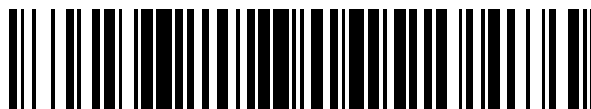


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 660 170**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/433** (2006.01)  
**A61K 31/18** (2006.01)  
**A61K 31/428** (2006.01)  
**A61P 3/08** (2006.01)  
**A61P 3/10** (2006.01)  
**A61P 5/50** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.01.2008** **PCT/AU2008/000089**

87 Fecha y número de publicación internacional: **31.07.2008** **WO08089521**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.01.2008** **E 08700385 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.12.2017** **EP 2106260**

54 Título: **Sensibilizadores a la insulina y métodos de tratamiento**

30 Prioridad:

**25.01.2007 US 897769 P**  
**17.04.2007 AU 2007902013**  
**31.10.2007 US 984335 P**  
**11.12.2007 US 7376 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**21.03.2018**

73 Titular/es:

**NAIA METABOLIC, INC. (100.0%)**  
**94 Solaris Avenue Camana Bay P.O. Box 1348**  
**Grand Cayman KY1-1108, KY**

72 Inventor/es:

**COLLIER, GREGORY, ROYCE;**  
**WALDER, KENNETH, RUSSELL;**  
**CAMPBELL, JAMES, ALEXANDER;**  
**MOLERO-NAVAJAS, JUAN-CARLOS;**  
**KONSTANTOPOULOS, NICKY y**  
**KRIPPNER, GUY, YEOMAN**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

ES 2 660 170 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Sensibilizadores a la insulina y métodos de tratamiento

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere en términos generales al campo de la terapia. La invención se refiere en particular a sensibilizadores a la insulina y a métodos de regulación de la homeostasis de la glucosa y al tratamiento terapéutico o profiláctico de enfermedades y afecciones asociadas, en las que está involucrada o implicada una captación alterada de glucosa debido a resistencia a la insulina, tales como diabetes, síndrome X, hiperglucemia, enfermedad vascular y enfermedad renal. La presente invención también se refiere a compuestos y agentes y a las composiciones de los mismos para su uso en los métodos de tratamiento.

15 Descripción de la técnica relacionada

La referencia en la presente memoria descriptiva a cualquier publicación anterior (o información obtenida a partir de la misma), o a cualquier materia que se conozca, no se toma, y no se debería tomar, como un reconocimiento o admisión o cualquier forma de sugerencia de que esa publicación anterior (o la información obtenida a partir de la misma) o la materia conocida forme parte del conocimiento general habitual en el campo de trabajo al que se refiere la presente memoria descriptiva.

La glucosa es la fuente de energía preferente del cuerpo. Una vez entra en el torrente sanguíneo, se requiere la ayuda de la insulina para que entre en las células hepáticas, musculares y adiposas con el fin de almacenarse o utilizarse. En un individuo sano, la homeostasis de la glucosa se controla principalmente mediante la insulina. A medida que aumentan los niveles de glucosa en la sangre, tal como después de comer, las células  $\beta$  especializadas del páncreas liberan insulina que estimula la captación de glucosa, el metabolismo intracelular y la síntesis de glucógeno mediante los tejidos diana del cuerpo. De ese modo, en los individuos sanos, las concentraciones de glucosa se encuentran estrictamente controladas, por lo general en el intervalo de 80-110 mg/dl. Sin embargo, cuando el páncreas produce una respuesta de insulina inadecuada, o las células diana no responden de forma apropiada a la insulina producida, la glucosa no puede entrar en las células del cuerpo. Esto da como resultado una rápida acumulación de glucosa en el torrente sanguíneo (hiperglucemia).

Los niveles elevados de glucosa en sangre pueden causar a lo largo del tiempo enfermedad cardiovascular, daño retinal, insuficiencia renal, daño nervioso, disfunción eréctil y gangrena (con el riesgo de amputación). Además, en ausencia de glucosa disponible, las células recurren a las grasas como fuente de energía alternativa. Las cetonas resultantes, un producto de la hidrólisis de las grasas, se acumulan en el torrente sanguíneo induciendo hipotensión y choque, coma e incluso la muerte.

El aumento crónico de los niveles de glucosa en sangre (mayores de aproximadamente 126 mg/dl) resultantes de la secreción inadecuada de insulina y/o una respuesta o sensibilidad inadecuada a la insulina se denomina diabetes, una enfermedad que en la actualidad padece más de un 10 % de los adultos de los Estados Unidos de América. Uno de los rasgos diagnósticos principales del síndrome diabético es la pérdida del individuo del control de la homeostasis de la glucosa, de un modo tal que los niveles postprandiales de glucosa en sangre permanecen elevados durante más tiempo después de las comidas, y de hecho pueden permanecer elevados durante períodos prolongados de tiempo. La enfermedad se puede caracterizar por hiperglucemia persistente, poliuria, polidipsia y/o hiperfagia, complicaciones microvasculares crónicas tales como retinopatía, nefropatía y neuropatía, y complicaciones macrovasculares, tales como hiperlipidemia e hipertensión que pueden conducir a ceguera, enfermedad renal de estadio final, amputación de miembros e infarto de miocardio. Los tres tipos más habituales de diabetes son de tipo I, de tipo II y gestacional.

El tipo I, conocido como diabetes mellitus insulino dependiente (IDDM), o diabetes de inicio en la juventud, se produce en un 10-15 % de todos los casos. Es la que se diagnostica con mayor frecuencia en niños y adolescentes pero también se puede producir en adultos jóvenes. Está caracterizada por la destrucción de las células  $\beta$  que da como resultado la pérdida de la función secretora de la insulina. La mayoría de los casos están relacionados con la destrucción autoinmune de las células  $\beta$ . El tratamiento es mediante inyección de insulina y se debe continuar indefinidamente.

Por el contrario, en la diabetes de tipo II, conocida como diabetes mellitus no insulino dependiente (NIDDM) o diabetes de inicio tardío, los niveles de insulina son inicialmente normales pero las células diana del cuerpo pierden su capacidad de respuesta frente a la insulina. Esto se conoce como resistencia o insensibilidad a la insulina. A modo de compensación, el páncreas comienza a segregar insulina en exceso aunque, sin embargo, en el momento en el que el páncreas pierde la capacidad de producir suficiente insulina da como resultado una hiperglucemia crónica. Los síntomas iniciales son por lo general más suaves que para el tipo I y la afección puede permanecer sin diagnosticar durante muchos años antes de que se presenten síntomas más graves. Se considera que el estilo de vida (dieta pobre e inactividad) es el factor mediador principal de la afección, aunque una predisposición genética aumenta el riesgo. El tratamiento se centra en la modificación del estilo de vida, terapia de insulina y/o agentes

antidiabéticos que aumentan la sensibilidad del paciente a la insulina (sensibilizadores a la insulina) o mediante el aumento de la producción de insulina del paciente (secretagogos de insulina). La experiencia clínica ha demostrado que la intervención terapéutica óptima es la monoterapia mediante un sensibilizador a la insulina o un secretagogo de insulina, seguido de terapias que usan un sensibilizador y un secretagogo en combinación.

La diabetes gestacional se produce en aproximadamente un 2-5 % de todos los embarazos. Es temporal, pero si no se trata puede causar complicaciones fetales. La mayoría de las que la padecen presentan una recuperación completa después del nacimiento. Sin embargo, una proporción de las mujeres que desarrollan diabetes gestacional pasan a desarrollar diabetes de tipo II.

Otras causas menos habituales de la diabetes incluyen defectos genéticos en las células  $\beta$ , resistencia a la insulina relacionada genéticamente, enfermedades del páncreas, defectos hormonales, malnutrición e influencias químicas o farmacológicas.

La alteración de la tolerancia a la glucosa y la alteración de la glucosa en ayunas, son estados diabéticos previos al tipo II, estrechamente relacionados con el tipo II, y se producen cuando el nivel de glucosa en sangre es mayor de lo normal, pero no lo suficientemente alto para clasificarse como diabetes (aproximadamente 110-126 mg/dl). Al igual que el tipo II, el cuerpo produce insulina pero en una cantidad insuficiente o las células diana no tienen capacidad de respuesta frente a la insulina producida.

El síndrome X, también conocido como síndrome de resistencia a la insulina (IRS) es una agrupación de factores de riesgo para enfermedad cardíaca y está asociado con resistencia a la insulina. Presenta síntomas o factores de riesgo para el desarrollo de diabetes de tipo II y enfermedad cardíaca incluyendo obesidad, aterosclerosis, hipertrigliceridemia, bajo nivel de colesterol HDL, hiperinsulinemia, hiperglucemia, hipertensión, alteración de la tolerancia a la glucosa y alteración de la glucosa en ayunas. Los niveles elevados de glucosa en sangre y la resistencia a la insulina también están asociados a la enfermedad de hígado graso, que puede progresar a inflamación crónica, fibrosis y cirrosis.

Por lo tanto, es evidente que la resistencia, o la insensibilidad, a la insulina puede desempeñar un papel significativo en las afecciones diabéticas y otras afecciones relacionadas con la hiperglucemia.

La última estimación de la OMS (del número de personas con diabetes, a nivel mundial, en 2003) es 194 millones. Esto se espera que aumente al menos a 330 millones en 2025 y se estima que existen aproximadamente 4 millones de muertes al año relacionadas con el trastorno.

La metformina, un miembro de la clase de compuestos de las biguanidas, es un agente antihiper glucémico que mejora la tolerancia a la glucosa en pacientes con diabetes de tipo II, disminuyendo la glucosa en plasma tanto basal como postprandial. Sus mecanismos de acción farmacológicos son diferentes de las otras clases de agentes antihiper glucémicos orales. La metformina disminuye la producción de glucosa hepática, disminuye la absorción intestinal de glucosa, y mejora la sensibilidad a la insulina por aumento de la captación y utilización periférica de glucosa. Se considera el agente antihiper glucémico oral de elección en el tratamiento de diabetes de tipo II, ya sea como monoterapia o junto con otros agentes antidiabéticos tales como sulfonilureas. Aunque no existe ninguna cantidad de dosificación fija - las dosificaciones se individualizan basándose en la eficacia y la tolerancia, comenzando generalmente con dosis una o dos veces diarias de 500 u 850 mg al día - en general, una vez se estabilizan los regímenes de tratamiento, las dosificaciones de la forma de sal de adición de ácido clorhídrico para adultos son al menos aproximadamente 1500 mg al día (aproximadamente 1000 mg para pacientes pediátricos de 10-16 años). La dosis diaria máxima es de 2550 mg al día (2000 mg para pacientes pediátricos de 10-16 años). Se toman generalmente dosificaciones diarias, particularmente hacia el extremo superior del intervalo, 2-3 veces al día en dosificaciones de 500, 850 o 1000 mg por comprimido. En la forma de liberación lenta, la dosis total se toma una vez al día.

Sin embargo, la eficacia de la metformina disminuye con el tiempo y el fármaco no carece de efectos secundarios adversos adicionales. El más habitual de estos es molestias gástricas, que incluyen diarrea, calambres intestinales, náuseas y vómitos. Las dosis a largo plazo y superiores también están asociadas con deficiencias de vitamina B<sub>12</sub>. El efecto secundario más grave asociado a la metformina es la acidosis láctica, una complicación metabólica poco frecuente pero grave que se puede producir debido a la acumulación de metformina. Cuando se produce, es fatal en aproximadamente un 50 % de los casos. Los casos informados se han producido principalmente en pacientes con insuficiencia renal significativa. El riesgo se puede disminuir mediante la monitorización regular de la función renal y el uso de una dosis mínima eficaz. Las dosis elevadas también aumentan el riesgo de no cumplimiento del paciente. La metformina está contraindicada en pacientes con enfermedad o disfunción renal, o acidosis aguda o crónica.

Las anhidrasas carbónicas (CA) son metaloproteinasas que catalizan la interconversión vital entre dióxido de carbono y bicarbonato. Esta reacción es crítica para numerosos mecanismos fisiológicos que incluyen la respiración y el transporte de CO<sub>2</sub> entre los tejidos que lo metabolizan y los sitios de excreción, la secreción de electrolitos en una diversidad de tejidos y órganos, la regulación y homeostasis del pH, y diversas rutas metabólicas. Las CA son ubicuas en todos los reinos y las  $\alpha$ -CA están presentes en los mamíferos en al menos 15 isoformas diferentes. Las

diversas isoformas tienen una amplia distribución tisular apareciendo como formas citosólicas (CAI, CAII, CAIII, CAVII, CAXIII), en forma mitocondrial (CAV), como isoenzimas unidas a membrana (CAIV, CAIX, CAXII, CAXIV), como una forma secretada (CAVI) así como en formas acatalíticas. Se ha mostrado que el ion  $Zn(II)$  de las CA es esencial para la catálisis.

Los inhibidores de la anhidrasa carbónica (CAI) son agentes terapéuticos bien establecidos, empleados inicialmente como diuréticos pero principalmente en el tratamiento de glaucoma. En el riñón, la inhibición de la anhidrasa carbónica disminuye la reabsorción de bicarbonato sódico por parte de los túbulos renales, y el aumento de la excreción de sodio, potasio, bicarbonato, y agua (Jackson, E.K. en Goodman and Gilman, *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 10ª Ed. McGraw-Hill, Nueva York 2001). En el ojo, la inhibición de la anhidrasa carbónica disminuye la formación de bicarbonato en el cuerpo ciliar. El transporte conjunto de sodio con bicarbonato es responsable del 70 % del sodio que entra en la cámara posterior del ojo, y el agua sigue al sodio para formar el humor acuoso, reducción que es necesaria en el tratamiento de glaucoma (Alward, W.L.M., *New Engly Journal of Medicine*, 1998 339 1298). Los inhibidores pueden ser no específicos o, alternativamente, pueden ser específicos de uno o más subtipos de enzimas. Actúan por unión del ion  $Zn(II)$  a la enzima. Las CAI se pueden dividir en términos generales en dos clases principales: los aniones complejantes de metales y las sulfonamidas, uniéndose mediante la sustitución de un ligando de cinc no proteico o la adición a la esfera de coordinación metálica. Se ha mostrado que las sulfonamidas, que portan un grupo sulfonamida sin sustituir ( $-SO_2NH_2$ ), actúan por unión, en estado desprotonado, a la geometría tetraédrica del ion  $Zn(II)$ , mediante lo cual el átomo de nitrógeno de la sulfonamida se coordina al  $Zn(II)$  y el hidrógeno del resto  $NH$  y uno de los átomos de oxígeno participan en la unión de hidrógeno con la proteína.

Existe una considerable evidencia en la bibliografía de que las isoenzimas de la anhidrasa carbónica desempeñan un papel crítico en el metabolismo de la energía. A principios de 1900, Krebs identificó la CA como la enzima que facilita la incorporación del dióxido de carbono a la ruta de la gluconeogénesis. Se identificó que la isoenzima V de la CA está localizada en la mitocondria. En una investigación posterior se identificó que la CA desempeña un papel en la lipogénesis (Lynch, C.J. *et al.*, *Biochem. J.*, 1995, 310, 197 y Faseb, J., 1996, 10, 481) y se han realizado reivindicaciones en lo que respecta a la utilidad de los inhibidores de anhidrasa carbónica en el tratamiento de la obesidad (documento de Patente US 20020022245).

El documento de Patente US 20020022245 enseña el uso de los CAI, como una clase general de compuestos, en el tratamiento o la prevención de obesidad. Los compuestos se describen como inhibidores de la lipogénesis *de novo*, describiéndose el topiramato como un ejemplo específico. Aunque existe una conexión casual entre la obesidad y la diabetes, y el tratamiento de la obesidad puede mejorar los efectos de flujo continuo en los síntomas de las afecciones diabéticas a través de la pérdida de peso corporal, estos efectos de flujo continuo solo se observan después del tratamiento durante varias semanas y solo se producen después de una pérdida significativa de peso corporal.

Sin embargo, se observa que ha existido una traducción limitada de compuestos farmacéuticos antiobesidad de modelos animales en compuestos farmacéuticos que hayan recibido la aprobación reguladora para su comercialización, y que para las pocas terapias antiobesidad que están disponibles para prescripción existen efectos secundarios y un beneficio clínico limitado asociado a su uso.

Dada la prevalencia de la diabetes y de otras enfermedades y afecciones a las que está asociada la resistencia a la insulina, y sus consecuencias potenciales, aún permanece la necesidad de nuevos protocolos terapéuticos para el tratamiento y/o la prevención de afecciones en las que la resistencia a la insulina o los niveles elevados de glucosa en sangre son un factor causal o contribuyente.

#### Sumario de la invención

Los presentes inventores han descubierto sorprendentemente que ciertos compuestos que tienen actividad inhibidora de CA actúan para regular o modular los niveles de glucosa en sangre. Sin quedar limitados por la teoría, los inhibidores de anhidrasa carbónica (CAI), pueden mejorar o aliviar la resistencia a la insulina en las células, tales como adipocitos o células del músculo esquelético, resensibilizando de forma eficaz las células a la acción de la insulina y permitiendo de ese modo una reducción de los niveles elevados de glucosa en sangre. Tales compuestos pueden tener utilidad terapéutica en el tratamiento o la prevención de enfermedades, y las afecciones y los síntomas asociados, en las que está implicada la resistencia a la insulina, proporcionando un control directo sobre los niveles de glucosa en sangre para pacientes que son diabéticos o prediabéticos. La respuesta celular a los CAI se produce rápidamente y no depende de los cambios del contenido celular de lípidos.

Además, se ha descubierto que algunos CAI que también son diuréticos del asa o diuréticos de tiazida, no proporcionan un beneficio similar *in vivo*.

Por lo tanto, la presente invención se refiere a una metazolamida o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de la misma, para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección, o un síntoma de la misma, en la que está implicada la resistencia a la insulina.

Por lo tanto, un aspecto de la presente divulgación proporciona de ese modo un método para aumentar la captación de glucosa por parte de una célula que comprende poner en contacto dicha célula con un compuesto inhibidor de anhidrasa carbónica que es un compuesto de sulfonamida ( $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ ), o un isómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o profármaco del mismo; con la condición de que el compuesto no sea también un diurético del asa o un diurético de tiazida, y con la condición adicional de que el compuesto no sea topiramato o zonisamida.

Los métodos para aumentar la captación de glucosa por parte de una célula, por ejemplo adipocitos o células musculares o hepáticas, se pueden llevar a cabo *in vivo* o *in vitro*.

De forma ventajosa, los compuestos contemplados por la invención pueden dar como resultado la disminución de niveles elevados de glucosa en sangre, y de ese modo pueden tener utilidad en el tratamiento de resistencia a la insulina y las enfermedades o afecciones en las que está implicada la resistencia a la insulina. Los compuestos contemplados por la presente invención también pueden tener utilidad en el mantenimiento de los niveles normales de glucosa en sangre en estado de ayunas en pacientes que aún no presentan niveles de glucosa en sangre diabéticos o prediabéticos y de ese modo pueden prevenir o retrasar el desarrollo de una afección diabética o prediabética en un paciente que, por ejemplo, puede estar predispuesto a tal afección por factores de historia familiar o estilo de vida.

De ese modo, en otro aspecto, la presente invención se refiere a una metazolamida o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de la misma, para su uso en la disminución de niveles elevados o el mantenimiento de niveles normales de glucosa en sangre en un sujeto.

En ciertas realizaciones de la invención, la enfermedad o afección es diabetes de tipo II, diabetes gestacional, tolerancia alterada a la glucosa, alteración de la glucosa en ayunas o síndrome X.

Aspectos adicionales de la divulgación proporcionan un compuesto inhibidor de anhidrasa carbónica que es un compuesto de sulfonamida ( $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ ), o un isómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o profármaco del mismo; para su uso en terapia, particularmente para regular la homeostasis de la glucosa, tratar resistencia a la insulina, y/o tratar una enfermedad o trastorno, o uno o más síntomas de la misma, en la que está implicada la resistencia a la insulina, con la condición de que el compuesto no sea un diurético del asa o un diurético de tiazida, y la condición adicional de que el compuesto no sea topiramato o zonisamida.

La presente divulgación también proporciona agentes y composiciones para tratar resistencia a la insulina, disminuir niveles elevados o mantener niveles normales en sangre y/o tratar una enfermedad o afección, o uno o más síntomas de la misma, en la que está implicada la resistencia a la insulina, que comprenden un compuesto inhibidor de anhidrasa carbónica que es un compuesto de sulfonamida ( $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ ), o un isómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o profármaco del mismo; con la condición de que el compuesto no sea un diurético del asa o un diurético de tiazida, y la condición adicional de que el compuesto no sea topiramato o zonisamida.

Los sujetos que se tratan de acuerdo con la invención se pueden seleccionar basándose en que requieran dicho tratamiento con los compuestos CAI contemplados por la invención, es decir, los compuestos CAI se administran con el fin de aumentar la captación de glucosa, tratar la resistencia a la insulina, disminuir los niveles elevados o mantener los niveles normales en sangre y/o tratar una enfermedad o afección, o uno o más síntomas de la misma, en la que está implicada la resistencia a la insulina.

En ciertas realizaciones de la invención, el CAI se usa como sensibilizador a la insulina en monoterapia, es decir, el CAI es básicamente el único agente activo administrado con el fin de conseguir el efecto terapéutico deseado. En otras realizaciones de la invención, el CAI se usa como sensibilizador a la insulina en combinación con uno o más agentes antidiabéticos distintos tales como secretagogos de insulina. De ese modo, en un aspecto adicional, la presente invención proporciona metazolamida o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de la misma, para administración en combinación, ya sea simultáneamente, separadamente o secuencialmente, con un compuesto antidiabético seleccionado entre tiazolidinadionas, metformina, insulina, sulfonilureas, meglitimidas, inhibidores de  $\alpha$ -glucosidasa e inhibidores de DPPIV, para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección, o síntoma de la misma, en la que está implicada la resistencia a la insulina. En otro aspecto adicional, la presente invención proporciona metazolamida o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de la misma, para administración en combinación, ya sea simultáneamente, separadamente o secuencialmente, con un compuesto antidiabético seleccionado entre tiazolidinadionas, metformina, insulina, sulfonilureas, meglitimidas, inhibidores de  $\alpha$ -glucosidasa e inhibidores de DPPIV, para su uso en la disminución de niveles elevados o el mantenimiento de niveles normales de glucosa en sangre en un sujeto. En otras realizaciones más de la invención, el CAI se usa en combinación con metformina, o sus sales farmacéuticamente aceptables.

En la presente invención, el CAI es metazolamida o sales farmacéuticamente aceptables de la misma. En ejemplos adicionales de esta realización, la metazolamida se administra en un régimen en combinación con metformina o sus sales farmacéuticamente aceptables.

De ese modo, en otras realizaciones adicionales de la invención se proporciona una combinación que comprende metformina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, y metazolamida o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

- 5 La combinación de la invención se puede administrar en forma de una composición individual de los dos agentes o puede comprender cada agente como un componente individual. Cuando se administran los agentes activos en forma de componentes individuales, se pueden administrar secuencial o simultáneamente.

#### Descripción detallada de la invención

- 10 En la presente memoria descriptiva y las reivindicaciones que siguen a continuación, a menos que el contexto lo requiera de otro modo, se entenderá que la palabra "comprender" y las variaciones tales como "comprende" y "que comprende" implican la inclusión de un número entero o etapa o grupo de números enteros indicado pero no la exclusión de ningún otro número entero o etapa o grupo de números enteros.

- 15 Las formas en singular "un", "uno", "una", "el" y "la", incluyen los aspectos en plural a menos que el contexto lo dicte claramente de otro modo.

- 20 El compuesto contemplado por la presente invención es metazolamida, que tiene actividad inhibidora de anhidrasa carbónica, es decir, es capaz de inhibir al menos una anhidrasa carbónica en mamíferos, por ejemplo al menos una anhidrasa carbónica humana, tal como las isoformas que se han discutido anteriormente en el presente documento. El compuesto puede tener actividad inhibidora frente a cierto número de subtipos de CA (isoformas) o puede inhibir solo un subtipo de CA o un grupo definido de subtipos, es decir, demostrar selectividad o afinidad por uno o más subtipos en presencia de los otros. En ciertas realizaciones de la invención, el compuesto exhibe selectividad o afinidad por la isoforma V sobre otras isoformas. Sin embargo, se ha de indicar que aunque el compuesto que se contempla en el presente documento se puede clasificar convenientemente basándose en que tiene actividad inhibidora de anhidrasa carbónica, puede ser o no ser el mecanismo mediante el que el compuesto consigue los efectos terapéuticos descritos.

- 30 El término "isótero", tal como cuando se usa por referencia al grupo sulfonamida, se refiere a un grupo funcional con las mismas propiedades fisicoquímicas requeridas para la actividad deseada, que pueden incluir electronegatividad, estérico, tamaño, lipofilicidad y, en particular, para el grupo sulfonamida ( $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ ) capacidad de unión a cinc. Como el grupo  $-\text{SO}_2\text{NH}_2$  sin sustituir, los isóteros que se contemplan en el presente documento son capaces de unirse al Zn de la enzima CA. Algunos ejemplos de isóteros de sulfonamidas incluyen los grupos: - $\text{SO}_2\text{NHOH}$ , - $\text{SO}_2\text{NHSH}$ , - $\text{SO}_2\text{NHCN}$ , - $\text{SO}_2\text{NHNH}_2$ , - $\text{SO}_2\text{NH-1-imidazolilo}$ , - $\text{SO}_2\text{NHPO}_3\text{H}_2$ , - $\text{SO}_2\text{NHSO}_2\text{NH}_2$ , - $\text{SO}_2\text{NHSO}_2\text{OH}$ , - $\text{OSO}_2\text{NH}_2$ , - $\text{OSO}_2\text{NHOH}$ , - $\text{OSO}_2\text{NHPO}_3\text{H}_2$ , - $\text{OSO}_2\text{NHSO}_2\text{NH}_2$ , - $\text{OSO}_2\text{NHSO}_2\text{OH}$ , - $\text{NSO}_2\text{NH}_2$ , - $\text{NSO}_2\text{NHOH}$ , - $\text{NSO}_2\text{NHPO}_3\text{H}_2$ , - $\text{NSO}_2\text{NHSO}_2\text{NH}_2$ , - $\text{NSO}_2\text{NHSO}_2\text{OH}$ , - $\text{NSO}_2\text{NH}_2$ , - $\text{NHCONH}_2$ , - $\text{ONHCONH}_2$  y - $\text{ONHCOR}$ , donde R es H o alquilo  $\text{C}_{1-6}$ .

- 40 Los compuestos que son CAI se conocen bien en la técnica, véase, por ejemplo, Pastorekova *et al.*, Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 19(3), 199-229, 2004. Los métodos para determinar la actividad inhibidora de anhidrasa carbónica de un compuesto, es decir, si un compuesto se puede clasificar como CAI, se conocen en la técnica y pueden identificar de forma útil compuestos adicionales que pueden ser adecuados para su uso en la presente invención. Algunos métodos a modo de ejemplo y los niveles de actividad requeridos para la consideración como CAI se describen en el documento de Patente US 20020022245 y las referencias que se citan en ese documento, en particular Supuran *et al.*, European journal of Medicinal Chemistry, 1998, 33, 577-594 y Scozzafava *et al.*, Journal of Medicinal Chemistry, 1999, 42 25, 3690-3700).

- 50 En la siguiente Tabla A se representa cierto número de CAI conocidos.

Tabla A: Inhibidores de anhidrasa carbónica conocidos

| Compuesto                 | $\text{CI}_{50}$ (nM) | Referencia                                                                        |
|---------------------------|-----------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| Diclorfenamida            | 38                    | Nishimori <i>et al.</i> Journal of Medicinal Chemistry (2005), 48(24), 7860-7866. |
| Zonisamida                | 35                    | Teperini <i>et al.</i> Bioorganic & Medicinal Chemistry (2007)                    |
| Sulpirida                 | 40                    | Nishimori <i>et al.</i> Journal of Medicinal Chemistry (2005), 48(24), 7860-7866. |
| Metazolamida              | 14                    | Nishimori <i>et al.</i> Journal of Medicinal Chemistry (2005), 48(24), 7860-7866. |
| 2-aminobencenosulfonamida | 295                   | Nishimori <i>et al.</i> Journal of Medicinal Chemistry (2005), 48(24), 7860-7866. |

| Compuesto     | Cl <sub>50</sub> (nM) | Referencia                                                                        |
|---------------|-----------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| Furosemida    | 80                    | Supuran <i>et al.</i> European Journal of Medicinal Chemistry (1997) 32 311       |
| Clorotiazida  | 460                   | Supuran <i>et al.</i> European Journal of Medicinal Chemistry (1997) 32 311       |
| Clortalidona  | 260                   | Iyer <i>et al.</i> Journal of Biomolecular Screening (2006) 11 782                |
| Etozolamida   | 8                     | Nishimori <i>et al.</i> Journal of Medicinal Chemistry (2005), 48(24), 7860-7866. |
| Dorzolamida   | 9                     | Nishimori <i>et al.</i> Journal of Medicinal Chemistry (2005), 48(24), 7860-7866. |
| Acetazolamida | 12                    | Nishimori <i>et al.</i> Journal of Medicinal Chemistry (2005), 48(24), 7860-7866. |

Los compuestos a partir de los que se pueden seleccionar sulfonamidas o isómeros que tienen actividad inhibidora de CA se pueden definir mediante la Fórmula (I):

5 A-W-X (I)

en la que

X es SONH<sub>2</sub> o un isómero del mismo;

W es un enlace directo entre A y X, o una cadena de alquileo de 1 a 5 átomos de carbono, en la que un grupo CH<sub>2</sub> puede estar reemplazado con O, S o NH;

A es un grupo seleccionado entre alquilo, alqueno, alquino, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, carbocíclico, carbociclicilalquilo, heterocíclico y heterociclicilalquilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido.

Como se usa en el presente documento, el término "alquilo", usado solo o en palabras compuestas, representa restos de hidrocarburo saturado de cadena lineal, o ramificado, preferentemente alquilo C<sub>1-20</sub>, por ejemplo C<sub>1-10</sub> o C<sub>1-6</sub>. Algunos ejemplos de alquilo de cadena lineal y ramificado incluyen metilo, etilo, *n*-propilo, isopropilo, *n*-butilo, *sec*-butilo, *t*-butilo, *n*-pentilo, 1,2-dimetilpropilo, 1,1-dimetil-propilo, hexilo, 4-metilpentilo, 1-metilpentilo, 2-metilpentilo, 3-metilpentilo, 1,1-dimetilbutilo, 2,2-dimetilbutilo, 3,3-dimetilbutilo, 1,2-dimetilbutilo, 1,3-dimetilbutilo, 1,2,2-trimetilpropilo, 1,1,2-trimetilpropilo, heptilo, 5-metilhexilo, 1-metilhexilo, 2,2-dimetilpentilo, 3,3-dimetilpentilo, 4,4-dimetilpentilo, 1,2-dimetilpentilo, 1,3-dimetilpentilo, 1,4-dimetilpentilo, 1,2,3-trimetilbutilo, 1,1,2-trimetilbutilo, 1,1,3-trimetilbutilo, octilo, 6-metilheptilo, 1-metilheptilo, 1,1,3,3-tetrametilbutilo, nonilo, y decilo. Cuando se hace referencia a un grupo alquilo generalmente como "propilo", "butilo", etc., se ha de entender que esto se puede referir a cualquier isómero lineal o ramificado cuando sea apropiado. Un grupo alquilo puede estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes opcionales como se definen en el presente documento.

El término "alqueno" como se usa en el presente documento representa grupos formados a partir de restos de hidrocarburo de cadena lineal o ramificado que contienen al menos un doble enlace carbono-carbono incluyendo grupos alquilo etilénicamente mono, di o poliinsaturados como se han definido anteriormente, preferentemente alqueno C<sub>2-20</sub> (por ejemplo, C<sub>2-10</sub> o C<sub>2-6</sub>). Algunos ejemplos de alqueno incluyen vinilo, alilo, 1-metilvinilo, butenilo, iso-butenilo, 3-metil-2-butenilo, 1-pentenilo, 1-hexenilo, 3-hexenilo, 1-heptenilo, 3-heptenilo, 1-octenilo, 1-nonenilo, 2-nonenilo, 3-nonenilo, 1-decenilo, 3-decenilo, 1,3-butadienilo, 1,4-pentadienilo, 1,3-hexadienilo y 1,4-hexadienilo. Un grupo alqueno puede estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes opcionales como se definen en el presente documento o por reemplazo de hasta uno, dos o tres átomos de C independientemente por O, N o S.

El término "alquino" representa grupos formados a partir de restos de hidrocarburo de cadena lineal o ramificado que contienen al menos un triple enlace carbono-carbono incluyendo grupos alquilo etilénicamente mono, di o poliinsaturados como se han definido anteriormente. A menos que se especifique el número de átomos de carbono, el término se refiere preferentemente a alquino C<sub>2-20</sub> (por ejemplo, C<sub>2-10</sub> o C<sub>2-6</sub>). Algunos ejemplos incluyen etinilo, 1-propinilo, 2-propinilo, e isómeros de butinilo, e isómeros de pentinilo. Un grupo alquino puede estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes opcionales como se definen en el presente documento o por reemplazo de hasta uno, dos o tres átomos de C independientemente por O, N o S.

El término "arilo" (o "carboarilo"), o la forma abreviada "ar" usada en palabras compuestas tales como "aralquilo", representa cualquier sistema de anillos de hidrocarburo mono, bi o policíclico (incluyendo conjugado y condensado) que contiene un resto aromático. Algunos ejemplos de arilo incluyen fenilo, bifenilo, terfenilo, cuaterfenilo, naftilo,

tetrahidronaftilo (tetralinilo), antraceno, dihidroantraceno, benzantraceno, dibenzantraceno, fenantreno, fluoreno, pireno, ideno, isoindeno, indano, azuleno y criseno. Algunos ejemplos particulares de arilo incluyen fenilo y naftilo. Un grupo arilo puede estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes opcionales como se definen en el presente documento.

El término "carbociclilo" incluye restos de hidrocarburo no aromático monocíclico, bicíclico y policíclico (incluyendo condensado, con puente o conjugado), por ejemplo C<sub>3-20</sub> (tal como C<sub>3-10</sub> o C<sub>3-8</sub>). Los anillos pueden estar saturados, por ejemplo cicloalquilo, o pueden poseer uno o más dobles enlaces (cicloalqueno) y/o uno o más triples enlaces (cicloalquino). Algunos ejemplos de carbociclilo incluyen sistemas de anillos monocíclicos de 5-6 miembros o bicíclicos de 9-10 miembros. Algunos ejemplos adecuados incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, ciclononilo, ciclodecilo, ciclopentenilo, ciclohexenilo, ciclooctenilo, ciclopentadienilo, ciclohexadienilo, ciclooctatetraenilo y decalinilo. Un grupo carbociclilo puede estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes opcionales como se definen en el presente documento. Un grupo mono carbociclilo puede estar sustituido con un grupo puente para formar un grupo bicíclico con puente.

El término "heterociclilo" cuando se usa solo o en palabras compuestas incluye cualquier resto de hidrocarburo monocíclico, bicíclico y policíclico (incluyendo condensado, con puente o conjugado), tal como C<sub>3-20</sub> (por ejemplo, C<sub>3-10</sub> o C<sub>3-8</sub>) en el que uno o más átomos de carbono están reemplazados independientemente con un heteroátomo de un modo tal que proporcionen un grupo que contiene un anillo no aromático que contiene heteroátomos. Tales heteroátomos incluyen O, N, S, P y Se, particularmente O, N y S. Cuando se reemplazan dos o más átomos de carbono, esto puede ser con dos o más heteroátomos iguales o con heteroátomos diferentes. El grupo heterociclilo puede estar saturado o parcialmente insaturado, por ejemplo posee uno o más dobles enlaces. Los grupos heterociclilo particularmente preferentes son heterociclilo monocíclico de 5-6 miembros y bicíclico de 9-10 miembros. Algunos ejemplos adecuados de grupos heterociclilo pueden incluir aziridinilo, oxiranilo, tiiranilo, azetidínilo, oxetanilo, tietanilo, 2H-pirrolilo, pirrolidinilo, 1-, 2- y 3-pirrolinilo, piperidilo, piperazinilo, morfolinilo, indolinilo, imidazolidinilo, imidazolinilo, pirazolidinilo, tiomorfolinilo, dioxanilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidropiranilo, tetrahidropirrolilo, tetrahidrotiofenilo (sulfuro de tetrametileno), pirazolinilo, dioxalanilo, tiazolidinilo, isoxazolidinilo, dihidropiranilo, oxazinilo, tiazinilo, tiomorfolinilo, oxatianilo, ditianilo, trioxanilo, tiadiazinilo, ditiazinilo, tritiano, tiadiazolinilo, azepinilo, oxepinilo, tiepinilo, indenilo, indanilo, 3H-indolilo, isoindolinilo, 4H-quinolazinilo, cromenilo, cromanilo, isocromanilo, benzoxazinilo (2H-1,3, 2H-1,4-, 1H-2,3-, 4H-3,1- 4H-1,4) piranilo y dihidropiranilo. Un grupo heterociclilo puede estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes opcionales como se definen en el presente documento.

El término "heteroarilo" incluye cualquier resto de hidrocarburo monocíclico, bicíclico, policíclico (condensado o conjugado), en el que uno o más átomos de carbono están reemplazados con un heteroátomo de un modo tal que proporcionen un resto que tiene al menos un anillo aromático que contiene heteroátomos. Algunos heteroarilo a modo de ejemplo tienen 3-20 átomos de anillo, por ejemplo 3-10. Los heteroarilo particularmente preferentes son sistemas de anillos monocíclicos de 5-6 miembros y bicíclicos de 9-10 miembros. Algunos heteroátomos adecuados incluyen O, N, S, P y Se, particularmente O, N y S. Cuando se reemplazan dos o más heteroátomos, esto puede ser con dos o más heteroátomos iguales o con heteroátomos diferentes. Algunos ejemplos adecuados de grupos heteroarilo pueden incluir piridilo, pirrolilo, tienilo, imidazolilo, furanilo, benzotienilo, isobenzotienilo, benzofuranilo, isobenzofuranilo, indolilo, isoindolilo, pirazolilo, pirazinilo, pirimidinilo, piridazinilo, indolizínilo, quinolilo, isoquinolilo, ftalazinilo, 1,5-naftiridinilo, quinozalínilo, quinazolinilo, quinolinilo, oxazolilo, tiazolilo, benzotiazolilo, isotiazolilo, isoxazolilo, triazolilo, oxadiazolilo, oxatriazolilo, triazinilo, tetrazolilo y furazanilo. Un grupo heteroarilo puede estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes opcionales como se definen en el presente documento.

En la presente memoria descriptiva se toma "opcionalmente sustituido" para que signifique que un grupo puede estar sin sustituir o sustituido adicionalmente o condensado (de un modo tal que forme un grupo condensado bicíclico o policíclico) con uno, dos, tres o más grupos orgánicos e inorgánicos, incluyendo los que se seleccionan entre: grupos alquilo, alquenilo, alquinilo, carbocicilo, arilo, heterocicilo, heteroarilo, acilo, aralquilo, alquilarilo, alquilheterocicilo, alquilheteroarilo, alquilcarbocicilo, halo, haloalquilo, haloalquenilo, haloalquinilo, haloarilo, halocarbocicilo, haloheterocicilo, haloheteroarilo, haloacilo, haloarilalquilo, hidroxi, hidroxialquilo, hidroxialquenilo, hidroxialquinilo, hidroxicarbocicilo, hidroxiarilo, hidroxiheterocicilo, hidroxiheteroarilo, hidroxiacilo, hidroxialalquilo, alcoxialquilo, alcoxialquenilo, alcoxialquinilo, alcoxicarbocicilo, alcoxiarilo, alcoxiheterocicilo, alcoxiheteroarilo, alcociacilo, alcoxialalquilo, alcoxil, alquenilo, alquinilo, alquiloxi, ariloxi, carbociciloxi, aralquilo, heteroariloxi, heterociciloxi, aciloxi, haloalcoxi, haloalquenilo, haloalquinilo, haloarilo, halocarbocicilo, haloarilalquilo, haloheteroariloxi, haloheterociciloxi, haloaciloxi, nitro, nitroalquilo, nitroalquenilo, nitroalquinilo, nitroarilo, nitroheterocicilo, nitroheteroarilo, nitrocarbocicilo, nitroacilo, nitroaralquilo, amino (NH<sub>2</sub>), alquilamino, dialquilamino, alquenilamino, alquinilamino, arilamino, diarilamino, aralquilamino, diaralquilamino, acilamino, diacilamino, heterociclamino, heteroarilamino, carboxi, carboxiéster, amido, alquilsulfonilo, arilsulfenilo, alquilsulfenilo, arilsulfenilo, tio, alquiltio, alqueniltio, alquiltio, ariltio, aralquiltio, carbociciltio, heterociciltio, heteroariltio, aciltio, sulfóxido, sulfonilo, sulfonamido, aminoalquilo, aminoalquenilo, aminoalquinilo, aminocarbocicilo, aminoarilo, aminoheterocicilo, aminoheteroarilo, aminoacilo, aminoaralquilo, tioalquilo, tioalquenilo, tioalquinilo, tiocarbocicilo, tioarilo, tioheterocicilo, tioheteroarilo, tioacilo, tioaralquilo, carboxialquilo, carboxialquenilo, carboxialquinilo, carboxicarbocicilo, carboxiarilo, carboxiheterocicilo, carboxiheteroarilo, carboxiacilo, carboxialalquilo, carboxiesteralquilo, carboxiesteralquenilo, carboxiesteralquinilo, carboxiestercarbocicilo, carboxiesterarilo.

- carboxiesterheterociclilo, carboxiesterheteroarilo, carboxiesteracilo, carboxiesteraralquilo, amidoalquilo, amidoalquenilo, amidoalquinilo, amidocarbociclilo, amidoarilo, amidoheterociclilo, amidoheteroarilo, amidoacilo, amidoar-alquilo, formilalquilo, formilalquenilo, formilalquinilo, formilcarbociclilo, formilarilo, formilheterociclilo, formilheteroarilo, formilacilo, formilaralquilo, acilalquilo, acilalquenilo, acilalquinilo, acilcarbociclilo, acilarilo, acilheterociclilo, acilheteroarilo, acilacilo, acilaralquilo, sulfoxidealquilo, sulfoxidealquenilo, sulfoxidoalquinilo, sulfoxidocarbociclilo, sulfoxidoarilo, sulfoxidoheterociclilo, sulfoxidoheteroarilo, sulfoxidoacilo, sulfoxidoaralquilo, sulfonilalquilo, sulfonilalquenilo, sulfonilalquinilo, sulfonilcarbociclilo, sulfonilarilo, sulfonilheterociclilo, sulfonilheteroarilo, sulfonilacilo, sulfonilaralquilo, sulfonamidoalquilo, sulfonamidoalquenilo, sulfonamidoalquinilo, sulfonamidocarbociclilo, sulfonamidoarilo, sulfonamidoheterociclilo, sulfonamidoheteroarilo, sulfonamidoacilo, sulfonamidoaralquilo, nitroalquilo, nitroalquenilo, nitroalquinilo, nitrocarbociclilo, nitroarilo, nitroheterociclilo, nitroheteroarilo, nitroacilo, nitroaralquilo, ciano, sulfato, sulfonato, fosfonato y fosfato. Los sustituyentes opcionales también incluyen =O, =S, =CHR y =NR, es decir cuando un grupo CH<sub>2</sub> en una cadena o anillo está reemplazado con un grupo carbonilo (C=O) (oxo), o un grupo tiocarbonilo (C=S) (tioxo) o un grupo C=CHR o C=NR (donde R es hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, alquenilo C<sub>2-6</sub>, alquinilo C<sub>2-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, C(O)H, C(O)alquilo C<sub>1-6</sub>, C(O)fenilo, C(O)NH<sub>2</sub>, C(O)NHalquilo C<sub>1-6</sub>, C(O)NHfenilo, C(O)(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>fenilo y C(O)NH(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>fenilo (en la que n es 1-6 y fenilo puede estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente entre alquilo C<sub>1-6</sub>, halo, hidroxi, hidroxialquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>alquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>alcoxi C<sub>1-6</sub>, haloalquilo C<sub>1-6</sub>, haloalcoxi C<sub>1-6</sub>, ciano, nitro, OC(O)alquilo C<sub>1-6</sub>, NH<sub>2</sub>, NHalquilo C<sub>1-6</sub>, NHC(O)alquilo C<sub>1-6</sub> y NCalquil C<sub>1-6</sub>alquilo C<sub>1-6</sub>)), o donde 2 átomos de carbono adyacentes o no adyacentes (por ejemplo, 1,2- o 1,3) están sustituidos con un extremo cada uno de un grupo -O-(CH<sub>2</sub>)-O- o -NR<sup>x</sup>-(CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>-NR<sup>x</sup>-, en la que s es 1 o 2 y cada R<sup>x</sup> es independientemente H o alquilo C<sub>1-6</sub>, y donde 2 átomos adyacentes o no adyacentes, seleccionados independientemente entre C y N, están sustituidos con un extremo cada uno de un grupo alquilenilo C<sub>1-5</sub> o alquenilenilo C<sub>2-5</sub> (de un modo tal que se forme un grupo con puente).
- Algunos sustituyentes opcionales a modo de ejemplo incluyen los que se seleccionan entre: alquilo, (por ejemplo, alquilo C<sub>1-6</sub> tal como metilo, etilo, propilo, butilo), cicloalquilo (por ejemplo, cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, tal como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo o ciclohexilo), hidroxialquilo (por ejemplo, hidroxialquilo C<sub>1-6</sub>, tal como hidroximetilo, hidroxietilo, hidroxipropilo), alcoxialquilo (por ejemplo, alcoxi C<sub>1-6</sub>alquilo C<sub>1-6</sub>, tal como metoximetilo, metoxietilo, metoxipropilo, etoximetilo, etoxietilo, etoxipropilo), alcoxi (por ejemplo, alcoxi C<sub>1-6</sub>, tal como metoxi, etoxi, propoxi, butoxi), alcoxialcoxi (por ejemplo, alcoxi C<sub>1-6</sub>alcoxi C<sub>1-6</sub>, tal como metoximetoxi, metoxietoxi, metoxipropoxi, etoximetoxi, etoxietoxi, etoxipropoxi, propoximetoxi, propoxietoxi, propoxipropoxi) cicloalcoxi (por ejemplo, ciclopropoxi, ciclobutoxi, ciclopentoxilo, ciclohexiloxi), halo, haloalquilo (por ejemplo, haloalquilo C<sub>1-6</sub>, tal como clorometilo, difluorometilo, trifluorometilo, triclorometilo, tribromometilo), haloalcoxi (por ejemplo, haloalcoxi C<sub>1-6</sub>), hidroxi, tio (-SH), sulfonilo, sulfonamido, fenilo (que puede estar sustituido además, por ejemplo, con uno o más alquilo C<sub>1-6</sub>, halo, hidroxi, hidroxialquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>alquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>alcoxi C<sub>1-6</sub>, haloalquilo C<sub>1-6</sub>, haloalcoxi C<sub>1-6</sub>, ciano, nitro, OC(O)alquilo C<sub>1-6</sub>, NH<sub>2</sub>, NHalquilo C<sub>1-6</sub>, NHC(O)alquilo C<sub>1-6</sub> y Nalquil C<sub>1-6</sub>alquilo C<sub>1-6</sub>), bencilo (en el que el propio bencilo puede estar sustituido además, por ejemplo, con uno o más de alquilo C<sub>1-6</sub>, halo, hidroxi, hidroxialquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>alquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>alcoxi C<sub>1-6</sub>, haloalquilo C<sub>1-6</sub>, haloalcoxi C<sub>1-6</sub>, ciano, nitro, OC(O)alquilo C<sub>1-6</sub>, NH<sub>2</sub>, NHalquilo C<sub>1-6</sub>, NHC(O)alquilo C<sub>1-6</sub> y Nalquil C<sub>1-6</sub>alquilo C<sub>1-6</sub>), fenoxi (en el propio fenilo puede estar sustituido además, por ejemplo, con uno o más de alquilo C<sub>1-6</sub>, halo, hidroxi, hidroxialquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>alquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>alcoxi C<sub>1-6</sub>, haloalquilo C<sub>1-6</sub>, haloalcoxi C<sub>1-6</sub>, ciano, nitro, OC(O)alquilo C<sub>1-6</sub>, NH<sub>2</sub>, NHalquilo C<sub>1-6</sub>, NHC(O)alquilo C<sub>1-6</sub> y Nalquil C<sub>1-6</sub>alquilo C<sub>1-6</sub>), benciloxi (en el que el propio bencilo puede estar sustituido además, por ejemplo, con uno o más de alquilo C<sub>1-6</sub>, halo, hidroxi, hidroxialquilo C<sub>1-6</sub>, haloalcoxi C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>alquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>alcoxi C<sub>1-6</sub>, haloalquilo C<sub>1-6</sub>, haloalcoxi C<sub>1-6</sub>, ciano, nitro, OC(O)alquilo C<sub>1-6</sub>, NH<sub>2</sub>, NHalquilo C<sub>1-6</sub>, NHC(O)alquilo C<sub>1-6</sub> y Nalquil C<sub>1-6</sub>alquilo C<sub>1-6</sub>), NH<sub>2</sub>, alquilamino (por ejemplo, -NHalquilo C<sub>1-6</sub>, tal como metilamino, etilamino, propilamino, etc.), dialquilamino (por ejemplo, -NH(alquilo C<sub>1-6</sub>)<sub>2</sub>, tal como dimetilamino, dietilamino, dipropilamino), acilamino (por ejemplo, -NHC(O)alquilo C<sub>1-6</sub>, tal como -NHC(O)CH<sub>3</sub>), diacilamino, fenilamino (es decir -NH-fenilo, en el que el propio fenilo puede estar sustituido además, por ejemplo, con uno o más de alquilo C<sub>1-6</sub>, halo, hidroxi, hidroxialquilo C<sub>1-6</sub>, hidroxi alcoxi C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>alquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>alcoxi C<sub>1-6</sub>, haloalquilo C<sub>1-6</sub>, haloalcoxi C<sub>1-6</sub>, ciano, nitro, OC(O)alquilo C<sub>1-6</sub>, NH<sub>2</sub>, NHalquilo C<sub>1-6</sub>, NHC(O)alquilo C<sub>1-6</sub> y Nalquil C<sub>1-6</sub>alquilo C<sub>1-6</sub>), CO<sub>2</sub>H, CO<sub>2</sub>alquilo (por ejemplo, CO<sub>2</sub>alquilo C<sub>1-6</sub> tal como éster de metilo, éster de etilo, éster de propilo, éster de butilo), CO<sub>2</sub>fenilo (en el que el propio fenilo puede estar sustituido además, por ejemplo, con uno o más de alquilo C<sub>1-6</sub>, halo, hidroxi, hidroxialquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>alquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>alcoxi C<sub>1-6</sub>, haloalquilo C<sub>1-6</sub>, haloalcoxi C<sub>1-6</sub>, ciano, nitro, OC(O)alquilo C<sub>1-6</sub>, NH<sub>2</sub>, NHalquilo C<sub>1-6</sub>, NHC(O)alquilo C<sub>1-6</sub> y Nalquil C<sub>1-6</sub>alquilo C<sub>1-6</sub>), CO<sub>2</sub>bencilo (en el que el propio bencilo puede estar sustituido además, por ejemplo, con uno o más de alquilo C<sub>1-6</sub>, halo, hidroxi, hidroxialquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>alquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>alcoxi C<sub>1-6</sub>, haloalquilo C<sub>1-6</sub>, haloalcoxi C<sub>1-6</sub>, ciano, nitro, OC(O)alquilo C<sub>1-6</sub>, NH<sub>2</sub>, NHalquilo C<sub>1-6</sub>, NHC(O)alquilo C<sub>1-6</sub> y Nalquil C<sub>1-6</sub>alquilo C<sub>1-6</sub>), CONH<sub>2</sub>, C(O)NHfenilo (en el que el propio fenilo puede estar sustituido además, por ejemplo, con uno o más de alquilo C<sub>1-6</sub>, halo, hidroxi, hidroxialquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>alquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>

6alcoxi C<sub>1-6</sub>, haloalquilo C<sub>1-6</sub>, haloalcoxi C<sub>1-6</sub>, ciano, nitro, OC(O)alquilo C<sub>1-6</sub>, NH<sub>2</sub>, NHalquilo C<sub>1-6</sub>, NHC(O)alquilo C<sub>1-6</sub> y Nalquil C<sub>1-6</sub>alquilo C<sub>1-6</sub>), C(O)NH-bencilo (en el que el propio bencilo puede estar sustituido además, por ejemplo, con uno o más de alquilo C<sub>1-6</sub>, halo, hidroxilo, hidroalquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>alquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>alcoxi C<sub>1-6</sub>, haloalquilo C<sub>1-6</sub>, haloalcoxi C<sub>1-6</sub>, ciano, nitro, OC(O)alquilo C<sub>1-6</sub>, NH<sub>2</sub>, NHalquilo C<sub>1-6</sub>, NHC(O)alquilo C<sub>1-6</sub> y Nalquil C<sub>1-6</sub>alquilo C<sub>1-6</sub>), C(O)NHalquilo (por ejemplo, C(O)NHalquilo C<sub>1-6</sub> tal como metil amida, etil amida, propil amida, butil amida), C(O)Nalquilo (por ejemplo, C(O)N(alquilo C<sub>1-6</sub>)<sub>2</sub>), aminoalquilo (por ejemplo, HHalquil C<sub>1-6</sub>-, alquil C<sub>1-6</sub>HN-alquil C<sub>1-6</sub>- y (alquil C<sub>1-6</sub>)<sub>2</sub>N-alquil C<sub>1-6</sub>-), tioalquilo (por ejemplo, HSalquil C<sub>1-6</sub>-), carboxialquilo (por ejemplo, HO<sub>2</sub>Calquil C<sub>1-6</sub>-), carboxiéster-alquilo (por ejemplo, alquil C<sub>1-6</sub>O<sub>2</sub>Calquil C<sub>1-6</sub>-), amidoalquilo (por ejemplo, H<sub>2</sub>N(O)Calquil C<sub>1-6</sub>-, H(alquil C<sub>1-6</sub>)N(O)Calquil C<sub>1-6</sub>-), formilalquilo (por ejemplo, OHCalquil C<sub>1-6</sub>-), acilalquilo (por ejemplo, alquil C<sub>1-6</sub>(O)Calquil C<sub>1-6</sub>-), nitroalquilo (por ejemplo, O<sub>2</sub>Nalquil C<sub>1-6</sub>-), oxo (=O), tioxo (=S), =CHR, imino (=NR), la sustitución de 2 átomos de carbono adyacentes o no adyacentes (por ejemplo, 1,2 o 1,3) con un extremo cada uno de un grupo -O-(CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>-O- o -NR'-(CH<sub>2</sub>), -NR'-, en los que s es 1 o 2 y cada R' es independientemente H o alquilo C<sub>1-6</sub>, y la sustitución de 2 átomos adyacentes o no adyacentes, seleccionados independientemente entre C y N, con un grupo alquilenilo C<sub>2-5</sub> o alquenilenilo C<sub>2-5</sub>.

Los términos escritos como "[grupo]oxi" se refieren a un grupo particular cuando está unido mediante oxígeno, por ejemplo, los términos "alcoxi", "alquenoxi", "alquinox" y "ariloxi" y "aciloxi" indican respectivamente grupos alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo y acilo como se han definido anteriormente en el presente documento cuando están unidos mediante un átomo de oxígeno. Los términos escritos como "[grupo]tio" se refieren a un grupo particular cuando está unido mediante azufre, por ejemplo, los términos "alquiltio", "alqueniltio", "alquiniltio" y "ariltio" indican respectivamente grupos alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo como se han definido anteriormente en el presente documento cuando están unidos mediante un átomo de azufre. De forma análoga, un término escrito como "[grupoA]grupoB" se pretende que se refiera a un grupoA cuando está unido mediante una forma divalente del grupoB, por ejemplo, "hidroxialquilo" es un grupo hidroxilo cuando está unido mediante un grupo alquilenilo y "arilalquilo" es un grupo arilo cuando está unido mediante un grupo alquilenilo.

El término "halógeno" ("halo") representa flúor, cloro, bromo o yodo (fluoro, cloro, bromo o yodo).

El término "acilo" ya sea solo o en palabras compuestas representa un grupo que contiene el resto C=O (y que no es un ácido carboxílico, éster o amida). Los grupos acilo preferentes incluyen C(O)-R, en el que R es hidrógeno o un resto alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, heteroarilo, carbociclilo, o heterociclilo. Algunos ejemplos de acilo incluyen formilo, alcanilo de cadena lineal o ramificado (por ejemplo, C<sub>1-20</sub>) tal como acetilo, propanilo, butanilo, 2-metilpropanilo, pentanilo, 2,2-dimetilpropanilo, hexanilo, heptanilo, octanilo, nonanilo, decanilo, undecanilo, dodecanilo, tridecanilo, tetradecanilo, pentadecanilo, hexadecanilo, heptadecanilo, octadecanilo, nonadecanilo e icosanilo; cicloalquilcarbonilo tal como ciclopropilcarbonilo, ciclobutilcarbonilo, ciclohexilcarbonilo y cicloheptilcarbonilo; aroilo tal como benzoilo, toluilo y naftoilo; aralcanilo tal como fenilalcanilo (por ejemplo, fenilacetilo). El resto R puede estar opcionalmente sustituido como se describe en el presente documento.

El término "sulfóxido", ya sea solo o en una palabra compuesta, se refiere a un grupo -S(O)R en el que R se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, heteroarilo, heterociclilo, carbociclilo, y aralquilo. Algunos ejemplos de R incluyen hidrógeno, alquilo C<sub>1-20</sub>, fenilo y bencilo.

El término "sulfonilo", ya sea solo o en una palabra compuesta, se refiere a un grupo S(O)<sub>2</sub>-R, en el que R se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, heteroarilo, heterociclilo, carbociclilo, acilo, y aralquilo. Algunos ejemplos de R incluyen hidrógeno, alquilo C<sub>1-20</sub>, fenilo y bencilo.

El término "sulfonamida", o "sulfonamilo" o "sulfonamido", ya sea solo o en una palabra compuesta, se refiere a un grupo S(O)<sub>2</sub>NRR en el que cada R se selecciona independientemente entre hidrógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, heteroarilo, heterociclilo, carbociclilo, acilo, y aralquilo. Algunos ejemplos de R incluyen hidrógeno, alquilo C<sub>1-20</sub>, fenilo y bencilo. En una realización al menos un R es hidrógeno. En otra forma, ambos R son hidrógeno.

Un grupo "sulfato" se refiere a un grupo -OS(O)<sub>2</sub>OR en el que cada R se selecciona independientemente entre hidrógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, heteroarilo, heterociclilo, carbociclilo, acilo, y aralquilo. Algunos ejemplos de R incluyen hidrógeno, alquilo C<sub>1-20</sub>, fenilo y bencilo.

El término "sulfonato" se refiere a un grupo SO<sub>3</sub>R en el que cada R se selecciona independientemente entre hidrógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, heteroarilo, heterociclilo, carbociclilo, acilo, y aralquilo. Algunos ejemplos de R incluyen hidrógeno, alquilo C<sub>1-20</sub>, fenilo y bencilo.

El término "tio" pretende incluir grupos de fórmula "-SR" en la que R puede ser hidrógeno (tiol), alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, carbociclilo, heteroarilo, heterociclilo, aralquilo, y acilo. Algunos ejemplos de R incluyen hidrógeno, alquilo C<sub>1-20</sub>, fenilo y bencilo.

El término "amino" se usa aquí en el sentido más amplio que se entiende en la técnica e incluye grupos de fórmula -NR<sup>A</sup>R<sup>B</sup> en la que R<sup>A</sup> y R<sup>B</sup> puede ser cualquiera seleccionado independientemente entre hidrógeno, hidroxilo alquilo,

alcoxialquilo, alqueniilo, alquinilo, arilo, carbociclilo, heteroarilo, heterociclilo, aralquilo, acilo y amido, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido.  $R^A$  y  $R^B$ , junto con el nitrógeno al que están unidos, también pueden formar un sistema de anillos monocíclico, o policíclico, por ejemplo un anillo de 3-10 miembros, particularmente, sistemas de anillos de 5-6 y 9-10 miembros. Algunos ejemplos de "amino" incluyen  $-NH_2$ ,  $-NHalquilo$  (por ejemplo,  $-NHalquilo$   $C_{1-20}$ ),  $-NHalcoxialquilo$ ,  $-NHarilo$  (por ejemplo,  $-NHfenilo$ ),  $-NHaralquilo$  (por ejemplo,  $-NHbencilo$ ),  $-NHacilo$  (por ejemplo,  $-NHC(O)alquilo$   $C_{1-20}$ ,  $-NHC(O)fenilo$ ),  $-NHamido$ , (por ejemplo,  $NHC(O)NHalquilo$   $C_{1-6}$ ,  $NHC(O)NH$  fenilo),  $-Ndialquilo$  (en el que cada alquilo, por ejemplo  $C_{1-20}$ , puede ser igual o diferente) y anillos de 5 o 6 miembros, que contienen opcionalmente uno o más heteroátomos iguales o diferentes (por ejemplo, O, N y S). Por referencia a los grupos que se escriben como "[grupo]amino" se pretende reflejar la naturaleza de los grupos  $R^A$  y  $R^B$ . Por ejemplo, "alquilamino" se refiere a un  $-NR^A R^B$  donde uno de  $R^A$  o  $R^B$  es alquilo. "Dialquilamino" se refiere a  $-NR^A R^B$  donde  $R^A$  y  $R^B$  son cada uno (independientemente) un grupo alquilo.

El término "amido" se usa aquí en el sentido más amplio que se entiende en la técnica e incluye grupos que tienen la fórmula  $C(O)NR^A R^B$ , en la que  $R^A$  y  $R^B$  son como se han definido anteriormente. Algunos ejemplos de amido incluyen  $C(O)NH_2$ ,  $C(O)NHalquilo$  (por ejemplo, alquilo  $C_{1-20}$ ),  $C(O)NHarilo$  (por ejemplo,  $C(O)NHfenilo$ ),  $C(O)NHaralquilo$  (por ejemplo,  $C(O)NHbencilo$ ),  $C(O)NHacilo$  (por ejemplo,  $C(O)NHC(O)alquilo$   $C_{1-20}$ ,  $C(O)NHC(O)fenilo$ ),  $C(O)Nalquilalquilo$  (en el que cada alquilo, por ejemplo  $C_{1-20}$ , pueden ser igual o diferente) y anillos de 5 o 6 miembros, que contienen opcionalmente uno o más heteroátomos iguales o diferentes (por ejemplo, O, N y S).

El término "carboxi éster" se usa aquí en el sentido más amplio que se entiende en la técnica e incluye grupos que tienen la fórmula  $-CO_2R$ , en la que R se puede seleccionar entre grupos que incluyen alquilo, alqueniilo, alquinilo, arilo, carbociclilo, heteroarilo, heterociclilo, arilalquilo, heteroarilalquilo, carbocicilalquilo, heterocicilalquilo, aralqueniilo, heteroarilalqueniilo, carbocicilalqueniilo, heterocicilalqueniilo, aralquinilo, heteroarilalquinilo, carbocicilalquinilo, heterocicilalquinilo, y acilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido. Algunos ejemplos de carboxi éster incluyen  $-CO_2alquilo$   $C_{1-20}$ ,  $-CO_2arilo$  (por ejemplo,  $-CO_2fenilo$ ),  $-CO_2aralquilo$   $C_{1-20}$  (por ejemplo,  $-CO_2bencilo$ ).

El término "fosfonato" se refiere a un grupo  $-P(O)(OR)_2$  en el que R se selecciona independientemente entre hidrógeno, alquilo, alqueniilo, alquinilo, arilo, heteroarilo, heterociclilo, carbociclilo, acilo, y aralquilo. Algunos ejemplos de R incluyen hidrógeno, alquilo  $C_{1-20}$ , fenilo y bencilo.

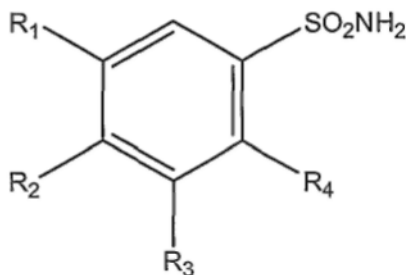
El término "fosfato" se refiere a un grupo  $-OP(O)(OR)_2$  en el que R se selecciona independientemente entre hidrógeno, alquilo, alqueniilo, alquinilo, arilo, heteroarilo, heterociclilo, carbociclilo, acilo, y aralquilo. Algunos ejemplos de R incluyen hidrógeno, alquilo  $C_{1-20}$ , fenilo y bencilo.

En algunos ejemplos de la Fórmula (I), A es un grupo heterociclilo o heteroarilo monocíclico o bicíclico que puede estar opcionalmente sustituido como se define en el presente documento.

Se ha descubierto además sorprendentemente que ciertos compuestos de sulfonamida que son inhibidores de CA, pero también actúan como diuréticos del "asa" o de "tiazida", no demuestran la actividad deseada en un modelo *in vivo*. Tales compuestos se excluyen de consideración en la presente invención.

Los diuréticos del asa denominados de ese modo porque actúan sobre el simportador  $Na^+K^+(Cl^-)_2$  en el asa de Henle ascendente en el riñón, actúan para inhibir la reabsorción de sodio y cloruro. Los diuréticos del asa también causan vasodilatación de las venas y de los vasos sanguíneos del riñón, causando mecánicamente una disminución de la presión sanguínea. Por lo tanto se usan principalmente para tratar hipertensión y edema, a menudo debido a insuficiencia cardíaca congestiva o insuficiencia renal. El experto en la materia reconocerá y entenderá los compuestos que también son diuréticos del asa. Algunos ejemplos de diuréticos del asa que se excluyen del alcance de la presente invención incluyen furosemida, torsemida, bumetanida, azosemida y piretanida.

Algunos compuestos que se conocen por ser diuréticos del asa, se pueden generalizar mediante la fórmula:



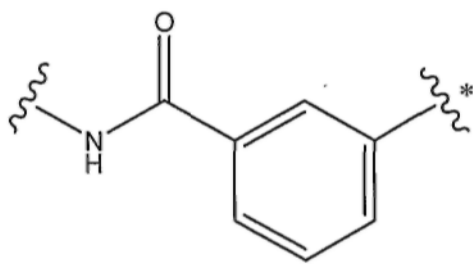
en la que

$R_1$  es un resto o isótero iónico, tal como carboxilato, tetrazolilo, sulfonato o fosfato;

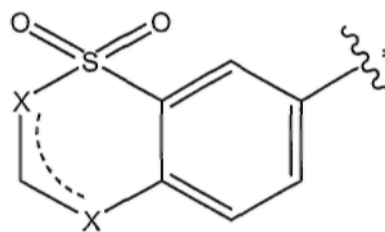
R<sub>2</sub> es un resto hidrófobo tal como halo, alquilo, fenilo, alcoxi o fenoxi, uno de R<sub>3</sub> y R<sub>4</sub> es hidrógeno y el otro es NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, en la que R<sub>5</sub> y R<sub>6</sub> se seleccionan cada uno independientemente entre hidrógeno, alquilo C<sub>2-8</sub>, fenilo, bencilo, o junto con el nitrógeno al que están unidos, forman un anillo de 5-7 miembros saturado o insaturado.

Los diuréticos de tiazida son una clase de compuestos que actúan en un "receptor de tiazida", que se cree que es un importador de sodio-cloruro. Estos compuestos inhiben la reabsorción de Na<sup>+</sup>Cl<sup>-</sup> mediante el bloqueo del transportador de Na<sup>+</sup>Cl<sup>-</sup> sensible a tiazida. El término se refiere a la estructura química de los diuréticos de tiazida originales, que contenía un sistema de anillo de tiazida, pero el término incluye en la actualidad compuestos que no tienen el resto de tiazida pero tienen una acción similar. Debido a sus propiedades vasodilatadoras, a menudo se usan para tratar la hipertensión. El experto en la materia comprenderá y reconocerá los compuestos que también son diuréticos de tiazida. Algunos ejemplos de diuréticos de tiazida excluidos del alcance de la presente invención incluyen: altiazida, bemetizida, benzhidroclorotiazida, benzotiazida, butiazida, ciclotiazida, metclotiazida, paraflutizida, politiazida, teclotiazida, triclorometazida, cloroaminotenamida, indapamida, clortalidona, clofenamida, clorexolona, fenquizon, mefrusida, tripamida, clorsulón, clopamida, sulpirida, xipamida, clortalidona, ciclopentiazida, bendroflumetazida, meticrane, quinetazona, clortiazida, hidroclortiazida, metolazona, ciclopentiazida, flumetiazida e hidroflumetiazida.

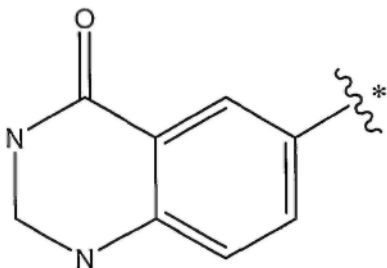
Cierto número de diuréticos de tiazida conocidos contienen el resto SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> que contienen además uno de los restos que se representa a continuación:



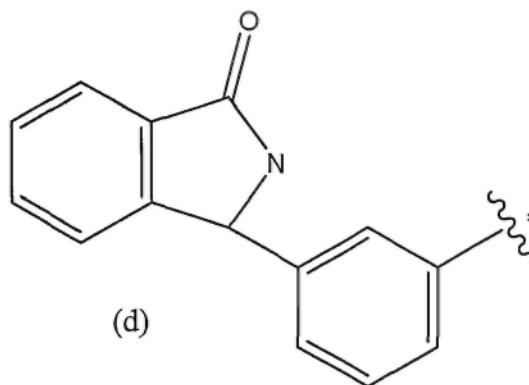
(a)



(b)



(c)



(d)

donde \* es el punto de unión al grupo sulfonamida y para (c), donde X son ambos C o ambos N.

Dado que los diuréticos tanto de tiazida como del asa inhiben la reabsorción de cloruro sódico, mediante la inhibición del transportador de sodio-cloruro o el transportador de sodio-potasio-dicloruro respectivamente, mientras que los inhibidores de anhidrasa carbónica puros inhiben la reabsorción de bicarbonato sódico, no de cloruro sódico, es posible determinar el comportamiento de "tiazida" o de "diurético del asa" de un inhibidor de anhidrasa carbónica seleccionado mediante el efecto de dicho inhibidor de anhidrasa carbónica en la excreción de cloruro. Esto se podría realizar mediante un análisis de la orina de los animales tratados con dicho inhibidor de anhidrasa carbónica en comparación con los animales sin tratar usando métodos bien conocidos para la determinación de cloruro en los fluidos biológicos (HPLC: Tsikas, D. *et al.* Chromatographia 1992 33 317; Ion sensitive electrode: Warwick, W.J. *et al.* Clinical Chemistry 1978 24 2050) para determinar si existe un aumento significativo en la excreción de cloruro.

Algunos ejemplos de compuestos CAI que pueden ser adecuados para su uso en la presente divulgación se conocen y se describen ampliamente en la bibliografía, tal como Pastorekova *et al.*, Journal of Enzyme Inhibition and

Medicinal Chemistry, 2004, 19 (3), 199-229, y los documentos de Patente US 2554816, US 5010204, US 2783241, US 3157572, GB 795174, US 2835702, US 5378703, US 5153192, US 5240923, US 5679670 y US 5585377.

En un aspecto adicional, la presente divulgación proporciona un método para determinar si un compuesto puede ser adecuado para su uso en las aplicaciones terapéuticas que se contemplan en el presente documento. Por lo tanto, la divulgación también proporciona un método para seleccionar un compuesto para su uso de acuerdo con la invención, que comprende las etapas de:

- (i) seleccionar un compuesto de sulfonamida o un isómero del mismo, opcionalmente entre el grupo definido por la Fórmula (I);
- (ii) determinar su actividad inhibidora de CA;
- (iii) determinar si es un diurético del asa o un diurético de tiazida,

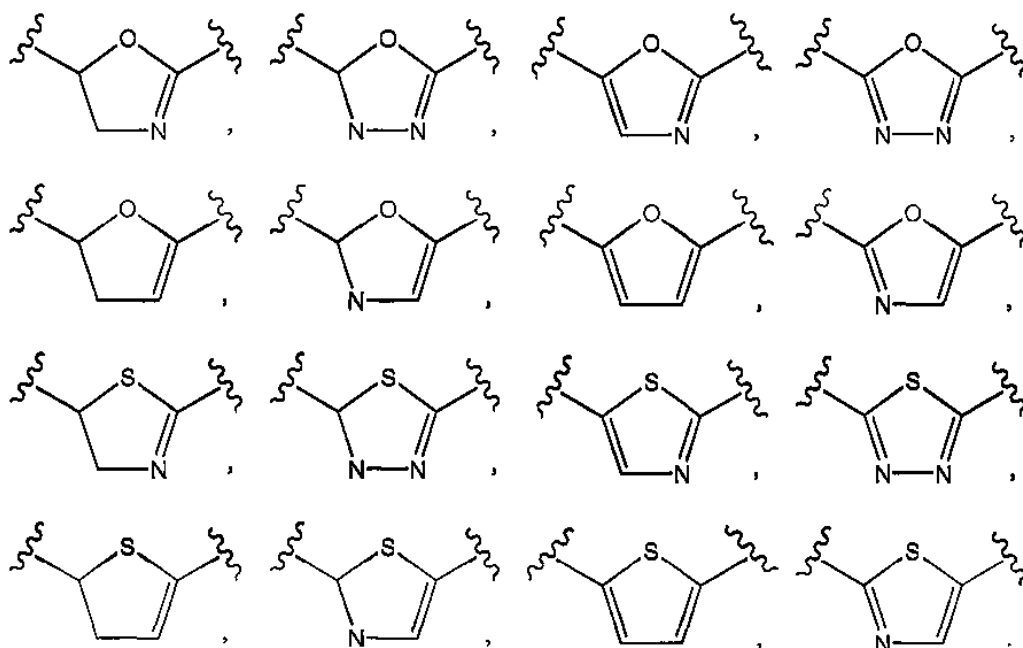
en el que un compuesto de sulfonamida o un isómero del mismo que es un CAI pero no un diurético del asa o de tiazida puede ser adecuado para su uso de acuerdo con la invención.

La determinación de la actividad inhibidora de CA y de si un compuesto es un diurético del asa o de tiazida se puede basar en el conocimiento ya adquirido en la técnica o, alternativamente, en un método apropiado, por ejemplo un método que se describe en el presente documento.

Una clase de compuestos de CAI contemplados por una realización de la presente divulgación son compuestos en los que el grupo sulfonamida (o su isómero) está sustituido en el núcleo que contiene el anillo aromático, por ejemplo los compuestos de Fórmula (I) en los que A es arilo o heteroarilo. En ejemplos adicionales, A es un grupo bicíclico, tal como un grupo arilo, heterociclilo o heteroarilo bicíclico de 9-10 miembros. En otros ejemplos, A es un grupo heteroarilo o heterociclilo monocíclico de 5-6 miembros.

Algunos ejemplos adecuados de A incluyen: fenilo, tienilo, piridinilo, pirimidinilo, pirazinilo, piridazinil 1,3,5-triazinilo, imidazolidinilo, imidazolinil pirrolilo, furilo, imidazolilo, pirazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, 1,2,3-oxidiazolilo, 1,2,4-oxidiazolilo, 1,2,3-triazolilo, 1,2,4-triazolilo, 1,2,4-tiadiazolilo, 1,3,4-tiadiazolilo, 1,3,4-tiadiazolilino, oxazolilo, isoxazolilo, tetrazolilo, naftil indanilo, indolilo, isoindolilo, indulinilo, indazolilo, benzoimidazolilo, benzotiazolilo, benzoisoxazolilo, benzoisotiazolilo, quinolinilo, cumarina, isoquinolinilo, cinolinilo, ftalazinilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, pteridinilo, s-triazolo[4,3-a]piridinilo, teofilinilo, imidazo[2,1-b]tiazolilo, imidazo[2,1-b]tiofenilo, 1,3,4-tiadiazolo[3,2-a]pirimidinilo, 1,3,4-tiadiazolo[3,2-a]triazinilo, tieno[2,3-b]tiopirano, tieno[3,2-b]tiopirano, tieno[2,3-b]pirano, tienopiperidinilo, doxanilo, tieno[2,3-b]pirrolilo, tieno[2,3-b]tiofenilo, tieno[3,2-b]tiofenilo, tieno[2,3-b]furilo, tieno[2,3-b]tiazinilo, 1,3,4-tiadiazolo[2,3-c][1,2,4]tiadiazolilo, imidazo[2,1-b]-1,3,4-tiadiazolilo, benzoimidazo[1,2-c][1,2,3]tiadiazolilo, morfolinilo, tiomorfolinilo, piperazinil pirazolidinilo, pirazolinilo, pirrolidinilo, ciclohexilo, ciclopentilo, y ciclohexilo, cada uno de los cuales puede estar además opcionalmente sustituido como se describe en el presente documento.

En otras realizaciones, A es un grupo heterocíclico o heteroarilo de 5 miembros seleccionado entre:



opcionalmente sustituido, en los que la línea ondulada en el lado derecho del anillo representa la conexión a W-X (en realizaciones adicionales de la misma W es un enlace directo entre A y X) y la línea ondulada en el lado izquierdo de la molécula representa un sitio a modo de ejemplo de sustitución adicional (aunque son posibles otros sitios en lugar de o además de los representados).

En otras realizaciones, A es alquilo C<sub>2-20</sub> lineal o ramificado, o cicloalquilo C<sub>2-20</sub> o un grupo heterociclilo de 3-20 miembros, en el que el grupo cicloalquilo o heterociclilo puede ser monocíclico, bicíclico, o policíclico (por ejemplo, tricíclico). De forma ventajosa el grupo A puede estar sustituido una o más veces con un sustituyente opcional como se describe en el presente documento, particularmente halo (por ejemplo, F), hidroxi y metoxi.

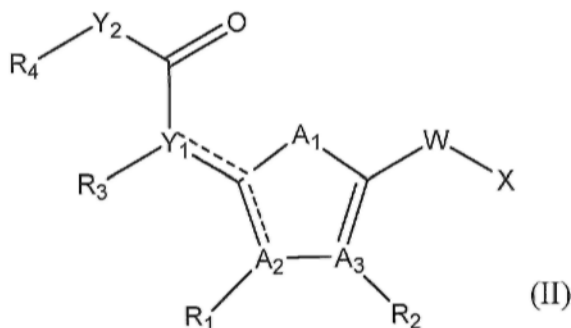
En algunas realizaciones de la divulgación, W es un enlace directo. En otras realizaciones, W es una cadena de alquileo de 1, 2 o 3 átomos de carbono. En otras realizaciones más, W es una cadena de alquileo de 1, 2, 3, 4 o 5 átomos de cadena, en la que uno de los átomos de cadena es O, S o N(H), con la condición de que el átomo de O, S o N no esté unido directamente a X de un modo tal que se forme un grupo -O-O-, -SO-, -(H)N-O-, O-S-, S-O-, (H)N-O-, -O-N-, o S-N- (en el que el átomo representado a mano derecha es el átomo de la sulfonamida o el grupo isótero).

En algunas realizaciones de la divulgación, X se selecciona entre el grupo de: -SONH<sub>2</sub>, -SO<sub>2</sub>NHOH, -SO<sub>2</sub>NHSH, -SO<sub>2</sub>NHCN, -SO<sub>2</sub>NHNH<sub>2</sub>, -SO<sub>2</sub>NH-1-imidazolilo, -SO<sub>2</sub>NHPO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>, -SO<sub>2</sub>NHSO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -SO<sub>2</sub>NHSO<sub>2</sub>OH, -OSO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -OSO<sub>2</sub>NHOH, -OSO<sub>2</sub>NHPO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>, -OSO<sub>2</sub>NHSO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -OSO<sub>2</sub>NHSO<sub>2</sub>OH, -NSO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -NSO<sub>2</sub>NHOH, -NSO<sub>2</sub>NHPO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>, -NSO<sub>2</sub>NHSO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -NSO<sub>2</sub>NHSO<sub>2</sub>OH, y =NSO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>.

En ejemplos adicionales, los compuestos contemplados en el presente documento pueden contener 1, 2 o 3 de las realizaciones descritas anteriormente.

Un ejemplo de un CAI de sulfonamida que no es un diurético del asa o de tiazida contemplado por la presente invención es: metazolamida.

Algunos ejemplos adicionales de CAI que pueden ser adecuados para su uso en la presente divulgación incluyen los de Fórmula (II), en la que  $\text{---}$  representa un enlace individual o doble según se defina:



X es SONH<sub>2</sub> o un isótero del mismo;

W es un enlace directo entre A y X, o una cadena de alquileo de 1 a 5 átomos de carbono, en la que un grupo CH<sub>2</sub> puede estar opcionalmente reemplazado por O, S o NH;

A<sub>1</sub> se selecciona entre S u O;

$\text{---} A_2$  es -CH, =C, =N o -N;

A<sub>3</sub> es C o N;

R<sub>1</sub> se selecciona entre hidrógeno, alquilo, arilalquilo, y arilo cuando  $\text{---} A_2$  es -N; o

se selecciona entre hidrógeno, alquilo, carbociclilo, arilalquilo, arilo, amino, alcoxialquilo, hidroxi, alcoxi, halo, carbociclilalquilo, hidroxialquilo, alcoxi alcoxi, haloalquilo, haloalcoxi y aminoalquilo cuando  $\text{---} A_2$  es -CH o =C,

o está ausente cuando  $\text{---} A_2$  es =N;

R<sub>2</sub> se selecciona entre hidrógeno, alquilo, carbociclilo, arilalquilo, arilo, amino, alcoxialquilo, hidroxi, alcoxi, halo, carbociclilalquilo, hidroxialquilo, alcoxi alcoxi, haloalquilo, haloalcoxi y aminoalquilo cuando A<sub>3</sub> es C; o está ausente cuando A<sub>3</sub> es N;

Y<sub>1</sub>  $\text{---}$  se selecciona entre un enlace directo, C=, N=, CH- y N-, con la condición de que cuando  $\text{---} A_2$  es =C o =N, entonces Y<sub>1</sub>  $\text{---}$  no es C= o N=;

Y<sub>2</sub> se selecciona entre NH o CH<sub>2</sub>;

R<sub>3</sub> se selecciona entre hidrógeno, alquilo, carbociclilo, arilalquilo, arilo, amino, alcoxialquilo, hidroxi, alcoxi, halo, carbociclilalquilo, hidroxialquilo, alcoxi alcoxi, haloalquilo, haloalcoxi y aminoalquilo;

o está ausente cuando Y<sub>1</sub>  $\text{---}$  es un enlace directo; y

R<sub>4</sub> se selecciona entre hidrógeno, alquilo, arilalquilo y arilo.

El anillo heterocíclico de (II) puede ser aromático o no aromático.

En algunas realizaciones,  $A_1$  es O. En otras realizaciones  $A_1$  es S.

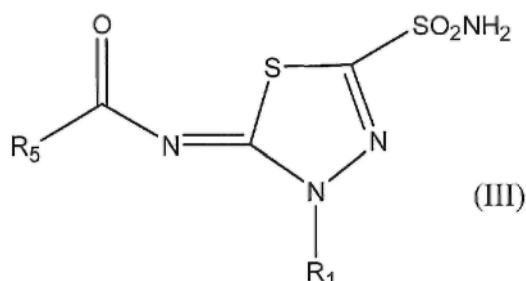
- 5 En algunas realizaciones,  $A_2$  es -CH. En otras realizaciones,  $A_2$  es =C. En otras realizaciones más,  $A_2$  es -N. En aún otras realizaciones,  $A_2$  es =N.

En algunas realizaciones,  $A_3$  es C. En otras realizaciones,  $A_3$  es N.

- 10 En otras realizaciones de la misma, "alquilo" o "alq" es  $C_{1-6}$ , "carbociclilo" es  $C_{3-6}$  y "arilo" es fenilo o fenilo opcionalmente sustituido.

En aún otras realizaciones,  $A_3$  es N,  $A_2$  es -N e  $Y_1$  es N=.

- 15 Un CAI adecuado para su uso en la presente invención es metazolamida. Los CAI de metazolamida y análogos de metazolamida incluyen tiadiazolinil compuestos de Fórmula (III), y los isómeros de los mismos:



- 20 en la que

$R_1$  se selecciona entre hidrógeno, alquilo  $C_{1-6}$ ,  $C(O)$ alquilo  $C_{1-6}$ , y  $(CH_2)_n$  fenilo, donde n es 1, 2, 3, 4, 5 o 6 y el fenilo puede estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente entre alquilo  $C_{1-6}$ , halo, hidroxilo, hidroxialquilo  $C_{1-6}$ , alcoxi  $C_{1-6}$ , alcoxi  $C_{1-6}$ alquilo  $C_{1-6}$ , alcoxi  $C_{1-6}$ alcoxi  $C_{1-6}$ , haloalquilo  $C_{1-6}$ , haloalcoxi  $C_{1-6}$ , ciano, nitro,  $OC(O)$ alquilo  $C_{1-6}$ ,  $NH_2$ ,  $NH$ alquilo  $C_{1-6}$ ,  $NHC(O)$ alquilo  $C_{1-6}$  y  $N$ alquilo  $C_{1-6}$ alquilo  $C_{1-6}$ ; y

$R_5$  se selecciona entre hidrógeno, alquilo  $C_{1-6}$ ,  $C(O)$ alquilo  $C_{1-6}$  y  $(CH_2)_n$  fenilo, donde n es 1, 2, 3, 4, 5 o 6 y el fenilo puede estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente entre alquilo  $C_{1-6}$ , halo, hidroxilo, hidroxialquilo  $C_{1-6}$ , alcoxi  $C_{1-6}$ , alcoxi  $C_{1-6}$ alquilo  $C_{1-6}$ , alcoxi  $C_{1-6}$ alcoxi  $C_{1-6}$ , haloalquilo  $C_{1-6}$ , haloalcoxi  $C_{1-6}$ , ciano, nitro,  $OC(O)$ alquilo  $C_{1-6}$ ,  $NH_2$ ,  $NH$ alquilo  $C_{1-6}$ ,  $NHC(O)$ alquilo  $C_{1-6}$  y  $N$ alquilo  $C_{1-6}$ alquilo  $C_{1-6}$ . En otras realizaciones,  $R_1$  es alquilo  $C_{1-6}$  o  $(CH_2)_n$ fenilo y  $R_5$  es hidrógeno, alquilo  $C_{1-6}$  o  $(CH_2)_n$ fenilo.

- 35 Algunos ejemplos particulares no limitantes de Fórmula (III) incluyen:

5-formilimino-4-metil- $\Delta^2$ -1,3,4-tiadiazolina-2-sulfonamida,  
 5-acetilimino-4-metil- $\Delta^2$ -1,3,4-tiadiazolina-2-sulfonamida (metazolamida),  
 5-acetilimino-4-etil- $\Delta^2$ -1,3,4-tiadiazolina-2-sulfonamida,  
 5-acetilimino-4-butil- $\Delta^2$ -1,3,4-tiadiazolina-2-sulfonamida,  
 5-acetilimino-4-bencil- $\Delta^2$ -1,3,4-tiadiazolina-2-sulfonamida,  
 5-acetilimino-4-p-nitrobencil- $\Delta^2$ -1,3,4-tiadiazolina-2-sulfonamida,  
 5-propionilimino-4-metil- $\Delta^2$ -1,3,4-tiadiazolina-2-sulfonamida,  
 5-propionilimino-4-etil- $\Delta^2$ -1,3,4-tiadiazolina-2-sulfonamida,  
 5-propionilimino-4-butil- $\Delta^2$ -1,3,4-tiadiazolina-2-sulfonamida,  
 5-butilimino-4-metil- $\Delta^2$ -1,3,4-tiadiazolina-2-sulfonamida y  
 5-butilimino-4-bencil- $\Delta^2$ -1,3,4-tiadiazolina-2-sulfonamida.

Los compuestos de CAI se pueden obtener a partir de fuentes comerciales o se pueden preparar mediante métodos de la bibliografía de patentes y que se conocen en la técnica. Por ejemplo, la preparación de diversas sulfonamidas heterocíclicas, incluyendo acetazolamida y los compuestos relacionados, se describe en los documentos de Patente US2554816 y US 5010204. La preparación de diversos tiazoles, 1,3,4-tiadiazoles, y 1,3,4-tiadiazolinas incluyendo metazolamida y otras 5-acilimino-4-sustituido- $\Delta^2$ -1,3,4-tiadiazolina-2-sulfonamidas, se describe en el documento de Patente EP 96003, Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas et de la Belgique (1943), 62, 207-09, los documentos de Patente US 2.978.457, US 2.994.701, Angewandte Chemie, (1966), 78(18-19), 850-5, y los

documentos de Patente WO 2002012211, WO 9529904, US 2783241 y US 3157572. La preparación de diversas sulfonamidas heterocíclicas, tales como etoxolamida y sus análogos, se describe en el documento de Patente GB 795174.

- 5 Ciertos compuestos de Fórmula (I)-(III) también pueden existir en forma tautomérica (por ejemplo, tautómeros ceto-enol). Tales formas también están contempladas en el presente documento.

El compuesto y las composiciones contemplados por la presente invención se pueden administrar como el único agente sensibilizador a la insulina, por ejemplo un agente terapéutico antidiabético o como una combinación junto con insulina (humana, bovina, porcina o sintética) y/o uno o más agentes terapéuticos antidiabéticos o antihiper glucémicos distintos y se pueden administrar simultáneamente (separadamente o como una combinación/composición) o secuencialmente de acuerdo con un régimen de dosificación y tratamiento adecuado que se puede determinar por el médico asistente. Otros agentes adecuados pueden incluir sensibilizadores a la insulina, secretagogos de insulina, inhibidores de la reabsorción/captación de glucosa y las clases y los compuestos que se definen en el documento de Patente US2005/0037981, particularmente la Tabla 2. Algunos ejemplos de agentes para su uso junto con la invención incluyen biguanidas, sulfonilureas, meglitimidias, insulina y análogos de insulina, y tiazolidinadionas. Tales agentes contemplados a modo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, tiazolidinadionas (incluyendo rosiglitazona y pioglitazona), metformina, insulina, sulfonilureas (incluyendo glimepirida, gliburida, glipizida, clorpropamida, tolazamida y tolbutamida), meglitimidias (incluyendo repaglinida y nateglinida), inhibidores de  $\alpha$ -glucosidasa (incluyendo una carbosa y miglitol), inhibidores de DPPIV tales como sitagliptina. Las combinaciones particulares incluyen tales agentes junto con un compuesto de Fórmula (I)-(III) como se describe en el presente documento.

En realizaciones de la invención, los compuestos contemplados por la invención se pueden administrar a un sujeto que se selecciona para la terapia basándose en el requerimiento de tratamiento de regulación de glucosa en sangre mediante el compuesto. De ese modo, en realizaciones adicionales, el compuesto de la invención se usa como se define en el presente documento y está precedido por la etapa de seleccionar el sujeto o paciente basándose en el requerimiento de regulación de glucosa en sangre, o el tratamiento para diabetes u otra afección en la que la resistencia a la insulina es un factor.

En algunas realizaciones, mediante la administración del compuesto de acuerdo de la invención en combinación con otro agente antidiabético o antihiper glucémico, puede ser posible administrar dosificaciones reducidas de uno o ambos agentes en comparación con las monoterapias actuales, es decir, en algunas realizaciones, las combinaciones pueden proporcionar ventajosamente un efecto aditivo o sinérgico. De ese modo, por ejemplo, puede ser posible conseguir una terapia eficaz por administración del agente antidiabético o antihiper glucémico usado en la actualidad, tal como metformina o secretagogos de insulina, con una cantidad de dosificación más reducida que la usada clínicamente en la actualidad. Esto puede evitar, aliviar, o reducir de otro modo ventajosamente la gravedad, el riesgo o la aparición no deseada de efectos secundarios y desventajas asociadas al término de beneficio terapéutico provisto por los regímenes de tratamiento actuales.

En una realización alternativa, mediante la administración del compuesto de acuerdo con la invención en combinación con otro agente terapéutico antidiabético o antihiper glucémico, puede ser posible aumentar el periodo de tiempo durante el que cada uno de los agentes proporciona un beneficio cuando se compara con el periodo en que cada agente proporciona un beneficio cuando se usa como monoterapia. De ese modo, por ejemplo, puede ser posible conseguir una terapia eficaz durante un mayor número de meses o incluso años por administración de los agentes antidiabéticos o antihiper glucémicos usados en la actualidad tales como metformina o secretagogos de insulina, que el que se consigue en la actualidad. Esto puede evitar, aliviar, o reducir de otro modo ventajosamente la gravedad, el riesgo o la aparición no deseada de efectos secundarios y desventajas asociadas al término de beneficio terapéutico provisto por los regímenes de tratamiento actuales.

De ese modo, se ha descubierto sorprendentemente además que la combinación de metformina con metazolamida, un fármaco usado en la actualidad en el tratamiento de glaucoma, generalmente con una dosificación de 5-150 mg/dosis 2-3 veces al día, proporciona una mejora en los niveles de glucosa en plasma en ayunas en comparación con la que se consigue con la metformina sola.

De ese modo, en algunas realizaciones de la invención, esto puede permitir de forma ventajosa la administración de dosificaciones reducidas de metformina en comparación con los regímenes de dosificación actuales y de ese modo puede superar, disminuir o aliviar una o más de las desventajas asociadas a las terapias actuales de metformina.

De ese modo, una realización adicional de la invención proporciona metazolamida o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de la misma, para administración en combinación, ya sea simultáneamente, separadamente o secuencialmente, con un compuesto antidiabético seleccionado entre tiazolidinadionas, metformina, insulina, sulfonilureas, meglitimidias, inhibidores de  $\alpha$ -glucosidasa e inhibidores de DPPIV, para su uso en la disminución de niveles elevados o el mantenimiento de niveles normales de glucosa en sangre en un sujeto. En una realización, el compuesto antidiabético es metformina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

Otra realización proporciona una metazolamida o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de la misma, para administración en combinación, ya sea simultáneamente, separadamente o secuencialmente, con un compuesto antidiabético seleccionado entre tiazolidinadionas, metformina, insulina, sulfonilureas, meglitimidas, inhibidores de  $\alpha$ -glucosidasa e inhibidores de DPPIV, para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección, o un síntoma de la misma, en la que está implicada la resistencia a la insulina. En una realización, el compuesto antidiabético es metformina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

En otras realizaciones, la combinación comprende clorhidrato de metformina y metazolamida.

En una o más realizaciones de la invención, el compuesto o las combinaciones contemplados por la invención pueden proporcionar atenuación o alivio a corto plazo de uno o más síntomas de diabetes o afecciones relacionadas o precursoras, tales como niveles elevados de glucosa en sangre. En otras realizaciones, el tratamiento de acuerdo con la invención puede proporcionar una atenuación, mejora o alivio medible o perceptible de aproximadamente 30 minutos a aproximadamente 12 horas y hasta aproximadamente 7 días del inicio del tratamiento. En aún otras realizaciones, el tratamiento de acuerdo con la invención puede proporcionar una atenuación o alivio medible o perceptible de 1 hora hasta 4 días, por lo general de aproximadamente 24 horas a 4 días.

Como se usa en el presente documento, los términos "regula" o "modula" y las variaciones tales como regular/modular y regulación/modulación, cuando se usan por referencia a la homeostasis de la glucosa, se refieren al ajuste o control de dichos niveles de glucosa, en realizaciones particulares, el ajuste o mantenimiento de los niveles normales de glucosa en sangre. De ese modo, "regular/modular la homeostasis de glucosa" incluye el ajuste o el control de los niveles de glucosa en sangre para disminuir la hiperglucemia, o conseguir o mantener ventajosamente los niveles de glucosa en sangre normales en estado de ayunas. Los niveles de glucosa en sangre normales en estado de ayunas son por lo general menos de  $6,1 \text{ mmol l}^{-1}$  ( $110 \text{ mgdl}^{-1}$ ). Los niveles hiperglucémicos (también denominados en el presente documento niveles elevados de glucosa en sangre) se refieren a niveles de glucosa en sangre en ayunas mayores o iguales que  $6,1 \text{ mmol l}^{-1}$  ( $110 \text{ mgdl}^{-1}$ ).

La glucemia en ayunas alterada (IFG) se caracteriza por una concentración de glucosa en plasma en ayunas mayor o igual que  $6,1 \text{ mmol l}^{-1}$  ( $110 \text{ mgdl}^{-1}$ ) pero menor que  $7,0 \text{ mmol l}^{-1}$  ( $126 \text{ mgdl}^{-1}$ ) y una concentración de glucosa en plasma a las 2 h durante el ensayo oral de tolerancia a la glucosa (OGTT) (si se mide) menor que  $7,8 \text{ mmol l}^{-1}$  ( $140 \text{ mgdl}^{-1}$ ). La tolerancia a la glucosa alterada (IGT) se caracteriza por una concentración de glucosa en plasma en ayunas de menos de  $7,0 \text{ mmol l}^{-1}$  ( $126 \text{ mgdl}^{-1}$ ) y una concentración de glucosa en plasma a las 2 h durante el OGTT mayor o igual que  $7,8 \text{ mmol l}^{-1}$  ( $140 \text{ mgdl}^{-1}$ ) pero menor que  $11,1 \text{ mmol l}^{-1}$  ( $200 \text{ mgdl}^{-1}$ ). La diabetes se caracteriza por una concentración de glucosa en plasma en ayunas mayor o igual que  $7,0 \text{ mmol l}^{-1}$  ( $126 \text{ mgdl}^{-1}$ ) o una concentración de glucosa en plasma a las 2 h durante el OGTT mayor que  $11,1 \text{ mmol l}^{-1}$  ( $200 \text{ mgdl}^{-1}$ ).

El compuesto y las combinaciones contempladas por la presente invención pueden tener utilidad como sensibilizadores a la insulina en el tratamiento terapéutico o profiláctico de enfermedades y afecciones asociadas, y/o uno o más de sus síntomas, en un sujeto, en las que está involucrada o implicada la resistencia a la insulina. Cualquier enfermedad o afección, o síntoma de la misma en la que se puede atribuir, o desempeña un papel o es manifiesta la resistencia a la insulina o la captación alterada de glucosa por parte de una célula o tejido, se contempla en el presente documento. Algunos ejemplos no limitantes incluyen NIDDM, diabetes gestacional, tolerancia alterada a la glucosa, alteración de glucosa en ayunas, síndrome X, hiperglucemia, aterosclerosis, hipertrigliceridemia, dislipidemia, hiperinsulinemia, nefropatía, neuropatía, isquemia, apoplejía y enfermedad de hígado graso. Por lo general, la enfermedad o afección es NIDDM, diabetes gestacional, tolerancia alterada a la glucosa, alteración de la glucosa en ayunas, síndrome X o hiperglucemia. También se pueden administrar agentes para el tratamiento de afecciones asociadas, tales como enfermedad cardiovascular (por ejemplo, agentes antihipertensivos) junto (junto con o separadamente) con la invención. Se ha de entender que un sujeto puede no padecer necesariamente o desarrollar todos los síntomas o afecciones asociados en los que está involucrada o implicada la resistencia a la insulina, o pueden no ser lo suficientemente graves para garantizar un tratamiento terapéutico adicional particularmente si la enfermedad o afección se detecta y se trata en una etapa temprana. Por ejemplo, en ciertas realizaciones de la invención, el sujeto que tiene niveles elevados de glucosa en sangre puede no padecer otros síntomas o afecciones asociadas, tales como afecciones cardíacas o cardiovasculares asociadas, por ejemplo, diabetes debida a la resistencia a la insulina. Alternativamente, tales síntomas o afecciones asociados, si se manifiestan, pueden no suponer la necesidad de tratamiento terapéutico conjunto para los mismos. Alternativamente, cualquiera de tales síntomas o afecciones asociados se puede tratar con un agente apropiado, por ejemplo antihipertensivos tales como diuréticos, inhibidores de ACE o beta-bloqueantes según se determine mediante el médico asistente.

Los sujetos que se tratan incluyen sujetos mamíferos: humanos, primates, animales de granja (incluyendo vacas, caballos, ovejas, cerdos y cabras), animales de compañía (incluyendo perros, gatos, conejos, cobayas), y animales salvajes cautivos. También se contemplan animales de laboratorio tales como conejos, ratones, ratas, cobayas y hámsteres dado que pueden proporcionar un sistema de ensayo conveniente. También se pueden contemplar especies no mamíferas tales como pájaros, anfibios y peces en ciertas realizaciones de la invención. Un sujeto particularmente contemplado es un sujeto humano.

Los compuestos de la invención se administran en una cantidad que, cuando se administra de acuerdo con el régimen de dosificación deseado, consigue, o al menos consigue parcialmente, el efecto terapéutico deseado, por ejemplo modulación de la homeostasis de la glucosa, modulación de la captación celular de glucosa, tratamiento de resistencia a la insulina, disminución de los niveles de glucosa en sangre o tratamiento de una enfermedad o afección, o un síntoma de la misma, en la que está implicada la resistencia a la insulina. Como se usa en el presente documento, tratamiento se refiere a un tratamiento de alivio terapéutico o un tratamiento profiláctico, y puede incluir uno o más de: aliviar o mejorar los síntomas de, prevenir o retrasar la aparición de, inhibir el progreso de, o detener o revertir conjuntamente el inicio o el progreso del trastorno o afección particular, o uno o más síntomas del mismo, que se trata.

Las cantidades de dosificación y los regímenes de dosificación adecuados se pueden terminar por parte del médico asistente y pueden depender de la afección particular que se trata, la gravedad de la afección así como la edad, estado general de salud y peso del sujeto, y pueden estar en el intervalo de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 1000 mg de principio activo por día, tal como de aproximadamente 0,05 mg a aproximadamente 500 mg, o de aproximadamente 0,1 a 250 mg de principio activo por día. El ingrediente activo se puede administrar en una dosis individual o en una serie de dosis. Las dosificaciones adecuadas pueden contener aproximadamente 0,25, 0,5, 1,0, 2,5, 5,0, 10, 20, 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250 o 500 mg de principio activo. En ciertas realizaciones, se pueden usar dosis relativamente bajas de los compuestos contemplados en el presente documento para conseguir el efecto deseado. De forma ventajosa, los compuestos se pueden administrar en una dosificación entre 0,001 y 10 mg/kg/día, tal como de 0,01 a 5 mg/kg/día. En ciertas realizaciones de la invención, los compuestos se administran una vez al día, en forma de una dosis individual, o una dosis dividida dos veces al día.

Como se ha descrito anteriormente, las combinaciones de acuerdo con la invención que usan metformina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, pueden permitir de forma ventajosa cantidades reducidas de dosificación de metformina (o una sal farmacéuticamente aceptable) en comparación con las terapias conocidas de metformina, particularmente la monoterapia de metformina. En algunas realizaciones, las cantidades de dosificación de las combinaciones son tales que pueden proporcionar un efecto aditivo o sinérgico. Las cantidades de dosificación y los regímenes de dosificación adecuados se pueden determinar por parte del médico asistente y pueden depender de la afección particular que se trata, la gravedad de la afección así como la edad, estado general de salud y peso del sujeto.

En algunas realizaciones de la invención, la cantidad de dosificación diaria de metformina (o una sal farmacéuticamente aceptable) administrada en la combinación es menor o igual que aproximadamente un 90 % de la que se requeriría para la monoterapia de metformina. En otras realizaciones, la dosificación es menor o igual que aproximadamente un 80 %, 70 %, 60 % o un 50 % de la que se requeriría para la monoterapia de metformina. Algunas cantidades de dosificación diaria de metformina a modo de ejemplo para un adulto pueden estar en el intervalo de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 1500 o 2000 mg de principio activo por día, tal como aproximadamente 250 mg, 500 mg, 750 mg, 850 mg, 1000 mg, 1100 o 1250 mg. Algunas cantidades de dosificación diaria a modo de ejemplo para pacientes pediátricos (10-16 años) pueden estar en el intervalo de aproximadamente 50, a aproximadamente 1000 mg o 1500 mg por día, tal como aproximadamente 100 mg, 250 mg, 500 mg, 750 mg, 850 mg, 1100 mg o 1250 mg por día. El ingrediente activo se puede administrar en una dosis individual o una serie de dosis. Las formas de dosificación adecuadas pueden contener aproximadamente 50, 75, 100, 150, 200, 250, 500 750, 850 o 1000 mg de metformina activa.

La cantidad de dosificación diaria adecuada de metazolamida (o un análogo) administrada en las combinaciones de la invención puede estar en el intervalo de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 300 mg por día, tal como 25 mg, 50 mg, 75 mg, 100 mg, 125 mg, 150 mg o 250 mg.

En ciertas realizaciones de la invención, la administración de una combinación de acuerdo con la invención puede conseguir de forma ventajosa una terapia eficaz durante un período de meses (por ejemplo, 3-36 meses) o años (por ejemplo, 1-10 años) en comparación con la correspondiente monoterapia de antidiabético o antihiper glucémico.

Aunque es posible que el compuesto CAI se administre solo, es preferente presentarlo en forma de una composición, preferentemente en forma de una composición farmacéutica, con uno o más adyuvantes farmacéuticamente aceptables. De ese modo, la presente invención también se refiere al uso de los compuestos inhibidores de anhidrasa carbónica contemplados en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o profármaco de los mismos, en la preparación de un medicamento para modular la homeostasis de la glucosa, modular la captación celular de glucosa, tratar la resistencia a la insulina, o disminuir los niveles de glucosa en sangre.

La formulación de tales composiciones se conoce bien por parte de los expertos en la materia; véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª edición, Mack Publishing, 1990. La composición puede contener cualquier vehículo, diluyente o excipiente adecuado. Estos incluyen todos los disolventes, medios de dispersión, cargas, vehículos sólidos, revestimientos, agentes antifúngicos y antibacterianos, agentes de penetración dérmica, tensioactivos, agentes isotónicos y de absorción y similares, convencionales. Se ha de entender que las composiciones de la invención también pueden incluir otros agentes fisiológicamente activos complementarios.

El vehículo debe ser farmacéuticamente aceptable en el sentido de ser compatible con los demás ingredientes de la composición y no perjudicial para sujeto. Las composiciones incluyen las adecuadas para administración oral, rectal, inhalable, nasal, tópica (incluyendo dérmica, bucal y sublingual), vaginal o parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa e intradérmica). Las composiciones se pueden presentar de forma conveniente en una

forma de dosificación unitaria y se pueden preparar mediante cualquier método bien conocido en la técnica de farmacia. Tales métodos incluyen la etapa de asociar el ingrediente activo con el vehículo que constituye uno o más ingredientes accesorios. En general, las composiciones se preparan mediante asociación uniforme e íntima del ingrediente activo con vehículos líquidos o vehículos sólidos finamente divididos o ambos, y a continuación, si fuera necesario, conformado del producto.

Las composiciones de la presente invención adecuadas para administración oral se pueden presentar en forma de unidades discretas tales como cápsulas, sobrecitos o comprimidos que contienen cada uno una cantidad predeterminada del ingrediente activo; en forma de un polvo o gránulos; en forma de una solución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso; o en forma de una emulsión líquida de aceite en agua o una emulsión líquida de agua en aceite.

Un comprimido se puede preparar mediante compresión o moldeado, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Los comprimidos preparados por compresión se pueden preparar por compresión en una máquina adecuada del ingrediente activo en una forma de flujo libre tal como polvo o gránulos, mezclado opcionalmente con un aglutinante (por ejemplo, diluyente inerte), conservante, disgregante (por ejemplo, almidón glicolato sódico, polivinilpirrolidona reticulada, carboximetilcelulosa sódica reticulada), tensioactivo o agente de dispersión. Los comprimidos moldeados se pueden preparar por moldeado en una máquina adecuada de una mezcla del compuesto en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte. Los comprimidos pueden estar opcionalmente revestidos o ranurados y se pueden formular de un modo tal que proporcionen la liberación lenta o controlada del ingrediente activo en el mismo usando revestimientos apropiados, por ejemplo, hidroxipropilmetil celulosa en proporciones variables para proporcionar el perfil de liberación deseado. Los comprimidos se pueden proporcionar opcionalmente con un revestimiento entérico para proporcionar la liberación en partes del intestino a diferencia del estómago.

Las composiciones adecuadas para administración tópica en la boca incluyen pastillas para chupar que comprenden el ingrediente activo en una base aromatizada, habitualmente sacarosa y goma arábiga o goma de tragacanto; pastillas que comprenden el ingrediente activo en una base inerte tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y goma arábiga; y lavados bucales que comprenden el ingrediente activo en un vehículo líquido adecuado.

Las composiciones adecuadas para administración tópica a la piel pueden comprender los compuestos disueltos o suspendidos en cualquier vehículo o base adecuado y pueden estar en forma de lociones, gel, cremas, pastas, pomadas y similares. Los vehículos adecuados incluyen aceite mineral, propilenglicol, polioxietileno, polioxipropileno, cera emulgente, monoestearato de sorbitán, polisorbato 60, cera de ésteres de cetilo, alcohol cetearílico, 2-octildodecanol, alcohol bencílico y agua. También se pueden usar parches transdérmicos para administrar los compuestos de la invención.

Las composiciones para administración rectal pueden estar presentes en forma de un supositorio con una base adecuada que comprende, por ejemplo, manteca de cacao, glicerina, gelatina o polietilenglicol.

Las composiciones adecuadas para administración vaginal pueden estar presentes en forma de pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones de pulverización que contienen además del ingrediente activo vehículos tales como los conocidos en la técnica por ser apropiados.

Las composiciones adecuadas para administración parenteral incluyen soluciones de inyección estériles isotónicas acuosas y no acuosas que pueden contener antioxidantes, tampones, bactericidas y solutos que vuelven la composición isotónica con la sangre del receptor pretendido; y soluciones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. La composición puede estar presente en recipientes sellados de dosis unitaria o de dosis múltiples, por ejemplo, ampollas y viales, y se puede almacenar en condiciones de congelación seca (lío-filización) que requieren solo la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo agua para inyección, inmediatamente antes de su uso. Las soluciones y suspensiones de inyección extemporáneas se pueden preparar a partir de polvos, gránulos y comprimidos estériles del tipo descrito anteriormente.

Las composiciones de dosificación unitaria preferentes son las que contienen una dosis o unidad diaria, una subdosis diaria, como se ha descrito anteriormente en el presente documento, o una fracción apropiada de la misma, del ingrediente activo.

Se ha de entender que además de los ingredientes activos particulares mencionados anteriormente, las composiciones de la presente invención pueden incluir otros agentes convencionales en la técnica que tengan relación con el tipo de composición en cuestión, por ejemplo, los adecuados para administración oral pueden incluir agentes adicionales tales como aglutinantes, edulcorantes, espesantes, agentes aromatizantes, agentes disgregantes, agentes de revestimiento, conservantes, lubricantes y/o agentes de retraso temporal. Los edulcorantes adecuados incluyen sacarosa, lactosa, glucosa, aspartamo o sacarina. Los agentes disgregantes adecuados

incluyen almidón de maíz, metilcelulosa, polivinilpirrolidona, goma de xantano, bentonita, ácido algínico o agar. Los agentes aromatizantes adecuados incluyen aceite de menta, aceite de gaulteria, y aromatizantes de cereza, naranja o frambuesa. Los agentes de revestimiento adecuados incluyen polímeros o copolímeros de ácido acrílico y/o ácido metacrílico y/o sus ésteres, ceras, alcoholes grasos, zeína, laca o gluten. Los conservantes adecuados incluyen benzoato sódico, vitamina E, alfa-tocoferol, ácido ascórbico, metil parabeno, propil parabeno o bisulfito sódico. Los agentes lubricantes adecuados incluyen estearato de magnesio, ácido esteárico, oleato sódico, cloruro sódico o talco. Los agentes de retraso temporal adecuados incluyen monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo.

La presente divulgación también se refiere a profármacos de los compuestos CAI. Cualquier compuesto que sea un profármaco de un compuesto CAI está dentro del alcance y del ánimo de la divulgación. El término "profármaco" se usa en su sentido más amplio e incluye los derivados que se convierten *in vivo*, ya sea enzimática o hidrolíticamente, en los compuestos de la divulgación. Tales derivados serían claramente evidentes para los expertos en la materia, e incluyen, por ejemplo, compuestos en los que un grupo libre tiol o hidroxilo se convierte en un éster, tal como un acetato, o un tioéster o en los que un grupo libre amino se convierte en una amida. Los procedimientos para la acilación de los compuestos de la presente invención, por ejemplo para preparar profármacos de éster y amida, se conocen en la técnica y pueden incluir el tratamiento del compuesto con un ácido carboxílico, anhídrido o cloruro apropiado en presencia de un catalizador o base adecuado. También se contemplan los ésteres de los grupos ácido carboxílico (carboxi). Los ésteres adecuados incluyen ésteres de alquilo C<sub>1-6</sub>; ésteres de alcoxi C<sub>1-6</sub>metilo, por ejemplo metoximetilo o etoximetilo; ésteres de alcanilo C<sub>1-6</sub>oximetilo, por ejemplo, pivaloilo oximetilo; ésteres de ftalidilo; ésteres de cicloalcoxi C<sub>3-8</sub>carbonilalquilo C<sub>1-6</sub>, por ejemplo, 1-ciclohexilcarbonilo xietilo; ésteres de 1,3-dioxolen-2-onilmetilo, por ejemplo, 5-metil-1,3-dioxolen-2-onilmetilo; y ésteres de alcoxi C<sub>1-6</sub>carbonilo xietilo, por ejemplo, 1-metoxycarbonilo xietilo. Los profármacos de los grupos funcionales amino incluyen amidas (véase, por ejemplo, Adv. BioSci., 1979, 20, 369, Kyncl, J. *et al.*), enaminas (véase, por ejemplo, J. Pharm. Sci., 1971, 60, 1810, Caldwell, H. *et al.*), bases de Schiff (véase, por ejemplo, el documento de Patente de Estados Unidos n.º 2.923.661 y Antimicrob. Agents Chemother., 1981, 19, 1004, Smyth, R. *et al.*), oxazolidinas (véase, por ejemplo, J. Pharm. Sci., 1983, 72, 1294, Johansen, M. *et al.*), bases de Mannich (véase, por ejemplo, J. Pharm. Sci. 1980, 69, 44, Bundgaard, H. *et al.* y J. Am. Chem. Soc., 1959, 81, 1198, Gottstein, W. *et al.*), hidroximetil derivados (véase, por ejemplo, J. Pharm. Sci., 1981, 70, 855, Bansal, P. *et al.*) y N-(aciloxi)alquil derivados y carbamatos (véase, por ejemplo, J. Med. Chem., 1980, 23, 469, Bodor, N. *et al.*, J. Med. Chem., 1984, 27, 1037, Firestone, R. *et al.*, J. Med. Chem., 1967, 10, 960, Kreiger, M. *et al.*, documento de Patente de Estados Unidos n.º 5.684.018 y J. Med. Chem., 1988, 31, 318-322, Alexander, J. *et al.*). Otros procedimientos convencionales para la selección y preparación de profármacos adecuados se conocen en la técnica y se describen, por ejemplo, en el documento de Patente WO 00/23419; Design of Prodrugs, H. Bundgaard, Ed., Elsevier Science Publishers, 1985; Methods in Enzymology, 42: 309-396, K. Widder, Ed, Academic Press, 1985; A Textbook of Drug Design and Development, Krogsgaard-Larsen y H. Bundgaard, Eds, capítulo 5, pág. 113-191 (1991); Advanced Drug Delivery Reviews, 8: 1-38 (1992); Journal of Pharmaceutical Sciences, 77:285 (1988), H. Bundgaard, *et al.*; Chem Pharm Bull, 32692 (1984), N. Kakeya *et al.* y The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action, capítulo 8, pág. 352-401, Academic press, Inc., 1992.

Las sales farmacéuticamente aceptables adecuadas de los compuestos de fórmula (I) incluyen, pero no se limitan a, sales de ácidos inorgánicos farmacéuticamente aceptables, tales como los ácidos clorhídrico, sulfúrico, fosfórico, nítrico, carbónico, bórico, sulfámico, y bromhídrico, o sales de ácidos orgánicos farmacéuticamente aceptables tales como los ácidos acético, propiónico, butírico, tartárico, maleico, hidroximaleico, fumárico, maleico, cítrico, láctico, mónico, glucónico, benzoico, succínico, oxálico, fenilacético, metanosulfónico, toluenosulfónico, bencenosulfónico, salicílico, sulfanílico, aspártico, glutámico, edético, esteárico, palmítico, oleico, láurico, pantoténico, tánico, ascórbico, fendizoico, ácido 4-4'-metilenbis-3-hidroxi-2-naftoico, ácido O-(p-hidroxibenzoil) benzoico, ácido 4'-4"-dihidroxitrifetilmetano-2-carboxílico y valérico. Las sales de bases incluyen, pero no se limitan a, las que se forman con cationes farmacéuticamente aceptables, tales como sodio, potasio, litio, calcio, magnesio, amonio y alquilamonio. Los grupos que contienen nitrógeno básico se pueden cuaternizar con agentes tales como haluros de alquilo inferior, tales como cloruros, bromuros y yoduros de metilo, etilo, propilo y butilo; sulfatos de dialquilo tales como sulfato de dimetilo y dietilo; y otros.

Los compuestos de la invención pueden estar en forma cristalina ya sea en forma de compuestos libres o en forma de solvatos y se pretende que ambas formas estén dentro del alcance de la presente invención. El término "solvato" se refiere a un complejo o agregado formado con una o más moléculas de un soluto, es decir, los compuestos contemplados por la invención, y una o más moléculas de un disolvente. Los disolventes adecuados se conocen bien en la técnica e incluyen, por ejemplo, agua, es decir, para formar hidratos, y disolventes orgánicos habituales tales como alcoholes (metanol, etanol, isopropanol) y ácido acético. Los métodos de solvatación se conocen generalmente en la técnica.

Los compuestos de la invención también se pueden presentar para su uso en composiciones veterinarias. Estas se pueden preparar mediante cualquier medio adecuado conocido en la técnica. Algunos ejemplos de tales composiciones incluyen las adaptadas para:

- (a) administración oral, aplicación externa (por ejemplo, sustancias para remojar que incluyen soluciones o suspensiones acuosas o no acuosas), comprimidos, bolos, polvos, gránulos, microgránulos para mezcla con piensos, pastas para aplicación a la lengua;

- (b) administración parenteral, por ejemplo inyección subcutánea, intramuscular o intravenosa en forma de una solución o suspensión estéril;  
(c) aplicación tópica, por ejemplo cremas, pomadas, geles, lociones, etc.

5 A continuación, la invención se describirá por referencia a los siguientes ejemplos que se proporcionan con el fin de ilustrar ciertas realizaciones de la invención y no se interpretan como limitantes de la generalidad que se ha descrito anteriormente en el presente documento.

## Ejemplos

10 Ejemplo de Referencia 1. Efecto de diclorfenamida en la captación de glucosa en adipocitos 3T3-L1

Se conservaron en suero sin alimento adipocitos 3T3-L1 (no infectados) en un formato de placa de 96 pocillos durante una noche (16 a 18 h) en DMEM que contenía un 0,2 % de BSA y se trataron o no se trataron con diclorfenamida a una concentración de 10  $\mu$ M. Se añadió diclorfenamida durante la conservación en suero sin alimento. A continuación las células se lavaron dos veces en PBS de Dulbecco, a pH 7,4 (Gibco) que contenía un 0,2 % (p/v) de BSA de calidad de RIA,  $MgCl_2$  0,5 mM y  $CaCl_2$  0,5 mM. Se añadió insulina a 0, 0,5 y 10 nM durante 20 min a 37 °C. Se midió la captación de 2-desoxi glucosa 50  $\mu$ M y 2-desoxi-[U- $^3H$ ] glucosa 0,5  $\mu$ Ci (NEN, PerkinElmer Life Sciences) por pocillo durante los 10 min finales de la estimulación con insulina. La reacción se detuvo después de la adición de 80  $\mu$ g/ml floretina enfriada en hielo en PBS, a pH 7,4 y las células se solubilizaron en SDS al 0,03 % (p/v). Se midieron las cuentas por minuto (cpm) mediante un contador de centelleo. Estos resultados se presentan a continuación en la Tabla 1-1.

Los datos de la Tabla 1-1 muestran que la diclorfenamida mejoró la captación basal de 2-desoxiglucosa así como la captación de 2-desoxiglucosa estimulada por insulina submáxima (0,5 nM) y máxima (10 nM) (los resultados representan el valor medio de tres experimentos independientes) y cada experimento se sometió a ensayo por cuadruplicado. Los datos se expresan como el valor medio  $\pm$  SEM. El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando un ensayo de t sin emparejar (2 colas).

Tabla 1-1: Efecto de diclorfenamida (DCP) en la captación de 2-desoxiglucosa por adipocitos 3T3-L1

| Captación de 2-desoxiglucosa (normalizada: vehículo sin insulina = 100 %) | Sin tratar     | Tratada con DCP 10 $\mu$ M  |
|---------------------------------------------------------------------------|----------------|-----------------------------|
| Vehículo                                                                  | 100 $\pm$ 12   | 508 $\pm$ 57 <sup>1</sup>   |
| Insulina 0,5 nM                                                           | 749 $\pm$ 66   | 1468 $\pm$ 400 <sup>2</sup> |
| Insulina 10 nM                                                            | 2063 $\pm$ 205 | 182 $\pm$ 697               |
| <sup>1</sup> p = 0,02;<br><sup>2</sup> p = 0,05                           |                |                             |

Ejemplo de Referencia 2. Efecto de la diclorfenamida en la tolerancia a la glucosa en *Psammomys obesus* obesos (ratas de tierra israelíes)

La rata de tierra israelí no consanguínea, *Psammomys obesus* es un modelo de animal único para el estudio de obesidad y diabetes. Cuando se alojan en condiciones de laboratorio convencionales, una proporción de las ratas de tierra israelíes se vuelven obesas y desarrollan espontáneamente diabetes de tipo 2, sin requerir una alimentación altamente calórica tal como en el modelo de ratón obeso inducido por dieta, o como consecuencia de una mutación en un gen particular tal como en el modelo de ratón *db/db*. A este respecto, su evolución en un estado diabético se parece mucho a las condiciones humanas ambientales y poligénicas. Las *P. obesus* diabéticas de tipo 2 también son profundamente resistentes a la insulina, según se mide mediante el área bajo la curva de glucosa en sangre durante un ensayo de tolerancia a la glucosa (OGTT). Además, una proporción de los animales permanecen delgados y sanos en estas mismas condiciones, mientras que otros desarrollan una diversidad de fenotipos intermedios. Esta respuesta es similar a la que se observa en las poblaciones humanas.

Las *P. obesus* diabéticas se caracterizan por tener niveles elevados de glucosa en sangre. Los animales que tienen glucosa en sangre >8,0 mM se consideran diabéticos (Barnett *et al.*, Diabetologia 1994;37:671-676), y la magnitud de la reducción de la glucosa en sangre, así como la reducción del área de la curva de glucosa en plasma de OGTT después de tratamiento con un compuesto se toman como la medida de la eficacia de ese compuesto en la mejora del metabolismo de glucosa del animal.

Se mantuvieron sin alimento *P. obesus* macho normoglucémicos e hiperinsulinémicos de 16 semanas de edad (Walder *et al.*, Int J Exp Diabetes Res. 2000; 1(3): 177-84; y Trevaskis *et al.*, Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol. 2004 137(1):65-73) durante 4 horas antes de la administración de 20 mg/kg de diclorfenamida en solución salina mediante una sonda oral (5 ml por gramo de peso corporal) usando tubos de alimentación (41 x 0,17 cm, Kendall Co., Mansfield, MA. USA). Después de otras 4 horas se administró glucosa (2 g/kg de peso corporal) a los

animales mediante una sonda oral. Se tomaron muestras de sangre de 50 µl de la cola en cada punto temporal; 0, 15, 30, 45, 60 y 90 minutos después del suministro de glucosa para determinar los niveles de glucosa e insulina en sangre. La glucosa se midió en sangre completa usando un analizador de glucosa YSI (STAT PLUS modelo n.º 2300, Yellow Springs Instruments Co., Ohio, USA). El instrumento toma una alícuota de muestra de 25 µl y se calibra cada 10 muestras usando patrones de glucosa de 5,55 y 8,33 mmol/l. El analizador utiliza una sonda equipada con una membrana de 3 capas que contiene una enzima inmovilizada. Se oxida J3-D-glucosa mediante glucosa oxidasa, que está inmovilizada en una membrana de policarbonato de celulosa, para formar glucono(-)-lactona y peróxido de hidrógeno. A su vez, el peróxido de hidrógeno se oxida en el ánodo de platino, produciendo electrones. El flujo de electrones es directamente proporcional a la concentración de peróxido de hidrógeno en estado estacionario y por lo tanto a la concentración de glucosa en la muestra. Los niveles de insulina se midieron en el plasma obtenido después de la coagulación de la muestra de sangre en tubos revestidos con heparina. Las concentraciones de insulina en plasma se determinaron usando un kit de radioinmunoensayo (RIA) de doble anticuerpo disponible en el mercado (Linco Research Inc., USA). Las muestras de insulina en plasma se midieron mediante el ensayo competitivo de insulina con insulina marcada con yodo 125 por los sitios de unión en anticuerpos altamente específicos. En el procedimiento, se añadieron 20 µl de la muestra de plasma (por duplicado) a 50 µl de insulina marcada con yodo 125 (trazador) y 50 µl de anticuerpo anti-insulina de cobaya (primer anticuerpo). A continuación, las soluciones se incubaron durante 2 horas antes de añadir 1 ml de anticuerpo anti-cobaya de oveja (segundo anticuerpo) y dejar incubar de nuevo durante 30 minutos a temperatura ambiente. A continuación, la insulina unida y libre se separaron por centrifugación a 3500 g durante 20 minutos (Beckman Centrifuge Model J6B, Beckman Instruments, Gladesville, Australia), dejando la insulina unida en el sedimento del fondo del tubo después de la aspiración de cada muestra. A continuación, se usó un contador gamma (Minaxi g Auto-gamma 5000 series, Packard Instrument Company, IL, USA) con un tiempo de recuento de 1 minuto para medir la radiactividad del sedimento de la fase sólida. Los resultados se presentan en la Tabla 2-1.

Los datos de la Tabla 2-1 mostraron que el tratamiento con diclorfenamida aumentó la tolerancia a la glucosa de *P. obesus* diabéticos según se mide mediante la reducción en el área bajo la curva de glucosa en plasma y la curva de insulina en plasma en un ensayo oral de tolerancia a la glucosa.

Tabla 2-1: Efecto de la diclorfenamida en la tolerancia a la glucosa en *Psammomys obesus* obesos

| Tiempo (min) después de alimentación con glucosa                                 | Glucosa en plasma (mM) |              | Insulina en plasma (mU/ml) |              |
|----------------------------------------------------------------------------------|------------------------|--------------|----------------------------|--------------|
|                                                                                  | Vehículo               | 20 mg/kg DCP | Vehículo                   | 20 mg/kg DCP |
| 0                                                                                | 3,5 ± 0,1              | 3,4 ± 0,2    | 48 ± 10                    | 48 ± 15      |
| 15                                                                               | 5,5 ± 0,6              | 5,4 ± 0,2    | 290 ± 69                   | 141 ± 21     |
| 30                                                                               | 6,3 ± 0,4              | 4,7 ± 0,4*   | 263 ± 68                   | 149 ± 49     |
| 45                                                                               | 6,9 ± 0,4              | 5,1 ± 0,3*   | 161 ± 34                   | 123 ± 39     |
| 60                                                                               | 6,6 ± 0,5              | 4,7 ± 0,4*   | 217 ± 57                   | 202 ± 46     |
| 90                                                                               | 5,4 ± 0,5              | 4,3 ± 0,4    | 160 ± 45                   | 117 ± 22     |
| AUC (mM.min)                                                                     | 218 ± 32               | 119 ± 16*    | 14,014 ± 3075              | 8,548 ± 2441 |
| Los datos representan el valor medio ± SE de 6 animales por grupo.<br>* p < 0,02 |                        |              |                            |              |

Ejemplo de Referencia 3. Efecto de la diclorfenamida en los niveles de glucosa en sangre en ayunas de ratones (*Mus Musculus*) obesos inducidos por dieta (DIO)

Ratones de la cepa C57BL/6J alimentados con una dieta de alto contenido en grasa (45 % de grasa) disponible en el mercado durante 10 semanas desarrollaron obesidad (grasa corporal >20 % del peso corporal), hiperglucemia suave (concentraciones de glucosa en plasma de 8-10 mM), e intolerancia a la glucosa (área bajo la curva de glucosa en plasma de un ensayo de tolerancia a la glucosa intraperitoneal de > 1200 mM.min). Este modelo animal, el modelo de ratón obeso inducido por dieta (DIO), es extremadamente útil para estudiar la resistencia a la insulina en un estado prediabético con un fuerte componente ambiental. La resistencia a la insulina en este modelo se caracteriza por un aumento en el área bajo la curva de glucosa en sangre después de inyección intraperitoneal de glucosa (IPGTT), y la magnitud de la reducción en el área de esta curva de glucosa en sangre después del tratamiento con un compuesto se toma como una medida de la eficacia de ese compuesto en la mejora del metabolismo de glucosa del animal.

*Preparación y administración del compuesto*

Soluciones de dosificación de los artículos de ensayo: se prepararon en el momento soluciones de dosificación de diclorfenamida en cada día de dosificación y se almacenaron a temperatura ambiente, protegidas de la luz. El compuesto se formuló en solución salina estéril.

*Animales*

Se obtuvieron ratones macho C57B1/6J de 8 semanas de edad en el Centro de Recursos Animales (Canning Vale, Western Australia). Los animales se alojaron individualmente y se permitió libre movimiento y acceso a voluntad a agua y comida. Los animales se mantuvieron en un ciclo de 12 horas de luz (6 am-6 pm) y 12 horas de oscuridad (6 pm-6 am). Los animales se monitorizan diariamente. Se registraron el peso corporal y la ingesta de agua y alimentos 3 veces al día. Después de dos semanas de aclimatación, los ratones se alimentaron con una dieta rica y alta en grasas (SF04-001, Specialty feeds, Glen Forrest, WA, Australia con una densidad de energía total de 4,7 kcal/g. La distribución calórica de la dieta fue de un 20 % de proteínas, un 35 % de carbohidratos, y un 45 % de grasas) durante 14 semanas.

*Tratamiento*

Durante las dos últimas semanas se trataron los animales en grupos de 6 con vehículo o 20 mg/kg de diclorfenamida en vehículo mediante sonda oral (5 µl por gramo de peso corporal) usando tubos de alimentación de 18 ga (1,2 mm) x 38 mm de Instech Solomon (Plymouth, USA).

*Concentración de glucosa en plasma en ayunas (FPG)*

Los niveles de glucosa en plasma en ayunas de los animales se sometió a ensayo antes del comienzo del estudio y en el día 14 de la dosificación. Los animales ayunaron durante un período de 4 horas después de la dosificación y antes de la extracción de una muestra de sangre a través de una muesca en la cola. Los niveles de glucosa en sangre se monitorizaron usando glucómetros disponibles en el mercado (Accucheck Advantage, Roche) basándose en la corriente eléctrica generada cuando se deposita una gota de sangre en una tira de ensayo que da como resultado la conversión de la glucosa presente en la muestra en gluconolactona mediante la enzima glucosa deshidrogenasa, en presencia de la coenzima (PQQ). Los resultados se presentan en la Tabla 3-1.

Los datos de la Tabla 3-1 muestran que el tratamiento con diclorfenamida redujo los niveles de glucosa en plasma en ayunas de ratones obesos inducidos por dieta.

Tabla 3-1: Efecto de la diclorfenamida en los niveles de glucosa en sangre en ayunas en ratones obesos inducidos por dieta

| Tratamiento | FPG Día -1 (mM) | FPG Día 14 (mM) | Delta FPG Tratamiento del Día 14 frente al Día -1 | Delta FPG Tratamiento frente al vehículo el Día 14 |
|-------------|-----------------|-----------------|---------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| Vehículo    | 10,5 ± 0,4      | 9,33 ± 0,2      | -11 %                                             | 0 %                                                |
| 20 mg/kg    | 10,05 ± 0,2     | 8,35 ± 0,2      | -17 % <sup>1</sup>                                | -11 % <sup>2</sup>                                 |

<sup>1</sup> p = 0,002 ensayo t emparejado; <sup>2</sup> p = 0,005 ensayo t sin emparejar.  
Los datos representan el valor medio ± SE de 5-6 animales por grupo.

Ejemplo de Referencia 4. Efecto de la diclorfenamida en los niveles de glucosa en sangre en ayunas de ratones (*Mus Musculus*) obesos inducidos por dieta (DIO)

*Preparación y administración del compuesto*

Soluciones de dosificación de los artículos de ensayo: se prepararon en el momento soluciones de dosificación de diclorfenamida en cada día de dosificación y se almacenaron a temperatura ambiente, protegidas de la luz. El compuesto se formuló en solución salina estéril.

*Animales*

Se trataron ratones macho C57B1/6J como para el Ejemplo 3.

*Tratamiento*

Durante las tres últimas semanas se trataron los animales en grupos de 6 con vehículo o 20 mg/kg o 50 mg/kg de diclorfenamida en vehículo mediante sonda oral (5 µl por gramo de peso corporal) usando tubos de alimentación de 18 ga (1,2 mm) x 38 mm de Instech Solomon (Plymouth, USA).

*Concentración de glucosa en plasma en ayunas (FPG)*

Los niveles de glucosa en plasma en ayunas de los animales se sometió a ensayo antes del comienzo del estudio y en el día 19 de la dosificación. Los animales ayunaron durante un período de 4 horas después de la dosificación y antes de la extracción de una muestra de sangre a través de una muesca en la cola. Los niveles de glucosa en sangre se monitorizaron usando glucómetros disponibles en el mercado (Accucheck Advantage, Roche) basándose en la corriente eléctrica generada cuando se deposita una gota de sangre en una tira de ensayo que da como resultado la conversión de la glucosa presente en la muestra en gluconolactona mediante la enzima glucosa deshidrogenasa, en presencia de la coenzima (PQQ). Los resultados se presentan en la Tabla 4-1.

Los datos de la Tabla 4-1 muestran que el tratamiento con diclorfenamida mejora la tolerancia a la glucosa de ratones obesos inducidos por dieta.

Tabla 4-1: ipGTT después de tratamiento con diclorfenamida en ratones DIO

| Tratamiento                                                                                          | AUC Día -1 | AUC Día 19 | Delta AUC Día 19 frente al Día -1 | AUC Trat. Día 19 frente al Veh. |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|------------|-----------------------------------|---------------------------------|
| Vehículo                                                                                             | 1351 ± 80  | 987 ± 88   | -27 % <sup>1</sup>                | 0 %                             |
| 20 mg/kg                                                                                             | 1350 ± 56  | 832 ± 80   | -38 % <sup>2</sup>                | -16 %                           |
| 50 mg/kg                                                                                             | 1345 ± 73  | 908 ± 38   | -32 % <sup>1</sup>                | -8 %                            |
| Los datos representan el valor medio ± SE de 5-6 animales por grupo; p<0,01;<br><sup>2</sup> p<0,001 |            |            |                                   |                                 |

Ejemplo 5. Efecto de la metazolamida en los niveles de glucosa en sangre en ayunas de ratones (*Mus Musculus*) obesos inducidos por dieta

*Preparación y administración del compuesto*

Soluciones de dosificación de los artículos de ensayo: se prepararon en el momento soluciones de dosificación de metazolamida en cada día de dosificación y se almacenaron a temperatura ambiente, protegidas de la luz. El compuesto se formuló en vehículo estéril: solución salina:PEG400 65:35 v/v.

*Animales*

Se obtuvieron ratones macho C57B1/6J de 8 semanas de edad en el Centro de Recursos Animales (Canning Vale, Western Australia). Los animales se alojaron individualmente y se permitió libre movimiento y acceso a voluntad a agua y comida. Los animales se mantuvieron en un ciclo de 12 horas de luz (6 am-6 pm) y 12 horas de oscuridad (6 pm-6 am). Los animales se monitorizan diariamente. Se registraron el peso corporal y la ingesta de agua y alimento 3 veces al día. Después de dos semanas de aclimatación, los ratones se alimentaron con una dieta rica y alta en grasas (SF04-001, Specialty feeds, Glen Forrest, WA, Australia con una densidad de energía total de 4,7 kcal/g. La distribución calórica de la dieta fue de un 20 % de proteínas, un 35 % de carbohidratos, y un 45 % de grasas) durante 12 semanas.

*Tratamiento*

Durante las dos últimas semanas se trataron los animales en grupos de 6 con dosis seleccionadas entre: vehículo, 10 mg/kg, 20 mg/kg, 50 mg/kg, 100 mg/kg de metazolamida en vehículo mediante sonda oral (5 µl por gramo de peso corporal) usando tubos de alimentación de 18 ga (1,2 mm) x 38 mm de Instech Solomon (Plymouth, USA).

*Concentración de glucosa en plasma en ayunas (FPG)*

Los niveles de glucosa en plasma en ayunas de los animales se sometió a ensayo antes del comienzo del estudio y en el día 13 de la dosificación. Los animales ayunaron durante un período de 4 horas después de la dosificación y antes de la extracción de una muestra de sangre a través de una muesca en la cola. Los niveles de glucosa en sangre se monitorizaron usando glucómetros disponibles en el mercado (Accucheck Advantage, Roche) basándose en la corriente eléctrica generada cuando se deposita una gota de sangre en una tira de ensayo que da como resultado la conversión de la glucosa presente en la muestra en gluconolactona mediante la enzima glucosa deshidrogenasa, en presencia de la coenzima (PQQ). Los resultados se presentan en la Tabla 5-1 y la Tabla 5-2.

Los datos de la Tabla 5-1 muestran que el tratamiento con metazolamida redujo los niveles de glucosa en plasma en ayunas de ratones obesos inducidos por dieta.

Los datos de la Tabla 5-2 muestran que el tratamiento con metazolamida aumentó la tolerancia a la glucosa de ratones obesos inducidos por dieta.

*Peso corporal*

No hubo ninguna diferencia en el peso corporal entre cualquiera de los grupos tratados en el Día 0 o el Día 13, lo que indica que los efectos de la metazolamida en el metabolismo de la glucosa no fueron derivados de cambios en el peso corporal.

Tabla 5-1: Glucosa en plasma en ayunas durante tratamiento con metazolamida en ratones DIO

| Tratamiento                                                                                                           | FPG Día -1 (mM) | FPG Día 13 (mM) | Delta FPG Tratamiento del Día 13 frente al Día -1 | Delta FPG Tratamiento frente al vehículo el Día 13 |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|-----------------|---------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| Vehículo                                                                                                              | 7,6 ± 0,46      | 7,67 ± 0,34     | 1 %                                               | 0 %                                                |
| 10 mg/kg                                                                                                              | 6,92 ± 0,55     | 7,75 ± 0,43     | 12 %                                              | 1 %                                                |
| 20 mg/kg                                                                                                              | 7,28 ± 0,47     | 6,90 ± 0,24     | -5 %                                              | -10 %                                              |
| 50 mg/kg                                                                                                              | 7,20 ± 0,71     | 6,28 ± 0,31     | -13 %                                             | -18 % <sup>1</sup>                                 |
| 100 mg/kg                                                                                                             | 7,63 ± 0,55     | 6,05 ± 0,15     | -21 %                                             | -21 % <sup>2</sup>                                 |
| <sup>1</sup> p = 0,01; <sup>2</sup> p = 0,001<br>Los datos representan el valor medio ± SE de 5-6 animales por grupo. |                 |                 |                                                   |                                                    |

Tabla 5-2: ipGTT después de tratamiento con metazolamida en ratones DIO

| Tratamiento                                                                                                       | AUC Día -1 (mM.min) | AUC Día 13 (mM.min) | Delta AUC Tratamiento Día 13 frente al Día -1 | Delta AUC Tratamiento frente al Vehículo Día 13 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|---------------------|-----------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| Vehículo                                                                                                          | 1078 ± 112          | 976 ± 83            | -10 %                                         | 0 %                                             |
| 10 mg/kg                                                                                                          | 1038 ± 129          | 901 ± 139           | -13 %                                         | -8 %                                            |
| 20 mg/kg                                                                                                          | 1070 ± 77           | 619 ± 106           | -42 % <sup>1</sup>                            | -37 % <sup>1</sup>                              |
| 50 mg/kg                                                                                                          | 1073 ± 112          | 710 ± 87            | -34 % <sup>1</sup>                            | -27 % <sup>1</sup>                              |
| 100 mg/kg                                                                                                         | 1080 ± 59           | 691 ± 60            | -36 % <sup>2</sup>                            | -29 % <sup>1</sup>                              |
| Los datos representan el valor medio ± SE de 5-6 animales por grupo; <sup>1</sup> p <0,05; <sup>2</sup> p = 0,005 |                     |                     |                                               |                                                 |

Ejemplo de Referencia 6. Efecto de la clortalidona en los niveles de glucosa en sangre en ayunas de ratones (*Mus Musculus*) obesos inducidos por dieta

*Preparación y administración del compuesto*

Soluciones de dosificación de los artículos de ensayo: se prepararon en el momento soluciones de dosificación de clortalidona en cada día de dosificación y se almacenaron a temperatura ambiente, protegidas de la luz. El compuesto se formuló en vehículo estéril: solución salina:PEG400 1:1 v/v.

*Animales*

Se trataron ratones macho C57B1/6J como para el Ejemplo 5.

*Tratamiento*

Durante las dos últimas semanas se trataron los animales en grupos de 6 con dosis seleccionadas entre: vehículo, 10 mg/kg, 20 mg/kg y 50 mg/kg de clortalidona en vehículo mediante sonda oral (5 µl por gramo de peso corporal) usando tubos de alimentación de 18 ga (1,2 mm) x 38 mm de Instech Solomon (Plymouth, USA).

*Concentración de glucosa en plasma en ayunas (FPG)*

Los niveles de glucosa en plasma en ayunas de los animales se sometió a ensayo antes del comienzo del estudio y en el día 13 de la dosificación como para el Ejemplo 5. Los resultados se presentan en la Tabla 6-1 y la Tabla 6-2 e indican que la clortalidona no tiene ningún efecto beneficioso en la glucosa en plasma en ayunas o la tolerancia a la glucosa.

Tabla 6-1: Glucosa en plasma en ayunas durante tratamiento con clortalidona en ratones DIO

| Tratamiento                                                          | FPG Día -1 (mM) | FPG Día 13 (mM) | Delta FPG Tratamiento Día 13 frente al Día -1 | FPG Tratamiento frente al Vehículo Día 13 |
|----------------------------------------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------------------------------------|-------------------------------------------|
| Vehículo                                                             | 7,82 ± 0,61     | 7,7 ± 0,29      | -2 %                                          | 0 %                                       |
| 10 mg/kg                                                             | 7,8 ± 0,31      | 8,08 ± 0,35     | 4 %                                           | 5 %                                       |
| 20 mg/kg                                                             | 7,58 ± 0,18     | 7,08 ± 0,31     | -7 %                                          | -8 %                                      |
| 50 mg/kg                                                             | 7,94 ± 0,4      | 7,4 ± 0,51      | -7 %                                          | -4 %                                      |
| Los datos representan el valor medio ± SE de 5-6 animales por grupo. |                 |                 |                                               |                                           |

Tabla 6-2: ipGTT después de tratamiento con clortalidona en ratones DIO

| Tratamiento                                                          | AUC Día -1 (mM.min) | AUC Día 13 (mM.min) | Delta AUC Tratamiento Día 13 frente al Día -1 | AUC Tratamiento frente al Vehículo Día 13 |
|----------------------------------------------------------------------|---------------------|---------------------|-----------------------------------------------|-------------------------------------------|
| Vehículo                                                             | 1291 ± 175          | 1288 ± 167          | 0 %                                           | 0 %                                       |
| 10 mg/kg                                                             | 1439 ± 137          | 1660 ± 137          | 15 %                                          | 29 %                                      |
| 20 mg/kg                                                             | 1416 ± 110          | 1263 ± 75           | -11 %                                         | -2 %                                      |
| 50 mg/kg                                                             | 1398 ± 87           | 1512 ± 46           | 8 %                                           | 17 %                                      |
| Los datos representan el valor medio ± SE de 5-6 animales por grupo. |                     |                     |                                               |                                           |

- 5 Ejemplo de Referencia 7. Efecto de la furosemida en los niveles de glucosa en sangre en ayunas de ratones (*Mus Musculus*) obesos inducidos por dieta

#### *Preparación y administración del compuesto*

- 10 Soluciones de dosificación de los artículos de ensayo: se prepararon en el momento soluciones de dosificación de clortalidona en cada día de dosificación y se almacenaron a temperatura ambiente, protegidas de la luz. El compuesto se formuló en vehículo estéril: solución salina:PEG400 1:1 v/v.

#### *Animales*

- 15 Se trataron ratones macho C57B1/6J como para el Ejemplo 5.

#### *Tratamiento*

- 20 Durante las dos últimas semanas se trataron los animales en grupos de 6 con dosis seleccionadas entre: vehículo, 10 mg/kg, 20 mg/kg y 50 mg/kg de furosemida en vehículo mediante sonda oral (5 µl por gramo de peso corporal) usando tubos de alimentación de 18 ga (1,2 mm) x 38 mm de Instech Solomon (Plymouth, USA).

#### *Concentración de glucosa en plasma en ayunas (FPG)*

- 25 Los niveles de glucosa en plasma en ayunas de los animales se sometió a ensayo antes del comienzo del estudio y en el día 13 de la dosificación como para el Ejemplo 5. Los resultados se presentan en la Tabla 7-1 y la Tabla 7-2 e indican que la furosemida no tiene ningún efecto beneficioso en la glucosa en plasma en ayunas.

#### *Peso corporal*

- 30 El tratamiento con furosemida dio como resultado una pérdida sustancial de peso corporal en los animales, consistente con un efecto tóxico. Los animales tratados con 100 mg/kg/d perdieron ~6 g en 5 días, y tuvieron que someterse a eutanasia. Los animales tratados con 10-50 mg/kg/d perdieron entre 4 y 6 g a lo largo del estudio.

35 Tabla 7-1: Glucosa en plasma en ayunas durante tratamiento con furosemida en ratones DIO

| Tratamiento | FPG Día -1 (mM) | FPG Día 13 (mM) | Delta FPG Tratamiento Día 13 frente al Día -1 | FPG Tratamiento frente al Vehículo Día 13 |
|-------------|-----------------|-----------------|-----------------------------------------------|-------------------------------------------|
| Vehículo    | 7,28 ± 0,3      | 8,68 ± 0,3      | 19 %                                          | 0 %                                       |
| 10 mg/kg    | 7,28 ± 0,3      | 9,02 ± 0,4      | 24 %                                          | 4 %                                       |
| 20 mg/kg    | 7,4 ± 0,4       | 8,50 ± 0,4      | 15 %                                          | -2 %                                      |

| Tratamiento                                                          | FPG Día -1 (mM) | FPG Día 13 (mM) | Delta FPG Tratamiento Día 13 frente al Día -1 | FPG Tratamiento frente al Vehículo Día 13 |
|----------------------------------------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------------------------------------|-------------------------------------------|
| 50 mg/kg                                                             | 6,78 ± 0,3      | 8,16 ± 0,6      | 20 %                                          | -6 %                                      |
| Los datos representan el valor medio ± SE de 5-6 animales por grupo. |                 |                 |                                               |                                           |

Ejemplo 8. Efecto de metazolamida, metformina y metazolamida/metformina en los niveles de glucosa en sangre en ayunas en ratones (*Mus Musculus*) obesos inducidos por dieta

5 (La referencia a "metformina" significa clorhidrato de metformina)

#### Preparación y administración de los compuestos

10 Soluciones de dosificación de los artículos de ensayo: se predeterminaron dosis de disminución de glucosa en plasma en ayunas subóptimas para metazolamida y metformina (10 mg/kg y 300 mg/kg respectivamente). Se prepararon en el momento metazolamida, metformina y metazolamida/metformina en cada día de dosificación y se almacenaron a temperatura ambiente, protegidas de la luz. El compuesto se formuló en vehículo estéril: NMP:PEG300:solución salina (1:2:17, v/v). Se prepararon soluciones de trabajo por disolución del compuesto en NMP:PEG300 (1:2, v/v). La solución salina se añadió a la solución de trabajo antes de la administración del compuesto. Las soluciones se mezclaron mediante agitación vorticial inmediatamente antes de la dosificación para asegurar una suspensión homogénea del compuesto.

#### Animales

20 Se trataron ratones macho C57B1/6J como para el Ejemplo 5.

#### Tratamiento

25 Durante las dos últimas semanas se trataron los animales en grupos de 6 con dosis seleccionadas entre: vehículo, 10 mg/kg de metazolamida, 300 mg/kg de metformina y 10 mg/kg y 300 mg/kg de metazolamida/metformina en vehículo mediante sonda oral (5 µl por gramo de peso corporal) usando tubos de alimentación de 18 ga (1,2 mm) x 38 mm de Instech Solomon (Plymouth, USA).

#### Concentración de glucosa en plasma en ayunas (FPG)

30 Los niveles de glucosa en plasma en ayunas de los animales se sometió a ensayo antes del comienzo del estudio y en el día 13 de la dosificación como para el Ejemplo 5. Los resultados se presentan en la Tabla 8-1 y la Tabla 8-2.

35 Los datos de la Tabla 8-1 mostraron que el tratamiento con una combinación de metformina/metazolamida redujo los niveles de glucosa en plasma en ayunas de ratones obesos inducidos por dieta y que esta reducción fue mayor que la conseguida por tratamiento con dosis subóptimas de metformina o metazolamida solas.

40 Los datos de la Tabla 8-2 mostraron que el tratamiento con una combinación de metformina/metazolamida mejoró la tolerancia a la glucosa de ratones obesos inducidos por dieta y que esta mejora fue mayor que la conseguida por tratamiento con dosis subóptimas de metformina o metazolamida solas.

Tabla 8-1: Glucosa en plasma en ayunas durante tratamiento con metazolamida, metformina o metazolamida/metformina combinadas en ratones DIO

| Tratamiento                                                                                           | FPG Día -1 (mM) | FPG Día 13 (mM) | Delta FPG Tratamiento Día 13 frente al Día -1 | Delta FPG Tratamiento frente al Vehículo Día 13 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| Vehículo                                                                                              | 6,3 60,3        | 7,660,3         | 20 % <sup>1</sup>                             | 0 %                                             |
| 10 mg/kg de metazolamida                                                                              | 6,1 ± 0,5       | 6,6 ± 0,4       | 8 %                                           | -12 %                                           |
| 300 mg/kg de metformina                                                                               | 6,1 ± 0,6       | 6,8 ± 0,4       | 11 %                                          | -11 %                                           |
| 10 mg/kg de metazolamida Y 300 mg/kg de metformina                                                    | 6,5 ± 0,4       | 6,1 ± 0,3       | -6 %                                          | -19 % <sup>2</sup>                              |
| Los datos representan el valor medio ± SE de 5-6 animales por grupo; p = 0,01; <sup>2</sup> p = 0,005 |                 |                 |                                               |                                                 |

Tabla 8-2: ipGTT durante tratamiento con metazolamida, metformina o metazolamida/metformina combinadas en ratones DIO

| Tratamiento                                                          | AUC Día -1 (mM.min) | AUC Día 13 (mM.min) | Delta AUC Día 13 frente al Día -1 | AUC Trat. Día 13 frente al Veh. |
|----------------------------------------------------------------------|---------------------|---------------------|-----------------------------------|---------------------------------|
| Vehículo                                                             | 1186 ± 73           | 1206 ± 69           | 2 %                               | 0 %                             |
| 10 mg/kg de metazolamida                                             | 1190 ± 62           | 1131 ± 95           | -5 %                              | -6 %                            |
| 300 mg/kg de metformina                                              | 1171 ± 81           | 1307 ± 91           | 12 %                              | 8 %                             |
| 10 mg/kg de metazolamida Y 300 mg/kg de metformina                   | 1222 ± 80           | 1072 ± 108          | -12 %                             | -11 %                           |
| Los datos representan el valor medio ± SE de 5-6 animales por grupo. |                     |                     |                                   |                                 |

Ejemplo 9. Efecto de metazolamida, metformina y metazolamida/metformina en los niveles de glucosa en sangre en ayunas en ratones (*Mus Musculus*) db/db

(La referencia a "metformina" significa clorhidrato de metformina)

El modelo de ratón *db/db* comprende ratones con una mutación homocigótica en el gen receptor de leptina que elimina la señalización de leptina en el hipotálamo y en otros lugares. El modelo de ratón *db/db* se usa habitualmente para estudiar los mecanismos genéticos y fisiológicos de la obesidad y la diabetes de tipo II. A diferencia de los ratones DIO en los que la obesidad y la resistencia a la insulina está inducida por la alimentación con una dieta alta en calorías, los ratones *db/db* desarrollan espontáneamente hiperglucemia grave (>20 mM), obesidad mórbida (grasa >35 % del peso corporal) y diabetes, incluso cuando se alimentaron con comida de laboratorio convencional. La leptina actúa a través del receptor de leptina para controlar la homeostasis de la energía del cuerpo en su conjunto mediante la regulación tanto del apetito como del gasto energético. La pérdida de función del gen receptor de leptina da como resultado hiperfagia y metabolismo más lento, lo que conduce a obesidad y finalmente diabetes. La diabetes en este modelo se caracteriza por niveles de glucosa en plasma en ayunas >20 mM y la magnitud de la reducción en las concentraciones de glucosa en plasma en ayunas después del tratamiento con un compuesto se toma como una medida de la eficacia de ese compuesto en la mejora del metabolismo de la glucosa del animal.

#### Preparación y administración del compuesto

Soluciones de dosificación de los artículos de ensayo: se prepararon en el momento metazolamida, metformina y metazolamida/metformina en cada día de dosificación y se almacenaron a temperatura ambiente, protegidas de la luz. El compuesto se formuló en vehículo estéril: NMP:PEG300:solución salina (1:2:17, v/v). Se prepararon soluciones de trabajo por disolución del compuesto en NMP:PEG300 (1:2, v/v). La solución salina se añadió a la solución de trabajo antes de la administración del compuesto. Las soluciones se mezclaron mediante agitación vorticial inmediatamente antes de la dosificación para asegurar una suspensión homogénea del compuesto.

#### Animales

Se obtuvieron ratones macho *db/db* C57B1/6J de 10 semanas de edad en el Centro de Recursos Animales (Canning Vale, Western Australia). Los animales se alojaron individualmente y se permitió libre movimiento y acceso a voluntad a agua y comida. Los animales se mantuvieron en un ciclo de 12 horas de luz (6 am-6 pm) y 12 horas de oscuridad (6 pm-6 am). Los animales se monitorizaron diariamente. Se registraron el peso corporal y la ingesta de agua y alimento 3 veces al día. Los ratones se alimentaron con una dieta de comida convencional, y se usaron después de un periodo de aclimatación de dos semanas.

#### Tratamiento

Se trataron los animales en grupos de 6 con dosis seleccionadas entre: vehículo, 20 mg/kg de metazolamida, 300 mg/kg de metformina y 20 mg/kg y 300 mg/kg de metazolamida/metformina en vehículo mediante sonda oral (5 µl por gramo de peso corporal) usando tubos de alimentación de 18 ga (1,2 mm) x 38 mm de Instech Solomon (Plymouth, USA).

#### Concentración de glucosa en plasma en ayunas

Los niveles de glucosa en plasma en ayunas de los animales se sometió a ensayo antes del comienzo del estudio y a continuación cada 3-4 días durante la dosificación. Los animales ayunaron durante un periodo de 4 horas después de la dosificación y antes de la extracción de una muestra de sangre a través de una muesca en la cola. Los niveles de glucosa en sangre se monitorizaron usando glucómetros disponibles en el mercado (Accucheck Advantage, Roche) basándose en la corriente eléctrica generada cuando se deposita una gota de sangre en una tira de ensayo que da como resultado la conversión de la glucosa presente en la muestra en gluconolactona mediante la enzima

glucosa deshidrogenasa, en presencia de la coenzima (PQQ). Los resultados se presentan en la Tabla 9-1 y la Tabla 9-2.

5 Los datos de la Tabla 9-1 mostraron que el tratamiento con metazolamida redujo los niveles de glucosa en plasma en ayunas de ratones *db/db* después de 8 días de tratamiento.

Los datos de la Tabla 9-2 mostraron que el tratamiento con metazolamida redujo los niveles de glucosa en plasma en ayunas de ratones *db/db* después de 18 días de tratamiento.

10 Los datos de la Tabla 9-1 mostraron que el tratamiento con una combinación de metformina/metazolamida redujo los niveles de glucosa en plasma en ayunas de ratones *db/db* después de 8 días de tratamiento, y que esta reducción fue mayor que la conseguida por tratamiento con metformina o metazolamida solas.

15 Los datos de la Tabla 9-2 mostraron que el tratamiento con una combinación de metformina/metazolamida redujo los niveles de glucosa en plasma en ayunas de ratones *db/db* después de 18 días de tratamiento, y que esta reducción fue mayor que la conseguida por tratamiento con metformina o metazolamida solas.

#### *Peso corporal*

20 No hubo ninguna diferencia en el peso corporal entre los grupos tratados con vehículo y metazolamida en el Día 0, Día 8 o Día 18, lo que indica que los efectos del tratamiento de metazolamida en el metabolismo de la glucosa no fueron derivados de cambios en el peso corporal.

25 No hubo ninguna diferencia en el peso corporal entre los grupos tratados con vehículo y combinación de metformina/metazolamida en el Día 0, Día 8 o Día 18, lo que indica que los efectos del tratamiento de combinación de metformina/metazolamida en el metabolismo de la glucosa no fueron derivados de cambios en el peso corporal.

Tabla 9-1: Glucosa en plasma en ayunas durante tratamiento con metazolamida, metformina o metazolamida/metformina combinadas en el día 8 en modelo de ratón *db/db*

| Tratamiento                                                                                                                                                                                                                       | FPG Día 0 (mM) | FPG Día 8 (mM) | Delta FPG Tratamiento Día 8 frente al Día 0 | FPG Tratamiento frente al Vehículo Día 8 |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|----------------|---------------------------------------------|------------------------------------------|
| Vehículo                                                                                                                                                                                                                          | 23,91 ± 2,0    | 23,37 ± 1,4    | -2 %                                        | 0 %                                      |
| 20 mg/kg de metazolamida                                                                                                                                                                                                          | 23,93 ± 1,6    | 16,30 ± 1,8    | -32 % <sup>1</sup>                          | -30 % <sup>4</sup>                       |
| 300 mg/kg de metformina                                                                                                                                                                                                           | 23,86 ± 1,4    | 19,10 ± 2,1    | -20 % <sup>2</sup>                          | -18 %                                    |
| 20 mg/kg de metazolamida Y 300 mg/kg de metformina                                                                                                                                                                                | 23,63 ± 1,7    | 12,46 ± 1,9    | -47 % <sup>3</sup>                          | -47 % <sup>5</sup>                       |
| <sup>1</sup> p = 0,0005 ensayo t emparejado; <sup>2</sup> p = 0,02 ensayo t emparejado; <sup>3</sup> p = 0,0003 ensayo t emparejado; <sup>4</sup> p = 0,01 ensayo t sin emparejar; <sup>5</sup> p = 0,0007 ensayo t sin emparejar |                |                |                                             |                                          |

30

Tabla 9-2: Glucosa en plasma en ayunas durante tratamiento con metazolamida, metformina o metazolamida/metformina combinadas en el día 18 en modelo de ratón *db/db*

| Tratamiento                                                                                                                                                                                                                           | FPG Día 0 (mM) | FPG Día 18 (mM) | Delta FPG Tratamiento Día 18 frente al Día 0 | FPG Tratamiento frente al Vehículo Día 18 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|-----------------|----------------------------------------------|-------------------------------------------|
| Vehículo                                                                                                                                                                                                                              | 23,91 ± 2,0    | 27,27 ± 1,3     | 14 %                                         | 0 %                                       |
| 20 mg/kg de metazolamida                                                                                                                                                                                                              | 23,93 ± 1,6    | 17,00 ± 2,5     | -29 % <sup>1</sup>                           | -38 % <sup>3</sup>                        |
| 300 mg/kg de metformina                                                                                                                                                                                                               | 23,86 ± 1,4    | 20,01 ± 1,8     | -16 %                                        | -27 % <sup>4</sup>                        |
| 20 mg/kg de metazolamida Y 300 mg/kg de metformina                                                                                                                                                                                    | 23,63 ± 1,7    | 13,20 ± 1,9     | -44 % <sup>2</sup>                           | -52 % <sup>4</sup>                        |
| <sup>1</sup> p = 0,0009 ensayo t emparejado; <sup>2</sup> p = 0,02 ensayo t emparejado; <sup>3</sup> p = 0,003 ensayo t sin emparejar; <sup>4</sup> p = 0,009 ensayo t sin emparejar; <sup>5</sup> p = 0,00004 ensayo t sin emparejar |                |                 |                                              |                                           |

Ejemplo de Referencia 10. Efecto de la acetazolamida en los niveles de glucosa en sangre en ayunas de ratones (*Mus Musculus*) obesos inducidos por dieta

#### Preparación y administración del compuesto

Soluciones de dosificación de los artículos de ensayo: se prepararon en el momento soluciones de dosificación de acetazolamida en cada día de dosificación y se almacenaron a temperatura ambiente, protegidas de la luz. El compuesto se formuló en vehículo estéril: solución salina:PEG400 65:35 v/v.

#### Animales

Se obtuvieron ratones macho C57B1/6J de 8 semanas de edad en el Centro de Recursos Animales (Canning Vale, Western Australia). Los animales se alojaron individualmente y se permitió libre movimiento y acceso a voluntad a agua y comida. Los animales se mantuvieron en un ciclo de 12 horas de luz (6 am-6 pm) y 12 horas de oscuridad (6 pm-6 am). Los animales se monitorizan diariamente. Se registraron el peso corporal y la ingesta de agua y alimento 3 veces al día. Después de dos semanas de aclimatación, los ratones se alimentaron con una dieta rica y alta en grasas (SF04-001, Specialty feeds, Glen Forrest, WA, Australia con una densidad de energía total de 4,7 kcal/g. La distribución calórica de la dieta fue de un 20 % de proteínas, un 35 % de carbohidratos, y un 45 % de grasas) durante 12 semanas.

#### Tratamiento

Durante las dos últimas semanas se trataron los animales en grupos de 6 dos veces al día (9:00 AM y 16:00 PM) con dosis seleccionadas entre: vehículo, 10 mg/kg, 20 mg/kg y 50 mg/kg de acetazolamida en vehículo mediante sonda oral (5 µl por gramo de peso corporal) usando tubos de alimentación de 18 ga (1,2 mm) x 38 mm de Instech Solomon (Plymouth, USA).

#### Concentración de glucosa en plasma en ayunas (FPG)

Los niveles de glucosa en plasma en ayunas de los animales se sometió a ensayo antes del comienzo del estudio y en el día 13 de la dosificación. Los animales ayunaron durante un período de 4 horas después de la dosificación y antes de la extracción de una muestra de sangre a través de una muesca en la cola. Los niveles de glucosa en sangre se monitorizaron usando glucómetros disponibles en el mercado (Accucheck Advantage, Roche) basándose en la corriente eléctrica generada cuando se deposita una gota de sangre en una tira de ensayo que da como resultado la conversión de la glucosa presente en la muestra en gluconolactona mediante la enzima glucosa deshidrogenasa, en presencia de la coenzima (PQQ). Los resultados se presentan en la Tabla 10-1 y la Tabla 10-2.

Los datos de la Tabla 10-1 mostraron que el tratamiento con acetazolamida redujo los niveles de glucosa en plasma en ayunas en ratones obesos inducidos por dieta.

Los datos de la Tabla 10-2 mostraron que el tratamiento con acetazolamida aumentó la tolerancia a la glucosa en ratones obesos inducidos por dieta.

#### Peso corporal

No hubo ninguna diferencia en el peso corporal entre cualquiera de los grupos tratados en el Día 0 o Día 13, lo que indica que los efectos de la acetazolamida en el metabolismo de la glucosa no fueron derivados de cambios en el peso corporal.

Tabla 10-1: Glucosa en plasma en ayunas durante tratamiento con acetazolamida en ratones DIO

| Tratamiento                                                                                                          | FPG Día-1 (mM) | FPG Día 13 (mM) | Delta FPG Tratamiento Día 13 frente al Día -1 | FPG Tratamiento frente al Vehículo Día 13 |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|-----------------|-----------------------------------------------|-------------------------------------------|
| Vehículo                                                                                                             | 6,4 ± 0,43     | 6,34 ± 0,15     | -1 %                                          | 0 %                                       |
| 10 mg/kg                                                                                                             | 6,35 ± 0,5     | 5,76 ± 0,43     | -9 %                                          | -9 %                                      |
| 20 mg/kg                                                                                                             | 6,32 ± 0,42    | 5,46 ± 0,32     | -14 % <sup>z</sup>                            | -14 % <sup>1</sup>                        |
| 50 mg/kg                                                                                                             | 6,62 ± 0,38    | 6,28 ± 0,31     | -5 %                                          | -1 %                                      |
| <sup>1</sup> p < 0,03, <sup>z</sup> p = 0,08<br>Los datos representan el valor medio ± SE de 5-6 animales por grupo. |                |                 |                                               |                                           |

Tabla 10-2: ipGTT después del tratamiento con acetazolamida en ratones DIO

| Tratamiento                                                                                                                                  | AUC Día -1<br>(mM.min) | AUC Día 13<br>(mM.min) | Delta AUC Tratamiento Día 13<br>frente al Día -1 | AUC Tratamiento frente al<br>Vehículo Día 13 |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|------------------------|--------------------------------------------------|----------------------------------------------|
| Vehículo                                                                                                                                     | 1300 ± 60              | 1211 ± 109             | -7 %                                             | 0 %                                          |
| 10 mg/kg                                                                                                                                     | 1342 ± 88              | 944 ± 26               | -30 % <sup>1</sup>                               | -22 % <sup>2</sup>                           |
| 20 mg/kg                                                                                                                                     | 1340 ± 68              | 902 ± 98               | -33 % <sup>1</sup>                               | -25 % <sup>3</sup>                           |
| 50 mg/kg                                                                                                                                     | 1323 ± 109             | 1020 ± 144             | -23 % <sup>2</sup>                               | -15 %                                        |
| <sup>1</sup> p < 0,01, <sup>2</sup> p < 0,05, <sup>3</sup> p = 0,068<br>Los datos representan el valor medio ± SE de 5-6 animales por grupo. |                        |                        |                                                  |                                              |

## REIVINDICACIONES

1. Metazolamida o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de la misma, para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección, o síntoma de la misma, en la que está implicada la resistencia a la insulina.
2. Metazolamida para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que, la enfermedad o afección es diabetes de tipo II, diabetes gestacional, tolerancia alterada a la glucosa, alteración de la glucosa en ayunas o síndrome X.
3. Metazolamida o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de la misma, para su uso en la disminución de niveles elevados o el mantenimiento de niveles normales de glucosa en sangre en un sujeto.
4. Metazolamida para el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que la metazolamida es para administración a una dosis de 10 a 100 mg por día.
5. Metazolamida para el uso de acuerdo con la reivindicación 4, en la que la metazolamida es para administración a una dosis de 10 a 75 mg por día.
6. Metazolamida para el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que la metazolamida es para administración como único agente antidiabético.
7. Metazolamida o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de la misma, para administración en combinación, ya sea simultáneamente, separadamente o secuencialmente, con un compuesto antidiabético seleccionado entre tiazolidinadionas, metformina, insulina, sulfonilureas, meglitimidas, inhibidores de  $\alpha$ -glucosidasa e inhibidores de DPPIV, para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección, o síntoma de la misma, en la que está implicada la resistencia a la insulina.
8. Metazolamida para el uso de acuerdo con la reivindicación 7, en la que la enfermedad o afección es diabetes de tipo II, diabetes gestacional, tolerancia alterada a la glucosa, alteración de la glucosa en ayunas o síndrome X.
9. Metazolamida o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de la misma, para administración en combinación, ya sea simultáneamente, separadamente o secuencialmente, con un compuesto antidiabético seleccionado entre tiazolidinadionas, metformina, insulina, sulfonilureas, meglitimidas, inhibidores de  $\alpha$ -glucosidasa e inhibidores de DPPIV, para su uso en la disminución de niveles elevados o el mantenimiento de niveles normales de glucosa en sangre en un sujeto.
10. Metazolamida para el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9, en la que la metazolamida es para administración a una cantidad de dosificación de 10 a 100 mg por día.
11. Metazolamida para el uso de acuerdo con la reivindicación 10, en la que la metazolamida es para administración a una cantidad de dosificación de 10 a 75 mg por día.
12. Metazolamida para el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 11, en la que el compuesto antidiabético es metformina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.
13. Combinación para administración simultánea, separada o secuencial que comprende metazolamida o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de la misma, y un compuesto antidiabético seleccionado entre tiazolidinadionas, metformina, insulina, sulfonilureas, meglitimidas, inhibidores de  $\alpha$ -glucosidasa e inhibidores de DPPIV.
14. La combinación de acuerdo con la reivindicación 13 para su uso en la disminución de niveles elevados o el mantenimiento de niveles normales de glucosa en sangre en un sujeto.
15. La combinación de acuerdo con la reivindicación 13 o la reivindicación 14, en la que el compuesto antidiabético es metformina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.
16. La combinación de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 13 a 15, en la que la metazolamida es para administración a una dosis de 10 a 100 mg por día.
17. La combinación de acuerdo con la reivindicación 16, en la que la metazolamida es para administración a una dosis de 10 a 75 mg por día.