

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 673 301**

51 Int. Cl.:

A61K 31/497 (2006.01)

A61P 9/04 (2006.01)

A61K 31/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.11.2011 PCT/US2011/058967**

87 Fecha y número de publicación internacional: **10.05.2012 WO12061505**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.11.2011 E 11838749 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.03.2018 EP 2635281**

54 Título: **Métodos y composiciones para la prevención y el tratamiento de la hipertrofia cardíaca**

30 Prioridad:

03.11.2010 US 409781 P

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

21.06.2018

73 Titular/es:

**UNIVERSITY OF HAWAII (100.0%)
Office Of Technology Transfer & Economic
Development 2800 Woodlawn Drive, Suite 280
Honolulu HI 96822, US**

72 Inventor/es:

STOKES, ALEXANDER

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 673 301 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

Métodos y composiciones para la prevención y el tratamiento de la hipertrofia cardíaca

Reivindicación prioritaria

5 La prioridad se reivindica conforme a 35 USC 119 (e) de la Solicitud Provisional de los Estados Unidos No. de Serie 61/409,781, presentada el 3 de noviembre de 2010.

Derechos del gobierno de los EE. UU.

Esta invención se realizó con el apoyo del gobierno de los Estados Unidos bajo la concesión NCRR U54RR026136; NAIPI P20RR016467; NIMHD P20MD006084; NCRR 5P20RR016453_ de National Institutes Health. El gobierno de EE. UU., puede tener ciertos derechos de licencia en esta invención.

10 Campo de la invención

La presente invención se refiere al tratamiento y la prevención de la hipertrofia cardíaca. Más específicamente, la invención se refiere a composiciones para prevenir o tratar la hipertrofia cardíaca, la remodelación cardíaca, la fibrosis, la hipertensión y la insuficiencia cardíaca en mamíferos, incluidos seres humanos, mediante la inhibición del canal iónico TRPV1.

15 Antecedentes

La hipertrofia miocárdica es la respuesta fundamental del corazón a una carga de trabajo crónicamente aumentada, que puede ser el resultado de afecciones tales como hipertensión o trastornos valvulares. La progresión de la hipertrofia del miocardio representa un factor de riesgo principal para el desarrollo de la insuficiencia cardíaca y la posterior muerte cardíaca.

20 El objetivo de esta invención es combatir la hipertrofia, la fibrosis por apoptosis y la insuficiencia cardíaca, se centra en la regulación de TRPV1 (canal de catión con potencial de receptor transitorio, subfamilia V, miembro 1), un receptor/canal complejo y notable. Por lo general TRPV1 se clasifica como un receptor nociceptivo. Los datos publicados indican que la probabilidad abierta de TRPV1 está controlada por el endocannabinoide anandamida, su ligando endógeno y las vías que modulan los niveles de anandamida también influyen en la activación de TRPV1. La etiología de la regulación hipertrófica por TRPV1 (canal de catión potencial del receptor transitorio, subfamilia V, miembro 1) es desconocida. Solo existe una comprensión general de cómo se regula TRPV1 y de la identidad de
25 varios tipos de células y tejidos en los que reside TRPV1.

30 El TRPV1 se ha estudiado en neuronas sensoriales periféricas como un receptor del dolor; sin embargo, TRPV1 se expresa en numerosos tejidos y tipos de células, incluidos los del sistema cardiovascular. La expresión de TRPV1 está regulada positivamente en el corazón hipertrófico, y el canal está posicionado para recibir señales estimuladoras en el corazón hipertrófico. TRPV1 es un canal de cationes no selectivo tetramérico de seis transmembranas, por lo general asociado con neuronas sensoriales periféricas implicadas en la nocicepción. Los activadores exógenos de TRPV1 incluyen una temperatura superior a 43 °C y capsaicina. Endógenamente, TRPV1 es activado y potenciado por los endocannabinoides, anandamida y N-araquidonoil-dopamina, bajo pH y fosforilación por la proteína quinasa C (PKC) y la proteína quinasa dependiente de AMP cíclico (PKA). La participación nociceptiva de la activación de TRPV1 en neuronas sensoriales periféricas ha llevado a un estudio
35 sustancial de TRPV1 como un objetivo para la inhibición. En consecuencia, se ha producido una gran cantidad de antagonistas eficaces de TRPV1 y se ha demostrado que son analgésicos eficaces en el tratamiento del dolor inflamatorio y la hiperalgesia.

40 Además de las neuronas sensoriales periféricas, TRPV1 también se encuentra en otros tejidos excitables y no excitables, incluidos los del corazón y el sistema circulatorio. Por ejemplo, los cardiomiocitos, los vasos sanguíneos cardíacos, los nervios perivasculares, las células del músculo liso de la arteria pulmonar y las células endoteliales coronarias, el músculo esquelético, los mastocitos y las células dendríticas expresan TRPV1.

45 Aunque la inhibición de TRPV1 no se ha estudiado en el contexto de la hipertrofia cardíaca, la activación de TRPV1 se ha implicado en la protección contra la lesión por reperfusión de isquemia miocárdica. Además, el ligando endógeno del canal, la anandamida, se ha visto implicado en múltiples enfermedades cardíacas tales como cardiotoxicidad e hipertensión.

Resumen de las realizaciones de ejemplo de la invención

La invención proporciona el tratamiento de la hipertrofia cardíaca en un sujeto mamífero que comprende administrar al sujeto una cantidad antihipertrófica eficaz de un inhibidor de canales iónicos TRPV1 según las reivindicaciones. En algunas realizaciones, la invención proporciona el tratamiento en el que un síntoma de hipertrofia cardíaca en el sujeto comprende remodelación cardíaca, fibrosis cardíaca, apoptosis, hipertensión o insuficiencia cardíaca.

- 5 La invención proporciona adicionalmente el tratamiento profiláctico para la hipertrofia cardíaca en un sujeto mamífero que comprende administrar al sujeto una cantidad antihipertrófica eficaz de un inhibidor de canales iónicos TRPV1.

- 10 La invención también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad farmacéuticamente eficaz de un inhibidor de canales iónicos TRPV1 o mezclas de tales inhibidores para el uso de la invención. La invención también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad farmacéuticamente eficaz del inhibidor del canal iónico TRPV1 (N-(4-t-butilfenil)-4-(3-cloropiridin-2-il)-tetrahidropirazina-1(2H)-carboxamida o mezclas de ese inhibidor con otros inhibidores del canal iónico TRPV1 para el uso de la invención.

Breve descripción de las figuras

- 15 Las figuras 1A-1D son gráficos de los resultados de los datos obtenidos por los procedimientos descritos en el ejemplo 1.

La figura 2 es un gráfico de los resultados de los datos obtenidos por el procedimiento de tinción de Picrosirius descrito en el ejemplo 2.

Las figuras 3A-3B son gráficos de los resultados de los datos obtenidos por la expresión de ARN de TGF-beta y los procedimientos de expresión de ANP descritos en el ejemplo 2.

- 20 Las figuras 4A-4B son gráficos de los resultados de los datos obtenidos por los procedimientos descritos en el ejemplo 3.

Las figuras 5A-5F son gráficos de los resultados de la prueba obtenidos por los procedimientos descritos en el ejemplo 4 relacionados con el análisis gravimétrico, estructural y funcional del corazón durante y después de la sobrecarga de presión aplicada de la hipertrofia cardíaca.

- 25 Las figuras 6A-6D son gráficos de los resultados de la prueba en la medición del área de la sección transversal de los cardiomiocitos, y los niveles de expresión de ANP y TGFβ por los procedimientos descritos en el ejemplo 4.

Las figuras 7A-7E son gráficos de los resultados de la prueba sobre la medición de fibrosis, remodelación tisular y marcadores inflamatorios mediante los procedimientos descritos en el ejemplo 4.

- 30 Las figuras 8A-8E son gráficos de los resultados de la prueba en la medición de la masa, la estructura y la función del corazón durante la hipertrofia cardíaca por sobrecarga de presión mediante los procedimientos descritos en el ejemplo 5.

Las figuras 9A-9B son gráficos de mediciones del análisis histológico de ratones tratados con el antagonista de TRPV1 BCTC según los procedimientos descritos en el ejemplo 6.

Descripción detallada de realizaciones de ejemplo de la invención

- 35 La hipertrofia cardíaca se considera clásicamente como una respuesta adaptativa y compensatoria que aumenta la producción de trabajo de los cardiomiocitos y, de este modo, mantiene la función cardíaca a pesar del aumento de la carga. En ratones, la hipertrofia cardíaca se modela por lo general usando constricción aórtica transversal (TAC) para inducir una sobrecarga de presión aguda. La mayor resistencia creada por la constricción aórtica compromete inicialmente la función del ventrículo izquierdo (LV); el desarrollo posterior de la hipertrofia del LV comienza a restablecer la función sistólica en las dos semanas posteriores a TAC. La hipertrofia concéntrica del LV continúa durante las semanas dos a once después de TAC, potencialmente duplicando la masa del LV en comparación con los controles. Una disminución en la función del LV acompaña a la dilatación de la cámara del LV y la fibrosis miocárdica, y alrededor de la mitad de los ratones tratados con TAC desarrollan congestión pulmonar en la semana once. De este modo, TAC es un estímulo eficaz para producir rápidamente hipertrofia cardíaca en un entorno experimental. El modelo de la TAC proporciona una gran utilidad para identificar objetivos terapéuticos importantes en la enfermedad cardíaca y explorar los efectos de los inhibidores moleculares o farmacológicos.
- 40
- 45

Esta invención muestra que la función TRPV1 es un nuevo objetivo para terapia protectora en hipertrofia cardíaca, fibrosis e insuficiencia cardíaca usando agentes terapéuticos dirigidos por TRPV1, esta invención tiene el potencial

de cambiar paradigmas de tratamiento clínico para hipertrofia cardíaca e insuficiencia cardíaca mediante la reutilización de fármacos existentes.

5 Como se muestra a continuación en los ejemplos, la pérdida de la función de TRPV1 en ratones altera las respuestas del corazón a la sobrecarga de presión inducida por TAC. TRPV1 contribuye a la hipertrofia cardíaca, fibrosis, apoptosis y pérdida de la función contráctil en respuesta a la sobrecarga de presión. Los antagonistas de TRPV1 previamente conocidos como antihiperalgésicos son inesperadamente proporcionados por los usos de la presente invención como agentes antihipertróficos.

10 Como se muestra en los ejemplos, la deficiencia genética de Trpv1 suprime significativamente la dilatación ventricular, la apoptosis, la remodelación tisular y la fibrosis asociada con hipertrofia cardíaca por sobrecarga de presión modelada. Este fenotipo refleja algunos de los efectos más deseables para los tratamientos antihipertróficos. Mediante el uso de una constricción aórtica transversal para modelar ratones con hipertrofia cardíaca por sobrecarga de presión que carecen de TRPV1 funcional, en comparación con el tipo salvaje, tienen una función cardíaca mejorada y marcadores hipertróficos, fibróticos y apoptóticos reducidos. TRPV1 desempeña un papel en la progresión de la hipertrofia cardíaca, y presenta un objetivo terapéutico para el tratamiento de la hipertrofia cardíaca; 15 y los estados de enfermedad posteriores, incluidas las arritmias, la disfunción renal y la insuficiencia cardíaca; tratamiento y alivio de los síntomas que conducen a hipertrofia cardíaca e insuficiencia cardíaca tales como hipertensión arterial, valvulopatía, debilidad del músculo cardíaco (cardiomiopatía), latidos cardíacos anormales, anemia, trastornos tiroideos, uso excesivo de fármacos, distrofia muscular y enfermedad de Fabry, estenosis de la válvula aórtica, efectos secundarios de agentes quimioterapéuticos que conducen a cardiomiopatía tóxica, obesidad, 20 diabetes, tabaquismo, miocarditis viral (una infección del músculo cardíaco), infiltraciones del músculo tales como amiloidosis, cardiomiopatía por VIH (causada por el virus de la inmunodeficiencia humana), enfermedades de tejidos conectivos tales como lupus eritematoso sistémico, abuso de fármacos tales como alcohol y cocaína, y efectos secundarios de arritmias o fármacos farmacéuticos tales como agentes quimioterapéuticos.

25 Además de los compuestos y composiciones que tienen actividad en este documento, otros compuestos que tienen la actividad requerida se pueden identificar mediante la siguiente prueba. Dado que la hipertrofia cardíaca se considera clásicamente como una respuesta adaptativa y compensatoria que aumenta la producción de trabajo de los cardiomiocitos y mantiene se mantiene la función cardíaca a pesar del aumento de la carga, la siguiente prueba identificará un compuesto que tiene la actividad útil según la invención. En ratones, la hipertrofia cardíaca se modela por lo general usando constricción aórtica transversal (TAC) para inducir una sobrecarga de presión aguda. La 30 mayor resistencia creada por la constricción aórtica compromete inicialmente la función del ventrículo izquierdo (LV); el desarrollo posterior de la hipertrofia del LV comienza a restablecer la función sistólica en las dos semanas posteriores a la TAC. La hipertrofia concéntrica del LV continúa durante las semanas dos a once después de la TAC, lo que puede duplicar potencialmente la masa del LV en comparación con los controles. Una disminución en la función del LV acompaña a la dilatación de la cámara del LV y la fibrosis miocárdica, y alrededor de la mitad de los 35 ratones tratados con TAC desarrollan congestión pulmonar en la semana once. De este modo, TAC es un estímulo eficaz para producir rápidamente hipertrofia cardíaca en un entorno experimental. Aunque existen diferencias entre el modelo TAC y la hipertrofia cardíaca clínica, este modelo imita el inicio agudo de la hipertensión en lugar del inicio gradual en los casos clínicos. Sin embargo, el modelo de la TAC es útil para identificar objetivos terapéuticos importantes en la enfermedad cardíaca y explorar los efectos de inhibidores moleculares o farmacológicos. (Lygate, 2006; Patten and Hall-Porter, 2009) 40

Modelo de prueba

Generación del modelo en el ratón

45 Constricción aórtica transversal (TAC). La constricción aórtica transversal se realizó como describió Rockman, produciendo hipertrofia ventricular izquierda por constricción de la aorta (Rockman et al., 1994; Rockman et al., 1991). El lado izquierdo del tórax se depiló con Nair y se obtuvo un ecocardiograma 2-D de referencia. Luego los ratones se anestesiaron profundamente con una mezcla de ketamina y xilazina. La aorta transversal entre las arterias braquiocefálica y la carótida izquierda se frunció con una ligadura de seda 6-0 alrededor del vaso y una 50 aguja roma de 26G, después de lo cual se retiró la aguja. Las cirugías simuladas eran idénticas aparte de la constricción de la aorta.

50 Comprobación de bandas exitosas

55 Ecocardiografía Doppler. La ecocardiografía Doppler se realizó una semana después de la TAC para medir el nivel de constricción. Los ratones se anestesiaron ligeramente con gas isofluoreno y se afeitaron. El Doppler se realizó con el sistema Visualsonics Vevo 770. En la vista paraesternal de eje corto, el volumen de la muestra de Doppler de onda pulsada se colocó en la aorta transversal justo proximal y distal al sitio de formación de bandas. La velocidad máxima se rastreó usando el software Vevo 770, y el gradiente de presión se calculó usando la ecuación de Bernoulli simplificada.

Siguiendo los cambios estructurales en las dimensiones del corazón durante la progresión de la enfermedad modelada

5 Ecocardiografía transtorácica. La ecocardiografía transtorácica de referencia y después de la TAC se utilizó para evaluar los cambios en las dimensiones y la función del corazón del ratón. En resumen, después de dos días de aclimatación y depilación, se realizó una ecocardiografía transtorácica no anestesiada usando un transductor de 30-Mhz (Vevo 770, VisualSonics). Se registraron imágenes bidimensionales de alta calidad e imágenes en modo M del ventrículo izquierdo. Las mediciones de las dimensiones internas de la diastólica final del ventrículo izquierdo (LVIDd) y de la sistólica final (LVIDs) fueron realizadas por la vanguardia a la convención de vanguardia adoptada por the American Society of Echocardiography. La fracción de eyección del ventrículo izquierdo (% de EF) se calculó como $(LV\ Vol; Vol\ d-LV; s/Vol\ LV; d \times 100)$ (Visualsonics Inc.).

Prueba del grado de hipertrofia celular, fibrosis y apoptosis después del tratamiento

Los marcadores de hipertrofia, fibrosis, remodelación tisular, inflamación y apoptosis se evalúan por ya sea análisis de transferencia Western (WB), PCR en tiempo real de ARN extraído (RT) o análisis histológico e inmunohistológico (H).

15 Los marcadores hipertróficos pueden incluir: ANP^(WB, RT), BNP^(RT), ACTA1^(RT), α -MHC^(RT), β -MHC^(RT), MLC2A^(RT) y aglutinina de germen de trigo^(H) para generar área de sección transversal de cardiomiocitos.

Los marcadores de remodelación tisular pueden incluir: quimasa CMA1^(WB, RT), MMP-2^(RT), MMP-9^(RT), TGF- β ^(RT), colágeno III^(RT, H), fibrinógeno^(RT, H), proliferación de fibroblastos CD29^(H).

Los marcadores de apoptosis pueden incluir: caspasa-3 escindida^(WB).

20 Los marcadores inmunológicos, inflamatorios y de infiltración pueden incluir: IL-6^(RT), TNF- α ^(RT), NOS3^(RT), CD68 (macrófagos)^(WB, RT, H), histidina descarboxilasa^(WB) y Fc R1 α ^(WB) (mastocitos)^(WB, RT, H), marcadores de células T CD4⁺/CD8⁺^(WB, H), células NK CD161^(RT, WB, H)

25 Preparación tisular para histología. Ocho semanas después de la TAC, se sacrificaron los ratones mediante asfixia con CO₂ y se recogieron los corazones para el análisis histológico y molecular. Para la histología, los corazones se perfundieron con solución salina regulada con fosfato y formalina al 10% in situ, se recogieron inmediatamente y se fijaron durante la noche en formalina al 10% a 4 °C. Luego se cortaron los tejidos en una orientación sagital, se incrustaron en parafina, se montaron en portaobjetos de vidrio y se almacenaron hasta su uso. Las secciones incrustadas en parafina se tiñeron para lo siguiente:

30 Colágeno: la fracción de volumen de colágeno se determinó por análisis de secciones teñidas con Picrosirius. Las secciones cortadas a 5 μ m de grosor se desparafinaron, se tiñeron con hematoxilina de Weigert y luego se tiñeron con rojo de Picrosirius (0.1% de Sirius Red en ácido pícrico). Posteriormente, las secciones fueron lavadas y deshidratadas antes del análisis de imagen.

35 Área de sección transversal de cardiomiocitos: las secciones del corazón se desparafinaron y permeabilizaron, luego se tiñeron con aglutinina de germen de trigo conjugada con Alexa488 (WGA-Alexa488, Invitrogen, W11261) a una concentración de 50 μ g/mL para identificar las membranas sarcolemas y medir el área de la sección transversal de los cardiomiocitos (descrita a continuación).

40 Colección y análisis de imágenes. Se recogieron imágenes de campo fluorescente y brillante en un microscopio de epifluorescencia (Axioscope, Zeiss). La fibrosis y el área transversal de los cardiomiocitos se cuantificaron usando el software ImageJ (NIH). Para cuantificar la fibrosis, se destacaron las fibras de colágeno, y los píxeles teñidos de rojo se contaron para determinar el porcentaje de píxeles en cada campo que representaba las fibras de colágeno. El tejido perivascular se excluyó de este cálculo. Se obtuvieron imágenes de tres secciones de corazón de cada animal en cinco imágenes por corazón. Las imágenes se promediaron para cada animal y se graficaron en Prism GraphPad. Los cardiomiocitos de las secciones teñidas con WGA se seleccionaron aleatoriamente de forma ciega y luego se trazaron para determinar el área de la sección transversal de los miocitos individuales (n=100).

45 Todas las imágenes se capturaron y analizaron de una forma simple ciego, excepto por la tinción con WGA, que se analizó de una forma doble ciego.

50 RT-PCR. Para la extracción de ARN, se recogieron corazones de ratones y se aisló el ARN total de corazones homogeneizados con Trizol (Molecular Research Center, TR 118) y se purificó adicionalmente con un kit de aislamiento de ARN (Mo Bio Laboratories, Inc, 15000-250). El ADNc monocatenario se sintetizó a partir de 1 μ g de ARN total usando un kit de síntesis de ADNc (Qiagen, 205113). Los niveles de ARNm de quimasa (CMA1), péptido

natriurético atrial (ANP), TGF-, colágeno III, metaloproteínasa de matriz (MMP) 2 y 9 y ciclofilina (CPN) se cuantificaron mediante RT-PCR por triplicado con QuantiTect SYBR Green (Qiagen, 204245) en un dispositivo Opticon (MJ Research, Waltham, MA). Se usaron los siguientes pares de cebadores: ANP, 5'-AGA AAC CAG AGA GTG GGC AGA G-3' (SEQ ID NO. 1) y 5'-CAA GAC GAG GAA GCC CAG-3' (SEQ ID NO. 2); TGF β , 5'-TGG AGC AAC ATG TGG AAC TC-3' (SEQ ID NO. 3) y 5'-CAG CAG CCG GTT ACC AAG-3' (SEQ ID NO. 4); MMP2, 5'-TGG TGT GGC ACC GAG GA-3' (SEQ ID NO. 5) y 5'-GCA TCG GGG GAG GGC CCA TA-3' (SEQ ID NO. 6); MMP9, 5'-CGG CAC GCC TTG GTG TAG CA-3' (SEQ ID NO. 7) y 5'-TCG CGT CCA CTC GGG TAG GG-3' (SEQ ID NO. 8); Collagen III, 5'-GAC CGA TGG ATT CCA GTT CG-3' (SEQ ID NO. 9) y 5'-TGT GAC TCG TGC AGC CAT CC-3' (SEQ ID NO. 10); CMA1, 5'-AGC TCA CTG TGC GGG AAG GTC T-3' (SEQ ID NO. 11) y 5'-CTC AGG GAC CAG GCA GGG CTT-3' (SEQ ID NO. 12).

Análisis de transferencia Western. Se recogieron corazones y se prepararon extractos de proteína a partir de tejido de corazón homogeneizado usando IGEPAL. Las concentraciones totales de proteína se determinaron mediante el ensayo colorimétrico del ácido bicinónico (BCA). La absorbancia se midió a 562 nm por espectrofotómetro (Spectra Max 340), y las concentraciones se determinaron usando una curva estándar basada en patrones de proteína de albúmina de suero bovina (BSA). Las concentraciones se normalizaron a 30 mg, y las muestras se separaron por electroforesis en gel de dodecilsulfato de sodio-poliacrilamida (SDS-PAGE). Las muestras de proteína se transfirieron a membrana de fluoruro de polivinilideno (PVDF, Millipore, IPFL00010) a 1.4 amps durante 3.5 horas. Las membranas se sondearon durante la noche a 4 °C con anticuerpos para caspasa-3 escindida (Cell Signaling, 9661S), CMA1 (Gene Tex, GTX72388) y GAPDH (Calbiochem, CB1001). Las membranas se visualizaron con sustrato ECL (GE Healthcare, RPN2132) y película. La intensidad de la banda Western blot se cuantificó como densidad integrada por densitometría y se normalizó a la densidad del control de carga. El inhibidor de TRPV1 reivindicado o la combinación de inhibidores de TRPV1 se pueden usar en las composiciones de la presente invención. Los inhibidores de los miembros de la familia TRPV1, como se usan en este documento, son sustancias que reducen (parcial, sustancial o completamente bloqueado) la actividad de uno o más miembros de la familia TRPV1, es decir, Trpv1, entre otros. Las sustancias pueden ser compuestos (moléculas pequeñas de menos desde aproximadamente 10 kDa, péptidos, ácidos nucleicos, lípidos, etc.), complejos de dos o más compuestos, y/o mezclas, entre otros. Además, las sustancias pueden inhibir a los miembros de la familia TRPV1 por cualquier mecanismo apropiado que incluya inhibición mixta competitiva, no competitiva, poca competitiva, y/o cambiando el pH de un sujeto, entre otros. La expresión "inhibidor de TRPV1" puede referirse a un producto según las reivindicaciones, que, dentro del alcance de un juicio farmacológico sólido, es potencialmente útil o realmente farmacéuticamente útil como inhibidor de TRPV1, e incluye referencia a sustancias que comprenden una especie farmacéuticamente activa y se describen, promocionan y/o autorizan como un inhibidor de TRPV1. La fuerza de inhibición para un inhibidor selectivo se puede describir por una concentración de inhibidor en la que se produce la inhibición (por ejemplo, una IC₅₀ (concentración de inhibidor que produce el 50% de inhibición máxima) o un valor de K_i (constante de inhibición o constante de disociación) en proporción con diferentes miembros de la familia TRPV1. Un sujeto se puede tratar con un inhibidor selectivo de TRPV1 y un inhibidor de TRPV1 no selectivo, en la medida en que caiga bajo las reivindicaciones. Los inhibidores de TRPV1 según la invención son:

(N-(4-tert-butilfenil)-4-(3-cloropiridin-2-il) tetrahidropirazina-1(2H)-carboxamida (BCTC)	Bio Trend (Suiza)
N-(3-Metoxifenil)-4-clorocinnamida (SB-366791)	<i>Neurosci.Lett.</i> 385:137-142
1-Isoquinolin-5-il-3-(4-trifluorometil-bencil)-urea (A-425619)	Eur.J.Pharmacol. 596:62-69
(2E)-N-(2,3-Dihidro-1,4-benzodioxin-6-il)-3-[4-(1,1-dimetiletíl)fenil]-2-propenamida (AMG-9810)	J. Med. Chem. 50:3515-3527
(AZD1386)	Fase II - AstraZeneca
2-Acetilamino-4-[6'-(4-trifluorometilfenil)-pirimidin-4'-il-oxi]-benzotiazol (AMG517)	
N-(2-bromofenil)-N'-[((R)-1-(5-trifluorometil-2-piridil)pirrolidin-3-il)]urea (SB705498)	Fase II
N-(2-bromofenil)-N'-{2-[etil(3-metilfenil)amino]etil}-urea (SB-452533)	
((R)-5-tert-butil-2,3-dihidro-1H-inden-1-il)-3-(1H-indazol-4-il)-urea (ABT-102)	
N-(Isoquinolin-5-il)-N'-[spiro-(ciclobutano-1,2'-(3',4'-dihidro-benzopirán-4'-il))]urea (GRC-6211)	Fase II

(2R)-4-(3-cloro-2-piridinil)-2-metil-N-[4-(trifluorometil)fenil]-1-piperazinacarboxamida	
4-(4'-Trifluorometil-anilino)-7-(3'-trifluorometil-piridin-2-il)-quinazolina (MK-2295)	Fase II
JYL 1421	Eur.J.Pharmacol. 517:35-44
N-[2-(4-clorofenil)etil]-1,3,4,5-tetrahidro-7,8-dihidroxi-2H-2-benzazepina-2-carbotioamida (Capsazapine)	
Ácido (5R*,8R*,6E,9E)-5,8-Dimetil-4-metilenotetradeca-6,9-dienoico	
1-(3-Fluorobencil)-2-(N-(1,2-dimetil-1,3-isoindazol-5-il)-acetamido)-(piridina-[3,4-b]-pirrol) (SAR-115740)	
N-(4-clorobencil)-N'-(1-metil-1H-indazol-4-il)urea, N-(4-tert-butilbencil)-N'-(1-metil-1H-indazol-4-il)urea, N-(3-fluoro-4-(trifluorometil)bencil)-N'-(1-metil-1H-indazol-4-il)-urea, N-(4-fluoro-3-(trifluorometil)-bencil)-N'-(1-metil-1H-indazol-4-il)-urea, N-(3,4-diclorobencil)-N'-(1-metil-1H-indazol-4-il)urea, N-(2,4-diclorobencil)-N'-(1-metil-1H-indazol-4-il)urea, N-(4-etilbencil)-N'-(1-metil-1H-indazol-4-il)urea, N-(2-clorobencil)-N'-(1-metil-1H-indazol-4-il)urea, N-(4-fluorobencil)-N'-(1-metil-1H-indazol-4-il)urea, N-(2-fluorobencil)-N'-(1-metil-1H-indazol-4-il)urea, N-[1-(bromofenil)etil]-N'-(1-metil-1H-indazol-4-il)urea, N-(1-metil-1H-indazol-4-il)-N'-(4-[(trifluorometil)tio]bencil)urea. 1-(2, 3-diclorofenil)-3-[2-(N-etil-3-metilanilino)etil]urea 1-[2-(N-etil-3-metilanilino)etil]-3-naftalen-1-ilurea	Abbott Laboratories (20100249203)
1-(4-bromofenil)-3-[2-(N-etil-3-metilanilino)etil]urea 1-(3-bromofenil)-3-[2-(N-etil-3-metilanilino)etil]urea 1-(clorofenil)-3-[2-(N-etil-3-metilanilino)etil] urea 1-[2-(N-etil-3-metilanilino)etil]-3-(2-fluorofenil)urea 1-[2-(N-etil-3-metilanilino)etil]-3-(2-metilfenil)urea 1-[2-(N-etil-3-metilanilino)etil]-3-fenilurea 2-[(2-bromofenil)carbamoilamino]etil-etilmetil-(3-metilfenil)azanio yoduro	
JYL 1421	Eur.J.Pharmacol. 517:35-44

<p>1-(2-bromofenil)-3-[2-(N-etil-3-fluoro-4-metilanilino)etil] urea 1-(2-bromofenil)-3-[2-(N-etil-3,4-difluoroanilino)etil] urea 1-(2-bromofenil)-3-[2-(N-etil-3-fluoroanilino)etil] urea 1-(2-bromofenil)-3-[2-(N-etil-4-metilanilino)etil]urea 1-(2-bromofenil)-3-[2-(N-etil-2-metilanilino)etil]urea 1-(2-bromofenil)-3-[2-(N-etilanilino)etil]urea N-[2-[(2-bromofenil)carbamoilamino]etil]-N-(3-metilfenil)acetamida 1-[2-(N-bencil-3-metilanilino)etil]-3-(2-bromofenil)urea</p>	
<p>1-(2-bromofenil)-3-[2-(2,3-dimetilanilino)etil] urea 1-(2-bromofenil)-3-[2-(3-metilanilino)etil]urea 1-(2,5-diclorofenil)-3-[2-(N-etil-3-metilanilino)etil] urea</p>	
<p>2,6-bis-(4-idroxi-3-metoxibencilideno)ciclohexanona (BHMC) 4-fluoro-4-(3-metilpiridin-2-il)-N-[4-trifluorometilfenil]piperidina-1-carboxamida 4-fluoro-4(piridin-2-il)N-[4-trifluorometilfenil]piperidina-1-carboxamida 4-fluoro-4(piridina-2-il)N-[4-trifluorometilbencil]piperidina-1-carboxamida 2-{4-fluoro-1-[4-trifluorometilbenzoil]piperidin-4-il}piridina 2-(4-fluoro-1-[[4-trifluorometilfenil]acetil]piperidin-4-il)piridina 2-(4-fluoro-1-{3-[4-trifluorometilfenil]propanoil}piperidin-4-il)piridina 4-fluoro-4-(1-metil-1H-imidazol-2-il)-N-[4-trifluorometilfenil]piperidina-1-carboxamida 4-metoksi-4-piridin-2-il-N-[4-trifluorometilfenil]piperidina-1-carboxamida 4-metoksi-4-piridin-2-il-N-[4-trifluorometilbencil]piperidina-1-carboxamida 4-fluoro-N-(4-isopropilfenil)-4-(3-metilpiridin-2-il)piperidina-1-carboxamida 4-fluoro-4-(3-metilpiridin-2-il)-N-{4-[1,2,2,2-tetrafluoro-1-trifluorometil- piperidina-1-carboxamida etil]fenil}</p>	
<p>N-(4-Tert-butilfenil)-4-fluoro-4-(3-metilpiridin-2-il)piperidina-1-carboxamida 4-fluoro-4-(3-metilpiridin-2-il)-N-[4-(pentafluoro-lambda(sup 6)-sulfanil)fenil]piperidina-1-carboxamida N-(4-Butilfenil)-4-fluoro-4-(3-metilpiridin-2-il)piperidina-1-carboxamida N-(4-Bencilfenil)-4-fluoro-4-(3-metilpiridin-2-il)piperidina-1-carboxamida N-bifenil-4-il-4-fluoro-4-(3-metilpiridin-2-il)piperidina-1-carboxamida 4-fluoro-4-(3-metilpiridin-2-il)-N-[5-trifluorometilpiridin-2-il]piperidina-1-carboxamida</p>	

<p>4-(3-cloropiridin-2-il)-4-fluoro-N-[4-trifluorometilfenil]piperidina-1-carboxamida 4-fluoro-4-(3-fluoropiridin-2-il)-N-[4-trifluorometilfenil]piperidina-1-carboxamida 4-fluoro-4-(3-metoxipiridin-2-il)-N-[4-trifluorometilfenil]piperidina-1-carboxamida 4- fluoro-4-(3-metilpiridin-2-il)-N-[4-trifluorometilfenil]piperidina-1-carboxamida N'- ciano-4-fluoro-4-(3-metilpiridin-2-il)-N-[4-trifluorometilfenil]piperidina-1-carboximidamida 4-fluoro-4-(3-metilpiridin-2-il)-N-(1-fenilpiperidin-4-il)-N-[4-trifluoro-metilfenil] piperidina- 1-carboximidamida 4-fluoro-4-fenil-N-[4-trifluorometilfenil]piperidina-1-carboxamida (+/-)-(syn)-4-fluoro-2-metil-4-(3-metilpiridin-2-il)-N-[4-trifluorometil-fenil]piperidina-1- carboxamida 4-(fluorometil)-4-piridin-2-il-N-[4-trifluorometilfenil]piperidina-1-carboxamida</p>	
<p>syn- y anti-3-fluoro-3-piridin-2-il-N-[4-trifluorometilfenil]-8-azabicyclo[3.2.1]octano-8- carboxamida 3-fluoro-3-piridin-2-il-N-[4-trifluorometilfenil]-8-azabicyclo[3.2.1]octano-8-carboxamida 4-fluoro-4-pirimidin-2-il-N-[4-trifluorometilfenil]piperidina-1-carboxamida 4-fluoro-4-(3- fenilpropil)-N-[4-trifluorometilfenil]piperidina-1-carboxamida</p>	
<p>JYL 1421</p>	<p>Eur.J.Pharmacol. 517:35-44</p>
<p>2-[4-fluoro-4-(3-metilpiridin-2-il)piperidin-1-il]-6-trifluorometil-1H-benzimidazol 2-(4-fluoro-4-piridin-2-ilpiperidin-1-il)-6-(trifluorometil)-1H-benzimidazol 4-fluoro-N-[4-trifluorometilfenil]-4-[3-trifluorometilpiridin-2-il]piperidina-1-carboxamida 4-fluoro-N-(4-metilfenil)-4-(3-metilpiridin-2-il)piperidina-1-carboxamida N-(4-etilfenil)-4-fluoro-4-(3-metilpiridin-2-il)piperidina-1-carboxamida N-(4-clorofenil)-4-fluoro-4-(3-metilpiridin-2-il)piperidina-1-carboxamida 4-fluoro-4-(3-metilpiridin-2-il)-N-[4-trifluorometoxifenil]piperidina-1-carboxamida N-(4- cianofenil)-4-fluoro-4-(3-metilpiridin-2-il)piperidina-1-carboxamida N-[4-dimetilaminofenil]-4-fluoro-4-(3-metilpiridin-2-il)piperidina-1-carboxamida 1-(2-(3,3-dimetilbutil)-4-(trifluorometil)bencil)-3-(1-metil-1H-indazo-1-4-il)urea</p>	
<p>N-acetil-1-fenilalanil-1-leucinamida Nobilamides A-H (Lin 2011) SB366791 (Gunthrope 2004) antagonistas TRPV1 (Messegueur 2006) Ligandos del receptor de capsaicina PCT WO 02/08221</p>	

Las sales farmacéuticamente aceptables que forman parte de esta invención incluyen sales de adición de bases tales como sales de metales alcalinos como sales de Li^+ , Na^+ y K^+ , sales de metales alcalinotérreos como sales de Ca^{2+} y Mg^{2+} , sales de bases orgánicas tales como lisina, arginina, guanidina, dietanolamina, colina y similares, sales de amonio o amonio sustituido. Las sales pueden incluir sales de adición de ácido que son sulfatos, nitratos, fosfatos, percloratos, boratos, hidrohaluros, acetatos, tartratos, maleatos, citratos, succinatos, palmoatos, metanosulfonatos, benzoatos, salicilatos, hidroxinaftoatos, bencenosulfonatos, ascorbato, glicerofosfatos, cetoglutaratos y similares. El término solvatos farmacéuticamente aceptables incluye combinaciones de moléculas de solvente con moléculas o iones del compuesto de soluto (el inhibidor). Los solvatos farmacéuticamente aceptables pueden ser hidratos o comprender otros solventes de cristalización tales como alcoholes.

Las sales preferidas para la lista de compuestos anteriores son clorhidrato, bromhidrato, sodio, potasio o magnesio.

La presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que contienen un inhibidor de TRPV1 o una mezcla de inhibidores de TRPV1 según las reivindicaciones, para uso en el tratamiento de la hipertrofia cardíaca. Un inhibidor puede estar en la forma si una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato farmacéuticamente aceptable en combinación con los portadores, diluyentes y similares usuales farmacéuticamente empleados. La composición farmacéutica puede estar en las formas normalmente empleadas, tales como comprimidos, cápsulas, polvos, jarabes, soluciones, suspensiones y similares, puede contener aromatizantes, edulcorantes, etc. en portadores o diluyentes sólidos o líquidos apropiados, o en medios estériles apropiados para formar soluciones o suspensiones inyectables. Tales composiciones contienen por lo general de 1 a 25%, preferiblemente de 1 a 15% en peso de compuesto activo, siendo el resto de la composición portadores, diluyentes, excipientes o solventes farmacéuticamente aceptables.

Los portadores farmacéuticamente aceptables apropiados incluyen cargas sólidas o diluyentes y soluciones acuosas u orgánicas estériles. El compuesto activo estará presente en tales composiciones farmacéuticas en las cantidades suficientes para proporcionar la dosificación deseada en el intervalo como se describió anteriormente. De este modo, para la administración oral, los compuestos se pueden combinar con un portador o diluyente sólido o líquido apropiado para formar cápsulas, comprimidos, polvos, jarabes, soluciones, suspensiones y similares. Las composiciones farmacéuticas, si se desea, pueden contener componentes adicionales tales como aromatizantes, edulcorantes, excipientes y similares. Se pueden usar soluciones farmacéuticamente aceptables en aceite de sésamo o de cacahuete, propilenglicol acuoso y similares, así como soluciones acuosas de sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables solubles en agua o sales de metales alcalinos o alcalinotérreos de los compuestos. Las soluciones inyectables preparadas de esta manera se pueden administrar por vía intravenosa, intraperitoneal, subcutánea o intramuscular, prefiriéndose la administración intramuscular en humanos.

Las composiciones farmacéuticas de la invención se muestran eficaces mediante ensayos en modelos animales. Las composiciones farmacéuticas de la invención son de este modo eficaces para el tratamiento de hipertrofia cardíaca en un sujeto mamífero, que incluyen remodelación cardíaca, fibrosis cardíaca, apoptosis, hipertensión o insuficiencia cardíaca. Las composiciones también se pueden administrar para el tratamiento profiláctico de la hipertrofia cardíaca en un sujeto mamífero.

En general, la dosis eficaz para tratar una afección particular en un paciente puede ser fácilmente determinada y ajustada por el médico durante el tratamiento para aliviar los síntomas o indicaciones de la afección o enfermedad. Generalmente, una dosis diaria de compuesto activo (inhibidor) en el intervalo desde aproximadamente 0.01 a 1000 mg/kg de peso corporal es apropiada para la administración para obtener resultados eficaces. La dosis diaria puede administrarse en una sola dosis o dividirse en varias dosis. En algunos casos, dependiendo de la respuesta individual, puede ser necesario desviarse hacia arriba o hacia abajo de la dosis diaria prescrita inicialmente. Las preparaciones farmacéuticas típicas normalmente contienen desde aproximadamente 0.2 a aproximadamente 500 mg del compuesto activo de fórmula I y/o sus sales o solvatos farmacéuticamente activos por dosis.

El término "cantidad terapéuticamente eficaz", "cantidad farmacéuticamente eficaz" o "cantidad eficaz" se refiere a la cantidad de un compuesto o mezcla de compuestos de fórmula I que es suficiente para efectuar el tratamiento, como se define a continuación, cuando se administra solo o en combinación con otras terapias para un mamífero que necesita dicho tratamiento. El término "mamífero" como se usa en este documento incluye todos los mamíferos, y en particular los humanos. Dichos mamíferos también se denominan en este documento sujetos o pacientes que necesitan tratamiento. La cantidad terapéuticamente eficaz variará dependiendo del sujeto y la enfermedad que se trate, el peso y la edad del sujeto, la gravedad de la enfermedad, el régimen de dosificación a seguir, el momento de la administración, la forma de administración y similares, todo lo cual puede ser determinado fácilmente por un experto en el arte.

El término "tratamiento" o "tratar" significa cualquier tratamiento de una enfermedad en un mamífero, que incluye:

a) prevención de la enfermedad o afección, es decir, causar que los síntomas clínicos de la enfermedad no se desarrollen;

b) inhibición de la enfermedad, es decir, ralentizar o detener el desarrollo de síntomas clínicos; y/o

c) alivio de la enfermedad, es decir, provocar la regresión de los síntomas clínicos.

La invención se explica en detalle en los ejemplos que se dan a continuación que se proporcionan a modo de ilustración.

5 Ejemplo 1

La deficiencia genética *Trpv1* suprime la sobrecarga de presión de la hipertrofia cardíaca

La hipertrofia cardíaca por sobrecarga de presión se modeló por constricción aórtica transversal (TAC) en ratones con deficiencia genética TRPV1 macho de 8 semanas de edad (Caterina, 2000) y controles de tipo salvaje. Los ratones de control simulado se sometieron al mismo procedimiento excepto por la constricción aórtica. Las presiones de referencia se evaluaron proximalmente; y distal, al sitio de formación de bandas de la TAC, según se analiza mediante eco Doppler. No hubo diferencias significativas entre *Trpv1*^{-/-} y los animales de control. La ecocardiografía transtorácica (Echo) se realizó usando un sistema Vevo 770™ Echo de alta resolución con un transductor de 30MHz (Visual Sonics, Toronto, Canadá) en ratones no anestesiados para evaluar las dimensiones del corazón durante la hipertrofia cardíaca por sobrecarga de presión, en comparación con los controles simulados. Los ratones se sacrificaron a las 6 semanas después de la TAC, y los corazones se recogieron para corte histológico, extracción de ARN, y análisis de proteínas mediante transferencia de Western y otros métodos. Los análisis gravimétricos de hipertrofia cardíaca a las 6 semanas después de la TAC indican que la proporción peso/peso corporal, así como la proporción peso del corazón/longitud de la tibia aumenta más en los animales control que en los corazones *Trpv1*^{-/-}, en comparación con los animales simulados. Con referencia a la figura. 1A, los efectos de la TAC se muestran en animales con bandas en el diámetro interno del ventrículo izquierdo (LV), diastólico, desde el inicio hasta 6 semanas en C57BU6 WT (n=17), *Trpv1*^{-/-} (n=15), en comparación con esos efectos (Figura 1B) en animales operados simultáneamente (n=9) (centro). En la figura 1C los efectos de la TAC se muestran en la tasa de cambio de LVID/día en C57BU6 WT (n=17) versus *Trpv1*^{-/-} (n=15). (P <0.05) WT y *Trpv1*^{-/-} (p <0.05). En la figura 1D los efectos de la TAC en animales tratados sobre la función del LV (acortamiento fraccional) desde el inicio hasta 8 semanas en C57BU6

WT (n=17), *Trpv1*^{-/-} (n=15) y en animales operados simultáneamente C57BU6 WT (n=9), *Trpv1*^{-/-} (n=9). En particular, en la figura 1C se muestra un aumento significativo en la tasa de diámetro interno del ventrículo izquierdo, en ratones control (n=17) en comparación con ratones *Trpv1*^{-/-} (n=15) (P <0.05). Los animales de control y *Trpv1*^{-/-} simulado no difirieron significativamente. La figura 1D indica que la función del ventrículo izquierdo medida por el porcentaje de acortamiento fraccional

(%FS=([LVDd-LVDs]/[LVDd])x100) parece que se conserva en ratones *Trpv1*^{-/-} de cero a cuatro semanas, en comparación con animales de control, pero disminuye de cuatro a seis semanas.

Ejemplo 2

La deficiencia genética de *Trpv1* altera los marcadores hipertróficos en la hipertrofia cardíaca por sobrecarga de presión

Se analizaron marcadores de hipertrofia múltiple a partir de lisados y secciones de corazón extraídos. En general, los principales indicadores hipertróficos como colágeno (Figura 2), péptido natriurético atrial y TGFβ (Figuras 3A, 3B) muestran una reducción significativa en la expresión en ratones *Trpv1*^{-/-} modelados con hipertrofia cardíaca por sobrecarga de presión durante seis semanas. En la figura 2, se muestra la cuantificación de la tinción de picosirio en deficiencia de TRPV1 y controles C57BU6 WT, realizada en Imagen J, excluyendo el tejido perivascular. Cada corazón se tiñó en 3 réplicas. Imagen J se usó para analizar 5 imágenes de cada corazón (x3) y determinar el número de píxeles en cada campo como porcentaje del número total de píxeles para una proporción de colágeno/fibra teñidos en rojo: total de área de tejido. Las imágenes se promediaron para cada animal y se graficaron en Prism GraphPad; p < 0.001 entre bandas TRPV1 y bandas C57BU6. En la figura 3A se muestran la expresión de ARN de TGF-beta en C5781/6 (n=7) y TRPV1^{-/-} (n=4) (p <0.0328). En la figura 3B se muestran la expresión de ANP en C5781/6 (n=15) y TRPV1 (n=14) (p < 0.0431). El ARN total se aisló de corazones homogeneizados con Trizol (Molecular Research Center) y se purificó adicionalmente con un kit de aislamiento de ARN (Mo Bio Laboratories, Inc). El ADNe monocatenario se sintetizó a partir de 1 μg de ARN total usando un kit de síntesis de ADNc (Qiagen). Los niveles de ARNm se cuantificaron mediante RT-PCR usando el método SYBR green.

Ejemplo 3

Remodelación de la matriz extracelular

La composición del tejido del corazón cambia durante el desarrollo de la hipertrofia ventricular y conduce a la remodelación estructural del miocardio. Uno de estos cambios está relacionado con la alteración del equilibrio entre la síntesis y la degradación del colágeno, que da como resultado una acumulación excesiva de fibras de colágeno tipo I y III dentro del miocardio. A medida que el colágeno y otros componentes de la matriz extracelular se acumulan en el espacio intersticial, la rigidez del miocardio aumenta y se produce la disfunción diastólica y sistólica. Los datos previos indican menos deposición de colágeno intersticial en los ratones *Trpv1*^{-/-} que en los ratones control, con hipertrofia cardíaca por sobrecarga de presión (Buckley 2011). Se obtuvieron resultados similares mediante el ensayo de proteína de colágeno (Sicol™, Biocolor, Northern Island) y PCR de tiempo real. También se observan cambios en las enzimas responsables de la degradación del colágeno, las metaloproteinasas de la matriz (MMP). (Figuras 4A, 4B)

La expresión de ARN cambia en ratones simulados frente a ratones tratados con TAC mostrados en la figura 4A para MMP2 por RT-PCR ($p < 0.05$), C5781/6 ($n=15$), y *Trpv1*^{-/-} ($n=14$) y en la figura 4B para MMP13 por RT-PCR. Generalmente, la supresión de la transcripción de *Mmp* y *Timp* se observa más en los ratones *Trpv1*^{-/-} que en los ratones de control de 6 semanas después de la TAC. Sin embargo, MMP13 parece aumentada. MMP13 se dirige al colágeno tipo I, II y III y puede servir para proteger el tejido de la fibrosis. El mensajero de la quimasa de mastocitos (CMA 1) y la proteína se expresan menos en ratones *Trpv1*^{-/-} que en los ratones de control de 8 semanas después de la TAC (figura 7D). CMA1 es una serina proteinasa quimotripsina que pertenece a la familia peptidasa S1. Se describe como expresado en mastocitos, pero parece expresarse en otros tejidos y tipos de células. Este funciona en la degradación de la matriz extracelular y la generación de péptidos vasoactivos. En el corazón y los vasos sanguíneos, esta proteína, en lugar de la enzima convertidora de angiotensina (ACE), es en gran parte responsable de convertir la angiotensina I en el péptido vasoactivo angiotensina II en el sistema renina-angiotensina. Este sistema controla la presión arterial y participa en la patogénesis de la hipertensión, la hipertrofia cardíaca y la insuficiencia cardíaca.

Ejemplo 4

Implicación de TRPV1 en la progresión de la hipertrofia cardíaca

Los ratones que carecen de TRPV1 funcional y los ratones de control con TRPV1 de tipo salvaje se modelaron para la hipertrofia cardíaca por sobrecarga de presión. Las dimensiones y la función del corazón se midieron y compararon con el tiempo usando ecocardiografía transtorácica sin anestesiarse y los corazones se cosecharon ocho semanas después para el análisis molecular, bioquímico e histológico. Las dimensiones y la función del corazón se conservaron mejor en ratones que carecen de TRPV1 funcional. La hipertrofia celular, marcadores de hipertrofia, fibrosis y apoptosis también se redujeron significativamente en estos ratones, lo que indica la implicación de TRPV1 en la progresión de la hipertrofia cardíaca.

Modelo de sobrecarga de presión

Para probar la implicación de TRPV1 en la remodelación asociada con hipertrofia cardíaca e insuficiencia cardíaca, ratones B6.129X1-*Trpv1*^{tm1Jul/J} macho de diez semanas (TRPV1 KO), (Caterina, 2000) y ratones control (WT) C57BL/6J de edad/sexo emparejados se sometieron a sobrecarga de presión aguda por constricción aórtica transversal (TAC). Los ratones control de simulación de ambas cepas se sometieron a un procedimiento quirúrgico idéntico, excepto por la constricción aórtica real. Los ratones TRPV1 KO TAC y WT TAC no mostraron diferencia en las presiones de referencia, evaluadas de forma inmediata distal al sitio de formación de bandas TAC mediante ecocardiografía Doppler.

Análisis gravimétrico del corazón, después de hipertrofia cardíaca por sobrecarga de presión

Este análisis revela que los corazones tratados con TAC eran un 28% más pesados en los ratones WT TAC que los ratones TRPV1 KO TAC.

Cuando se normalizó el peso corporal y la longitud de la tibia, la proporción peso del corazón/peso corporal y la proporción de peso del corazón/longitud de la tibia también fueron significativamente mayores en los ratones WT TAC que en los ratones TRPV1 KO TAC. (Figuras 5A y 5B) Los ratones que carecen de TRPV1 funcional presentan la preservación de la estructura y la función del corazón durante la hipertrofia cardíaca por sobrecarga de presión. (■ WT ■ TRPV1 KO). La figura 5A es un gráfico que muestra el peso del corazón/peso corporal (HW/BW) y el peso del corazón/longitud de la tibia (HW/TL). Hay una diferencia significativa en HW/BW entre ratones simulados WT y TAC ($p=0.027$), ratones WT TAC y TRPV1 KO TAC ($p=0.019$) y ratones TRPV1 KO simulados y TAC ($p=0.045$). La figura 5B muestra que hay una diferencia significativa en HW/TL entre ratones WT simulados y TAC ($p=0.034$), ratones WT TAC y TRPV1 KO TAC ($p=0.03$), pero no entre ratones TRPV1 KO simulados y TRPV1 KO TAC ($p=0.095$).

La estructura y la función del corazón se mantienen durante la hipertrofia cardíaca por sobrecarga de presión en ratones que carecen de TRPV1 funcional

Se analizó el diámetro interno del ventrículo izquierdo (LVIDd) diastólico final durante ocho semanas después de la TAC mediante análisis ecocardiográfico transtorácico. En ratones WT TAC, LVIDd comenzó a aumentar a las dos semanas y se estabilizó aproximadamente a las seis semanas. Los ratones TRPV1 KO TAC no mostraron cambios en el LVIDd hasta las seis semanas. La figura 5C muestra el análisis del diámetro interno del ventrículo izquierdo diastólico final (LVIDd) de cero a ocho semanas en ratones WT (n=6) y TR PV1 KO (n=8). Los ratones de control TAC WT comienzan a aumentar su diámetro interno a las dos semanas, mientras que en ratones TAC TR PV1 KO hay un retraso hasta seis semanas después del tratamiento con TAC. La tasa de aumento en LVIDd es significativamente mayor en ratones WT TAC que en ratones TRPV1 KO TAC (figura 5D) entre las semanas dos y seis después de la TAC. La figura 5D muestra que la tasa de cambio en LVIDd de cero a ocho semanas fue significativa ($p=0.013$) entre TAC WT y TAC TR PV1 KO. La función cardíaca se analizó mediante la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (% EF). La función cardíaca disminuyó en ratones WT desde aproximadamente dos a seis semanas después del tratamiento con TAC, pero se conservaron en ratones TRPV1 KO TAC durante el mismo período de tiempo. La figura 5E muestra una reducción en la función comenzando a las dos semanas en ratones TAC WT, pero los ratones TAC TR PV1 KO están protegidos hasta las seis semanas, el cambio porcentual en la fracción de eyección fue significativamente diferente a las seis semanas ($p=0.039$). El cambio en la fracción de eyección a las seis semanas es significativamente diferente entre los ratones WT TAC y los ratones TRPV1 KO TAC (Figura 5F).

Los ratones que carecen de TRPV1 funcional están protegidos de la hipertrofia y la apoptosis después de la hipertrofia cardíaca por sobrecarga de presión modelada

El grado de hipertrofia celular se examinó mediante tinción de las membranas plasmáticas con aglutinina de germen de trigo marcada fluorescentemente (WGA). Los tamaños de las células se compararon mediante imágenes y medición asistida por ordenador del área de la sección transversal de los cardiomiocitos. Esta comparación refleja el grado de hipertrofia celular entre muestras. (Shiojima, 2005). Los datos muestran un aumento significativo en el área de sección transversal de cardiomiocitos de WT TAC en comparación con ratones TRPV1 KO TAC (figura 6A). La medición del área de la sección transversal de los cardiomiocitos fue significativamente diferente entre los ratones TAC WT y los ratones TAC TR PV1 KO ($p=0.025$, $n=100$), 8 semanas después del tratamiento con TAC. Esto muestra que, al nivel celular, los ratones TRPV1 KO desarrollan menos hipertrofia cardíaca que los ratones WT, en respuesta a hipertrofia cardíaca por sobrecarga de presión modelada. Para comparar adicionalmente el grado de hipertrofia entre ratones TRPV1 y WT, se evaluaron marcadores adicionales de hipertrofia, apoptosis e insuficiencia cardíaca. Las concentraciones plasmáticas del péptido natriurético atrial de la hormona circulante (ANP) y el factor de crecimiento TGFbeta aumentan durante la insuficiencia cardíaca y se consideran marcadores tardíos de hipertrofia cardíaca. Por lo tanto, la expresión de ANP y TGFbeta se analizó mediante RT-PCR de ARNm aislado de tejido del corazón. Se mostraron aumentos significativamente mayores en los niveles de transcripción de ANP y TGFbeta en ratones WT TAC que en ratones TRPV1 KO TAC. La figura 6B muestra que los niveles de expresión del péptido natriurético atrial (ANP) y los transcritos de TGFbeta fueron significativamente mayores en los ratones TAC WT que en los ratones TRPV1 KO ($p=0.037$, $p=0.007$) en proporción con los ratones de control. El análisis de transferencia de Western confirmó que hubo un aumento significativo (Figura 6C) en la expresión de la proteína ANP en ratones TAC WT en comparación con ratones TRPV1 TAC KO. Estos datos muestran que la protección contra el estrés y/o los sistemas de señalización asociados con las respuestas transcripcionales hipertróficas se observa en los ratones TRPV1 KO. Se evaluó el grado de apoptosis celular mediante la medición de la proteína escindida caspasa-3 en lisados de tejido del corazón de la TAC y ratones TRPV1 KO y WT tratados simulados. El análisis de la densitometría de transferencia Western de lisados de tejido del corazón mostró significativamente menos escisión de caspasa-3 en ratones TRPV1 KO TAC que en ratones WT TAC. Como era de esperar, los ratones WT simulados y TRPV1 KO simulados no mostraron una escisión aparente de caspasa-3. (Figura 6D) Estos resultados muestran que la apoptosis cardíaca inducida por TAC se reduce en ratones TRPV1 KO. Existe una protección contra el estrés y/o la señalización asociada con la hipertrofia cardíaca en los ratones TRPV1 KO.

Los ratones que carecen de TRPV1 funcional muestran fibrosis reducida, remodelación tisular y marcadores inflamatorios después de la hipertrofia cardíaca por sobrecarga de presión modelada

Durante el desarrollo de la hipertrofia ventricular, la composición del tejido del corazón cambia, lo que conduce a la remodelación estructural del miocardio. Por ejemplo, la alteración del equilibrio entre la síntesis y la degradación del colágeno da como resultado una acumulación excesiva de fibras de colágeno tipo I y III dentro del miocardio. A medida que el colágeno y otros componentes de la matriz extracelular se acumulan en el espacio intersticial, la rigidez del miocardio aumenta y se produce la disfunción diastólica y sistólica. Los niveles de colágeno III se analizaron mediante RT-PCR y colágeno total mediante tinción histológica, en tejido del corazón de ratones simulados TAC, WT y TRPV1 KO. Se demostró que los niveles de transcrito de colágeno III (figura 7A) y la deposición de colágeno intersticial (figura 7B) se redujeron en corazones aislados de ratones TRPV1 KO TAC en comparación con ratones WT TAC. Los ratones que carecen de TR PV1 funcional presentan menos fibrosis intersticial y enzimas de remodelación tisular que los ratones de control WT, ocho semanas después del tratamiento

con TAC. (■ WT ■ TR PV1 KO). La figura 7A muestra un aumento en la expresión del transcrito de Colágeno III fue significativamente mayor en los ratones TAC WT que en los ratones TRPV1 TAC KO ($p=0.037$, 0.007). En la figura 7B, los ratones que carecen de TR PV1 funcional presentan menos fibrosis intersticial y enzimas de remodelación tisular que los ratones de control WT, ocho semanas después del tratamiento con TAC. (■ WT ■ TR PV1 KO). Hubo un aumento significativo en las transcripciones de MMP2 en los corazones de los ratones WT TAC en comparación con los corazones de los ratones TRPV1 TAC. La figura 7C muestra que los aumentos en la expresión del transcrito de la matriz metaloproteinasa-2 (MM P-2) fue significativamente menor en ratones TR PV1 KO TAC tratados que ratones WT tratados con TAC ($p=0.049$). También hubo significativamente menos expresión del transcrito de quimasa (CMA1) ($p=0.049$). La quimasa de mastocitos, CMA1, es una serina proteinasa quimotripsina que pertenece a la familia peptidasa S1. Funciona en la degradación de la matriz extracelular y en la generación de péptidos vasoactivos. En el corazón y los vasos sanguíneos, es CMA1, en lugar de la enzima convertidora de angiotensina (ACE), que es en gran medida responsable de convertir la angiotensina I en el péptido vasoactivo angiotensina II. Los datos en las figuras 7D y 7E muestran que las transcripciones de CMA1 y la proteína se expresan en niveles significativamente más altos en corazones de ratones WT TAC que en ratones TRPV1 KO TAC. Hubo significativamente menos expresión del transcrito Chymase (CMA1) ($p=0.049$) y proteína Chymase ($p=0.0218$) en el tejido del corazón aislado de ratones TAC TR PV1 KO que los ratones TAC WT (la densidad integrada CMA1 se normalizó al control de carga GAPDH). Los datos muestran que la deficiencia genética funcional de TRPV1 en ratones permite la preservación de la estructura del corazón y la función cardíaca bajo una sobrecarga de presión modelada. Concomitante con esta protección es la baja regulación de proteínas múltiples y marcadores transcripcionales asociados con la iniciación y la progresión de la hipertrofia, la apoptosis, la fibrosis y la insuficiencia cardíaca. Estos datos muestran que TRPV1 tiene un papel como ya sea un agente estresante iniciador o como un transductor de señalización corriente arriba de la respuesta transcripcional hipertrófica en el corazón.

Ejemplo 5

Ratones tratados con el antagonista de TRPV1 BCTC presentan la preservación de la masa cardíaca, la estructura y la función durante la hipertrofia cardíaca por sobrecarga de presión

Las siguientes pruebas muestran que el tratamiento mediante administración continua, usando bombas osmóticas con el antagonista de TRPV1, BCTC, en ratones WT expuestos a TAC confirma los hallazgos de los ensayos de los ejemplos anteriores.

Instalación de bomba osmótica. La infusión de fármacos a largo plazo (hasta 42 días) se puede lograr mediante la inserción de bombas osmóticas sin la necesidad de una inyección repetida. Los ratones se colocan bajo un plano bajo de anestesia con una inyección de anestésico ketamina/xilacina (50 mg/10 mg.Kg) por vía intraperitoneal (IP) 10 minutos antes de la cirugía. Un área pequeña entre los omóplatos se afeita y se esteriliza con torunda de Povidona. Se realiza una pequeña incisión en esta área y se disecciona roma debajo de la piel para permitir la colocación de una bomba osmótica Alzet (modelo 2006), previamente cargada con el fármaco de elección debajo de la piel entre los omoplatos, donde es inaccesible para el ratón. Se aplican varios puntos para cerrar la incisión. El mouse se coloca en una carcasa normal sobre una estera de calentamiento hasta que esté completamente consciente, después de lo cual los ratones se devuelven a la sala de alojamiento habitual.

Los ratones se sometieron a hipertrofia cardíaca inducida por sobrecarga de presión mediante TAC mientras se administraban 4 mg/kg de BCTC (en 20% p/v de 2-hidroxipropil)- β -ciclodextrina/PBS) durante todo el experimento usando bombas osmóticas (Alzet, Modelo 2006) bombeando continuamente a una velocidad de 0.15ul/h. La prueba se limitó a ~42 días (máximo) por la función de las bombas, por lo que el experimento se detuvo 36 días después de la TAC, ya que las bombas se instalaron antes del TAC para permitir la recuperación antes de la cirugía TAC. El análisis de los pesos cardíacos 36 días después de la TAC reveló que la proporción peso/peso corporal del corazón era significativamente mayor en ratones WT tratados con portador que en ratones tratados con fármaco ($p=0.035$) (Figura 8A). La evaluación ecocardiográfica de ratones cada 9 días durante la duración del estudio mostró que los ratones simulados tratados con vehículo y BCTC (ratones simulados con vehículo ($n=2$) y simulados con BCTC ($n=2$)) no muestran diferencia en su diámetro interno del ventrículo izquierdo (LVID, d) (Figura 8B). Sin embargo, los ratones TAC tratados con BCTC ($n=8$) tienen un LVIDd significativamente menor que los ratones TAC tratados con portador ($n=7$) (Figura 8C) de cero a treinta y seis días, lo que indica que los ratones de control del vehículo TAC comienzan a aumentar su diámetro interno a los 9 días, mientras que en los ratones tratados con TAC BCTC, el diámetro se mantiene durante la duración de la prueba. La LVIDd es significativamente diferente después de 18 días ($p < 0.001$). Esta protección contra la dilatación del ventrículo izquierdo se traduce en una protección en la función del corazón medida por la fracción de eyección (% EF, $p < 0.05$) y el acortamiento fraccional (% FS). Tanto el % EF como el % FS ($p < 0.01$) de los ratones TAC tratados con vehículo disminuyeron de forma constante a lo largo del estudio y disminuyeron significativamente a los 36 días después de la TAC en comparación con los ratones tratados con fármaco (Figuras 8D, 8E).

Ejemplo 6

Ratones tratados con el antagonista de TRPV1 BCTC presentan histológicamente con menos hipertrofia y fibrosis que los ratones de control de vehículo, treinta y seis días después del tratamiento con TAC

5 El análisis histológico del corazón 36 días después de la TAC muestra que BCTC puede proteger al corazón de la hipertrofia celular, y la deposición de la fibrosis intersticial. A partir de manchas de membranas plasmáticas (aglutinina de germen de trigo-Alexa488) en secciones de tejido del corazón se muestra que los ratones TAC
10 tratados con BCTC, descritos en el ejemplo 5, tienen miocitos cardíacos más pequeños y menos hipertrofia que los ratones control TAC tratados con vehículo. La medición del área de corte transversal de cardiomiocitos muestra miocitos significativamente más pequeños en ratones TAC tratados con BCTC que ratones control TAC tratados con
15 vehículo ($p < 0.01$, $n = 100$) 36 días después del tratamiento con TAC (Figura 9A), lo que indica que BCTC puede proteger al corazón de hipertrofia a nivel celular. Una menor tinción histológica con rojo de Picrosirius que puede indicar áreas de deposición de colágeno intersticial en secciones de tejido del corazón aisladas de ratones TAC
tratados con BCTC que los ratones de control tratados con vehículo indica menos deposición de colágeno intersticial. El análisis de la tinción de colágeno por ImageJ (NIH) se utilizó para determinar el área de tinción de colágeno como un porcentaje del área del tejido. El análisis (Figura 9B) indica que hay significativamente menos colágeno intersticial en los ratones TAC tratados con BCTC que los ratones control TAC tratados con vehículo ($p = 0.05$). Esto muestra que BCTC puede proteger al corazón de la fibrosis durante la hipertrofia cardíaca por sobrecarga de presión.

Citas bibliográficas

20 Lygate, C. 2006. Surgical models of hypertrophy and heart failure: Myocardial infarction and transverse aortic constriction. *Drug Discovery Today: Disease Models* 3:283-290.

Patten, R.D., and M.R. Hall-Porter. 2009. Small animal models of heart failure: development of novel therapies, past and present. *Circ Heart Fail* 2:138-144.

Rockman, H.A., S. Ono, R.S. Ross, L.R. Jones, M. Karimi, V. Bhargava, J. Ross, Jr., and K.R. Chien. 1994. Molecular and physiological alterations in murine ventricular dysfunction. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91:2694-2698.

25 Rockman, H.A., R.S. Ross, A.N. Harris, K.U. Knowlton, M.E. Steinhilper, L.J. Field, J. Ross, Jr., and K.R. Chien. 1991. Segregation of atrial-specific and inducible expression of an atrial natriuretic factor transgene in an in vivo murine model of cardiac hypertrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 88:8277-8281.

Caterina, M. J., et al. 2000. Impaired nociception and pain sensation in mice lacking the capsaicin receptor. *Science* 288:306-313.

30 Buckley, C. L., and Stokes, A. J. 2011. Mice lacking functional TRPV1 are protected from pressure overload cardiac hypertrophy. *Channels* 5:4, 1-8.

Shiojima, I., Sato, K., Izumiya, Y., Schiekofer, S., Ito, M., Liao, R., et al. 2005. Disruption of coordinated cardiac hypertrophy and angiogenesis contributes to the transition to heart failure. *J. Clin. Invest.* 115:2108-18.

35 Gunthrope, M. J., Rami, H. K., et al. 2004. Discovery of novel 6,6-heterocycles as transient receptor potential vanilloid (TRPV1) antagonists. *Neuropharmacol.* 46(1):133-49.

Lin, Z., Reilly, C. A., et al. 2011. Nobilamides A-H, long-acting transient receptor potential vanilloid-1 (TRPV1) antagonists from mollusk-associated bacteria. *J. Med. Chem.* 54(11):3746-55.

Messequer, A., Planells-Cases, R., et al. 2006. Physiology and pharmacology of the vanilloid receptor. *Curr. Neuropharmacol.* 4(1):1-15.

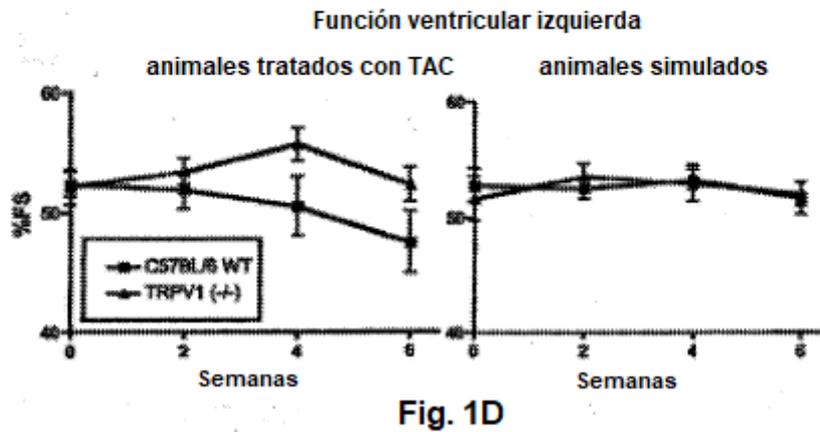
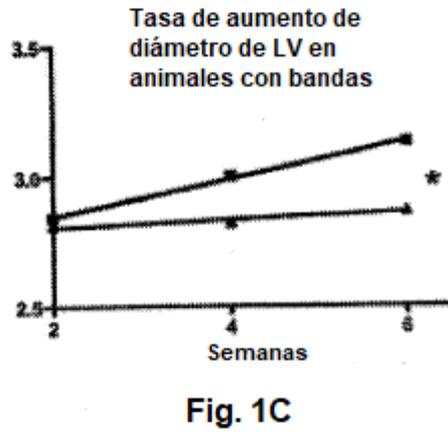
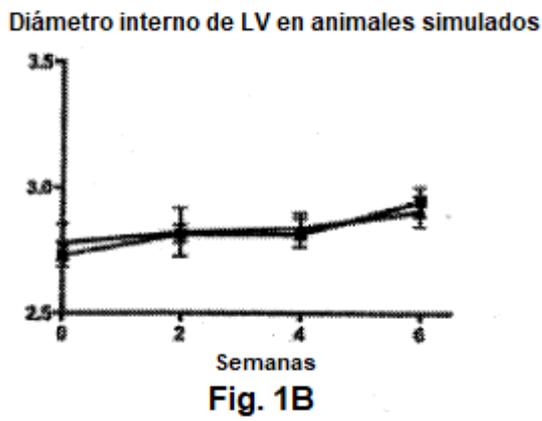
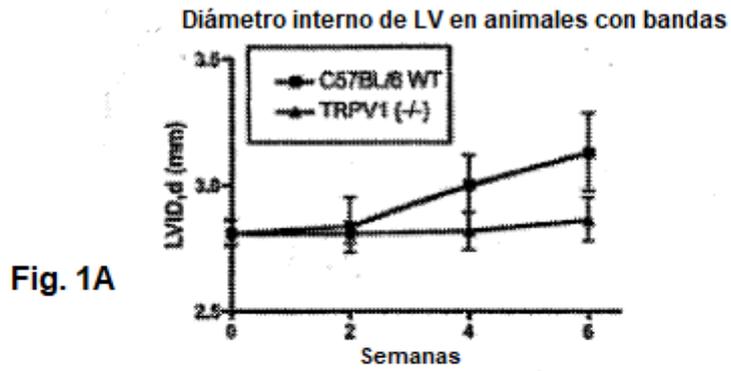
40

REIVINDICACIONES

1. Un inhibidor del canal iónico TRPV1 (canal de catión con potencial transitorio, subfamilia V, miembro 1) para uso en un método de tratamiento o en un método de tratamiento profiláctico de la hipertrofia cardíaca en un mamífero, en el que el inhibidor se selecciona del grupo que consiste en (N-(4-tert-butilfenil)-4-(3-cloropiridin-2-il)-tetrahidropirazina-1(2H)-carboxamida N-(3-Metoxifenil)-4-clorocinnamida
- 5
- 1-Isoquinolin-5-il-3-(4-trifluorometil-bencil)-urea (2E)-N-(2,3-Dihidro-1,4-benzodioxin-6-il)-3-[4-(1,1-dimetiletil) fenil]-2-propenamida 2-Acetilamino-4-[6'-(4-trifluorometilfenil)-pirimidin-4'-il-oxi]-benzotiazol N-(2-bromofenil-N'-[[(R)-1-(5-trifluorometil-2-piridil)pirrolidin-3-il]]urea N-(2-bromofenil)-N'-[2-etil(3-metilfenil)amino]etil]urea ((R)-(5-tert-butil-2,3-dihidro-1H-inden-1-il)-3-(1H-indazol-4-il)-urea N-(Isoquinolin-5-il)-N'-[spiro-(ciclobutano-1,2'-(3',4'-dihidro-benzopirano-4'-il))]urea (2R)-4-(3-cloro-2-piridinil)-2-metil-N-[4-(trifluorometil)fenil]-1-piperazinacarboxamida 4-(4'-Trifluorometil-anilino)-7-(3'-trifluorometil-piridin-2-il)-quinazolina ácido N-[2-(4-clorofenil)etil]-1,3,4,5-tetrahidro-7,8-dihidroxi-2H-2-benzazepina-2-carbotioamida(5R*,8R*,6E,9E)-5,8-Dimetil-4-metilenotetradeca-6,9-dienoico 1-(3-Fluorobencil)-2-(N-(1,2-dimetil-1,3-isoindazol-5-il)-acetamido)-{piridina-[3,4-b]-pirrol}
- 10
- N-(4-clorobencil)-N'-(1-metil-1H-indazol-4-il)urea, N-(4-tert-butilbencil)-N'-(1-metil-1H-indazol-4-il)urea, N-(3-fluoro-4-(trifluorometil)bencil)-N'-(1-metil-1H-indazol-4-il)-urea, N-(4-fluoro-3-(trifluorometil)bencil)-N'-(1-metil-1H-indazol-4-il)-urea, N-(3,4-diclorobencil)-N'-(1-metil-1H-indazol-4-il)urea, N-(2,4-diclorobencil)-N'-(1-metil-1H-indazol-4-il)urea, N-(4-etilbencil)-N'-(1-metil-1H-indazol-4-il)urea, N-(2-clorobencil)-N'-(1-metil-1H-indazol-4-il)urea, N-(4-fluorobencil)-N'-(1-metil-1H-indazol-4-il)urea, N-(2-fluorobencil)-N'-(1-metil-1H-indazol-4-il)urea, N-[1-(bromofenil)etil]-N'-(1-metil-1H-Indazol-4-il)urea, N-(1-metil-1H-indazol-4-il)-N'-{4-[(trifluorometil)tio]bencil}urea. 1-(2,3-diclorofenil)-3-[2-(N-etil-3-metil-anilino)etil]urea 1-[2-(N-etil-3-metil-anilino)etil]-3-naftalen-1-ilurea 1-(4-bromofenil)-3-[2-(N-etil-3-metil-anilino)etil]urea 1-(3-bromofenil)-3-[2-(N-etil-3-metil-anilino)etil]urea 1-(clorofenil)-3-[2-(N-etil-3-metil-anilino)etil]urea 1-[2-(N-etil-3-metil-anilino)etil]-3-(2-fluorofenil)urea 1-[2-(N-etil-3-metil-anilino)etil]-3-(2-metilfenil)urea 1-[2-(N-etil-3-metil-anilino)etil]-3-fenilurea 2-[(2-bromofenil)carbamoilamino]etil-etilmetil-(3-metilfenil)azanio yoduro 1-(2-bromofenil)-3-[2-(N-etil-3-fluoro-4-metil-anilino)etil]urea 1-(2-bromofenil)-3-[2-(N-etil-3,4-difluoroanilino)etil]urea 1-(2-bromofenil)-3-[2-(N-etil-3-fluoroanilino)etil]urea 1-(2-bromofenil)-3-[2-(N-etil-4-metil-anilino)etil]urea 1-(2-bromofenil)-3-[2-(Netil-2-metil-anilino)etil]urea 1-(2-bromofenil)-3-[2-(N-etil-anilino)etil]urea N-[2-[(2-bromofenil)carbamoilamino]etil]-N-(3-metilfenil)acetamida 1-[2-(N-bencil-3-metil-anilino)etil]-3-(2-bromofenil)urea 1-(2-bromofenil)-3-[2-(2,3-dimetil-anilino)etil]urea 1-(2-bromofenil)-3-[2-(3-metil-anilino)etil]urea 1-(2,5-diclorofenil)-3-[2-(N-etil-3-metil-anilino)etil]urea 4-fluoro-4-(3-metilpiridin-2-il)-N-[4-trifluorometilfenil]piperidina-1-carboxamida 4-fluoro-4-(piridin-2-il)N-[4-trifluorometilfenil]piperidina-1-carboxamida 2-{4-fluoro-1-[4-trifluorometilbenzoil]piperidin-4-il}piridina 2-(4-fluoro-1-{[4-trifluorometilfenil]acetil}piperidin-4-il)piridina 2-(4-fluoro-1-{3-[4-trifluorometilfenil]propanoil}piperidin-4-il)piridina 4-fluoro-4-(1-metil-1H-imidazol-2-il)-N-[4-trifluorometilfenil]piperidina-1-carboxamida 4-metoxi-4-piridin-2-il-N-[4-trifluorometilfenil]piperidina-1-carboxamida 4-metoxi-4-piridin-2-il-N-[4-trifluorometilbencil]piperidina-1-carboxamida 4-fluoro-N-(4-isopropilfenil)-4-(3-metilpiridin-2-il)piperidina-1-carboxamida 4-fluoro-4-(3-metilpiridin-2-il)-N-{4-[1,2,2,2-tetrafluoro-1-trifluorometil-etil]fenil}piperidina-1-carboxamida N-(4-Tert-butilfenil)-4-fluoro-4-(3-metilpiridin-2-il)piperidina-1-carboxamida 4-fluoro-4-(3-metilpiridin-2-il)-N-[4-(pentafluoro-lambda(sup 6)-sulfanil)fenil]piperidina-1-carboxamida
- 15
- 20
- 25
- 30
- 35
- 40
- 45
- N-(4-Butilfenil)-4-fluoro-4-(3-metilpiridin-2-il)piperidina-1-carboxamida N-(4-Bencilfenil)-4-fluoro-4-(3-metilpiridin-2-il)piperidina-1-carboxamida N-bifenil-4-il-4-fluoro-4-(3-metilpiridin-2-il)piperidina-1-carboxamida 4-fluoro-4-(3-metilpiridin-2-il)-N-[5-trifluorometilpiridin-2-il]piperidina-1-carboxamida 4-(3-cloropiridin-2-il)-4-fluoro-N-[4-trifluorometilfenil]piperidina-1-carboxamida 4-fluoro-4-(3-fluoropiridin-2-il)-N-[4-trifluorometilfenil]piperidina-1-carboxamida 4-fluoro-4-(3-metoxipiridin-2-il)-N-[4-trifluorometilfenil]piperidina-1-carboxamida 4-fluoro-4-(3-metilpiridin-2-il)-N-[4-trifluorometilfenil]piperidina-1-carboxamida N'-ciano-4-fluoro-4-(3-metilpiridin-2-il)-N-[4-trifluorometilfenil]piperidina-1-carboximidamida
- 4-fluoro-4-(3-metilpiridin-2-il)-N'-(1-fenilpiperidin-4-il)-N-[4-trifluorometilfenil]piperidina-1-carboximidamida 4-fluoro-4-fenil-N-[4-trifluorometilfenil]piperidina-1-carboxamida (+/-)-(syn)-4-fluoro-2-metil-4-(3-metilpiridin-2-il)-N-[4-trifluorometil-fenil]piperidina-1-carboxamida
- 50
- 55
- 4-(fluorometil)-4-piridin-2-il-N-[4-trifluorometilfenil]piperidina-1-carboxamida syn- y anti-3-fluoro-3-piridin-2-il-N-[4-trifluorometilfenil]-8-azabicyclo[3.2.1]octano-8-carboxamida 3-fluoro-3-piridin-2-il-N-[4-trifluorometilfenil]-8-azabicyclo[3.2.1]octano-8-carboxamida 4-fluoro-4-pirimidin-2-il-N-[4-trifluorometilfenil]piperidina-1-carboxamida 4-fluoro-4-(3-fenilpropil)-N-[4-trifluorometilfenil]piperidina-1-carboxamida 2-[4-fluoro-4-(3-metilpiridin-2-il)piperidin-1-il]-6-trifluorometil-1H-benzimidazol 2-(4-fluoro-4-piridin-2-il)piperidin-1-il)-6-(trifluorometil)-1H-benzimidazol 4-fluoro-N-[4-trifluorometilfenil]-4-[3-trifluorometilpiridin-2-il]piperidina-1-carboxamida 4-fluoro-N-(4-metilfenil)-4-(3-metilpiridin-2-il)piperidina-1-carboxamida N-(4-etilfenil)-4-fluoro-4-(3-metilpiridin-2-il)piperidina-1-carboxamida N-(4-clorofenil)-4-fluoro-4-(3-metilpiridin-2-il)piperidina-1-carboxamida 4-fluoro-4-(3-metilpiridin-2-il)-N-[4-trifluorometoxifenil]piperidina-1-carboxamida N-(4-cianofenil)-4-fluoro-4-(3-metilpiridin-2-il)piperidina-1-carboxamida N-[4-dimetilaminofenil]-4-fluoro-4-(3-metilpiridin-2-il)piperidina-1-carboxamida 1-(2-(3,3-dimetilbutil)-4-(trifluorometil)bencil)-3-(1-metil-1H-indazo-l-4-il)urea N-acetil-l-fenilalanil-l-leucinamida

y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

2. El inhibidor del canal iónico TRPV1 para el uso según la reivindicación 1, en el que el tratamiento de la hipertrofia cardíaca es un tratamiento profiláctico para la hipertrofia cardíaca
- 5 3. El inhibidor del canal iónico TRPV1 para el uso según la reivindicación 1, en el que un síntoma de hipertrofia cardíaca en dicho sujeto comprende remodelación cardíaca.
4. El inhibidor del canal iónico TRPV1 para el uso según la reivindicación 1, en el que un síntoma de hipertrofia cardíaca en dicho sujeto comprende fibrosis cardíaca.
5. El inhibidor del canal iónico TRPV1 para el uso según la reivindicación 1, en el que un síntoma de hipertrofia cardíaca en dicho sujeto comprende hipertensión.
- 10 6. El inhibidor del canal iónico TRPV1 para el uso según la reivindicación 1, en el que un síntoma de hipertrofia cardíaca en dicho sujeto comprende insuficiencia cardíaca.
7. El inhibidor del canal iónico TRPV1 para el uso según la reivindicación 1, en el que un síntoma de hipertrofia cardíaca en dicho sujeto comprende apoptosis.
- 15 8. El inhibidor del canal iónico TRPV1 para el uso según la reivindicación 7, en el que el inhibidor comprende (N-(4-t-butilfenil)-4-(3-cloropiridin-2-il)-tetrahidropirazina-1(2H)-carboxamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
9. El inhibidor del canal iónico TRPV1 para el uso según la reivindicación 1 o 2, en el que el inhibidor comprende (N-(4-t butilfenil)-4-(3-cloropiridin-2-il)-tetrahidropirazina-1(2H)-carboxamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 20 10. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad farmacéuticamente eficaz de un inhibidor o mezcla de inhibidores como se define en la reivindicación 1 y un portador farmacéuticamente aceptable para uso en un método de tratamiento o alivio de la progresión de la hipertrofia cardíaca en un sujeto mamífero.
- 25 11. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad farmacéuticamente eficaz de un inhibidor o mezcla de inhibidores como se define en la reivindicación 1 y un portador farmacéuticamente aceptable para usar en un método de inhibición del inicio de la hipertrofia cardíaca en un sujeto mamífero.



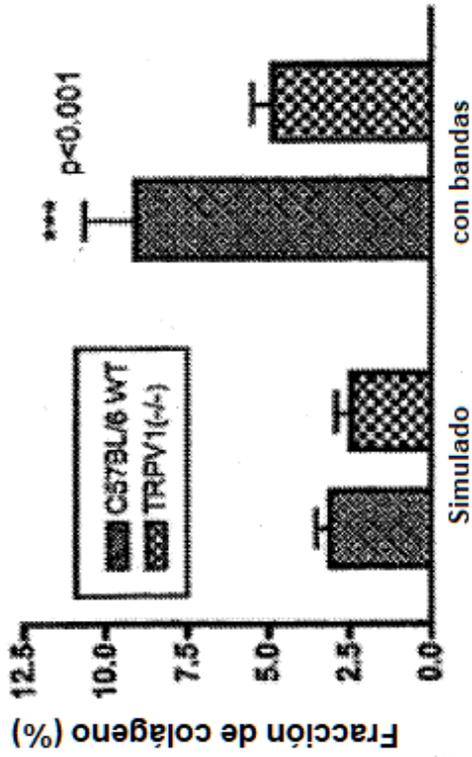


Fig. 2

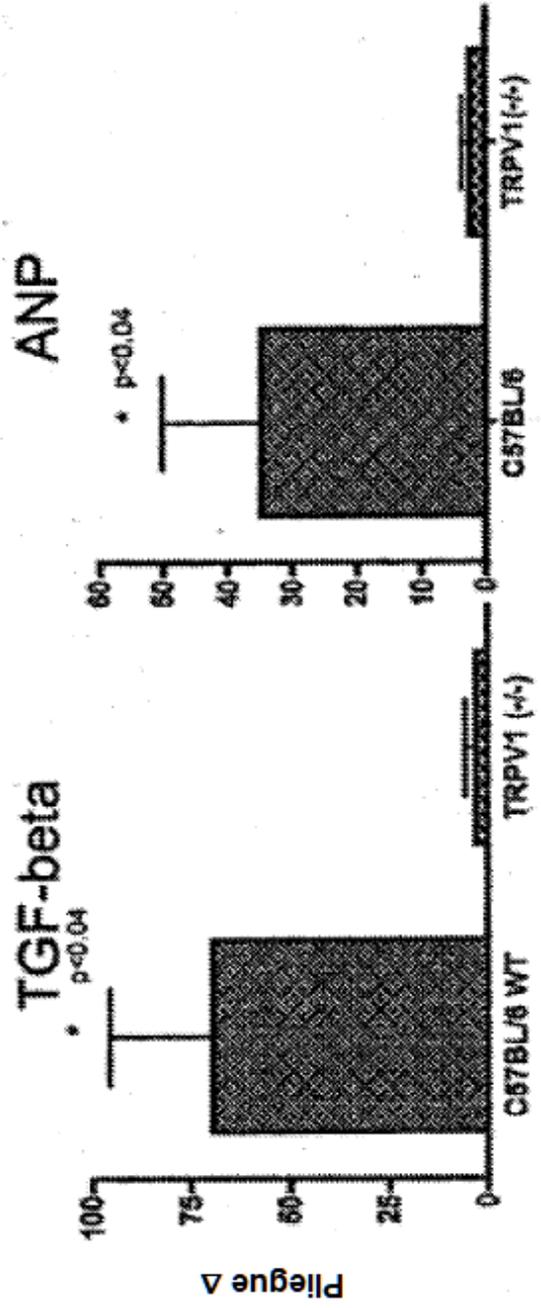


Fig. 3A

Fig. 3B

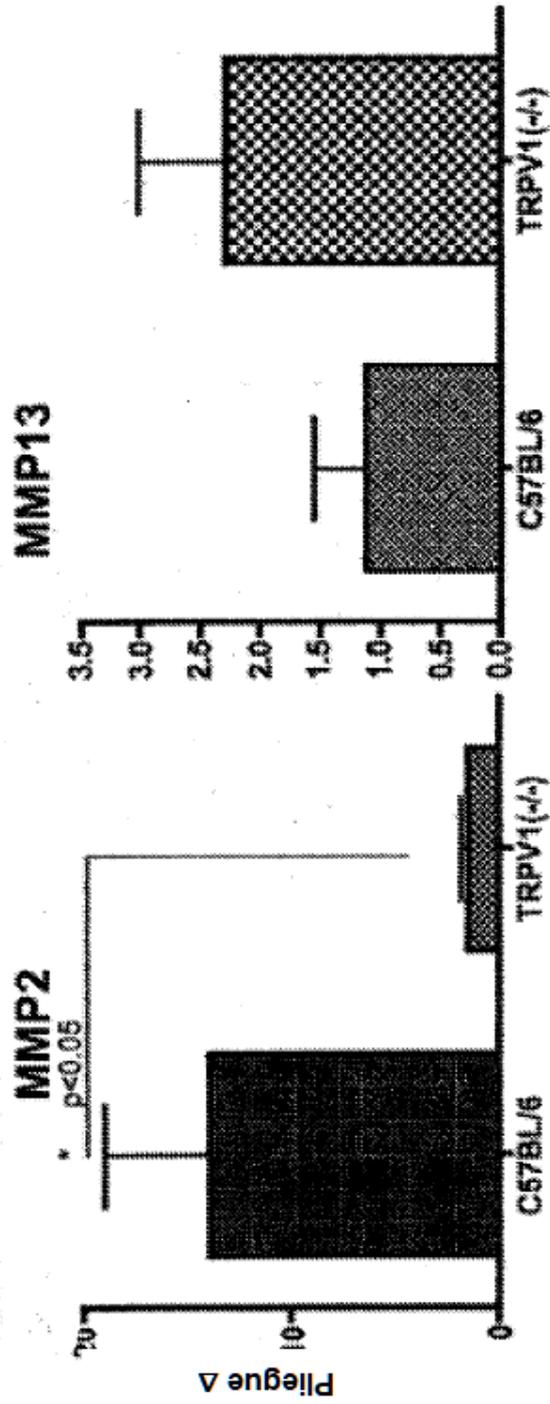


Fig. 4B

Fig. 4A

FIG. 5A

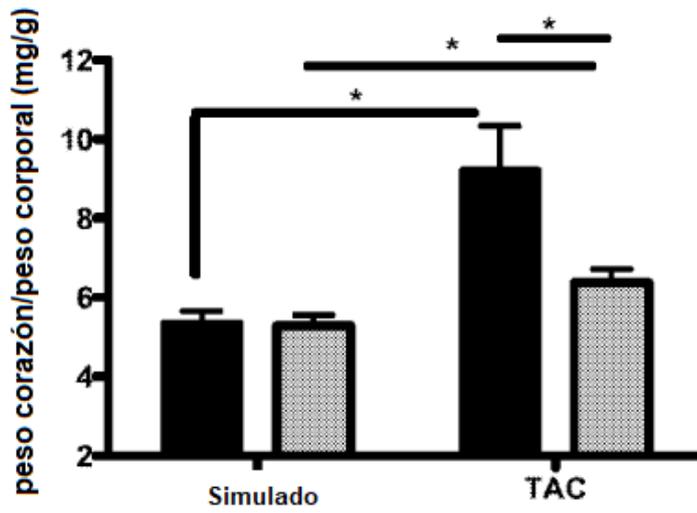


FIG. 5B

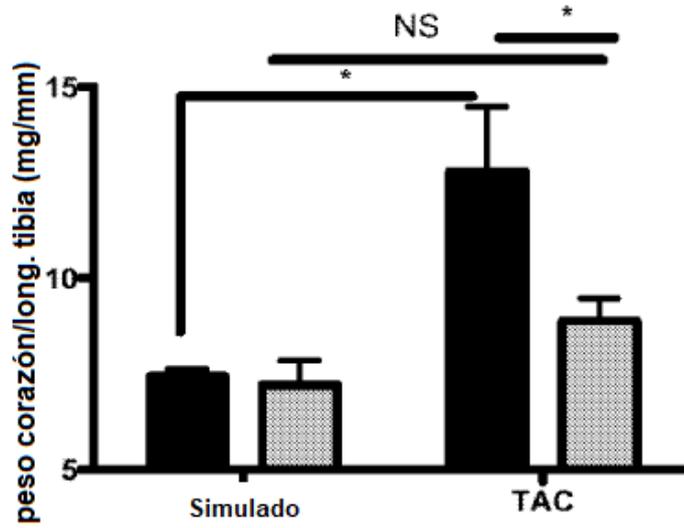


FIG. 5C

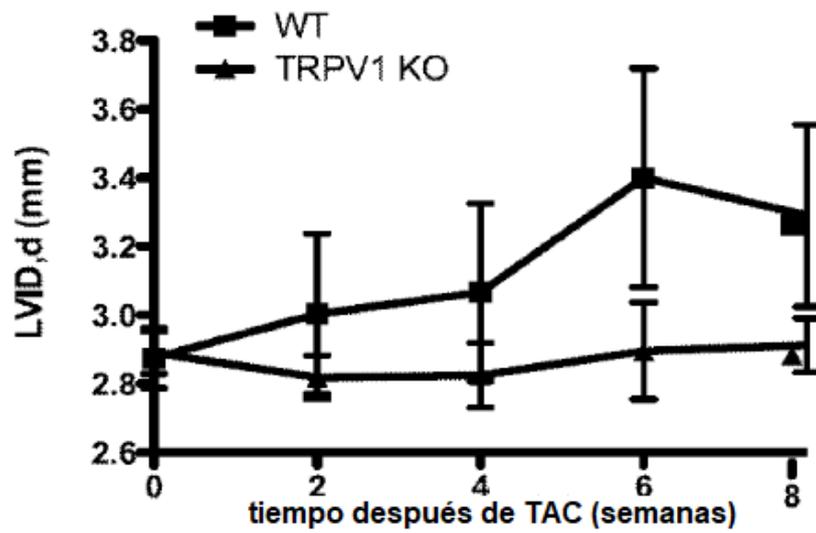


FIG. 5D

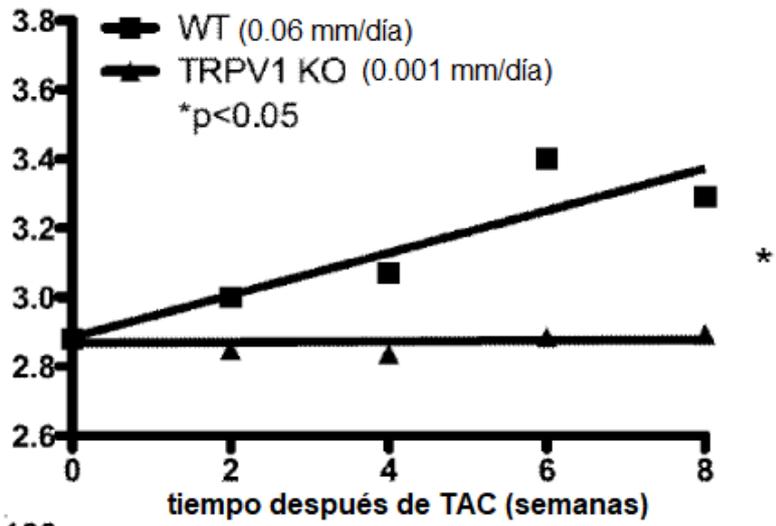


FIG. 5E

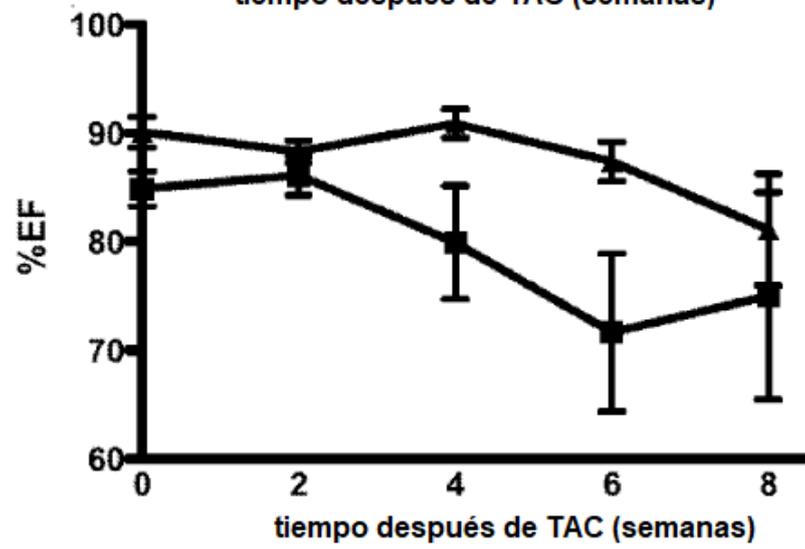
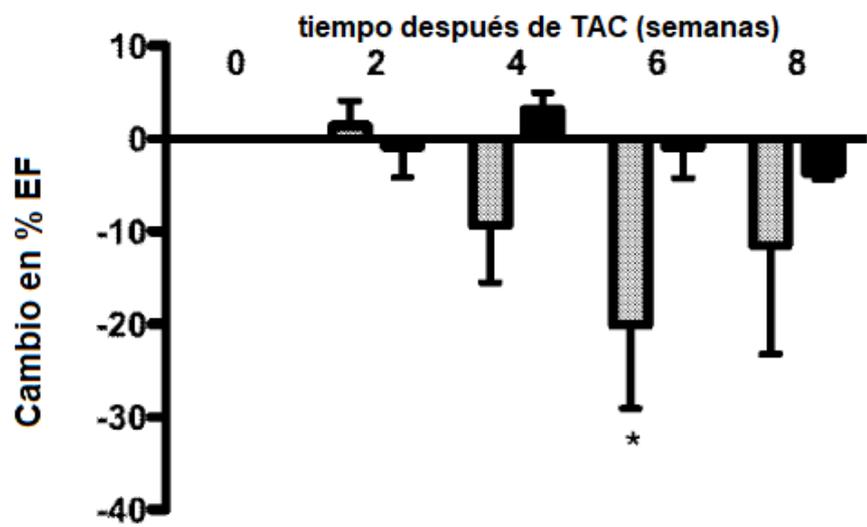


FIG. 5F



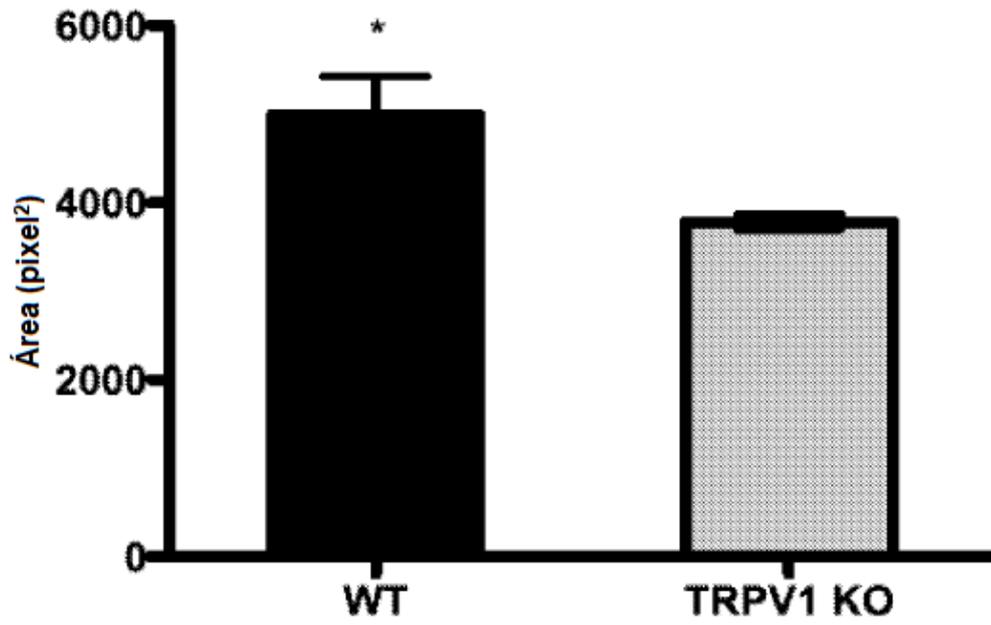


FIG. 6A

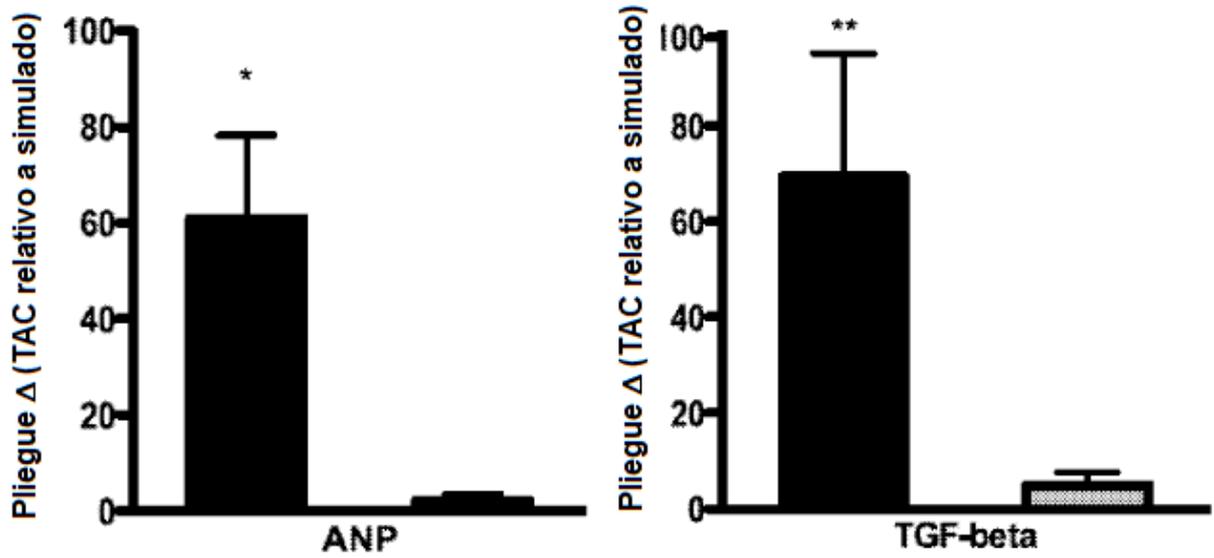


FIG. 6B

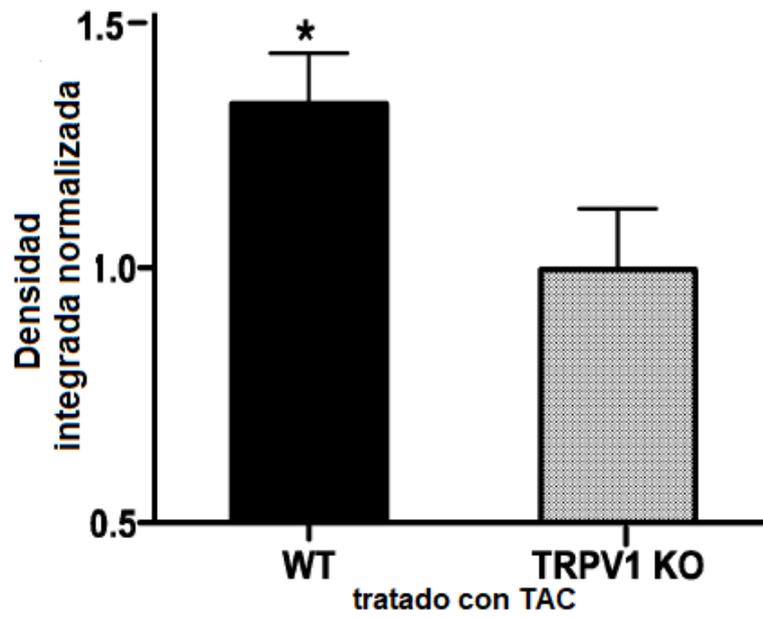


FIG. 6C

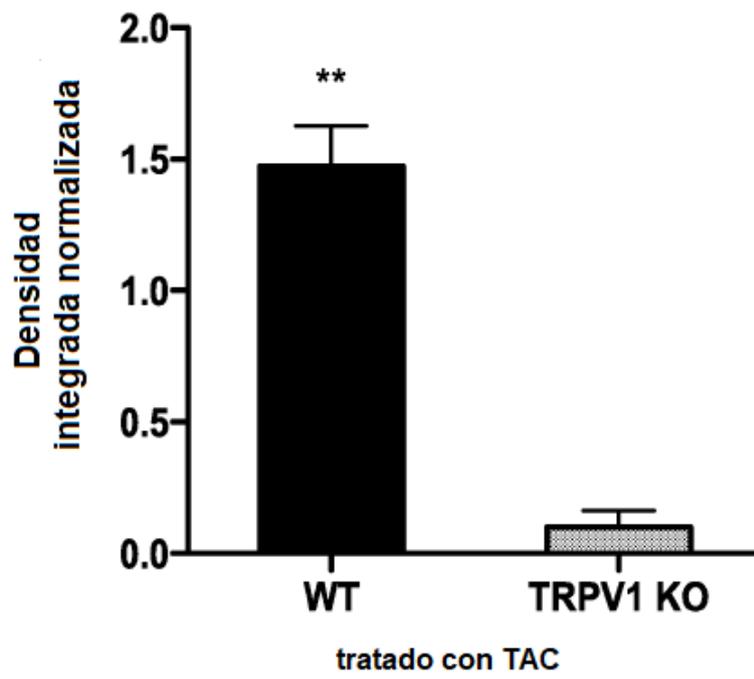


FIG. 6D

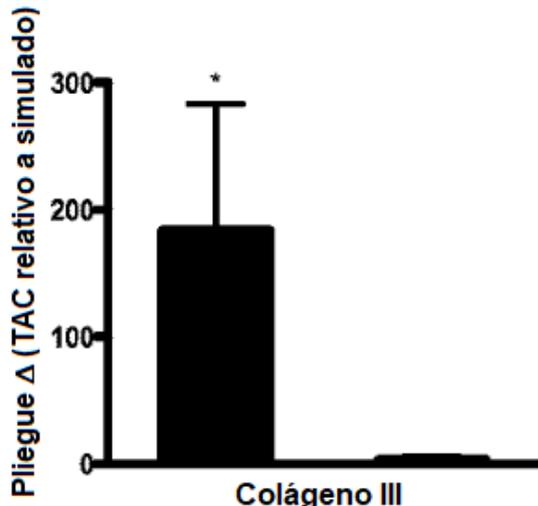


FIG. 7A

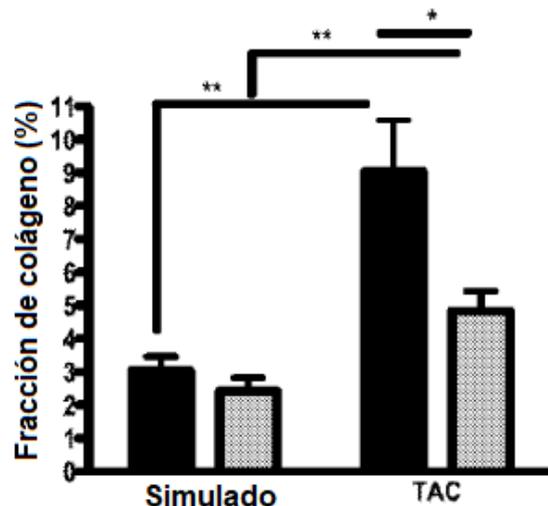


FIG. 7B

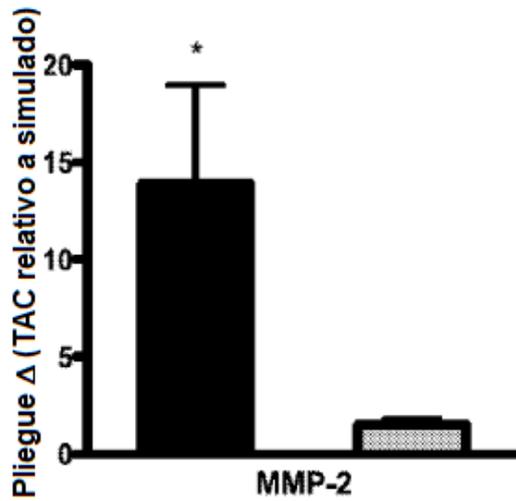


FIG. 7C

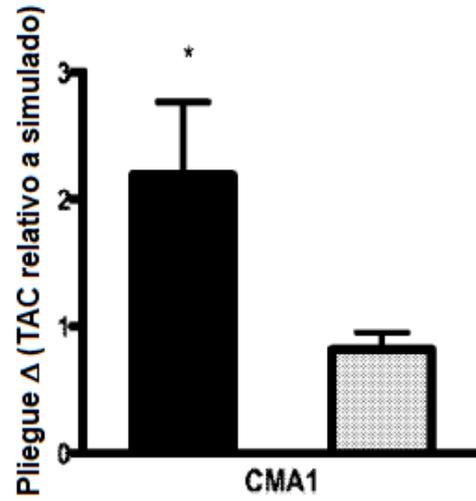


FIG. 7D

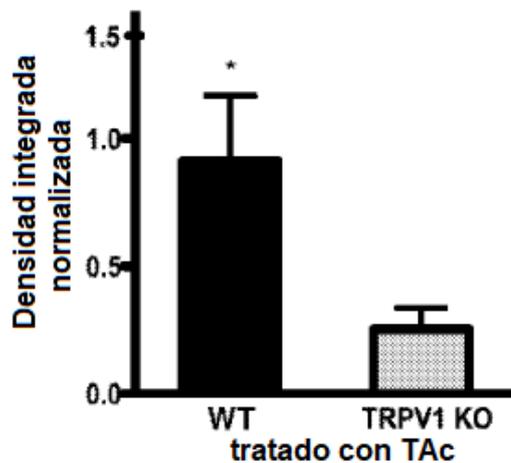


FIG. 7E

FIG. 8A

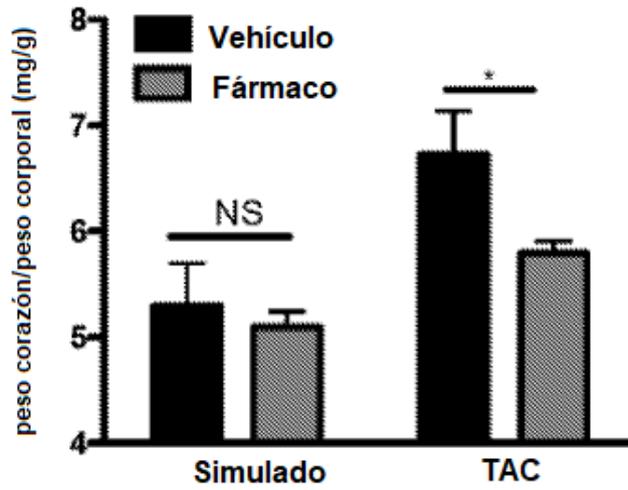


FIG. 8B

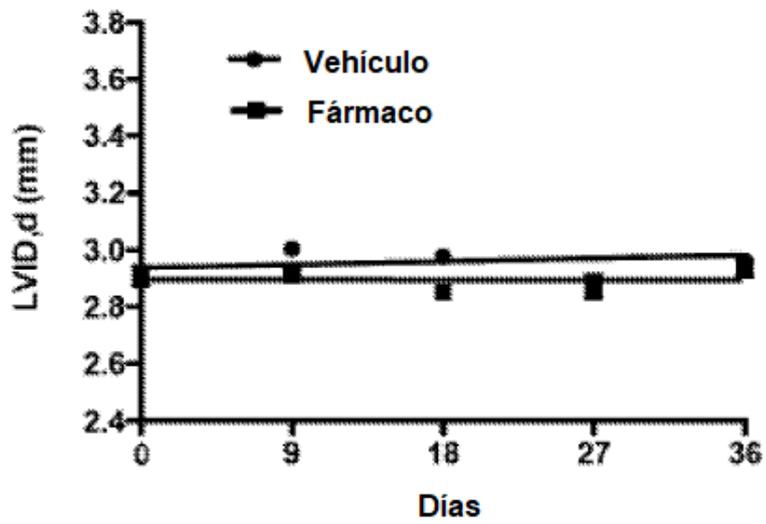


FIG. 8C

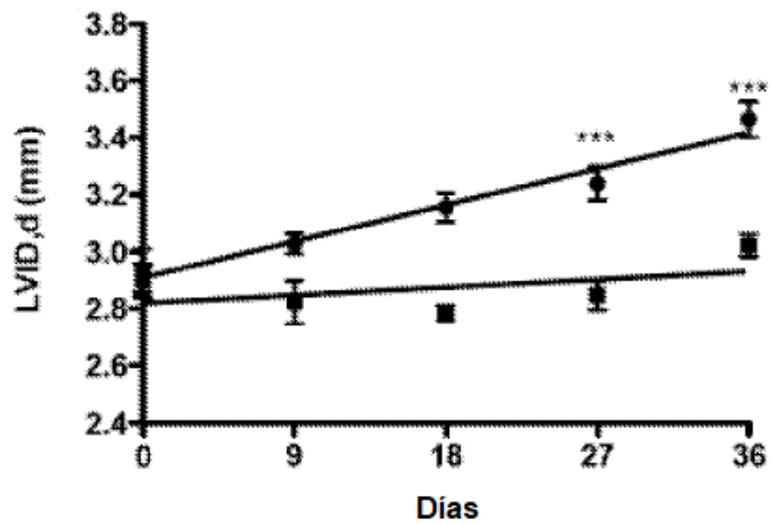


FIG. 8D

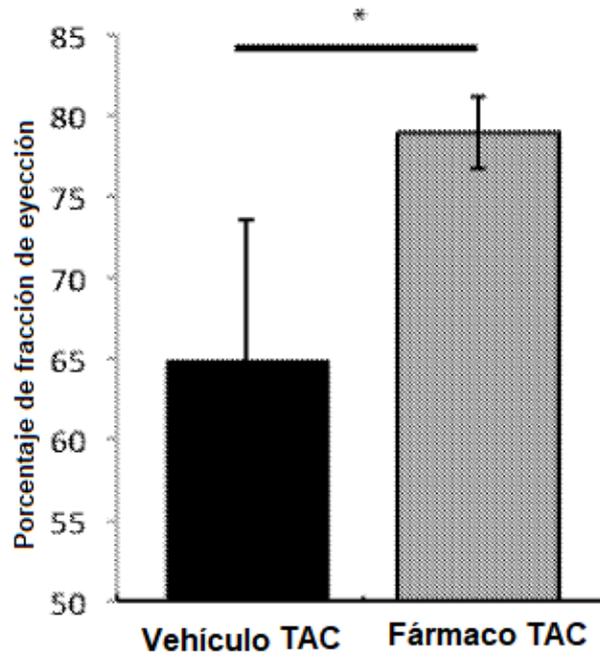
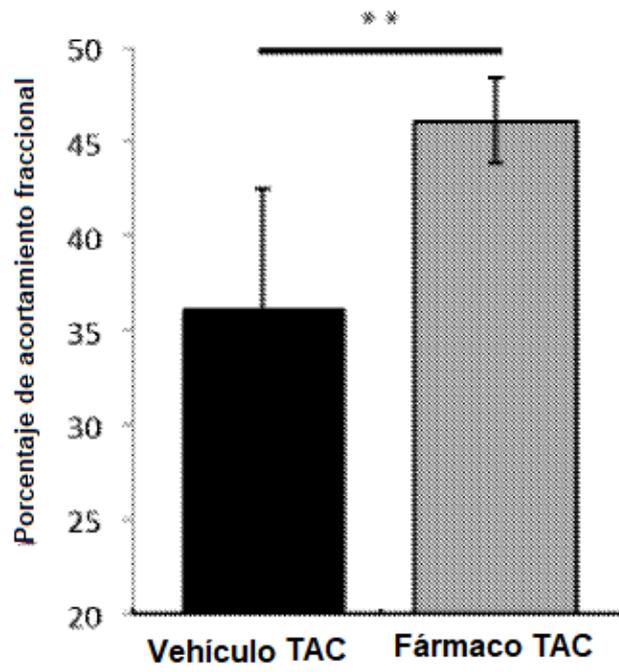


FIG. 8E



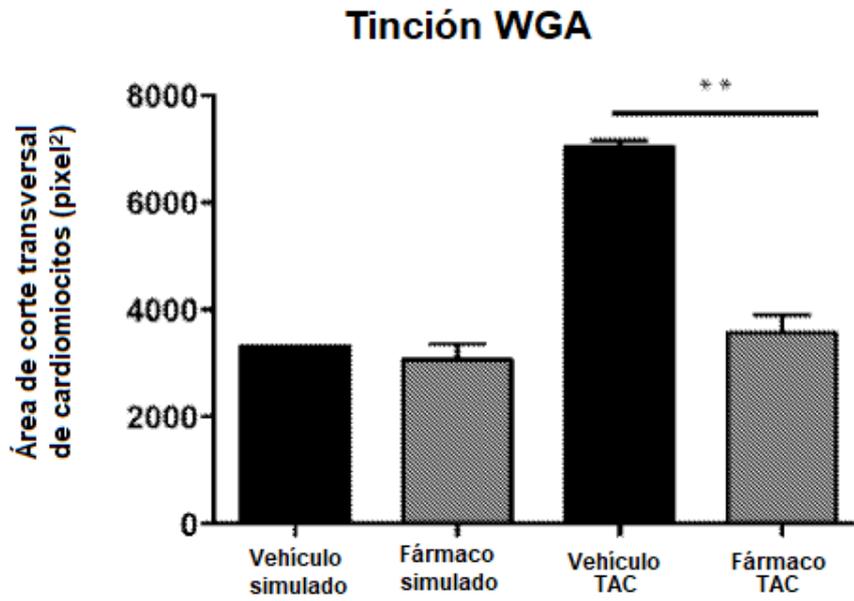


FIG. 9A

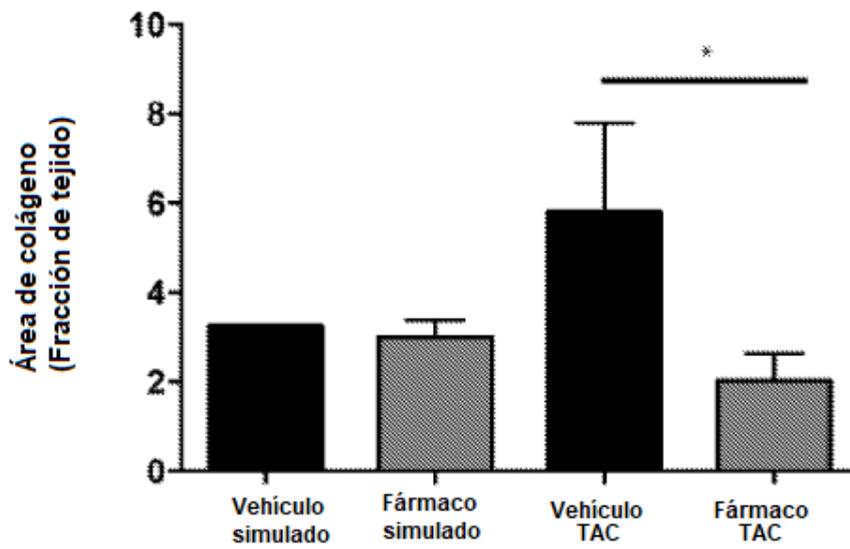


FIG. 9B