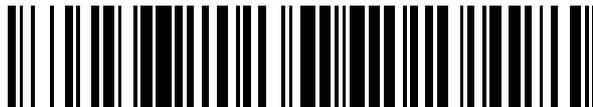


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 578 779**

51 Int. Cl.:

C07D 491/22 (2006.01)

A61K 31/404 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.06.2010 E 10731662 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.03.2016 EP 2448943**

54 Título: **Enantiómeros de compuestos de espiro-oxindol y sus usos como agentes terapéuticos**

30 Prioridad:

29.06.2009 US 221424 P

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

01.08.2016

73 Titular/es:

**XENON PHARMACEUTICALS INC. (100.0%)
3650 Gilmore Way
Burnaby, BC V5G 4W8, CA**

72 Inventor/es:

**CHAFEEV, MIKHAIL;
FU, JIANMIN y
CADIEUX, JEAN-JACQUES**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 578 779 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

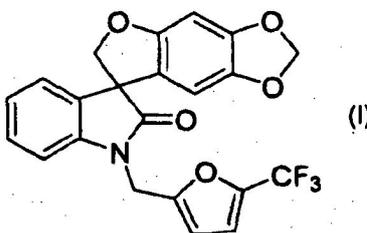
Enantiómeros de compuestos de espiro-oxindol y sus usos como agentes terapéuticos

Campo de la invención

5 Esta invención se dirige a un enantiómero específico de un compuesto de espiro-oxindol, específicamente al uso del enantiómero en tratamientos humanos o veterinarios, para tratar enfermedades o afecciones en un mamífero, preferiblemente un ser humano, que mejoran o se alivian mediante la modulación, preferiblemente la inhibición de canales de sodio regulados por voltaje.

Antecedentes de la invención

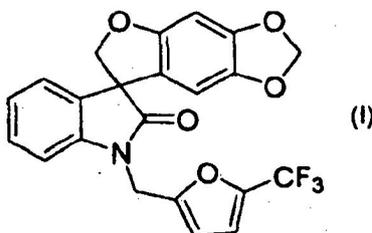
10 La solicitud de patente publicada PCR nº WO 2006/110917 describe determinados compuestos de espiro-oxindol, en particular, la 1'-[[5-(trifluorometil)furan-2-il]metil]espiro[furo[2,3-f][1,3]benzodioxol-7,3'-indol]-2'(1'H)-ona, es decir, el compuesto de la siguiente fórmula (I):



15 Estos compuestos se describen en la misma como útiles en el tratamiento de enfermedades o afecciones, tales como dolor, en mamíferos, preferiblemente seres humanos, que mejoran o alivian por modulación, preferiblemente inhibición, de canales de sodio regulados por voltaje.

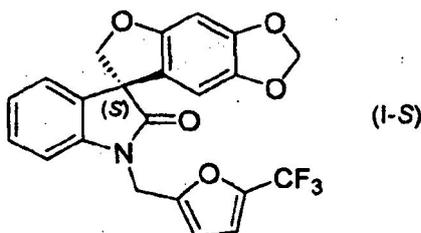
Resumen de la invención

La presente invención se dirige al descubrimiento de que el enantiómero (S) y el enantiómero (R) del siguiente compuesto de fórmula (I):



20 demuestran una diferencia en potencia para la inhibición de la actividad de canales de sodio regulados por voltaje. El problema de la presente invención se resuelve basándose en las reivindicaciones 1 a 9.

Por consiguiente, en un aspecto, la invención proporciona el enantiómero (S) de la 1'-[[5-(trifluorometil)furan-2-il]metil]espiro[furo[2,3-f][1,3]benzodioxol-7,3'-indol]-2'(1'H)-ona, es decir, el enantiómero (S) que tiene la siguiente fórmula (I-S):



25 o uno de sus solvatos farmacéuticamente aceptables. Preferiblemente, el enantiómero (S) carece sustancialmente del enantiómero (R).

En otro aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende el enantiómero (S), o uno de sus solvatos farmacéuticamente aceptables, como se ha expuesto antes, preferiblemente sustancialmente exento

del enantiómero (*R*), y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

En una realización, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende el enantiómero (*S*), o uno de sus solvatos farmacéuticamente aceptables, como se ha expuesto antes, preferiblemente sustancialmente exento del enantiómero (*R*), en un vehículo farmacéuticamente aceptable y en una cantidad eficaz para tratar enfermedades o afecciones relacionadas con el dolor, cuando se administran a un animal, lo más preferiblemente un ser humano.

En otro aspecto, la solicitud ilustra la terapia farmacéutica en combinación con el enantiómero (*S*), o uno de sus solvatos farmacéuticamente aceptables, como se ha expuesto antes, preferiblemente sustancialmente exento del enantiómero (*R*), y una o más de otras terapias existentes o como cualquier combinación de las mismas, para aumentar la eficacia de una terapia con fármacos existente o futura, o para disminuir los acontecimientos adversos asociados con la terapia con fármacos existente o futura. En una realización, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que combina el enantiómero (*S*), o uno de sus solvatos farmacéuticamente aceptables, como se ha expuesto antes, preferiblemente sustancialmente exento del enantiómero (*R*), con terapias establecidas o futuras para las indicaciones citadas en la invención.

En otro aspecto, la invención proporciona el enantiómero (*S*), como se ha expuesto antes, o uno de sus solvatos farmacéuticamente aceptables, para usar en el tratamiento de una enfermedad o una afección en un mamífero, preferiblemente un ser humano, en donde la enfermedad o afección se selecciona del grupo que consiste en dolor, depresión, enfermedades cardiovasculares, enfermedades respiratorias, enfermedades psiquiátricas, enfermedades neurológicas y convulsiones, y combinaciones de las mismas.

En otro aspecto, la invención proporciona el enantiómero (*S*), o uno de sus solvatos farmacéuticamente aceptables, como se ha expuesto antes, preferiblemente sustancialmente exento del enantiómero (*R*), para usar en el tratamiento del dolor en un mamífero, preferiblemente un ser humano.

En otro aspecto, la invención proporciona el enantiómero (*S*), o uno de sus solvatos farmacéuticamente aceptables, como se ha expuesto antes, preferiblemente sustancialmente sin el enantiómero (*R*), para usar en el tratamiento o reducción de la gravedad de una enfermedad, afección o trastorno, donde la activación o hiperactividad de una o más proteínas de canales de sodio regulados por voltaje, incluyendo $\text{Na}_v1.1$, $\text{Na}_v1.2$, $\text{Na}_v1.3$, $\text{Na}_v1.4$, $\text{Na}_v1.5$, $\text{Na}_v1.6$, $\text{Na}_v1.7$, $\text{Na}_v1.8$, o $\text{Na}_v1.9$, está implicada en la enfermedad, afección o trastorno.

En otro aspecto, la invención proporciona el enantiómero (*S*), o uno de sus solvatos farmacéuticamente aceptables, como se ha expuesto antes, preferiblemente sustancialmente exento del enantiómero (*R*), para usar en el tratamiento de enfermedades o afecciones en mamíferos, preferiblemente seres humanos, que están asociadas con la actividad de los canales de sodio regulados por voltaje. Por consiguiente, la invención proporciona el enantiómero (*S*), o uno de sus solvatos farmacéuticamente aceptables, como se ha expuesto antes, preferiblemente sustancialmente exento del enantiómero (*R*), para usar en el tratamiento de enfermedades o afecciones en mamíferos, preferiblemente seres humanos, que mejoran o se alivian por la modulación, preferiblemente inhibición, de los canales de sodio regulados por voltaje. Los ejemplos de dichas enfermedades o afecciones incluyen dolor de cualquier naturaleza y origen, dolor asociado con el VIH, neuropatía inducida por el tratamiento del VIH, neuralgia del trigémino, neuralgia postherpética, neuropatía diabética, síndrome de dolor regional complejo (CRPS), trastorno de dolor extremo paroxístico (PEPD), eudinia, sensibilidad al calor, sarcoidosis, síndrome del intestino irritable, enfermedad de Crohn, dolor asociado con la esclerosis múltiple (EM), deterioro motor asociado con la EM, esclerosis lateral amiotrófica (ELA), prurito, hipercolesterolemia, hiperplasia prostática benigna, neuropatía periférica, artritis, artritis reumatoide, osteoartritis, distonía paroxística, parálisis periódica, síndromes de miastenia, miotonía, hipertermia maligna, fibrosis quística, pseudoaldosteronismo, rhabdomiolisis, depresión bipolar, ansiedad, esquizofrenia, enfermedad debido a la exposición a insecticidas u otros agentes que promueven hiperexcitabilidad neuronal o muscular, eritemalgia familiar, eritemalgia secundaria, dolor rectal familiar, dolor facial familiar, migraña, cefalea, cefalea neuralgiforme, migraña hemipléjica familiar, afecciones asociadas con dolor cefálico, cefalea sinusal, cefalea tensional, dolor de miembro fantasma, lesión del nervio periférico, cáncer, epilepsia, convulsiones tónicas parciales y generalizadas, síndrome de piernas inquietas, arritmias, fibromialgia, neuroprotección en condiciones isquémicas causadas por accidente cerebrovascular, glaucoma o traumatismo neuronal, taquiarritmias, fibrilación auricular y fibrilación ventricular.

En otro aspecto, la invención proporciona el enantiómero (*S*), o uno de sus solvatos farmacéuticamente aceptables, como se ha expuesto antes, preferiblemente sustancialmente exento del enantiómero (*R*), para usar en el tratamiento de una enfermedad o afección en un mamífero, preferiblemente un ser humano, por la inhibición del flujo de iones a través de un canal de sodio regulado por voltaje en el mamífero.

En otro aspecto, la invención proporciona el enantiómero (*S*), o uno de sus solvatos farmacéuticamente aceptables, como se ha expuesto antes, preferiblemente sustancialmente exento del enantiómero (*R*), para usar para disminuir el flujo de iones a través de un canal de sodio regulado por voltaje en una célula en un mamífero.

La invención proporciona además el enantiómero (*S*), o uno de sus solvatos farmacéuticamente aceptables, como se ha expuesto antes, preferiblemente sustancialmente exento del enantiómero (*R*), en la preparación de una

composición de medicamento en el tratamiento de una enfermedad o afección que está asociada con la actividad de un canal de sodio regulado por voltaje. Por consiguiente, la invención proporciona el uso del enantiómero (S), o uno de sus solvatos farmacéuticamente aceptables, como se ha expuesto antes, preferiblemente sustancialmente exento del enantiómero (R), en la preparación de una composición de medicamento en el tratamiento de una enfermedad o afección que mejora o se alivia por la modulación, preferiblemente inhibición de un canal de sodio regulado por voltaje.

Breve descripción de los dibujos

Los siguientes dibujos forman parte de la presente memoria descriptiva y están incluidos para demostrar además algunos aspectos de la presente invención. La invención se puede entender mejor por referencia a uno o más de estos dibujos en combinación con la descripción detallada de las realizaciones específicas presentadas en la presente memoria.

La figura 1 muestra la relación concentración-respuesta para los enantiómeros (S) y (R) en el ensayo de flujo de entrada de guanidina del ejemplo biológico 1 en la presente memoria.

La figura 2 muestra la comparación de la eficacia de los enantiómeros (S) y (R) con la administración oral en un modelo de dolor inflamatorio del ejemplo biológico 3 en la presente memoria.

La figura 3 muestra la comparación de la eficacia de los enantiómeros (S) y (R) con la administración tópica en un modelo de dolor neuropático del ejemplo biológico 3 en la presente memoria.

La figura 4 muestra el transcurso del tiempo del picor inducido por histamina en ratones no tratados en el ensayo in vivo descrito en el ensayo biológico 7. Los datos se expresan como la media \pm EE de ataques de picor.

La figura 5 muestra la eficacia contra el picor inducido por histamina de una pomada aplicada por vía tópica que contenía 8% (p/v) del enantiómero (S). Los datos se expresan como la media \pm EE de ataques de picor.

La figura 6 muestra la eficacia del enantiómero (S) contra el picor inducido por histamina cuando se administra por vía oral en lugar de por vía tópica. Los datos se expresan como la media \pm EE de ataques de picor.

Descripción detallada de la invención

Definiciones

Como se usa en la memoria descriptiva y reivindicaciones adjuntas, salvo que se especifique lo contrario, los siguientes términos tienen los significados indicados:

“Analgésia” se refiere a una ausencia de dolor en respuesta a un estímulo que normalmente sería doloroso.

“Alodinia” se refiere a una afección en la que una sensación normalmente inocua, tal como presión o toque ligero, se percibe como dolorosa.

“Enantiómeros” se refiere a moléculas asimétricas que pueden existir en dos formas isómeras diferentes que tienen diferentes configuraciones espaciales. Otros términos usados para designar o referirse a los enantiómeros incluyen “estereoisómeros” (debido a la diferente disposición o estereoquímica alrededor del centro quiral; aunque todos los enantiómeros son estereoisómeros no todos los estereoisómeros son enantiómeros) o “isómeros ópticos” (debido a la actividad óptica de los enantiómeros puros, que es la capacidad de los diferentes enantiómeros puros para rotar el plano de luz polarizada en diferentes direcciones). Debido a que no tienen un plano de simetría, los enantiómeros no son idénticos con sus imágenes especulares; las moléculas que existen en dos formas enantiómeras son quirales, lo que significa que se puede considerar que se presentan en la forma “izquierda” y “derecha”. La causa más común de quiralidad en moléculas orgánicas es la presencia de un carbono tetraédrico unido a cuatro grupos o sustituyentes diferentes. Dicho carbono se denomina un centro quiral o centro estereogénico. Un método para indicar la disposición tridimensional de los átomos (o la configuración) en un centro estereogénico es referirse a la disposición de la prioridad de los grupos cuando el grupo de menor prioridad está orientado alejándose de un observador hipotético: si la disposición de los tres grupos que quedan desde el de mayor al de menor prioridad es en el sentido de las agujas del reloj, el centro estereogénico tiene una configuración “R” (o “D”); si la disposición está en el sentido contrario de las agujas del reloj, el centro estereogénico tiene una configuración “S” (o “L”).

Los enantiómeros tienen la misma fórmula química empírica, y en general son químicamente idénticos en sus reacciones, sus propiedades físicas y sus propiedades espectroscópicas. Sin embargo, los enantiómeros presentan diferente reactividad química hacia otros compuestos asimétricos, y responden de forma diferente hacia alteraciones físicas asimétricas. La alteración física más común es la luz polarizada.

Un enantiómero puede rotar el plano de luz polarizada; por lo tanto, un enantiómero es ópticamente activo. Dos enantiómeros diferentes del mismo compuesto rotarán el plano de luz polarizada en direcciones opuestas; por lo tanto, la luz puede ser rotada a la izquierda o en el sentido contrario de las agujas del reloj para un observador hipotético (es decir, levorrotatorio o “l” o menos), o puede ser rotada a la derecha o en el sentido de las agujas del

reloj (es decir, dextrorrotatorio o "d" o más o "+"). El signo de rotación óptica (+) o (-) no está relacionado con la designación R, S. Una mezcla de cantidades iguales de dos enantiómeros quirales se llama mezcla racémica, o racemato, y se indica por el símbolo (+/-) o por el prefijo "d,l" para indicar una mezcla de formas dextrorrotatorias y levorrotatorias. El compuesto de fórmula (I), como se describe en la presente memoria, es un racemato. Los racematos o mezclas racémicas muestran rotación óptica cero porque están presentes cantidades iguales de las formas (+) o (-). En general, la presencia de un solo enantiómero rota la luz polarizada en una sola dirección; por lo tanto, un solo enantiómero se denomina ópticamente puro.

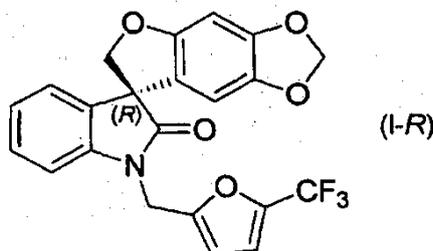
Las designaciones "R" y "S" se usan para indicar la configuración absoluta de la molécula alrededor de su o sus centros quirales. Las designaciones pueden aparecer como un prefijo o como un sufijo; pueden estar separadas o no del nombre del enantiómero por un guion; pueden llevar guion o no; y pueden estar o no entre paréntesis.

Las designaciones o prefijos "(+)" y "(-)" se usan en la presente memoria para indicar el signo de rotación del plano de luz polarizada del compuesto, significando (-) que el compuesto es levorrotatorio (rota hacia la izquierda). Un compuesto que lleva el prefijo (+) es dextrorrotatorio (rota a la derecha).

La "resolución" o "resolver" cuando se usa en referencia a un compuesto o mezcla racémica se refiere a la separación de un racemato en sus dos formas enantiómeras (es decir, formas (+) y (-); (R) y (S)).

"Exceso enantiomérico" o "ee" se refiere a un producto en donde un enantiómero está presente en exceso respecto al otro, y se define por la diferencia absoluta en la fracción molar de cada enantiómero. El exceso enantiomérico típicamente se expresa como un porcentaje de un enantiómero presente en una mezcla con respecto al otro enantiómero. Para los propósitos de esta invención, el enantiómero (S) de la invención se considera que "está sustancialmente exento" del enantiómero (R) cuando el enantiómero (S) está presente en un exceso enantiomérico mayor de 80%, preferiblemente mayor de 90%, más preferiblemente mayor de 95%, y lo más preferiblemente mayor de 99%.

El protocolo de nomenclatura química y diagramas de estructuras usados en la presente memoria son una forma modificada del sistema de nomenclatura de la I.U.P.A.C., usando el programa de software ACD/Name Versión 9.07. Por ejemplo, el compuesto de fórmula (I) como se ha expuesto antes en el resumen de la invención, se nombra en la presente memoria como 1'-{[5-(trifluorometil)furan-2-il]metil}espiro[furo[2,3-f][1,3]benzodioxol-7,3'-indol]-2'(1'H)-ona. El correspondiente enantiómero (S), es decir el enantiómero (S) de fórmula (I-S), como se ha expuesto antes en el resumen de la invención, se nombra en la presente memoria como (S)-1'-{[5-(trifluorometil)furan-2-il]metil}espiro[furo[2,3-f][1,3]benzodioxol-7,3'-indol]-2'(1'H)-ona. El correspondiente enantiómero (R), el enantiómero (R) de la siguiente fórmula (I-R):



o uno de sus solvatos o profármacos farmacéuticamente aceptable, se nombra en la presente memoria como (R)-1'-{[5-(trifluorometil)furan-2-il]metil}espiro[furo[2,3-f][1,3]benzodioxol-7,3'-indol]-2'(1'H)-ona.

"Profármacos" se entiende que indica un compuesto que se puede convertir en condiciones fisiológicas o por solvolisis en un compuesto biológicamente activo de la invención. Por lo tanto, el término "profármaco" se refiere a un precursor metabólico de un compuesto de la invención que es farmacéuticamente aceptable. Un profármaco puede ser inactivo cuando se administra a un sujeto que lo necesite, pero se convierte in vivo en un compuesto activo de la invención. Los profármacos típicamente se transforman rápidamente in vivo para dar el compuesto original de la invención, por ejemplo, por hidrólisis en la sangre. El compuesto profármaco a menudo ofrece ventajas de solubilidad, compatibilidad de tejido o liberación retardada en un organismo mamífero (véase, Bundgard, H., *Design of Prodrugs* (1985), pág. 7-9, 21-24 (Elsevier, Amsterdam)). Se proporciona una descripción de profármacos en Higuchi, T., et al., "Pro-drugs as Novel Delivery Systems," A.C.S. Symposium Series, Vol. 14, y en *Bioversible Carriers in Drug Design*, Ed. Edward B. Roche, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987.

El término "profármaco" también significa que incluye cualquier vehículo covalentemente unido, que libera el compuesto activo de la invención in vivo, cuando se administra dicho profármaco a un sujeto mamífero. Los profármacos de un compuesto de la invención se pueden preparar modificando grupos funcionales presentes en el compuesto de la invención, de modo que las modificaciones sean escindidas, por manipulación rutinaria o in vivo, al compuesto original de la invención. Los profármacos incluyen compuestos de la invención en donde un grupo hidroxilo, amino o mercapto está unido a cualquier grupo que, cuando el profármaco del compuesto de la invención se administra a un sujeto mamífero, se escinde para formar un grupo hidroxilo libre, grupo amino libre o grupo mercapto

libre, respectivamente. Los ejemplos de profármacos incluyen derivados de acetato, formiato y benzoato de alcohol o derivados de amida de grupos funcionales amina en los compuestos de la invención.

La invención descrita en la presente memoria también se entiende que abarca el enantiómero (*S*) y el enantiómero (*R*) descritos en la presente memoria que están marcados con isótopos al tener uno o más átomos sustituidos por un átomo que tiene una masa atómica o número másico diferente. Los ejemplos de isótopos que se pueden incorporar en los compuestos descritos incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, tales como ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{13}N , ^{15}N , ^{16}O , ^{17}O , ^{18}O y ^{18}F , respectivamente. Estos compuestos radiomarcados podrían ser útiles para ayudar a determinar o medir la eficacia de los compuestos, caracterizando, por ejemplo, el sitio o modo de acción en los canales de sodio regulados por voltaje, o la afinidad de unión a un sitio de acción farmacológicamente importante en los canales de sodio regulados por voltaje. Los compuestos marcados con isótopos son útiles en estudios de distribución tisular de fármaco y/o sustrato. Los isótopos radiactivos tritio, es decir, ^3H , y carbono-14, es decir ^{14}C , son particularmente útiles para este propósito en vista de su facilidad de incorporación y medio de detección fácil. Un radioligando que incorpora tritio (^3H) es particularmente útil para los estudios de unión de ligandos con membranas que contienen canales de sodio regulados por voltaje, porque el tritio tiene una semivida de desintegración larga y la emisión es de energía relativamente baja y por lo tanto, el radioisótopo es relativamente seguro. El radioligando se prepara típicamente por intercambio de un hidrógeno de un compuesto no marcado por tritio. La identificación de los enantiómeros activos e inactivos de un racemato particular facilita el desarrollo de un ensayo de una unión de ligando porque el enantiómero inactivo no marcado se puede añadir al ensayo para reducir, eliminar o controlar de otra forma la unión no específica del enantiómero activo tritiado.

La sustitución con isótopos más pesados tales como deuterio, es decir, ^2H , puede proporcionar algunas ventajas terapéuticas que resultan de la mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, mayor semivida in vivo o menos requisitos de dosificación, y por lo tanto se pueden preferir en algunas circunstancias.

La sustitución con isótopos de emisión de positrones, tales como ^{11}C , ^{18}F , ^{16}O y ^{13}N , pueden ser útiles en los estudios de topografía de emisión de positrones (PET) para examinar la ocupación del receptor por el sustrato. Los enantiómeros marcados con isótopos de la invención, en general se pueden preparar por técnicas convencionales conocidas para los expertos en la técnica, o por procedimientos análogos a los descritos en la presente memoria, usando un reactivo marcado con isótopos adecuado en lugar del reactivo no marcado previamente usado.

La solicitud también ilustra los productos metabólicos in vivo de los enantiómeros descritos. Dichos productos pueden resultar, por ejemplo, de la oxidación, reducción, hidrólisis, amidación, esterificación, del compuesto administrado, principalmente debido a procedimientos enzimáticos. Por consiguiente, la invención incluye productos metabólicos producidos por un procedimiento que comprende poner en contacto un enantiómero de esta invención con un mamífero, durante un periodo de tiempo suficiente para dar el producto metabólico. Dichos productos metabólicos se pueden identificar administrando un enantiómero radiomarcado de la invención en una dosis detectable a un animal, tal como rata, ratón, cobayo, mono o ser humano, permitiendo suficiente tiempo para que se produzca el metabolismo, y aislando el producto metabólico de la orina, sangre y otras muestras biológicas.

“Selectividad” y “selectivo” como se usa en la presente memoria es una medida relativa de la tendencia de un compuesto de la invención para asociarse con preferencia con una cosa en oposición a otra (o grupo de otras), como entre canales de sodio regulados por voltaje. Por ejemplo, la selectividad se puede determinar por mediciones comparativas de las cinéticas y afinidad de unión en equilibrio y/o medidas funcionales del transporte de iones a través de los canales de sodio regulados por voltaje. La tendencia de un compuesto a asociarse con un canal de sodio regulado por voltaje se puede medir por muchas técnicas diferentes, y muchos tipos de asociación conocidos para los expertos en la técnica, como se describe en otra parte en la presente memoria. Selectividad significa que en un tipo particular de asociación, medida de una forma específica, un compuesto demuestra una tendencia o preferencia a asociarse con un canal de sodio regulado por voltaje en oposición a uno o más de otros canales de sodio regulados por voltaje. Esta asociación puede ser diferente para diferentes tipos de ensayos o diferentes formas de medición.

“Enantiómero estable” y “estructura estable” se entiende que indican un compuesto que es suficientemente fuerte para sobrevivir al aislamiento en un grado suficiente de pureza de una mezcla de reacción, y a la formulación en un agente terapéutico eficaz.

“Mamífero” incluye seres humanos y tanto animales domésticos como animales de laboratorio y mascotas domésticas (p. ej., gatos, perros, cerdos, ganado, ovejas, cabras, caballos y conejos) como animales no domésticos tales como fauna silvestre.

“Vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable” incluye sin limitación cualquier adyuvante, vehículo, excipiente, deslizante, agentes edulcorante, diluyente, conservante, tinte/colorante, potenciador del sabor, tensioactivo, agente humectante, agente de dispersión, agente de suspensión, estabilizante, agente isotónico, disolvente o emulsionante, que ha sido aprobado, por ejemplo pero no de forma limitante, por la Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos, Sistema de Salud de Canadá o la Agencia Europea de Medicamentos, como aceptable para uso en seres humanos o animales domésticos.

Una "composición farmacéutica" se refiere a una formulación de un compuesto de la invención y un medio aceptado en general en la técnica para el suministro del compuesto biológicamente activo a mamíferos, p. ej., seres humanos. Dicho medio incluye por lo tanto todos los vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.

- 5 Las composiciones farmacéuticas de la invención comprenden uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, que incluyen cualquier disolvente, adyuvante, potenciador de biodisponibilidad, vehículo, deslizante, agente edulcorante, diluyente, conservante, tinte/colorante, potenciador del sabor, tensioactivo, agente humectante, agente dispersante, agente de suspensión, estabilizante, agente isotónico, tampón y/o emulsionante aprobado, por ejemplo pero no de forma limitante, por la Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos, Sistema de Salud de Canadá o la Agencia Europea de Medicamentos, como aceptable para uso en seres humanos o
- 10 animales domésticos. Los excipientes farmacéuticamente aceptables de ejemplo incluyen los siguientes:

alcohol bencílico

benzoato de bencilo

macroglicéridos de caprilocaproilo (p. ej. Labrasol®)

dimetilamina ("DMA")

- 15 etanol

2-(2-etoxietoxi)etanol (p. ej., Transcutol®)

glucosa (solución)

caprilato/caprato de glicerilo y complejo de PEG-8 (polietilenglicol) caprilato/caprato (p. ej., Labrasol®)

alcohol isopropílico

- 20 glicéridos de lauroil-Macrogol-32 (p. ej. Gelucire® 44/14)

hidroxiestearato de macrogol-15 (p. ej., Solutol® HS15)

triglicéridos de cadena media (p. ej., Miglyol® 810, Miglyol® 840 o Miglyol® 812)

aceite de cacahuete

polisorbato 80 (p. ej., Tween® 80)

- 25 polietilenglicol (PEG)

polietilenglicol 400 (PEG400, p. ej., Lutrol® E 400)

polietilenglicol 6000

aceite de ricinio polioxilo 35 (p. ej., Cremophor® EL)

aceite de ricinio hidrogenado polioxilo 40 (p. ej., Cremophor® RH 40)

- 30 propilenglicol (PG)

monocaprilato de propilenglicol (Capryol® 90)

aceite de soja

sulfobutil-éter-β-ciclodextrina (p. ej., Capitsol®)

TPGS (succinato de α-tocoferol y polietilenglicol)

- 35 agua

Se describen excipientes farmacéuticamente aceptables adicionales en la presente memoria.

- 40 Las cristalizaciones a menudo producen un solvato del compuesto de la invención. Como se usa en la presente memoria, el término "solvato" se refiere a un agregado que comprende una o más moléculas de un compuesto de la invención con una o más moléculas de disolvente. El disolvente puede ser agua, en cuyo caso el solvato puede ser un hidrato. Alternativamente, el disolvente puede ser un disolvente orgánico. Por lo tanto, los compuestos de la presente invención puede existir como un hidrato, que incluye un monohidrato, dihidrato, hemihidrato, sesquihidrato, trihidrato, tetrahidrato y similares, así como las formas solvatadas correspondientes. El compuesto de la invención puede ser solvato verdadero, mientras que en otros casos, el compuesto de la invención puede simplemente retener

agua adyuvante o ser una mezcla de agua más algún disolvente adyuvante.

“Cantidad terapéuticamente eficaz” se refiere a la cantidad de un compuesto de la invención que, cuando se administra a un mamífero, preferiblemente un ser humano, es suficiente para efectuar el tratamiento, como se define más adelante, de una enfermedad o afección de interés en el mamífero, preferiblemente un ser humano. La cantidad de un compuesto de la invención que constituye una “cantidad terapéuticamente eficaz” variará dependiendo del compuesto, la afección y su gravedad, la forma de administración, y la edad del mamífero que se va a tratar, pero la puede determinar de forma rutinaria un experto en la técnica teniendo en cuenta su propio conocimiento y esta descripción.

“Tratar” o “tratamiento” como se usa en la presente memoria cubre el tratamiento de la enfermedad o afección de interés en un mamífero, preferiblemente un ser humano, que tiene la enfermedad o afección de interés, e incluye:

(i) prevenir que aparezca la enfermedad o afección en un mamífero, en particular cuando dicho mamífero tiene predisposición a la afección, pero todavía no se ha diagnosticado que la tenga;

(ii) inhibir la enfermedad o afección, es decir, detener su desarrollo;

(iii) aliviar la enfermedad o afección, es decir, producir la remisión de la enfermedad o afección; o

(iv) aliviar los síntomas que resultan de la enfermedad o afección, es decir, aliviar el dolor dirigiéndose o no a la enfermedad o afección subyacente.

Como se usa en la presente memoria, se debe dar a los términos “mejorar”, “mejorado”, “aliviar” o “aliviado” las definiciones aceptables en general. Por ejemplo, “mejorar” significa en general hacer mejorar o mejorar una afección con respecto a la afección antes del suceso de mejora. “Aliviar” significa en general hacer que una afección sea más soportable con respecto a la afección antes del suceso de alivio. Como se usa en la presente memoria, “mejorar” o “mejorado” se puede referir a una enfermedad o afección que se hace mejor o mejora por la administración de un compuesto de la invención. Como se usa en la presente memoria, “aliviar” o “aliviado” se puede referir a una enfermedad o afección que se hace soportable por la administración de un compuesto de la invención. Por ejemplo, “aliviar” dolor incluiría reducir la gravedad o cantidad de dolor.

Como se usa en la presente memoria, los términos “enfermedad”, “trastorno” y “afección” se pueden usar de forma intercambiable o pueden ser diferentes en cuanto que la dolencia o afección puede no tener un agente causante conocido (de modo que todavía no se ha resuelto la etiología) y por lo tanto no se ha reconocido todavía como una enfermedad sino solo como una afección o síndrome indeseable, en donde los médicos han identificado un conjunto más o menos específico de síntomas.

Utilidad y ensayo de los compuestos de la invención

La presente invención se refiere al enantiómero (S) de la 1'-[[5-(trifluorometil)furan-2-il]metil]espiro[furo[2,3-f][1,3]benzodioxol-7,3'-indol]-2'(1'H)-ona, a composiciones farmacéuticas, y al enantiómero (S) de la invención y composiciones farmacéuticas para usar en el tratamiento de enfermedades o afecciones que mejoran o se alivian por la modulación, preferiblemente inhibición, de canales de sodio regulados por voltaje, preferiblemente enfermedades y afecciones relacionadas con el dolor y prurito; afecciones del sistema nervioso central tales como epilepsia, síndrome de piernas inquietas, ansiedad, depresión y enfermedad bipolar; afecciones cardiovasculares tales como arritmias, fibrilación auricular y fibrilación ventricular; afecciones neuromusculares tales como parálisis muscular, miotonía o tétanos; neuroprotección contra accidente cerebrovascular, traumatismo neuronal y esclerosis múltiple; y canalopatías tales como eritromelalgia y síndrome de dolor rectal familiar, administrando a un paciente que necesite dicho tratamiento una cantidad eficaz de un agente de modulación, en especial inhibición, bloqueante del canal de sodio regulado por voltaje, preferiblemente los enantiómeros de la invención.

En general, la presente invención proporciona el enantiómero (S), o uno de sus solvatos o profármacos farmacéuticamente aceptables, como se ha expuesto antes en el resumen de la invención, para usar en el tratamiento de un mamífero, preferiblemente un ser humano, o la protección de un mamífero, preferiblemente un ser humano, del desarrollo de una enfermedad o afección que está asociada con la actividad de los canales de sodio regulados por voltaje, en especial el dolor, en donde el enantiómero (S) modula, preferiblemente inhibe, la actividad de uno o más de los canales de sodio regulados por voltaje.

La familia de proteínas de canales de sodio regulados por voltaje se ha estudiado ampliamente y se ha mostrado que está implicada en una serie de funciones corporales vitales. La investigación en este campo ha identificado variantes de las subunidades alfa que producen cambios importantes en la función y actividades de los canales, que finalmente conducen a afecciones fisiopatológicas importantes. Además, la entrada de flujo de sodio en exceso puede surgir directamente por agentes o factores inflamatorios que producen hiperexcitabilidad. Implícita con la función, se considera que esta familia de proteínas son puntos principales de la intervención terapéutica. Las proteínas de los canales de sodio regulados por voltaje $Na_v1.1$ y $Na_v1.2$ son altamente expresadas en el cerebro (Raymond, C.K., et al., *J. Biol. Chem.* (2004), 279(44):46234-41) y son vitales para el funcionamiento cerebral normal. En seres humanos, las mutaciones en $Na_v1.1$ y $Na_v1.2$ producen estados epilépticos y en algunos casos

deterioro mental y migrañas (Rhodes, T.H., et al., *Proc., Natl. Acad. Sci. USA* (2004), 101(30):11147-52; Kamiya, K., et al., *J. Biol. Chem.* (2004), 24(11):2690-8; Pereira, S., et al., *Neurology* (2004), 63(1):191-2; Meisler, M.H et al., *J. Physiol.* (Lond.) (pendiente de publicación). Como tales ambos canales se han considerado objetivos validados para el tratamiento de la epilepsia (véase la publicación de patente publicada PCT nº WO 01/38564).

5 Nav_v1.3 es expresado principalmente en el sistema nervioso central en animales neonatos y en niveles bajos en todo el cuerpo en adultos (Raymond, C.K., et al., citado antes). Se ha demostrado que tiene su expresión regulada por aumento en las neuronas sensoriales del cuerno dorsal de ratas después de lesión del sistema nervioso (Hains, B.D., et al., *J. Neurosci.* (2003), 23(26):8881-92). Muchos expertos en el campo han considerado Nav_v1.3 como un objetivo adecuado para los tratamientos terapéuticos del dolor porque su expresión es inducida por lesión nerviosa (Lai, J., et al., *Curr. Opin. Neurobiol.* (2003), (3):291-72003; Wood, J.N., et al., *J. Neurobiol.* (2004), 61(1):55-71; Chung, J.M., et al., *Novartis Found Symp.* (2004), 261:19-27; descripciones 27-31, 47-54; Priest, B.T., *Curr. Opin. Drug Discov. Devel.* (2009) 12:682-693).

15 La expresión de Nav_v1.4 está esencialmente limitada al músculo (Raymond, C.K., et al., citado antes). Se ha mostrado que mutaciones en este gen tienen efectos profundos en la función muscular incluyendo la parálisis (Tamaoka A., *Intern. Med.* (2003), (9):769-70). Por lo tanto, este canal se considera un objetivo para el tratamiento de la parálisis periódica, miotonía, contractilidad muscular anómala, espasmos o parálisis.

20 El canal de sodio regulado por voltaje, Nav_v1.5, es expresado principalmente en miocitos cardiacos (Raymond, C.K., et al., citado antes), y se puede encontrar en las aurículas, ventrículos, nódulo sinoauricular, nódulo auriculoventricular y células de Purkinje. La rápida fase ascendente del potencial de acción cardiaco y la rápida conducción de impulsos a través del tejido cardiaco se debe a la apertura de Nav_v1.5. Como tal, Nav_v1.5 está implicado en arritmias cardiacas. Las mutaciones en Nav_v1.5 humano producen múltiples síndromes de arritmias, incluyendo, por ejemplo, QT3 larga (LQT3), síndrome de Brugada (SB), un defecto de la conducción cardiaca hereditaria, síndrome de muerte súbita nocturna inesperada (SUNDS) y el síndrome de muerte súbita del lactante (SMSL) (Liu, H. et al., *Am. J. Pharmacogenomics* (2003), 3(3):173-9; Ruan, Y et al., *Nat. Rev. Cardiol.* (2009) 6: 337-48). El tratamiento con bloqueante de canal de sodio regulado por voltaje se ha usado ampliamente en el tratamiento de arritmias cardiacas. El primer fármaco antiarrítmico, la quinidina, descubierta en 1914, se clasifica como un bloqueante de canal de sodio.

30 Nav_v1.6 codifica un canal de sodio regulado por voltaje abundante, ampliamente distribuido, encontrado por todo los sistemas nervioso central y periférico, agrupado en los nódulos de Ranvier de axones neuronales (Caldwell, J.H., et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (2000), 97(10): 5616-20). Las mutaciones de pérdida de función en ratones produce ataxia y convulsiones (Papale, L.A. et al., *Human Mol. Genetics* (2009) 18, 1633-1641). Aunque no se han detectado mutaciones en seres humanos, se cree que Nav_v1.6 tiene una función en la manifestación de los síntomas asociados con la esclerosis múltiple y se ha considerado un objetivo para el tratamiento de esta enfermedad (Craner, M.J., et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (2004), 101(21):8168-73).

35 Nav_v1.7 es expresado principalmente en el sistema nervioso periférico, tanto en neuronas sensoriales como simpáticas (Raymond, C.K., et al., citado antes). Las mutaciones de pérdida de función en seres humanos producen insensibilidad congénita al dolor (CIP) sin deterioro de la función cognitiva o motora (Cox, J.J. et al., *Nature* (2006) 444 (7121), 894-8; Goldberg, Y.P. et al., *Clin. Genet.* (2007) 71 (4), 311-9). Los individuos con CIP no experimentan dolor inflamatorio o neuropático, sugiriendo que el bloqueo selectivo de Nav_v1.7 eliminaría múltiples formas de dolor crónico y agudo sin efecto perjudicial en los sistemas nervioso central o periférico o en el músculo. Además, un polimorfismo de un solo nucleótido (R1150W) que tiene efectos muy sutiles en la dependencia del tiempo y voltaje de la apertura de Nav_v1.7, tiene efectos grandes en la percepción del dolor (Reimann, F. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (2010), 107 (11), 5148-53): aproximadamente 10% de los pacientes con una variedad de afecciones de dolor son heterocigotos para el alelo que confiere mayor sensibilidad al dolor. La implicación de Nav_v1.7 en mediar las respuestas del dolor también se pone de manifiesto por la ganancia de mutaciones de funciones que producen eritromelalgia o trastorno de dolor extremo paroxístico (Dib-Hajj S.D. et al., *Adv. Genet.* (2009) 63: 85-110). Aunque Nav_v1.7 es expresado principalmente en el sistema nervioso periférico, una mutación puntual en Nav_v1.7 produce convulsiones febriles, indicando una función para este canal en el SNC. Por lo tanto, los bloqueantes de canales de sodio regulados por voltaje pueden ser útiles como agentes anticonvulsivos.

50 La expresión de Nav_v1.8 es predominantemente en los ganglios de las raíces dorsales (GRD) (Raymond, C.K., et al., citado antes). La fase ascendente del potencial de acción en neuronas sensoriales desde los GRD es llevada principalmente por corriente a través de Nav_v1.8, de modo que el bloqueo de esta corriente es probable que bloquee las respuestas al dolor (Blair, NT y Bean, BP, *J. Neurosci.* 22: 10277-90). De acuerdo con este descubrimiento, la inactivación génica de Nav_v1.8 en ratas se ha logrado usando ADN de sentido contrario o ARN interferentes pequeños y se logró la anulación casi completa del dolor neuropático en los modelos ligado de nervios espinales y lesión por constricción crónica. Se ha descrito un bloqueante selectivo de Nav_v1.8 y es eficaz en el bloqueo del dolor tanto neuropático como inflamatorio (Jarvis, M.F. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (2007), 104 (20), 8520-5). La solicitud de patente publicada PCT nº WO03/037274A2 describe pirazol-amidas y sulfonamidas para el tratamiento de afecciones del sistema nervioso central o periférico, en particular el dolor y el dolor crónico, bloqueando canales de sodio asociados con el inicio o reaparición de las afecciones indicadas. La solicitud de patente publicada PCT nº WO03/037890A2 describe piperidinas para el tratamiento de afecciones del sistema nervioso central o periférico, en

particular dolor y dolor crónico bloqueando los canales de sodio asociados con el inicio o reaparición de las afecciones indicadas. Los compuestos, composiciones y métodos de estas invenciones son particularmente útiles para tratar dolor neuropático o inflamatorio por inhibición de flujo iónico a través de un canal que incluye una subunidad PN3 (Na_v1.8).

5 El canal de sodio regulado por voltaje del sistema nervioso periférico Na_v1.9, descrito por Dib-Hajj, S.D., et al., (véase Dib-Hajj, S.D., et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1998), 95(15):8963-8) se ha mostrado que es expresado en los ganglios de las raíces dorsales. Se ha demostrado que Na_v1.9 subyace en la despolarización y excitación provocada por neurotrofina (BDNF). El patrón de expresión limitado de este canal lo ha hecho un candidato objetivo para el tratamiento del dolor (Lai, J, et al., citado antes; Wood, J.N., et al., citado antes; Chung, J.M. et al., citado antes).

10 NaX es un canal de sodio putativo, que no se ha mostrado que sea regulado por voltaje. Además de expresión en el pulmón, corazón, ganglios de las raíces dorsales y células de Schwann del sistema nervioso periférico, se ha encontrado que NaX en neuronas y células endoteliales en zonas restringidas del SNC, en particular en los órganos circunventriculares, que están implicados en la homeostasia de fluidos corporales (Watanabe, E., et al., *J. Neurosci.* (2000), 20(20):7743-51). Ratonos con inactivación génica de NaX mostraron ingestiones anómalas de solución salina hipertónica tanto en condiciones de reducción de agua como de reducción salina. Estos descubrimientos sugieren que NaX tiene una función importante en la detección central del nivel de sodio de los fluidos corporales y la regulación del comportamiento de ingestión de sal. Su patrón de expresión y función lo indican como un objetivo para el tratamiento de la fibrosis quística y otras enfermedades reguladas por sales relacionadas.

20 Los estudios con el bloqueante de canales de sodio regulados por voltaje tetrodotoxina (TTX) usados para reducir la actividad neuronal en algunas regiones del cerebro, indican su uso potencial en el tratamiento de la adicción. Los estímulos emparejados con drogas provocan el ansia de droga y la recaída en la adicción y el comportamiento de búsqueda de droga en ratas. La integridad funcional de la amígdala basolateral (BLA) es necesaria en el restablecimiento del comportamiento de búsqueda de heroína. La TTX inducía inactivación de la BLA en el restablecimiento condicionado y cebado con heroína del comportamiento de búsqueda de heroína desaparecido en un modelo de rata (Fuchs, R.A. y See, R.E., *Psychopharmacology* (2002) 160(4):425-33).

25 Un subconjunto de fibras C median respuestas a agentes pruriginosos, en especial picor causado por histamina, activadores de receptores de PAR-2, colestasis e infecciones víricas (Steinhoff, M. et al., *J. Neurosci.* 23:6176-80; Twycross, R. et al., *Q. J. Med.* 96: 7-26). Los canales de sodio regulados por voltaje son expresados en y median los impulsos nerviosos de las fibras C.

30 El valor general del enantiómero (S) de la invención en la modulación, en especial inhibición del flujo iónico del canal de sodio regulado por voltaje se puede determinar usando los ensayos descritos a continuación en la sección de ensayos biológicos. Alternativamente, el valor general del enantiómero (S) de la invención en el tratamiento de afecciones y enfermedades se puede establecer en modelos animales estándar de la industria para demostrar la eficacia de los compuestos en el tratamiento del dolor. Se han desarrollado modelos animales de afecciones de dolor neuropático humano que producen deficiencias sensoriales reproducibles (alodinia, hiperalgesia y dolor espontáneo) a lo largo de un periodo de tiempo sostenido que se puede evaluar por ensayo sensorial. Estableciendo el grado de alodinia inducida mecánica, químicamente y por temperatura y la hiperalgesia presente, se pueden modelar varias afecciones fisiopatológicas observadas en seres humanos permitiendo la evaluación de farmacoterapias.

35 En modelos de rata de lesión nerviosa periférica, la actividad ectópica en el nervio lesionado se correlaciona con signos de comportamiento de dolor. En estos modelos, la aplicación intravenosa del enantiómero (S) de la invención y el anestésico local lidocaína, pueden suprimir la actividad ectópica y anular la alodinia táctil en concentraciones que no afectan el comportamiento general y la función motora (Mao, J. y Chen, L.L., *Pain* (2000), 87:7-17). El aumento de escala alométrico de las dosis eficaces en estos modelos de rata, se traduce en dosis similares a las mostradas que son eficaces en seres humanos (Tanelian, D.L. y Brose, W.G., *Anesthesiology* (1991), 74(5):949-951). Además, Lidoderm®, lidocaína aplicada en la forma de un parche dérmico, actualmente es un tratamiento aprobado por la FDA para la neuralgia postherpética (Devers, A. y Glater, B.S., *Clin. J. Pain* (2000), 16(3):205-8).

40 Los bloqueantes de canales de sodio regulados por voltaje tienen usos clínicos además de para el dolor. La epilepsia y las arritmias cardíacas son a menudo objetivos de los bloqueantes de canales de sodio. Pruebas recientes de modelos animales sugieren que los bloqueantes de canales de sodio regulados por voltaje también pueden ser útiles para la neuroprotección en condiciones isquémicas causadas por accidente cerebrovascular o traumatismo neuronal y en pacientes con esclerosis múltiple (EM) (Clare, J.J. et al., citado antes y Anger, T. et al., citado antes).

55 El enantiómero (S) de la invención modula, preferiblemente inhibe, el flujo iónico a través de un canal de sodio regulado por voltaje en un mamífero, en especial en un ser humano. Cualquiera de dichas modulaciones, sea inhibición parcial o completa o prevención del flujo iónico, se denomina a veces en la presente memoria como "bloqueo" y los compuestos correspondientes "bloqueantes" o "inhibidores". En general, el compuesto de la invención modula la actividad de un canal de sodio regulado por voltaje corriente abajo, inhibe la actividad

dependiente del voltaje del canal de sodio regulado por voltaje, y/o reduce o evita el flujo iónico a través de la membrana celular previniendo la actividad del canal de sodio regulado por voltaje tal como el flujo iónico.

El enantiómero (S) de la invención es un bloqueante de canales de sodio y, por lo tanto, es útil para tratar enfermedades y afecciones en mamíferos, preferiblemente en seres humanos y otros organismos, incluyendo todas aquellas enfermedades y afecciones humanas que son el resultado de la actividad biológica aberrante de los canales de sodio regulados por voltaje, o que pueden mejorar o se pueden aliviar por la modulación, preferiblemente inhibición de la actividad biológica de canales de sodio regulados por voltaje.

Como se define en la presente memoria, una enfermedad o afección que mejora o se alivia por la modulación, preferiblemente la inhibición de un canal de sodio regulado por voltaje, se refiere a una enfermedad o afección que mejora o se alivia a través de la modulación, preferiblemente inhibición, del canal de sodio regulado por voltaje e incluye, pero no se limita a dolor y prurito; afecciones del sistema nervioso central tales como epilepsia, ansiedad, depresión (Morinville et al., *J. Comp. Neurol.*, 504:680-689 (2007)) y enfermedad bipolar (Ettinger y Argoff, *Neurotherapeutics*, 4:75-83 (2007)); afecciones cardiovasculares tales como arritmia, fibrilación auricular y fibrilación ventricular; afecciones neuromusculares tales como el síndrome de piernas inquietas y parálisis muscular o tétanos; neuroprotección contra accidente cerebrovascular, traumatismo neuronal y esclerosis múltiple; y canalopatías tales como eritromelalgia y síndrome de dolor rectal familiar.

Enfermedades y afecciones adicionales incluyen el dolor asociado con el VIH, neuropatía inducida por el tratamiento del VIH, neuralgia del trigémino, neuralgia glossofaríngea, neuropatía secundaria a infiltración metastásica, adiposidad dolorosa, lesiones talámicas, hipertensión, enfermedad autoinmunitaria, asma, adicción a drogas (p. ej., opiáceos, benzodiacepina, anfetamina, cocaína, alcohol, inhalación de butano), enfermedad de Alzheimer (Kim DY, Carey et al., *Nat. Cell Biol.* 9(7):755-764 (2007)), demencia, deterioro de memoria asociado con la edad, síndrome de Korsakoff, reestenosis, disfunción urinaria, incontinencia, enfermedad de párkinson (Do y Bean, *Neuron* 39:109-120 (2003)); Puopolo et al., *J. Neurosci.* 27:645-656 (2007)), isquemia cerebrovascular, neurosis, enfermedad gastrointestinal, anemia de células falciformes, enfermedad de células falciformes, rechazo de trasplantes, insuficiencia cardíaca, infarto de miocardio, lesión por reperfusión, claudicación intermitente, angina de pecho, convulsiones, trastornos respiratorios, isquemias cerebrales o de miocardio, síndrome de QT largo, taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica, enfermedades oftálmicas, espasticidad, paraplejia espástica, miopatías, miastenia gravis, paramiotonía congénita, parálisis periódica hiperpotasémica, parálisis periódica hipopotasémica, alopecia, trastornos de ansiedad, trastornos psicóticos, manía, paranoia, trastorno afectivo estacional, trastorno de pánico, trastorno obsesivo compulsivo (TOC), fobias, autismo, síndrome de Asperger, síndrome de Rett, trastorno desintegrativo, trastorno de déficit de atención, agresividad, trastornos del control de impulsos, trombosis, preeclampsia, insuficiencia cardíaca congestiva, paro cardíaco, ataxia de Friedrich, ataxia espinocerebelosa, temblor, debilidad muscular, mielopatía, radiculopatía, lupus eritematoso sistémico, enfermedad granulomatosa, atrofia olivopontocerebelosa, ataxia espinocerebelosa, ataxia episódica, mioquimia, atrofia palidal progresiva, parálisis supranuclear progresiva y espasticidad, lesión cerebral traumática, edema cerebral, lesión de hidrocefalia, lesión de la médula espinal, anorexia nerviosa, bulimia, síndrome de Prader-Willi, obesidad, neuritis óptica, cataratas, hemorragia retiniana, retinopatía isquémica, retinitis pigmentosa, glaucoma agudo y crónico, degeneración macular, oclusión de la arteria retiniana, corea, enfermedad de Huntington, corea de Huntington, edema cerebral, proctitis, neuralgia post-herpética, eudinia, sensibilidad al calor, sarcoidosis, síndrome del intestino irritable, síndrome de Tourette, síndrome de Lesch-Nyhan, síndrome de Brugado, síndrome de Liddle, enfermedad de Crohn, esclerosis múltiple y dolor asociado con la esclerosis múltiple (EM), esclerosis lateral amiotrófica (ELA), esclerosis diseminada, neuropatía diabética, neuropatía periférica, síndrome de Charcot-Marie-Tooth, artritis, artritis reumatoide, osteoartritis, condrocalcinosis, distonía paroxística, síndromes de miastenia, miotonía, distrofia miotónica, distrofia muscular, hipertermia maligna, fibrosis quística, pseudoaldosteronismo, rabdomiolisis, discapacidad mental, depresión bipolar, ansiedad, esquizofrenia, enfermedades relacionadas con toxinas que afectan a canales de sodio, eritromelalgia familiar, eritromelalgia primaria, dolor rectal, cáncer, epilepsia, convulsiones tónicas parciales y generalizadas, convulsiones febriles, crisis de ausencia (petit mal), convulsiones mioclónicas, convulsiones atónicas, convulsiones clónicas, Lennox Gastaut, síndrome de West (espasmos infantiles), síndrome del seno enfermo (Haufe V, Chamberland C, Dumaine R, *J. Mol Cell Cardiol* 42 (3): 469-477 (2007)), convulsiones multirresistentes, profilaxis de convulsiones (antiepileptogénico), síndrome de la fiebre mediterránea familiar, gota, síndrome de piernas inquietas, arritmias, fibromialgia, neuroprotección en afecciones isquémicas causadas por accidente cerebrovascular o traumatismo neuronal, taquiarritmias, fibrilación auricular y fibrilación ventricular y como anestésico general o local.

Como se usa en la presente memoria, el término "dolor" se refiere a todas las categorías de dolor, independientemente de su naturaleza u origen, y se entiende que incluye, pero no se limita a dolor neuropático, dolor inflamatorio, dolor nociceptivo, dolor idiopático, dolor neurálgico, dolor orofacial, dolor por quemadura, dolor óseo crónico, dolor lumbar, dolor de cuello, dolor abdominal, síndrome de boca ardiente, dolor somático, dolor visceral (incluyendo abdominal), dolor miofacial, dolor dental, dolor por cáncer, dolor por quimioterapia, síndrome de dolor miofascial, síndrome de dolor regional complejo (SDRC), dolor de la articulación temporomandibular, dolor por traumatismo, trastorno de dolor extremo paroxístico, dolor quirúrgico, dolor posquirúrgico, dolor del parto, dolor del alumbramiento, distrofia simpática refleja, avulsión del plexo braquial, vejiga neurogénica, dolor agudo, dolor musculoesquelético, dolor posoperatorio, dolor crónico, dolor persistente, dolor mediado periféricamente, dolor mediado centralmente, cefalea crónica, cefalea tensional, cefalea en racimos, migraña, migraña hemipléjica familiar,

afecciones asociadas con dolor cefálico, cefalea sinusal, cefalea tensional, dolor de miembro fantasma, lesión del nervio periférico, dolor después de accidente cerebrovascular, lesiones talámicas, radiculopatía, dolor por VIH, dolor postherpético, dolor de pecho no cardíaco, síndrome del intestino irritable y dolor asociado con trastornos intestinales y dispepsia, y combinaciones de los mismos.

- 5 La presente invención también se refiere a compuestos, composiciones farmacéuticas y a los compuestos y composiciones farmacéuticas para usar en el tratamiento o prevención de enfermedades o afecciones tales como hiperplasia prostática benigna (HPB), hipercolesterolemia, cáncer y prurito (picor).

10 La hiperplasia prostática benigna (HPB), conocida también como hipertrofia prostática benigna, es una de las enfermedades más comunes que afecta a los hombres en la vejez. La HPB es una afección progresiva que se caracteriza por agrandamiento nodular del tejido prostático que produce la obstrucción de la uretra. Las consecuencias de la HPB pueden incluir la hipertrofia del músculo liso de la vejiga, una vejiga descompensada, retención urinaria aguda y mayor incidencia de infección del tracto urinario.

15 La HPB tiene un impacto alto en la salud pública y es una de las razones más comunes de intervención quirúrgica entre los hombres mayores. Se han hecho intentos de aclarar la etiología y patogénesis y, para este fin, se han desarrollado modelos experimentales. Los modelos animales espontáneos están limitados a chimpancés y al perro. La HPB en el hombre y el perro comparte muchas características comunes. En ambas especies, el desarrollo de la HPB se produce espontáneamente con la edad avanzada y se puede prevenir por la castración temprana/prepubertal. Es muy deseable una alternativa médica a la cirugía para tratar la HPB y las consecuencias.

20 La hiperplasia epitelial prostática tanto en el hombre como en el perro es sensible a andrógenos, experimentando involución con la privación de andrógenos y volviendo la hiperplasia epitelial cuando se reponen los andrógenos. Las células que se originan en la glándula prostática han mostrado que expresan niveles altos de canales de sodio regulados por voltaje. Los estudios con inmunotinción demostraban claramente evidencia de canales de sodio regulados por voltaje en tejidos prostáticos (*Prostate Cancer Prostatic Dis.* 2005; 8(3):266-73). La inhibición de la función del canal de sodio regulado por voltaje con tetrodotoxina, un bloqueante selectivo, inhibe la migración de células derivadas de los cánceres de próstata y mama (Brackenbury, W.J. y Djamgoz, M.B.A., *J. Physiol.* (Lond) (2006) 573: 343-56; Chioni, A-M. et al., *Int. J. Biochem. Cell Biol.* (2009) 41: 1216-1227).

30 La hipercolesterolemia, es decir, el colesterol elevado en la sangre, es un factor de riesgo establecido en el desarrollo, p. ej., de aterosclerosis, enfermedad arterial coronaria, accidente cerebrovascular, hiperinsulinemia, hipertensión, obesidad, diabetes, enfermedades cardiovasculares (ECV), isquemia miocárdica y ataque cardíaco. Por lo tanto, se sabe que disminuir los niveles del colesterol total en el suero en individuos con niveles altos de colesterol, reduce el riesgo de estas enfermedades. La disminución del colesterol de lipoproteína de baja densidad, en particular, es una etapa esencial en la prevención de ECV. Aunque hay una variedad de terapias para la hipercolesterolemia, hay una necesidad continua y búsqueda continua en este campo de la técnica de terapias alternativas.

35 La invención proporciona compuestos que son útiles como agentes antihipercolesterolémicos y sus afecciones asociadas. Los presentes compuestos pueden actuar en una variedad de formas. Aunque sin querer estar ligados por ningún mecanismo de acción particular, los compuestos pueden ser inhibidores directos o indirectos de la enzima acil-CoA:colesterol acil transferasa (ACAT) que produce la inhibición de la esterificación y el transporte del colesterol a través de la pared intestinal. Otra posibilidad puede ser que los compuestos de la invención pueden ser inhibidores directos o indirectos de la biosíntesis de colesterol en el hígado. Es posible que algunos compuestos de la invención puedan actuar tanto como inhibidores directos o como indirectos de ACAT y la biosíntesis de colesterol.

45 El prurito, comúnmente conocido como picor, es una afección dermatológica común. Existen dos grandes categorías de picor basadas en la etiología: picor inflamatorio de la piel y picor neuropático Binder et al., *Nature Clinical Practice*, 4:329-337, 2008). En el primer caso, los mediadores inflamatorios activan los pruriceptores cutáneos, un subconjunto de fibras nerviosas aferentes dérmicas, fibras C no mielinizadas principalmente. Los tratamientos para este tipo de picor consisten en el bloqueo de receptores de los agentes inflamatorios (tales como antihistaminas) o el bloqueo de la actividad eléctrica resultante. Los canales de sodio regulados por voltaje tienen una función principal en la transmisión de la actividad eléctrica en neuronas y la modulación de los canales de sodio regulados por voltaje es un medio bien establecido de modular esta señalización. Aunque las causas del prurito neuropático son complejas y se entienden peor, hay pruebas bien establecidas de la sensibilización central e hipersensibilidad de entrada a partir de las fibras C neurosensoriales en la dermis. Como para el picor inflamatorio, es probable que los canales de sodio sean esenciales para la propagación de señales eléctricas de la piel al SNC. La transmisión de impulsos de picor produce la sensación desagradable que provoca el deseo o reflejo de rascarse.

55 Tanto el picor inflamatorio como el neuropático se pueden bloquear mediante bloqueantes de canales de sodio regulados por voltaje conocidos, más habitualmente lidocaína (Villamil et al., *American Journal of Medicine* 118:1160-1163, 2005; Inan et al., *European Journal of Pharmacology* 616: 141-146, 2009; Fishman et al., *American Journal of Medicine* 102: 584-585, 1997; Ross et al., *Neuron* 65: 886-898, 2010). Las dosis de lidocaína necesarias para aliviar el picor son comparables a las eficaces en el tratamiento del dolor. Ambos circuitos sensoriales comparten mediadores comunes y rutas neuronales relacionadas (Ikoma et al., *Nature Reviews Neuroscience*,

7:535-547, 2006). Sin embargo, otros tratamientos para el dolor son ineficaces contra el picor y pueden exacerbar el prurito más que aliviarlo. Por ejemplo, los opiáceos, en particular, son eficaces aliviando el dolor, aunque pueden generar prurito grave. Por lo tanto, el bloqueo de canales de sodio regulados por voltaje es una terapia particularmente prometedora tanto para el dolor como para el picor.

- 5 Los compuestos de la presente invención han mostrado tener efectos analgésicos en una serie de modelos animales con dosis orales en el intervalo de 1 mg/kg a 100 mg/kg. Los compuestos de la invención también pueden ser útiles para tratar el prurito.

Los tipos de picor o irritación de la piel incluyen, pero no se limitan a:

- 10 a) prurito psoriásico, picor debido a hemodiálisis, prurito acuagénico, y picor producido por trastornos de la piel (p. ej., dermatitis de contacto), trastornos sistémicos, neuropatía, factores psicogénicos o una mezcla de los mismos;
- b) picor causado por reacciones alérgicas, picaduras de insectos, hipersensibilidad (p. ej., piel seca, acné, eczema, psoriasis), afecciones inflamatorias o lesión;
- c) picor asociado con vestibulitis vulvar;
- 15 d) irritación de la piel o efecto inflamatorio por la administración de otro producto terapéutico tal como, por ejemplo, antibióticos, antivíricos y antihistaminas; y
- e) picor debido a la activación de receptores acoplados a proteína G PAR-2.

20 El enantiómero (S) de la invención modula, preferiblemente inhibe, el flujo iónico a través de un canal de sodio regulado por voltaje. Preferiblemente, el enantiómero (S) de la invención es un modificador de los canales de sodio regulados por voltaje que depende de la frecuencia o estado, que tiene una baja afinidad por el estado de reposo/cerrado y una alta afinidad por el estado inactivado. Sin querer estar ligados por ningún mecanismo de acción particular, es probable que el enantiómero (S) de la invención interaccione con sitios que se solapan situados en la cavidad interior del poro conductor de sodio del canal similar al descrito para otros bloqueantes de canales de sodio dependientes del estado (Cestèle, S., et al., citado antes). El enantiómero (S) de la invención también es probable que interacciones con sitios fuera de la cavidad interior y tiene efectos alostéricos en la conducción de iones sodio a través del poro del canal.

25 En una realización preferida de la invención, el enantiómero (S) de la invención modula, preferiblemente inhibe la actividad de $Na_v1.7$. En otra realización preferida de la invención, el enantiómero (S) de la invención modula selectivamente, preferiblemente inhibe, la actividad de $Na_v1.7$ comparado con la modulación o inhibición de otros canales de sodio regulados por voltaje (es decir, de $Na_v1.1$ a $Na_v1.6$ y de $Na_v1.8$ a $Na_v1.9$). Debido a que la mayoría de otros canales de sodio están implicados en importantes procesos fisiológicos, tales como la contracción y ritmicidad del corazón ($Na_v1.5$), contracción del músculo esquelético ($Na_v1.4$) y actividad de conducción eléctrica en el SNC y neuronas motoras ($Na_v1.1$, $Na_v1.2$ y $Na_v1.6$), es deseable que el enantiómero (S) de la invención evite la modulación significativa de estos otros canales de sodio.

30 Cualquiera de estas consecuencias puede ser finalmente responsable del beneficio terapéutico general proporcionado por el enantiómero (S) de la invención.

35 Típicamente, un agente terapéutico satisfactorio de la invención cumplirá algunos o todos los siguientes criterios. La disponibilidad oral debería ser de o superior a 20%. La eficacia en modelo animal esté es menor que aproximadamente 0,1 μ g a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal y la dosis humana objetivo esté entre 0,1 μ g a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal, aunque pueden ser aceptables dosis fuera de este intervalo ("mg/kg" significa miligramos de compuestos por kilogramo de masa corporal del sujeto al que se administra). El índice terapéutico (o relación de dosis tóxica a dosis terapéutica) debe ser mayor que 100. La potencia (expresada por el valor de CI_{50}) debe ser menor que 10 μ M, preferiblemente inferior a 1 μ M y lo más preferiblemente inferior a 50 nM. La CI_{50} ("concentración inhibidora - 50%") es una medida de la cantidad del enantiómero (S) de la invención necesaria para lograr 50% de inhibición del flujo iónico a través de un canal de sodio, a lo largo de un periodo de tiempo específico, en un ensayo de la invención.

40 Otro aspecto de la invención se refiere a la inhibición de la actividad de $Na_v1.1$, $Na_v1.2$, $Na_v1.3$, $Na_v1.4$, $Na_v1.5$, $Na_v1.6$, $Na_v1.7$, $Na_v1.8$ o $Na_v1.9$ en una muestra biológica o un mamífero, preferiblemente un ser humano, cuyo método comprende administrar al mamífero, o poner en contacto la muestra biológica con el enantiómero (S) de la invención o una composición que comprende el enantiómero (S) de la invención. La expresión "muestra biológica", como se usa en la presente memoria, incluye, sin limitación, cultivos celulares o sus extractos; material de biopsia obtenido de un mamífero o extractos del mismo; y sangre, saliva, orina, heces, semen, lágrimas u otros fluidos corporales o extractos de los mismos.

45 Además de los usos anteriores del enantiómero (S) de la invención, el compuesto también puede ser útil en la modulación, preferiblemente inhibición, de la actividad de canales de sodio regulados por voltaje en una muestra biológica para una variedad de propósitos que conoce el experto en la técnica. Los ejemplos de dichos propósitos

incluyen, pero no se limitan al estudio de los canales de iones sodio regulados por voltaje en fenómenos biológicos y patológicos; y la evaluación comparativa de moduladores de canales de iones sodio regulados por voltaje nuevos u otros.

- 5 El enantiómero (S) de la invención también se puede usar para tratar mamíferos no humanos (es decir, métodos de tratamiento veterinarios) para enfermedades o afecciones que mejoran o se alivian por la modulación, preferiblemente la inhibición de canales de sodio regulados por voltaje, en particular, para el tratamiento de la inflamación y el dolor. Se entiende que dicho tratamiento es de particular interés para mamíferos de compañía, tales como perros y gatos.

Composiciones farmacéuticas de la invención y administración

- 10 La presente invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que contienen el enantiómero (S) de la invención. En una realización, la presente invención se refiere a una composición que comprende el enantiómero (S) de la invención en un vehículo farmacéuticamente aceptable y en una cantidad eficaz para modular, preferiblemente inhibir, el flujo iónico a través de un canal de sodio regulado por voltaje para tratar enfermedades, tales como el dolor, cuando se administra a un animal, preferiblemente un mamífero, lo más preferiblemente un paciente humano.

- 15 La administración del enantiómero (S) de la invención, en forma pura o en una composición farmacéutica adecuada, se puede llevar a cabo por cualquiera de los modos de administración de agentes aceptados para atender a utilidades similares. Las composiciones farmacéuticas de la invención se pueden preparar combinando un compuesto de la invención con un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable, y se puede formular en preparaciones en formas sólida, semisólida, líquida o gaseosa, tales como comprimidos, cápsulas, 20 polvos, gránulos, pomadas, soluciones, supositorios, inyecciones, inhalantes, geles, microesferas y aerosoles. Las vías de administración típicas de dichas composiciones farmacéuticas incluyen, sin limitación, la oral, tópica, transdérmica, inhalación, parenteral, sublingual, rectal, vaginal e intranasal. El término parenteral, como se usa en la presente memoria incluye inyecciones subcutáneas, inyección intravenosa, intramuscular, intraesternal o técnicas de infusión. Las composiciones farmacéuticas de la invención se formulan de modo que los principios activos 25 contenidos en las mismas estén biodisponibles después de la administración de la composición a un paciente. Las composiciones que se administrarán a un sujeto o paciente, preferiblemente un mamífero, más preferiblemente un ser humano, tienen forma de una o más unidades de dosificación, donde, por ejemplo, un comprimido puede ser una unidad de dosificación individual, y un envase de un compuesto de la invención en forma de aerosol puede contener una pluralidad de unidades de dosificación. Los métodos existentes para preparar dichas formas farmacéuticas son 30 conocidos, o serán evidentes para los expertos en la técnica; véase, por ejemplo, *The Science and Practice of Pharmacy*, 20ª Edición (Philadelphia College of Pharmacy and Science, 2000). La composición que se va a administrar, en cualquier caso contendrá una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para el tratamiento de una enfermedad o afección de interés de acuerdo con las enseñanzas de esta invención.

- 35 Las composiciones farmacéuticas útiles en la presente memoria también contienen un vehículo farmacéuticamente aceptable, incluyendo cualquier diluyente o excipiente adecuados, que incluye cualquier agente farmacéutico que no induce él mismo la producción de anticuerpos dañinos para el individuo que recibe la composición, y que se pueden administrar sin excesiva toxicidad. Los vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen líquidos, tales como agua, solución salina, glicerol y etanol. Se presenta una discusión a fondo de los vehículos, diluyentes y otros excipientes 40 farmacéuticamente aceptables en *Remington's Pharmaceutical Sciences* (Mack Pub. Co., N.J., edición actual).

Una composición farmacéutica de la invención puede estar en forma de un sólido o líquido. En un aspecto, el o los vehículos están en partículas, de modo que las composiciones son, por ejemplo, en forma de comprimido o polvo. El o los vehículos pueden ser líquidos, siendo las composiciones, por ejemplo, un jarabe oral, líquido inyectable o un aerosol, que es útil, por ejemplo, en la administración por inhalación.

- 45 Cuando se dirige a la administración oral, la composición farmacéutica preferiblemente está en forma de sólido o líquido, donde las formas de semisólido, semilíquido, suspensión y gel están incluidas dentro de las formas consideradas en la presente memoria como sólidas o líquidas.

- 50 Como una composición sólida para la administración oral, la composición farmacéutica se puede formular en un polvo, gránulo, comprimido por compresión, píldora, cápsula, goma de mascar, oblea o forma similar. Dicha composición sólida típicamente contendrá uno o más diluyentes inertes o vehículos comestibles. Además, pueden estar presentes uno o más de los siguientes: aglutinantes tales como carboximetilcelulosa, etilcelulosa, celulosa microcristalina, goma de tragacanto o gelatina; excipientes tales como almidón, lactosa o dextrinas, agentes disgregantes tales como ácido alginico, alginato sódico, Primogel, almidón de maíz y similares; lubricantes tales como estearato magnésico o Sterotex; deslizantes tales como dióxido de silicio coloidal; agentes edulcorantes tales como sacarosa o sacarina; un agente aromatizante tal como menta, salicilato de metilo o aroma de naranja; y un agente colorante. 55

Cuando la composición farmacéutica está en forma de una cápsula, por ejemplo, una cápsula de gelatina, puede contener, además de los materiales del tipo anterior, un vehículo líquido tal como polietilenglicol o aceite.

La composición farmacéutica puede estar en forma de un líquido, por ejemplo un elixir, jarabe, solución, emulsión o suspensión. El líquido puede ser para administración oral o para el suministro por inyección, como dos ejemplos. Cuando están destinadas a la administración oral, las composiciones preferidas contienen, además del enantiómero (S) de la invención, uno más de un agente edulcorante, conservantes, tinte/colorante y potenciadores de sabor. En una composición destinada a ser administrada por inyección, se pueden incluir uno o más de un tensioactivo, conservante, agente humectante, agente dispersante, agente de suspensión, tampón, estabilizante y agente isotónico.

Las composiciones farmacéuticas líquidas de la invención, sean soluciones, suspensiones u otras formas similares, pueden incluir uno o más de los siguientes adyuvantes: diluyentes estériles tales como agua para inyección, solución salina, preferiblemente solución salina fisiológica, solución de Ringer, cloruro sódico isotónico, aceites fijos tales como mono o diglicéridos que pueden servir como disolvente o medio de suspensión, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol u otros disolventes; agentes antibacterianos tales como alcohol bencílico o metilparabén; antioxidantes tales como ácido ascórbico o bisulfito sódico; agentes quelantes tales como ácido etilendiaminotetraacético; tampones tales como acetatos, citratos o fosfatos y agentes para el ajuste de tonicidad tales como cloruro sódico o dextrosa. La preparación parenteral puede estar contenida en ampollas, jeringas desechables o viales de dosis múltiple hechos de vidrio o plástico. La solución salina fisiológica es un adyuvante preferido. Una composición farmacéutica inyectable es preferiblemente estéril.

Una composición farmacéutica líquida de la invención dirigida para la administración parenteral u oral debería contener una cantidad del enantiómero (S) de la invención de modo que se obtuviera una dosis adecuada. Típicamente, esta cantidad es al menos 0,01% del enantiómero (S) de la invención en la composición. Cuando está dirigida a la administración oral, esta cantidad puede variar para estar entre 0,1 y 70% del peso de la composición. Las composiciones farmacéuticas orales preferidas contienen entre aproximadamente 4% y aproximadamente 50% del enantiómero (S) de la invención. Las composiciones y preparaciones farmacéuticas preferidas según la presente invención se preparan de modo que una dosis unitaria parenteral contiene entre 0,01 y 10% en peso del enantiómero (S) de la invención antes de dilución.

La composición farmacéutica de la invención puede estar dirigida a la administración tópica, en cuyo caso el vehículo puede comprender adecuadamente una base de solución, emulsión, pomada o gel. La base, puede comprender, por ejemplo, uno o más de los siguientes: vaselina, lanolina, polietilenglicoles, cera de abeja, aceite mineral, diluyentes tales como agua y alcohol y emulsionantes y estabilizantes. Pueden estar presentes agentes espesantes en una composición farmacéutica para la administración tópica. Si está dirigida a la administración transdérmica, la composición puede incluir un parche transdérmico o dispositivo de iontoforesis. Las formulaciones tópicas pueden contener una concentración del enantiómero (S) de la invención de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10% en p/v (peso por unidad de volumen).

Para aplicaciones tópicas, se prefiere administrar una cantidad eficaz de una composición farmacéutica según la invención al área objetivo, p. ej., superficies de la piel, membranas mucosas y similares, que están adyacentes a neuronas periféricas que se van a tratar. Esta cantidad en general estará en el intervalo de aproximadamente 0,0001 mg a aproximadamente 1 g del enantiómero (S) de la invención por aplicación, dependiendo de la zona que se va a tratar, sea el uso de diagnóstico, profiláctico o terapéutico, la gravedad de los síntomas y la naturaleza del vehículo tópico usado. Una preparación tópica preferida es una pomada, en donde aproximadamente se usa de 0,001 a aproximadamente 50 mg de principio activo por cc de base de pomada. La composición farmacéutica se puede formular como composiciones transdérmicas o dispositivos de suministro transdérmico ("parches"). Dichas composiciones incluyen, por ejemplo, un depósito de compuesto activo de soporte, una membrana de control, revestimiento y adhesivo de contacto. Dichos parches transdérmicos se pueden usar para proporcionar suministro pulsátil o a petición, de los compuestos de la presente invención como se desee.

La composición farmacéutica de la invención puede estar dirigida para la administración rectal, en forma, por ejemplo, de un supositorio, que se fundirá en el recto y suministrará el fármaco. La composición para administración rectal puede contener una base oleaginosa como un excipiente no irritante adecuado. Dichas bases incluyen, sin limitación lanolina, manteca de cacao y polietilenglicol.

Una formulación típica para administración intramuscular o intratecal consistirá en una suspensión o solución de principio activo en un aceite o solución del principio activo en un aceite, por ejemplo, aceite de cacahuete o aceite de sésamo. Una formulación típica para la administración intravenosa o intratecal consistirá en solución acuosa isotónica estéril que contiene, por ejemplo, el principio activo y dextrosa o cloruro sódico o una mezcla de dextrosa y cloruro sódico.

Las composiciones de la invención se pueden formular para así proporcionar la liberación rápida, sostenida o retardada del principio activo, es decir, el enantiómero (S) de la invención, después de administración al paciente, usando procedimientos conocidos en la técnica. Los sistemas de suministro de fármacos de liberación controlada incluyen sistemas de bomba osmótica y sistemas por disolución que contienen depósitos recubiertos de polímero o formulaciones en matriz polimérica-fármaco. Los ejemplos de sistemas de liberación controlada se dan en las patentes de EE.UU. nº 3.845.770 y 4.326.525 y en P. J. Kuzma et al., *Regional Anesthesia* 22 (6): 543-551 (1997).

Las composiciones de la invención también se pueden suministrar a través de sistemas de suministro de fármacos intranasales para terapias médicas locales, sistémicas y de la nariz al cerebro. La tecnología de dispersión de partículas controlada (*Controlled Particle Dispersion*, CPD™), frascos de pulverización nasal tradicionales, inhaladores y nebulizadores son bien conocidos para los expertos en la materia para proporcionar suministro local y sistémica eficaz de fármacos dirigiéndose a la región olfatoria y senos paranasales.

La invención también se refiere a un sistema de suministro de fármaco de cubierta o núcleo intravaginal adecuado para la administración a una mujer o animal hembra. El dispositivo puede estar compuesto del principio farmacéutico activo en una matriz de polímero, rodeada de una cubierta, y capaz de liberar el enantiómero (S) de la invención con patrón de orden sustancialmente cero, diariamente, similar a los dispositivos usados para aplicar testosterona como se describe en la solicitud de patente publicada PCT n° WO 98/50016.

Los métodos actuales para el suministro ocular incluyen la administración tópica (colirios), inyecciones subconjuntivales, inyecciones perioculares, inyecciones intravítreas, implantes quirúrgicos y iontoforesis (usa una pequeña corriente eléctrica para transportar fármacos ionizados a y a través de tejidos del cuerpo). Los expertos en la técnica combinarían los excipientes más adecuados con el enantiómero (S) de la invención para la administración intraocular segura y eficaz.

La vía de administración más adecuada dependerá de la naturaleza y gravedad de la afección que se está tratando. Los expertos en la técnica están familiarizados también con la determinación de los métodos de administración (p. ej., oral, intravenosa, inhalación, subcutánea, rectal, etc.), formas farmacéuticas, excipientes farmacéuticos adecuados y otros temas relevantes para el suministro del enantiómero (S) de la invención a un sujeto que lo necesite.

La composición farmacéutica de la invención puede incluir diferentes materiales que modifican la forma física de una dosis unitaria sólida o líquida. Por ejemplo, la composición puede incluir materiales que forman una cubierta de recubrimiento alrededor de los principios activos. Los materiales que forman la cubierta de recubrimiento típicamente son inertes y se puede seleccionar, por ejemplo, de azúcar, laca y otros agente de recubrimiento entéricos. Alternativamente, los principios activos se pueden encerrar en una cápsula de gelatina.

La composición farmacéutica de la invención en forma sólida o líquida puede incluir un agente que se une al enantiómero (S) de la invención y de esta forma ayuda al suministro del compuesto. Los agentes adecuados que actúan con esta capacidad incluyen un anticuerpo monoclonal o policlonal, una proteína o un liposoma.

La composición farmacéutica de la invención puede consistir en dosis unitaria que se puede administrar como un aerosol. El término aerosol se usa para indicar una variedad de sistemas que van desde los de naturaleza coloidal a sistemas que consisten en envases presurizados. El suministro puede ser por un gas licuado o comprimido o por un sistema de bomba adecuado que dispensa los principios activos. Los aerosoles del enantiómero (S) de la invención se pueden suministrar en sistemas monofásicos, bifásicos o trifásicos con el fin de suministrar el o los principios activos. El suministro del aerosol incluye los envases, accionadores, válvulas, subenvases necesarios, y similares, que juntos pueden formar un kit. Un experto en la técnica puede determinar los aerosoles preferidos sin excesiva experimentación.

Las composiciones farmacéuticas de la invención se pueden preparar por una metodología bien conocida en la técnica farmacéutica. Por ejemplo, una composición farmacéutica dirigida a ser administrada por inyección, se puede preparar combinando el enantiómero (S) de la invención con agua destilada estéril para así formar una solución. Se puede añadir un tensioactivo para facilitar la formación de una solución o suspensión homogénea. Los tensioactivos son compuestos que interaccionan de forma no covalente con el enantiómero (S) de la invención para así facilitar la disolución o suspensión homogénea del compuesto en el sistema de suministro acuoso.

El enantiómero (S) de la invención es para administrar en una cantidad terapéuticamente eficaz, que variará dependiendo de una variedad de factores que incluyen la actividad del compuesto específico usado; la estabilidad metabólica y la duración de la acción del enantiómero (S) de la invención; la edad, peso corporal, salud general, sexo y dieta del paciente; el modo y tiempo de administración; la tasa de excreción; la combinación de fármacos; la gravedad del trastorno o afección particular; y el sujeto sometido a terapia. En general, una dosis diaria terapéuticamente eficaz del enantiómero (S) de la invención (para un mamífero de 70 kg) es de aproximadamente 0,001 mg/Kg (es decir, 0,07 mg) a aproximadamente 100 mg/Kg (es decir, 7,0 g); preferiblemente, una dosis terapéuticamente eficaz (para un mamífero de 70 Kg) es de aproximadamente 0,01 mg/Kg (es decir, 0,70 mg) a aproximadamente 50 mg/Kg (es decir, 3,5 g); y más preferiblemente, una dosis terapéuticamente eficaz (para un mamífero de 70 Kg) es de aproximadamente 1 mg/Kg (es decir, 70 mg) a aproximadamente 25 mg/Kg (es decir, 1,75 g).

Los intervalos de dosis eficaces proporcionados en la presente memoria no están dirigidos a ser limitantes y representan intervalos de dosis preferidos. Sin embargo, las dosis más preferidas se diseñarán para el sujeto individual, como entiende y puede determinar un experto en las técnicas relevantes. (Véase, p. ej., Berkow et al., eds., *The Merck Manual*, 16ª edición, Merck and Co., Rahway, N.J., 1992; Goodman et al., eds., *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 10ª edición, Pergamon Press, Inc., Elmsford, N.Y., (2001);

Avery's Drug Treatment: Principles and Practice of Clinical Pharmacology and Therapeutics, 3ª edición, ADIS Press, LTD., Williams and Wilkins, Baltimore, MD. (1987), Ebadi, *Pharmacology*, Little, Brown and Co., Boston, (1985); Osolci al., eds., *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18ª edición, Mack Publishing Co., Easton, PA (1990); Katzung, *Basic and Clinical-Pharmacology*, Appleton and Lange, Norwalk, CT (1992)).

- 5 La dosis total requerida para cada tratamiento se puede administrar mediante dosis múltiples o una dosis individual a lo largo del día, si se desea. En general, el tratamiento se inicia con dosis más pequeñas, que son menores que la dosis óptima del compuesto. Después, la dosis se aumenta en pequeños incrementos hasta que se alcanza el efecto óptimo en las circunstancias dadas. El compuesto o composición farmacéutica de diagnóstico se puede administrar solo o junto con otros compuestos de diagnóstico y/o farmacéuticos para la patología, o dirigidos a otros síntomas de la patología. Las cantidades eficaces del enantiómero (S) de la invención o composición de la invención son de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 100 mg/Kg de peso corporal, administrado en intervalos de 4-72 horas, a lo largo de un periodo de 2 horas a 1 año, y/o cualquier intervalo o valor de los mismos, tal como 0,0001-0,001, 0,001-0,01, 0,01-0,1, 0,1-1,0, 1,0-10, 5-10, 10-20, 20-50 y 50-100 mg/Kg, en intervalos de 1-4, 4-10, 10-16, 16-24, 24-36, 36-48, 48-72 horas, durante un periodo de 1-14, 14-28, o 30-44 días, o 1-24 semanas, o cualquier intervalo o valor de los mismos.

Los receptores de la administración del enantiómero (S) de la invención y/o composiciones de la invención pueden ser cualquier animal, tal como mamíferos. Entre los mamíferos, los receptores preferidos son mamíferos del orden primates (incluyendo seres humanos, simios y monos), artiodáctilos (incluyendo caballos, cabras, vacas, ovejas, cerdos), roedores (incluyendo ratones, ratas, conejos y hámsteres), y carnívoros (incluyendo gatos y perros). Entre las aves, los receptores preferidos son pavos, pollos y otros miembros del mismo orden. Los receptores más preferidos son seres humanos.

Terapia de combinación

El enantiómero (S) de la invención se puede combinar de forma útil con uno o más agentes terapéuticos distintos o como cualquier combinación de los mismos, en el tratamiento de enfermedades o afecciones en mamíferos, preferiblemente seres humanos, que mejoran o tienen alivio por la modulación, preferiblemente inhibición de canales de sodio regulados por voltaje. Por ejemplo, el enantiómero (S) de la invención se puede administrar de forma simultánea, secuencial o separada en combinación con otros agentes terapéuticos, incluyendo, pero no limitado a:

- analgésicos opiáceos, p. ej., morfina, heroína, cocaína, oximorfina, levorfanol, levalorfanol, oxicodona, codeína, dihidrocodeína, propoxifeno, nalmefeno, fentanilo, hidrocodona, hidromorfona, meripidina, metadona, nalorfina, naloxona, naltrexona, buprenorfina, butorfanol, nalbufina y pentazocina;

- analgésicos no opiáceos, p. ej. acetaminofeno, salicilatos (p. ej. aspirina);

- fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE), p. ej. ibuprofeno, naproxeno, fenoprofeno, ketoprofeno, celecoxib, diclofenaco, diflusinal, etodolaco, fenbufeno, fenoprofeno, flufenisal, flurbiprofeno, ibuprofeno, indometacina, ketoprofeno, ketorolaco, ácido meclofenámico, ácido mefenámico, meloxicam, nabumetona, naproxeno, nimesulida, nitroflurbiprofeno, olcámarazina, oxaprozina, fenilbutazona, piroxicam, sulfacámarazina, sulindaco, tolmetina y zomepirac;

- anticonvulsivos, p. ej. carbamazepina, oxcarbazepina, lamotrigina, valproato, topiramato, gabapentina y pregabalina;

- antidepresivos tales como antidepresivos tricíclicos, p. ej. amitriptilina, clomipramina, despramina, imipramina y nortriptilina;

- inhibidores selectivos de la COX-2, p. ej. celecoxib, rofecoxib, parecoxib, valdecoxib, deracoxib, etoricoxib y lumiracoxib;

- alfa-adrenérgicos, p. ej. doxazosina, tamsulosina, clonidina, guanfacina, dexmetatomidina, modafinilo y 4-amino-6,7-dimetoxi-2-(5-metano-sulfonamido-1,2,3,4-tetrahidroisquinol-2-il)-5-(2-piridil)quinazolina;

- sedantes barbitúricos, p. ej. amobarbital, aprobarbital, butobarbital, butabital, mefobarbital, metarbital, metohexital, pentobarbital, fenobarbital, secobarbital, talbutal, teamilal y tiopental;

- antagonista de taquiquinina (NK), en particular un antagonista de NK-3, NK-2 o NK-1, p. ej. (αR , 9R)-7-[3,5-bis(trifluorometil)bencil]-8,9,10,11-tetrahidro-9-metil-5-(4-metilfenil)-7H-[1,4]diazocino[2,1-g][1,7]-naftiridina-6-13-diona (TAK-637), 5-[[2R,3S)-2-[(1R)-1-[3,5-bis(trifluorometilfenil)etoxi-3-(4-fluorofenil)-4-morfolinil]-metil]-1,2-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-ona (MK-869), aprepitant, lanepitant, dapitant o 3-[[2-metoxi-5-(trifluorometoxi)fenil]-metilamino]-2-fenilpiperidina (2S,3S);

- analgésicos derivados de alquitrán de hulla, en particular paracetamol;

- inhibidores de la recaptación de serotonina, p. ej. paroxetina, sertralina, norfluoxetina (metabolito desmetilado de la fluoxetina), metabolito desmetilsertralina, '3-fluoxamina, paroxetina, citalopram, metabolito de citalopram

- desmetilcitalopram, escitalopram, d,l-fenfluramina, femoxetina, ifoxetina, cianodotiepina, litoxetina, dapoxetina, nefazodona, cericlamina, trazodona y fluoxetina;
- 5 - inhibidores de la recaptación de noradrenalina (norepinefrina), p. ej. maprotilina, lofepramina, mirtazepina, oxaprotilina, fezolamina, tomoxetina, mianserina, bupropión, metabolito del bupropión hidroxibupropión, nomifensina y viloxazina (Vivalan®)), en especial un inhibidor selectivo de la recaptación de noradrenalina tal como reboxetina, en particular (S,S)-reboxetina y venlafaxina, duloxetina, neurolépticos, sedantes/ansiolíticos;
- inhibidores dobles de la recaptación de serotonina-noradrenalina, tales como venlafaxina, metabolito de la venlafaxina O-desmetilvenlafaxina, clomipramina, metabolito de la clomipramina desmetilclomipramina, duloxetina, milnacipran e imipramina;
- 10 - inhibidores de la acetilcolinesterasa tales como donepezilo;
- antagonistas de 5-HT₃ tales como ondansetrón;
- antagonistas o agonistas del receptor metabotrópico de glutamato (mGluR) o potenciadores alostéricos del glutamato en el mGluR;
- anestésicos locales tales como mexiletino y lidocaína;
- 15 - corticosteroide tal como dexametasona;
- antiarrítmicos, p. ej. mexiletino y fenitoína;
- antagonistas muscarínicos, p. ej., tolterodina, propiverina, cloruro de tropisio T, darifenacina, solifenacina, temiverina y ipratropio;
- agonistas muscarínicos o potenciadores alostéricos de acetilcolina en los receptores muscarínicos
- 20 - canabinoides o potenciadores alostéricos de endorfinas en receptores muscarínicos;
- agonistas de receptor vainilloide (p. ej. resinferatoxina) o antagonistas (p. ej. capsazepina);
- sedantes, p. ej. glutetimida, meprobamato, metacualona y dicloralfenazona;
- ansiolíticos tales como benzodiazepinas,
- antidepresivos tales como mirtazapina,
- 25 - agentes tópicos (p. ej. lidocaína, capsacina y resiniferotoxina);
- relajantes musculares tales como benzodiazepinas, baclofeno, carisoprodol, clorzoxazona, ciclobenzaprina, metocarbamol y orfrenadina;
- antihistaminas o antagonistas de H₁;
- antagonistas de receptores de NMDA;
- 30 - agonistas/antagonistas de receptores de 5-HT;
- inhibidores de PDEV;
- Tramadol®;
- analgésicos colinérgicos (nicotínicos);
- ligandos alfa-2-delta;
- 35 - antagonistas de subtipo de prostaglandina E₂;
- antagonistas de leucotrienos B₄;
- inhibidores de 5-lipooxigenasa; y
- antagonistas de 5-HT₃.
- 40 Las enfermedades y afecciones que se pueden tratar y/o prevenir usando dichas combinaciones incluyen dolor, enfermedades neuropáticas agudas, crónicas, mediadas por el sistema central y periférico, así como otras enfermedades con dolor asociado y otros trastornos nerviosos centrales tales como epilepsia, ansiedad, depresión y enfermedades bipolares; o trastornos cardiovasculares tales como arritmias, fibrilación auricular y fibrilación atrial;

trastornos neuromusculares tales como síndrome de las piernas inquietas y parálisis muscular o tétanos (Hamann M, Meisler MH, Richter, *A Exp. Neurol.* 184(2):830-838 (2003)); neuroprotección contra accidente cerebrovascular, traumatismo neuronal y esclerosis múltiple; y canalopatías tales como eritromelalgia y síndrome de dolor rectal familiar.

5 Como se usa en la presente memoria "combinación" se refiere a cualquier mezcla o permutación del enantiómero (S) de la invención con uno o más agentes terapéuticos adicionales. Salvo que el contexto indique claramente otra cosa, "combinación" puede incluir el suministro simultáneo o secuencial del enantiómero (S) de la invención con uno o más agentes terapéuticos. Salvo que el contexto indique claramente otra cosa, "combinación" puede incluir formas farmacéuticas del enantiómero (S) de la invención con otro agente terapéutico. Salvo que el contexto indique claramente otra cosa, "combinación" puede incluir vías de administración del enantiómero (S) de la invención con otro agente terapéutico. Salvo que el contexto indique claramente otra cosa, "combinación" puede incluir formulaciones del enantiómero (S) de la invención con otro agente terapéutico. Las formas farmacéuticas, vías de administración y composiciones farmacéuticas incluyen las descritas en la presente memoria.

15 Una terapia de combinación de la invención incluye la aplicación tópica del enantiómero (S) de la invención con un agente oral. La aplicación tópica del enantiómero (S) de la invención tiene exposición sistémica muy baja y tiene actividad que es aditiva con una serie de analgésicos orales. Otra posible terapia de combinación incluye una dosis oral del enantiómero (S) de la invención con otro agente oral. Una terapia de combinación adicional de la invención incluye la aplicación tópica del enantiómero (S) de la invención con un agente tópico.

20 El enantiómero (S) de la invención se puede incorporar en composiciones para recubrir un dispositivo médico implantable, tales como prótesis, válvulas artificiales, injertos vasculares, endoprótesis vasculares y catéteres. Por consiguiente, la presente invención, en otro aspecto, incluye una composición para el recubrimiento de un dispositivo implantable que comprende un compuesto de la presente invención como se ha descrito antes y un vehículo adecuado para recubrir el dispositivo implantable. En otros aspectos más, la presente invención incluye un dispositivo implantable recubierto con una composición que comprende el enantiómero (S) de la invención y un vehículo adecuado para el recubrimiento del dispositivo implantable. Los recubrimientos adecuados y la preparación general de dispositivos implantables recubiertos se describe en las patentes de EE.UU. n° 6.099.562; 5.886.026; y 5.304.121.

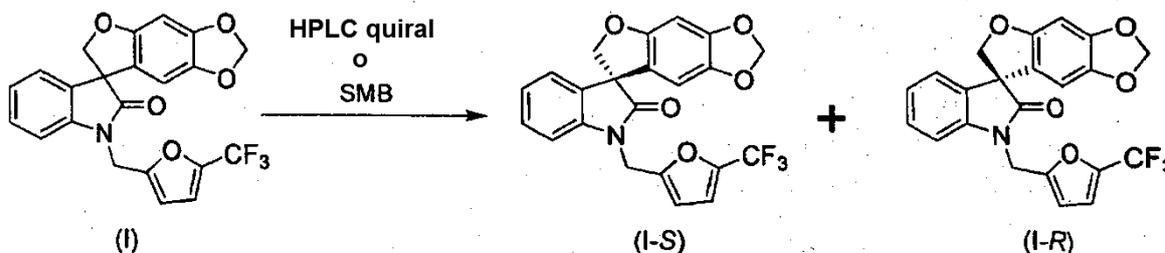
Kits de piezas

30 La presente invención también proporciona kits que contienen una composición farmacéutica de la invención. El kit también incluye instrucciones para usar la composición farmacéutica para modular la actividad de canales iónicos, para el tratamiento del dolor, así como otras utilidades descritas en la presente memoria. Preferiblemente, un envase comercial contendrá una o más dosis unitarias de la composición farmacéutica. Por ejemplo, dicha dosis unitaria puede ser una cantidad suficiente para preparar una inyección intravenosa. Será evidente para los expertos en la técnica que aquellas composiciones que son sensibles a la luz y/o aire pueden requerir envasado y/o formulación especiales. Por ejemplo, se puede usar envasado que es opaco a la luz, y/o sellado del contacto con el aire ambiente, y/o formulado con recubrimientos o excipientes adecuados.

Preparación del enantiómero (S) de la invención

40 El enantiómero (S) de la invención y el correspondiente enantiómero (R) se preparan por resolución del compuesto de fórmula (I), como se ha expuesto antes en el resumen de la invención, usando métodos de cromatografía líquida de alta presión quiral o por métodos de cromatografía de lecho móvil simulado, como se describe a continuación en el siguiente esquema de reacción, en donde "HPLC quiral" se refiere a la cromatografía líquida de alta presión quiral y "SMB" se refiere a la cromatografía de lecho móvil simulado:

Esquema de reacción



45 El compuesto de fórmula (I) se puede preparar por los métodos descritos en la solicitud de patente publicada PCT n° WO 2006/110917, por métodos descritos en la presente memoria, o por métodos conocidos para el experto en la técnica.

Un experto en la técnica reconocerá las variaciones en el esquema de reacción anterior que son adecuadas para la

resolución de los enantiómeros individuales.

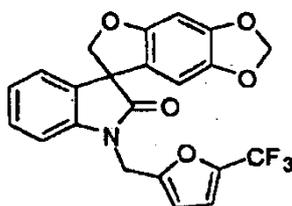
Alternativamente, el enantiómero (*S*) de fórmula (I-*S*) y el enantiómero (*R*) de fórmula (I-*R*) se pueden sintetizar a partir de materiales de partida que son conocidos o se preparan fácilmente usando procedimientos análogos a los que son conocidos.

- 5 Preferiblemente, el enantiómero (*S*) de la invención obtenido por los métodos de resolución descritos en la presente memoria, carece sustancialmente del enantiómero (*R*) o contiene solo trazas del enantiómero (*R*).

Los siguientes ejemplos sintéticos sirven para ilustrar los métodos de resolución descritos por los esquemas de reacción anteriores.

Ejemplo sintético 1

- 10 Síntesis de 1'-[[5-(trifluorometil)furan-2-il]metil]espiro[furo[2,3-*f*][1,3]benzodioxol-7,3'-indol]-2'(1'*H*)-ona (compuesto de fórmula (I))



- 15 A una suspensión de espiro[furo[2,3-*f*][1,3]benzodioxol-7,3'-indol]-2'(1'*H*)-ona (1,0 g, 3,6 mmol), que se puede preparar según los métodos descritos en la solicitud de patente publicada PCT n° WO 2006/110917, y carbonato de cesio (3,52 g, 11 mmol) en acetona (50 ml) se añadió 2-bromometil-5-trifluorometilfuran (1,13 g, 3,9 mmol) en una porción y la mezcla de reacción se agitó a 55-60°C durante 16 horas. Tras enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se filtró y el filtrado se evaporó a presión reducida. El residuo se sometió a cromatografía en columna, eluyendo con acetato de etilo/hexano (1/9 - 1/1) para dar la 1'-[[5-(trifluorometil)furan-2-il]metil] espiro[furo[2,3-*f*][1,3]benzodioxol-7,3'-indol]-2'(1'*H*)-ona, es decir, el compuesto de fórmula (I), (1,17 g, 76%) en forma de un sólido blanco: p.f. 139-141°C; RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 7,32-6,97 (m, 5H), 6,72 (d, *J* = 3,3 Hz, 1H), 6,66 (s, 1H), 6,07 (s, 1H), 5,90-5,88 (m, 2H), 5,05, 4,86 (ABq, *J*_{AB} = 16,1 Hz, 2H), 4,91 (d, *J* = 9,0 Hz; 1 H), 4,66 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H); RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 176,9, 155,7, 153,5, 148,8, 142,2, 141,9, 140,8, 140,2, 139,7, 139,1, 132,1, 129,2, 124,7, 124,1, 123,7, 121,1, 120,1, 117,6, 114,5, 114,4, 110:3, 109,7, 103,0, 101,9, 93,8, 80,0, 57,8, 36,9; MS (ES+) *m/z* 430,2 (*M* + 1), 452,2 (*M* + 23); Calculado para C₂₂H₁₄F₃NO₆: C, 61,54%; H, 3,29%; N, 3,26%; Encontrado: C, 61,51%; H, 3,29%; N, 3,26%.
- 20
- 25

Ejemplo sintético 2

Resolución del compuesto de fórmula (I) por HPLC quiral

El compuesto de fórmula (I) se resolvió en el enantiómero (*S*) de la invención y el correspondiente enantiómero (*R*) por HPLC quiral en las siguientes condiciones:

- 30 Columna: Chiralcel ® OJ-RH; 20 mm D.I. x 250 mm, 5 µm; Lote: OJRH CJ-EH001 (Daicel Chemical Industries, Ltd)

Eluyente: acetonitrilo/agua (60/40, v/v, isocrático)

Caudal: 10 ml/min

Tiempo de ejecución: 60 min

Carga: 100 mg del compuesto de fórmula (I) en 1 ml de acetonitrilo

- 35 Temperatura: Ambiente

- En las condiciones de HPLC quiral anteriores, el enantiómero (*R*) del compuesto de fórmula (I), es decir, la (*R*)-1'-[[5-(trifluorometil)furan-2-il]metil]espiro[furo[2,3-*f*][1,3]benzodioxol-7,3'-indol]-2'(1'*H*)-ona, se aisló como la primera fracción como un sólido blanco; ee (exceso enantiomérico) >99% (OJ-RH analítico, acetonitrilo en agua al 55%); p.f. 103-105.°C; RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,32-6,99 (m, 5H), 6,71 (d, *J* = 3,4 Hz, 1H), 6,67 (s, 1H); 6,05 (s, 1H), 5,89 (d, *J* = 6,2 Hz, 2H), 5,13, 5,02 (ABq, *J*_{AB} = 16,4 Hz, 2H), 4,82, 4,72 (ABq, *J*_{AB} = 9,4 Hz, 2H); RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 177,2, 155,9, 152,0, 149,0, 142,4, 142,0, 141,3, 132,0, 129,1, 123,9, 120,6, 119,2, 117,0, 112,6, 109,3, 108,9, 103,0, 101,6, 93,5, 80,3, 58,2, 36,9; MS (ES+) *m/z* 430,2 (*M* + 1), [α]_D -17,46° (c 0,99, DMSO). El enantiómero (*S*) del compuesto de fórmula (I), es decir, la (*S*)-1'-[[5-(trifluorometil)furan-2-il]metil]espiro[furo[2,3-*f*][1,3]benzodioxol-7,3'-indol]-2'(1'*H*)-ona se aisló como la segunda fracción en forma de un sólido blanco; ee > 99% (OJ-RH analítico, acetonitrilo en agua al 55%); p.f. 100-102 °C; RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,32-6,99 (m, 5H),
- 40
- 45

6,71 (d, $J = 3,4$ Hz, 1H), 6,67 (s, 1 H), 6,05 (s, 1H), 5,89 (d, $J = 6,3$ Hz, 2H), 5,12, 5,02 (ABq, $J_{AB} = 16,4$ Hz, 2H), 4,82, 4,72 (ABq, $J_{AB} = 9,4$ Hz, 2H); RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 177,2, 155,9, 152,0, 149,0, 142,4, 142,0, 141,3, 132,0, 129,1, 123,9, 120,6, 119,2, 117,0, 112,6, 109,3, 108,9, 103,0, 101,6, 93,5, 80,3, 58,2, 36,9; MS (ES+) m/z 430,2(M + 1), $[\alpha]_D +14,04^\circ$ (c 0,99, DMSO).

5 Ejemplo sintético 3

Resolución del compuesto de fórmula (I) por cromatografía de SMB

El compuesto de fórmula (I) se resolvió en el enantiómero (S) de la invención y el correspondiente enantiómero (R) por cromatografía de SMB en las siguientes condiciones:

Extracto: 147,05 ml/min

10 Refinado: 76,13 ml/min

Eluyente: 183,18 ml/min

Alimentación: 40 ml/min

Reciclado: 407,88 ml/min

Tiempo de ejecución: 0,57 min

15 Temperatura: 25 °C

Presión: 46 bar

20 La solución de alimentación (25 g del compuesto de fórmula (I) en 1,0 litros de fase móvil (25:75:0,1 (v:v:v) mezcla de acetonitrilo/metanol/ácido trifluoroacético)) se inyectó de forma continua en el sistema SMB (Novasep Licosep Lab Unit), que estaba equipado con 8 columnas idénticas en configuración 2-2-2-2 que contenían 110 g (por columna, 9,6 cm, D.I. 4,8 cm) de ChiralPAK-AD. El primer enantiómero que eluye (el enantiómero (R) del compuesto de fórmula (I)) estaba contenido en la corriente de refinado y el segundo enantiómero que eluye (el enantiómero (S) del compuesto de fórmula (I)) estaba contenido en la corriente de extracto. Los datos de caracterización del enantiómero (S) y el enantiómero (R) obtenidos de la resolución por SMB eran idénticos a los obtenidos usando la HPLC quiral anterior.

25 El compuesto de fórmula (I) se resolvió en sus enantiómeros constituyentes en un sistema de autopurificación de LCMS preparativo Waters. El primer enantiómero que eluye de la columna quiral se bromó (en un sitio alejado del centro estereogénico) para dar el correspondiente derivado 5'-bromo, que posteriormente se cristalizó para generar un monocristal adecuado para la cristalografía de rayos X. Se obtuvo la estructura cristalina de este derivado bromado del primer enantiómero que eluye y se encontró que la configuración absoluta del mismo era la misma que la del enantiómero (R) de la invención. Por lo tanto, el segundo enantiómero que eluye de la columna quiral es el enantiómero (S) de la invención. Además, el material obtenido de la columna de extracto de la resolución de SMB tenía una rotación óptica específica del mismo signo (positiva, es decir, dextrorrotatoria) como la del material obtenido de la resolución de LC mencionada antes.

30 Ensayos biológicos

35 Se conocen diferentes técnicas en la materia para el ensayo de la actividad del compuesto de la invención o la determinación de su solubilidad en excipientes farmacéuticamente aceptables. Con el fin de que la invención descrita en la presente memoria se pueda entender de forma más completa, se exponen los siguientes ensayos biológicos. Debe entenderse que estos ejemplos tienen solo fines ilustrativos.

Ejemplo biológico 1

40 Ensayo de entrada de flujo de guanidina (ensayo in vitro)

Este ejemplo describe un ensayo in vitro para ensayar y analizar el perfil de los agentes de ensayo frente a canales de sodio regulados por voltaje de rata o humanos expresados establemente en células sean expresados de origen endógeno o heterólogo. El ensayo también es útil para determinar la CI_{50} de un compuesto que modula (preferiblemente bloquea) canales de sodio regulados por voltaje. El ensayo se basa en el ensayo de entrada de flujo de guanidina descrito por Reddy, N.L., et al., *J. Med. Chem.* (1998), 41(17):3298-302.

45 La entrada de flujo de guanidina es un ensayo de flujo de radiotrazador usado para determinar la actividad de flujo iónico de los canales de sodio regulados por voltaje en un formato basado en microplaca de alta capacidad. El ensayo usa hidrocloreuro de ^{14}C -guanidina en combinación con diferentes moduladores de canales de sodio regulados por voltaje conocidos que producen entrada de flujo mantenida, para ensayar la potencia de los agentes de ensayos. La potencia se determina por un cálculo de la CI_{50} . La selectividad se determina comparando la

potencia el compuesto para el canal de sodio regulado por voltaje de interés con su potencia contra otros canales de sodio regulados por voltaje (llamado también “análisis de perfil de selectividad”).

Cada uno de los agentes ensayados se ensaya contra células que expresan los canales de sodio regulados por voltaje de interés. Los canales de sodio regulados por voltaje se caracterizan como sensibles o insensibles a TTX. Esta propiedad es útil cuando se evalúan las actividades de un canal de sodio regulado por voltaje de interés cuando reside en una población mezclado con otros canales de sodio regulados por voltaje. La siguiente tabla 1 resume las líneas celulares útiles en el cribado para una determinada actividad de canal de sodio regulado por voltaje en presencia o ausencia de TTX.

Tabla 1

| Línea celular | Expresión de ARNm | Caracterización funcional |
|--|---|--|
| CHO-K1 (Ovario de hámster chino; línea celular hospedante recomendada) Número de acceso en ATCC CCL-61 | <ul style="list-style-type: none"> • La expresión de Na_v1.4 se ha mostrado por RT-PCR • No se ha detectado expresión de otros Na_v | <ul style="list-style-type: none"> • El aumento de 18 a 20 veces en la entrada de flujo de [¹⁴C]-guanidina se bloqueó completamente usando TTX (Na_v1.4 es un canal sensible a TTX) |
| L6 (células de mioblasto de rata) Número en ATCC CRL-1458 | <ul style="list-style-type: none"> • Expresión de Na_v1.4 y 1.5 | <ul style="list-style-type: none"> • El aumento de 10 a 15 veces en la entrada de flujo de [¹⁴C]-guanidina era bloqueada solo parcialmente por TTX 100 nM (Na_v1.5 es resistente a TTX) |
| SH-SY5Y (neuroblastoma humano) número en ATCC CRL-2266 | Expresión publicada de Na _v 1.9 y Na _v 1.7 (Blum <i>et al.</i>) | <ul style="list-style-type: none"> • El aumento de 10 a 16 veces en la entrada de flujo de [¹⁴C]-guanidina por encima de la base era bloqueada parcialmente por TTX (Na_v1.9 es resistente a TTX) |
| SK-N-BE2C (una línea celular de neuroblastoma humano, número en ATCC CRL-2268) | <ul style="list-style-type: none"> • Expresión de Na_v1.8 | <ul style="list-style-type: none"> • La estimulación de células BE2C con piretroides produjo un aumento de 6 veces de la entrada de flujo de [¹⁴C]-guanidina por encima de la base. • La TTX bloqueó parcialmente la entrada de flujo (Na_v1.8 es resistente a TTX) |
| PC12 (feocromocitoma a de rata) Número en ATCC CRL-1721 | <ul style="list-style-type: none"> • Expresión de Na_v1-2 y Na_v1.7 | <ul style="list-style-type: none"> • El aumento de 8 a 12 veces en la entrada de flujo de [¹⁴C]-guanidina se bloqueó completamente usando TTX. (Na_v1.2 y Na_v1.7 son canales sensibles a TTX) |
| HEK293 (riñón embrionario humano) Número en ATCC CRL-1573 | <ul style="list-style-type: none"> • Expresión de hNa_v1.7 | <ul style="list-style-type: none"> • Na_v1.7 es un canal sensible a TTX. La Cl₅₀ de TTX en el ensayo funcional de guanidina es 8 nM |

También se pueden usar líneas celulares inmortalizadas que expresan de forma heterogénea canales de sodio regulados por voltaje. La clonación, transfección estable y propagación de dichas líneas celulares son conocidos por los expertos en la técnica (véase, por ejemplo, Klugbauer, N, et al., *EMBO J.* (1995), 14(6):1084-90; y Lossin, C., et al., *Neuron* (2002), 34, pág. 877-884).

Las células que expresan el canal de sodio regulado por voltaje de interés se desarrollan de acuerdo con el proveedor o en el caso de una célula recombinante en presencia de medio de crecimiento selectivo tal como G418 (Gibco/Invitrogen). Las células se disocian de las placas de cultivo con una solución enzimática (1X) Tripsina/EDTA (Gibco/Invitrogen) y se analizó la densidad y viabilidad usando hemocitómetro (Neubauer). Las células disociadas se lavan y se vuelven a suspender en su medio de cultivo y después se cultivan en placas de centelleo recubiertas con Poli-D-Lisina (Perkin Elmer) (aproximadamente 100.000 células/pocillo) y se incuban a 37°C/5% de CO₂, durante 20-24 horas. Después de un lavado exhaustivo con solución salina tamponada - HEPES bajo en sodio (LNHBSS) (cloruro de colina 150 mM, HEPES 20 mM (Sigma), cloruro cálcico 1 mM, cloruro potásico 5 mM, cloruro magnésico 1 mM, glucosa 10 mM) los agentes de ensayo se diluyen con LNHBSS y después se añaden a cada pocillo a la concentración deseada. (Se pueden usar diferentes concentraciones del agente de ensayo). La mezcla de activación/radiomarcaje contiene un alcaloide tal como veratridina o aconitina (Sigma) o un piretroide tal como deltametrina, veneno de escorpión *Leiurus quinquestriatus* hebraeus (Sigma) e hidrocloreuro de ¹⁴C-guanidina (ARC) para medir el flujo a través de los canales de sodio regulados por voltaje.

Después de cargar las células con agente de ensayo y mezcla de activación/radiomarcaje, las placas de centello recubiertas con poli-L-lisina se incuban a temperatura ambiente. Después de incubación, las placas de centello recubiertas con poli-D-lisina se lavan extensamente con LNHBS complementado con guanidina (Sigma). Las placas de centello recubiertas con poli-D-lisina se secan y a continuación se realiza el recuento usando un aparato Wallac MicroBeta TriLux (Perkin-Elmer Life Sciences). La capacidad del agente de ensayo para bloquear la actividad del canal del sodio regulado por voltaje se determina comparando la cantidad de ¹⁴C-guanidina presente dentro de las células que expresan los diferentes canales del sodio regulados por voltaje. Basándose en estos datos se puede usar una variedad de cálculos, como se expone en otro lugar de esta memoria descriptiva, para determinar si un agente de ensayo es selectivo para un canal de sodio regulado por voltaje particular.

El valor de CI_{50} de un agente de ensayo para un canal de sodio regulado por voltaje específico se puede determinar usando el método general anterior. La CI_{50} se puede determinar usando una curva de 3, 8, 10, 12 o 16 puntos por duplicado o triplicado con una concentración inicial de 1, 5 o 10 μM con dilución seriada con una concentración final que alcanza los intervalos subnanomolar, nanomolar y micromolar bajo. Típicamente, la concentración del punto medio del agente de ensayo se establece en 1 μM , y se aplican concentraciones secuenciales de diluciones a la mitad o mayores o menores (p. ej. 0,5 μM ; 5 μM y 0,25 μM ; 10 μM y 0,125 μM ; 20 μM etc.). La curva de CI_{50} se calcula usando el modelo logístico de 4 parámetros o fórmula de modelo de dosis-respuesta sigmoidea (ajuste = $(A+((BA)/(1+((C/x)^D))))$).

El número de veces de selectividad, factor de selectividad o múltiplo de selectividad, se calcula dividiendo el valor de CI_{50} del canal de sodio regulado por voltaje de ensayo entre el canal de sodio regulado por voltaje de referencia, por ejemplo $\text{Na}_v1.5$.

Por consiguiente, el compuesto de fórmula (I), el enantiómero (S) del compuesto de fórmula (I), es decir el enantiómero (S) de la invención, y el enantiómero (R) del compuesto de fórmula (I), cuando se ensayaron en este ensayo, demostraron actividad de bloqueo de canal de sodio regulado por voltaje contra $\text{hNa}_v1.7$ como se expone en la tabla 2:

Tabla 2

| Compuesto | Nombre químico | CI_{50} (μM) |
|-----------|--|-----------------------------|
| (I) | 1'-{[5-(trifluorometil)furan-2-il]metil}espiro[furo[2,3-f][1,3]benzodioxol-7,3'-indol]-2'(1'H)-ona | 0,007 |
| (I-R) | (R)-1'-{[5-(trifluorometil)furan-2-il]metil}espiro[furo[2,3-f][1,3]benzodioxol-7,3'-indol]-2'(1'H)-ona | 4,200 |
| (I-S) | (S)-1'-{[5-(trifluorometil)furan-2-il]metil}espiro[furo[2,3-f][1,3]benzodioxol-7,3'-indol]-2'(1'H)-ona | 0,003 |

La relación concentración-respuesta para el enantiómero (S) de la invención y el enantiómero (R) se muestra en la figura 1. Las curvas negras indican el mejor ajuste por mínimos cuadrados a una isoterma de unión 1:1; la CI_{50} que describe estas curvas se dan en la tabla 2. El enantiómero (S) de la invención demostraba una potencia de inhibición significativamente mayor (es decir, > 1000 veces) contra $\text{hNa}_v1.7$ en este modelo cuando se comparó con la potencia de inhibición del correspondiente enantiómero (R).

Estos resultados favorecen el uso del enantiómero (S) de la invención frente al enantiómero (R) o el compuesto de fórmula (I) (el racemato) para las utilidades descritas en la presente memoria, en cuanto que se puede lograr una mayor actividad farmacológica con menores niveles de dosis, posiblemente con menores efectos secundarios. Además, el enantiómero (R) es una herramienta muy importante para los estudios de seguridad porque permite distinguir entre los efectos basados en mecanismo (los mediados por bloqueo de canales de sodio) y actividades fuera del objetivo que se pueden eliminar en análogos sin comprometer la eficacia. Si un efecto adverso se basa en mecanismo, entonces el enantiómero (S) será mucho más potente que el enantiómero (R), ya que es improbable que los sitios secundarios de acción tengan estereoselectividad idéntica y es probable que los dos enantiómeros tengan efectos similares, incluyendo la potencia en sitios de acción secundarios.

Ejemplo biológico 2

Ensayo electrofisiológico (ensayo in vitro)

Células HEK293 que expresaban $\text{hNa}_v1.7$ se cultivaron en medio de crecimiento DMEM (Gibco) con G418 0,5 mg/ml, PSG \pm 1%, y suero bovino fetal inactivado térmicamente al 10% a 37°C y CO_2 al 5%. Para los registros electrofisiológicos las células se pusieron en placas de 10 mm.

Se examinaron los registros de células enteras mediante métodos establecidos de pinzamiento de voltaje en

configuración de célula entera (Bean et al., citado antes) usando un amplificador Axopatch 200B y el programa informático Clampex (Axon Instruments, Union City, CA). Todos los experimentos se realizaron a temperatura ambiente. Los electrodos se pulieron con fuego hasta resistencias de 2-4 Mohms. Los errores del voltaje y artefactos de capacitancia se minimizaron mediante compensación de resistencia en serie y compensación de capacitancia, respectivamente. Los datos se adquirieron a 40 kHz y se filtraron a 5 kHz. La disolución externa (baño) consistía en: NaCl (140 mM), KCl (5 mM), CaCl₂ (2 mM), MgCl₂ (1 mM), HEPES (10 mM) a pH 7,4. La disolución interna (pipeta) consistía en (en mM): NaCl (5), CaCl₂ (0,1), MgCl₂ (2), CsCl (10), CsF (120), HEPES (10), EGTA (10), a pH 7,2.

Para estimar la afinidad de los compuestos en estado estacionario por el estado de reposo e inactivado del canal (K_r y K_i, respectivamente), se usaron pulsos de ensayo de 12,5 ms para voltajes despolarizantes de -60 a +90 mV desde un potencial de mantenimiento de -120 mV, para construir las relaciones corriente-voltaje (curvas I-V). Se usó un voltaje cercano al máximo de la curva I-V (-30 a 0 mV) como el pulso de ensayo a lo largo del resto del experimento. Después se construyeron las curvas de inactivación en estado estacionario (disponibilidad) midiendo la corriente activada durante un pulso de ensayo de 8,75 ms después de pulsos de acondicionamiento de 1 segundo para potenciales en el intervalo de -120 a -10 mV.

La dependencia del voltaje en estado estacionario de la unión de un compuesto a un canal de sodio regulado por voltaje se demostró midiendo el bloqueo de la corriente iónica a dos potenciales de mantenimiento. La unión a canales en estado de reposo se determinó usando el potencial de mantenimiento de -120 mV, de modo que se logró la máxima disponibilidad. Se evaluó la unión a canales en estado inactivado a un potencial de mantenimiento tal que solo aproximadamente 10% de los canales estaban disponibles para abrirse. El potencial de membrana se mantuvo a este voltaje durante al menos 10 segundos de modo que podía equilibrarse la unión al fármaco.

La constante de disociación aparente a cada voltaje se calculó con la ecuación:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{[\text{Fármaco}]}{([\text{Fármaco}] + K_d)} \times 100$$

donde K_d es la constante de disociación (sea K_r o K_i), y [fármaco] es la concentración del compuesto de ensayo.

Por consiguiente, el compuesto de fórmula (I), el enantiómero (S) del compuesto de fórmula (I), es decir, el enantiómero (S) de la invención, y el enantiómero (R) del compuesto de fórmula (I), cuando se ensayó en este modelo, demostró afinidades para el estado de reposo/cerrado y el estado inactivado de hNa_v1.7 como se expone en la tabla 3:

Tabla 3

| Compuesto | Nombre químico | K _i (μM) | K _r (μM) |
|-----------|--|---------------------|---------------------|
| (I) | 1'-[[5-(trifluorometil)furan-2-il]metil]espiro[furo[2,3- <i>η</i>][1,3]benzodioxol-7,3'-indol]-2'(1' <i>H</i>)-ona | 0,142 | >10 μM |
| (I-R) | (R)-1'-[[5-(trifluorometil)furan-2-il]metil]espiro[furo[2,3- <i>η</i>][1,3]benzodioxol-7,3'-indol]-2'(1' <i>H</i>)-ona | 0,869 | >10 μM |
| (I-S) | (S)-1'-[[5-(trifluorometil)furan-2-il]metil]espiro[furo[2,3- <i>η</i>][1,3]benzodioxol-7,3'-indol]-2'(1' <i>H</i>)-ona | 0,161 | >10 μM |

Como se demostraba con estos resultados, el enantiómero (S) de la invención es un modificador dependiente del estado o voltaje de hNa_v1.7, que tiene una afinidad baja por el estado de reposo/cerrado y una afinidad alta por el estado inactivado. Los resultados demostraban que el enantiómero (S) era aproximadamente 5 veces más potente en la unión al estado inactivado de hNa_v1.7 que el enantiómero (R). Además, los resultados demostraban que el enantiómero (S) es principalmente responsable de la potencia del racemato, es decir, el compuesto de fórmula (I).

Ejemplo biológico 3

Ensayos in vivo

Dolor agudo (ensayo de formalina)

Se usa el ensayo de formalina como un modelo animal de dolor agudo. En el ensayo de formalina, los animales se habitúan brevemente a la cámara de ensayo de plexiglás el día antes del experimento durante 20 minutos. El día del ensayo se inyecta a los animales aleatoriamente los artículos de ensayo. Después de 30 minutos después de la administración de fármaco, se inyectan 50 μl de formalina al 10% por vía subcutánea en la superficie de la planta de la pata trasera izquierda de las ratas. La adquisición de datos por vídeo empieza inmediatamente después de la

administración de formalina, durante 90 minutos.

Las imágenes se capturan usando el programa Actimatrix Limelight que almacena ficheros con la extensión *.Iii, y después los convierte en el código MPEG-4. Los vídeos después se analizan usando el programa de análisis de comportamiento "The Observer 5.1", (Versión 5.0, Noldus Information Technology, Wageningen, Los Países Bajos).

5 El análisis de vídeo se hace observando el comportamiento del animal y puntuando cada uno según el tipo, y definiendo la duración del comportamiento (Dubuisson y Dennis, 1977). Los comportamientos puntuados incluyen: (1) comportamiento normal, (2) no poner peso en la pata, (3) subir la pata, (4) lamer/morder o rascarse la pata. Subir, favorecer o lamer en exceso, morder o rascar la pata inyectada indica una respuesta al dolor. Indica respuesta o protección analgésica de los compuestos si ambas patas descansan sobre el suelo sin favorecer, lamer en exceso, morder o rascarse de forma obvia la pata inyectada.

10 El análisis de los datos del ensayo de la formalina se hace de acuerdo con dos factores: (1) Porcentaje de efecto inhibidor potencial máximo (% MPIE) y (2) puntuación de dolor. El % MPIE se calcula por una serie de etapas, donde la primera es la suma de la duración de los comportamientos no normales (comportamientos 1, 2, 3) de cada animal. Se obtiene un solo valor para el grupo de vehículo promediando todas las puntuaciones dentro del grupo de tratamiento con vehículo. El siguiente cálculo da el valor de MPIE para cada animal:

$$\text{MPIE (\%)} = 100 - [(\text{suma de tratamientos/valor medio de vehículo}) \times 100\%]$$

La puntuación de dolor se calcula a partir de una escala ponderada como se ha descrito antes. La duración del comportamiento se multiplica por el peso (evaluación de la gravedad de la respuesta) y se divide entre la duración total de la observación para determinar una clasificación del dolor para cada animal. El cálculo se representa mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Evaluación de dolor} = [0(T_0) + 1(T_1) + 2(T_2) + 3(T_3)] / (T_0 + T_1 + T_2 + T_3)$$

Dolor inflamatorio crónico inducido por CFA

25 En este ensayo, se evalúa la alodinia táctil con filamentos de von Frey calibrados. Después de una semana completa de aclimatación en la instalación de vivero, se inyectaron por vía subcutánea 150 µl de la emulsión de "adyuvante completo de Freund" (CFA) (CFA suspendido en una emulsión de aceite/solución salina (1:1) en una concentración de 0,5 mg/ml) en la superficie de la planta de la pata trasera izquierda de la ratas bajo anestesia ligera con isoflurano. Se dejó que los animales se recuperaran de la anestesia y se evaluaron los umbrales nociceptivos térmico y mecánico base de todos los animales una semana después de la administración de CFA. Todos los animales se habituaron al equipamiento experimental durante 20 minutos el día antes de iniciar el experimento. Se administraron a los animales los artículos de ensayo y de control, y se midieron los umbrales nociceptivos en tiempos de medición definidos después de la administración de fármaco para determinar las respuestas analgésicas a cada uno de los seis tratamientos disponibles. Los puntos de tiempo usados se determinaron previamente para mostrar el efecto analgésico mayor de cada compuesto de ensayo.

35 Se compararon el enantiómero (*S*) de la invención y el correspondiente enantiómero (*R*) usando la administración tanto oral como tópica. La figura 2 muestra una comparación de la eficacia del enantiómero (*S*) de la invención y el enantiómero (*R*) con administración oral. Cada enantiómero se administró en dosis de 10, 30, 100 o 200 mg/kg. También se determinó la concentración en el plasma alcanzada con cada dosis y se representa gráficamente la anulación de la respuesta de dolor (como el % de aumento desde el umbral base) en función de la concentración plasmática.

40 El enantiómero (*S*) tenía un efecto máximo mayor cuando se administraron 200 mg/kg. El enantiómero (*R*) logró una concentración plasmática mucho mayor con un nivel de dosis equivalente. Esto era un descubrimiento inesperado y atípico. Como consecuencia, el uso del racemato, es decir, el compuesto de fórmula (I), daría como resultado un exceso de aproximadamente 10 veces del enantiómero inactivo, es decir, el enantiómero (*R*). Por consiguiente, el uso del enantiómero (*S*) de la invención mejoraría mucho la probabilidad de obtener eficacia con posibilidad mínima de encontrar actividades fuera del objetivo que no son estereoselectivas.

45 El enantiómero (*S*) de la invención también se administró por vía tópica a los animales en diferentes dosis (1%, 2%, 4% y 8% (p/v)) y se midieron los umbrales nociceptivos en tiempos de medición definidos después de la administración de fármaco, para determinar las respuestas analgésicas a cada uno de los tratamientos disponibles. Los tiempos de medición se determinaron previamente para mostrar el mayor efecto analgésico para cada compuesto de ensayo.

55 Los umbrales de respuesta de los animales a los estímulos táctiles se midieron usando el anesthesiómetro Modelo 2290 Electrovonfrey (IITC Life Science, Woodland Hills, CA) después de la prueba de Hargreaves. Los animales se pusieron en un recinto cerrado de plexiglás elevado sobre una superficie de malla metálica. Después de 15 minutos de acomodación, se aplicó un pelo de von Frey previamente calibrado perpendicularmente a la planta de las patas traseras ipsilaterales de los animales, con suficientes fuerza, medida en gramos, para producir una respuesta viva de la pata. La respuesta indicaba una retirada del estímulo doloroso y constituía el criterio de valoración de la eficacia. El ensayo continúa hasta que se determinó el pelo con la fuerza más baja para inducir un golpecito rápido

de la pata o cuando se alcanzaba la fuerza de corte de exclusión de aproximadamente 20 g. Se usa esta fuerza de corte de exclusión porque representa aproximadamente 10% del peso corporal de los animales y sirve para prevenir la elevación de la pata entera debido al uso de pelos más rígidos, que cambiarían la naturaleza del estímulo. Los datos se expresaron como porcentaje de aumento desde el umbral base medido en gramos.

- 5 El enantiómero (S) de la invención, cuando se ensayó en este modelo, demostró un efecto analgésico como se expone a continuación en la tabla 4.

Tabla 4

| Compuesto | % de aumento desde el valor base (CFB) | | | |
|-----------|--|-----------|-----------|-----------|
| | 1% tópico | 2% tópico | 4% tópico | 8% tópico |
| (I-S) | 0,62 | 16,71 | 28,79 | 45,06 |

- 10 El enantiómero (S) de la invención al 2%, 4% y 8% (p/v) mostró aumentos de los umbrales de retirada de la pata por estímulo mecánico de von Frey expresados como porcentaje de aumento desde el valor base (AVB) para indicar un efecto analgésico. El efecto analgésico para el enantiómero (S) aumentó con dosis crecientes hasta la dosis más alta ensayada de 8% (p/v), que mostró el porcentaje máximo de AVB de +45,1%. Sin embargo, el grupo de dosis de 1% (p/p) no demostró un aumento observable del umbral de retirada de la pata por estímulo mecánico de von Frey. Los resultados indican que el enantiómero (S) tiene efectos analgésicos en el modelo de dolor inflamatorio inducido por CFA en el intervalo de 2% a 8% (p/v).

Modelo de nocicepción posoperatoria

- 20 En este modelo, la hiperalgesia causada por la incisión intraplantar en la pata se mide aplicando estímulos táctiles mayores a la pata hasta que el animal retira la pata de los estímulos aplicados. Mientras los animales estaban anestesiados con 3,5% de isoflurano, que se suministra mediante un cono nasal, se hizo una incisión longitudinal de 1 cm usando una hoja de bisturí del número 10 en la cara plantar de la pata trasera izquierda a través de la piel y fascia, empezando a 0,5 cm del borde proximal del talón y extendiéndose hacia los dedos. Después de la incisión, la piel se fija usando suturas de seda esterilizadas 2, 3-0. El lado lesionado se cubre con polisporina y betadine. Los animales se devuelven a la jaula para la recuperación durante la noche.

- 25 Los umbrales de retirada de los animales de los estímulos táctiles para las patas tanto operadas (ipsilaterales) como no operadas (contralaterales) se puede medir usando el anestesiómetro Modelo 2290 Electrovonfrey (IITC Life Science, Woodland Hills, CA). Los animales se ponen en un recinto cerrado de plexiglás elevado sobre una superficie de malla metálica. Después de al menos 10 minutos de aclimatación se aplicaron pelos de von Frey previamente calibrados perpendicularmente a la superficie de la planta de ambas patas de los animales, en un orden ascendente empezando por el pelo de 10 g, con suficiente fuerza para producir un ligero doblado del pelo contra la pata. El ensayo continuó hasta que se determinó el pelo con la fuerza más baja para inducir un golpecito rápido de la pata o cuando se alcanzaba la fuerza de corte de exclusión de aproximadamente 20 g. Se usa esta fuerza de corte de exclusión porque representa aproximadamente 10% del peso corporal de los animales y sirve para prevenir la elevación de la pata entera debido al uso de pelos más rígidos, que cambiarían la naturaleza del estímulo.

Modelo de dolor neuropático; lesión por constricción crónica

- 35 En este modelo, se hizo una incisión de aproximadamente 3 cm a través de la piel y fascia en la mitad del nivel del muslo de la pata trasera izquierda de los animales, usando una hoja de bisturí del nº 10. Se expuso el nervio ciático izquierdo por disección roma a través del bíceps femoral con cuidado para minimizar la hemorragia. Se ataron cuatro ligaduras flojas a lo largo del nervio ciático usando suturas de seda esterilizadas no degradables 4-0 en intervalos de 1 a 2 mm de separación. La tensión de las ligaduras flojas se aprieta suficiente para inducir una ligera constricción del nervio ciático cuando se observa bajo un microscopio de disección con 4 aumentos. En el animal con operación simulada, se expuso el nervio ciático izquierda sin más manipulación. Se aplicó pomada antibacteriana directamente en la herida y el músculo se cerró usando suturas esterilizadas. Se aplicó betadine sobre el músculo y sus alrededores, seguido del cierre de la piel con clips quirúrgicos.

- 45 Los umbrales de respuesta de los animales a los estímulos táctiles se midieron usando el anestesiómetro Modelo 2290 Electrovonfrey (IITC Life Science, Woodland Hills, CA). Los animales se pusieron en un recinto cerrado de plexiglás elevado sobre una superficie de malla metálica. Después de 10 minutos de acomodación se aplicaron pelos de von Frey previamente calibrados perpendicularmente a la superficie de la planta de ambas patas de los animales, en un orden ascendente empezando por el pelo de 0,1 g, con suficiente fuerza para producir un ligero doblado del pelo contra la pata. El ensayo continúa hasta que se determina el pelo con la fuerza más baja para inducir un golpecito rápido de la pata o cuando se alcanza la fuerza de corte de exclusión de aproximadamente 20 g. Se usa esta fuerza de corte de exclusión porque representa aproximadamente 10% del peso corporal de los animales y sirve para prevenir la elevación de la pata entera debido al uso de pelos más rígidos, que cambiarían la

naturaleza del estímulo.

5 Se evaluaron los umbrales nociceptivos térmicos de los animales usando la prueba de Hargreaves. Después de medir los umbrales táctiles, los animales se pusieron en un recinto cerrado de plexiglás en la parte superior de una plataforma de vidrio elevada con unidades de calentamiento. La plataforma de vidrio se controló por termostato a una temperatura de aproximadamente 24 a 26°C durante todos los ensayos. Se dejó que los animales se acomodaran durante 10 minutos después de ponerlos en el recinto hasta que cesan todos los comportamientos de exploración. Se usó el medidor de analgesia estimulador de planta/cola modelo 226 (IITC, Woodland Hills, CA) para aplicar un haz de calor radiante desde debajo de la plataforma de vidrio a la superficie de la planta de las patas traseras. Durante todos los ensayos, la intensidad inactiva y la intensidad activa de la fuente de calor se fijaron en 1 y 55 respectivamente, y se usó un tiempo de exclusión de 20 segundos para prevenir el daño del tejido.

10 El enantiómero (*S*) se comparó con el correspondiente enantiómero (*R*) y el racemato (compuesto de fórmula (*I*)) en este modelo de lesión por constricción crónica (CCI) usando aplicación tópica del fármaco, como se describe para el modelo de CFA (véase la figura 3). Cada compuesto de ensayo se administró como una pomada que contenía 2% (p/v). De acuerdo con las diferentes actividades de estos dos enantiómeros como inhibidores de canales de sodio regulados por voltaje, solo el enantiómero (*S*) de la invención anulaba las respuestas de dolor, mientras que el enantiómero (*R*) no tenía un aumento significativo desde el valor base. Tanto el enantiómero (*S*) como el racemato mostraron porcentaje similar de aumento desde el valor base, lo que tiende a sugerir que el enantiómero (*S*) es responsable del efecto analgésico.

Ejemplo biológico 4

20 Ensayo de arritmia inducido por aconitina

La actividad antiarrítmica de los compuestos de la invención se demuestra mediante el siguiente ensayo. La arritmia se provoca por administración intravenosa de aconitina (2,0 µg/Kg) disuelta en solución salina fisiológica. Los compuestos de ensayo de la invención se administran por vía intravenosa 5 minutos después de la administración de la aconitina. La evaluación de la actividad antiarrítmica se lleva a cabo midiendo el tiempo desde la administración de la aconitina hasta la aparición de extrasístole (ES) y el tiempo desde la administración de la aconitina hasta la aparición de taquicardia ventricular (VT).

25 En ratas bajo anestesia con isoflurano (1/4 a 1/3 de 2%), se llevó a cabo una traqueotomía creando primero una incisión en la zona del cuello, después aislando la tráquea y haciendo una incisión de 2 mm para insertar un tubo traqueal de 2 cm en la tráquea de modo que la abertura del tubo está colocada justo en la parte superior de la boca. El tubo se sujeta con suturas y se une a un respirador durante la duración del experimento.

30 Después se hacen incisiones (2,5 cm) en las zonas femorales y usando una sonda de disección roma, se aíslan los vasos femorales. Se lleva a cabo la canulación de ambas venas femorales, una para el mantenimiento de anestesia con pentobarbital (0,02-0,05 ml) y una para la infusión e inyección de fármaco y vehículo. Se pone la cánula en la arteria femoral con el catéter con gel de presión sanguínea del transmisor.

35 Los electrodos del ECG se fijan al músculo torácico en la posición de Electrodo II (derecha superior/arriba del corazón - electrodo blanco e izquierda inferior/debajo del corazón - electrodo rojo). Los electrodos se fijan con suturas.

40 Todas las zonas quirúrgicas se cubren con gasa humedecida con solución salina al 0,9%. Se suministra solución salina (1-1,5 ml de una solución al 0,9%) para humedecer las zonas después de cirugía. El ECG y respirador de los animales se dejan equilibrar durante al menos 30 minutos.

La arritmia se induce con infusión de aconitina de 2 µg/Kg/min durante 5 minutos. Durante este tiempo se registra el ECG y se vigila continuamente.

Ejemplo biológico 5

Ensayo de arritmia inducida por isquemia

45 Se han usado modelos de roedores de arritmias ventriculares, tanto en la cardioversión aguda como en los modelos de prevención en el ensayo de potenciales productos terapéuticos para las arritmias tanto auriculares como ventriculares en seres humanos. La isquemia cardiaca que conduce a infarto de miocardio es una causa común de morbilidad y mortalidad. La capacidad de un compuesto para prevenir la taquicardia ventricular inducida por isquemia y fibrilación es un modelo aceptado para determinar la eficacia de un compuesto en un marco clínico tanto para taquicardia auricular y ventricular como fibrilación.

50 La anestesia se induce primero con pentobarbital (i.p.) y se mantiene por una infusión de bolo i.v. Se lleva a cabo la canulación de la tráquea de ratas SD macho para la respiración artificial con aire ambiente con un volumen sistólico de 10 ml/kg, 60 latidos/min. Se ponen cánulas en la arteria y vena femoral derecha con tubo de PE50 para el registro de la presión arterial media (PAM) y la administración intravenosa de compuestos, respectivamente.

Se abre el pecho entre la 4ª y 5ª costillas para crear una abertura de 1,5 cm de modo que el corazón fuera visible. Cada rata se pone en una plataforma con muescas y se enganchan sujeciones metálicas en la caja torácica abriendo la cavidad torácica. Se usa una aguja de sutura para penetrar el ventrículo justo bajo la aurícula levantada y sacar el ventrículo en una dirección diagonal descendente de modo que se obtendría de >30% a <50% de zona de oclusión (ZO). La posición de salida está ~0,5 cm debajo de donde la aorta conecta con el ventrículo izquierdo. La sutura se tensa de modo que se forma un bucle flojo (oclusor) alrededor de una rama de la arteria. Después se cierra el pecho con el extremo del oclusor accesible fuera del pecho.

Los electrodos se ponen en la posición de Electrodo II (aurícula derecha a apéndice) para la medición del ECG como sigue: se inserta un electrodo en la pata delantera derecha y el otro electrodo se inserta en la pata trasera izquierda.

Se registran constantemente la temperatura corporal, presión arterial media (PAM), ECG y frecuencia cardiaca a lo largo del experimento. Una vez que se han estabilizado los parámetros críticos, se toma un registro de 1-2 min para establecer los valores base. Se inicia la infusión de un compuesto de la invención o sustancia de control una vez que se han establecido los valores base. Después de 5 min de infusión del compuesto o control, se tensa la sutura para ligar la LCA y crear isquemia en el ventrículo izquierdo. Los parámetros críticos se registran continuamente durante 20 minutos después de ligado, salvo que la PAM alcance el nivel crítico de 20-30 mm de Hg durante al menos 3 minutos, en cuyo caso se detienen los registros porque el animal se declararía muerto y se sacrificaría. La capacidad de los compuestos de la invención para prevenir arritmias y mantener la PAM y FC cerca de la normalidad se puntúa y se compara con el control.

20 Ejemplo biológico 6

Comparado con el racemato, es decir, el compuesto de fórmula (I), el enantiómero (S), sustancialmente exento del enantiómero (R), tiene un mejor perfil de solubilidad en una variedad de excipientes farmacéuticamente aceptables. Por lo tanto, el enantiómero (S) se puede formular en un número menor de unidades de dosificación que el racemato. Esta propiedad facilita la administración a los pacientes en un nivel mayor si se necesita para lograr la eficacia. A continuación en la tabla 5 se muestran ejemplos de la diferencia de solubilidad:

Tabla 5

| Excipiente | Compuesto de fórmula (I) (racemato) | Enantiómero (S) |
|-----------------------------|-------------------------------------|-----------------|
| Labrasol® | 72,5 mg/ml | 231 mg/ml |
| Propilenglicol | 2,7 mg/ml | 9,8 mg/ml |
| PEG 400 | < 50 mg/ml | > 55 mg/ml |
| Capryol® 90 | 18,1 mg/ml | 96 mg/ml |
| Tween® 80 | 64 mg/ml | > 123 mg/ml |
| Etanol | 10,0 mg/ml | 36,4 mg/ml |
| Labrasol®/PEG 400 60/40 | 70,4 mg/ml | 182 mg/ml |
| Labrasol®/Capryol®90 60/40 | 44,4 mg/ml | 191 mg/ml |
| Labrasol®/Transcutol® 60/40 | 74,2 mg/ml | 186 mg/ml |

Ejemplo biológico 7

Ensayo in vivo para el tratamiento del prurito

30 La histamina produce prurito (picor) en seres humanos. Por consiguiente, este ensayo evalúa la eficacia del enantiómero (S) de la invención administrado por vía tópica y por vía oral en prurito inducido por histamina en ratones ICR macho.

35 Los animales se dividieron aleatoriamente en grupos de ensayo que incluían un grupo no tratado, un grupo tratado con una composición farmacéutica tópica con 8% (p/v) de enantiómero (S), y un grupo tratado con una composición farmacéutica oral de 50 mg/Kg de enantiómero (S). Un día antes del ensayo, se afeitaron las regiones escapulares de los animales con maquinillas de cortar el pelo. El día del ensayo, los animales se habituaron durante 60 min en la cámara de ensayo compuesta de un tubo de plástico transparente puesto en vertical sobre una superficie plana. Después del periodo de habituación, los animales se sacaron del tubo de plástico y se pusieron en un recinto, y se les inyectó histamina en la región escapular afeitada. Las inyecciones se hicieron por vía intradérmica en la piel en

pequeños volúmenes de inyección (10 µl) usando una jeringa de Hamilton. Las soluciones de inyección consistían en histamina disuelta en solución salina en una concentración 100 µg/10 µl (o 10 mg/ml). Se inyectaron 10 µg de la solución a cada ratón. Inmediatamente después de las inyecciones, los animales se devolvieron a las cámaras de ensayo y se observaron mediante cámaras puestas encima de las cámaras de ensayo durante un total de 50 minutos. Las cámaras se conectaron a un ordenador donde se crearon, grabaron y analizaron ficheros de vídeo digital.

Se puntuó el número de ataques de picor a lo largo de 40 minutos. Un “ataque de picor” se definió como la elevación de una pata trasera usándola para rascar la región escapular, y después volviéndola a poner en el suelo. Alternativamente, si en lugar de poner la pata trasera de nuevo en el suelo se observaba que el ratón se lamía la pata, entonces esto también se contaba como un ataque de picor.

Para el grupo no tratado, los animales (n=7) se habituaron a la cámara de ensayo durante 60 minutos antes de la inyección de histamina. Para evaluar el enantiómero (S) por vía tópica en el prurito inducido por histamina, los animales (n=16/grupo) se habituaron a la cámara de ensayo durante 30 minutos, seguido de la aplicación de 50 mg del enantiómero (S) al 8% (p/v) por vía tópica o vehículo en la región afeitada de la espalda. Los animales se devolvieron a la cámara de ensayo durante otros 30 minutos para habituarse antes de la inyección de histamina. Para evaluar el enantiómero (S) oral, se administró a los animales (n=8/grupo) por alimentación oral con sonda 50 mg/kg del enantiómero (S) o vehículo seguido de habituación en la cámara de ensayo durante 60 minutos antes de la inyección de histamina.

Los datos se analizaron usando el programa de análisis estadístico GraphPad Prism 5 y una prueba t para datos no pareados para el análisis unifactorial. Los resultados se expresan como media ± EEM. Los valores que alcanzaban un nivel de p<0,05 de significancia se consideró que eran estadísticamente significativos.

Resultados

La inyección de histamina en la piel produjo a los animales picor esporádicamente en ataques que duraban 1-2 segundos. En el grupo no tratado, los ataques de picor empezaron inmediatamente después de la inyección y después duraron unos 40 min (véase la figura 4). El grupo tratado con enantiómero (S) al 8% (p/v) por vía tópica mostró prurito significativamente reducido (véase la figura 5). Los animales tratados solo con vehículo tenían un número total de ataques de picor de $134,3 \pm 13,31$ (n=16) mientras que los ratones tratados con el enantiómero (S) por vía tópica tuvieron $89,00 \pm 10,51$ (n=16) ataques de picor. La diferencia entre estos grupos era estadísticamente significativa con un p valor de 0,0122. El grupo tratado con 50 mg/Kg de enantiómero (S) por vía oral mostró igualmente prurito significativamente menor (véase la figura 6). Los animales tratados solo con vehículo tuvieron un número total de ataques de picor de $42,88 \pm 6,667$ (n=8) mientras que los ratones tratados con el enantiómero (S) tuvieron $17,25 \pm 6,310$ (n=8) ataques de picor. La diferencia entre los grupos tratados por vía oral también es estadísticamente significativa con un p valor de 0,0144. Los resultados demostraron que el enantiómero (S) administrado por vía oral y tópica reducía el prurito. Además, es evidente que se pueden usar los dos modos comunes de suministro de fármaco, oral y tópico, para suministrar el enantiómero (S) para lograr este efecto terapéutico.

Ejemplo biológico 8

Ensayo clínico en seres humanos para el tratamiento de la eritromelalgia primaria/hereditaria (IEM)

La eritromelalgia primaria/hereditaria (IEM) es una afección de dolor hereditaria rara. La causa subyacente puede ser una o más mutaciones de ganancia de función en el canal de sodio regulado por voltaje $Na_v1.7$, que se ha mostrado que inhibe el enantiómero (S) de la invención.

Los pacientes humanos con IEM tienen episodios recurrentes de dolor ardiente intenso asociado con enrojecimiento y calor en las manos y pies, pero finalmente el dolor se vuelve constante. El dolor se alivia por enfriamiento, pero ha sido en gran medida resistente a la intervención farmacológica. Sin embargo, hay descripciones de bloqueantes de canales de sodio regulados por voltaje que muestran un alivio de dolor de moderado a excelente para esta afección.

Se puede diseñar un ensayo clínico para determinar la eficacia del enantiómero (S) de la invención en la mejora o alivio de la IEM para que sea un estudio cruzado, de múltiples dosis, con doble ocultación, de tres periodos, para minimizar la tasa de abandono de los participantes, y tendrá en cuenta que los pacientes reclutados solo estarán disponibles para un estudio de 10 días. Cada paciente reclutado en el estudio servirá como su propio control, recibiendo tanto placebo como 400 mg del enantiómero (S) de la invención dos veces al día en un modo cruzado.

Ejemplo biológico 9

Ensayo clínico en seres humanos para el tratamiento del dolor dental

El propósito de este ensayo clínico era comparar la seguridad y eficacia (inicio, duración del alivio y eficacia general) de una sola dosis de 500 mg del enantiómero (S) de la invención frente a dosis de placebo para aliviar el dolor después de extracción de terceros molares retenidos.

Se reclutaron 61 sujetos en este estudio. La edad media de los sujetos era 20,4 años, y todos los sujetos eran varones. La mayoría de los sujetos eran caucásicos (95,1%).

La gravedad y el alivio del dolor se midieron usando una escala de valoración numérica de la intensidad del dolor de 11 puntos (clasificada de 0 = sin dolor en absoluto a 10 = el peor dolor imaginable) (PINRS) y una escala categórica de alivio del dolor de 5 puntos (REL). Los sujetos completaron la escala PINRS después de cirugía, pero antes de la administración del enantiómero (S) de la invención. Las variables de eficacia se obtuvieron de las puntuaciones de REL y PINRS e incluían al alivio del dolor total (TOTPAR), diferencia de intensidad de dolor (PID) y suma de las diferencias de intensidad del dolor (SPID) y se evaluaron en los tiempos de medición de 4, 6, 8 y 12 horas después de la administración del enantiómero (S) de la invención.

Sin embargo, los criterios de valoración primarios y todos los secundarios mostraron una tendencia analgésica consistente con separación clara del enantiómero (S) del placebo. Estos resultados sugieren que el enantiómero (S) tiene propiedades analgésicas, pero no se logró la significancia estadística respecto del placebo debido a dos razones principales: (1) tasa de respuesta del placebo relativamente alta y (2) el inicio lento de la acción del enantiómero (S). El modelo dental usado se diseñó y está bien adecuado para la evaluación de fármacos con inicio rápido tales como la clase de fármacos antiinflamatorios AINE. A partir de este estudio era evidente que el enantiómero (S) de la invención no tenía dicho inicio rápido de la acción de tipo AINE. Sin embargo, el alivio del dolor demostrado por los sujetos que recibían el enantiómero (S) era mayor comparado con los sujetos que solo recibían el placebo, suficientemente de modo que la población de eficacia mostró una señal analgésica consistente para todos los criterios de valoración evaluados.

Ejemplo biológico 10

Ensayo clínico en seres humanos para la seguridad del enantiómero (S) de la invención

Este ensayo clínico era un estudio controlado con placebo, con doble ocultación, aleatorizado, en fase 1, en sujetos sanos para evaluar la seguridad y farmacocinética de pomada aplicada por vía tópica que contiene el enantiómero (S) de la invención.

La pomada con enantiómero (S) se aplicó diariamente durante 21 días consecutivos para determinar la toxicidad/capacidad irritante local de la piel del enantiómero (S). También se evaluaron la farmacocinética sistémica y los niveles de fármaco local en la piel. Se evaluó la exposición sistémica del enantiómero (S) después de aplicaciones tópicas e irritación local de la piel después de múltiples dosis de pomada con enantiómero (S). Cada sujeto recibió 5 tratamientos durante 21 días consecutivos: el enantiómero (S) como pomada con 4% y 8% (p/p) (1 x 100 µl; tratamientos A y B, respectivamente), placebo como pomada (tratamiento C), solución salina (0,9%) (1 x 100 µl; control negativo; tratamiento D), y solución de laurilsulfato sódico (SLS) al 0,1% (1 x 100 µl; control positivo; tratamiento E). Los tratamientos se aplicaron en dos sitios diferentes de la parte superior de la espalda de cada sujeto de una forma ocluida (5 tratamientos) y de forma parcialmente ocluida (los primeros 3 tratamientos). La localización para cada tratamiento en cada sitio (tratamientos A, B, C, D y E en sitio ocluido y tratamientos A, B y C en sitio parcialmente ocluido) se hicieron aleatoriamente. Los sujetos se confinaron en el centro de investigación clínica desde aproximadamente 18 horas antes de la primera dosis el día 1 hasta aproximadamente 8 horas después de la 2ª dosis (día 2). Los sujetos volvieron cada día durante 19 días consecutivos (días 3 a 21) para la administración de dosis y procedimientos del estudio.

No se notificaron acontecimientos adversos graves (AAG) o muertes. Todos los acontecimientos adversos (AA) eran de gravedad leve o moderada, con la mayoría de los AA relacionados con reacciones locales de la piel de la cinta quirúrgica usada para adherir los apósitos oclusivos. Todos los sujetos reaccionaron al control positivo. El control positivo se detuvo en todos los sujetos el día 4 después de quejas de excesiva incomodidad de los sujetos. Las puntuaciones de irritación de la piel eran bajas para todos los tratamientos administrados (puntuación máxima de 3 medida en una escala de 0-7) indicando que la pomada con enantiómero (S) era bien tolerada localmente. No se observaron diferencias entre las puntuaciones de irritación acumulada para el enantiómero (S) al 4% (p/p), el enantiómero (S) al 8% (p/p), pomadas con placebo y el control negativo (solución salina al 0,9%). Los signos de irritación se habían resuelto completamente el día 28 (7 días después de la dosis final) para la mayoría de los sujetos.

Los trazados electrocardiográficos no demostraron cambios clínicamente significativos en la frecuencia del pulso, estado de reposo quiescente o intervalos QT_c de los sujetos y no se observaron cambios clínicamente significativos desde los valores base en los signos vitales de los sujetos, reconocimientos médicos o evaluaciones de laboratorio. La exposición sistémica al enantiómero (S) era despreciable, ya que las concentraciones del enantiómero (S) en el plasma estaban por debajo del límite inferior de cuantificación (LLOQ) (0,1 ng/ml o 100 pg/ml) en la mayoría de las muestras (489 de 546 = ~90%). El nivel más alto del enantiómero (S) observado en un sujeto durante el periodo de administración (día 22) era 994 pg/ml. Basado en la irritación local mínima y perfil de seguridad favorable, junto con la baja exposición sistémica del enantiómero (S), se concluyó que el enantiómero (S) de la invención era bien tolerado y seguro como analgésico tópico.

Ejemplo biológico 11

Ensayo clínico en seres humanos para el tratamiento de neuralgia postherpética

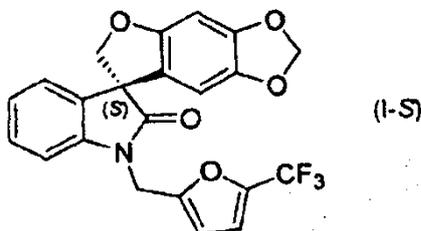
La neuralgia postherpética (PHN) es un modelo bien establecido y bien reconocido para estudiar el dolor neuropático. Además, la PHN demuestra pruebas firmes de la eficacia del bloqueante de canales de sodio. El siguiente estudio representa un estudio cruzado de dos periodos, dos tratamientos, controlado con placebo, de doble ocultación, aleatorizado, para evaluar la seguridad, tolerabilidad, eficacia preliminar y exposición sistémica al enantiómero (S) de la invención administrado por vía tópica a pacientes con PHN. Los objetivos principales son (a) comparar la seguridad y eficacia de una pomada que contiene el enantiómero (S) con la del placebo para el alivio del dolor en pacientes con PHN, y (b) evaluar el grado de exposición sistémica del enantiómero (S) después de aplicación tópica del enantiómero (S) en pacientes con PHN. Los tratamientos consistirán en pomada del enantiómero (S) al 8% (p/p) y la pomada de placebo correspondiente.

El estudio incluirá los siguientes cuatro periodos:

1. Un cribado inicial y periodo de lavado (de hasta 3 semanas);
2. Un periodo de rodaje con placebo, con ocultación única (1 semana);
- 15 3. Un periodo de tratamiento cruzado que consistirá en 2 periodos de tratamiento cada uno de 3 semanas de duración separados por 2 semanas de lavado/rodaje con placebo con ocultación única (total de 8 semanas); y
4. Un periodo de seguimiento de seguridad (2 semanas).

REIVINDICACIONES

1.- El enantiómero (S) de 1'-[[5-(trifluorometil)furan-2-il]metil]espiro[furo[2,3-f][1,3]benzodioxol-7,3'-indol]-2'(1'H)-ona que tiene la siguiente fórmula (I-S):



- 5 o uno de sus solvatos farmacéuticamente aceptables.
- 2.- Una composición farmacéutica que comprende un excipiente farmacéuticamente aceptable y el enantiómero (S) de la reivindicación 1, o uno de sus solvatos farmacéuticamente aceptables.
- 3.- El enantiómero (S) de la reivindicación 1, o uno de sus solvatos farmacéuticamente aceptables, para usar en el tratamiento de una enfermedad o una afección en un mamífero, seleccionada del grupo que consiste en dolor, depresión, enfermedades cardiovasculares, enfermedades respiratorias, enfermedades psiquiátricas, enfermedades neurológicas y convulsiones, y combinaciones de las mismas.
- 10
- 4.- El compuesto para usar de la reivindicación 3, en donde dicha enfermedad o afección se selecciona del grupo que consiste en dolor neuropático, dolor inflamatorio, dolor visceral, dolor en el cáncer, dolor dental, dolor por quimioterapia, dolor por traumatismo, dolor quirúrgico, dolor en el parto, vejiga neurogénica, colitis ulcerativa, dolor crónico, dolor persistente, dolor mediado por sistema periférico, dolor mediado por sistema central, cefalea crónica, migraña, cefalea sinusal, cefalea tensional, dolor del miembro fantasma, lesión de nervios periféricos y combinaciones de los mismos.
- 15
- 5.- El compuesto para usar de la reivindicación 3, en donde dicha enfermedad o afección se selecciona del grupo que consiste en dolor asociado con el VIH, neuropatía inducida por el tratamiento del VIH, neuralgia del trigémino, neuralgia postherpética, eudinia, sensibilidad al calor, sarcoidosis, síndrome del intestino irritable, enfermedad de Crohn, dolor asociado con la esclerosis múltiple, esclerosis lateral amiotrófica, prurito, hipercolesterolemia, hiperplasia prostática benigna, neuropatía diabética, neuropatía periférica, artritis, artritis reumatoide, osteoartritis, distonía paroxística, síndromes de miastenia, miotonía, hipertermia maligna, fibrosis quística, pseudoaldosteronismo, rbdomiolisis, depresión bipolar, ansiedad, esquizofrenia, enfermedad relacionada con toxinas del canal de sodio, eritemalgia familiar, eritromelalgia primaria, dolor rectal familiar, trastorno de dolor episódico paroxísitico, cáncer, epilepsia, convulsiones tónicas parciales y generalizadas, síndrome de piernas inquietas, arritmias, fibromialgia, neuroprotección en afecciones isquémicas causadas por accidente cerebrovascular o traumatismo neuronal, taquiarritmias, fibrilación auricular y fibrilación ventricular.
- 20
- 6.- El enantiómero (S) de la reivindicación 1, o uno de sus solvatos farmacéuticamente aceptables, para usar en el tratamiento de una enfermedad o afección en un mamífero por la inhibición del flujo iónico a través de un canal de sodio regulado por voltaje en el mamífero.
- 30
- 7.- El enantiómero (S) de la reivindicación 1, o uno de sus solvatos farmacéuticamente aceptables, para usar en la disminución de flujo iónico a través de un canal de sodio regulado por voltaje en una célula en un mamífero.
- 8.- El uso del enantiómero (S) de la reivindicación 1, en la preparación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o afección mejorada o aliviada por la inhibición de un canal de sodio regulado por voltaje en mamíferos.
- 35
- 9.- El enantiómero (S) de la reivindicación 1, o uno de sus solvatos farmacéuticamente aceptables, para usar en el tratamiento del prurito en un mamífero.

Bloqueo estereoselectivo de entrada de flujo de guanidinio en hNAV1.7

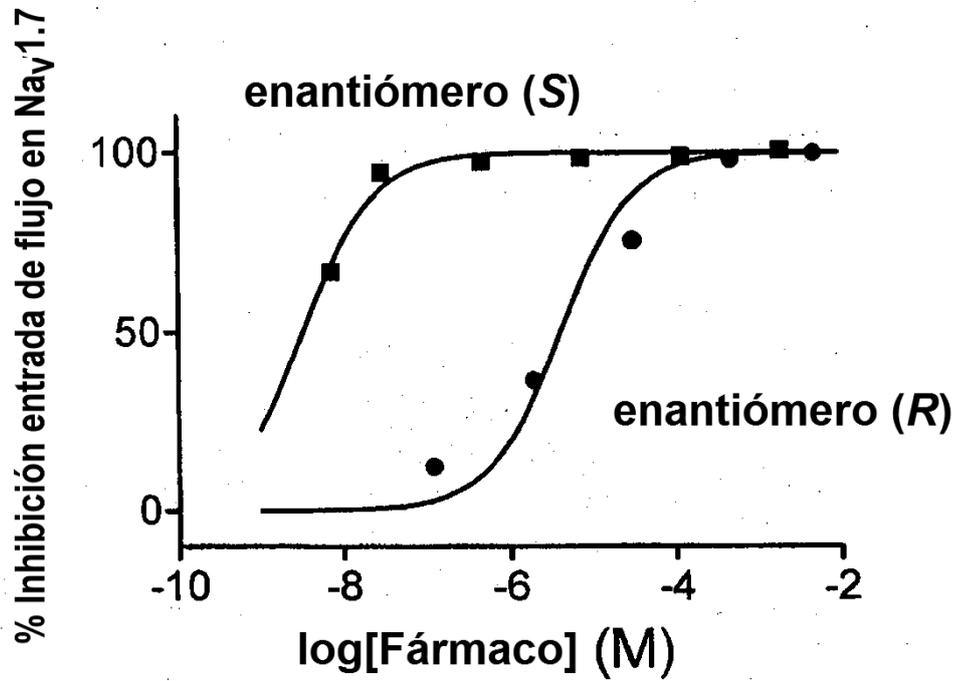


Fig. 1

Bloqueo estereoselectivo de dolor inflamatorio en ratas

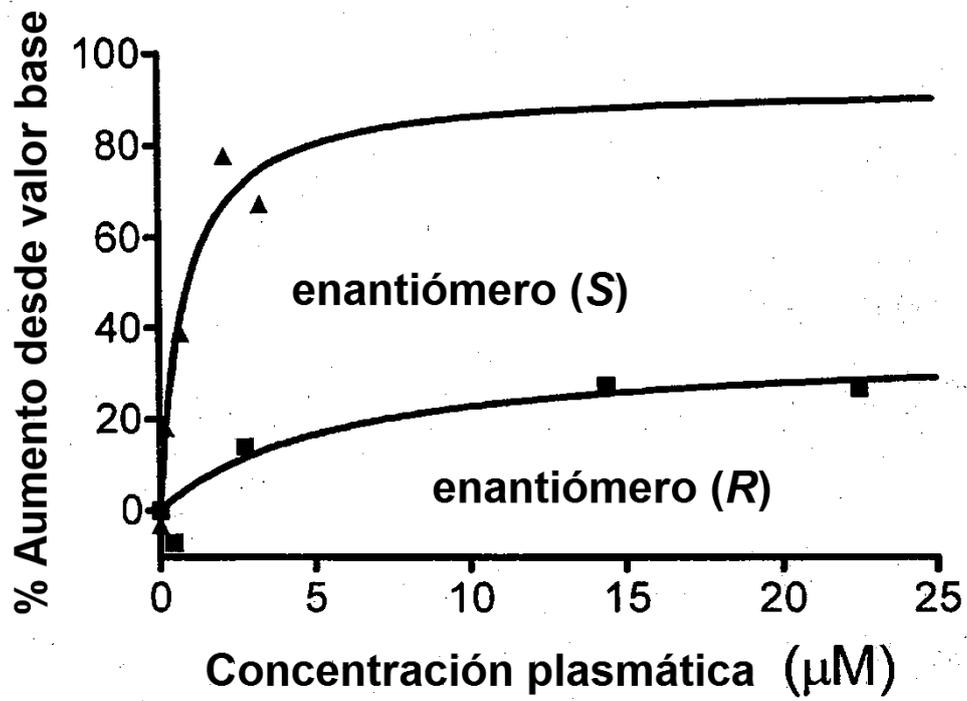


Fig. 2

**Bloqueo estereoselectivo de dolor neuropático
en el modelo de CCI**

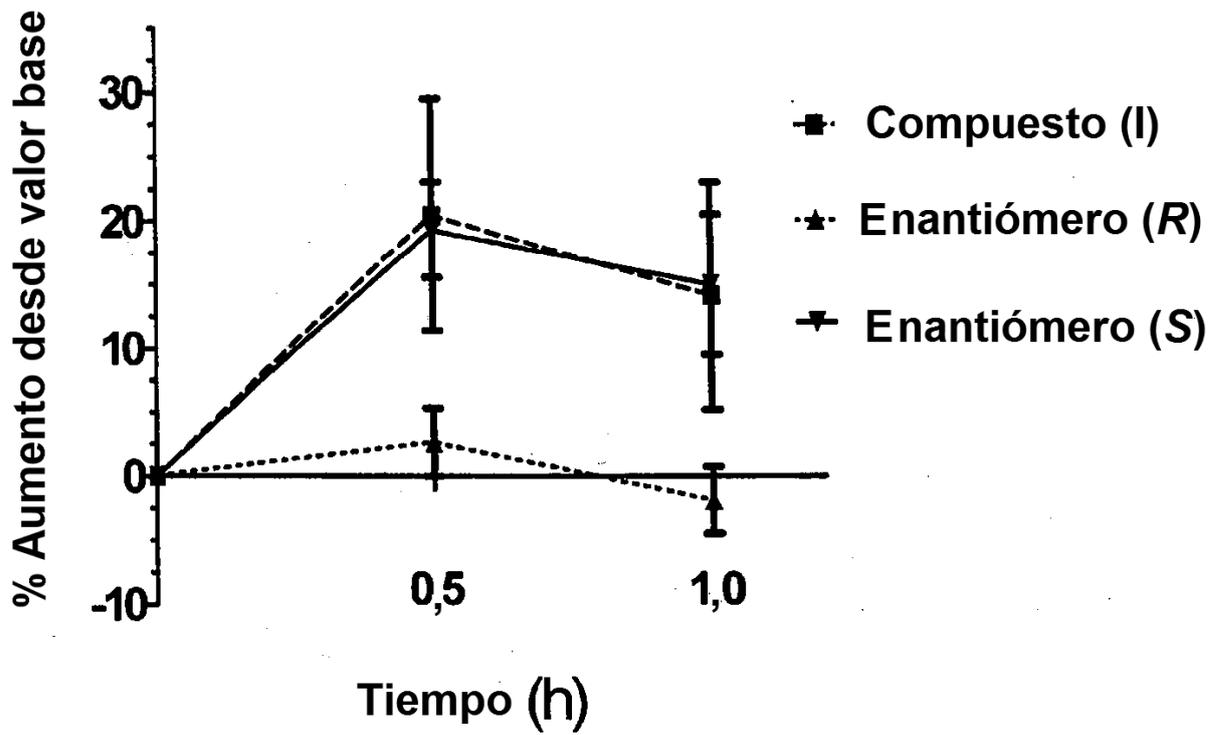


Fig. 3

Prurito inducido por histamina en ratones no tratados

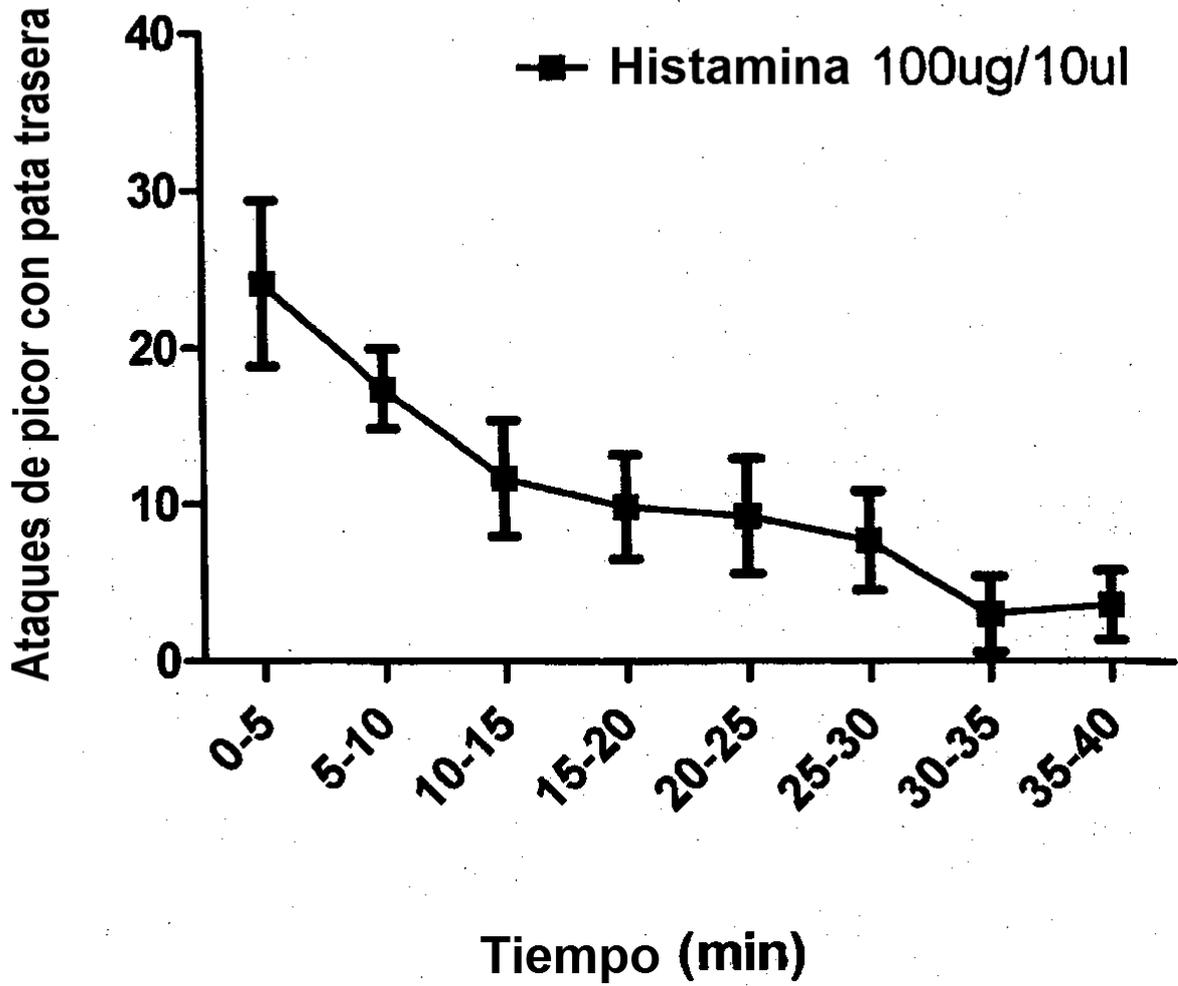
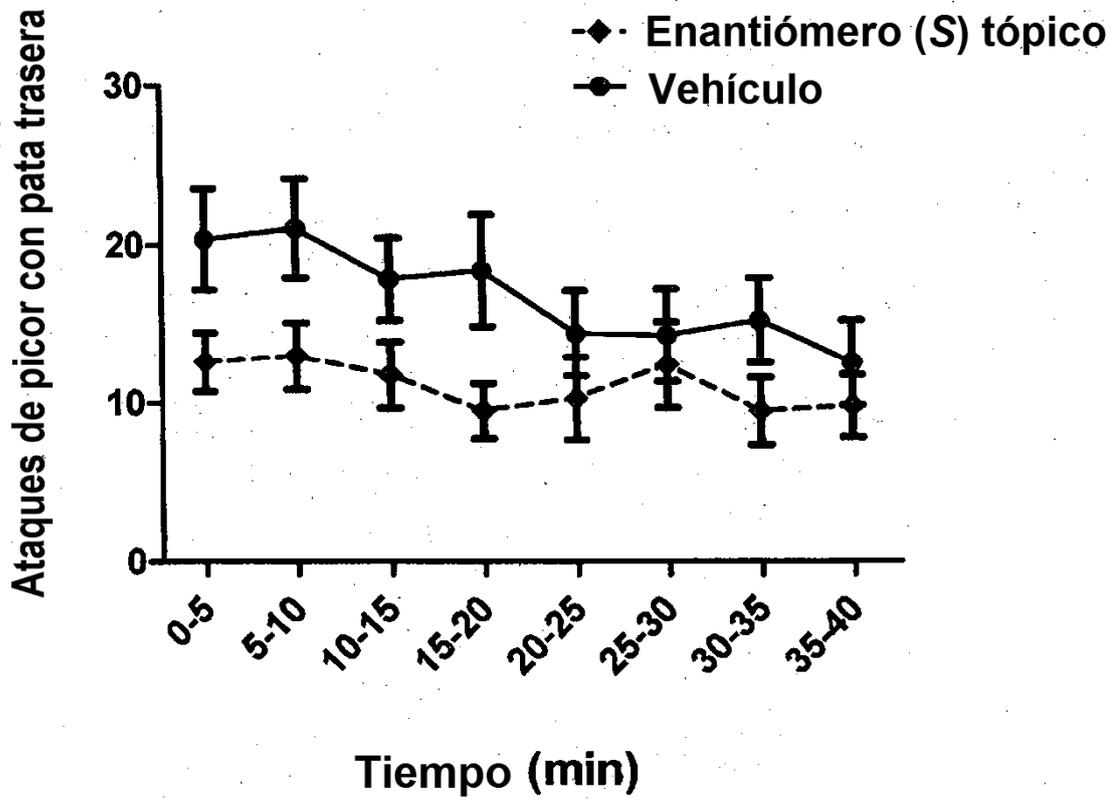


Fig. 4

Tratamiento t3pico de prurito inducido por histamina

**Fig. 5**

Tratamiento oral de prurito inducido por histamina

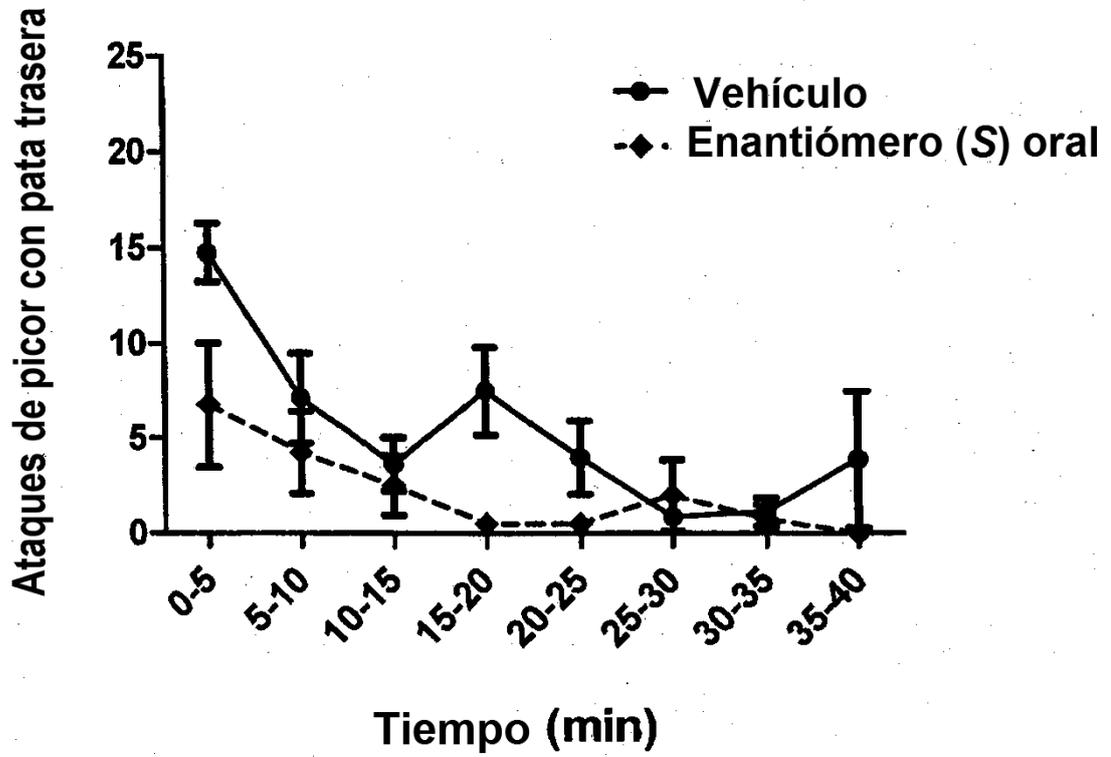


Fig. 6