la recaptación de serotonina se usan en el tratamiento para el trastorno de pánico, la agorafobia, el trastorno obsesivo-compulsivo y por estrés traumático.

Se conoce por el documento US 2007/0298199 el uso de derivados del ácido 2-hidroxi-alquilamino-benzoico para tratar enfermedades neurológicas o enfermedades oculares.

Divulgación

Problema técnico

Por consiguiente, el objeto de la presente invención es proporcionar compuestos útiles para tratar o prevenir

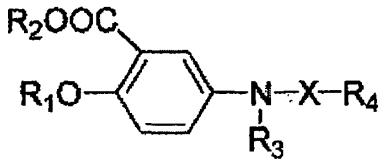
trastorno por estrés o depresión.

Solución técnica

Para lograr el objeto, la presente invención proporciona un derivado del ácido 5-bencilaminosalicílico seleccionado del grupo que consiste en ácido 2-hidroxi-5-[2-(4-trifluorometil-fenil)-etilamino]-benzoico, ácido 2-acetoxi-5-[2-(4-trifluorometil-fenil)-etilamino]-benzoico o sus sales farmacéuticamente aceptables para su uso en el tratamiento o la prevención de trastorno por estrés agudo, trastorno por estrés postraumático o depresión.

La presente solicitud también describe una composición farmacéutica para tratar o prevenir trastorno por estrés, depresión o trastorno de ansiedad, que comprende derivados del ácido 5-bencilaminosalicílico representados por la siguiente fórmula química 1 o sus sales farmacéuticamente aceptables como agentes eficaces:

[Fórmula química 1]



en la que,

X es CO, SO_2 o $(CH_2)_n$ (en el que n es un número entero de 1 a 5, inclusive);

R_1 es hidrógeno, alquilo o alcanoílo;

R_2 es hidrógeno o alquilo;

R_3 es hidrógeno o un grupo acetilo; y

R_4 es un grupo fenilo que no está sustituido o está sustituido con uno o más del grupo que consiste en nitro, halógeno, haloalquilo y alcoxilo C_1-C_5; o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

Los presentes inventores han preparado y evaluado muchos compuestos, y tuvieron éxito en revelar el hecho de que los derivados del ácido 5-bencilaminosalicílico o sus sales farmacéuticamente aceptables son muy útiles para tratar o prevenir trastorno por estrés, depresión o trastorno de ansiedad así como son seguros.

En la presente descripción, los derivados del ácido 5-bencilaminosalicílico anteriores incluyen el propio ácido 5-bencilaminosalicílico.

En la fórmula química 1, alquilo (incluyendo “alquilo” de haloalquilo) puede ser alquilo C_1-C_5, y más particularmente alquilo C_1-C_3. Más específicamente, alquilo puede incluir metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec-butilo y terc-butilo. Alcoxilo (incluyendo “alcoxilo” de haloalcoxilo) puede ser alcoxilo C_1-C_5, y más particularmente alcoxilo C_1-C_3. Más específicamente, alcoxilo puede incluir metoxilo, etoxilo y propanoxilo. Halógeno puede incluir fluoruro, cloruro, bromuro y yoduro. Alcanoílo puede ser alcanoílo C_2-C_{10}, y más particularmente alcanoílo C_3-C_5. Más específicamente, alcanoílo puede incluir etanoílo, propanoílo y ciclohexanocarbonilo.

Los ejemplos del derivado del ácido 5-bencilaminosalicílico pueden incluir ácido 2-hidroxi-5-fenetilamino-benzoico (compuesto 1), ácido 2-hidroxi-5-[2-(4-trifluorometil-fenil)-etilamino]-benzoico (compuesto 2), ácido 2-hidroxi-5-[2-(3-trifluorometil-fenil)-etilamino]-benzoico (compuesto 3), ácido 5-[2-(3,5-bis-trifluorometil-fenil)-etilamino]-2-hidroxi-benzoico (compuesto 4), ácido 2-hidroxi-5-[2-(2-nitro-fenil)-etilamino]-benzoico (compuesto 5), ácido 5-[2-(4-cloro-fenil)-etilamino]-2-hidroxi-benzoico (compuesto 6), ácido 5-[2-(3,4-difluoro-fenil)-etilamino]-2-hidroxi-benzoico (compuesto 7), ácido 5-[2-(3,4-dicloro-fenil)-etilamino]-2-hidroxi-benzoico (compuesto 8), ácido 5-[2-(4-fluoro-2-trifluorometil-fenil)-etilamino]-2-hidroxi-benzoico (compuesto 9), ácido 5-[2-(2-fluoro-4-trifluorometil-fenil)-etilamino]-2-hidroxi-benzoico (compuesto 10), ácido 2-hidroxi-5-[2-(4-metoxi-fenil)-etilamino]-benzoico (compuesto 11), ácido 2-hidroxi-5-(2-o-tolil-etilamino)-benzoico (compuesto 12), ácido 2-hidroxi-5-(3-fenil-propilamino)-benzoico (compuesto 13), ácido 2-hidroxi-5-[3-(4-trifluorometil-fenil)-propilamino]-benzoico (compuesto 14), ácido 5-[3-(4-fluoro-fenil)-propilamino]-2-hidroxi-benzoico (compuesto 15), ácido 5-[3-(3,4-dicloro-fenil)-propilamino]-2-hidroxi-benzoico (compuesto 16), ácido 2-hidroxi-5-(3-p-tolil-propilamino)-benzoico (compuesto 17), ácido 2-acetoxi-5-[2-(4-trifluorometil-fenil)-etilamino]-benzoico (compuesto 18), y ácido 5-[2-(2-cloro-fenil)-etilamino]-2-hidroxi-benzoico (compuesto 19), ácido 5-bencilaminosalicílico (compuesto 20), ácido 5-(4-nitrobencil)aminosalicílico (compuesto 21), ácido (5-(4-clorobencil)aminosalicílico (compuesto 22), ácido (5-(4-trifluorometilbencil)aminosalicílico (compuesto 23), ácido (5-(4-fluorobencil)aminosalicílico (compuesto 24), ácido 5-(4-metoxibencil)aminosalicílico (compuesto 25),

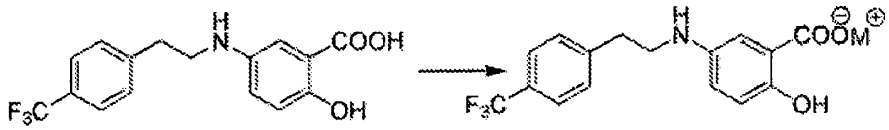
ácido 5-(4-pentafluorobencil)aminosalicílico (compuesto 26), benzoato de 5-(4-nitrobencil)amino-2-hidroxietilo (compuesto 27), benzoato de 5-(4-nitrobencil)-N-acetilamino-2-hidroxietilo (compuesto 28), benzoato de 5-(4-nitrobencil)-N-acetilamino-2-acetoxietilo (compuesto 29), ácido 5-(4-nitrobenzoil)aminosalicílico (compuesto 30), ácido 5-(4-nitrobencenosulfonil)aminosalicílico (compuesto 31), ácido 5-[2-(4-nitrofenil)-etil]aminosalicílico (compuesto 32) y ácido 5-[3-(4-nitrofenil)-n-propil]aminosalicílico (compuesto 33).

El derivado del ácido 5-bencilaminosalicílico o su sal farmacéuticamente aceptable de la presente invención puede prepararse mediante los esquemas de reacción representados en el documento US 6.573.402.

El término “sales farmacéuticamente aceptables” de la presente invención significa sales producidas mediante un ácido o una base no tóxicos o poco tóxicos. En caso de que el compuesto de la presente invención sea ácido, pueden prepararse sales de adición de base del compuesto de la presente invención haciendo reaccionar la base libre del compuesto con una cantidad suficiente de base deseable y disolvente inerte adecuado. La sal de adición de base farmacéuticamente aceptable incluye sal de sodio, potasio, calcio, amonio, magnesio o sal formada por amino orgánico. En caso de que el compuesto de la presente invención sea básico, pueden prepararse sales de adición de ácido del compuesto haciendo reaccionar la base libre del compuesto con una cantidad suficiente de ácido deseable y disolvente inerte adecuado. La sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable incluye ácido propiónico, isobutílico, ácido oxálico, ácido málico, ácido malónico, ácido benzoico, ácido succínico, ácido subérico, ácido fumárico, ácido mandélico, ácido ftálico, ácido bencenosulfónico, ácido p-tolilsulfónico, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido metanosulfónico, ácido clorhídrico, ácido brómico, ácido nítrico, ácido carbónico, ácido monohidrogenocarbónico, ácido fosfórico, ácido monohidrogenofosfórico, ácido dihidrogenofosfórico, ácido sulfúrico, ácido monohidrogenosulfúrico, yoduro de hidrógeno y ácido fosforoso. Además, la sal farmacéuticamente aceptable de la presente invención incluye una sal de aminoácido como arginato y un análogo de ácido orgánico como glucurónico o galacturónico.

Por ejemplo, una sal farmacéuticamente aceptable del ácido 2-hidroxi-5-[2-(4-trifluorometil-fenil)-etilamino]-benzoico (compuesto 2), un ejemplo preferible de la presente invención, puede prepararse mediante el siguiente esquema de reacción 1. Sin embargo, los siguientes métodos de reacción se ofrecen a modo de ilustración.

<Esquema de reacción 1>



En el esquema, M es un metal o compuesto orgánico básico farmacéuticamente aceptable tal como dietilamina, litio, sodio y potasio.

En más detalle, puede prepararse la sal de dietilamina mediante la disolución de un compuesto en alcohol, la adición gota a gota de dietilamina, la agitación de la mezcla, destilación a vacío y cristalización del residuo añadiendo éter. Puede producirse una sal de metal alcalino preparando la sal deseable con reactivo inorgánico como hidróxido de litio, hidróxido de sodio, hidróxido de potasio en disolvente como alcohol, acetona, acetonitrilo y luego liofilizando. Además, según el método similar, puede producirse la sal de litio con acetato de litio, puede producirse la sal de sodio con 2-etilhexanoato de sodio o acetato de sodio, y puede producirse la sal de potasio con acetato de potasio.

Algunos de los compuestos de la presente invención pueden estar en forma hidratada y pueden existir como forma solvatada o no solvatada. Una parte de los compuestos según la presente invención existen como forma cristalina o forma amorfa, y cualquier forma física está incluida en el alcance de la presente invención. Además, algunos compuestos de la presente divulgación pueden contener uno o más dobles enlaces o átomos de carbono asimétricos, y por tanto existir en dos o más formas estereoisoméricas como racemato, enantiómero, diastereómero, isómero geométrico. La presente divulgación incluye estos estereoisómeros individuales de los compuestos de la presente divulgación.

La presente solicitud también describe una composición farmacéutica que comprende el derivado del ácido 5-bencilaminosalicílico representado por la fórmula química 1 anterior o sus sales farmacéuticamente aceptables; y excipiente o aditivo farmacéuticamente aceptable. El derivado del ácido 5-bencilaminosalicílico representado por la fórmula química 1 anterior o sus sales farmacéuticamente aceptables pueden administrarse solos o con cualquier portador, diluyente conveniente, y una formulación para administración puede ser de unidad de dosis individual o unidad de múltiples dosis.

La composición farmacéutica puede formularse en forma sólida o líquida. La formulación sólida incluye un polvo, un gránulo, un comprimido, una cápsula, un supositorio. Además, la formulación sólida puede incluir además un diluyente, un agente aromatizante, un aglutinante, un conservante, un agente disgregante, un lubricante, una carga. La formulación líquida incluye una disolución tal como disolución acuosa y disolución en propilenglicol, una suspensión, una emulsión, y puede prepararse mediante la adición de aditivos adecuados tales como un agente

colorante, un agente aromatizante, un estabilizador, un espesante, etc.

Por ejemplo, puede producirse un polvo simplemente mezclando el derivado del ácido 5-bencilaminosalicílico de la presente invención y excipientes farmacéuticamente aceptables como lactosa, almidón, celulosa microcristalina. Puede prepararse un gránulo tal como sigue: mezclado del compuesto o su sal farmacéuticamente aceptable, un diluyente farmacéuticamente aceptable y un aglutinante farmacéuticamente aceptable tal como polivinilpirrolidona, hidroxipropilcelulosa; y granulación en húmedo con disolvente adecuado como agua, etanol, isopropanol, o compresión directa con potencia de compresión. Además, puede producirse un comprimido mediante el mezclado del gránulo con un lubricante farmacéuticamente aceptable tal como estearato de magnesio, y la preparación en comprimidos de la mezcla.

La composición farmacéutica puede administrarse en formas de formulación oral, formulación inyectable (por ejemplo, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, infusión, subcutánea, implante), inhalable, intranasal, vaginal, rectal, sublingual, transdérmica, tópica dependiendo de los trastornos que vayan a tratarse y de las condiciones del paciente. La composición puede formularse en una unidad de dosificación adecuada que comprende un portador, aditivo y/o vehículo farmacéuticamente aceptables y no tóxicos, que se usan todos generalmente en la técnica, dependiendo de las vías en que vayan a administrarse. El tipo de depósito de formulación que puede liberar fármaco de manera continua durante un tiempo deseable también se describe en la presente solicitud.

La presente solicitud también describe un uso del derivado del ácido 5-bencilaminosalicílico o sus sales farmacéuticamente aceptables para tratar o prevenir trastorno por estrés, depresión o trastorno de ansiedad. Es decir, la presente solicitud describe una composición farmacéutica para tratar o prevenir trastorno por estrés, depresión o trastorno de ansiedad, que comprende el derivado del ácido 5-bencilaminosalicílico representado por la fórmula química 1 anterior o sus sales farmacéuticamente aceptables. Más específicamente, el derivado del ácido 5-bencilaminosalicílico o sus sales farmacéuticamente aceptables pueden usarse para tratar o prevenir trastorno por estrés tal como trastorno por estrés agudo, trastorno por estrés postraumático, trastorno de ansiedad tal como trastorno de ansiedad social, trastorno de ansiedad generalizada, trastorno de pánico, agorafobia, trastorno de ansiedad inducido por sustancias, trastorno de ansiedad debido a un estado médico general o depresión.

Para su uso en el tratamiento de trastorno por estrés, depresión o trastorno de ansiedad, el compuesto puede administrarse diariamente a una dosis de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 100 g/kg, preferiblemente de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 10 g/kg. Sin embargo, puede variarse la dosificación según las condiciones del paciente (edad, sexo, peso corporal), la gravedad de los pacientes que lo necesitan, los componentes eficaces usados, las dietas. El compuesto de la presente invención puede administrarse una vez al día o varias veces al día en dosis divididas, si es necesario.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 es el resultado que evalúa el efecto antidepresivo del compuesto 2 usando la prueba de suspensión por la cola.

*, p<0,05 frente al grupo de vehículo, BID (dos veces al día).

La figura 2 es el resultado que evalúa el efecto antiestrés del compuesto 2 usando un modelo de estrés por restricción.

La figura 3 es el resultado que muestra el efecto de la administración para el compuesto 2 en una prueba de campo abierto.

*, p<0,05 frente al grupo de vehículo.

La figura 4 es el resultado que evalúa el efecto antidepresivo del compuesto 2 usando la prueba de nado forzado.

*, p<0,05 frente al grupo de vehículo.

La figura 5 es el resultado que evalúa el efecto antidepresivo del compuesto 2 usando la prueba de estrés por restricción.

* p<0,05 frente a grupo de vehículo sin estrés (control 1).

# p<0,05 frente a grupo de vehículo con estrés (control 2).

La figura 6 es el resultado que evalúa el efecto ansiolítico del compuesto 2 usando ansiedad inducida por estrés.

* p<0,05 frente a grupo de vehículo sin estrés (control 1).

# p<0,05 frente a grupo de vehículo con estrés (control 2).

Ejemplos

A continuación en el presente documento, se describe la presente invención en detalle considerable para ayudar a que los expertos en la técnica comprendan la presente invención. Los siguientes ejemplos se ofrecen a modo de ilustración.

<Ejemplo 1> Evaluación del efecto antidepresivo del compuesto 2 sobre la prueba de suspensión por la cola (TST, *tail suspension test*)

Se evaluó la eficacia del compuesto usando una prueba de suspensión por la cola como método *in vivo* para la depresión. En esta prueba, se registra el tiempo de inmovilidad de los animales normalmente durante 5-10 minutos usando un dispositivo manual o uno automatizado. El ratón suspendido por la cola muestra actividad (movimiento) e inmovilidad alternas y los fármacos con acción antidepresiva reducen comúnmente el tiempo de inmovilidad en esta prueba.

Se usaron ratones ICR macho que pesaban 28-30 g de peso corporal en la totalidad del estudio. Se mantuvieron los animales de experimentación en una sala de cría de animales con un ciclo de 12 h de oscuridad/12 h de luz y se albergaron a razón de 8 ratones por jaula a los que se les suministró libremente agua y alimentación. Los ratones consistían en 8 animales por grupo que se asignaron aleatoriamente a los grupos de tratamiento.

Se suspendió el compuesto 2 en disolución de Lutrol al 10% y se administraron todas las disoluciones en suspensión por vía oral a los ratones dos veces al día a un volumen de 4 ml/kg. Se trató el grupo control sólo con disolución de Lutrol al 10% de la misma manera. Todos los tratamientos de fármacos o vehículo se administraron a los animales 1 hora antes de la prueba (n=8/grupo).

1. Control 1 (vehículo, Lutrol al 10%)
2. Compuesto 2, 1,25 mg/kg (administración oral, dos veces al día)
3. Compuesto 2, 2,5 mg/kg (administración oral, dos veces al día)
4. Compuesto 2, 5 mg/kg (administración oral, dos veces al día)
5. Compuesto 2, 12,5 mg/kg (administración oral, dos veces al día)
6. Compuesto 2, 25 mg/kg (administración oral, dos veces al día)
7. Compuesto 2, 50 mg/kg (administración oral, dos veces al día)

Se evaluó esta prueba según el método descrito en una publicación anterior [Psycopharmacology 85, 367-370, Steru *et al*. (1985)]. El día del experimento, se aclimataron los ratones en la sala de pruebas a lo largo de 60 minutos y se les administró el compuesto, y entonces se llevó a cabo la prueba. Tras 1 h tras el tratamiento farmacológico, se les aplicó a los ratones cinta adhesiva de experimentación, a aproximadamente 1 cm desde la punta de la cola. Se suspendieron individualmente los ratones sobre un estante de experimentación aproximadamente 58 cm por encima del tablero de una mesa uniendo la cinta adhesiva en la punta de la cola al estante de experimentación. Y después de eso, se midió el tiempo de inmovilidad total durante 6 min en ausencia de ruido. Se midió el tiempo de inmovilidad total durante los 4 min finales de una sesión de prueba de 6 min y se expresaron los datos como la media y se analizaron mediante ANOVA de un factor seguido por la comparación *post hoc* mediante HSD (*Honestly Significant Difference*, diferencia significativa honesta) de Tukey.

Tal como se muestra en la figura 1, todos los grupos tratados con el compuesto 2 disminuyeron el tiempo de inmovilidad durante el tiempo de experimentación de 4 minutos. En los grupos tratados con el compuesto 2 a dosis de 1,25 mg/kg, 2,5 mg/kg, 5 mg/kg, 12,5 mg/kg, 25 mg/kg y 50 mg/kg, disminuyó significativamente el tiempo de inmovilidad total en el 46%, el 43%, el 42%, el 38%, el 54% y el 57%, respectivamente, en comparación con el grupo control. Por tanto, puede saberse que el compuesto 2 según la presente invención tiene actividad antidepresiva.

<Ejemplo 2> El efecto del compuesto 2 en modelos de estrés

2-1. Inducción de estrés por restricción por inmersión en agua (WIRS, *water immersion restraint stress*)

Se privaron de alimento ratas Sprague-Dawley (SD) que pesaban 200 g de peso corporal a lo largo de 24 horas y entonces se les administró el compuesto de experimentación. Tras 1 hora, se colocaron las ratas en una jaula de estrés y se sumergieron en agua a 24ºC durante 10 horas para inducir WIRS.

2-2. El efecto del compuesto 2 sobre daño gástrico en modelo de estrés

Se privaron de alimento ratas SD que pesaban 200 g de peso corporal durante 24 h y entonces se les administraron 30 mg/kg del compuesto 2. Tras 1 hora, se colocaron las ratas en una jaula de estrés y se sumergieron en agua durante 10 horas. Tras WIRS durante 10 horas, se sacrificaron las ratas con anestesia con éter. Se aisló cada estómago, se empapó y se fijó en 10 ml de disolución de formalina al 2% durante 10 minutos, y entonces se abrió a lo largo de la curvatura mayor del estómago. Tras extender el estómago, se examinaron macroscópicamente las lesiones hemorrágicas inducidas por estrés, y en la figura 2 se mostraron los resultados.

Tal como se muestra en la figura 2, el tratamiento con 30 mg/kg del compuesto 2 redujo indudablemente el índice de lesión gástrica inducida por WIRS.

<Ejemplo 3> El efecto del compuesto 2 sobre la actividad locomotora usando la prueba de campo abierto

Se midió la actividad locomotora usando la prueba de campo abierto para conocer la influencia del tratamiento farmacológico sobre la actividad en animales. Se usaron ratones ICR macho que pesaban 20-23 g de peso corporal en la totalidad del estudio.

Se mantuvieron los animales de experimentación en una sala de cría de animales con un ciclo de 12 h de oscuridad/12 h de luz y se albergaron a razón de 8 ratones por jaula a los que se les suministró libremente agua y alimentación. Los ratones consistían en 8 animales por grupo que se asignaron aleatoriamente a los grupos de tratamiento.

Se suspendió el compuesto 2 en disolución de Lutrol al 10% y se administraron todas las disoluciones en suspensión por vía oral a los ratones dos veces al día a un volumen de 5 ml/kg. Se trató el grupo control sólo con disolución de Lutrol al 10% de la misma manera. Todos los tratamientos de fármacos o vehículo se administraron a los animales 1 hora antes de la prueba (n=8/grupo).

1. Control 1 (vehículo, Lutrol al 10%)
2. Compuesto 2, 1,25 mg/kg (administración oral, dos veces al día)
3. Compuesto 2, 2,5 mg/kg (administración oral, dos veces al día)
4. Compuesto 2, 5 mg/kg (administración oral, dos veces al día)
5. Compuesto 2, 12,5 mg/kg (administración oral, dos veces al día)
6. Compuesto 2, 25 mg/kg (administración oral, dos veces al día)
7. Compuesto 2, 50 mg/kg (administración oral, dos veces al día)

El campo abierto consistía en un recinto cuadrado (58 cm x 58 cm) rodeado por una pared de 30 cm de altura. El suelo del recinto se dividió en 12 cuadrados iguales. Al inicio de cada ensayo, se colocó un ratón en una esquina del campo y se permitió que se moviese libremente por el recinto y se midió la trayectoria en movimiento durante 5 min. Se registró el comportamiento de los animales y se analizó usando un software de seguimiento por vídeo (Etho Vision 3.0, Noldus Information Technology, Leesburg, VA) sujeto al techo por encima de la parte central del recinto.

Se analizaron los datos recogidos mediante ANOVA de un factor seguido por la comparación *post hoc* mediante HSD (diferencia significativa honesta) de Tukey.

Tal como se muestra en la figura 3, la actividad locomotora no fue diferente entre grupos, lo que sugiere que el compuesto 2 muestra actividad antidepresiva sin influir sobre la actividad locomotora.

<Ejemplo 4> Evaluación del efecto antidepresivo sobre la prueba de nado forzado

Se usa la prueba de nado forzado para seleccionar compuestos con eficacia terapéutica para la depresión. Un animal ubicado en un cilindro lleno de agua muestra diversos comportamientos de evitación o inmovilidad. Se cuenta el tiempo de inmovilidad siempre que el animal permanece flotando pasivamente en el agua sin luchar excepto por el movimiento mínimo para que sobresalga su cabeza por encima de la superficie del agua. Los antidepresivos mejoran significativamente el comportamiento de evitación o la inmovilidad.

Se usaron ratones C57BL/6 macho de nueve semanas de edad que pesaban 20-23 g de peso corporal en la totalidad de este estudio. Se mantuvieron los animales de experimentación en una sala de cría de animales con un ciclo de 12 h de oscuridad/12 h de luz y se albergaron a razón de 8 ratones por jaula a los que se les suministró libremente agua y alimentación. Los ratones consistían en 8 animales por grupo que se asignaron aleatoriamente a

los grupos de tratamiento.

Se suspendió el compuesto 2 en disolución de Lutrol al 10% y se administraron todas las disoluciones en suspensión por vía oral a los ratones dos veces al día a un volumen de 5 ml/kg. Se trató el grupo control sólo con disolución de Lutrol al 10% de la misma manera. Todos los tratamientos de fármacos o vehículo se administraron a los animales 1 hora antes de la prueba (n=8/grupo).

1. Control 1 (vehículo, Lutrol al 10%)
2. Compuesto 2, 1,25 mg/kg (administración oral, dos veces al día (BID))
3. Compuesto 2, 2,5 mg/kg (administración oral, dos veces al día (BID))
4. Compuesto 2, 5 mg/kg (administración oral, dos veces al día (BID))
5. Compuesto 2, 12,5 mg/kg (administración oral, dos veces al día (BID))

El día del experimento, se aclimataron los ratones en la sala de pruebas a lo largo de 60 minutos, se les administró por vía oral el compuesto 2 o control de vehículo, y recibieron la prueba de nado forzado. Para la prueba de nado forzado, se forzó individualmente a un ratón a nadar en el interior de un baño cilíndrico de vidrio abierto con una altura de 26 cm y un diámetro de 14 cm lleno de agua a 24±1ºC hasta 16 cm de alto desde el fondo de modo que la cola del ratón no podía alcanzar el fondo. Una hora tras administrarse por vía oral al ratón el compuesto 2 y vehículo control, entonces se expusieron los ratones a nado forzado durante 6 min en el baño de agua y se registró su movimiento usando un sistema de cámara de vídeo. Se midió la duración total de inmovilidad como una media durante los 4 min finales de una sesión de prueba de 6 min y se analizaron los datos estadísticamente con ANOVA de un factor seguido por la comparación *post hoc* mediante HSD (diferencia significativa honesta) de Tukey.

En la figura 4 se representaron los resultados. Todos los grupos tratados con el compuesto 2 disminuyeron el tiempo de inmovilidad durante el tiempo de prueba de 4 minutos. El tiempo de inmovilidad en los grupos tratados con el compuesto 2 disminuyó significativamente en comparación con el grupo de control de vehículo, que muestra el 31%, el 34%, el 30% y el 34% a dosis de 1,25 mg/kg, 2,5 mg/kg, 5 mg/kg y 12,5 mg/kg, respectivamente.

<Ejemplo 5> Evaluación del efecto antidepresivo sobre la prueba de estrés por restricción repetida

Actualmente, se utilizan principalmente dos aspectos de la depresión, eficacia del antidepresivo y respuesta sobre el estrés, para los estudios de depresión que usan animales de experimentación.

En caso de un modelo animal realista de depresión, en el que se crean síntomas correspondientes a la depresión exponiendo los animales a una situación similar para poder evocar enfermedades humanas correspondientes, se vuelve posible un estudio sobre los defectos fisiológicos, que residen como causas en las enfermedades. Tales modelos animales realistas de depresión evocan la depresión en animales principalmente añadiendo estrés tal como aislamiento, choque eléctrico, nado forzado, cambios ambientales y cambios de temperatura, etcétera.

Para someter a prueba la eficacia de los compuestos sobre una depresión inducida por estrés, se usó un modelo animal de estrés por restricción. Tras evocar síntomas de depresión en un ratón correspondientes a una depresión humana exponiéndolo a una condición con estrés en la que se le colocó en un espacio estrecho para que no pudiera moverse, se sometió a prueba si los compuestos tienen algún efecto antidepresión tras el tratamiento a este animal.

Se usaron ratones C57BL/6 macho de nueve semanas de edad que pesaban 20-23 g de peso corporal en la totalidad de este estudio. Se mantuvieron los animales de experimentación en una sala de cría de animales con un ciclo de 12 h de oscuridad/12 h de luz y se albergaron a razón de 5~6 ratones por jaula a los que se les suministró libremente agua y alimentación. Los ratones consistían en 11 animales por grupo que se asignaron aleatoriamente a los grupos de tratamiento.

Se suspendió el compuesto 2 en disolución de Lutrol al 10% y se administraron todas las disoluciones en suspensión por vía oral a los ratones dos veces al día a un volumen de 5 ml/kg. Se trató el grupo control sólo con disolución de Lutrol al 10% de la misma manera. Todos los tratamientos de fármacos o vehículo se administraron a los animales 1 hora antes de la prueba (n=11/grupo).

1. Control 1 (vehículo, Lutrol al 10%)
2. Compuesto 2, 2,5 mg/kg (administración oral, dos veces al día (BID))
3. Compuesto 2, 5 mg/kg (administración oral, dos veces al día (BID))
4. Control 2 (Lutrol al 10%) + estrés por restricción

5. Compuesto 2, 2,5 mg/kg (administración oral, dos veces al día (BID)) + estrés por restricción

6. Compuesto 2, 5 mg/kg (administración oral, dos veces al día (BID)) + estrés por restricción

Se sometieron los animales a estrés por restricción una hora tras administrarse por vía oral el compuesto 2 o Lutrol al 10%. Se expusieron los ratones a estrés por restricción cada día 2 h durante 14 días y recibieron una prueba de nado forzado tal como el <ejemplo 4> como índice para la depresión.

En la figura 5, se mostraron los resultados. El tiempo de inmovilidad aumentó significativamente en el 16% en el grupo control con estrés que recibió estrés durante 2 semanas (control 2) en comparación con el grupo control sin estrés (control 1). Sin embargo, el tiempo de inmovilidad en todos los grupos tratados con el compuesto 2 disminuyó significativamente a dosis de 2,5 mg/kg y 5 mg/kg en el 32% y el 39%, respectivamente, en comparación con el grupo control con estrés (control 2).

Además, para determinar el efecto del tratamiento a largo plazo del compuesto 2 sobre la depresión, se realizó una prueba de nado forzado tras la administración del compuesto 2 durante 2 semanas. El tiempo de inmovilidad disminuyó significativamente en los grupos tratados con el compuesto 2 a dosis de 2,5 mg/kg y 5 mg/kg en el 21% y el 26%, respectivamente, en comparación con el grupo sin estrés (control 1).

<Ejemplo 6> Efecto ansiolítico del compuesto 2 sobre ansiedad inducida por estrés

Para evaluar el efecto del compuesto 2 sobre ansiedad inducida por estrés, se usó un modelo animal de estrés por restricción. Se evocó ansiedad exponiendo a un estrés en el que se restringió a un ratón a estar inmóvil en un espacio estrecho, y si el compuesto podía mostrar un efecto ansiolítico tras la administración a los animales.

Cuando se exponen los animales de experimentación a estrés, se producen diversos cambios fisiológicos, que pueden medirse a través de varias pruebas de comportamiento. En este estudio, se evaluó la ansiedad de los animales de experimentación mediante un laberinto elevado en cruz (EPM, *elevated plus maze*). El aparato de EPM consistía en dos brazos abiertos y dos brazos cerrados que se cruzan horizontalmente. Está diseñado que la trayectoria cruzada esté ubicada 60 cm por encima del suelo para que los animales sientan ansiedad.

Se usaron ratones C57BL/6 macho de nueve semanas de edad que pesaban 20-23 g de peso corporal en la totalidad de este estudio. Se mantuvieron los animales de experimentación en una sala de cría de animales con un ciclo de 12 h de oscuridad/12 h de luz y se albergaron a razón de 8 ratones por jaula a los que se les suministró libremente agua y alimentación. Los ratones consistían en 16 animales por grupo que se asignaron aleatoriamente a los grupos de tratamiento.

Se suspendió el compuesto 2 en disolución de Lutrol al 10% y se administraron todas las disoluciones en suspensión por vía oral a los ratones a un volumen de 5 ml/kg. Se trató el grupo control sólo con disolución de Lutrol al 10% de la misma manera. Todos los tratamientos de fármacos o vehículo se administraron a los animales 1 hora antes de la prueba (n=16/grupo).

1. Control 1 (Lutrol al 10%)

2. Control 2 (Lutrol al 10%) + estrés por restricción

3. Compuesto 2, 2,5 mg/kg (administración oral, dos veces al día (BID)) + estrés por restricción

4. Compuesto 2, 5 mg/kg (administración oral, dos veces al día (BID)) + estrés por restricción

Se sometieron los animales a estrés por restricción una hora tras administrarse por vía oral el compuesto 2 o Lutrol al 10%. Se expusieron los ratones a estrés por restricción cada día 2 h durante 14 días y recibieron una prueba de laberinto elevado en cruz como índice para la ansiedad.

El día del experimento, se expusieron los animales a estrés por restricción tras aclimatarse los animales a la sala de pruebas a lo largo de 60 minutos, y entonces se les administró por vía oral el compuesto. Una hora tras la administración oral del compuesto 2 o Lutrol, se colocaron los animales de experimentación en el centro del EPM y se registraron los comportamientos de los animales durante 5 minutos en total usando una cámara montada en el techo y un programa informático [Etho vision 3.0 (Noldus Information Technology)]. Se expresaron los datos recopilados como el % de tiempo pasado en los brazos abiertos y se realizó el análisis estadístico usando ANOVA de un factor seguido por comparaciones *post hoc* mediante LSD (*Least significant difference*, diferencia mínima significativa).

En la figura 6, se mostraron los resultados. Cuando se observó el % de tiempo pasado en brazo abierto, la tasa mostró el 21% y el 9% en los grupos sin estrés (control 1) y con estrés (control 2), respectivamente, lo que sugiere

que se indujo ansiedad mediante estrés crónico actual. Por otra parte, el % de tiempo pasado en brazo abierto aumentó significativamente en el grupo tratado con el compuesto 2 a dosis de 2,5 mg/kg y 5 mg/kg en el 24% y el 23%, respectivamente, en comparación con el grupo con estrés (control 2), lo que muestra niveles similares a los del grupo sin estrés (control 1).

Aplicabilidad industrial

La presente invención proporciona un derivado del ácido 5-bencilaminosalicílico seleccionado del grupo que consiste en ácido 2-hidroxi-5-[2-(4-trifluorometil-fenil)-etilamino]-benzoico, ácido 2-acetoxi-5-[2-(4-trifluorometil-fenil)-etilamino]-benzoico o sus sales farmacéuticamente aceptables para su uso en el tratamiento o la prevención de trastorno por estrés agudo, trastorno por estrés postraumático o depresión.

REIVINDICACIONES

1. Derivado del ácido 5-bencilaminosalicílico seleccionado del grupo que consiste en ácido 2-hidroxi-5-[2-(4-trifluorometil-fenil)-etilamino]-benzoico, ácido 2-acetoxi-5-[2-(4-trifluorometil-fenil)-etilamino]-benzoico o sus sales farmacéuticamente aceptables para su uso en el tratamiento o la prevención de trastorno por estrés agudo, trastorno por estrés postraumático o depresión.

Fig 1

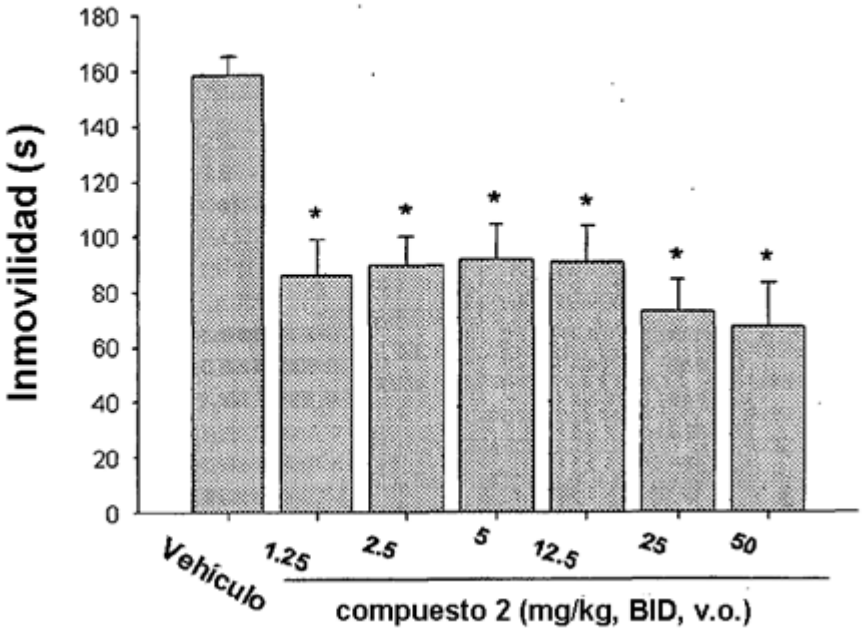

Inmovilidad (s)
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
*
Vehículo
1.25
2.5
5
12.5
25
50
compuesto 2 (mg/kg, BID, v.o.)

Fig 2

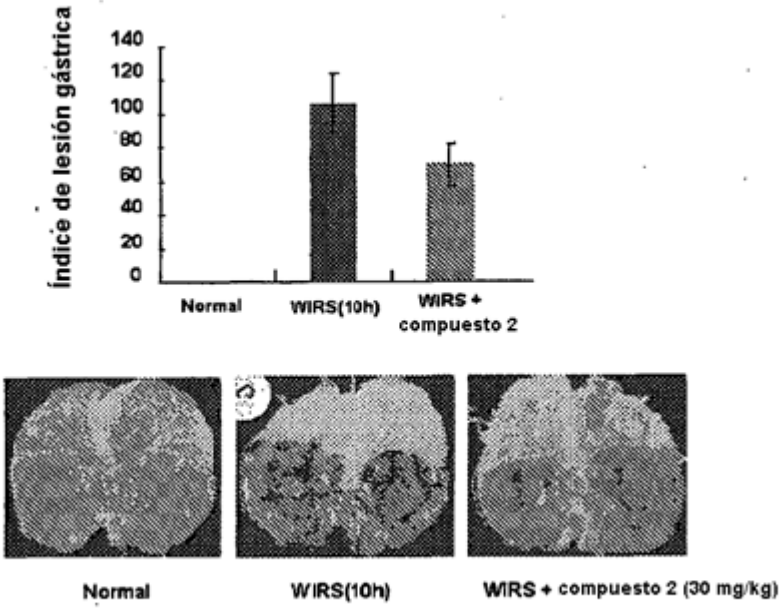

Índice de lesión gástrica
140
120
100
80
60
40
20
0
Normal
WIRS(10h)
WIRS + compuesto 2
Normal
WIRS(10h)
WIRS + compuesto 2 (30 mg/kg)

Fig 3

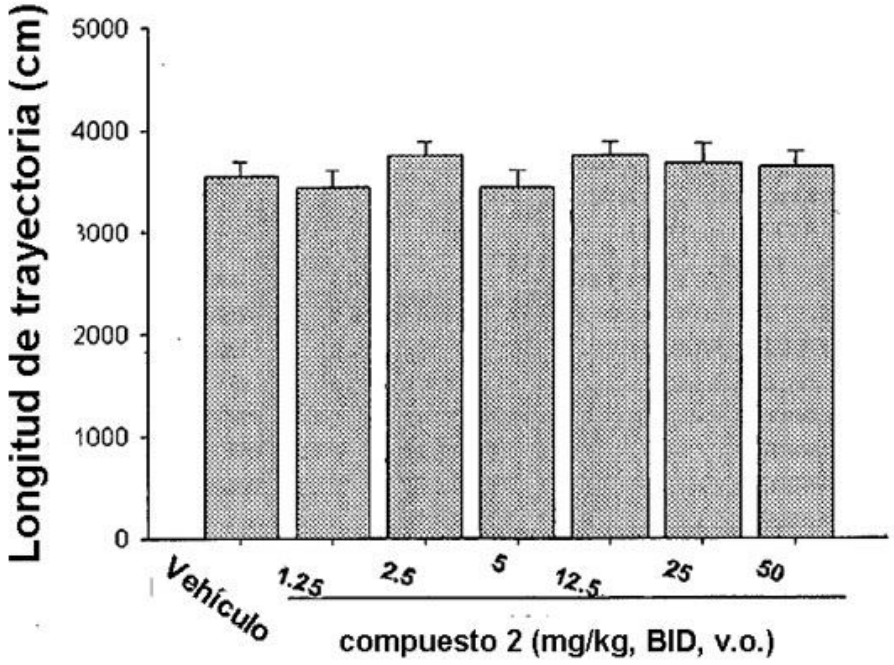

Longitud de trayectoria (cm)
5000
4000
3000
2000
1000
0
Vehículo
1.25
2.5
5
12.5
25
50
compuesto 2 (mg/kg, BID, v.o.)

Fig 4

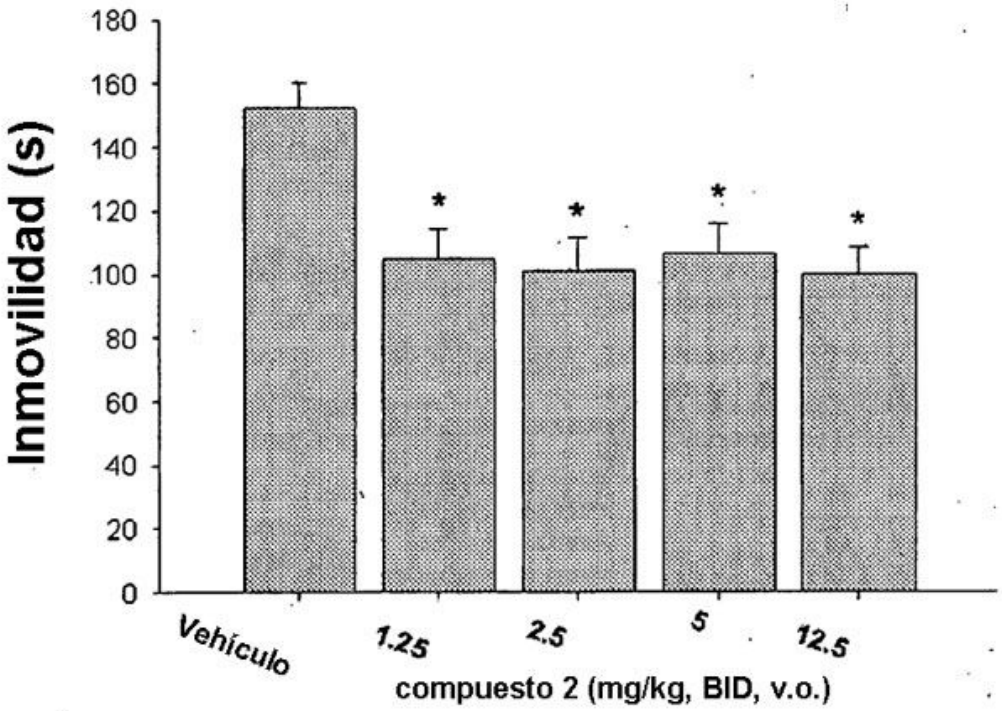

Inmovilidad (s)
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
*
*
*
*
Vehículo
1.25
2.5
5
12.5
compuesto 2 (mg/kg, BID, v.o.)

Fig 5

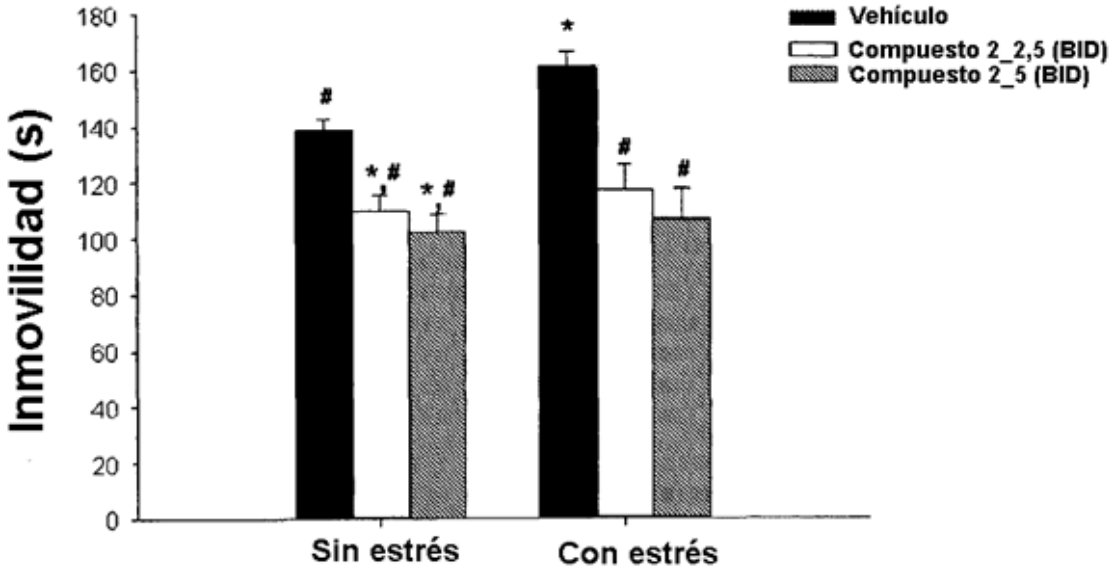
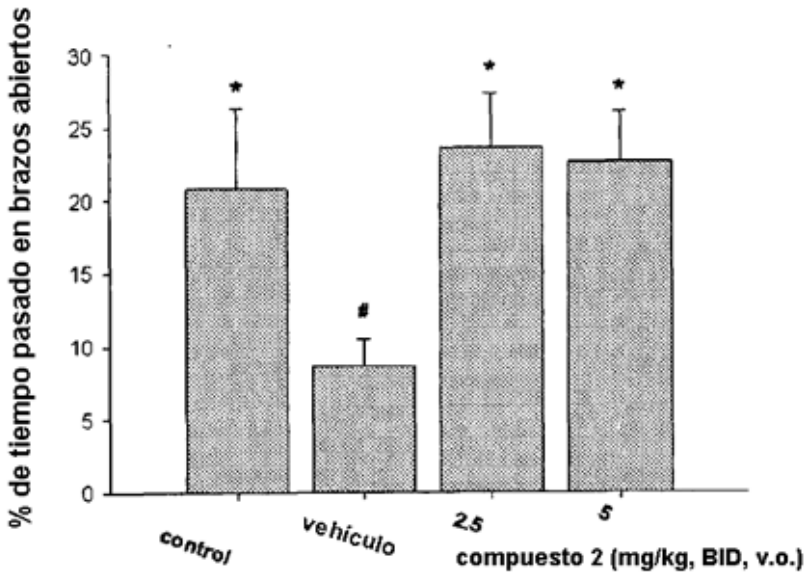

Vehículo
Compuesto 2_2,5 (BID)
Compuesto 2_5 (BID)
Inmovilidad (s)
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
Sin estrés
Con estrés

Fig 6


% de tiempo pasado en brazos abiertos
30
25
20
15
10
5
0
control
vehículo
2.5
5
compuesto 2 (mg/kg, BID, v.o.)