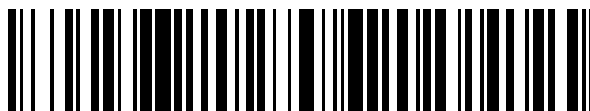


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 610 882**

51 Int. Cl.:

C07C 237/20 (2006.01) **A61P 29/00** (2006.01)
C07D 209/40 (2006.01)
C07D 215/38 (2006.01)
C07D 231/56 (2006.01)
C07D 261/14 (2006.01)
A61K 31/165 (2006.01)
A61K 31/472 (2006.01)
A61K 31/47 (2006.01)
A61K 31/415 (2006.01)
A61K 31/416 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.08.2009 PCT/US2009/053451**
 87 Fecha y número de publicación internacional: **25.02.2010 WO10021882**
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.08.2009 E 09774997 (2)**
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.11.2016 EP 2331498**

54 Título: **Antagonistas del receptor al mentol frío**

30 Prioridad:

19.08.2008 US 89933 P

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

03.05.2017

73 Titular/es:

JANSSEN PHARMACEUTICA, N.V. (100.0%)
Turnhoutseweg 30
2340 Beerse, BE

72 Inventor/es:

COLBURN, RAYMOND, W.;
DAX, SCOTT, L.;
FLORES, CHRISTOPHER, M.;
LUDOVICI, DONALD, W.;
XIA, MINGDE;
XU, XIAOGING;
YOUNGMAN, MARK, A. y
ZHU, BIN

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 610 882 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).

Antagonistas del receptor al mentol frío**Descripción**5 **DECLARACIÓN CON RESPECTO A INVESTIGACIÓN O DESARROLLO PATROCINADO FEDERALMENTE**

La investigación y desarrollo de la invención descrita a continuación no fue patrocinada federalmente

10 **ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

Los canales de potencial transitorio del receptor (TRP) son canales catiónicos no selectivos que son activados por una variedad de estímulos. Numerosos miembros de la familia del canal iónico se han identificado hasta la fecha, incluyendo el receptor de mentol frío 20, llamado también TRPM8 (McKemy D.D., et al., Nature 2002, 416(6876), 52-58). Colectivamente, los canales TRP y receptores semejantes al TRP relacionados connotan una capacidad de respuesta sensitiva a todo el continuo de la exposición térmica, respondiendo selectivamente a temperaturas umbral que van desde calor nocivo a frío nocivo así como ciertos químicos que asemejan estas sensaciones. Específicamente, se sabe que el TRPM8 es estimulado por temperaturas frías a heladas así como por agentes químicos, tales como mentol e icilina, el cual puede ser responsable por la sensación terapéutica de frío que estos agentes provocan.

TRPM8 se localiza son las neuronas nociceptivas primarias (fibras A-delta y C) y también es modulado por señales de segundo mensajero mediadas por inflamación 30 (Abe, J., et al., Neurosci Lett 2006, 397(1-2), 140-144; Premkumar, L.S., et al., J. Neurosci, 2005, 25(49), 11322-11329). La localización del TRPM8 sobre las fibras A-delta y C puede proporcionar la base para la sensibilidad anormal al frío en las condiciones patológicas donde estas neuronas están alteradas, resultando en dolor, a menudo de naturaleza quemante (Kobayashi, K., et al., J Comp Neurol, 2005, 493(4), 596- 606; Roza, C., et al., Pain, 2006, 120(1-2), 24-35; y Xing, H., et al., J Neurophysiol, 2006, 95(2), 1221-30). La intolerancia al frío y las sensaciones quemantes paradójicas inducidas por el enfriamiento químico o térmico se asemejan estrechamente a los síntomas que se ven en un amplio rango de trastornos clínicos y así proporcionan una fuerte racional para el desarrollo de moduladores del TRPM8 como novedosos agentes antihiperálgicos o antialodínicos. TRPM8 también es conocido por expresarse en el cerebro, pulmón, vejiga, tracto gastrointestinal, vasos sanguíneos, próstata y células inmunes, proporcionando así la posibilidad de una modulación terapéutica en un amplio rango de patologías.

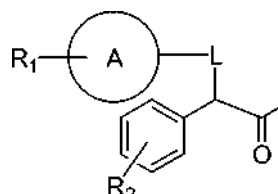
La aplicación de patente internacional WO 2006/040136 A1 de Bayer Healthcare AG supuestamente describe derivados 4-benciloxi-fenilmetilamida sustituidos como antagonistas del receptor-1 de mentol frío (CMR-1) para el tratamiento de trastornos urológicos. La aplicación de patente internacional WO 2006/040103 A1, de Bayer Healthcare AG supuestamente describe métodos y composiciones farmacéuticas para el tratamiento y/o la profilaxis de las enfermedades y/o trastornos respiratorios.

Las aplicaciones de patentes internacionales WO 2007/017092A1, WO 2007/017093A1 y WO 2007/017094A1, de Bayer Healthcare AG, supuestamente describen derivados benciloxifenilmetil carbamato, ácido2-benciloxibenzoico amida sustituido y ácido 4-benciloxibenzoico amida sustituidos para el tratamiento de enfermedades asociadas con el receptor del mentol frío (CMR), antes conocido como TRPM8.

Existe la necesidad de antagonistas del TRPM8 que puedan usarse para 25 tratar una enfermedad, síndrome o condición en un mamífero en el cual la enfermedad, síndrome o condición es afectada por la modulación de los receptores TRPM8 como dolor, las enfermedades que conducen a tal dolor, y la disfunción pulmonar o vascular.

50 **RESUMEN DE LA INVENCION**

La presente invención está dirigida a compuesto de Fórmula (I)



Fórmula (I)

donde

A es fenil, tienil, o C5-7cicloalquil;
 en tanto que cuando A es fenil, R₂ es distinto a 2-cloro, 2-C₁₋₄alcoxi, 4-C-i- 4alcoxi, 2-C₁₋₄alcoxicarbonil, o 4-C₁₋₄alcoxicarbonil;

o, cuando A es fenil, L es $-N(R_3)(CH_2)_n-$, y R_1 y L están unidos a átomos de carbono adyacentes de fenil, R_1 y R_3 son tomados opcionalmente con los átomos a los cuales están unidos para formar dihidro-indol-1-il o dihidro-quinolin-1-il;

R_1 es uno a tres sustituyentes seleccionados a partir del grupo consistente en hidrógeno, C_{1-4} alquil, C_{1-4} alcoxi, fluoro, cloro e hidroxilo;

L es $-Z-(CH_2)_n-$ o $-CH_2-$; n es 0 o 1;

y Z es O, S, o NR_3 ; en tanto que cuando Z es O o S, A es fenil;

R_2 es hidrógeno, C_{1-4} alquil, C_{1-4} alcoxi, trifluorometil, cloro, fluoro, bromo, carboxi o C_{1-4} alcoxicarbonil;

R_3 es hidrógeno o $Ci-3$ alquil;

R_4 es hidrógeno o C_{1-4} alquil;

R_5 es naftil, indanil, tetralinil o un heteroaril de 9 o 10 miembros seleccionados a partir del grupo consistente en bencimidazolil, cinnolinil, 1H-indazolil, indolil, isoindolil, isoquinolinil, naftiridinil, ftalazinil, quinazolinil, quinolinil, 2,5 y quinoxalinil; donde R_5 es opcionalmente sustituido con 1 a 2 sustituyentes independientemente seleccionados a partir del grupo consistente en C_{1-4} alquil, hidroxilo, C_{1-4} alcoxi, trifluorometil, cloro, fluoro, bromo, carboxi, $C-i-4$ alcoxicarbonil y ciano;

y enantiómeros, diastereómeros, solvatos y sales farmacéuticamente aceptables 30 de éstos;

en tanto que un compuesto de Fórmula (I) es distinto a un compuesto donde A es fenil, R_1 es 3-cloro, R_2 es 4-trifluorometil, L es $-Z-(CH_2)_n-$ n es 1, Z es NR_3 , R_3 es hidrógeno, R_4 es hidrógeno y R_5 es isoquinolin-5-il;

un compuesto donde A es fenil, R_1 es 2-fluoro, R_2 es 4-trifluorometil, L es $-Z-(CH_2)_n-$, n es 0, Z es NR_3 , R_3 es hidrógeno, R_4 es hidrógeno, y R_5 es indol-4-il; y

un compuesto donde A es fenil, R_1 es 4-metoxi, R_2 es 4-cloro, L es $-Z-CH_2-$, n es 0, Z es NR_3 , R_3 es hidrógeno, R_4 es hidrógeno, y R_5 es isoquinolin-5-il.

Ilustrativa de la invención es una composición farmacéutica que comprende, consiste en y/ consiste esencialmente en un portador farmacéuticamente aceptable un excipiente farmacéuticamente aceptable y/o un diluyente farmacéuticamente aceptable y un compuesto de la Fórmula (I). La presente declaración proporciona un proceso para hacer una composición farmacéutica que comprende, consistente en y/o consistente esencialmente en mezclar un compuesto de la Fórmula (I) y un portador farmacéuticamente aceptable, un excipiente farmacéuticamente aceptable y/o un diluyente farmacéuticamente aceptable.

La presente invención está dirigida a un compuesto de fórmula (I) para su uso en métodos para tratar o mejorar una condición o enfermedad en un sujeto, incluyendo un mamífero y/o un humano en el cual la enfermedad o condición es afectada por la modulación de los receptores TRPM8 tales como dolor, las enfermedades que conducen a tal dolor y disfunción pulmonar o vascular. En particular, la presente invención está dirigida a tratar o mejorar trastornos modulados por el receptor TRPM8 incluyendo dolor inflamatorio, intolerancia al frío o alodinia al frío, dolor vascular periférico, prurito, incontinencia urinaria, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, hipertensión pulmonar y ansiedad, incluyendo otros trastornos relacionados con el estrés.

La presente declaración proporciona métodos para producir los compuestos y composiciones farmacéuticas de éstos.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCÓN

Tal como se usa aquí, con referencia a los sustituyentes, el término "independientemente" significa que cuando uno de tales sustituyentes es posible, tales sustituyentes 5 pueden ser los mismos o diferentes entre sí.

Tal como se usa aquí, a menos que se note otra cosa, "alquil" se use solo o como parte de un grupo sustituyente se refiere a cadenas de carbono rectas o ramificadas que tienen 1 a 8 átomos de carbono o cualquier número dentro de este rango. Por tanto, los números designados de átomos de carbono (p.ej., C_{1-8}) se referirán independientemente al número de 10 átomos de carbono en una fracción alquil o a la porción alquil de un sustituyente más largo que contenga alquil. En los grupos sustituyentes con múltiples grupos alquil, tales como, (C_{1-6} alquil)₂amino- los grupos C_{1-6} alquil del dialquilamino pueden ser los mismos o diferentes.

Tal como se usa aquí, a menos que se indique otra cosa, el término "alcoxi" se refiere a un grupo sustituyente Oalquil, donde alquil es como se define antes. Al grado sustituido, una cadena alquil o alcoxi puede ser sustituida sobre un átomo de carbono.

Tal como se usa aquí, los términos "alqueniil" y "alquiniil" se refieren a cadenas de carbono rectas y ramificadas que tienen 2 o más átomos de carbono, donde una cadena alqueniil tiene al menos un doble enlace en la cadena y una cadena alquiniil tiene al menos un enlace triple en la cadena.

Tal como se usa aquí, el término "cicloalquil" se refiere a anillos de hidrocarburo saturados o parcialmente insaturados, mono o policíclicos de miembros entre 3 a 14 átomos de carbono. Ejemplos de tales anillos incluyen, y no se limitan a, ciclopropil, ciclobutil, ciclopentil, ciclohexil, cicloheptil y adamantil. Similarmente, "cicloalqueniil" se

refiere a un cicloalquil que contiene al menos un doble enlace en el anillo. Adicionalmente, un "cicloalquil benzo-fusionado" es un anillo cicloalquil que está fusionado a un anillo de benceno. Un "cicloalquil heteroaril-fusionado" es un anillo cicloalquil que está fusionado a un anillo heteroaril de 5 o 6 miembros (conteniendo uno de O, S o N y opcionalmente, un nitrógeno adicional).

5 Tal como se usa aquí, el término "heterocicliil" se refiere a un anillo cíclico no aromático de 5 a 7 miembros en el cual 1 a 2 miembros son nitrógeno, o un anillo cíclico no aromático de 5 a 7 miembros en el cual cero, uno o dos miembros son nitrógeno y hasta dos miembros son oxígeno o azufre; donde opcionalmente el anillo contiene
10 cero a un anillo insaturado y opcionalmente, cuando el anillo es de 6 o 7 miembros, contiene hasta dos anillos insaturados. El término "heterocicliil benzo-fusionado" incluye un anillo heterocíclico monocíclico de 5 a 7 miembros fusionado a un anillo de benceno. El término "heterocicliil heteroaril-fusionado" se refiere a un anillo heterocíclico monocíclico de 5 a 7 miembros fusionado a un anillo heteroaril de 5 o 6 miembros (conteniendo uno de O, S o N y opcionalmente, un nitrógeno adicional). El término "heterocicliil cicloalquil-fusionado" se refiere a un anillo heterocíclico monocíclico de 5 a 7 miembros fusionado a un anillo cicloalquil o cicloalquenil de 5 a 7 miembros.
15 Asimismo, el término "heterocicliil heterocicliil-fusionado" se refiere a un anillo heterocíclico monocíclico de 5 a 7 miembros fusionado a un anillo heterocicliil de 5 a 7 miembros (de la misma definición de antes, pero ausente la opción de un anillo fusionado más). Por ejemplo, para los compuestos de la invención, los miembros átomos de carbono del anillo que forman el anillo heterocicliil están completamente saturados. Otros compuestos de la invención pueden tener un anillo heterocicliil parcialmente saturado. El término "heterocicliil" también incluye un heterociclo monocíclico de 5 a 7 miembros en puente para formar anillos bicíclicos. Tales compuestos no se consideran completamente aromáticos y no se denominan compuestos heteroaril. Ejemplos de grupos heterocicliil incluyen y no se limitan a pirrolinil (incluyendo 2H-pirrol, 2-pirrolinil o 3-pirrolinil), pirrolidinil, 2-imidazolinil, imidazolidinil, 2-pirazolinil, pirazolidinil, piperidinil, morfolinil, tiomorfolinil y piperacinil.

25 Tal como se usa aquí, el término "aril" se refiere a un anillo monocíclico aromático insaturado de 6 átomos de carbono o a un anillo policíclico aromático insaturado de entre 10 a 14 miembros de carbono. Ejemplos de tales anillos aril incluyen, y no se limitan a, fenil, naftalenil o antracenil. Los grupos aril preferidos para la práctica de esta invención son fenil y naftalenil.

30 Tal como se usa aquí, el término "heteroaril" se refiere a un anillo aromático de 5 o 6 miembros donde el anillo consiste en átomos de carbono y tiene al menos un miembro heteroátomo. Los heteroátomos idóneos incluyen nitrógeno, oxígeno o azufre. En el caso de los anillos de 5 miembros, el anillo heteroaril contiene un miembro de nitrógeno, oxígeno o azufre y, además, puede contener hasta tres nitrógenos adicionales. En el caso de anillos de 6 miembros, el anillo heteroaril puede contener de uno a tres átomos de nitrógeno. Para el caso donde
35 el anillo de 6 miembros tiene tres nitrógenos, al menos dos átomos de nitrógeno son adyacentes.

Opcionalmente, el anillo heteroaril se fusiona a un anillo de benceno para formar un "heteroaril benzo-fusionado"; similarmente, el anillo heteroaril se fusiona opcionalmente a un anillo heteroaril de 5 o 6 miembros (conteniendo uno de O, S o N, y opcionalmente, un nitrógeno adicional) para formar un "heteroaril heteroaril-fusionado"; similarmente, el anillo heteroaril se fusiona opcionalmente a un anillo cicloalquil de 5 a 7 miembros o a un anillo heterociclo de 5 a 7 miembros (tal como se define antes pero ausente la opción de un anillo fusionado más) para formar un "heteroaril cicloalquil-fusionado". Ejemplos de grupos heteroaril incluyen, y no se limitan a, furil, tienil, pirrolil, oxazolil, tiazolil, imidazolil, pirazolil, isoxazolil, isotiazolil, oxadiazolil, triazolil, tiadiazolil, piridinil, piridazinil, pirimidinil o pirazinil; ejemplos de grupos heteroaril con los anillos benceno opcionalmente fusionado
45 incluyen indolil, isoindolil, indolinil, benzofuril, benzotienil, indazolil, bencimidazolil, benzotiazolil, benzoxazolil, bencisoxazolil, benzotiadiazolil, benzotriazolil, quinolicinil, quinolinil, isoquinolinil o quinazolinil.

Tal como se usa aquí, el término "arilalquil" significa un grupo alquil sustituido con un grupo aril (p.ej., bencil, fenetil). Similarmente, el término "arilalcoxi" indica un grupo alcoxi sustituido con un grupo aril (p.ej., benciloxi).

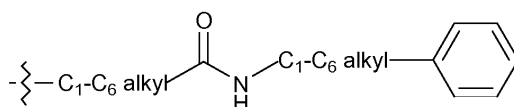
50 Tal como se usa aquí, el término "halógeno" se refiere a fluoruro, cloruro, bromuro y yoduro. Los sustituyentes que son sustituidos con múltiples halógenos en
55 una forma que proporciona compuestos que son estables.

Tal como se usa aquí, el término "R" en un estereocentro designa que el estereocentro es puramente de la configuración R como se define en la técnica; asimismo, el término "S" significa que el estereocentro es de la configuración S. Tal como se usa aquí, los términos "R" o "S" en un estereocentro se usan para designar que el
60 estereocentro es de configuración pura pero desconocida. Tal como se usa aquí, el término "RS" se refiere a un estereocentro que existe como una mezcla de las configuraciones R- y S-.

Los compuestos que contienen un estereocentro dibujado sin una designación de enlace estereo son una mezcla de dos enantiómeros. Así, los estereocentros dibujados sin 30 designaciones de enlace estereo son una mezcla de configuraciones R- y S-. Para los estereocentros dibujados con designaciones de enlace estereo, la estereoquímica absoluta es tal como se describe.

5 Cuando el término "alquil" o "aril" o cualquiera de sus prefijos aparecen en un nombre de un sustituyente (p.ej., arilalquil, alquilamino) el nombre va a ser interpretado como incluyendo esas limitaciones dadas antes para "alquil" y "aril." Los número designados de átomos de carbono (p.ej., C-i-Ce) se refieren independientemente al número de átomos de carbono en una fracción alquil, una fracción aril o en la porción alquil de un sustituyente más grande en el cual alquil aparece como su prefijo. Para los sustituyentes alquil y alcoxi, el número designado de átomos de carbono incluye todos los miembros independientes incluidos dentro de un rango especificado. Por ejemplo C₁₋₆ alquil incluiría metil, etil, propil, butil, pentil y hexil individualmente así como sub-combinaciones de éstos (e.g. C₁₋₂, C₁₋₃, C₁₋₄, C₁₋₅, C₂₋₆, C₃₋₆, C₄₋₆, C₅₋₆, C₂₋₅, etc.).

10 En general, bajo las reglas de nomenclatura usados a lo largo de esta declaración, la porción terminal de la cadena lateral designada se describe primero seguida por la funcionalidad adyacente hacia el punto de unión. Así, por ejemplo, un sustituyente "fenilC₁C₆ alquilamidoC₁-C₆alquil" se refiere a un grupo de la fórmula:



20 A menos que se indique otra cosa, se pretende que la definición de cualquier sustituyente o variable en una locación particular en una molécula sea independiente de sus definiciones en otra parte en esa molécula. Se comprende que los sustituyentes y patrones de sustitución sobre los compuestos de esta invención pueden ser seleccionados por alguien experto en la materia para proporcionar compuestos que son químicamente estables y que pueden sintetizarse fácilmente por técnicas conocidas así como esos métodos expuestos aquí.

25 Tal como se usa aquí, el término "sujeto" se refiere a un animal, preferiblemente un mamífero, más preferiblemente un humano, quien ha sido objeto de tratamiento, observación o experimento.

30 Tal como se usa aquí, el término "cantidad terapéuticamente efectiva" significa esa cantidad de compuesto activo o agente farmacéutico que induce la respuesta biológica o medicinal en un sistema tisular, animal o humano que está siendo buscada por un investigador, veterinario, médico u otro clínico, la cual incluye el alivio o alivio parcial de los síntomas de la enfermedad o trastorno que está siendo tratado.

35 Tal como se usa aquí, el término "composición" pretende incluir un producto que comprende los ingredientes especificados en las cantidades terapéuticamente efectivas, así como cualquier producto que resulta, directa o indirectamente, de combinaciones de los ingredientes especificados en las cantidades especificadas.

40 Para los propósitos de la presente invención, el término "antagonista" se usa para referirse a un compuesto capaz de producir, dependiendo de la circunstancia, un antagonismo funcional del canal iónico TRPM8 incluyendo antagonistas competitivos, antagonistas no competitivos, agonistas desensibilizantes y agonistas parciales.

45 Para los propósitos de la presente invención, el término "hipersensibilidad inflamatoria se usa para referirse a una condición que se caracteriza por una o más características de la inflamación, incluyendo edema, eritema, hipertermia y dolor, y/o por una respuesta fisiológica o fisiopatológica exagerada a uno o más de un tipo de estimulación, incluyendo estimulación térmica, mecánica y/o química.

50 Para los propósitos de la presente invención, el término "modulado por TRPM8" se usa para referirse a la condición de estar afectado por la modulación del receptor TRPM8, incluyendo el estado de estar mediado por el receptor TRPM8.

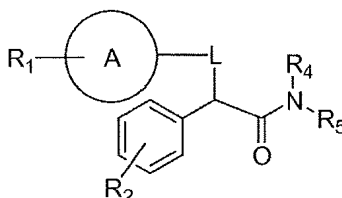
55 Un contexto de la invención es un compuesto de fórmula (I) para su uso en un método de tratar o prevenir menos una de las siguientes enfermedades, síndromes y condiciones seleccionadas a partir de migraña. neuralgia postherpética, neuralgia postraumática, neuralgia posquimioterapia, síndrome de dolor regional complejo I y II (CRPS I/II), fibromialgia, enfermedad inflamatoria intestinal, prurito, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, dolor odontogénico, dolor óseo o piresis en un mamífero, cuyo método comprende, consiste en y/o consiste esencialmente en administrar al sujeto, incluyendo un animal, mamífero y un humano en necesidad de tal tratamiento o prevención una cantidad terapéuticamente efectiva de un antagonista TRPM8 que es un compuesto de la Fórmula (I).

60 Otro contexto de la invención es un compuesto de fórmula (I) para su uso en un método de tratar o prevenir al menos una de las siguientes enfermedades, síndromes y condiciones seleccionados a partir de hipertensión, enfermedad vascular periférica, enfermedad de Raynaud, lesión por reperusión o congelamiento en un mamífero, cuyo método comprende administrar a un sujeto, incluyendo un animal, un mamífero y un humano en necesidad de tal tratamiento o prevención una cantidad terapéuticamente efectiva de un antagonista TRPM8 que es un compuesto de Fórmula (I).

65

Otro contexto adicional de la invención es un compuesto de fórmula (I) para su uso en un método de acelerar la recuperación postanestésica o recuperación posthipotermia en un sujeto, incluyendo un animal, un mamífero y un humano, cuyo método comprende administrar a un sujeto, incluyendo un animal, un mamífero y un humano en necesidad de esta recuperación acelerada una cantidad terapéuticamente efectiva de un antagonista TRPM8 que es un compuesto de Fórmula (I).

Un contexto de la presente invención está dirigido a compuestos de Fórmula (I)



Fórmula (I)

Donde

- a) A es fenil, ciclopentil, o ciclohexil;
 en tanto que cuando A es fenil, R₂ es distinto a 2-cloro, 2-C₁₋₄alcoxi, 2-C₁₋₄alcoxi, 2-C₁₋₄alcoxicarbonil, o 4-C₁₋₄alcoxicarbonil;
 o, cuando A es fenil, L es -N(R₃)(CH₂)_n-, y R₁ y L están unidos a átomos de carbono adyacentes de fenil, R₁ y R₃ son tomados opcionalmente con los átomos a los cuales están unidos para formar dihidro-indol-1-il o dihidro-quinolin-1-il;
- b) A es fenil;
 en tanto que cuando A es fenil, R₂ es distinto a 2-cloro, 2-C₁₋₄alcoxi, 4-C₁₋₄alcoxi, 2-C₁₋₄alcoxicarbonil, o 4-C₁₋₄alcoxicarbonil; y, cuando L es -N(R₃)(CH₂)_n-, y R₁ y L están unidos a átomos de carbono adyacentes de fenil, R₁ y R₃ son opcionalmente tomados con los átomos a los cuales están unidos para formar dihidro-indol-1-il;
- c) A es fenil; en tanto que cuando A es fenil, R₂ es distinto a 2-cloro, 2-C₁₋₄alcoxi, 4-C₁₋₄alcoxi, 2-C₁₋₄alcoxicarbonil, o 4-C₁₋₄alcoxicarbonil;
- d) R₁ es uno a dos sustituyentes seccionados a partir del grupo consistente en hidrógeno, C₁₋₄alquil, C₁₋₄alcoxi, fluoro, cloro e hidroxil;
- e) R₁ es uno a dos sustituyentes seleccionados a partir del grupo consistente en hidrógeno, C₁₋₃alquil, C₁₋₃alcoxi, fluoro y cloro;
- f) R₁ es uno a dos sustituyentes seleccionados a partir del grupo consistente en hidrógeno, C₁₋₃alquil, metoxi, fluoro y cloro;
- g) R₁ es uno a dos sustituyentes seleccionados a partir del grupo consistente en hidrógeno, metil, fluoro y cloro;
- h) L es -Z-(CH₂)_n- o -CH₂-; donde n es 0 o 1; y Z es S o NR₃; en tanto que cuando Z es S, A es fenil;
- i) L es -Z-(CH₂)_n-; donde n es 0; y Z es S o NR₃; en tanto que cuando Z es S, A es fenil;
- j) L es -Z-(CH₂)_n-; donde n es 0; y Z es NR₃;
- k) R₂ es hidrógeno, C₁₋₄alquil, trifluorometil, cloro o bromo; en tanto que cuando A es fenil, R₂ es distinto a 2-cloro;
- l) R₂ es *t*-butil, trifluorometil, cloro, o bromo; en tanto que cuando A es fenil, R₂ es distinto a 2-cloro;
- m) A es fenil y R₂ es 4-*t*-butil, 4-trifluorometil o 4-cloro;
- n) R₃ es hidrógeno o metil;
- o) R₃ es hidrógeno;
- p) R₄ es hidrógeno;
- q) R₅ es indanil o un heteroaril de 9 a 10 miembros seleccionados a partir del grupo consistente en bencimidazolil, indolil, quinolinil, isoquinolinil y 1H-indazolil; donde R₅ es opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente a partir del grupo consistente en C₁₋₄alquil, C₁₋₄alcoxi y fluoro;
- r) R₅ es un heteroaril de 9 a 10 miembros seleccionados a partir del grupo consistente en indolil, quinolinil, isoquinolinil y 1H-indazolil; donde R₅ es opcionalmente sustituido con el sustituyente 1 C₁₋₄alquil;
- s) R₅ es un heteroaril de 9 a 10 miembros seleccionados a partir del grupo consistente en quinolin-5-il, isoquinolin-5-il y 1H-indazolil; y enantiómeros, diastereómeros y sales farmacéuticamente aceptables de éstos;

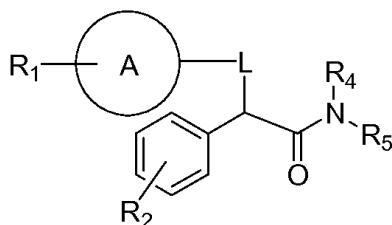
en tanto que un compuesto de Fórmula (I) es distinto

a un compuesto donde A es fenil, R₁ es 3-cloro, R₂ es 4-trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_{n-j} n es 1, Z es NR₃, R₃ es hidrógeno, R₄ es hidrógeno y R₅ es isoquinolin-5-il;
 un compuesto donde A es fenil, R₁ es 2-fluoro, R₂ es 4-trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_n-, n es 0, Z es NR₃, R₃ es hidrógeno, R₄ es hidrógeno, y R₅ es indol-4-il;

y
un compuesto donde A es fenil, R₁ es 4-metoxi, R₂ es 4-cloro, L es -Z- 10(CH₂)_n-, n es 0, Z es NR₃, R₃ es hidrógeno, R₄ es hidrógeno, y R₅ es isoquinolin-5-il.

y cualesquiera combinaciones de contextos a) hasta s) antes, en tanto que se comprende que se excluyen las combinaciones en las cuales diferentes contextos del mismo sustituyente se combinarían.

Otro contexto de la presente invención está dirigido a un compuesto de Fórmula (I)



Fórmula (I)

Donde

A es fenil, ciclopentil o ciclohexil;
en tanto que cuando A es fenil, R₂ es distinto a 2-cloro;
o, cuando A es fenil, L es -N(R₃)(CH₂)_n-, y R₁ y L se unen a átomos adyacentes de carbono, R₁ y R₃ son tomados opcionalmente con los átomos a los cuales están unidos para formar dihidro-indol-il o dihidro-quinolin-1-il;

R₁ es uno a dos sustituyentes seleccionados a partir del grupo consistente en hidrógeno,

5 C₁₋₄alquil, Ci-4alcoxi, fluoro, cloro e hidroxil;

L es -Z-(CH₂)_n- o -CH₂-; donde n es 0 o 1; y Z es S o NR₃; en tanto que cuando Z es S, A es fenil

R₂ es hidrógeno, C₁₋₄alquil, trifluorometil, cloro o bromo;

R₃ es hidrógeno o metil;

R₄ es hidrógeno;

y

R₅ es indanil o un heteroaril de 9 a 10 miembros seleccionados a partir del grupo consistente en bencimidazolil, indolil, quinolinil, isoquinolinil y 1H- indazolil; donde R₅ es sustituido opcionalmente con 1-2 sustituyentes independientemente seleccionados del grupo consistente en C₁₋₄alquil, C₁₋₄alcoxi y fluoro; y enantiómeros, diastereómeros, solvatos y sales farmacéuticamente aceptables de éstos;

en tanto que un compuesto de Fórmula (I) es distinto a

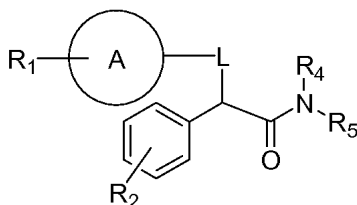
un compuesto donde A es fenil, R₁ es 3-cloro, R₂ es 4-trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_n-, n es 1, Z es NR₃, R₃ es hidrógeno, R₄ es hidrógeno, y R₅ es isoquinolin-5-il;

un compuesto donde A es fenil, R₁ es 2-fluoro, R₂ es 4-trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_n-, n es 0, Z es NR₃, R₃ es hidrógeno, R₄ es hidrógeno, and R₅ es indol-4-il;

y

u compuesto donde A es fenil, R₁ es 4-metoxi, R₂ es 4-cloro, L es -Z-(CH₂)_n-, n es 0, Z es NR₃, R₃ es hidrógeno, R₄ es hidrógeno, y R₅ es 30 isoquinolin-5-il.

Otro contexto de la presente invención está dirigido a un compuesto de Fórmula (I)



Fórmula (I) donde

A es fenil;

en tanto que cuando A es fenil, R₂ es distinto a 2-cloro;

o, cuando A es fenil, L es -N(R₃)(CH₂)_n-, y R₁ y L están unidos a átomos adyacentes de carbono, R₁ y R₃ son tomados opcionalmente con los átomos a los cuales están unidos para formar dihidro-indol-1-il;

R₁ es uno a dos sustituyentes seleccionados a partir del grupo consistente en Hidrógeno, C₁₋₃alquil, C₁₋₃alcoxi, fluoro, y cloro;

L es -Z-(CH₂)_n-, donde n es 0; y Z es S o NR₃;

R₂ es f-butil, trifluorometil, cloro o bromo;

R₃ es hidrógeno;

R4 es hidrógeno;

y

R5 es un heteroaril de 9 a 10 miembros seleccionados a partir del grupo consistente en indolil, quinolinil, isoquinolinil y 1H-indazolil; donde R5 es opcionalmente sustituido con 1-2 sustituyentes C₁₋₄alquil;

y enantiómeros, diastereómeros, solvatos y sales farmacéuticamente aceptables de éstos;

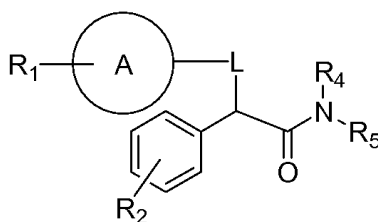
en tanto que un compuesto de Fórmula (I) es distinto

a un compuesto donde A es fenil, R1 es 2-fluoro, R2 es 4-trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_n, n es 0, Z es NR₃, R3 es hidrógeno, R4 es hidrógeno, y R5 es indol-4-il;

y

un compuesto donde A es fenil, R1 es 4-metoxi, R2 es 4-cloro, L es -Z-(CH₂)_n, n es 0, Z es NR₃, R3 es hidrógeno, R4 es hidrógeno y R5 es isoquinolin-1-il.

Otro contexto de la presente invención está dirigido a un compuesto de Fórmula (I)



Donde

A es fenil; en tanto que R₂ es distinto a 2-cloro;

R1 es uno a dos sustituyentes seleccionados a partir del grupo consistente en hidrógeno, C₁₋₃alquil, metoxi, fluoro y cloro;

L es -Z-(CH₂)_n; donde n es 0; y Z es NR₃;

R₂ es f-butil, trifluorometil, cloro o bromo;

R₃ y R₄ son cada uno hidrógeno;

y

R5 es un heteroaril de 9 a 10 miembros seleccionados a partir del grupo consistente en quinolinil, isoquinolinil y 1H-indazolil;

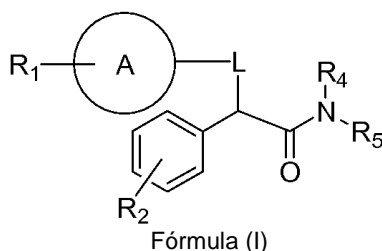
y enantiómeros, diastereómeros y sales farmacéuticamente aceptables de éstos;

en tanto que un compuesto de Fórmula (I) es distinto

a un compuesto donde A es fenil, R1 es 4-metoxi, R2 es 4-cloro, L es -Z-(CH₂)_n, n es 0, Z es NR₃, R3 es hidrógeno, R4 es hidrógeno, y R5 es isoquinolin-5-il.

y enantiómeros, diastereómeros, solvatos y sales farmacéuticamente aceptables de éstos.

Otro contexto de la presente invención está dirigido a un compuesto de Fórmula (I)



Fórmula (I)

donde

A es fenil;

R1 es uno a dos sustituyentes seleccionados a partir del grupo consistente en hidrógeno, metil, fluoro y cloro;

L es -Z-(CH₂)_n; donde n es 0; y Z es NR₃;

R₂ es 4-f-butil, 4-trifluorometil o 4-cloro;

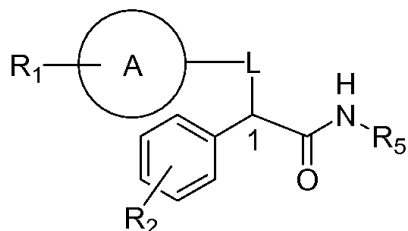
R₃ y R₄ son cada uno hidrógeno;

y

R5 es un heteroaril de 9 a 10 miembros seleccionados a partir del grupo consistente en quinolin-5-il, isoquinolin-5-il y 1 H-indazolil;

y enantiómeros, diastereómeros y sales farmacéuticamente aceptables de éstos.

Otro contexto de la presente invención está dirigido a compuestos de Fórmula (Ia) donde L es $-Z-(CH_2)_n-$, y R4 es hidrógeno; el estereocentro 1 se define aquí a continuación y, en ciertos casos donde R5 contiene un estereocentro, el estereocentro se define como estereocentro 2.



seleccionado a partir del grupo consistente en Tabla 1

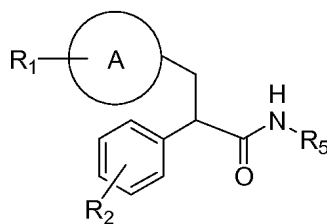
Tabla 1

Cpd. No.	A	R ₁	R ₂	n	Z	R ₃	R ₅	Centro (1,2)
1	fenil	H	4- <i>t</i> -butil	0	NR ₃	H	isoquinolin-5-il	
2	fenil	<i>t</i> -butil	H	0	NR ₃	H	isoquinolin-5-il	
3	fenil	H	4- <i>t</i> -butil	0	NR ₃	metil	isoquinolin-5-il	
4	fenil	H	4-trifluoro metil	0	NR ₃	H	isoquinolin-5-il	
5	fenil	H	4- <i>t</i> -butil	0	NR ₃	H	1 <i>H</i> -indazol-4-il	
6	fenil	H	4- <i>t</i> -butil	0	NR ₃	H	Quinolin-6-il	
7	fenil	H	4- <i>t</i> -butil	0	NR ₃	H	Indol-4-il	
8	fenil	H	4- <i>t</i> -butil	0	NR ₃	H	isoquinolin-6-il	
9	fenil	H	4- <i>t</i> -butil	0	NR ₃	H	1-metil-1 <i>H</i> -benzimidazol-4-il	
10	fenil	H	4-trifluoro metil	0	NR ₃	H	Indian-1-il	(RS, S)
11	fenil	2-cloro	4-trifluoro metil	0	NR ₃	H	isoquinolin-5-il	
12	fenil	3-cloro	4-trifluoro metil	0	NR ₃	H	isoquinolin-5-il	
13	fenil	4-cloro	4-trifluoro metil	0	NR ₃	H	isoquinolin-5-il	
14	fenil	2-cloro	4-trifluoro metil	1	NR ₃	H	isoquinolin-5-il	
15	fenil	4-cloro	4-trifluoro metil	1	NR ₃	H	isoquinolin-5-il	
16		H	4-trifluoro metil	0	NR ₃	H	isoquinolin-5-il	
17	Ciclohexil	H	4-trifluoro metil	0	NR ₃	H	isoquinolin-5-il	
18	fenil	tomado con R ₃ para formar 2,3-dihidro.indol.1.il	4-trifluoro metil	0	NR ₃	-	isoquinolin-5-il	
19	fenil		4-trifluoro metil	0	NR ₃	-	isoquinolin-5-il	
20	fenil	H	4- <i>t</i> -butil	0	NR ₃	H	1 <i>H</i> -indazol-7-il	
21	fenil	2-metoxi	4-trifluoro metil	0	NR ₃	H	isoquinolin-5-il	
22	fenil	2-metil	4-trifluoro metil	0	NR ₃	H	isoquinolin-5-il	

(continua)

Cpd. No.	A	R ₁	R ₂	n	Z	R ₃	R ₅	Centro (1,2)
23	fenil	2-isopropil	4-trifluoro metil	0	NR ₃	H	isoquinolin-5-il	
24	fenil	2-fluoro	4-trifluoro metil	0	NR ₃	H	isoquinolin-5-il	
25	fenil	2,6-dimetil	4-trifluoro metil	0	NR ₃	H	isoquinolin-5-il	
26	fenil		4-trifluoro metil	0	NR ₃	-	isoquinolin-5-il	
27	fenil	H	4-trifluoro metil	0	NR ₃	H	1 <i>H</i> -indazol-4-il	
28	fenil	H	4-trifluoro metil	0	NR ₃	H	1 <i>H</i> -indazol-7-il	
29		H	4-trifluoro metil	0	NR ₃	H	quinolin-8-il	
30	fenil	H	4-trifluoro metil	0	NR ₃	H	isoquinolin-5-il	1*S
31	fenil	H	4-trifluoro metil	0	NR ₃	H	isoquinolin-5-il	1*R
32	fenil	H	4-bromo	0	NR ₃	H	isoquinolin-5-il	
33	fenil	H	4-bromo	0	NR ₃	H	indol-4-il	
34	fenil	4-fluoro	4-trifluoro metil	0	NR ₃	H	indol-4-il	
35	fenil	4-fluoro	4-trifluoro metil	0	NR ₃	H	isoquinolin-5-il	
36	fenil	3-fluoro	4-trifluoro metil	0	NR ₃	H	isoquinolin-5-il	
37	fenil	3-fluoro	4-trifluoro metil	0	NR ₃	H	indol-4-il	
38	fenil	H	4-cloro	0	NR ₃	H	indol-4-il	
39	fenil	H	4-cloro	0	NR ₃	H	isoquinolin-5-il	
40	fenil	2-fluoro	4-bromo	0	NR ₃	H	indol-4-il	
41	fenil	2-fluoro	4-bromo	0	NR ₃	H	isoquinolin-5-il	
42	fenil	H	3-trifluoro metil	0	NR ₃	H	isoquinolin-5-il	
43	fenil	H	3-trifluoro metil	0	NR ₃	H	indol-4-il	
44	fenil	2-fluoro	4-cloro	0	NR ₃	H	isoquinolin-5-il	
45	fenil	4-fluoro	4-cloro	0	NR ₃	H	isoquinolin-5-il	
46	fenil	2,4-difluoro	4-cloro	0	NR ₃	H	isoquinolin-5-il	
47	fenil	4-metoxi	4-cloro	0	NR ₃	H	quinolin-5-il	
48	fenil	2,6-difluoro	4-cloro	0	NR ₃	H	isoquinolin-5-il	
49	fenil	2,6-difluoro	4-cloro	0	NR ₃	H	quinolin-5-il	
50	fenil	2,4-difluoro	4-trifluoro metil	0	NR ₃	H	isoquinolin-5-il	
51	fenil	2,3-difluoro	4-cloro	0	NR ₃	H	isoquinolin-5-il	
52	fenil	2,3-difluoro	4-cloro	0	NR ₃	H	quinolin-5-il	
53	fenil	2,5-difluoro	4-cloro	0	NR ₃	H	isoquinolin-5-il	
54	fenil	2,5-difluoro	4-cloro	0	NR ₃	H	quinolin-5-il	
56	fenil	H	4-trifluoro metil	0	S	H	isoquinolin-5-il	

Otro contexto de la presente invención está dirigido a los compuestos de Fórmula (Ib) donde L es -CH₂-, y R₄ es hidrógeno



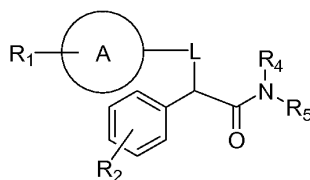
Fórmula (Ib)

seleccionado a partir del grupo consistente en

Tabla 2

Cpd No.	A	R ₁	R ₂	n	R ₅
55	fenil	2-fluoro	4-trifluorometil	0	soquinolin-5-il

Otro contexto de la presente invención está dirigido a un compuesto de Fórmula (I)



Fórmula (I)

seleccionado a partir del grupo consistente en

- un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es H, R₂ es 4-*t*-butil, L es -Z- (CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H y R₅ es isoquinolin-5-il;
- un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es *t*-butil, R₂ es H, L es -Z- (CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H y R₅ es isoquinolin-5-il;
- un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es H, R₂ es 4-*t*-butil, L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es metil, n es 0, R₄ es H y R₅ es isoquinolin-5-il;
- un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es H, R₂ es 4-trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H y R₅ es isoquinolin-5-il;
- un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es H, R₂ es 4-*t*-butil, L es -Z- (CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H, y R₅ es 1 H-indazol-4-il;
- un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es H, R₂ es 4-*t*-butil. L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es hidrógeno y R₅ es quinolin-6-il;
- un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es H, R₂ es 4-*t*-butil, L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H, y R₅ es indol-4-il;
- un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es H, R₂ es 4-*t*-butil, L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H, y R₅ es isoquinolin-6-il;
- un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es H, R₂ es 4-*t*-butil, L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H, and R₅ es 1 -metil-1 H-benzoimidazol-4-il;
- un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es H, R₂ es 4-trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H y R₅ es indan-1-il (RS, S);
- un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, RR₁ es 2-cloro, R₂ es 4- 15 trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H, y R₅ is isoquinolin-5-il;
- un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es 3-cloro, R₂ is 4- trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H, y R₅ es isoquinolin-5-il;
- un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es 4-cloro, R₂ es 4-trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H y R₅ es isoquinolin-5-il;
- un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil. R₁ es 2-cloro, R₂ es 4-trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_n, Z en NR₃, R₃ es H, n es 1, R₄ es H y R₅ es isoquinolin-5-il;
- un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es 4-cloro, R₂ es 4-trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 1, R₄ es H, y R₅ es isoquinolin-5-il;
- un compuesto de Fórmula (I) donde A es ciclopentil, R₁ es H, R₂ es 4-trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H, y R₅ es isoquinolin-5-il;

- un compuesto de Fórmula (I) donde A es ciclohexil, R₁ es H, R₂ es 4-trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H, y R₅ es isoquinolin-5-il;
- un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es tomado con R₃ para formar 2,3- 5 dihidro-indol-1-il, R₂ es 4-trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, n es 0, R₄ es H y R₅ es isoquinolin-5-il;
- 5 un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es tomado con R₃ para formar 3,4- dihidro-2H-quinolin-1-il, R₂ es 4-trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, n es 0, R₄ es H, y R₅ es isoquinolin-5-il;
- un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es H, R₂ es 4-*t*-butil, L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H y R₅ es 1H-indazol-7-il;
- 10 un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es 2-metoxi, R₂ es 4-trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H y R₅ es isoquinolin-5-il;
- un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es 2-metil, R₂ es 4-trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H, y R₅ es isoquinolin-5-il;
- un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es 2-isopropil, R₂ es 4-trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H y R₅ es isoquinolin-5-il;
- 15 un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es 2-fluoro, R₂ es 4-trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H y R₅ es isoquinolin-5-il;
- un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es 2,6-dimetil, R₂ es 4-trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H, y R₅ es isoquinolin-5-il;
- 20 un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es tomado con R₃ para formar 7- metil-2,3-dihidro-indol-1-il, R₂ es 4-trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, n es 0, R₄ es H, y R₅ es isoquinolin-5-il;
- un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es H, R₂ es 4-trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H, y R₅ es 1H-indazol-4-il;
- un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es H, R₂ es 4-trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H y R₅ es 1H-indazol-7-il;
- 25 un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es H, R₂ es 4-trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H y R₅ es quinolin-8-il;
- un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es H, R₂ es 4-trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H y R₅ es isoquinolin-5-il(*S);
- un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es H, R₂ es 4-trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H, y R₅ es isoquinolin-5-il (*R);
- 30 un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es H, R₂ es 4-bromo, L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H, y R₅ es isoquinolin-5-il;
- un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil R₁ es H, R₂ es 4-bromo, L es -Z- (CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H y R₅ es indol-4-il;
- 35 un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es 4-fluoro, R₂ es 4-trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H y R₅ es 15 indol-4-il;
- un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es 4-fluoro, R₂ es 4- trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H, y R₅ es isoquinolin-5-il;
- 40 un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es 3-fluoro, R₂ es 4- 20 trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H, y R₅ es isoquinolin-5-il;
- un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es 3-fluoro, R₂ es 4- trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H, y R₅ es indol-4-il;
- un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es H, R₂ es 4-cloro, L es -Z- (CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H y R₅ es indol-4-il;
- 45 un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es H, R₂ es 4-cloro, L es -Z- (CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H y R₅ es isoquinolin-5-il;
- un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es 2-fluoro, R₂ es 4-bromo, L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H y R₅ es indol-4-il;
- 50 un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es 2-fluoro, R₂ es 4-bromo, L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H, y R₅ es isoquinolin-5-il;
- un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es H, R₂ es 3-trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H y R₅ es isoquinolin-5-il;
- un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es H, R₂ es 3-trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H y R₅ es indol-4-il;
- 55 un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es 2-fluoro, R₂ es 4-cloro, L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H y R₅ es isoquinolin-5-il;
- un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es 4-fluoro, R₂ es 4-cloro, L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H y R₅ es isoquinolin-5-il;
- un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es 2,4-difluoro, R₂ es 4-cloro, L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H y R₅ es isoquinolin-5-il;
- 60 un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil R₁ es 4-metoxi, R₂ es 4-cloro, L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H, y R₅ es quinolin-5-il;
- un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es 2,6-difluoro, R₂ es 4- cloro, L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H y R₅ es isoquinolin-5-il;
- 65 un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es 2,6-difluoro, R₂ es 4-cloro, L es -Z-(CH₂)_n, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H, y R₅ es quinolin-5-il;

un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es 2,4-difluoro, R₂ es 4-trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_n-, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H y R₅ es isopquinolin-5-il;

un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es 2,3-difluoro, R₂ es 4-cloro, L es -Z-(CH₂)_n-, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H, y R₅ es 25 isoquinolin-5-il;

un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es 2,3-difluoro, R₂ es 4-cloro, L es -Z-(CH₂)_n-, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H, y R₅ es quinolin-5-il;

un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es 2,5-difluoro, R₂ es 4-cloro, L es -Z-(CH₂)_n-, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H y R₅ es isoquinolin-5-il;

un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es 2,5-difluoro, R₂ es 4-cloro, L es -Z-(CH₂)_n-, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H, y R₅ es quinolin-5-il;

un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es 2-fluoro, R₂ es 4-5 trifluorometil, L es -CH₂-, R₄ es H y R₅ es isoquinolin-5-il;

y

un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es H, R₂ es 4-trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_n-, Z es S, R₃ es H, n es 0, R₄ es H, y R₅ es isoquinolin-5-il;

y enantiómeros, diastereómeros, solvatos y sales farmacéuticamente aceptables de éstos.

Para su uso en medicina, las sales de los compuestos de la fórmula (I) se refieren a "sales farmacéuticamente aceptables" no tóxicas. Sin embargo, otras sales pueden ser útiles en la preparación de compuestos de la fórmula (I) o de sus sales farmacéuticamente aceptables de éstos. Las sales farmacéuticamente aceptables idóneas de los compuestos de fórmula (I) incluyen sales de adición ácida las cuales pueden, por ejemplo, ser formadas mezclando una solución del compuesto con una solución de un ácido farmacéuticamente aceptable, tal como ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido succínico, ácido acético, ácido benzoico, ácido cítrico, ácido tartrárico, ácido carbónico o ácido fosfórico.

Asimismo, donde los compuestos de fórmula (I) portan una fracción ácida, las sales farmacéuticamente aceptables de éstos pueden incluir sales de metales alcalinos, tales como sales de sodio o potasio; sales de metales tierra alcalinos, tales como, sales de calcio o magnesio; y sales formadas con ligandos orgánicos idóneos, tales como sales de amonio cuaternario. Así, las sales farmacéuticamente aceptables representativas incluyen acetato, benzenosulfonato, benzoato, bicarbonato, bisulfato, bitartrato, borato, bromuro, edetato de calcio, camsilato, carbonato, cloruro, clavulanato, citrato, dihidrocloruro, edetato, edisilato, estolato, esilato, fumarato, gluceptato, gluconato, glutamato, glicolilarsanilato, hexilresorcinato, hidrabamina, hidrobromuro, hidrocloreuro, hidroxinaftoato, yoduro, isotionato, lactato, lactobionato, laurato, malato, maleato, mandelato, mesilato, metilbromuro, metilnitrato, metilsulfato, mucato, napsilato, nitrato, sal de N-metilglucamina amonio, oleato, pamoato (embonato), palmitato, pantotenato, fosfato/difosfato, poligalacturonato, salicilato, estearato, sulfato, subacetato, succinato, tannato, tartrato, teoclato, tosilato, trietiyoduro y valerato.

Los ácidos y bases representativos que pueden usarse en la preparación de sales farmacéuticamente aceptables incluyen ácidos incluyendo ácido acético, ácido 2,2-dicloroacético, aminoácidos acilados, ácido adipico, ácido alginico, ácido ascórbico, ácido L-aspártico, ácido benzenosulfónico, ácido benzoico, ácido 4-acetamidobenzoico, ácido (+)-canfórico, ácido canforsulfónico, ácido (+)-(1S)-canfor-10-sulfónico, ácido cáprico, ácido caproico, ácido caprílico, ácido cinámico, ácido cítrico, ácido ciclámico, ácido dodecilsulfúrico, ácido etano-1,2-disulfónico, ácido etanosulfónico, ácido 2-hidroxi-etanosulfónico, ácido fórmico, ácido fumárico, ácido galactárico, ácido gentísico, ácido glucoheptónico, ácido D-glucónico, ácido D-glucorónico, ácido L-glutámico, ácido α-oxo-glutámico, ácido glicólico, ácido hipúrico, ácido bromhídrico, ácido clorhídrico, ácido (+)-L-láctico, ácido (±)-DL-láctico, ácido lactobiónico, ácido maleico, ácido (-)-L-málico, ácido malónico, ácido (i)-DL-mandélico, ácido metanosulfónico, ácido naftalerén-2-sulfónico, ácido naftalén-1,5-disulfónico, ácido 1-hidroxi-2-naftoico, ácido nicotínico, ácido nítrico, ácido oleico, ácido orótico, ácido oxálico, ácido palmítico, ácido pamoico, ácido fosfórico, ácido L-piroglutámico, ácido salicílico, ácido 4-amino-salicílico, ácido sebaico, ácido esteárico, ácido succínico, ácido sulfúrico, ácido tánico, ácido 20 (+)-L-tartárico, ácido tiocianico, ácido p-toluenosulfónico y ácido undecilénico; y las bases incluyendo amonio, L-arginina, benetamina, benzatina, hidróxido de calcio, colina, deanol, dietanolamina, dietilamina, 2-(dietilamino)-etanol, etanolamina, etilendiamina, N-metil-glucamina, hidrabamina, 1 H-imidazol, L-lisina, hidróxido de magnesio, 4-(2-hidroxi-etil)-morfolina, piperacina, hidróxido de potasio, 1-(2-hidroxi-etil)-pirrolidina, amina secundaria, hidróxido de sodio, trietanolamina, trometamina e hidróxido de zinc.

Los contextos de la presente invención incluyen prodrogas de compuestos de Fórmula (I). En general, tales prodrogas serán derivados funcionales de los compuestos que son fácilmente convertibles *in vivo* en el compuesto requerido. Así, en los métodos de tratar o prevenir contextos de la presente invención, el término "administrar" incluye el tratamiento o prevención de las varias enfermedades, condiciones, síndromes y trastornos descritos con el compuesto específicamente declarado o con un compuesto que puede no ser específicamente declarado, pero el cual se convierte al compuesto especificado *in vivo* luego de su administración a un paciente. Los procedimientos convencionales para la selección y preparación de derivados prodrogas idóneos se describen, por ejemplo, en 5 "Design of Prodrugs", ed. H. Bundgaard, Elsevier, 1985.

Donde los compuestos de acuerdo con los contextos de esta invención tienen al menos un centro quiral, por consiguiente, pueden existir como enantiómeros. Donde los compuestos poseen dos o más centros quirales, adicionalmente pueden existir como diastereómeros. Se entiende que tales isómeros y mezclas de éstos se incluyen dentro del alcance de la presente invención. Asimismo, algunas de las formas cristalinas para los compuestos pueden existir como polimorfos y como tales se les pretende incluir en la presente invención. Además, algunos de los compuestos pueden formar solvatos con agua (es decir, hidratos) o solventes orgánicos comunes, y también se pretende que tales solvatos sean incluidos dentro del alcance de esta invención. El experto en la materia comprenderá que el término compuesto tal como se usa aquí, significa incluir los compuestos solvatados de Fórmula I.

Donde los procesos para la preparación de los compuestos de acuerdo con ciertos contextos de la invención dan lugar a una mezcla de estereoisómeros, estos isómeros pueden ser separados por técnicas convencionales, tales como, cromatografía preparativa. Los compuestos pueden prepararse en forma racémica, o los enantiómeros individuales pueden prepararse por síntesis enantiospecífica o por resolución. Los compuestos pueden, por ejemplo, resolverse en sus enantiómeros componentes por técnicas estándar, tales como la formación de pares diastereoméricos por formación de sal con un ácido ópticamente activo, tal como ácido (-)-di-p-toluoil-d-tartárico y/o (+)-di-p-toluoil-tartárico seguido por cristalización fraccional y regeneración de la base libre. Los compuestos también pueden resolverse por la formación de ésteres diastereoméricos o amidas, seguidos por separación cromatográfica y remoción del auxiliar quiral. Alternativamente, los compuestos pueden resolverse usando una columna quiral de HPLC.

Un contexto de la presente invención está dirigido a una composición, incluyendo una composición farmacéutica, comprendiendo, consistente en y/o consistente esencialmente en el (+)-enantiómero de un compuesto de fórmula (I) donde dicha composición está sustancialmente libre del (-)-isómero de dicho compuesto. En el presente contexto, sustancialmente libre significa menos de un 25%, preferiblemente menos de un 10%, más preferiblemente menos de un 5%, aún más preferiblemente menos de un 2% y aún más preferible menos de un 1% del (-)-isómero calculado como.

$$\% (+) - \text{enantiómero} = \frac{(\text{masa}(+) - \text{enantiómero})}{(\text{masa}(+) - \text{enantiómero}) + (\text{masa}(-) - \text{enantiómero})} \times 100$$

Otro contexto de la presente invención es una composición, incluyendo una composición farmacéutica, comprendiendo, consistente en y consistente esencialmente en el (-)-enantiómero de un compuesto de fórmula (I) donde dicha composición está sustancialmente libre del (+)-isómero de dicho compuesto. En el presente contexto, sustancialmente libre significa menos de un 25%, preferiblemente menos de un 10%, más preferiblemente menos de un 5%, aún más preferiblemente menos de un 2% y aún más preferiblemente menos de un 1% del (+)-isómero calculado como

$$\% (-) - \text{enantiómero} = \frac{(\text{masa}(-) - \text{enantiómero})}{(\text{masa}(+) - \text{enantiómero}) + (\text{masa}(-) - \text{enantiómero})} \times 100$$

Durante cualquiera de los procesos para la preparación de los compuestos de los varios contextos de la presente invención, puede ser necesario y/o deseable proteger a los grupos sensibles o reactivos en cualquiera de las moléculas incluidas. Esto puede lograrse por medio de grupos protectores convencionales, como los descritos en *Protective Groups in Organic Chemistry*, ed. J.F.W. McOmie, Plenum Press, 1973; y T.W. Greene & P.G.M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, John Wiley & Sons, 1991. Los grupos protectores pueden ser removidos en una etapa subsecuente conveniente usando métodos conocidos por los expertos en la materia.

Aunque los compuestos de los contextos de la presente invención (incluyendo sus sales farmacéuticamente aceptables y solvatos farmacéuticamente aceptables) pueden administrarse solos, generalmente serán administrados en mezcla con un portador farmacéuticamente aceptable, un excipiente farmacéuticamente aceptable y/o un diluyente farmacéuticamente aceptable seleccionados con respecto a la ruta pretendida de administración y práctica farmacéutica estándar.

Así, los contextos particulares de la presente invención están dirigidos a composiciones farmacéuticas que comprenden, consistentes en, y consistentes esencialmente en compuestos de fórmula (I) y al menos un portador farmacéuticamente aceptable, excipiente farmacéuticamente aceptable y/o diluyente farmacéuticamente aceptable.

A modo de ejemplo, en las composiciones farmacéuticas de los contextos de la presente invención, los compuestos de fórmula (I) pueden mezclarse con cualquier aglutinante, lubricante, agente de suspensión, agente de cobertura o agente solubilizante.

Las formas sólidas para dosis oral, tales como tabletas o cápsulas, que contienen los compuestos de la presente invención pueden administrarse al menos una forma de dosis a la vez, como sea apropiado. También es posible administrar los compuestos en formulaciones de liberación sostenida.

5 Formas orales adicionales en las cuales pueden administrarse los compuestos de la presente inventiva incluyen elixires, soluciones, jarabes y suspensiones; cada una conteniendo opcionalmente agentes saborizantes y agentes colorantes.

10 Alternativamente, los compuestos de fórmula (I) pueden administrarse por inhalación (intratraqueal o intranasal) o en la forma de un supositorio o pesario, o pueden aplicarse de forma tópica en la forma de una loción, solución, crema, ungüento o polvo secante. Por ejemplo, pueden ser incorporados en una crema que comprende, consistente en y/o consistente esencialmente en una emulsión acuosa de polietilenglicoles o parafina líquida. También pueden ser incorporados, a una concentración entre 1% y 10% por peso de la crema, en un ungüento que comprende, consistente en y/o consistente esencialmente en una cera blanca o parafina base blanca suave
15 junto con cualquier estabilizante y preservante tal como pueda requerirse. Un medio alternativo de administración incluye la administración trasdérmica usando un parche dérmico o trasdérmico

20 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención (así como los compuestos de la presente invención solamente) también pueden ser inyectadas por vía parenteral, por ejemplo, intracavernosa, intravenosa, intramuscular, subcutánea, intradérmica o intratecal. En este caso, las composiciones también incluirán al menos un portador idóneo, un excipiente idóneo y un diluyente idóneo.

25 Para la administración parenteral, las composiciones farmacéuticas de la presente invención se usan mejor en forma de una solución estéril acuosa que puede contener otras sustancias, por ejemplo, suficientes sales o monosacáridos para hacer la solución isotónica con la sangre.

Para la administración bucal o sublingual, las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden administrarse en la forma de tabletas o píldoras, las cuales pueden ser formuladas de forma convencional.

30 A modo de otro ejemplo, las composiciones farmacéuticas que contienen al menos uno de los compuestos de fórmula (I) como el ingrediente activo pueden prepararse mezclando el(los) compuesto(s) con un portador farmacéuticamente aceptable, un diluyente farmacéuticamente aceptable y/o un excipiente farmacéuticamente aceptable de acuerdo con las técnicas de composición farmacéutica convencionales.

35 El portador, excipiente y diluyente pueden tomar una amplia variedad de formas dependiendo de la ruta deseada de administración (p.ej., oral, parenteral, etc.). Así para preparaciones líquidas, tales como suspensiones, jarabes, elixires y excipientes y diluyentes idóneos incluyen agua, glicoles, aceites, alcoholes, agentes saborizantes, preservativos, estabilizantes, colorantes y semejantes; para las preparaciones orales sólidas, tales como polvos, cápsulas y tabletas, los portadores, excipientes y diluyentes idóneos incluyen almidones, azúcares, diluyentes, agentes granulantes, lubricantes, aglutinantes, desintegrantes y semejantes. Las preparaciones orales sólidas también pueden cubrirse opcionalmente con sustancias tales como azúcares, o tener cubierta entérica, de forma de modular el sitio mayor de absorción y desintegración. Para la administración parenteral, el portador, excipiente y/o diluyente usualmente incluirán agua estéril y otros ingredientes pueden agregarse para aumentar la solubilidad o preservación de la composición. También pueden prepararse suspensiones o soluciones inyectables
40 utilizando portadores acuosos junto con portadores, excipientes y/o diluyentes apropiados, tales como solubilizantes y preservativos.
45

50 Una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula (I) o una composición farmacéutica de éstos incluye un rango de dosis entre 0.1 mg a casi 3000 mg, en particular entre 1 mg a casi 1000 mg o, más particularmente, entre 10 mg a casi 500 mg del ingrediente activo en un régimen de casi 1 a 4 veces al día para un humano promedio (70 kg); aunque está claro para alguien experto en la materia que la cantidad terapéuticamente efectiva para los compuestos activos de la invención variará así como las condiciones tratadas.

55 Para la administración oral, una composición farmacéutica es proporcionada preferiblemente en la forma de tabletas que contienen 0.01, 10.0, 50.0, 100, 150, 200, 250 y 500 miligramos del ingrediente activo.

Ventajosamente, un compuesto de fórmula (I) puede administrarse en una dosis diaria única, o la dosis diaria total puede administrarse en dosis divididas de dos, tres o cuatro veces al día.

60 Las dosis óptimas de un compuesto de fórmula (I) a administrarse pueden ser determinadas rápidamente y variarán con el compuesto particular usado, el modo de administración, la potencia de la preparación y el avance de la enfermedad, síndrome, condición o trastorno. Además, factores asociados con el sujeto particular a ser tratado, incluyendo la edad, peso, dieta del sujeto y tiempo de administración, resultarán en la necesidad de ajustar la dosis para lograr un nivel terapéutico apropiado. Las dosis anteriores son así ilustrativas del caso promedio.
65 Puede haber casos individuales donde se ameriten rangos de dosis mayores o menores, y tales están dentro del alcance de esta invención.

Los compuestos de fórmula (I) pueden ser administrados en cualquiera de las composiciones y regímenes de dosificación anteriores o por medio de esas composiciones y regímenes de dosificación establecidos en la técnica cualquiera que sea el uso requerido de un compuesto de fórmula (I) para un sujeto en necesidad de éstos.

5 Como antagonistas del canal iónico TRPM8, los compuestos de fórmula (I) son útiles en métodos para tratar o prevenir una enfermedad, síndrome o condición en un sujeto, incluyendo un animal, un mamífero y un humano en el cual la enfermedad, síndrome o condición es afectado por la modulación de los receptores TRPM8. Tales métodos comprenden, consisten en y/o consisten esencialmente en administrar a un sujeto, incluyendo un animal, un mamífero y un humano en necesidad de tal tratamiento o prevención una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto, sal o solvato de fórmula (I). En particular, los compuestos de fórmula (I) son útiles para prevenir o tratar el dolor, o enfermedades, síndromes, o condiciones que causan tal dolor, o disfunción pulmonar o vascular. Más particularmente, los compuestos de fórmula (I) son útiles para prevenir o tratar el dolor inflamatorio, las condiciones de hipersensibilidad inflamatoria, el dolor neuropático, ansiedad, depresión y enfermedad cardiovascular agravada por el frío, incluyendo la enfermedad vascular periférica, hipertensión vascular, hipertensión pulmonar, Enfermedad de Raynaud y coronariopatía, administrando a un sujeto en necesidad de éstos una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula (I).

20 Ejemplos de dolor inflamatorio incluyen dolor debido a una enfermedad, condición, síndrome, trastorno o estado doloroso, incluyendo enfermedad intestinal inflamatoria, dolor visceral, migraña, dolor postoperatorio, osteoartritis, artritis reumatoidea, dolor de espalda, lumbalgia, artralgia, dolor abdominal, dolor torácico, trabajo de parto, enfermedades musculoesqueléticas, enfermedades cutáneas, odontalgia, piresis, quemadura, quemadura solar, emponzoñamiento ofídico, emponzoñamiento ofídico venenoso, emponzoñamiento arácnido, picadura de insecto, vejiga neurogénica, cistitis intersticial, infección urinaria, rinitis, dermatitis por contacto/hipersensibilidad, prurito, eccema, faringitis, mucositis, enteritis, síndrome de intestino irritable, colecistitis, pancreatitis, síndrome de dolor postmastectomía, dolor menstrual, endometriosis, cefalea sinusal, cefalea tensional o aracnoiditis.

30 Un tipo de dolor inflamatorio es la hiperalgesia inflamatoria, la cual puede distinguirse como hiperalgesia inflamatoria somática o hiperalgesia inflamatoria visceral. La hiperalgesia inflamatoria somática puede caracterizarse por la presencia de un estado hiperalgésico inflamatorio en el cual existe una hipersensibilidad a estímulos térmicos, mecánicos y/o químicos. La hiperalgesia inflamatoria visceral también puede caracterizarse por la presencia de un estado hiperalgésico inflamatorio, en el cual existe una irritabilidad visceral aumentada.

35 Ejemplos de hiperalgesia inflamatoria incluyen una enfermedad, síndrome, condición, trastorno o estado doloroso incluyendo inflamación, osteoartritis, artritis reumatoidea, dolor de espalda, artralgia, dolor abdominal, enfermedades musculoesqueléticas, enfermedades cutáneas, dolor postoperatorio, cefaleas, odontalgia, quemadura, quemadura solar, picadura de insecto, vejiga neurogénica, incontinencia urinaria, cistitis intersticial, infección urinaria, tos, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, rinitis, dermatitis por contacto/hipersensibilidad, prurito, eccema, faringitis, enteritis, síndrome de intestino irritable y enfermedades inflamatorias intestinales incluyendo Enfermedad de Crohn y/o colitis ulcerativa.

40 Un contexto de la presente invención está dirigido a un método para tratar la hiperalgesia inflamatoria somática en la cual existe una hipersensibilidad a estímulos térmicos, mecánicos y/o químicos, comprendiendo, consistiendo en, y/o consistiendo esencialmente en el paso de administrando a un sujeto en necesidad de tal tratamiento una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto, sal o solvato de fórmula (I).

45 Otro contexto de la presente invención está dirigido a un método para tratar la alodinia neuropática al frío en la cual existe una hipersensibilidad a un estímulo frío, comprendiendo, consistente en y/o consistente esencialmente en el paso de administrar a un sujeto en necesidad de tal tratamiento una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto, sal o solvato de fórmula (I).

50 Otro contexto de la presente invención está dirigido a un método para tratar la alodinia neuropática al frío en la cual existe una hipersensibilidad a estímulos fríos, comprendiendo, consistente en y/o consistente esencialmente en el paso de administrar a un sujeto en necesidad de tal tratamiento una cantidad terapéuticamente efectiva de compuesto, sal o solvato de fórmula (I).

55 Ejemplos de una condición de hipersensibilidad inflamatoria incluyen incontinencia urinaria, hipertrofia prostática benigna, tos, asma, rinitis y/o hipersensibilidad nasal, prurito, dermatitis por contacto y/o alergia cutánea y enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

60 Ejemplos de un dolor neuropático incluyen dolor debido a una enfermedad, síndrome, condición, trastorno o estado doloroso, incluyen cáncer, trastornos neurológicos, cirugía de médula y nervio periférico, tumores cerebrales, lesión cerebral traumática (TBI), traumatismo en la médula espinal, síndromes dolorosos crónicos, fibromialgia, síndrome de fatiga crónica, neuralgias (neuralgia trigeminal, neuralgia glossofaríngea, neuralgia postherpética y causalgia), lupus, sarcoidosis, neuropatía periférica, neuropatía periférica bilateral, neuropatía diabética, dolor central, neuropatías asociadas con lesión a la médula espinal, ictus, esclerosis lateral amiotrófica (ALS), enfermedad de Parkinson, esclerosis múltiple, neuritis ciática, neuralgia de la articular mandibular, neuritis

periférica, polineuritis, dolor del muñón, dolor del miembro fantasma, fracturas óseas, dolor neuropático oral, dolor de Charcot, síndrome de dolor regional complejo I y II (CRPS I/II), radiculopatía, síndrome de Guillain-Barré, meralgia parestésica, síndrome de boca quemante, neuritis óptica, neuritis posfebril, neuritis migrante, neuritis segmentaria, neuritis de Gombault, neuronitis, neuralgia cervicobraquial, neuralgia craneal, neuralgia geniculada, neuralgia glossofaríngea, neuralgia migrañosa, neuralgia idiopática, neuralgia de los intercostales, neuralgia mamaria, neuralgia de Morton, neuralgia nasociliar, neuralgia occipital, neuralgia roja, neuralgia de Sluder, neuralgia esplenopalatina, neuralgia supraorbitaria, vulvodinia o neuralgia vidiana.

Un tipo de dolor neuropático es la alodinia neuropática al frío, la cual puede caracterizarse por la presencia de un estado alodínico asociado a neuropatía en el cual existe una hipersensibilidad a los estímulos fríos. Ejemplos de alodinia neuropática al frío incluyen alodinia debida a una enfermedad, condición, síndrome, trastorno o estado doloroso incluyendo dolor neuropático (neuralgia), dolor que surge a partir de una cirugía o traumatismo a la columna y nervio periférico, lesión cerebral traumática (TBI), neuralgia trigeminal, neuralgia postherpética, causalgia, neuropatía periférica, neuropatía diabética, dolor central, ictus, neuritis periférica, polineuritis, síndrome de dolor regional complejo I y II (CRPS I/II) y radiculopatía.

Ejemplos de ansiedad incluyen ansiedad social, trastorno de estrés postraumático, fobias, fobia social, fobias especiales, trastorno del pánico, trastorno obsesivo compulsivo, trastorno por estrés agudo, trastorno de ansiedad de separación y trastorno de ansiedad generalizada.

Ejemplos de depresión incluyen depresión mayor, trastorno bipolar, trastorno afectivo estacional, depresión posnatal, depresión maniaca y depresión bipolar.

MÉTODOS SINTÉTICOS GENERALES

Los compuestos representativos de la presente invención pueden sintetizarse de acuerdo con los métodos sintéticos generales descritos a continuación e ilustrados en los esquemas y ejemplos que siguen. Debido a que los esquemas son una ilustración, la invención no debe construirse como limitada por las reacciones químicas específicas y condiciones específicas descritas en los esquemas y ejemplos. Los esquemas de inicio usados en los esquemas y ejemplos están comercialmente disponibles o pueden prepararse por métodos conocidos por los expertos en la materia versados en la técnica. Las variables son las que se definen aquí y están dentro de las destrezas de las personas versadas en la técnica.

Las abreviaturas usadas en la especificación, particularmente los esquemas y ejemplos, son las siguientes:

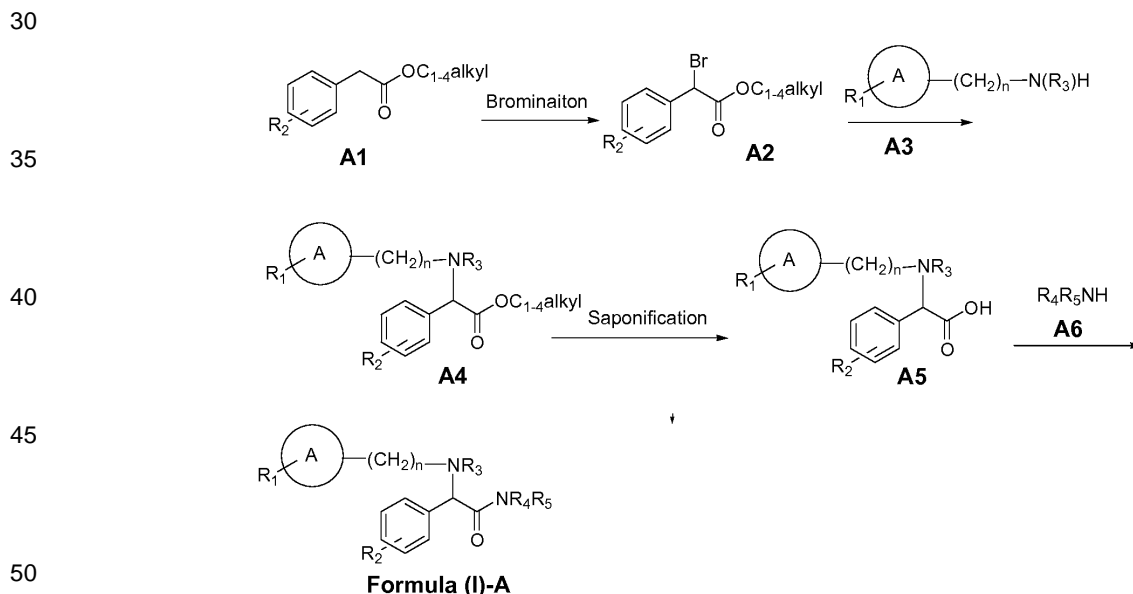
AcCl	cloruro de acetilo
AcOH	ácido acético glacial
aq.	acuoso
Bn o Bzl	bencil
conc.	concentrado
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno
DCE	2-dicloroetano
DCM	diclorometano
DEAD	dietil azodicarboxilato
DIAD	diisopropil azodicarboxilato
DIEA	diisopropil-etil amina
DMAP	4-(dimetilamino)piridina
DMF	N, N-dimetilformamida
DMSO	dimetilsulfóxido
DPPA	difenilfosforil azida
ESI	ionización por aspersión electrónica
EtOAc	acetato de etilo
EtOH	etanol
h	hora
HATU	2-(1 H-7-azabenzotriazol-1 -i l)--1,1,3,3- tetrametil uronio hexafluorofosfato
HBTU	O-benzotriazol-1-il-N,N,N',N'- tetrametiluronio hexafluorofosfato
HEK	riñón embrionario humano
HOBt	1 -hidroxibenzotriazol
HPLC	cromatografía líquida de alto desempeño
LDA	diisopropilamida de litio
LHMDS	bis(trimetilsilil)amida de litio
Me	metil
MeOH	metanol

(continua)

	MHz	megahercio
	min	minutos
5	MPLC	cromatografía líquida a presión media
	MS	espectroscopia de masa
	NaHMDS	bis(trimetilsilil)amida de sodio
	NBS	N-bromosuccinimida
	NCS	N-clorosuccinimida
10	NMR	resonancia magnética nuclear
	NT	no evaluado
	PCC	clorocromato de piridinio
	Ph	fenil
	Pd/C	paladio sobre carbono activado
15	Ph ₃ P	trifenilfosfina
	PPA	ácido polifosfórico
	rt	temperatura ambiente
	TEA/ Et ₃ N	triethylamina
	TFA	ácido trifluoroacético
20	THF	tetrahidrofurano
	TLC	cromatografía en capa delgada
	TMS	tetrametilsilano
	TMSCN	trimetilsilil cianuro

25 El esquema A ilustra una ruta para la síntesis de compuestos de fórmula(I)-A donde L es $-(CH_2)_n-$, Z es NR_3 y R_3 es H o C_{1-3} alquil.

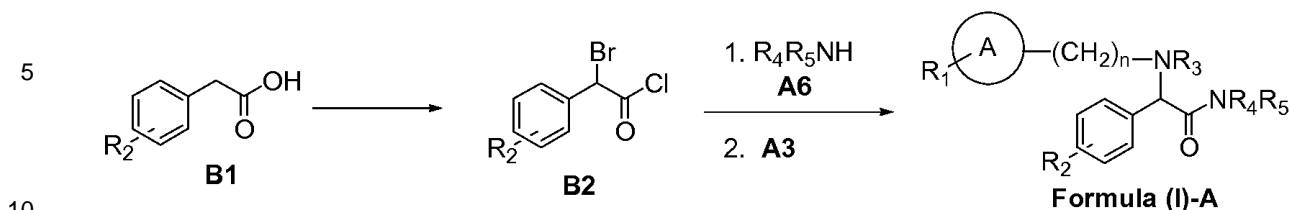
Esquema A



Un compuesto de fórmula **A1** está comercialmente disponible o puede prepararse por métodos conocidos, incluyendo los descritos en la literatura científica. Un compuesto de fórmula **A1** puede convertirse a su bromuro correspondiente de fórmula **A2** por la acción de NBS en ácido bromhídrico en tetracloruro de carbono, o por otra agente brominante, tal como bromuro en ácido acético o por tetrabromuro de carbono con DBU. El tratamiento de un compuesto de fórmula **A2** con una amina apropiadamente sustituida de fórmula **A3** rinde un compuesto de fórmula **A4**. La saponificación de un compuesto de fórmula **A4** por la acción de un hidróxido de metal alcalino rinde un compuesto de fórmula **A5**. El ácido carboxílico de fórmula **A5** puede acoplarse con una amina apropiadamente sustituida de fórmula **A6**, R_4R_5N-H , en presencia de un agente acoplante de péptido, tal como HATU, DCC, HBTU, y semejantes, y una amina terciaria para rendir un compuesto de fórmula (I)-A. Los compuestos de fórmula **A6** están comercialmente disponibles o pueden prepararse por métodos conocidos, incluyendo los descritos en la literatura científica.

65 Una ruta alterna a los compuestos de Fórmula (I)-A se presenta en el Esquema B.

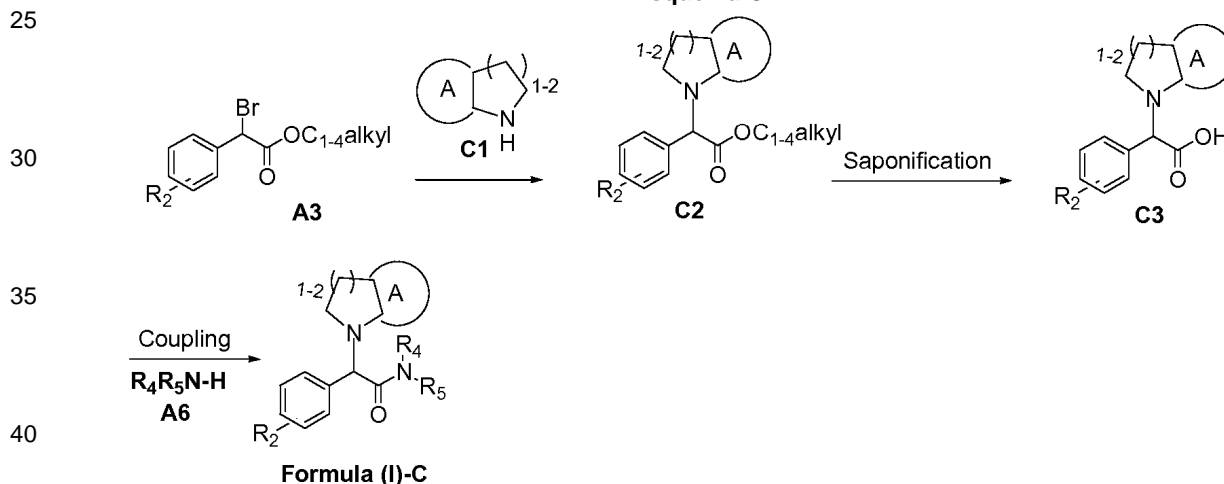
Esquema B



15 Un compuesto de fórmula **B1** está comercialmente disponible o puede prepararse por métodos conocidos descritos en la literatura científica. Un compuesto de fórmula **B1** puede convertirse a su cloruro ácido correspondiente por la acción de un agente clorinante, tal como cloruro de tionilo, cloruro oxalil y semejantes. El tratamiento posterior del cloruro ácido con un agente brominante convencional rinde un compuesto de fórmula **B2**. La conversión a un compuesto de fórmula (I)-A puede cumplirse por la reacción del cloruro ácido de fórmula **B2** con un compuesto de fórmula A6, seguido por el desplazamiento nucleofílico del bromuro por un compuesto de fórmula **A3**.

20 El esquema C ilustra una ruta para la síntesis de compuestos de fórmula (I)- C donde el anillo A es fenil, L es -Z-(CH₂)_n, n es 0, Z es NR₃ y R₁ y R₃ son tomados opcionalmente con los átomos a los cuales están unidos para formar dihidro-indol-1-il o dihidro-quinolin-1-il.

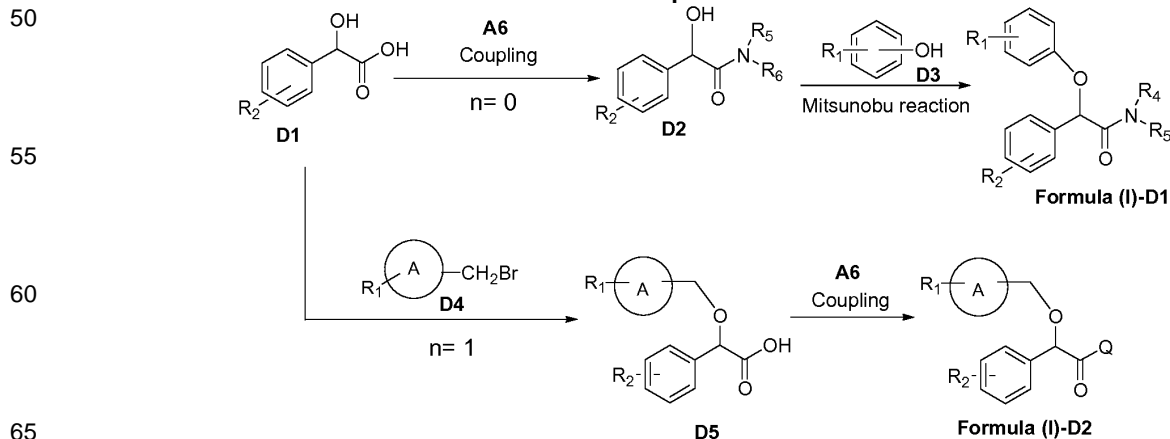
Esquema C



45 Un compuesto de fórmula **A3** puede sufrir un desplazamiento nucleofílico con una amina apropiadamente sustituida de fórmula **C1** para formar un compuesto de fórmula **C2**. La saponificación de un compuesto de fórmula **C2** a su ácido carboxílico correspondiente, seguido por el acoplamiento del ácido carboxílico con un compuesto de fórmula **A7**, como se describe aquí, rinde un compuesto de fórmula (I)-C.

El esquema D ilustra una ruta para la síntesis de compuestos de fórmula (I)-D donde L es -Z-(CH₂)_n, Z es O.

Esquema D



Un compuesto de fórmula **D1** está comercialmente disponible o puede prepararse por métodos conocidos descritos en la literatura científica.

5 Un compuesto de fórmula **D1** puede convertirse a un compuesto de fórmula **D2** a través de una reacción de acoplamiento entre el grupo carboxi de **D1** y la amina de a fórmula **A6** usando condiciones apropiadas de acoplamiento como se describen aquí.

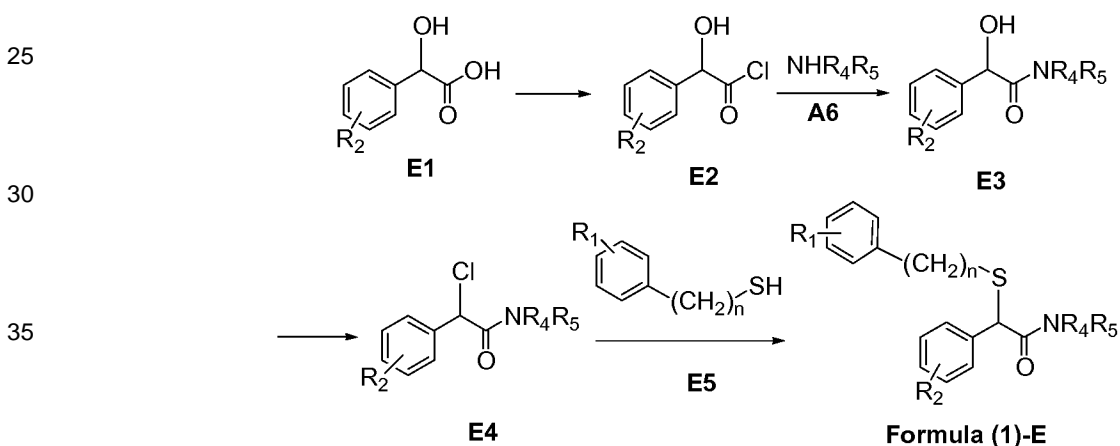
10 La función hidroxil de un compuesto de fórmula **D2** puede acoplarse con un compuesto de fórmula **D3** bajo condiciones de acoplamiento Mitsunobu convencionales para rendir un compuesto de fórmula **(I)-D1**.

Los compuestos de fórmula **D3** están comercialmente disponibles o pueden prepararse por métodos conocidos, incluyendo los descritos en la literatura científica.

15 Los compuestos de fórmula **(I)-D2** donde n es 1 pueden prepararse por la alquilación de un compuesto de fórmula **D1** con un compuesto de fórmula **D4** para rendir un compuesto de fórmula **D5**, el cual puede entonces acoplarse con un compuesto de fórmula **A6** como se describe aquí.

20 El esquema E ilustra una ruta para la síntesis de compuestos de fórmula (1)-E donde el anillo A es fenil, L es -(CH₂)_n- y Z es S.

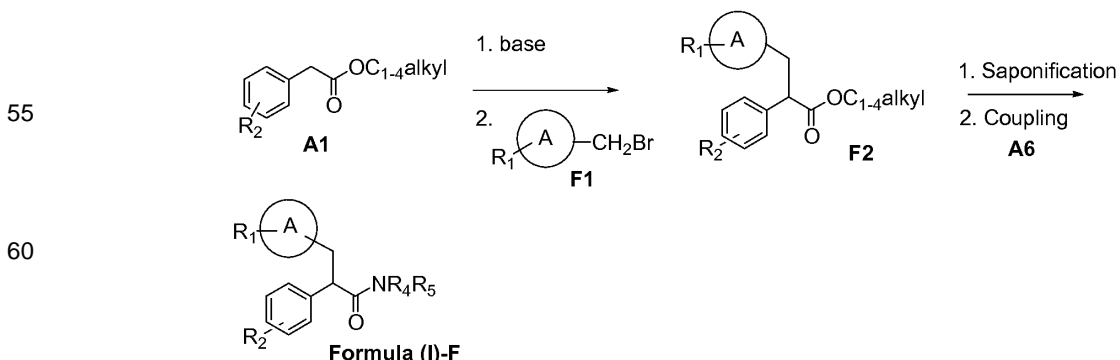
Esquema E



45 Un compuesto de fórmula **E1** puede convertirse a su cloruro ácido correspondiente por la acción de un agente clorinante, tal como cloruro de tionilo, cloruro oxalil y semejantes. El tratamiento posterior del cloruro ácido con un compuesto de fórmula **A6** rinde un compuesto de fórmula **E3**. La conversión a un compuesto de fórmula **(1)-E** puede lograrse por reacción del alcohol de la fórmula **E3** con un agente clorinante, tal como cloruro de tionilo y semejantes para dar un compuesto de fórmula **E4**, seguido por el desplazamiento nucleofílico del cloruro por un compuesto de fórmula **E5**.

El esquema F ilustra una ruta para la síntesis de compuestos de fórmula (1)-F donde L es -CH₂-.

50 Esquema F



Un compuesto de fórmula **A1** puede desprotonarse con una base orgánica, tal como diisopropilamida de litio (LDA) y alquilado con un compuesto de fórmula **F1**. Los compuestos de fórmula **F1** están comercialmente

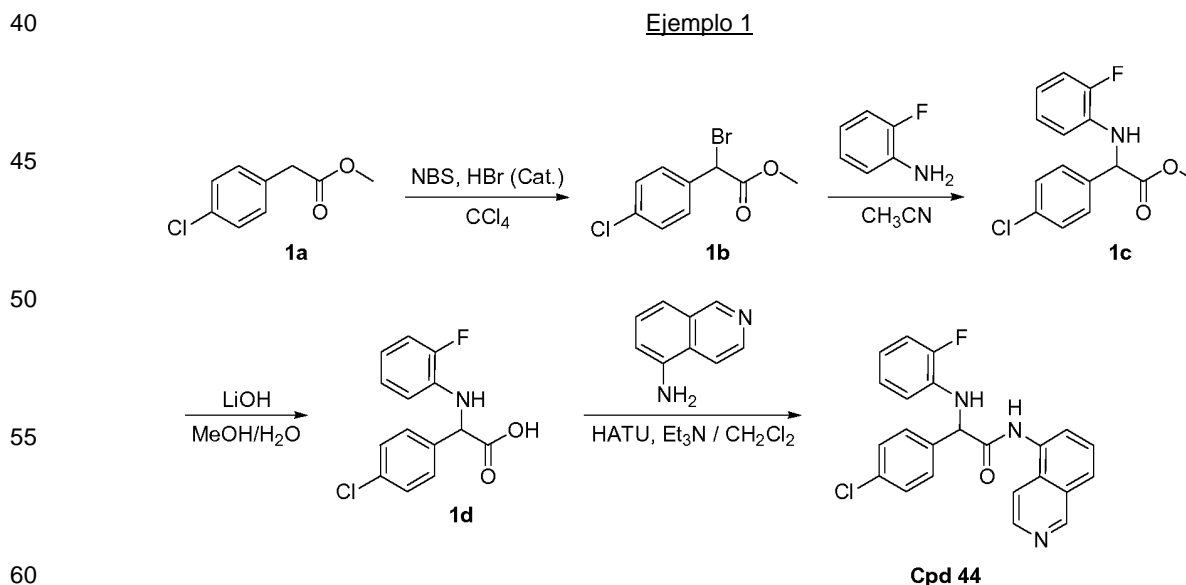
disponibles o puede prepararse por métodos conocidos descritos en la literatura científica. El éster de fórmula F2 puede saponificarse y posteriormente acoplarse con un compuesto de fórmula A6 como se describe aquí para rendir un compuesto de fórmula (1)-F.

5 Los compuestos de Fórmula (I) que son quirales pueden ser separados en sus enantiómeros por cromatografía sobre una fase estacionaria quiral. Alternativamente, compuestos básicos o ácidos o intermediarios de los compuestos de la presente invención pueden ser convertidos a sales diastereoméricas por la mezcla con un ácido o base quiral, respectivamente, y resolverse en sus enantiómeros por cristalización fraccional.

10 Generalmente se prefiere que el producto respectivo de cada paso del proceso se separe de otros componentes de la mezcla de la reacción y se someta a purificación antes de su uso como material de inicio en un paso posterior. Las técnicas de separación incluyen evaporación, extracción, precipitación y filtración. Las técnicas de purificación incluyen cromatografía en columna (Still, W. C., *et. al, J. Org.Chem.* 1978, 43, 2921), cromatografía de capa delgada, cristalización y destilación. Las estructuras de los productos finales, intermediarios y materiales de inicio son confirmadas por métodos espectroscópicos, espectrométricos y analíticos incluyendo resonancia magnética nuclear (NMR), espectrometría de masa (MS) y cromatografía líquida (HPLC). En las descripciones para la preparación de compuestos de esta invención, etil éter, tetrahidrofurano y dioxano son ejemplos comunes de un solvente etéreo; benceno, tolueno, hexanos y heptanos son solventes hidrocarbonados y diclorometano y dicloroetano son solventes hidrocarbonados halogenados representativos. En esos casos donde el producto es aislado como la sal de adición ácida la base libre puede obtenerse por técnicas conocidas por los expertos en la materia. En esos casos en los cuales el producto es aislado como una sal de adición ácida, la sal puede contener uno o más equivalentes del ácido. Los enantiómeros de los compuestos de la presente invención pueden separarse usando HPLC quiral.

25 EJEMPLOS ESPECÍFICOS

Los reactivos fueron comprados en fuentes comerciales. Los microanálisis se realizaron en Quantitative Technologies, Inc., Whitehouse, New Jersey y se expresan en porcentaje por peso de cada elemento por peso molecular total. Los espectros por resonancia magnética nuclear (NMR) para los átomos de H fueron medidos en el solvente indicado con (TMS) como el estándar interno sobre un espectrómetro Bruker Avance o Varian (300 o 30
400, o 500 MHz). Los valores se expresan en partes por millón downfield a partir de TMS. Los espectros de masa (MS) se determinaron en un espectrometro Agilent como (ESI) m/z (M+H⁺) usando una técnica de electroaspersión. Las rotaciones ópticas se obtuvieron en un polarímetro Perkin-Elmer usando la línea D de sodio como longitud de onda de luz. A menos que se note otra cosa, los materiales usados en los ejemplos se obtuvieron de suplidores comerciales fácilmente disponibles o se sintetizaron por métodos estándar conocidos por un experto en la materia de la síntesis química. Los grupos sustituyentes, los cuales varían entre los ejemplos, son H a menos que se note otra cosa. Donde las reacciones se llevaron a cabo en un reactor de microondas, se usó un Biotage Initiator™.



A. Metil ácido Bromo-(4-cloro-fenil)-acético.

65 A una solución del Compuesto 1a (5.0 g, 27.1 mmol) en CCU anhidro (110 mL), a temperatura ambiente, se agregó NBS (5.3 g, 29.8 mmol) y 48% HBr (0.2 mL). La mezcla de la reacción se calentó a reflujo por 2 h y luego la mezcla se enfrió, filtró y evaporó *in vacuo* para rendir el Compuesto 1b.

B. Metil éster de ácido (4-cloro-fenil)-(2-fluoro-fenilamino)-acético.

A una solución del Compuesto 1b (2.8 g, 10.6 mmol) en acetonitrilo (16 ml.) se agregó 2-fluoro-fenilamina (2.95 g., 26.5 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de la reacción se calentó a reflujo por 24 h y luego el solvente se evaporó *in vacuo*. El residuo resultante se diluyó con EtOAc, se enjuagó con agua y se secó sobre Na₂SO₄. La mezcla se filtró luego y 5 el filtrado se concentró *in vacuo*. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna flash (SiO₂), eluyendo con un gradiente hexanos-EtOAc para rendir el Compuesto **1c**.

C. Ácido (4-cloro-fenil)-(2-fluoro-fenilamino)-acético.

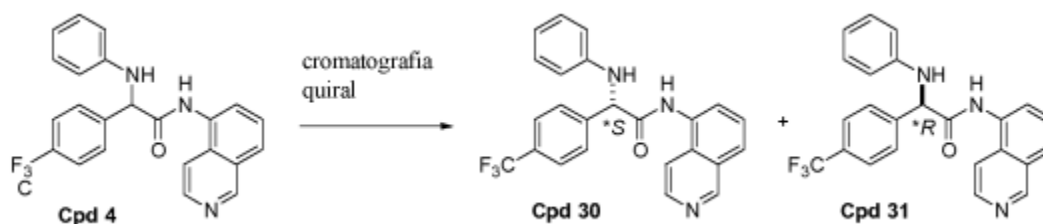
Al Compuesto 1c (2.79 g, 9.5 mmol) disuelto en MeOH (30 ml.) se le agregó 10 hidróxido monohidrato de litio (2.63 g, 62.7 mmol) y H₂O (20 ml.) a temperatura ambiente. La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente toda la noche y luego el solvente se evaporó *in vacuo*. El residuo resultante fue redisolto en agua y el pH se ajustó a 2 con 2N HCl. El sólido blanco resultante se recolectó por filtración, se enjuagó con H₂O, hexanos, y se secó para 15 lograr el Compuesto **1d**.

D. 2-(4-Cloro-fenil)-2-(2-fluoro-fenilamino)-1-[2-(2-fluoro-fenil)-pirrolidin-1-il]-etanona.

A una solución del Compuesto 1d (50.0 mg, 0.179 mmol) en CH₂Cl₂ (2 ml.) se le agregó isoquinolin-5-ilamine (26.0 mg, 0.179 mmol), HATU (136 mg, 0.358 mmol) y trietilamina (0.25 mL, 1.79 mmol). La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente toda la noche y luego el solvente se evaporó *in vacuo*. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna flash (SiO₂), eluyendo con un gradiente hexanos-EtOAc para rendir el Compuesto **44**. MS 406 (M+H).

Siguiendo el procedimiento descrito antes para el Ejemplo 1 y sustituyendo 25 los reactivos, materiales de inicio y métodos de purificación apropiados conocidos por los expertos en la materia, se prepararon los siguientes compuestos de la presente invención:

Cpd	MS (M+1) ⁺	Cpd	MS (M+1) ⁺
1	410	37	428
2	410	38	376
3	424	39	388
4	423	40	438
5	399	41	450
6	410	42	422
7	398	43	410
8	410	44	406
9	413	46	424
20	399	47	418
27	411	48	424
28	411	49	424
29	422	50	458
32	432	51	424
33	420	52	424
34	428	53	424
35	440	54	424
36	440		

Ejemplo 2**N-Isoquinolin-5-il-2-fenilamino-2-(4-trifluorometil-fenil)-acetamida (Cpd 30 y Cpd 31).**

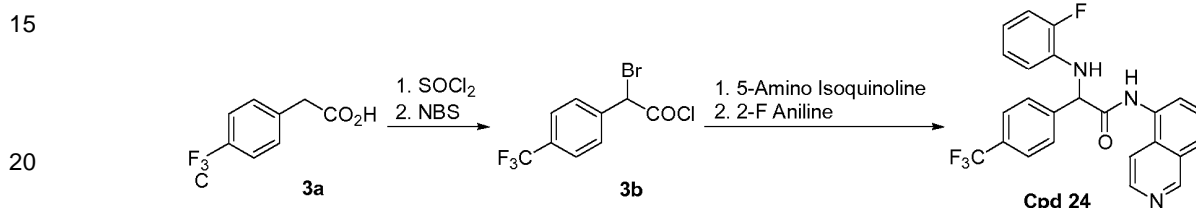
Una muestra del Compuesto 4 se separó en sus enantiómeros sobre una columna ADH 15 cm, eluyendo con CH₃CN a 1 mL/ min para dar dos productos: un compuesto asignado al Pico A (0.40 g) y un segundo compuesto

asignado al Pico B (0.39 g). Cada muestra se agregó en 10 acetonitrilo y se agregaron 2.2 equivalentes de 1N hidrocloreto etéreo. Los sólidos se recolectaron individualmente y se secaron a temperatura ambiente por tres días bajo vacío para rendir el Pico A, Compuesto 30, (285.5 mg), y el Pico B, Compuesto 31 (239.0 mg).

5 **Cpd 30:** MS: $C_{24}H_{18}F_3N_3O$: m/z 422.17 (M+1);
 $[\alpha]_D = -30.6$ (c=0.007, MeOH).

10 **Cpd 31:** 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 5.98 (s, 1 H) 6.62 (t, J=7.16 Hz, 1 H) 6.85 (d, J=7.91 Hz, 2 H) 7.12 (t, J=7.91 Hz, 2 H) 7.79 (d, J=7.91 Hz, 2 H) 7.92 - 8.07 (m, 3 H) 8.28 (d, J=7.16 Hz, 1 H) 8.36 (d, J= 8.29 Hz, 1 H) 8.54 (d, J=6.78 Hz, 1 H) 8.72 (d, J=6.40 Hz, 1 H) 9.92 (s, 1 H) 11.47 (s, 1 H); MS: $C_{24}H_{18}F_3N_3O$: m/z 422.16 (M+1); $[\alpha]_D = +29.6$ (c=0.007, MeOH).

Ejemplo 3



A. 2-Bromo-2-(4-(trifluorometil)fenil)acetil cloruro.

25 A una suspensión del Compuesto 3a (10.21 g, 50.0 mmol) en CCU (5 ml.) se agregó SOCl₂ (14.6 mL, 200.6 mmol). La reacción se calentó a 65°C por 45 min luego se diluyó con CCU (25 mL). Se agregó *N*-bromo succinimida (10.70 g, 60.1 mmol) seguido por 1 gota de 48% HBr. La temperatura se aumentó luego a 85°C por 2 h más. La mezcla de la reacción se enfrió luego a temperatura ambiente y se diluyó con hexanos (250 mL). Los sólidos se filtraron y el filtrado se evaporó *in vacuo*. El residuo resultante se disolvió en hexanos (25 mL), se filtró de nuevo y se concentró *in vacuo* para dar el Compuesto 3b en producción cuantitativa como un líquido de color durazno (15.29 g). 1H NMR (CDCl₃): δ 7.73-7.58 (m, 4H), 5.69 (s, 1H).

30

B. 2-(2-Fluorofenilamino)-N-(isoquinolin-5-il)-2-(4-(trifluorometil)fenil)acetamida.

35 Una solución del Compuesto 3b (1.90 mL, 10.1 mmol) en DCM (50 mL) se agregó gota a gota por un período de 18 min a una solución de 5-amino isoquinolina (1.372 g, 9.52 mmol) en DCM (50 mL). La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente por 30 min más y luego se refrescó con solución saturada de NaHCO₃ (50 mL). La porción orgánica se aisló, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se diluyó con DCM a un volumen de 100 mL. 1/19vo de esta solución por volumen (0.50 mmol) se puso en un vial. A esto se le añadió DMF (0.5 mL) seguido por 2-F anilina (0.122 mL, 1.26 mmol). Luego de agitar a temperatura ambiente por 2 días la mezcla de la reacción se evaporó *in vacuo* y el residuo se purificó por cromatografía de fase inversa (25-95% acetonitrilo/ agua+ 0.1% TFA) para dar el Compuesto **24** como un polvo amarillo (0.035 g). 1H NMR (DMSO- d_6): δ 10.71 (s, 1H), 9.53 (s, 1H), 8.57 (d, 1H), 8.13 (d, 1H), 8.03 (d, 1H), 7.93 (d, 2H), 7.88 (d, 1H), 7.84- 7.75 (m, 3H), 7.12 (dd, 1H), 6.99 (t, 1H), 6.77 (t, 1H), 6.68 (q, 1H), 5.99 (br s, 1H), 5.73 (s, 1H); MS: m/z 440.1 (MH⁺).

40

45

Seguendo el procedimiento descrito antes para el Ejemplo 3 y sustituyendo los reactivos, materiales de inicio y métodos de purificación apropiados conocidos por los expertos en la materia, se prepararon los siguientes compuestos de la presente invención:

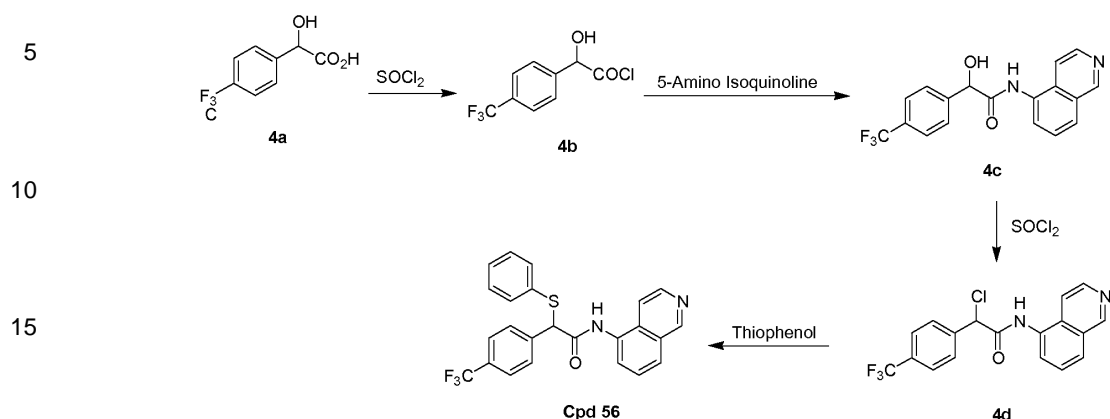
50

Cpd	MS (M+1) ⁺	Cpd	MS (M+1) ⁺
4	422.2	16	414.2
11	456.1	17	428.2
12	456.1	21	452.1
13	456.1	22	436.1
14	470.1	23	464.2
15	470.1	25	450.1

55

60

65

Ejemplo 4**A. 2-Hidroxi-2-(4-(trifluorometil)fenil)acetil cloruro.**

Una suspensión del Compuesto **4a** (2.12 g, 10.0 mmol) en cloruro de tionilo (10 mL, 137 mmol) se calentó a reflujo toda la noche luego se evaporó *in vacuo* para lograr el Compuesto **4b** el cual se usó sin purificación posterior (2.098 g).

B. 2-Hidroxi-N-(isoquinolin-5-il)-2-(4-(trifluorometil)fenil)acetamida.

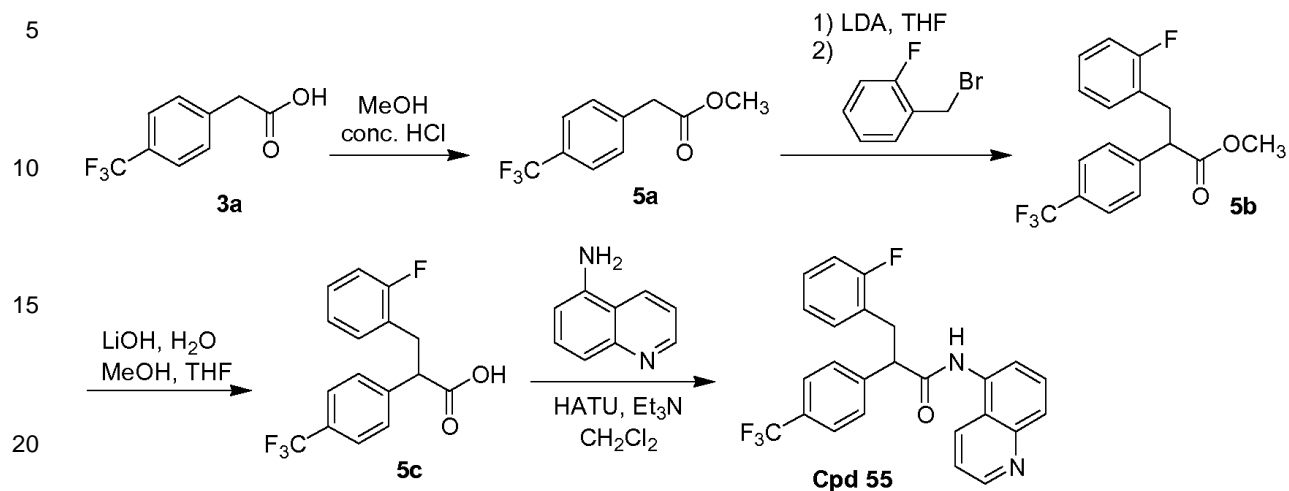
A una solución de 5-aminoisoquinolina (1.153 g, 8.00 mmol) en CH₃CN (80 ml.) se agregó el Compuesto **4b** (2.09 g, 8.76 mmol) gota a gota. Luego de 4 horas se agregó pirrolidina (2.0 mL, 24 mmol). Luego de agitar por 3 días más la mezcla de la reacción se diluyó con 500 mL de agua y se extrajo tres veces con 100 mL EtOAc. Los orgánicos combinados se enjuagaron una vez con 50 mL de salmuera, se secaron con Na₂S₄, se filtraron y evaporaron *in vacuo*. El material fue tratado con 5 mL EtOAc tibio y el sólido resultante se filtró, se enjuagó con 1-2 ml. adicionales de EtOAc y se secó para dar el **4c** semi-puro como un polvo amarillo bronceado (0.827 g). MS: *m/z* 347.1 (MH⁺).

C. 2-Cloro-N-(isoquinolin-5-il)-2-(4-(trifluorometil)fenil)acetamida.

A una suspensión de **4c** (0.347 g, 1.00 mmol) en CHCl₃ (25 ml.) se agregó cloruro de tionilo (1 mL, 14 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente por 5 días, se diluyó con 25 mL adicionales. CHCl₃, se enjuagó dos veces con 25 ml. NaHCO₃ saturado luego una vez con 25 mL de salmuera. Los orgánicos se secaron sobre Na₂S₄ y se filtraron para dar una solución del compuesto **4d** en aproximadamente 50 mL. CHCl₃, casi 0.02 M.

D. N-(Isoquinolin-5-il)-2-(feniltio)-2-(4-(trifluorometil)fenil)acetamida.

A la solución CHCl₃ de **4d** (37-38 mL, 0.02 M, 0.75 mmol) se agregó tiofenol (0.09 mL, 0.88 mmol) y una hora después más tiofenol (0.29 mL, 2.84 mmol), CH₃CN (10 ml.) y K₂CO₃ (0.211, 1.53 mmol). Luego de agitar toda la noche la mezcla de la reacción se diluyó con 60 mL DCM y se enjuagó con 50 mL solución 10% Na₂CO₃ luego con 50 mL salmuera. Los orgánicos se secaron con MgSO₄, se filtraron y evaporaron *in vacuo*. El residuo se purificó por cromatografía en fase reversa (25-95% acetonitrilo/agua+ 0.1 % TFA). Las fracciones apropiadas fueron congeladas y liofilizadas para dar el Compuesto **56** como un polvo blanco (0.114 g). ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ 10.66 (s, 1H), 9.50 (s, 1H), 8.56 (d, 1H), 8.10 (d, 1H), 7.98 (d, 1H), 7.86 (d, 2H), 7.82-7.72 (m, 4H), 7.49 (d, 2H), 7.41-7.29 (m, 3H), 5.76 (s, 1H); MS: *m/z* 439.1 (MH⁺).

Ejemplo 5**A. Metil éster de ácido (4-trifluorometil-fenil)-acético.**

A una mezcla del Compuesto 3a (5.0 g, 24.5 mmol) en MeOH (25 ml.) a temperatura ambiente se agregó HCl conc. (0.25 mL). La reacción se agitó a temperatura ambiente por 16 h. Luego se concentró bajo presión reducida, se diluyó con CH₂Cl₂, se enjuagó secuencialmente con solución aq. 1N NaOH, H₂O y salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró bajo presión reducida para dar el intermediario 5a (5.0 g, 94%).

B. 3-(2-Fluoro-fenil)-2-(4-trifluorometil-fenil)-ácido propiónico metil éster.

A una solución del intermediario 5a (0.5 g, 2.29 mmol) en THF (25 mL ml.) a -78 °C se agregó LDA (2.0 M en heptano/ THF/ etilbenceno, 1.4 mL, 2.8 mmol). La mezcla de la reacción se agitó a -78°C por 30 min antes de agregar 2-fluorobencil bromuro (0.42 ml, 3.48 mmol). La reacción se mantuvo 15 a -78°C por 2 h, se calentó a 0 °C y se agitó por otras 2 h. A la mezcla se agregó solución aq. NH₄Cl, y la mezcla resultante se extrajo con etil éter. La solución orgánica se enjuagó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, y se concentró bajo presión reducida. La purificación por cromatografía en columna flash (SiO₂, 10% EtOAc/ heptano) logró el Compuesto 5b (0.49 g, 66%).

C. 3-(2-Fluoro-fenil)-2-(4-trifluorometil-fenil)-ácido propiónico.

Una mezcla del Compuesto 5b (0.22 g, 0.67 mmol) y LiOH H₂O (113 mg, 2.69 mmol) en una solución mixta de THF (4 mL), MeOH (4 mL) y H₂O (4 mL) se agitó a temperatura ambiente por 3 h. La mezcla de la reacción se acidificó con solución aq. 10% HCl, y se extrajo con EtOAc. La solución orgánica se enjuagó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, y se concentró bajo presión reducida para lograr el Compuesto 5c (0.17 g, 81%).

D. 3-(2-Fluoro-fenil)-N-quinolin-5-il-2-(4-trifluorometil-fenil)-propionamida.

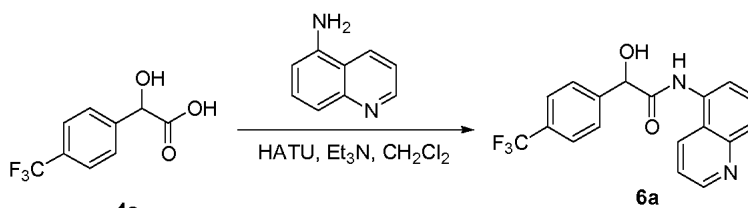
A una solución del Compuesto 5c (51 mg, 0.16 mmol) y 5-aminoisoquinolina (47 mg, 0.33 mmol) en CH₂Cl₂ (3 ml.) a temperatura ambiente se agregó Et₃N (0.14 mL, 1.0 mmol) seguido por HATU (124 mg, 0.33 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente por 16 h. La mezcla de la reacción se diluyó luego con CH₂Cl₂, se enjuagó secuencialmente con solución aq. 10% HCl y solución aq. NaHCO₃, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró bajo presión reducida. La purificación por cromatografía en columna flash (SiO₂, 40% EtOAc/ heptano) logró el Compuesto 55 (30 mg, 42%). MS: 439 (M+1)⁺.

Ejemplo 6

60

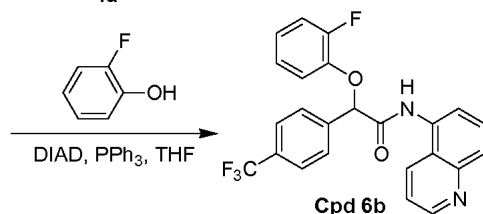
65

5



10

15



20

A. 2-Hidroxi-N-quinolin-5-il-2-(4-trifluorometil-fenil)- acetamida.

25

A una solución del Compuesto **4a** (1 mmol) y 5-aminoisoquinolina (1.5 mmol) en CH_2Cl_2 a temperatura ambiente puede agregarse Et_3N (6 mmol) seguido por HATU (1.5 mmol). La reacción puede agitarse a temperatura ambiente por 16 h. La mezcla de la reacción puede luego diluirse con CH_2Cl_2 , se enjuagó secuencialmente con solución aq. NaHCO_3 y salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 , y se concentró bajo presión reducida. La purificación por cromatografía en columna flash puede rendir el Compuesto **6a**.

30

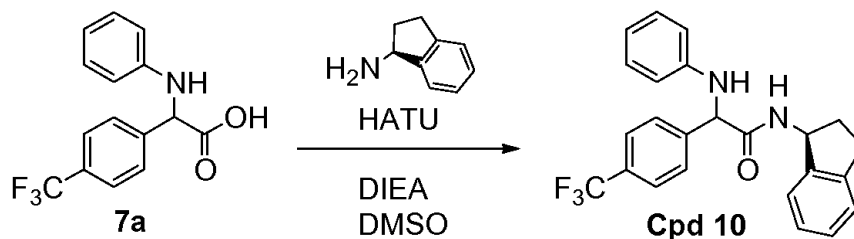
C. 2-(2-Fluoro-fenoxi)-N-quinolin-5-il-2-(4-trifluorometil-fenil)-acetamida.

35

A una solución del Compuesto **6a** (1 mmol), 2-fluorofenol (2 mmol) y PPh_3 (2 mmol) en THF (10 mL) a temperatura ambiente puede agregarse DIAD (1.3 mmol). La reacción puede agitarse a temperatura ambiente. La mezcla puede luego concentrarse bajo presión reducida, diluirse con CH_2Cl_2 , enjuagarse secuencialmente con solución aq. 1N NaOH y salmuera. La solución orgánica puede secarse sobre Na_2SO_4 y concentrarse bajo presión reducida. La purificación por cromatografía en columna flash puede rendir el Compuesto **6b**.

Ejemplo 7

40



45

50

A. N-Indan-1 -il-2-fenilamino-2-(4-trifluorometil-fenil)- acetamida, Cpd 10.

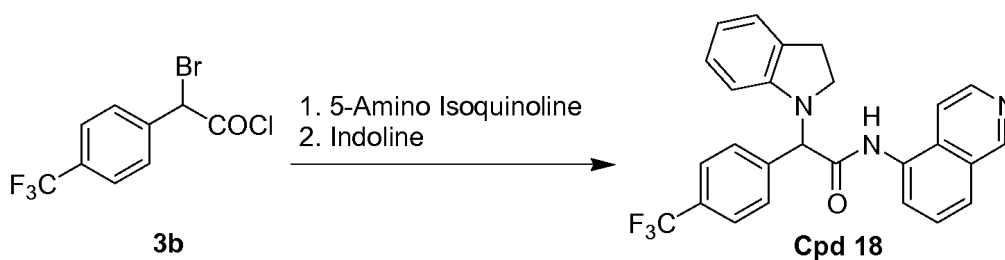
55

Al Compuesto **7a** (0.15 g, 0.452 mmol) bajo argón se añadió (S)-1-aminoindano (0.060 g, 0.452 mmol), DMSO (1.5 mL) y diisopropiletilamina (0.157 mL, 0.904 mmol). A esta solución se agregó HATU (0.21 g, 0.543 mmol) y la mezcla de la reacción se agitó por 16 h a rt. La mezcla de la reacción se diluyó con acetonitrilo a 2 mL, se purificó por HPLC de fase inversa por elución de gradiente (CH_3CN , 0.1% TFA / H_2O , 0.1% TFA), y se liofilizó para lograr el Compuesto **10**. ^1H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1.57 - 1.93 (m, 1 H), 2.24 - 2.48 (m, 1 H), 2.67 - 3.02 (m, 2 H), 5.12 - 5.34 (m, 2 H), 6.50-7.36 (m, 9 H), 7.67-7.85 (m, 4 H), 8.78 (dd, $J = 17.71, 8.29$ Hz, 1 H); MS: $\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}$: m/z 411.1 (M+1).

60

Ejemplo 8

65



15

A. 2-(Indolin-1-il)-N-(isoquinolin-5-il)-2-(4-(trifluorometil)fenil) acetamida.

Una solución del Compuesto **3b** (2.298 g, 7.26 mmol) en DCM (40 mL) se agregó gota a gota sobre un período de 14 min a una solución de 5-amino isoquinolina (1.048 g, 7.27 mmol) en DCM (40 mL). La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente por 30 min más y luego se refrescó con solución saturada de NaHCO₃ (40 mL). La fase orgánica se aisló, se secó sobre Na₂SO₄ y se diluyó con DCM a un volumen de aproximadamente 80 mL. 1/15vo de esta solución por volumen (0.48 mmol) se transfirió a un vial. A ésta se agregó indolina (0.11 mL, 0.98 mmol). Luego de agitar a temperatura ambiente por 10 2 días, la mezcla de la reacción se enjuagó una vez con solución saturada de Na₂CO₃ (5 mL), se secó sobre Na₂SO₄ y se filtró. La fase orgánica se concentró *in vacuo* y el residuo se purificó por cromatografía en fase inversa (10-90% acetonitrilo/ agua + 0.1% TFA) para rendir el Compuesto **18** como un polvo dorado (0.103 g). ¹H-NMR (DMSO-d₆): δ 10.73 (s, 1H), 9.59 (s, 1H), 8.61 (d, 1H), 8.19-8.12 (m, 2H), 8.02 (d, 1H), 7.87-7.76 (m, 5H), 7.11-7.02 (m, 2H), 6.72 (d, 1H), 6.66 (t, 1H), 5.80 (s, 1H), 3.74 (q, 1H), 3.20 (q, 1H), 3.02-2.84 (m, 2H); MS: *m/z* 448.1 (MH⁺).

25 Siguiendo el procedimiento descrito antes para el Ejemplo **8** y sustituyendo los reactivos, materiales de inicio y métodos de purificación apropiados conocidos por los expertos en la materia, se prepararon los siguientes compuestos de la presente invención:

30

Cpd	MS (M+1) ⁺	Cpd	MS (M+1) ⁺
19	462.1	26	462.1

Ejemplo 9

35 Como un contexto específico de una composición oral, 100 mg del Compuesto **1** se formulan con lactosa dividida de forma suficientemente fina para proporcionar una cantidad total de 580 to 590 mg para llenar una cápsula de gel duro tamaño 0.

Ejemplos Biológicos

40 Ejemplo 1

Ensayo funcional de TRPM8 canino in vitro

45 La actividad funcional de los compuestos de la fórmula (I) se determinó midiendo los cambios en la concentración intracelular de calcio usando un tinte fluorescente sensible a Ca²⁺. Los cambios en la señal fluorescente fueron monitorizados por un lector de placa fluorescente, FLIPR™ (Molecular Devices) o FDSS (Hamamatsu).

50 Los aumentos en la concentración intracelular de Ca²⁺ se detectaron fácilmente con la activación con icilina. Se desarrollaron células HEK293 que expresaban TRPM8 canino de forma estable como 10 monocapas en medio esencial mínimo de Dulbecco suplementado con 10% FBS, 2mM L-glutamina, 100 unidades/ ml. penicilina, 100µg/ ml. estreptomycin y 400 µg/mL G418. Las células se mantuvieron en 5% CO₂ a 37 °C. A las 24 h antes del ensayo, las células se sembraron en placas de paredes negras y base clara de 384 platillos cubiertos con poli-D-lisina (BD Biosciences, NJ, USA) a una densidad de 5,000 células por platillo en 15 medio de cultivo y crecieron toda la noche en 5% CO₂ a 37 °C. El día del ensayo se retiró el medio de cultivo y las células fueron cargadas con Calcium 3 Dye (Molecular Devices) por 35 min a 37 °C, bajo 5% CO₂ y luego por 25 min a temperatura y atmósfera ambiente. Posteriormente, en las células se evaluaron los aumentos inducidos por el agonista en los niveles intracelulares de Ca²⁺ usando FLIPR™ o FDSS. Las células fueron expuestas a compuestos de la fórmula (I) (a concentraciones variables) y se midió el Ca²⁺ intracelular por 5 min antes de la adición de icilina a todos los platillos para alcanzar una concentración fina que produce aproximadamente un 80% de la respuesta máxima. Se determinaron los valores de EC₅₀ o IC₅₀ para los compuestos de la presente invención a partir de estudios de dosis-respuesta 25 de ocho puntos y representan la concentración de compuesto requerido para inducir o inhibir 50% de la respuesta máxima, respectivamente.

65 La intensidad de fluorescencia máxima (FI) alcanzada con la adición de icilina se exportó a partir del software FLIPR o FDSS y luego se analizó usando GraphPad Prism 3.02 (Graph Pad Software Inc., CA, U.S.A.). La FI basal se 30 sustrajo antes de normalizar los datos al porcentaje de respuesta máxima. Las curvas se generaron usando

el promedio de los platillos cuadruplicados para cada punto de datos, se analizaron usando regresión no lineal de la respuesta sigmoidea de la dosis o la respuesta sigmoide de la dosis (pendiente de la variable). Finalmente, los valores de EC₅₀ e IC₅₀ se calcularon con la curva de dosis de mejor ajuste determinada por GraphPad Prism. Los datos resultantes se muestran en la Tabla 3.

5

Tabla 3

	Cpd No.	IC50 (µM)	%Inh @ 1 µM	%Inh @ 0.5 µM	%Inh @ 0.2 µM
10	1	0.0358	102.92		
	2		59.612		
	3	0.301	101.11		
	4	0.072, 0.02885	102.46	104.04	
	5	0.1181	100		
15	6		41.973		
	7	0.5287	100		
	8	0.4381	97.472		
	9		37.985		
	10	0.158	100.2		
20	11	0.0891		103.62	
	12	0.2606		101.06	
	13	0.4888		86.882	
	14			30.961	
	15			27.042	
25	16			33.504	
	17			29.558	
	18	0.1031		103.95	
	19	0.5859		79.708	
	20	0.2327		101.12	
30	21	0.2866		95.294	
	22	0.0384		104.28	
	23	0.05485,		41.323	
	24	0.04427		103.77	
	25	0.2734		99.008	
35	26			39.484	
	27	0.0845		100.54	
	28	0.1609		98.259	
	29	0.4415		85.069	
	30	0.2573		96.049	
40	31	0.017		102.16	
	32			37	
	33			38	
	34	0.226		84	
	35	0.073		99	
45	36	0.119		95	
	37	0.217		94	
	38	0.181		84	
	39	0.158		93	
	40			61	
50	41	0.082		98	
	42	0.109		96	
	43			69	
	44	0.0968		98	
	45			52	
55	46			72	
	47			23	
	48	0.094		98	
	49	0.092		83	
	50	0.1151		98.011	
60	51	0.273		87	
	52	0.219		80	
	53	0.0653			90
	54	0.1066			77
	55				18
65	56	0.13			

Modelos in vivo

5

Ejemplo 2Inhibición de conductas inducidas por icilina en roedores

10 Icilina se desarrolló inicialmente como un compuesto "super-enfriante" por Delmar Chemicals Ltd. Posteriormente demostró ser uno de los agonistas más potentes de TRPM8 (McKemy DD, et al., Nature 2002, 416(6876): 52-8), teniendo 10 un $EC_{50} = 0.2 \mu M$ estimulando la entrada de ion calcio en células trasfectadas con TRPM8 (Behrendt HJ, et al., Brit J Pharmacol 2004, 141(4): 737-45).

15 Las pruebas iniciales in vivo de icilina demostraron que causa sacudidas de "perro mojado" en las ratas. Una conducta similar de escalofríos o saltos también se evidenció en ratones, conejos, gatos, perros y monos. En los humanos, icilina produjo una sensación de frialdad al contacto con las membranas mucosas, piel de gallina al frío cuando se gotearon 0.1 mg sobre la lengua y frialdad en la boca, faringe y pecho que duraba 30-60 minutos cuando se ingerían 5-10 mg por vía oral (Wei ET, Seid DA, J Pharm Pharmacol. 1983, 35, 110). La inhibición o inversión de conductas de escalofríos inducidas por icilina en roedores proporciona evidencia para la utilidad de los antagonistas del TRPM8 de la fórmula (I) modulando una enfermedad o condición en un mamífero en el cual la enfermedad o condición es afectada por la modulación de los receptores TRPM8.

Ejemplo 2a

25

Inhibición de las sacudidas de "perro mojado" inducidas por icilina en ratas

30 Se usaron ratas Sprague Dawley machos (2200-450 g, Charles River Labs, n= 6-9/ tratamiento) para evaluar la capacidad de compuestos seleccionados de la fórmula (I) para bloquear las sacudidas de "perro mojado" (WDS) inducidas por icilina. Los compuestos de la fórmula (I) se administraron en un vehículo apropiado, tal como, hidroxipropil-3-ciclodextrina (HP β CD), metocelulosa, 10% Solutol o H₂O, o semejantes, por la ruta apropiada, i.p. o p.o., 30 - 60 minutos antes de icilina. Icilina se administró en PEG-400 o 10% solutol/H₂O, a 1.0 o 3.0 mg/kg, i.p. y se contaron las sacudidas espontáneas de "perro mojado" 10-20 minutos post-icilina. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de las sacudidas, el cual se calculó como $[1 - (\text{cuenta de WDS con el compuesto en estudio} / \text{cuenta de WDS con el vehículo})] \times 100$.

Ejemplo 2b

40

Inhibición de conductas inducidas por icilina en ratas

45 Se usaron ratas Sprague Dawley machos (225-450 g, Charles River Labs, n= 4-6/ tratamiento) para evaluar la capacidad de compuestos seleccionados de la fórmula (I) para inhibir las sacudidas de "perro mojado" inducidas por icilina. Icilina se administró en PEG-400 o 10% solutol/H₂O, a 1.0 o 3.0 mg/kg, i.p. y se contaron las sacudidas de "perro mojado" (WDS) espontáneas 10-20 minutos post-icilina. Los animales que exhibieron 10 o más sacudidas fueron asignados al azar a grupos de tratamiento e inmediatamente se les administró compuestos de la fórmula (I) en un vehículo apropiado, tal como hidroxipropil-3- ciclodextrina (HP β CD), metocelulosa, 10% Solutol o H₂O, o semejantes, y por la ruta apropiada, tal como i.p. o p.o. Se contaron las sacudidas espontáneas de "perro mojado" 60-70 minutos luego de la administración del compuesto. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de las sacudidas, el cual se calculó como $[1 - (\text{cuenta de WDS con el compuesto en estudio} / \text{cuenta de WDS con el vehículo})] \times 100$.

Ejemplo 3

55

Modelo in vivo modelo de dolor inflamatorio crónico: hiperalgesia inducida por el coadyuvante completo de Freund (CFA)

60 La inyección intraplantar de coadyuvante completo de Freund (CFA) en roedores resulta en una reacción inflamatoria prolongada, caracterizada por una hipersensibilidad pronunciada a los estímulos térmicos y mecánicos. Esta hipersensibilidad alcanza un máximo entre 24-72 horas después de la inyección y puede durar varias semanas. Para evaluar si los compuestos en estudio de la fórmula (I) inhiben la hipersensibilidad establecida, puede aplicarse una inyección intraplantar de 100 μL de CFA (suspendido en una emulsión 1:1 de solución fisiológica y Mycobacterium tuberculosis inactivado por calor en aceite mineral) en una pata trasera de ratas Sprague-Dawley (machos entre 150-350 g). Este paradigma también puede conducirse con un régimen de múltiple dosificación o dosificación profiláctica designado

65

para alterar el curso del desarrollo de hiperalgesia. Esta prueba predice el efecto analgésico, antialodínico y antihiperalgésico de numerosos agentes clínicos efectivos, incluyendo acetaminofén, AINES tales como aspirina e ibuprofeno, y opiáceos tales como morfina.

5 **Ejemplo 3^a**

Hipersensibilidad al calor radiante en la pata inducida por CFA

10 Cada rata es colocada en una cámara de prueba sobre una superficie tibia de vidrio y se le permite aclimatarse por aproximadamente 10 minutos. Luego se enfoca un estímulo térmico radiante (rayo de luz) a través del vidrio sobre la superficie plantar de cada pata trasera a la vez. El estímulo térmico se desconecta automáticamente por un interruptor fotoeléctrico cuando se mueve la pata o cuando se alcanza el tiempo del punto de corte (20 segundos para calor radiante a ~5 Amps). Se registra una latencia a la respuesta inicial (basal) al estímulo térmico para cada animal antes de la inyección de CFA.

15 Veinticuatro horas después de la inyección intraplantar de CFA, se reevaluó la latencia de la respuesta del animal al estímulo térmico y se comparó con el tiempo de respuesta basal del animal. Solo las ratas que exhiben al menos un 25% de reducción en la latencia de respuesta (es decir, hiperalgesia) son incluidas en el análisis posterior. Inmediatamente después de la evaluación de la latencia post-CFA, se administra el compuesto en estudio o vehículo (usualmente Solutol, hidroxipropil metilcelulosa, hidroxipropil beta-ciclodextrina o PEG-400) i.p. o p.o. a las ratas. Las latencias de retiro post-tratamiento con el compuesto se evalúan a intervalos fijos de tiempo, 30, 60 y 120 minutos. El porcentaje de inhibición (%R) de hipersensibilidad se calcula de acuerdo con la siguiente fórmula:

25 % Inhibición =
$$\frac{(\text{Respuesta al tratamiento} - \text{Respuesta al CFA})}{(\text{Respuesta basal} - \text{Respuesta al CFA})} \times 100.$$

30

Cpd No.	Dosis (mg/kg)	Ruta	% Inhibición @2h
24	30	PO	28

35

Ejemplo 3b

40 **Hipersensibilidad al frío en la pata inducida por CFA**

Antes de la inyección intraplantar de CFA, los ratones o ratas son colocados individualmente en cámaras elevadas de observación que tienen suelo de red de alambre. A través de la red del suelo se aspersa una serie de tres aplicaciones de acetona (0.04-0.10 mL/aplicación) sobre la parte inferior de la pata usando un equipo de jeringa multidosis. Una respuesta positiva toma la forma de un retiro abrupto y lamido de la pata. Se registra la duración acumulativa del lamido para cada uno de los tres ensayos la cual es promediada para dar la respuesta individual. Veinticuatro horas después de la inyección de CFA las duraciones del lamido con acetona se elevan notablemente implicando una hipersensibilidad al frío. En los compuestos de prueba de la fórmula (I) puede evaluarse su capacidad de devolver las duraciones del lamido de la pata evocado por acetona a los niveles antes del CFA (casi cero) luego de su administración sistémica. El porcentaje de inhibición se calcula como sigue

50 %Inhibición = $[1 - (\text{duración del lamido con tratamiento} / \text{duración del lamido con vehículo})] \times 100.$

Ejemplo 4

55 **Modelos de dolor visceral con irritante abdominal inducido químicamente**

Se inyecta un irritante químico (tal como ácido acético, caolín, bradiquinina, fenil-p-(benzo) quinina, bromo-acetilcolina o zimosán) en ratones por vía intraperitoneal, causando una contracción de la musculatura abdominal, la cual se caracteriza por una elongación del cuerpo que se extiende a través de las patas traseras. Se cuantifica el número de tales respuestas y se reduce con el pretratamiento de analgésicos, formando así la base para una prueba de pesquisa (Collier HO, et al, Br J Pharmacol Chemother 1968, 32(2): 295-310). Este tipo de prueba de irritante abdominal se ha usado para predecir el efecto analgésico de numerosos agentes clínicamente efectivos, cuya potencia en la prueba del irritante abdominal se asemeja a la magnitud de la dosis necesaria en el alivio del dolor clínico. Tales agentes incluyen acetaminofén, AINES tales como aspirina e ibuprofeno, opiáceos tales como morfina y codeína, y otros analgésicos de acción central, tal como, tramadol.

65

Una modificación del modelo con irritante abdominal de dolor visceral inducido químicamente es pretratar a los animales con agentes que inducen respuestas inflamatorias luego de su inyección intraperitoneal (tales como LPS, zimosán o tioglicolato). Se ha demostrado que una pequeña dosis intraperitoneal de tal inflamógeno, administrada horas o días antes del reto agudo con el irritante químico, aumenta el número de contracciones abdominales observadas (Ribeiro RA, et al., Eur J Pharmacol 2000, 387(1): 111-8). Aunque algunos analgésicos son efectivos mitigando la nocicepción visceroquímica aguda, otros, particularmente los que dependen de la inducción del receptor son más efectivos previniendo o revirtiendo el aumento de las respuestas conductuales causadas por un estímulo inflamatorio preconditionante. Debido a la regulación en más del receptor TRPM8 en la inflamación, se predice que los antagonistas del TRPM8 que son efectivos reduciendo el número medio de contracciones proporcionen acción analgésica en el uso clínico humano. La capacidad de los compuestos de la fórmula (I) para mitigar las contracciones abdominales inducidas por el irritante químico luego de un estímulo inflamatorio preconditionante puede estudiarse como sigue.

Se inyecta tioglicolato (3 %, p/v, 2-3mL i.p.) en ratones CD1 machos (20-40 g, Charles River Labs), a un volumen de dosis máxima de 80 mL/kg, para inducir la inflamación peritoneal. Luego de un período de preinflamación de veinticuatro horas a estos ratones se les administran por vía oral compuestos de la fórmula (I) (30 mg/kg; n=10) o vehículo (HPMC con 2% Tween80; n=9) y luego una hora después son sometidos a un reto con irritante abdominal de ácido acético (1%, 10 mL/ kg, i.p.). Inmediatamente después de la inyección de ácido acético, los ratones son colocados individualmente en jarras de campana de vidrio (aproximadamente 15 cm de diámetro) para contar las contracciones abdominales en los siguientes 15 minutos. Se suma el número total de contracciones abdominales para cada grupo de tratamiento 25 y se emplea en la siguiente fórmula para calcular el Porcentaje de Inhibición (%):

$$\%I = [1 - (\text{contracciones con el compuesto en estudio} / \text{contracciones con el vehículo})] \times 100.$$

Ejemplo 5

Modelos in vivo de dolor neuropático

El nervio ciático es la mayor inervación sensorimotora de la pata (miembro). La lesión al nervio ciático o sus nervios espinales constituyentes a menudo resulta en conductas relacionadas con el dolor. En ratas y ratones, la ligadura ajustada del nervio espinal L5 con sutura de seda, la ligadura ajustada parcial del nervio ciático con sutura de seda o la ligadura holgada del nervio ciático con sutura de gut crómico resultaron cada una en conductas reminiscentes de dolor neuropático en los humanos. Estas lesiones (una por animal) se realizan quirúrgicamente en roedores anestesiados. Las lesiones del nervio espinal y del nervio ciático resultan en alodinia, una respuesta dolorosa a estímulos normalmente ino cuos, e hiperalgesia, una respuesta exagerada a estímulos normalmente nocivos. Es importante notar que estas conductas relacionadas con dolor son evocadas por los procedimientos de prueba y que el uso normal de la pata (p.ej., caminar) relativamente no se compromete, aparte de la "protección" ocasional de la pata. Posterior a la cirugía, las conductas de los sujetos, tales como acicalarse, alimentarse y ganar peso, son normales, excepto por la hipersensibilidad (como se define antes) de la pata afectada.

Además de la inducción por el daño nervioso resultante de traumatismo accidental o procedimientos quirúrgicos, el dolor neuropático también puede ser inducido por la diabetes (Fox, A, et al, Pain 1999, 81:307-316) o por el tratamiento con quimioterápicos, tales como paclitaxel o vincristina (Yaksh, TL, et al, Pain 2001,93:69-76).

Los agentes que atenúan el dolor neuropático en la clínica también son efectivos en modelos de dolor neuropático en roedores. Estos agentes incluyen el recientemente aprobado Cymbalta (Duloxetine, Iyengar, S., et al., JPET 2004 311:576-584), morfina (Suzuki, R, et al., Pain 1999, 80:215-228) y gabapentina (Hunter, JC, et al., Eur J Pharmacol. 1997, 324:153-160). El antagonista dual del receptor TRPV1/TRPM8 BCTC redujo la hiperalgesia mecánica y alodinia táctil en el modelo de dolor neuropático en roedores de lesión por constricción crónica (Pomonis, JD, et al, JPET. 2003, 306:387-393; Behrendt, H, et al., BritJPharm. 2004, 141, 737). La alodinia al frío es un síntoma particularmente debilitante de las condiciones de dolor neuropático (Jorum E, et al Pain 2003, 101:229-235). El efecto antialodínico de los compuestos de la fórmula (I) en este modelo en roedores es predictivo del efecto clínico para estos nuevos agentes.

Ejemplo 5^a

Modelo de dolor neuropático inducido por lesión por constricción crónica (CCI) - hipersensibilidad inducida por acetona

Se usaron ratas Sprague Dawley machos (225-450 g, n= 5-8/ tratamiento) para evaluar la capacidad de compuestos seleccionados de la fórmula (I) para inhibir la hipersensibilidad al frío inducida por la CCI. Se hicieron quirúrgicamente cuatro ligaduras holgadas con gut crómico 4-0 alrededor del nervio ciático izquierdo bajo anestesia inhalatoria como describen Bennett et al (Bennett GJ, Xie YK, Pain 1988, 33(1): 87-107). Catorce a 35 días después de la cirugía para la CCI, los sujetos fueron colocados en cámaras elevadas de observación que contenían suelos de red de alambre y se aspersaron cinco aplicaciones de acetona (0.05 mL/aplicación separadas

por aproximadamente 5 minutos) sobre la superficie plantar de la pata usando una jeringa multidosis. Un retiro abrupto o lamido de la pata se consideró una respuesta positiva. El número de respuestas positivas se registró para cada rata en los cinco ensayos. Luego de las determinaciones basales de retiro, se administran compuestos de fórmula (I) en un vehículo apropiado, tal como hidroxipropil-3-ciclodextrina (HP β CD), metilcelulosa, Methocel, 10% Solutol o H₂O, o semejantes, por la ruta apropiada, i.p. o p.o. Se redeterminó el número de retiros 1 a 3 h después de la administración de cada compuesto. Los resultados se presentan como porcentaje 20 de inhibición de sacudidas, el cual se calculó para cada sujeto como [1-(retiros con el compuesto en estudio / retiros pre-evaluación)] x 100 y luego se promediaron por tratamiento.

10 Ejemplo 5b

Modelo de dolor neuropático inducido por lesión por constricción crónica (CCI)-hipersensibilidad inducida por placa fría

15 En ratas SD machos (175- 325g), se hacen quirúrgicamente cuatro ligaduras holgadas con gut crómico 4-0 alrededor del nervio ciático izquierdo bajo anestesia inhalatoria como describen Bennet et al. (Bennett GJ, Xie YK. Pain 1988, 33(1):87-107). Siete a 21 días después de la cirugía para la lesión por constricción crónica (CCI), los sujetos pueden ser colocados sobre una placa fría comercial enfriada por elementos peltier de forma que la temperatura de la superficie se mantiene a 1 °C. cada sujeto puede ser sometido a un período de acondicionamiento de 6 minutos seguido por un período de evaluación de 3 minutos durante el cual se registra la duración total de la elevación de la pata trasera. Este procedimiento se repite a varios intervalos antes y después de la administración sistémica del medicamento. En los compuestos de la fórmula (I) puede evaluarse su capacidad de devolver la duración de la elevación de pata a los niveles prelesión. La duración de la elevación de la pata durante el período de evaluación de 3 minutos luego de la administración del compuesto en estudio se toma como un porcentaje de la duración de la elevación de la pata durante el período de evaluación de 3 minutos antes del tratamiento con el compuesto en estudio.

30 Ejemplo 6

Modelos de piresis/antipiresis inducidos por agente inflamatorio

Los compuestos de la fórmula (I) pueden ser evaluados en modelos en animales de piresis, de acuerdo con métodos previamente documentados y validados, tales como los descritos por Kozak et al (Kozak W, Fraifeld V. Front 15 Biosci 2004, 9:3339-55). La fiebre es un acompañante frecuente de la enfermedad inflamatoria. Los modelos en animales hacen uso de las propiedades piréticas de la levadura y otros agentes inflamatorios, inyectando una suspensión de levadura u otro agente por vía subcutánea (Tomazetti J et al., J Neurosci Methods 2005, 147(1):29-35); Van Miert AS, Van Duin CT., Eur J Pharmacol 1977,44(3) 197-204). Por ejemplo, pueden alojarse ratas Wistar machos (75-100 g) en grupos de cuatro en una jaula a temperatura controlada (23 \pm 1 °C) con un ciclo de 12 h de luz: 12 h de oscuridad (luces encendidas a las 07:00 h) y con alimento estándar de laboratorio y agua corriente ad libitum. Todas las temperaturas medidas pueden tomarse entre las 08:00 y 19:00 h. Cada animal puede usarse solo en un estudio. Puede medirse la temperatura rectal (TR) insertando una sonda termistora lubricada (diámetro externo: 3 mm) 2.8 cm dentro del recto del animal. La sonda puede estar conectada a un equipo digital, el cual mostraba la temperatura en la punta de la sonda con una precisión de 0.1 °C y registra los valores en el tiempo. Inmediatamente después de medir la temperatura rectal basal inicial, a los animales puede inyectárseles levadura de cerveza seca comercial (*Saccharomyces cerevisiae*) suspendida en 0.9% NaCl libre de pirógeno (0.05-0.25 g/kg i.p.) o 0.9% NaCl (10 ml/kg). Los cambios de TR pueden registrarse cada hora hasta 12 h, y expresarse como la diferencia a partir del valor basal. Debido a que previamente se ha reportado que la manipulación y el estrés relacionado con la medición de la temperatura alteran la temperatura rectal, estos animales pueden ser habituados al procedimiento de inyección y medición por 2 días antes de llevar a cabo los experimentos. En estas sesiones, los animales pueden ser sometidos al mismo procedimiento de medición de temperatura descrito antes, y puede inyectárseles por vía intraperitoneal (i.p.) 0.9% NaCl (10 ml/kg).

Para evaluar el efecto de antipiréticos potenciales sobre la temperatura rectal basal a los animales del estudio puede medírseles su TR por 4 h, y luego de la cuarta medición de TR se les puede inyectar por vía subcutánea (s.c.) el vehículo (tal como 10% Solutol en agua estéril 5 ml/kg) o compuestos de la fórmula (I) preparados en el vehículo. La TR puede registrarse cada hora hasta 8 h después de las inyecciones del compuesto. Para evaluar el efecto de los compuestos de la fórmula (I) sobre la hipertermia inducida por la levadura de cerveza, a los animales del estudio se les puede medir su TR basal y luego se les puede inyectar una dosis pirógena de levadura de cerveza (por ejemplo, 0.135 g/kg). Los cambios en la TR pueden registrarse cada hora hasta 4 h, cuando se administran los antipiréticos potenciales, tales como esos compuestos de la fórmula (I). Luego puede monitorizarse la temperatura rectal en las siguientes 8 h. La temperatura rectal basal y los cambios en la temperatura rectal pueden expresarse como media \pm S.E.M. de las diferencias a partir de la TR a las 07:00 h. Los datos pueden ser analizados por análisis de varianza de dos vías (ANOVA) con el tiempo de las medidas tratado como intrasujeto, dependiendo del diseño experimental. El análisis post hoc puede realizarse por la prueba

F para efecto simple y la prueba de Student-Newman-Keuls, cuando sea apropiado. Un valor de $p < 0.05$ se consideraría estadísticamente significativo.

La modificación de la respuesta pirética posterior por los agentes terapéuticos también puede ser monitorizada por telemetría rectal u otras mediciones de la temperatura corporal. Varios agentes clínicamente relevantes, como acetaminofén, aspirina e ibuprofeno, reducen la fiebre en estos modelos. El efecto antipirético de los antagonistas TRPM8, tales como los compuestos de la fórmula (I), en estas pruebas también serían predictivos de su efecto clínico.

Ejemplo 7

Modelo de artritis reumatoidea inducido por CFA

Los compuestos de la fórmula (I) pueden ser evaluados en modelos en animales de artritis reumatoidea, de acuerdo con métodos previamente documentados y validados, tales como los descritos por Nagakura et al (Nagakura Y, et al., J Pharmacol Exp Ther 2003, 306(2): 490-7). Por ejemplo, la artritis puede ser inducida por la inoculación de CFA en las ratas (ratas Lewis machos 50-225 g; Charles River). En resumen, pueden mezclarse 100 mg de *Mycobacterium butyricum* (Difco, Detroit, MI) con 20 mL de aceite de parafina. Luego la mezcla puede ser sometida a autoclave por 20 min a 120°C. Cada rata puede ser inyectada en la región plantar derecha (pata trasera) con la mezcla en un volumen de 0.1-mL bajo anestesia inhalatoria. A las ratas que sirven como controles se les puede inyectar 15 0.1 mL de solución fisiológica. El dolor y otros parámetros de desarrollo de enfermedad pueden medirse en las ratas tratadas con CFA o solución fisiológica justo antes de la inoculación y hasta 28 días posteriores a la inoculación. La medición para los parámetros de dolor puede conducirse para los puntos finales mecánicos y térmicos (calientes o fríos). La medición de la alodinia mecánica puede realizarse usando los filamentos von Frey (Semmes-Weinstein Monofilaments, Stoelting Co., IL) donde las ratas pueden ser habituadas a jaulas con fondo de red de alambre antes de iniciar el experimento. La alodinia estática puede evaluarse en las ratas no limitadas tocando la superficie plantar de la pata trasera con los filamentos von Frey en orden ascendente de fuerza (1.2, 1.5, 2.0, 3.6, 5.5, 8.5, 12, 15, 29, y 76 g) hasta por 6s o hasta que pueda inducirse una respuesta de retirada de la pata. La menor cantidad requerida para inducir una respuesta puede registrarse como el umbral de retirada en log g. La hiperalgesia térmica puede evaluarse usando la prueba de calor radiante donde puede localizarse una fuente móvil de calor radiante debajo de una superficie de vidrio sobre la cual la rata está colocada. El rayo de luz puede enfocarse sobre la pata trasera, y las latencias de retirada de la pata se definen como el tiempo tomado por la rata para retirar su pata trasera de la fuente de calor. La medición de la hiperalgesia articular puede realizarse por una modificación del método previamente reportado (Rupniak NMJ, et al, Pain. 1997, 71:89-97). El torso de cada rata puede sostenerse por el lomo con la palma izquierda, y la flexión y extensión (una luego de la otra y cinco veces en cada dirección) del tobillo dentro de sus límites de rango de movimiento puede realizarse con los dedos derechos. El número total de vocalizaciones emitidas después de la manipulación (la flexión y extensión, cinco veces en cada dirección) puede registrarse para cada pata (la puntuación máxima es 10 para cada pata).

La puntuación de movilidad puede realizarse modificando la escala de evaluación reportada por Butler et al. (Butler SH, et al., Pain 1992, 48:73-81): puntuación 6, camina normalmente; puntuación 5, camina protegiendo la pata trasera ipsilateral (la pata trasera ipsilateral toca completamente el suelo); puntuación 4, camina protegiendo la pata trasera ipsilateral (solo el dedo gordo de la pata trasera ipsilateral toca el suelo); puntuación 3, camina protegiendo ambas patas traseras (la pata contralateral toca completamente el suelo); puntuación 2, camina protegiendo ambas patas traseras (solo el dedo gordo de la pata trasera contralateral toca el suelo); puntuación 1, gatea usando solo las patas delanteras; y puntuación 0, no se mueve. Los volúmenes de la pata pueden medirse por desplazamiento de volumen de solución electrolítica en un equipo pletismómetro comercial. La pata trasera puede sumergirse hasta la unión de la piel velluda, y los volúmenes pueden leerse en una pantalla digital. La puntuación de la rigidez articular puede realizarse como sigue: el cuerpo de las ratas puede sostenerse desde el lomo con la palma izquierda, y puede realizarse la flexión y extensión (una vez en cada dirección) del tobillo dentro de sus límites de rango de movimiento con los dedos derechos. Puede confirmarse de antemano que no hay restricción del movimiento del tobillo en las manipulaciones de flexión y extensión en las ratas naïve, y la calificación puede realizarse de acuerdo con la escala de evaluación reportada por Butler et al. (1992): puntuación 2, hay restricciones de todo el rango de movimiento del tobillo en flexión y extensión; puntuación 1, hay una restricción de todo el rango de movimiento del tobillo en flexión o extensión; y puntuación 0, sin restricción. Las mediciones para el volumen de la pata y rigidez articular pueden conducirse para ambas patas traseras.

Puede evaluarse la eficacia antihiperalgésica de los compuestos de la fórmula (I) como sigue: treinta y dos ratas (ocho ratas por dosis y cuatro dosis por compuesto) que van a ser tratadas con el CFA y otras ocho ratas como controles naïve pueden usarse para la evaluación de cada medicamento. Los efectos analgésicos pueden evaluarse el día 9 posterior a la inoculación, cuando la alodinia mecánica, hiperalgesia térmica, hiperalgesia articular y rigidez articular en la pata ipsilateral alcancen casi el máximo, aunque esos parámetros en la pata contralateral cambiarán solo ligeramente y la alteración sistémica mostrada por el cambio de puntuación de movilidad es pequeña. El día antes de la evaluación, puede medirse el peso corporal, la alodinia mecánica, la hiperalgesia térmica y la hiperalgesia articular para las 32 ratas que van a ser usadas para la evaluación del

compuesto. Las ratas son asignadas al azar a cuatro grupos (ocho ratas por grupo) de forma que las diferencias en los promedios de esos parámetros entre los grupos se hagan pequeñas. Todas las evaluaciones del efecto analgésico y observaciones conductuales pueden ser llevadas a cabo por el observador que desconoce el tratamiento.

5 Los datos pueden expresarse como media+/-S.E.M. Las curvas de curso en el tiempo para alodinia mecánica, hiperalgesia térmica, hiperalgesia articular, peso corporal y volumen de la pata pueden ser sometidas a análisis de medidas repetidas de dos vías de varianzas con prueba t post hoc. En los experimentos para la evaluación de los compuestos de fórmula (I), la diferencia en las puntuaciones entre los grupos tratados con vehículo y naïve control puede analizarse por prueba t de Student para confirmar los cambios significativos en los parámetros de dolor en la pata ipsilateral. Los efectos analgésicos pueden analizarse por la prueba t de Dunnett, y en cada caso los grupos tratados con medicamento pueden compararse con el grupo tratado con el vehículo. En cada análisis estadístico, la comparación puede conducirse para las patas del lado correspondiente. Una $p < 0.05$ se considera estadísticamente significativa. En este modelo, los analgésicos de acción central morfina y tramadol aliviaron completamente el dolor, mientras que los AINES indometacina y diclofenac son parcialmente efectivos, evidenciando la predecibilidad clínica del modelo. El efecto analgésico de los compuestos de la fórmula (I) en esta prueba predeciría su utilidad clínica tratando la artritis.

Ejemplo 8

Modelo in vivo para artritis: hiperalgesia de la articulación de la rodilla inducida por inflamógeno

Los compuestos de la fórmula (I) pueden evaluarse en modelos en animales de osteoartritis, de acuerdo con métodos previamente documentados y validados, tales como los descritos por Sluka et al (Sluka KA, Westlund KN., Pain 1993, 55(3):367-77). Por ejemplo, ratas Sprague-Dawley machos (Harlan, Indianapolis, IN) pesando 225 a 350 g pueden ser anestesiadas brevemente con halotano vaporizado y luego inyectadas con una mezcla de 3% carragenina y 3% caolín (100 μ L en 0.9% solución fisiológica estéril) en la cavidad articular de una rodilla. Luego de la inyección, los animales pueden ser retornados a sus jaulas hasta el momento de la evaluación. Para la evaluación conductual os animales pueden ser colocados en jaulas plásticas claras individuales en la parte superior de una superficie elevada con red de alambre que limite el movimiento. A los animales se les debe permitir aclimatarse por aproximadamente 1 hora antes de la evaluación. Pueden usarse filamentos von Frey, como se describe antes, para evaluar el aumento de las respuestas a los estímulos mecánicos. Los filamentos pueden aplicarse sucesivamente a través de la red de alambre perpendicularmente a la superficie plantar entre las tercera y cuarta falanges de las patas. El umbral de respuesta a los estímulos mecánicos puede determinarse antes de la inflamación de la articulación de la rodilla; 4 horas después de la inflamación para confirmar el desarrollo de hiperalgesia; inmediatamente después de la administración del compuesto en estudio, tales como los de Fórmula (I) es decir, 5 horas después de la inflamación; y a 8, 12 y 24 horas después de la inflamación. La prueba de Kruskal-Wallis, una prueba no paramétrica, puede usarse para analizar 15 los efectos para la frecuencia, intensidad y grupo para la respuesta a los estímulos mecánicos al inicio, 4 horas después de la inflamación, y luego del tratamiento con el compuesto (5 horas, 8 horas, 12 horas y 24 horas después de la inflamación). Puede ejecutarse una prueba post hoc posterior entre grupos usando la prueba de rangos de signos de Mann-Whitnet. Los datos pueden presentarse como la mediana con los percentiles 25to y 75to. La significancia es $p \leq .05$.

Adicionalmente, la marcha del animal u otra conducta relacionada con el dolor puede calificarse como la medida dependiente del efecto doloroso de la artritis sobre la actividad del animal (Hallas B, Lehman S, Bosak A, et al. J Am Osteopath Assoc 1997, 97(4): 207-14). El efecto del medicamento en estudio sobre la conducta normal del animal 25 puede cuantificarse desde cero, significando no respuesta, a tres para alteración incapacitante. El tratamiento analgésico efectivo incluye la clínicamente usada indometacina (Motta AF, et al., Life Sci 2003, 73(15): 1995-2004). Así, el beneficio de los compuestos de la fórmula (I) en este modelo predeciría su relevancia clínica.

Ejemplo 9

Modelos de dolor de cáncer óseo inducido por células de sarcoma

Los compuestos de la fórmula (I) pueden evaluarse en modelos en animales de dolor de cáncer óseo, de acuerdo con métodos previamente documentados y validados, tales como los descritos en la literatura científica (El Mouedden M, Meert TF, Pharmacol Biochem Behav 2005, 82(1): 109-19; Ghilardi JR, et al., J Neurosci 2005, 25(12):3126-31). En la preparación para la inoculación de células e inducción de tumor, pueden cultivarse células murinas de sarcoma osteolítico (NCTC 2472, American Type Culture Collection (ATCC), Rockville, MD, USA) en medio NCTC 135 (Invitrogen) conteniendo 10% suero de caballo (Gibco) y pasado 2 veces semanalmente de acuerdo con las guías ATCC. Para su administración, las células pueden separarse por raspado y luego centrifugarse a 1000x g. El pellet puede suspenderse en medio NCTC 135 fresco (2.5x10⁶ células/20 μ L) y luego usarse para la inoculación intramedular en el fémur. Pueden usarse ratones C3H/HeNcrl machos (25-30 g, Charles River Labs) en tales experimentos. Luego de la inducción de anestesia general con xilacina (10 mg/kg i-p) y ketamina (100 mg/kg i.p.) la pata trasera izquierda puede afeitarse y desinfectarse con yoduro de povidona

seguido por 70% etanol. Luego puede hacerse una incisión superficial de 1 cm sobre la rodilla superpuesta a la 15 patela. Luego puede cortarse el ligamento patelar, exponiendo los cóndilos del fémur distal. Puede insertarse una aguja calibre 23 al nivel de la muesca intercondilar y el canal intramedular del fémur para crear una cavidad para la inyección de las células. Pueden inyectarse veinte microlitros de medio (animales simulados) o medio que contiene
 5 células tumorales (aproximadamente 2.5×10^6 células) en la cavidad ósea usando una jeringa. Para prevenir la fuga de células fuera del hueso, el sitio de la inyección puede sellarse con acrílico dental y la herida cerrarse con puntadas de piel.

Las conductas al dolor pueden ser evaluadas en grupos separados (n=6) de ratones simulados y con
 10 tumor óseo con hiperalgesia confirmada evaluada por conducta de elevación espontánea. Los animales pueden ser evaluados conductualmente durante un período de 3 semanas antes y después de la inoculación del tumor. Puede registrarse el peso corporal de los ratones a lo largo del período experimental para ayudar a monitorizar el estado general de salud. Para medir la elevación espontánea, los animales pueden ser habituados en un cilindro acrílico transparente de 20 cm de diámetro colocado sobre una superficie horizontal y luego de eso ser observados
 15 durante 4 min para evaluar la conducta de elevación espontánea de la pata trasera izquierda. Luego de la evaluación de la conducta de elevación espontánea, los animales pueden ser colocados inmediatamente en un rotarod de ratón (p.ej., ENV-575M, Med Associates Inc., GA, USA) a una velocidad de 16 rpm por 2 min donde se califica el uso del miembro durante la deambulación forzada: 4=normal; 3=cojera; 2=no uso parcial de la pata trasera izquierda; 1=no uso sustancial de la pata trasera izquierda; 0=no uso de la pata trasera izquierda. La
 20 evaluación de la alodinia al frío puede hacerse exponiendo la pata trasera ipsilateral del ratón a aplicaciones repetidas de acetona (20 μ L) y cuantificando la frecuencia y/o duración de elevación/lamido. La evaluación post-mórtem de la destrucción ósea puede evaluarse por procesamiento ACT seguido por escaneo usando un sistema como el sistema microtomógrafo Skyscan 1076 para imágenes en animales pequeños (Skyscan 1076\, Skyscan, Aartselaar, Belgium). Los parámetros histomorfométricos medidos de destrucción ósea pueden correlacionarse
 25 posteriormente con los puntos finales conductuales.

Los efectos antihiperalgésicos, antialodínicos y modificantes de la enfermedad de los compuestos de la
 fórmula (I) pueden evaluarse en este modelo murino de dolor de cáncer óseo en grupos separados (n=6 por grupo
 30 de dosis). Los animales con hiperalgesia confirmada, evaluada por elevación espontánea o evocada por acetona, puede evaluarse conductualmente, por ejemplo, los días 15 y 22 luego de la inoculación del tumor en el fémur distal antes y 1 h después de la administración sistémica de vehículo (p.ej., 10% Solutol en agua estéril) o compuestos de la fórmula (I). El análisis estadístico puede realizarse por ANOVA de una vía para comparar las mediciones conductuales y los parámetros óseos entre los grupos experimentales. Para comparar las mediciones
 35 conductuales y los parámetros óseos entre los animales simulados y los que comparten el tumor, puede usarse una prueba U de Mann-Whitney. Los resultados se consideran estadísticamente significativos a $p < 0.05$ (doble cola). Los datos se expresan como media +/- S.E.M.

El cáncer óseo causa un intenso dolor en los humanos, asemejado en los modelos en animales de dolor
 40 de cáncer óseo en roedores tales como el descrito antes. Los tratamientos analgésicos que son efectivos en este modelo incluyen los inhibidores de la COX-2 (Sabino MA, Ghilardi JR, Jongen JL, et al., Cancer Res 2002, 62(24): 7343-9) y altas dosis de morfina (Luger NM et al., Pain 2002, 99(3): 397-406), agentes usados clínicamente para el alivio del dolor en pacientes que experimentan dolor de cáncer óseo. Debido a que este modelo asemeja tan estrechamente el estado de la enfermedad humana, el hallazgo que la alodinia al frío es un síntoma prominente
 45 (Lee, Seong et al., Yonsei Med J 2005, 46(2):252-9) apoya fuertemente el concepto que los antagonistas TRPM8 de la presente invención proporcionarán alivio del dolor asociado con el cáncer óseo humano.

Ejemplo 10

Modelos de tos inducida por irritantes respiratorios

Los compuestos de la fórmula (I) pueden evaluarse en modelos en animales de actividad antitusiva, de
 acuerdo con métodos previamente documentados y validados 5, tales como los descritos por: Tanaka, M. and
 Maruyama, K. J. Pharmacol.Sci. 2005, 99(1):77-82; Trevisani, M., et al., Throax2004, 59(9):769-72; y Hall, E., et al.,
 55 J. Med. Microbiol. 1999, 48:95-98. La evaluación se conduce en cámaras ventiladas transparentes con un flujo de aire constante de 400 mL/min. El agente tusivo (ácido cítrico 0.25 M o capsaicina 30 mM) puede nebulizarse a través de un nebulizador miniultrasonico con un flujo de salida de 0.4 mL/min. La aparición de tos puede detectarse por medio de un micrófono de balita y confirmarse por la postura característica del animal. Los sonidos de tos pueden registrarse y almacenarse digitalmente. Un observador a ciegas cuenta posteriormente el número de esfuerzos inducidos de tos. En algunos casos, los animales pueden ser sensibilizados por preexposición a
 60 ciertos agentes, como ovalbúmina. Puede administrarse un compuesto en estudio al pico de la tos inducida por el irritante para evaluar los efectos antitusivos del compuesto. Además, pueden utilizarse regímenes profilácticos o múltiples de dosificación para evaluar en el compuesto en estudio la modulación de la aparición y duración de la tos inducida por el irritante. Variaciones de estas pruebas predicen los efectos antitusivos de agentes clínicos efectivos, incluyendo antagonistas NMDA, tales como dextrofanano y dextrometorfano, opiáceos tales como codeína,
 65 agonistas beta 2 tales como salbutamol y antimuscarínicos tales como ipatropio (Bolser, D.C., et al., Eur. J. Pharmacol. 1995, 277(2-3):159-64; Braga, P.C., Drugs Exper. Clin. Res.1994, 20:199-203). La acción antitusiva de

mentol 25 en cobayos y humanos Eccles R., *Curr Allergy Asthma Rep* 2003, 3(3):210-4; Laude EA, et al., *Pulm Pharmacol.* 1994, 7(3):179-84; Morice AH, et al., *Thorax* 1994, 49(10):1024-6) es predictiva de la utilidad clínica de los compuestos de la fórmula (I) como agentes antitusivos.

5 Ejemplo 11

Modelos inducidos por irritante de prurito, dermatitis por contacto, eccema y otras manifestaciones de alergia cutánea, hipersensibilidad y/o inflamación

10 Los compuestos de la fórmula (I) pueden evaluarse en modelos en animales de dermatitis por contacto o prurito, de acuerdo con métodos previamente documentados y validados, tales como los descritos en la literatura científica (Saint-Mezard P, et al., *Eur J Dermatol.* 2004, 14(5):284-95; Thomsen J.S., et al. *J. Exp Dermatol.* 2002, 11(4):370-5; Weisshaar E, et al., *Arch Dermatol Res* 1998, 290(6):306-11; Wille JJ, et al., *Skin PharmacolAppl Skin Physiol.* 1999, 12(1-2): 18-27). Ratonos (o especies tales como cobayos o ratas) pueden ser sensibilizados con 25 ml de 0.5% solución de dinitrofluorobenceno (DNFB diluido 4:1 en acetona: aceite de oliva inmediatamente antes de la aplicación de otros haptenos, tales como 12-miristato-13 acetato, cloruro de picril, oxazolona, capsaicina, ácido araquidónico, ácido láctico, ácido trans-retinoico 15 o lauril sulfato de sodio) pintados en la piel dorsal afeitada o no tratados (controles). Cinco días después, 10 mL de 0.2% DNFB una dosis no irritante) puede aplicarse sobre ambos lados de la oreja derecha y la misma cantidad de solvente sola sobre la oreja izquierda. El grosor de la oreja puede monitorizarse diariamente usando un compás. Los compuestos de la fórmula (I) pueden administrarse al pico de la inflamación para evaluar la actividad antialérgica de los compuestos. Además, pueden utilizarse regímenes profilácticos o múltiples de dosificación para evaluar en el compuesto en estudio la modulación de la aparición y duración de la actividad antialérgica. Variaciones de estas pruebas pueden predecir la actividad antialérgica y prurítica de los agentes clínicos efectivos. La capacidad de estos modelos para predecir el efecto terapéutico de los compuestos en condiciones cutáneas humanas está apoyada por la capacidad a través de las especies de la serotonina para inducir prurito (Weisshaar E, Gollnick H., *Skin Therapy Lett* 2000, 5(5):1-2,5). Adicionalmente, la propiedad sensibilizante de contacto de los medicamentos comerciales importantes y la capacidad de los moduladores del canal iónico para prevenir y tratar la sensibilización de la piel en estos modelos (Kydonieus A, et al., *Proceedings of the International Symposium on Controlled Release of Bioactive Materials* 24th:23-24, 1997) demuestran la utilidad terapéutica de los compuestos de la fórmula (I) en la sensibilización cutánea.

Ejemplo 12

35 Modelos inducidos por irritante químico de rinitis y otras manifestaciones de hipersensibilidad y/o inflamación nasal

Los compuestos de la fórmula (I) pueden evaluarse en modelos en animales de rinitis, de acuerdo con métodos previamente documentados y validados, tales como los descritos en la literatura científica (Hirayama Y, et al., *Eur J Pharmacol.* 2003, 467(1-3):197-203; Magyar T, et al., *Vaccine* 2002, 20(13-14): 1797-802; Tiniakov RL, et al., *J Appl Physiol* 2003, 94(5): 1821-8). La evaluación puede conducirse en ratón, cobayo, perro o humano en respuesta al reto intranasal 10 con uno o más irritantes, tales como aire frío, capsaicina, bradiquinina, histamina, pólenes, sulfato de dextrano, 2,4-tolileno diisocianato, Bordetella bronchiseptica, Pasteurella multocida o ácido acético. En algunos casos, los animales pueden ser sensibilizados por preexposición a ciertos agentes, incluyendo ambrosía u ovalbúmina. Antes o después de la administración del irritante, el sujeto del estudio puede recibir, respectivamente, la administración profiláctica o terapéutica una o más veces de compuestos de la fórmula (I), o vehículo control, por la vía enteral o parenteral. Las diferencias significativas indicativas de rinitis nasal o sensibilización para los sujetos tratados con el compuesto en estudio comparados con los sujetos tratados con vehículo pueden tomarse como evidencia de actividad antirrinítica. Variables independientes incluyen dosis, frecuencia y ruta de administración, intervalo de tiempo entre la administración profiláctica o terapéutica del compuesto en estudio y reto con el irritante, así como genotipo de sexo y no sexo del sujeto en estudio. El papel íntimo de la inflamación neurogénica en estos estados de hipersensibilización demuestra que los compuestos de la fórmula (I) desensibilizan o bloquean la sensibilización subyacente a estos estados de enfermedad.

55 Ejemplo 13

Modelos inducidos por conflicto de ansiedad, trastorno de pánico y otras respuestas estresantes no adaptativas o respuestas fóbicas

60 Los compuestos de la fórmula (I) pueden evaluarse en modelos en animales de ansiedad, trastornos del pánico y otras respuestas no adaptativas, de acuerdo con métodos previamente documentados y validados, tales como los descritos por Cryan y Holmes (Cryan JF, Holmes A., *Nat Rev Drug Discov* 2005, 4(9):775-90) o Braw et al. (Braw Y, et al., *Behavioural Brain Research* 2006, 167:261-269). Específicamente, para los estudios en ratas, pueden utilizarse los siguientes aparatos: una arena abierta (62 cmx62 cm) rodeada por paredes opacas (30 cm de alto) y un laberinto en cruz que consiste en dos brazos abiertos, 50 cmx10 cm, y dos brazos cerrados, 50 cmx10 cmx40 cm con un techo abierto, de tal forma que los dos brazos de cada tipo están opuestos entre sí. El laberinto se eleva

a una altura de 70 cm. Las paredes de los brazos cerrados están hechos de Plexiglás negro, mientras que los suelos de Plexiglás blanco. Los registros de videocinta pueden analizarse usando el sistema "Observer" (Noldus Information Technology). Una rata puede retirarse de su jaula, pesarse y colocarse suavemente en el centro de la arena abierta. A la rata puede permitírsele explorar la arena abierta libremente mientras se registra en video su conducta por 5 min. Luego de ello, puede ser trasferida al laberinto en cruz y colocada en el centro, frente a un brazo cerrado. La conducta de la rata puede registrarse otra vez en video por 5 min, luego de lo cual puede retornarse a su jaula. El aparato puede limpiarse usando una solución de 70% etanol entre ratas. 15 Las medidas en arena abierta y en laberinto en cruz pueden agruparse en dos clases conductuales, es decir "conductas semejantes a ansiedad" y "actividad".

Las medidas conductuales abiertas pueden incluir 1) Medidas de ansiedad: % tiempo en el cuadrado central, % número de entradas al cuadrado del centro (a partir del total de cuadrados entrados), % tiempo congelado, latencia hasta el primer congelamiento (el congelamiento se califica cuando el sujeto está en un estado inmóvil por al menos 3 segundos; 2) Medidas de actividad: Total de cuadrados entrados, número de encabritamientos (parada sobre las dos patas traseras), latencia para el primer encabritamiento. Las medidas en el laberinto en cruz pueden incluir 1) Ansiedad: % tiempo en los brazos abiertos, % número de entradas a los brazos abiertos (a partir del total de entradas), número de caídas no protegidas de la cabeza, latencia para entrar al brazo abierto; y 2) Actividad: Entradas totales a todos los brazos. Las conductas semejantes a ansiedad y la actividad pueden analizarse por ANOVA de una vía sobre cada una de las medidas, para cada una las comparaciones entre sujetos. Los análisis del laberinto en cruz pueden conducirse de la misma forma.

La evaluación también puede conducirse en el ratón o la rata de esta forma para medir la evitación de otros estímulos aversivos, tales como las pruebas anticonflicto de Geller o 30 Vogel, la prueba de luz/oscuridad y la prueba de hoyo-tarjeta (ver Cryan JF, Holmes A., Nat Rev Drug Discov 2005, 4(9):775-90). Antes de la exposición ambiental, el sujeto en estudio puede recibir la administración profiláctica una o más veces de compuestos de la fórmula (I), o vehículo control (p.ej., 10% Solutol en agua estéril), por vía enteral o parenteral. Puede medirse el tiempo acumulativo o número de veces pasadas en la conducta aversiva. Las diferencias significativas en una o más de estas medidas para los sujetos tratados con el compuesto en estudio comparados con los sujetos tratados con vehículo pueden tomarse como evidencia de actividad ansiolítica. Debido a que estos modelos están farmacológicamente validados por la efectividad de los ansiolíticos clínicamente útiles (Cryan JF, Holmes A., Nat Rev Drug Discov 2005, 4(9):775-90), serán útiles para la detección de compuestos ansiolíticos de la fórmula (I).

Ejemplo 14

Modelos de incontinencia urinaria inducida por presión vesical e hipertrofia

Los compuestos de la fórmula (I) pueden evaluarse en modelos en animales de incontinencia urinaria, de acuerdo con métodos previamente documentados y validados, tales como los descritos en la literatura (Kaiser S, Plath T, (Metagen Pharmaceuticals GmbH, Germany). DE Patent Number 1,0215,321.; McMurray G, et al., Br J Pharmacol 2006, 147 Suppl 2:S62-79). El TRPM8 se expresa en la próstata, testículos, túbulos seminíferos, piel escrotal y vejiga inflamada (Stein RJ, et al., J Urol. 2004, 172(3): 1175-8); (Stein RJ, et al., J Urol. 2004, 172(3): 1175-8; Mukerji, et al., BMC Urology 2006, 6:6). La excitación de los receptores TRPM8 a través del enfriamiento o la aplicación de mentol causa la contracción en la vejiga y un descenso en el volumen umbral de micción (Tsukimi Y, Mizuyachi K, et al., Urology. 2005, 65(2):406-10). Para evaluar la actividad potencial en incontinencia urinaria en los compuestos de la fórmula (I), a ratas Sprague-Dawley se les implantan quirúrgicamente catéteres vesicales que permiten la administración de fluido (solución fisiológica) y la monitorización de la presión (usando un transductor de presión). Los registros de cistometría pueden monitorizarse con un polígrafo para evaluar el intervalo de micción, presión umbral, capacidad vesical, distensibilidad vesical y el número de contracciones vesicales espontáneas. Por ejemplo, el catéter vesical puede conectarse a una bomba de infusión Harvard, y se perfunden las vejigas toda la noche con solución fisiológica a 2 mL/k. La mañana siguiente el catéter vesical puede unirse (usando un conector "T") a un transductor de presión Statham (Modelo P23Db) y a una bomba de infusión Harvard.

Un matraz de plástico unido a un transductor de desplazamiento de fuerza (Grass FT03) puede colocarse debajo de la jaula de la rata para recolectar y registrar el volumen urinario. La evaluación cistométrica de la función vesical puede iniciarse infundiendo solución fisiológica (20 mL/h) y luego de la primera micción la infusión se mantiene por 20 min. Dos horas después del primer período de cistometría, a las ratas se les puede administrar por vía oral los compuestos de la fórmula (I) y se realiza una segunda cistometría entre 30 min y 4 h luego de la administración del compuesto en estudio. El vehículo apropiado (p.ej., 10% Solutol en agua estéril) puede administrarse similarmente a grupos de ratas que sirvan como controles y la cistometría puede realizarse en los mismos puntos de tiempos respectivos.

Compuestos de la fórmula (I) también pueden evaluarse bajo condiciones de hipertrofia e inestabilidad vesical. Bajo anestesia, se hace una ligadura con seda alrededor de la uretra proximal de roedores produciendo una obstrucción parcial del tracto de salida y desarrollo posterior de vejiga hipertrofiada a las 6-9 semanas

(Woods M., et al., J. Urology. 2001, 166:1142-47). Los registros de cistometría pueden luego evaluarse como se describe antes. Tales procedimientos preclínicos son sensibles a 15 compuestos que tienen utilidad clínica para el tratamiento de la incontinencia urinaria (Soulard C, et al., J Pharmacol Exp Ther 1992, 260(3): 1152-8) y la actividad de los compuestos de la fórmula (I) en este modelo predeciría su utilidad clínica.

5

Ejemplo 15

Modelo in vivo para estados de dolor central aumentado por frío

10 La lesión al cerebro o médula espinal, tal como la causada por traumatismo, flujo sanguíneo interrumpido o enfermedades neurodegenerativas, a menudo precipita una condición de dolor central. Ejemplos de tales lesiones caracterizadas, en parte por una hipersensibilidad a los estímulos fríos incluyen la esclerosis múltiple (Morin C, et al., Clin J Pain 2002, 18(3):191-5; Svendsen KB, et al. Pain 2005, 114(3):473-81), ictus o isquemia cerebral (Greenspan JD, et al., Pain. 2004, 109(3):357-66) y lesión de la médula espinal (Defrin R, Ohry A, Blumen N, Urea G., Pain 2001, 89(2-3):253-63; Defrin R, et al., Brain 2002, 125(Pt 3):501-10; Finnerup NB, et al., Anesthesiology 2005, 102(5): 1023-30). Cada una de estas condiciones puede modelarse fácilmente en animales para la evaluación de la capacidad de los compuestos de la fórmula (I) para modificar el estado hipersensible. Por ejemplo, puede realizarse una lesión a la columna espinal (SCI) en ratas Sprague-Dawley adultas que tengan un peso corporal de 150-200 g al momento de la cirugía (Erichsen, et al., Pain 2005, 116:347-358). Las ratas pueden ser anestesiadas con hidrato de cloral (300 mg/kg, i.p., Sigma, USA) y puede insertarse un catéter en la vena yugular. Luego puede hacerse una incisión en la piel en la línea media a lo largo de la espalda para exponer las vértebras T11-L2. Los animales pueden posicionarse debajo de un láser ion argón ajustable (Innova model 70, Coherent Laser Products Division, CA, USA) operando a una longitud de onda de 514 nm con un poder promedio de 0.17 W. El láser puede enfocarse en un rayo delgado que cubre la vértebra T13, la cual puede ser irradiada por 10 min. Inmediatamente antes de la irradiación, puede inyectarse eritrosina B (Aldrich, 32.5 mg/kg, disueltos en 0.9% Solución fisiológica) por vía intravenosa a través del catéter yugular. Debido al rápido metabolismo de eritrosina B, la inyección puede repetirse luego de 5 min para mantener concentraciones sanguíneas adecuadas. Durante la irradiación, la temperatura del cuerpo puede mantenerse a 37-38 °C con una compresa caliente. Luego de la irradiación la herida puede cerrarse por capas y suturarse la piel.

30

En las ratas con SCI puede evaluarse la presencia de conductas semejantes a dolor a partir de las 3-4 semanas después de la cirugía. El vello de los animales puede afeitarse al menos un día antes del examen del umbral cutáneo al dolor para evitar la sensibilización de los receptores cutáneos. Durante la evaluación, las ratas pueden ser sostenidas suavemente en posición de pie por el experimentador y puede examinarse en el área del lomo y las patas traseras la hipersensibilidad a la estimulación sensitiva. El día de la evaluación del medicamento, a las ratas con SCI puede administrarse el medicamento de acuerdo con el esquema experimental y el curso en el tiempo de las conductas semejantes a dolor puede medirse. Para evaluar la presencia de alodinia al frío, puede aspersarse cloruro de etilo o acetona sobre la piel de los animales, a menudo lo que previamente se había determinado que era sensible a la estimulación mecánica por la evaluación con el filamento de von Fry. La respuesta posterior a la estimulación fría puede ser observada y clasificada de acuerdo con la siguiente escala: 0, sin respuesta visible; 1, respuesta localizada (sacudida de la piel) sin vocalización; 2, vocalización transitoria; 3, vocalización sostenida. Puede usarse el ANOVA de Kruskal Wallis sobre rangos para analizar los efectos globales de los datos no paramétricos obtenidos en respuesta a la estimulación fría luego del pretratamiento con compuestos de la fórmula (I) o vehículo.

45

Ejemplo 16

Modelo in vivo para escalofríos postanestésicos

50 El temblor postanestésico espontáneo que asemeja escalofríos es común durante la recuperación de la anestesia. Los riesgos para los pacientes postoperatorios incluyen un aumento en la tasa metabólica hasta 400%, hipoxemia, dehiscencia de la herida, daño dental y disrupción de reparaciones quirúrgicas delicadas. La etiología del temblor postanestésico espontáneo se atribuye más comúnmente a los escalofríos termorregulatorios normales en respuesta a la hipotermia intraoperatoria. En muchos quirófanos y salas de recuperación, los escalofríos se controlan con el uso de humidificadores, mantas térmicas y la inhalación de oxígeno caliente humidificado. Sin embargo, el control farmacológico es una modalidad de tratamiento alterno efectiva (Bhatnagar S, et al., Anaesth Intensive Care 2001, 29(2):149-54; Tsai YC, Chu KS, Anesth Analg 2001, 93(5): 1288-92). En los compuestos de la fórmula (I) puede evaluarse su capacidad de mitigar los escalofríos postanestésicos inducidos usando modelos en animales tales como los descritos por Nikki et al (Nikki P, Tammisto T, Acta Anaesthesiol Scand 1968, 12(3): 125-34 y Grahn (Grahn, DA, et al., J Applied Physiology 1996, 81:2547-2554). Por ejemplo, a ratas Wistar (machos, pesando 250-450 g;) puede implantárseles quirúrgicamente un equipo de registro EEG/EMG para evaluar la actividad de temblor postanestésico. Los electrodos de EEG se localizan bilateralmente a 2 mm de la línea media y adyacentes al bregma y lamda. Luego de un período de recuperación de una semana, puede monitorizarse el EEG fronto-occipital, EMG bruto y actividades EMG integradas, así como tres temperaturas (piel, rectal y de la manta de agua durante la anestesia), y la temperatura ambiente postanestesia a lo largo del experimento usando termopares constantin de cobre. Las señales de EEG y EMG pueden registrarse en papel polígrafo (5 mm/s, polígrafo Grass

65

modelo 7E), y durante la recuperación de la anestesia, el EEG es calificado por computadora en épocas de 10 segundos como sincronizado: actividad de alta amplitud (.100 μ V) y baja frecuencia (1-4 Hz dominado) característica del sueño de onda lenta (parecido a SWS) o desincronizado: amplitud baja (75 μ V) y alta frecuencia (5-15 Hz dominado), característica de la vigilia y del sueño de movimiento ocular rápido (semejante a W). La actividad EMG puede cuantificarse como el voltaje sumado promediado/intervalo de tiempo procesando la señal EMG bruta a través de un integrador (Grass modelo 7P3, constante de tiempo 0.5 s). El día de un experimento, el animal puede ser colocado en una caja acrílica pequeña (15 x 15x15 cm) y ser expuesto a una mezcla de vapor de halotano-aire (4% halotano). Inmediatamente después de la inducción de la anestesia, el animal puede ser retirado del encierro y posteriormente anestesiado a través de un cono nasal. Luego del cese de la anestesia, pueden juzgarse dos etapas de recuperación: salida de la anestesia y restauración de la actividad conductual (recuperación conductual). La salida de la anestesia puede definirse como un aumento en la actividad EMG tónica y un cambio en el EEG de un patrón SWS a un patrón W. Conductualmente, la recuperación ha ocurrido cuando el animal se para a partir de una posición prona e inicia movimientos coordinados. Los intervalos de tiempo a partir de la culminación de la anestesia a la salida y la recuperación conductual pueden medirse en todos los animales. Los datos de los intervalos de tiempo pueden ser sometidos a un análisis de varianza de medidas repetidas, y puede emplearse el método de Scheffe para evaluar las diferencias entre pares de medias.

Ejemplo 17

20 **Ensayos de pinzamiento zonal de membrana con TRPM8**

Para los experimentos de pinzamiento zonal de membrana, células HEK293 son trasfectadas de forma estable con TRPM8 canino y cultivadas en DMEM suplementado con 10% suero fetal bovino, 100 unidades/ml penicilina, 100 pg/ml estreptomycin y 1 mg/ml G418. Las células son mantenidas a 37 °C y en 5% CO₂.

La solución extracelular contiene (en mM): NaCl, 132; EGTA, 1; KCl, 5.4; MgCl₂, 0.8; HEPES, 10; glucosa, 10; pH=7.4. Los registros se realizan usando la técnica convencional de pinzamiento zonal a célula completa, 1-2 de emplazar las células sobre portaobjetos de vidrio a densidades apropiadas para registro de una célula. Las corrientes son amplificadas con un amplificador de pinzamiento zonal y filtradas a 2 kHz (Axopatch 200B, Molecular Devices, Union City, CA). Se aplica mentol (100 pM) a la célula a 0.5 ml/min a través de un sistema de perfusión alimentado por gravedad. Los registros que envuelven la activación por mental se realizan a 22 °C.

En los experimentos donde las temperaturas varían, las rampas de temperatura son generadas enfriando el perfusado en un enfriador en línea (Modelo SC-20, Warner Instruments, Hamden, CT) controlado por un controlador de temperatura (Modelo CL-100, Warner Instruments). La temperatura en la vecindad de la célula registrada se mide con una termo-microsonda miniatura ajustada conectada a un termómetro de monitorización (Modelo TH-8, Physitemp, Clifton, NJ), y se tomaron muestras usando Digidata 1322A y pClamp 9.0 (Molecular Devices), así como las corrientes medidas al mismo tiempo en el modo de pinzamiento zonal de célula completa. Se toman muestras continuas de la corriente 5 (a 100 Hz) a un potencial de -60 mV.

Los compuestos de la fórmula (I) se diluyen a partir de stocks de 10 mM DMSO (almacenados a -20 °C) en una solución extracelular conteniendo 100 μ M mentol o sometidos a enfriamiento. Se aplican concentraciones cada vez mayores de un compuesto a una célula de forma acumulativa y las respuestas dependientes de la concentración se miden luego de alcanzar la activación en estado estacionario por 100 μ M mentol o enfriamiento a 10 °C. Se aplica una concentración saturante de un antagonista de referencia al final de un experimento (en presencia de 100 μ M mentol o 10 °C de temperatura) para establecer el basal a partir del cual se sustraen las otras mediciones.

El porcentaje de inhibición por un compuesto se calcula como sigue: $100 \times (1 - I_{comp}/I_0)$; donde I_{comp} y I_0 son las amplitudes de la corriente en estado estacionario en presencia o ausencia de una concentración de compuestos de la fórmula (I). Los datos de concentración-respuesta se ajustan a una función logística como sigue: $R = 100 / (1 + c / IC_{50})^p$; donde R es el porcentaje de inhibición, p es el coeficiente Hill y c es la concentración de compuestos de la fórmula (I).

Ejemplo 18

Ensayo funcional in vitro de TRPM8 en ratas y humanos

Para la expresión funcional del TRPM8, los cDNA de longitud completa que codifican el TRPM8 humano y de rata son subclonados en vectores pCI-NEO de expresión en mamíferos. Los constructos de expresión son transitoriamente trasfectados en células HEK293 de acuerdo con las instrucciones de reactivo de transfección FuGENE 6® (ROCHE). Se desarrollaron células HEK293 como monocapas en medio esencial mínimo de Dulbecco suplementado con 10% FBS, 1mM L-glutamina, 100 unidades/ mL penicilina y 100ug/ ml. estreptomycin. Las células son mantenidas en 5% CO₂ a 37 °C. A las veinticuatro horas, el TRPM8 humano y de rata transitoriamente trasfectado es sembrado en placas de base clara de 384 platillos cubiertos con poli-D-lisina (BD

Biosciences, NJ, USA) a una densidad de 10,000 células por platillo en medio de cultivo y se hacen crecer toda la noche. El día siguiente, se remueve todo el medio y las células son incubadas con 52 μL de 0.5 X Calcium 3 Dye (Molecular Devices) preparado en amortiguador de ensayo completo que contiene 20mM HEPES, 0.1% BSA y 2.5mM probenecid a 37 °C por treinta y cinco minutos. Las células luego son incubadas por quince minutos adicionales a temperatura ambiente antes de iniciar los experimentos. Luego de la incubación, las placas se insertan en un instrumento FDSS, donde las células se enfrentan con compuestos de la fórmula (I) (a concentraciones variables) y se mide el Ca^{2+} intracelular 5 min antes de la adición de 100 nM 10 icilina. Los valores de IC_{50} para los compuestos de la fórmula (I) se determinan a partir de estudios de dosis-respuesta de ocho puntos

La intensidad de fluorescencia máxima (FI) alcanzada con la adición de icilina se exportó a partir del FDSS y luego se analizó usando GraphPad Prism 3.02 (Graph Pad Software Inc., CA, U.S.A.). La FI basal se sustrajo antes de normalizar los datos al porcentaje de respuesta máxima. Las curvas de dosis respuesta a partir del promedio de platillos cuadruplicados para cada punto de datos se analizan usando regresión no lineal de la respuesta sigmoide de dosis o respuesta sigmoide de dosis (pendiente variable). Finalmente, los valores de IC_{50} se calcularon con la curva de dosis de mejor ajuste determinada por Prism.

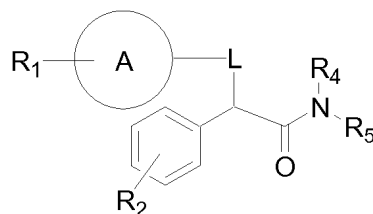
Ejemplo 19

Respuestas presoras evocadas por frío

Los compuestos de la fórmula (I) pueden evaluarse en humanos y animales en cuanto a su capacidad de mitigar las respuestas presoras cardiovasculares evocadas por la exposición al frío. El enfriamiento ambiental estacional se asocia directamente con presión arterial elevada y una elevada incidencia de eventos coronarios en poblaciones humanas en todo el mundo (Barnett, AG, et al., J Epidemiol Community Health. 2005, 59:551-557). La prueba presora fría clínica evalúa los cambios en la presión arterial (BP) y percepción del dolor al frío durante una inmersión por 2-3 minutos de una mano en agua fría. Esta prueba puede utilizarse para caracterizar compuestos analgésicos (Koltzenberg M, et al., Pain 2006, 126(1-3):165-74) y evaluar la hipersensibilidad al frío (Desmeules JA ,et al., Arthritis Rheum. 2003, 48(5): 1420- 9). Los compuestos de la fórmula (I) pueden estudiarse en un paradigma de presor frío en rata anestesiada para determinar si el antagonismo del TRPM8 interferiría con la respuesta presora de la presión arterial a la estimulación fría de las patas delanteras. Ratas Sprague-Dawley machos (300 -450g) anestesiados con pentobarbital sódico son instrumentados con un catéter yugular y un transductor de presión carotídea permanente. Se administra vehículo (10% Solutol en agua) o compuesto en estudio (1 mL/kg) por un minuto a través del catéter intravenoso. Diez minutos después ambas patas delanteras se envuelven en hielo molido por 5 minutos. Los cambios porcentuales en la presión arterial media en respuesta a este estímulo frío se calculan para los pretratamientos con vehículo y compuesto en estudio. El porcentaje de inhibición atribuida al tratamiento con el compuesto en estudio se determina usando la siguiente fórmula: % Inhibición = [1- (% cambio en la BP evocado por el compuesto en estudio / % cambio en la BP evocado por frío posterior al vehículo)] x 100.

Reivindicaciones

1. Un compuesto de Fórmula (I)



Fórmula (I)

Donde

A es fenil, thienil, o C₅₋₇cicloalquil;
 en tanto que cuando A es fenil, R₂ es distinto a 2-cloro, 2-C₁₋₄alcoxi, 4-C₁₋₄alcoxi, 2-C₁₋₄alcoxicarbonil o 4-C₁₋₄alcoxicarbonil;
 o, cuando A es fenil, L es -N(R₃)(CH₂)_n- y R₁ y L están unidos a átomos adyacentes de carbono de fenil, R₁ and R₃ son tomados opcionalmente con los átomos a los cuales están unidos para formar dihidro-indol-1-il o dihidro-quinolin-1-il;
 R₁ es uno a tres sustituyentes seleccionados a partir del grupo consistente en hidrógeno, C₁₋₄alquil, C₁₋₄alcoxi, fluoro, cloro e hidroxil;
 L es -Z-(CH₂)_n- o -CH₂-;
 n es 0 o 1;
 Z es O, S, o NR₃; en tanto que cuando Z es O o S, A es fenil;
 R₂ es hidrógeno, C₁₋₄alquil, C₁₋₄alcoxi, trifluorometil, cloro, fluoro, bromo, carboxi o C₁₋₄alcoxicarbonil;
 R₃ es hidrógeno o C₁₋₃alquil;
 R₄ es hidrógeno o C₁₋₄alquil;
 R₅ es naftil, indanil, tetralinil o un heteroaril de 9 a 10 miembros seleccionados a partir del grupo consistente en bencimidazolil, cinnolinil, 1*H*-indazolil, indolil, isoindolil, isoquinolinil, naftiridinil, ftalazinil, quinazolinil, quinolinil y quinoxalinil; donde R₅ se sustituye opcionalmente con 1 a 2 sustituyentes seleccionados independientemente a partir del grupo consistente en C₁₋₄alquil, hidroxil, C₁₋₄alcoxi, trifluorometil, cloro, fluoro, bromo, carboxi, C₁₋₄alcoxicarbonil y ciano;
 y enantiómeros, diastereómeros, solvatos y sales farmacéuticamente aceptables de éstos;
 en tanto que un compuesto de Fórmula (I)
 es distinto a un compuesto donde A es fenil, R₁ es 3-cloro, R₂ es 4-trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_n- n es 1, Z es NR₃, R₃ es hidrógeno, R₄ es hidrógeno, y R₅ es isoquinolin-5-il;
 un compuesto donde A es fenil, R₁ es 2-fluoro, R₂ es 4-trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_n-, n es 0, Z es NR₃, R₃ es hidrógeno, R₄ es hidrógeno, y R₅ es indol-4-il;
 y
 un compuesto donde A es fenil, R₁ es 4-metoxi, R₂ es 4-cloro, L es -Z-(CH₂)_n-, n es 0, Z es NR₃, R₃ es hidrógeno, R₄ es hidrógeno, y R₅ es isoquinolin-5-il.

2. El compuesto de acuerdo con la declaración 1 donde A es fenil, ciclopentil o ciclohexil;
 en tanto que cuando A es fenil, R₂ es distinto a 2-cloro, 2-C₁₋₄alcoxi, 4-C₁₋₄alcoxi, 2-C₁₋₄alcoxicarbonil o 4-C₁₋₄alcoxicarbonil; o, cuando A es fenil, L es -N(R₃)(CH₂)_n- y R₁ y L están unidos a átomos adyacentes de carbono de fenil, R₁ y R₃ están tomados opcionalmente con los átomos a los cuales están unidos para formar dihidro-indol-1-il o dihidro-quinolin-1-il.
3. El compuesto de acuerdo con la declaración 2 donde A es fenil; en tanto que R₂ es distinto a 2-cloro, 2-C₁₋₄alcoxi, 4-C₁₋₄alcoxi, 2-C₁₋₄alcoxicarbonil, o 4-C₁₋₄alcoxicarbonil; y, cuando L es -N(R₃)(CH₂)_n-, y R₁ y R₃ ason tomados opcionalmente con los átomos a los cuales están unidos para formar dihidro-indol-1-il.
4. El compuesto de acuerdo con la declaración 3 donde A es fenil; en tanto que R₂ es distinto a 2-cloro, 2-C₁₋₄alcoxi, 4-C₁₋₄alcoxi, 2-C₁₋₄alcoxicarbonil, o 4-C₁₋₄alcoxicarbonil.
5. El compuesto de acuerdo con la declaración 1 donde R₁ es uno a dos sustituyentes seleccionados a partir del grupo consistente en hidrógeno, C₁₋₄alquil, C₁₋₄alcoxi, fluoro, cloro, and hidroxil.
6. El compuesto de acuerdo con la declaración 5 donde R₁ es uno a dos sustituyentes seleccionados a partir del grupo consistente en hidrógeno, C₁₋₃alquil, C₁₋₃alcoxi, fluoro, y cloro.

7. El compuesto de acuerdo con la declaración 6 donde R_1 es uno a dos sustituyentes seleccionados a partir del grupo consistente en hidrógeno, metil, fluoro y cloro.
- 5 8. El compuesto de acuerdo con la declaración 1 donde L es $-Z-(CH_2)_n-$ o $-CH_2-$; donde n es 0 o 1; y Z es S o NR_3 ; en tanto que cuando Z es S, A es fenil.
9. El compuesto de acuerdo con la declaración 8 donde L es $-Z-(CH_2)_n-$; donde n es 0 y Z es S o NR_3 ; en tanto que cuando Z es S, A es fenil.
- 10 10. El compuesto de acuerdo con la declaración 9 donde L es $-Z-(CH_2)_n$; donde n es 0; y Z es NR_3 .
11. El compuesto de acuerdo con la declaración 1 donde R_2 es hidrógeno, C_{1-4} alquil, trifluorometil, cloro, o bromo; en tanto que cuando A es fenil, R_2 es distinto a 2-cloro.
- 15 12. El compuesto de acuerdo con la declaración 1 donde R_2 es *t*-butil, trifluorometil, cloro, o bromo; en tanto que cuando A es fenil, R_2 es distinto a 2-cloro.
13. El compuesto de acuerdo con la declaración 1 donde A es fenil e R_2 es 4-*t*-butil, 4-trifluorometil or 4-cloro.
- 20 14. El compuesto de acuerdo con la declaración 1 donde R_3 es hidrógeno o metil.
15. El compuesto de acuerdo con la declaración 1 donde R_3 es hidrógeno.
16. El compuesto de acuerdo con la declaración 1 donde R_4 es hidrógeno.
- 25 17. The compound according to claim 1 wherein R_5 is indanyl or a 9 to 10- membered heteroaryl selected from the group consisting of benzimidazolyl, indolyl, quinolinyl, isoquinolinyl, and 1 H-indazolyl; wherein R_5 is optionally substituted with one to two substituents independently selected from the group consisting of C_{1-4} alquil, C_{1-4} alcoxi, y fluoro.
- 30 18. El compuesto de acuerdo con la declaración 17 donde R_5 es un heteroaril de 9 a 10 miembros seleccionados a partir del grupo consistente en indolil, quinolinil, isoquinolinil y 1*H*-indazolil; donde R_5 es sustituido opcionalmente con un sustituyente C_{1-4} alquil.
- 35 19. El compuesto de acuerdo con la declaración 1 donde R_5 es un heteroaril de 9 a 10 miembros seleccionados a partir del grupo consistente en quinolin-5-il, isoquinolin-5-il y 1*H*-indazolil.
20. El compuesto de acuerdo con la declaración 1 donde
 A es fenil, ciclopentil o ciclohexil;
 40 en tanto que cuando A es fenil, R_2 es distinto a 2-cloro;
 o, cuando A es fenil, L es $-N(R_3)(CH_2)_n-$ y R_1 y L están unidos a átomos de carbono adyacentes, R_1 y R_3 son tomados opcionalmente con los átomos a los cuales están unidos para formar dihidro-indol-1-il o dihidro-quinolin-1-*i*; R_1 es uno a dos sustituyentes seleccionados a partir del grupo consistente en hidrógeno, C_{1-4} alquil, C_{1-4} alcoxi, fluoro, cloro e hidroxil;
 45 L es $-Z-(CH_2)_n-$ o $-CH_2-$; donde n es 0 o 1; y Z es S o NR_3 ; en tanto que cuando Z es S, A es fenil
 R_2 es hidrógeno, C_{1-4} alquil, trifluorometil, cloro, o bromo;
 R_3 es hidrógeno o metil;
 R_4 es hidrógeno;
 50 y
 R_5 es indanil o un heteroaril de 9 a 10 miembros seleccionados a partir del grupo consistente en bencimidazolil, indolil, quinolinil, isoquinolinil y 1*H*- indazolil; donde R_5 es sustituido opcionalmente con 1-2 sustituyentes independientemente seleccionados del grupo consistente en C_{1-4} alquil, C_{1-4} alcoxi, y fluoro;
 y enantiómeros, diastereómeros, solvatos y sales farmacéuticamente aceptables de éstos;
 55 en tanto que un compuesto de Fórmula (I) es distinto a un compuesto donde A es fenil, R_1 es 3-cloro, R_2 es 4-trifluorometil, L es $-Z-(CH_2)_n-$, n es 1, Z es NR_3 , R_3 es hidrógeno, R_4 es hidrógeno, y R_5 es isoquinolin-5-il;
 un compuesto donde A es fenil, R_1 es 2-fluoro, R_2 es 4-trifluorometil, L es $-Z-(CH_2)_n-$, n es 0, Z es NR_3 , R_3 es hidrógeno, R_4 es hidrógeno, y R_5 es indol-4-il;
 60 y
 un compuesto donde A es fenil, R_1 es 4-metoxi, R_2 es 4-cloro, L es $-Z-(CH_2)_n-$, n es 0, Z es NR_3 , R_3 es hidrógeno, R_4 es hidrógeno, y R_5 es isoquinolin-5-il.
21. El compuesto de acuerdo con la declaración 1 donde
 65 A es fenil;

en tanto que cuando A es fenil, R₂ es distinto a 2-cloro; o, cuando A es fenil, L es -N(R₃)(CH₂)_n- y R₁ y L están unidos a átomos adyacentes de carbono, R₁ y R₃ son tomados opcionalmente con los átomos a los cuales están unidos para formar dihidro-indol-1-il;

R₁ es uno a dos sustituyentes seleccionados a partir del grupo consistente en hidrógeno, C₁₋₃alquil, C₁₋₃alcoxi, fluoro y cloro;

L es -Z-(CH₂)_n-; donde n es 0; y Z es S o NR₃;

R₂ es *t*-butil, trifluorometil, cloro o bromo;

R₃ es hidrógeno;

R₄ es hidrógeno;

y

R₅ es un heteroaril de 9 a 10 miembros seleccionados a partir del grupo consistente en indolil, quinolinil, isoquinolinil y 1 H-indazolil; donde R₅ es opcionalmente sustituido con uno a dos sustituyentes C₁₋₄alquil; y enantiómeros, diastereómeros, solvatos y sales farmacéuticamente aceptables de éstos;

en tanto que un compuesto de Fórmula (I) es distinto a un compuesto donde A es, R₁ es 2-fluoro, R₂ es 4-trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_n-, n es 0, Z es NR₃, R₅ es hidrógeno, R₄ es hidrógeno, y R₅ es indol-4-il; y

un compuesto donde A es fenil, R₁ es 4-metoxi, R₂ es 4-cloro, L es -Z-(CH₂)_n-, n es 0, Z es NR₃, R₅ es hidrógeno, R₄ es hidrógeno y R₅ es isoquinolin-5-il.

22. El compuesto de acuerdo con la declaración 1 donde

A es fenil; en tanto que R₂ es distinto a 2-cloro;

R₁ es uno a dos sustituyentes seleccionados a partir del grupo consistente en hidrógeno, C₁₋₃alquil, metoxi, fluoro, and cloro;

L es -Z-(CH₂)_n-; donde n es 0; y Z es NR₃;

R₂ es *t*-butil, trifluorometil, cloro o bromo;

R₅ y R₄ son cada uno hidrógeno;

y

R₅ es un heteroaril de 9 a 10 miembros seleccionados a partir del grupo consistente en quinolinil, isoquinolinil y 1H-indazolil;

y enantiómeros, diastereómeros, solvatos y sales farmacéuticamente aceptables de éstos;

en tanto que un compuesto de Fórmula (I) es distinto a un compuesto donde A es fenil, 4-metoxi, R₂ es 4-cloro, L es -Z-(CH₂)_n- n es 0, Z es NR₃, R₃ es hidrógeno, R₄ is hidrógeno, y R₅ es isoquinolin-5-il.

23. El compuesto de acuerdo con la declaración 1 donde

A es fenil;

R₁ es uno a dos sustituyentes seleccionados a partir del grupo consistente en hidrógeno, metil, fluoro y cloro;

L es -Z-(CH₂)_n-; donde n es 0; y Z es NR₃;

R₂ es 4-*t*-butil, 4-trifluorometil o 4-cloro;

R₃ y R₄ son cada uno hidrógeno;

y

R₅ es un heteroaril de 9 a 10 miembros seleccionados a partir del grupo consistente en quinolin-5-il, isoquinolin-5-il y 1 H-indazolil; y enantiómeros, diastereómeros y sales farmacéuticamente aceptables de éstos.

24. El compuesto de acuerdo con la declaración 1 donde dicho compuesto es seleccionado a partir del grupo consistente en

un compuesto de Fórmula(I) donde A es fenil, R₁ es H, R₂ es 4-*t*-butil, L es -Z-(CH₂)_n-, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H, y R₅ es isoquinolin-5-il;

un compuesto de Fórmula(I) donde A es fenil, R₁ es *t*-butil, R₂ es H, L es -Z-(CH₂)_n-, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H y R₅ es isoquinolin-5-il;

un compuesto de Fórmula(I) donde A es fenil, R₁ es H, R₂ es 4-*t*-butil, L es -Z-(CH₂)_n-, Z es NR₃, R₃ es metil, n es 0, R₄ es H, y R₅ es isoquinolin-5-il;

un compuesto de Fórmula(I) donde A es fenil, R₁ es H, R₂ es 4-trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_n-, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H y R₅ es isoquinolin-5-il;

un compuesto de Fórmula(I) donde A es fenil, R₁ es H, R₂ es 4-*t*-butil, L es -Z-(CH₂)_n-, es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H, y R₅ es 1H-indazol-4-il;

un compuesto de Fórmula(I) donde A es fenil, R₁ es H, R₂ es 4-*t*-butil, L es -Z-(CH₂)_n-, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H y R₅ es quinolin-6-il;

un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es H, R₂ es 4-*t*-butil, L es -Z-(CH₂)_n-, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H, y R₅ es indol-4-il;

un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es H, R₂ es 4-*t*-butil, L es -Z-(CH₂)_n-, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H, y R₅ es isoquinolin-6-il;

un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es H, R₂ is 4-*t*-butil, L es -Z-(CH₂)_n-, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H, y R₅ es 1-metil-1H- benzoimidazol-4-il;

un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es H, R₂ es 4-trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_n-, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H, y R₅ es indan-1-il (RS, S);

- un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es 2,4-difluoro, R₂ es 4-cloro, L es -Z-(CH₂)_n-, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H y R₅ es isoquinolin-5-il;
- un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es 4-metoxi, R₂ es 4-cloro, L es -Z-(CH₂)_n-, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H, y R₅ es quinolin-5-il;
- 5 un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es 2,6-difluoro, R₂ es 4-cloro, L es -Z-(CH₂)_n-, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H y R₅ es isoquinolin-5-il;
- un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es 2,6-difluoro, R₂ es 4-cloro, L es -Z-(CH₂)_n-, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H y R₅ es quinolin-5-il;
- 10 un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es 2,4-difluoro, R₂ es 4-trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_n-, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H y R₅ es isoquinolin-5-il;
- un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es 2,3-difluoro, R₂ es 4-cloro, L es -Z-(CH₂)_n-, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H y R₅ es isoquinolin-5-il;
- un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es 2,3-difluoro, R₂ es 4-cloro, L es -Z-(CH₂)_n-, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H y R₅ es quinolin-5-il;
- 15 un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es 2,5-difluoro, R₂ es 4-cloro, L es -Z-(CH₂)_n-, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H y R₅ es isoquinolin-5-il;
- un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es 2,5-difluoro, R₂ es 4-cloro, L es -Z-(CH₂)_n-, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H y R₅ es quinolin-5-il;
- 20 un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es 2-fluoro, R₂ es 4-trifluorometil, L es -CH₂-, R₄ es H y R₅ es isoquinolin-5-il;
- un compuesto de Fórmula (I) donde A es fenil, R₁ es H, R₂ es 4-trifluorometil, L es -Z-(CH₂)_n-, Z es NR₃, R₃ es H, n es 0, R₄ es H y R₅ es isoquinolin-5-il;
- y enantiómeros, diastereómeros, solvatos y sales farmacéuticamente aceptables de éstos.
- 25 25. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la declaración 1 y al menos uno de un portador farmacéuticamente aceptable, un excipiente farmacéuticamente aceptable y un diluyente farmacéuticamente aceptable.
- 30 26. La composición farmacéutica de la declaración 25, donde la composición es una forma sólida de dosificación oral.
27. Una composición farmacéutica de la declaración 25, donde la composición es un jarabe, un elixir o una suspensión
- 35 28. Un compuesto de la declaración 1 para su uso en un método para tratar el dolor inflamatorio, condición de hipersensibilidad inflamatoria, dolor neuropático, ansiedad o depresión.
29. Un compuesto para su uso como se declara en la declaración 28, donde el dolor inflamatorio se debe a enfermedad intestinal inflamatoria, dolor visceral, migraña, dolor postoperatorio, osteoartritis, artritis reumatoidea, dolor de espalda, lumbalgia, artralgia, dolor abdominal, dolor torácico, trabajo de parto, enfermedades musculoesqueléticas, enfermedades cutáneas, odontalgia, piresis, quemadura, quemadura solar, emponzoñamiento ofídico, emponzoñamiento ofídico venenoso, emponzoñamiento arácnido, picadura de insecto, vejiga neurogénica, cistitis intersticial, infección urinaria, rinitis, dermatitis por contacto/hipersensibilidad, prurito, eccema, faringitis, mucositis, enteritis, síndrome de intestino irritable, colecistitis, pancreatitis, síndrome de dolor posmastectomía, dolor menstrual, endometriosis, cefalea sinusal, cefalea tensional o aracnoiditis.
- 40 30. Un compuesto para su uso como se aclama en la declaración 29, donde el dolor inflamatoria es hiperalgesia inflamatoria.
- 50 31. Un compuesto para su uso como se aclama en la declaración 30, donde el dolor inflamatoria es hiperalgesia inflamatoria somática o hiperalgesia inflamatoria visceral.
32. Un compuesto para el uso que se aclama en la declaración 30, donde la hiperalgesia inflamatoria se debe a inflamación, osteoartritis, artritis reumatoidea, dolor de espalda, artralgia, dolor abdominal, enfermedades musculoesqueléticas, enfermedades cutáneas, dolor postoperatorio, cefaleas, fibromialgia, odontalgia, quemadura, quemadura solar, picadura de insecto, vejiga neurogénica, incontinencia urinaria, cistitis intersticial, infección urinaria, tos, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, rinitis, dermatitis por contacto/hipersensibilidad, prurito, eccema, faringitis, enteritis, síndrome de intestino irritable, enfermedad de Crohn o colitis ulcerativa.
- 55 33. Un compuesto para el uso que se afirma en la declaración 28, donde la condición de hipersensibilidad inflamatoria es incontinencia urinaria, hipertrofia prostática benigna, tos, asma, rinitis, hipersensibilidad nasal, prurito, dermatitis por contacto, alergia cutánea o enfermedad pulmonar obstructiva crónica.
- 60 65

- 5 34. Un compuesto para el uso que se afirma en la declaración 28, donde el dolor neuropático se debe a cáncer, un trastorno neurológico, cirugía de columna o nervio periférico, un tumor cerebral, lesión cerebral traumática (TBI), traumatismo a la médula espinal, un síndrome de dolor crónico, fibromialgia, síndrome de fatiga crónica, una neuralgia, lupus, sarcoidosis, neuropatía periférica, neuropatía periférica bilateral, neuropatía diabética, dolor central, neuropatías asociadas con lesión de la médula espinal, ictus, ALS, enfermedad de Parkinson, esclerosis múltiple, neuritis ciática, neuralgia de la articulación mandibular, neuritis periférica, polineuritis, dolor del muñón, dolor del miembro fantasma, una fractura ósea, dolor neuropático oral, dolor de Charcot, síndrome de dolor regional complejo I y II (CRPS I/II), radiculopatía, síndrome de Guillain-Barré, meralgia parestésica, síndrome de boca quemante, neuritis óptica, neuritis posfebril, neuritis migrante, neuritis segmentaria, neuritis de Gombault, neuronitis, neuralgia cervicobraquial, neuralgia craneal, neuralgia geniculada, neuralgia glosofaríngea, neuralgia migrañosa, neuralgia idiopática, neuralgia de los intercostales, neuralgia mamaria, neuralgia de Morton, neuralgia nasociliar, neuralgia occipital, neuralgia roja, neuralgia de Sluder, neuralgia esplenopalatina, neuralgia supraorbitaria, vulvodinia o neuralgia vidiana.
- 10
- 15 35. Un compuesto para el uso que se afirma en la declaración 34, donde la neuralgia es neuralgia trigeminal, neuralgia glosofaríngea, neuralgia posherpética o causalgia.
- 20 36. Un compuesto para su uso como se aclama en la declaración 28, donde el dolor neuropático es alodinia neuropática al frío.
- 25 37. Un compuesto para el uso que se afirma en la declaración 36, donde la alodinia neuropática al frío es dolor que surge a partir de una cirugía o traumatismo a la columna y nervio periférico, lesión cerebral traumática (TBI), neuralgia trigeminal, neuralgia postherpética, causalgia, neuropatía periférica, neuropatía diabética, dolor central, ictus, neuritis periférica, polineuritis, síndrome de dolor regional complejo I y II (CRPS I/II) o radiculopatía.
- 30 38. Un compuesto para el uso que se afirma en la declaración 28, donde la ansiedad es ansiedad social, trastorno de estrés postraumático, fobias, fobia social, fobias especiales, trastorno del pánico, trastorno obsesivo compulsivo, trastorno por estrés agudo, trastorno de ansiedad de separación o trastorno de ansiedad generalizada.
- 35 39. Un compuesto para el uso que se afirma en la declaración 28, donde la depresión es depresión mayor, depresión bipolar, trastorno afectivo estacional, depresión posnatal, depresión maniaca o depresión bipolar.
- 40 40. Un compuesto de la declaración 1 para el uso en un método para tratar la hiperalgesia inflamatoria somática.
- 45 41. Un compuesto de la declaración 1 para el uso en un método para tratar la hiperalgesia inflamatoria visceral.
- 50 42. Un compuesto de la declaración 1 para el uso en un método para tratar la alodinia neuropática al frío.
- 55 43. Un compuesto de la declaración 1 para el uso en un método para tratar la enfermedad cardiovascular agravada por el frío.
- 60 44. Un compuesto para el uso como se afirma en la declaración 43, donde la enfermedad cardiovascular se selecciona a partir del grupo consistente en enfermedad vascular periférica, hipertensión vascular, hipertensión pulmonar, enfermedad de Raynaud y coronariopatía.
- 65