

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 692 546**

51 Int. Cl.:

A61K 31/00 (2006.01)

A61K 31/4709 (2006.01)

A61P 25/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.12.2012 PCT/US2012/069753**

87 Fecha y número de publicación internacional: **20.06.2013 WO13090722**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.12.2012 E 12806318 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.08.2018 EP 2790687**

54 Título: **Moduladores TRPC4 para usar en el tratamiento o la prevención del dolor**

30 Prioridad:

16.12.2011 US 201161576619 P

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

04.12.2018

73 Titular/es:

**POSEIDA THERAPEUTICS, INC. (100.0%)
3210 Merryfield Row
San Diego, California 92121, US**

72 Inventor/es:

**OSTERTAG, ERIC, M. y
CRAWFORD, JOHN, STUART**

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 692 546 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

Moduladores TRPC4 para usar en el tratamiento o la prevención del dolor

5 Campo y antecedentes de la invención

Los canales potenciales de receptores transitorios (TRP) de mamíferos se describen como canales de seis transmembranas (6-TM) permeables a cationes. Los canales TRP controlan el mecanismo de compuerta voltaje-dependiente de Ca²⁺, K⁺, y Cl⁻, y se caracterizan por ser canales permeables al calcio con propiedades de activación polimodal. Se piensa que la estructura de la proteína TRP es una estructura formadora de canal compuesta por seis dominios transmembrana (TM) con un dominio de poro (P) que se ubica entre el quinto (S5) y el sexto (S6) TM. Los canales TRP se activan mediante tres mecanismos principales; el receptor, el ligando y la activación ambiental directa. La activación del receptor se lleva a cabo mediante los receptores acoplados a la proteína G (GPCRs) y las tirosina quinasas, de tres maneras, lo cual resulta en la liberación de Ca²⁺ de reservorios intracelulares: hidrólisis de fosfatidilinositol (4,5) bisfosfato (PIP2), diacilglicerol (DAG) e inositol (1,4,5) trifosfato (IP3). La activación del ligando ocurre mediante pequeñas moléculas exógenas (capsaicina, icilina, 2-APB), lípidos endógenos o productos del metabolismo (diacilgliceroles), nucleótidos de purina y metabolitos (ADP-ribosa), e iones inorgánicos. Los canales TRP también se activan mediante desencadenantes ambientales tales como la temperatura ambiente.

La subfamilia TRPC se estableció mediante la identificación del primer TRP de mamífero, TRPC1. Los motivos comunes de TRPC se componen de 2-3 dominios repetidos similares a anquirina y un dominio superenrollado en el N-terminal, seguido por seis dominios transmembrana, la caja TRP del C-term y un sitio de unión de calmodulina (CaM). El dominio CaM de TRPC4 es un dominio de unión de calcio que se parece a la proteína CaM, la cual es normalmente pequeña (-140+ aminoácidos de longitud) en forma de mancuernas, compuesto por dos dominios globulares estructuralmente similares separados por una hélice central de bisagra flexible. Los dominios globulares son homólogos y contienen pares de motivos hélice-lazo-hélice de unión al Ca²⁺, que se refieren como motivos de mano EF. El mecanismo típico de unión del calcio ocurre en estos motivos de mano EF, los cuales están compuestos por dos α -hélices unidas a un lazo de 12-residuos. Los dominios de mano EF se exponen a efectores y dianas mediante cambios conformacionales de las proteínas. Las regiones hidrófobas expuestas en su momento se unen a hélices anfífilicas (hélices BAA). La bisagra de CaM permite a las proteínas que albergan un dominio CaM contactar y activar dianas (Figura 1). CaM está altamente conservado en animales y plantas y actúa en muchas dianas, que incluyen los canales iónicos.

TRPC5 se expresa homoméricamente y también heteroméricamente en complejos con TRPC4. TRPC4 y TRPC5 son altamente homólogos, y se expresan mucho en células del cerebro humano, útero, ovario y riñón. TRPC4 es un canal catiónico no selectivo que se activa únicamente mediante los GPCRs de la familia Gq/11 a través de la activación de PLC β , y receptores quinasas y receptores tirosina quinasas. Aunque algunos estudios han mostrado que la activación de TRPC4 requiere la actividad de fosfolipasa C (PLC), ni IP3 ni DAG son suficientes para activar TRPC4. TRPC4 contiene un motivo de unión PDZ. Los dominios PDZ son motivos estructurales comunes que ayudan a las proteínas en la señalización y anclaje de las proteínas transmembrana al citoesqueleto. Las proteínas adaptadoras del dominio PDZ, así como también las moléculas de señalización, coimmunoprecipitan con TRPC4. El dominio PDZ es un dominio estructural común de 80-90 aminoácidos que se encuentra en las proteínas de señalización de bacterias, levaduras, plantas, virus y animales. PDZ es un acrónimo que combina la primera letra de tres proteínas-proteína de densidad post sináptica (PSD95), disco supresor de tumores grandes de *Drosophila* (DlgA), y proteína de zónula ocludens-1 (zo-1)- que fueron los primeros que se descubrió que compartían el dominio. Los dominios PDZ también se refieren como DHR (región homóloga Dlg) o dominios GLGF (glicina-leucina-glicina-fenilalanina). Estos dominios ayudan a anclar las proteínas transmembrana al citoesqueleto y mantienen juntos los complejos de señalización.

Casi todos los tipos celulares examinados contienen al menos un canal TRP. Esta gran familia de canales fisiológicos importantes se ha implicado en muchas enfermedades humanas. La mayoría de los canales TRP se conservan en ratones, ratas y humanos. Los estudios con ratones con desactivación génica han probado ser perceptivos para determinar las funciones de los canales TRP. *Los ratones carentes de Trpc2* son incapaces de distinguir las contrapartes masculinas o femeninas y *TRPV6* es de regulación positiva en el cáncer de próstata. Los transcritos de TRPC4 y la proteína se expresan en cultivos primarios de células vasculares endoteliales de ratón (MAECs) y los canales pueden activarse mediante protocolos de depleción de almacenamiento en MAECs. En los ratones carentes de *Trpc4*, se reduce significativamente la entrada de Ca²⁺ inducida por agonista. *Los ratones Trpc4^{-/-}* muestran una disminución significativa de la vasorelajación dependiente de endotelio en los vasos sanguíneos. Los ratones carentes de *Trpc4* muestran una disminución de la permeabilidad microvascular, y se les altera la liberación del transmisor GABA desde las interneuronas talámicas. Aunque *TRPC4* se expresa en el sistema nervioso, previamente no se ha validado como una diana para el dolor neuropático y no había inhibidores específicos conocidos para el canal.

La proteína TRPC4 humana contiene múltiples dominios anquirina a través y dentro del N-terminal junto con un dominio superenrollado. El N-terminal de TRPC4 es muy importante para el ensamblaje de la subunidad y para la

formación del poro. Hay dos regiones en el N-terminal que son esenciales para el ensamblaje del canal en los canales TRPC y más específicamente en TRPC4; las repeticiones de anquirina tercera y cuarta y la región aguas abajo del dominio superenrollado. Las repeticiones de anquirina segunda y tercera se representan mediante F59-S137 en TRPC4. Ambos dominios son capaces de asociarse por sí mismos, pero no se ha demostrado que interactúen entre sí. Los últimos 18 aminoácidos de la región aguas abajo del dominio superenrollado se representan en TRPC4 por 287-A RLKLAIKYRQKEFVAP-304, y en TRPC6 por 363-SRLKLAIK YEVKKFVAHP-380. Se ha identificado que estos péptidos están involucrados en el ensamblaje del canal de TRPC y más específicamente de TRPC4. Hay dos dominios en la proteína TRPC4 que son responsables de la oligomerización. El primer dominio contiene las repeticiones de anquirina N-term en el dominio superenrollado (M1-P304) y el segundo dominio corresponde a la región putativa del poro y la cola C-terminal (1516-L974). Existen dos modelos en los cuales el canal TRPC4 se hace funcional al ensamblar la subunidad. Un modelo es que la tercera repetición de anquirina inicia un proceso molecular de cremallera. En este modelo cada dominio que interactúa tendrá la capacidad de tetramerizar. En otro modelo, el primer dominio de interacción forma un dímero entre dos subunidades y el segundo dominio es responsable de la formación de un dímero entre las otras dos subunidades. El N-terminal tanto de TRPC4 como de TRPC5 que incluyen al menos la primera repetición de anquirina, son esenciales para los ensamblajes de subunidades homo y hetero. La formación del poro homo y heteromérico de la proteína TRPC4 es crítica para la función proteica; por lo tanto, los agentes que bloquean la formación multimérica de TRPC4 son candidatos razonables como inhibidores de la proteína TRPC4.

El dolor neuropático es una enfermedad crónica resultante de una disfunción del sistema nervioso. Esta disfunción del sistema nervioso a menudo ocurre debido a daño de los nervios periféricos concentrados en las neuronas sensitivas de los ganglios de las raíces dorsales (DRG). La función nerviosa anormal surge a partir de los axones dañados, y a partir de los nociceptores intactos que comparten la receptividad con el nervio dañado. Las condiciones patológicas incluyen hiperalgesia prolongada, alodinia y pérdida de la función sensitiva. La presentación clásica del dolor neuropático incluye un dolor omnipresente que no tiene explicación de otra manera, defectos sensitivos, dolor quemante, dolor ante la luz en la piel y ataques súbitos de dolor sin una causa clara. La inflamación y el trauma son las causas principales del daño a los nervios. Los desórdenes genéticos que causan distorsión de la conectividad, de la estructura o de la supervivencia de las neuronas también pueden resultar en dolor neuropático.

La publicación internacional núm. WO2011/022638 describe el uso de los inhibidores de TRPC4 en el tratamiento del dolor, en particular, del dolor neuropático. En ese sentido, se han descrito específicamente los análogos trivalentes del lantano o siRNA contra TRPC4.

Breve resumen de la invención

Se describen métodos para tratar, reducir o prevenir el dolor en un mamífero, que comprende la administración de un compuesto como se describe en la presente descripción. En un aspecto, el compuesto debe ser capaz de modular un canal potencial de receptor transitorio, por ejemplo, TRPC4.

Las ventajas adicionales de la invención se expondrán en parte en la descripción que sigue, y en parte serán evidentes a partir de la descripción, o pueden aprenderse al llevar a la práctica la invención. Las ventajas de la invención se comprenderán y conseguirán por medio de los elementos y las combinaciones particularmente destacadas en las reivindicaciones

adjuntas. Se debe entender que la descripción general anterior y la siguiente descripción detallada son solamente ilustrativas y explicativas y no son restrictivas de la invención, como se reivindica.

Descripción detallada de la invención

Definiciones

La presente invención puede entenderse más fácilmente con referencia a la siguiente descripción detallada de modalidades preferidas de la invención y cualquiera de los ejemplos incluidos en la misma y a cualquiera de las figuras y su descripción. Aunque cualquiera de los métodos y materiales similares o equivalentes a aquellos descritos en la presente descripción pueden usarse en la práctica o en las pruebas de la presente invención, ahora se describen los métodos, dispositivos, y materiales preferidos. Nada debe interpretarse en la presente descripción como una admisión de que la invención no tiene derecho a preceder dicha descripción en virtud de una invención anterior.

Antes de que los presentes compuestos, composiciones, artículos, dispositivos, y/o métodos se divulguen y describan, se debe entender que esta descripción no se limita a métodos sintéticos específicos o a métodos específicos de biotecnología recombinante, a menos que se especifique de otra manera, o para reactivos particulares a menos que se especifique de otra manera, de modo que pueden, por supuesto, variar. También debe entenderse que la terminología que se usa en la presente descripción es para el propósito de esta descripción solamente y no pretende ser limitante.

En esta especificación y en las reivindicaciones que siguen se hará referencia a un número de términos los cuales se definirán con los siguientes significados:

5 Como se usa en la especificación y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una", y "el/la" incluyen referentes plurales a menos que el contexto lo indique claramente de otra forma. Así, por ejemplo, la referencia a "un portador farmacéutico" incluye mezclas de dos o más portadores, y similares.

10 Los intervalos pueden expresarse en la presente descripción como de "aproximadamente" un valor particular y/o a "aproximadamente" otro valor particular. Cuando se expresa un intervalo de este tipo, otra modalidad incluye desde un valor particular y/o hasta otro valor particular. De manera similar, cuando los valores se expresan como aproximaciones, mediante el uso del antecedente "aproximadamente" se entenderá que el valor particular forma otra modalidad. Se entenderá, además, que los criterios de valoración principal de cada uno de los intervalos son significativos tanto en relación con el otro criterio de valoración principal, e independientemente del otro criterio de valoración principal.

15 El término "alquilo" como se usa en la presente descripción se refiere a un hidrocarburo saturado lineal o ramificado, tal como un grupo lineal o ramificado de 1-22, 1-8, o 1-6 átomos de carbono, referidos en la presente descripción como alquilo(C1-C22), alquilo(C1-C8), y alquilo(C1-C6), respectivamente. Los grupos alquilo ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, propilo, isopropilo, 2-metil-1-propilo, 2-metil-2-propilo, 2-metil-1-butilo, 3-metil-1-butilo, 2-metil-3-butilo, 2,2-dimetil-1-propilo, 2-metil-1-pentilo, 3-metil-1-pentilo, 4-metil-1-pentilo, 2-metil-2-pentilo, 3-metil-2-pentilo, 4-metil-2-pentilo, 2,2-dimetil-1-butilo, 3,3-dimetil-1-butilo, 2-etil-1-butilo, butilo, isobutilo, t-butilo, pentilo, isopentilo, neopentilo, hexilo, heptilo, octilo, etc.

25 El término "arilo" como se usa en la presente descripción se refiere a un sistema de anillo aromático mono-, bi-, u otro multi carbocíclico. El grupo arilo puede opcionalmente fusionarse a uno o más anillos que se seleccionan entre arilos, cicloalquilos y heterociclos. Los grupos arilo pueden sustituirse con grupos que seleccionan entre alcoxi, ariloxi, alquilo, alqueno, alquino, amida, amino, arilo, arilalquilo, carbamato, carboxilo, ciano, cicloalquilo, éster, éter, formilo, halógeno, haloalquilo, heteroarilo, heterociclo, hidroxilo, cetona, nitro, fosfato, sulfido, sulfinilo, sulfonilo, ácido sulfónico, sulfonamida y tiocetona. Los ejemplos de grupos arilo incluyen, pero no se limitan a, fenilo, tolo, antraceno, fluoreno, indeno, azuleno, y naftilo, así como porciones carbocíclicas benzo-fusionadas tal como 5,6,7,8-tetrahidronaftilo. Los ejemplos de grupos arilo también incluyen, pero no se limitan a, un sistema de anillo aromático monocíclico, en donde el anillo comprende 6 átomos de carbono, que se refieren en la presente descripción como "arilo(C6)."

35 Los grupos "alquilo," "alqueno," "alquino," "alcoxi," "amino," y "amida" pueden sustituirse por o interrumpirse por o ramificarse con al menos un grupo que se selecciona entre alcoxi, ariloxi, alquilo, alqueno, alquino, amida, amino, arilo, arilalquilo, carbamato, carboxilo, ciano, cicloalquilo, éster, éter, formilo, halógeno, haloalquilo, heteroarilo, heterociclo, hidroxilo, cetona, nitro, fosfato, sulfido, sulfinilo, sulfonilo, ácido sulfónico, sulfonamida, tiocetona, ureido, y nitrógeno. Los sustituyentes pueden ser ramificados para formar un heterociclo o cicloalquilo sustituido o no sustituido.

40 Los "agonistas" son moléculas o compuestos que estimulan una o más de las propiedades biológicas de un receptor. Estos pueden incluir, pero no se limitan a, pequeñas moléculas orgánicas e inorgánicas, péptidos, peptidomiméticos y anticuerpos agonistas. El término "antagonista" se usa en sentido amplio y se refiere a cualquier molécula o compuesto que bloquea, inhibe o neutraliza, ya sea parcial o completamente, una actividad biológica mediada por un receptor mediante la prevención de la unión de un agonista. Los antagonistas pueden incluir, pero no se limitan a, pequeñas moléculas orgánicas e inorgánicas, péptidos, peptidomiméticos y anticuerpos neutralizantes.

50 Como se usa en la presente descripción, los términos "que comprende," "que contiene," "que tiene" y "que incluye" se usan en su sentido abierto, no limitado.

Como se usa en la presente descripción, una "cantidad efectiva" generalmente es la dosis mínima necesaria para lograr el efecto deseado al "tratar, reducir, o prevenir el dolor," como se define más abajo.

55 "Potenciar" como se usa en la presente descripción, incluye cualquier aumento en la actividad funcional de los canales iónicos.

60 "Opcional" u "opcionalmente" significa que el evento o circunstancia subsecuentemente descrito puede o no ocurrir, y que la descripción incluye casos donde dicho evento o circunstancia ocurre y casos en los que no lo hace.

65 "Dolor" significa una experiencia sensitiva que percibe el tejido nervioso, y que es diferente de las sensaciones de tacto, presión, calor y frío. El intervalo de las sensaciones de dolor, así como también la variación individual en la percepción del dolor, hace casi imposible una definición exacta de dolor. En el contexto de la presente descripción, "dolor" se usa en el sentido más amplio posible e incluye el dolor nociceptivo, tal como el dolor que se relaciona con el daño tisular y a la inflamación, el dolor que se relaciona con estímulos nocivos, dolores agudos, dolores crónicos y el dolor neuropático.

El nivel de estimulación al cual empieza a percibirse el dolor se refiere como "umbral del dolor." Los analgésicos son agentes farmacéuticos que alivian el dolor mediante el aumento del umbral del dolor, sin pérdida de conciencia. Después de la administración de un fármaco analgésico, se requiere un estímulo de mayor intensidad o de mayor duración antes de que experimente el dolor. En un individuo que sufre de hiperalgesia, un fármaco analgésico puede tener un efecto antihiperalgésico. En contraste con los analgésicos, agentes tales como los anestésicos locales bloquean la transmisión en las fibras de los nervios periféricos, con el consiguiente bloqueo de la percepción de dolor. Los anestésicos generales, por otra parte, reducen la percepción de dolor mediante la pérdida de la conciencia.

El "dolor agudo" a menudo es de corta duración, con una causa y un propósito específicos; generalmente no produce reacciones psicológicas persistentes. El dolor agudo puede ocurrir durante el daño a los tejidos blandos, y con la infección e inflamación. Puede modularse y eliminarse mediante el tratamiento de su causa y a través de estrategias combinadas mediante el uso de analgésicos para tratar el dolor y antibióticos para tratar la inflamación.

El "dolor crónico" es inconfundiblemente diferente y más complejo que el dolor agudo. El dolor crónico no tiene límite de tiempo, a menudo no tiene causa aparente y no tiene un propósito biológico aparente. El dolor crónico puede desencadenar múltiples problemas psicológicos que confunden tanto al paciente como a quien lo trata, lo cual conduce a sentimientos de desamparo y desesperanza. Las causas más comunes de dolor crónico incluyen el dolor de la columna lumbosacra, cefaleas, dolores faciales recurrentes, dolor que se asocia al cáncer y dolores artríticos.

El dolor que es producto de daño a las estructuras neurales a menudo se manifiesta como una supersensitividad o hiperalgesia, y se denomina dolor "neuropático". El dolor también puede ser producto de la estimulación de receptores nociceptivos y transmitirse sobre vías neurales intactas, tal dolor se denomina "nociceptivo". Los métodos que se describen en la presente descripción pueden usarse para tratar el dolor neuropático. El dolor neuropático típicamente es de larga duración o crónico, y puede desarrollarse en días o meses a continuación de un daño tisular agudo. Los síntomas del dolor neuropático pueden involucrar dolor persistente, espontáneo, así como también alodinia, lo cual es una respuesta dolorosa a un estímulo que normalmente no es doloroso, hiperalgesia, una respuesta acentuada a un estímulo doloroso que usualmente causa una incomodidad leve, tal como el pinchazo de un alfiler, o hiperpatía, una incomodidad corta que se convierte en un dolor severo prolongado.

El dolor neuropático generalmente es resistente a la terapia con opioides. El dolor neuropático puede distinguirse del dolor nociceptivo o "dolor normal," que es el dolor producto del procesamiento normal de los estímulos que resultan del daño agudo tisular. En contraste con el dolor neuropático, el dolor nociceptivo usualmente se limita en duración al período de reparación tisular y usualmente puede aliviarse mediante analgésicos opioides y no opioides.

El dolor visceral, como se usa en la presente descripción, significa que el dolor proviene de los órganos internos. El dolor visceral tiene cinco características clínicas importantes: (1) no es evocado por todas las vísceras (órganos como el hígado, riñones, la mayoría de las vísceras sólidas, y parénquima pulmonar, no son sensitivos al dolor); (2) no siempre se vincula al daño visceral (cortar el intestino no causa dolor y es un ejemplo de daño visceral sin dolor acompañante, mientras que el estiramiento de la vejiga es doloroso y es un ejemplo de dolor sin daño); (3) es difuso y difícil de localizar; (4) se refiere a otras localizaciones; y (5) se acompaña de reflejos motores y autonómicos, tales como náusea, vómitos, y tensión muscular de la columna lumbosacra que ocurre en el dolor renal. Lancet. 1999 Jun 19;353(9170):2145-8.

"Modulación", como se usa en la presente descripción, incluye cualquier efecto de los canales iónicos sobre la actividad funcional. Esto incluye el bloqueo de la actividad inhibitoria del canal en presencia de, o en respuesta a, un estímulo apropiado. Alternativamente, los moduladores pueden potenciar la actividad del canal.

El término "composición farmacéutica aceptable" como se usa en la presente descripción se refiere a una composición que comprende al menos un compuesto descrito en la presente descripción, que se formula junto con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables.

Como se usa en la presente descripción, el término "farmacéuticamente aceptable" se refiere a cualquier entidad molecular o composición que no produce una reacción adversa, alérgica u otra reacción inapropiada o no deseada cuando se administra a un humano u otro mamífero.

El término "sal(es) farmacéuticamente aceptable(s)" se refiere a sales de grupos ácidos o básicos que pueden estar presentes en los compuestos que se usan en las presentes composiciones. Los compuestos que se incluyen en las presentes composiciones que son de naturaleza básica son capaces de formar una amplia variedad de sales con varios ácidos inorgánicos y orgánicos. Los ácidos que pueden usarse para preparar sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables de tales compuestos básicos son aquellos que forman sales de adición ácida no tóxicas, es decir, sales que contienen aniones farmacológicamente aceptables, que incluyen, pero no se limitan a, sulfato, citrato, malato, acetato, oxalato, cloruro, bromuro, yoduro, nitrato, sulfato, bisulfato, fosfato, fosfato ácido, isonicotinato, acetato, lactato, salicilato, citrato, tartrato, oleato, tanato, pantotenato, bitartrato, ascorbato, succinato, maleato, genticinato, fumarato, gluconato, glucaronato, sacarato, formato, benzoato, glutamato, metanosulfonato, etanosulfonato, bencenosulfonato, p-toluenosulfonato y pamoato (es decir, sales de 1,1'-metilen-bis-(2-hidroxi-3-naftoato)). Los compuestos que se incluyen en las presentes composiciones que incluyen una porción amino pueden

5 formar sales farmacéuticamente aceptables con varios aminoácidos, además de los ácidos que se mencionaron anteriormente. Los compuestos que se incluyen en las presentes composiciones que son de naturaleza ácida son capaces de formar sales de bases con varios cationes farmacológicamente aceptables. Ejemplos de tales sales incluyen sales de metales alcalinos o metales alcalinotérreos y, particularmente, sales de calcio, magnesio, sodio, litio, zinc, potasio, y hierro.

10 Los compuestos de la descripción pueden contener uno o más centros quirales y/o enlaces dobles y, por lo tanto, existen como estereoisómeros, tales como isómeros geométricos, enantiómeros o diastereómeros. El término "estereoisómeros" cuando se usa en la presente descripción consiste en todos los isómeros geométricos, enantiómeros o diastereómeros. Estos compuestos pueden designarse por los símbolos "R" o "S," en dependencia de la configuración de los sustituyentes alrededor del átomo de carbono estereogénico. Se describen varios estereoisómeros de estos compuestos y sus mezclas. Los estereoisómeros incluyen enantiómeros y diastereómeros. Las mezclas de los enantiómeros o diastereómeros se pueden designar "(±)" en la nomenclatura, pero el técnico experto reconocerá que una estructura puede denotar un centro quiral implícitamente.

15 Como se usa en la presente descripción, el término "sujeto" significa cualquier mamífero u otro vertebrado en el cual se desea la modulación del dolor, por ejemplo, un humano, primate, caballo, vaca, perro, gato o pájaro.

20 Los sustituyentes alrededor de un doble enlace carbono-carbono pueden referirse alternativamente como "cis" o "trans," donde "cis" representa los sustituyentes en el mismo lado del doble enlace y "trans" representa los sustituyentes en lados opuestos del doble enlace. La disposición de los sustituyentes alrededor de un anillo carboxílico se denomina "cis" o "trans." El término "cis" representa a los sustituyentes en el mismo lado del plano del anillo, y el término "trans" representa los sustituyentes en los lados opuestos del plano del anillo. Las mezclas de los compuestos en donde los sustituyentes se disponen tanto en el mismo lado como en los lados opuestos del anillo se designan como "cis/trans."

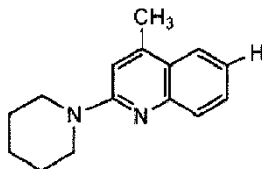
25 Como se usa en la presente descripción, un "sustituyente adecuado" se refiere a un grupo que no anula la utilidad sintética o farmacéutica de los compuestos que se describen o los intermediarios útiles para prepararlos. Ejemplos de sustituyentes adecuados incluyen, pero no se limitan a: C1-22, C1-8, y C1-6 alquilo, alquenilo o alquinilo; C1-6 arilo, C2-5 heteroarilo; C3-7 cicloalquilo; C1-22, C1-8, y C1-6 alcoxi; C6 ariloxi; -CN; -OH; oxo; halo, carboxi;

30 amino, tales como -NH(C1-22, C1-8, o C1-6 alquilo), -N(C1-22, C1-8, y C1-6 alquilo)₂, -NH((C6)arilo), o -N((C6)arilo)₂; formilo; cetonas, tales como -CO(C1-22, C1-8, y C1-6 alquilo), -CO((C6)arilo) ésteres, tales como -CO₂(C1-22, C1-8, y C1-6 alquilo) y -CO₂ (C6 arilo). Una persona experta en la técnica puede escoger fácilmente un sustituyente adecuado basado en la estabilidad y en la actividad farmacológica y sintética de un compuesto.

35 Por "tratar, reducir, o prevenir el dolor" se entiende la prevención, reducción, la demora del inicio de, o la eliminación de la sensación de dolor en un sujeto antes, durante o después que ha ocurrido. En comparación con un control equivalente no tratado, tal reducción o grado de prevención es al menos 5 %, 10 %, 20 %, 40 %, 50 %, 60 %, 80 %, 90 %, 95 %, o 100 % medida mediante cualquier técnica estándar conocida en la técnica. Para tratar el dolor, el tratamiento no necesariamente proporciona una terapia para la patología subyacente que es la causante de la sensación de dolor. El tratamiento del dolor puede ser puramente sintomático.

45 Mientras se discuten configuraciones específicas y métodos, debe entenderse que esto se hace con solamente con propósitos ilustrativos.

50 En un primer aspecto de la invención, se proporciona un compuesto farmacéutico que comprende 4-metil-2-piperidin-1-il-quinolina que tiene la fórmula



55 para usar en la reducción o prevención del dolor en un mamífero mediante la modulación de la actividad de TRPC4, en donde el dolor se selecciona entre agudo, crónico, neuropático, nociceptivo y dolor visceral, o sus combinaciones.

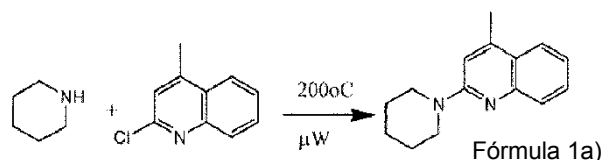
60 Las modalidades preferidas de la invención en cualquiera de sus varios aspectos son como se describen más abajo o como se definen en las sub reivindicaciones.

65 Se describe un método para tratar, reducir, o prevenir el dolor en un mamífero, en donde dicho método comprende la etapa de administración a un sujeto de una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición que

comprende un compuesto que se selecciona de la Tabla 1 o de la Tabla 2, o sus combinaciones, en combinación con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables.

5 El compuesto puede comprender un componente de quinolona sustituido que se selecciona de la Tabla 1. Todos los compuestos en las Tablas 1 y 2 pueden prepararse mediante los métodos publicados por Miller y otros, y más abajo se proporciona un procedimiento ilustrativo (ver material suplementario para J. Biol. Chemistry, Miller y otros, vol. 286, pp. 33436-33446.)

10 La fórmula 1a) se prepara como sigue:



20 En un frasco de reacción de microonda se agita cloroquinolina (100 mg, 0,56 mmol) y piperidina (0,22 ml, 2,25 mmol). Se sella el frasco y se irradia en el microondas a 200 °C con agitación durante 15 min. LC/MS indica el completamiento de la reacción. La mezcla de reacción se diluyó en MeOH y después se concentró al vacío. Se disolvió el residuo en HCl 3 % acuoso (10 ml) y se lavó con diclorometano (2 x 5 ml). La capa acuosa se trató con NaOH 2 N hasta llegar a pH 8, lo cual resulta en una especie de lechada blanca. La lechada blanca se extrajo con diclorometano (3 x 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron para dar 70 mg (55 %) del producto como un sólido blanco. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,75 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 7,52-7,45 (m, 2H), 7,21-7,17 (m, 1H), 7,10 (s, 1H), 3,67 (bs, 4H), 2,54 (s, 3H), 1,62-1,55 (m, 6H). LC/MS: R_T = 0,65 min, *m/z* = 227,2 [M + H]⁺.

25

Tabla 1. Compuestos quinolínicos sustituidos

30

(Fórmula I), en donde R, R', y R'' son como sigue:		
R	R'	R''
	H, CH ₃ , Et, o X (en donde X es un halógeno)	H o alquilo
	H, CH ₃ , Et, o X	H o alquilo
	H, CH ₃ , Et, o X	H o alquilo
	H, CH ₃ , Et, o X	H o alquilo

35

40

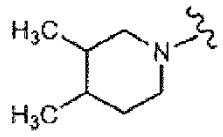
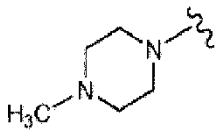
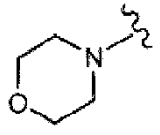
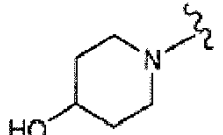
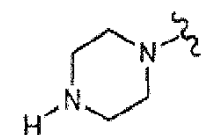
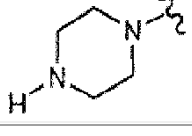
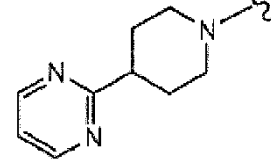
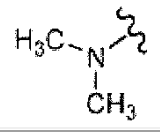
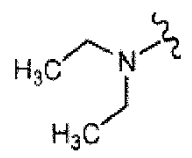
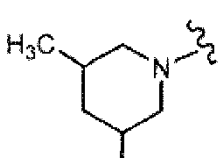
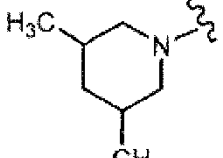
45

50

55

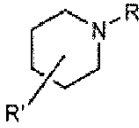
60

65

5		H, CH ₃ , Et, o X	H o alquilo
10		H, CH ₃ , Et, o X	H o alquilo
15		H, CH ₃ , Et, o X	H o alquilo
20		H, CH ₃ , Et, o X	H o alquilo
25		H, CH ₃ , Et, o X	H o alquilo
30		H, CH ₃ , Et, o X	H o alquilo
35		H, CH ₃ , Et, o X	H o alquilo
40		H, CH ₃ , Et, o X	H o alquilo
45		H, CH ₃ , Et, o X	H o alquilo
50		H, CH ₃ , Et, o X	H o alquilo
55		H, CH ₃ , Et, o X	H o alquilo

65 En un aspecto, el compuesto puede comprender un compuesto sustituido de piperidina que se describe en la Tabla 2.

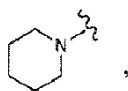
Tabla 2. Compuestos sustituidos de piperidina

5		
	Fórmula II, en donde R y R' son como sigue:	
10	R	R'
	Arilo, heteroarilo, alquilo, ciclo alquilo, H	H, arilo, heteroarilo, alquilo, cicloalquilo

15 La composición puede comprender uno o más compuestos que se listan en las Tablas 1 y 2.

El compuesto puede comprender un compuesto de la Fórmula I, en donde R es

20



R' es H, y R'' es CH₃, y este compuesto se refiere como **Fórmula 1a**.

25

La composición es capaz de modular el receptor *Trpc4*. Dicha modulación puede ser un efecto antagonista o, alternativamente, un efecto agonista.

30

La efectividad de un compuesto, por ejemplo, un antagonista de *Trpc4*, en el tratamiento del dolor puede determinarse mediante la observación de uno o más síntomas clínicos o indicadores fisiológicos asociados al dolor, o mediante el uso de un modelo de dolor, como se describe más abajo.

35

Los expertos en la técnica pueden determinar, mediante las guías que se proporcionan en la presente descripción, la cantidad apropiada efectiva a administrar para una aplicación particular de los métodos. Por ejemplo, una cantidad efectiva se puede extrapolar de ensayos *in vitro* e *in vivo*, como se describe en la presente descripción más arriba. Uno podrá reconocer que la condición del paciente puede monitorearse a través del curso de la terapia y que la cantidad efectiva de un antagonista de *Trpc4* que se administra puede ajustarse en consecuencia.

40

Uno o más de los compuestos que se describen en la presente descripción pueden administrarse en una composición farmacéuticamente aceptable. La presente descripción también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden compuestos como los que se describen en la presente descripción, que se formulan junto con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables. Estas formulaciones incluyen aquellas adecuadas para administración por vía oral, rectal, tópica, bucal y parenteral (por ejemplo, subcutánea, intramuscular, intradérmica o intravenosa), aunque la forma de administración más adecuada en cualquier caso dado dependerá del grado y la severidad de la afección a tratar y de la naturaleza del compuesto particular que se use.

45

50

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración por vía oral pueden presentarse en unidades discretas, tales como cápsulas, papelillos, pastillas, o tabletas, que contienen cada uno una cantidad predeterminada de los compuestos en forma de polvo o gránulos; como una solución o suspensión en un líquido acuoso o no acuoso; o como una emulsión de aceite en agua o de agua en aceite. Como se indica, tales formulaciones pueden prepararse por cualquier método adecuado de farmacia que incluya la etapa de poner en asociación el componente activo y el portador o excipiente (el cual puede estar constituido por uno o más ingredientes accesorios). El portador debe ser aceptable en el sentido de que sea compatible con los otros ingredientes de la formulación y no perjudicial al receptor de éstos. El portador puede ser un sólido o un líquido, o ambos, y puede formularse con el compuesto como una formulación de dosis unitaria, por ejemplo, una tableta, la cual puede contener de 0,05 % a 95 % por peso del componente activo. Otras sustancias farmacológicamente activas también pueden estar presente, e incluir otros compuestos. Las formulaciones pueden prepararse mediante cualquiera de las técnicas de farmacia bien conocidas que consisten esencialmente en mezclar los componentes.

55

60

Para las composiciones sólidas, los portadores sólidos no tóxicos convencionales incluyen, por ejemplo, grados farmacéuticos de manitol, lactosa, almidón, estearato magnésico, sacarina sódica, talco, celulosa, glucosa, sacarosa, carbonato magnésico, y similares. Las composiciones líquidas farmacológicamente administrables pueden prepararse, por ejemplo, al disolver, dispersar, etc., un compuesto activo como se describe en la presente descripción y adyuvantes farmacéuticos opcionales en un excipiente, tal como, por ejemplo, agua, solución salina, dextrosa acuosa, glicerol, etanol, y similares, para formar de ese modo una solución o suspensión. Generalmente, las formulaciones adecuadas pueden prepararse mediante la mezcla íntima y uniforme del compuesto activo con un

65

portador líquido o sólido finamente dividido o ambos, y después, si es necesario, se conforma el producto. Por ejemplo, una tableta puede prepararse mediante la compresión o el moldeo de un polvo o gránulos del compuesto, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Las tabletas comprimidas pueden prepararse al comprimir, en una máquina adecuada, el componente en una forma de flujo libre, tal como un polvo o gránulos, opcionalmente mezclados con agentes aglutinantes, lubricantes, diluyentes inertes y/o agentes tensoactivos/dispersantes. Las tabletas moldeadas pueden fabricarse mediante moldeo, en una máquina adecuada, del componente en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte.

Las formulaciones farmacéuticas adecuadas para la administración bucal (sublingual) incluyen pastillas que comprenden un compuesto en una base saborizada, que usualmente es sacarosa y acacia o tragacanto; y pastillas que comprenden el compuesto en una base inerte tal como gelatina y glicerina o sacarosa y acacia.

Las formulaciones adecuadas para administración parenteral comprenden preparaciones acuosas estériles de los compuestos,

que son aproximadamente isotónicas con la sangre del recipiente que las recibirá. Estas preparaciones se administran por la vía intravenosa, aunque la administración también puede efectuarse mediante inyección subcutánea, intramuscular o intradérmica. Tales preparaciones pueden prepararse convenientemente mediante la mezcla del compuesto con agua y unir la solución estéril e isotónica resultante con la sangre. Las composiciones inyectables de acuerdo con la presente descripción pueden contener de 0,1 a 5 % w/w del componente activo.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración por vía rectal se presentan como supositorios de dosis unitaria. Estos se pueden preparar mediante la mezcla de los componentes con uno o más portadores sólidos convencionales, por ejemplo, manteca de cacao, y después conformar la mezcla resultante.

Las formulaciones farmacéuticas adecuadas para la aplicación tópica a la piel toman la forma de ungüento, crema, loción, pasta, gel, aspersion, aerosol, o aceite. Los portadores y los excipientes que pueden usarse incluyen vaselina, lanolina, polietilenglicoles, alcoholes, y sus combinaciones con dos o más de ellos. El componente activo generalmente está presente a una concentración de 0,1 % a 15 % w/w de la composición, por ejemplo, de 0,5 % a 2 %.

La cantidad que se administra de la composición activa puede depender del sujeto que se trata, del peso del sujeto, de la forma de administración y de la valoración del médico que la prescribe. Por ejemplo, un esquema de dosificación puede involucrar la administración diaria o semidiaria del compuesto encapsulado en una dosis percibida de 1 µg a 1000 mg. Puede emplearse la administración de manera intermitente, tal como mensual o anualmente, de una dosis del compuesto encapsulado. La encapsulación facilita el acceso al sitio de acción y permite

la administración de los ingredientes activos simultáneamente, lo cual en teoría produce un efecto sinérgico. De acuerdo con los regímenes de dosificación estándar, los médicos determinarán fácilmente las dosis óptimas y serán capaces de modificar fácilmente la administración para lograr dichas dosis.

Una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto o composición que se describe en la presente descripción, puede medirse por la efectividad terapéutica del compuesto. Sin embargo, debe entenderse que las dosis pueden variar en dependencia de los requisitos del paciente, de la gravedad de la afección que se trate, y del compuesto que se use. La cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto que se describe puede ser suficiente para establecer una concentración máxima en plasma. Las dosis preliminares, por ejemplo, se determinan de acuerdo con pruebas en animales, y el escalamiento de las dosis para la administración en humanos, se lleva a cabo de acuerdo con las prácticas aceptadas en la técnica.

La toxicidad y la eficacia terapéutica pueden determinarse mediante procedimientos farmacéuticos estándar en cultivos celulares o en animales de experimentación, por ejemplo, para determinar la LD50 (la dosis letal para el 50 % de la población) y la ED50 (la dosis con eficacia terapéutica en el 50 % de la población). La relación de la dosis entre los efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico y puede expresarse como la relación LD50/ED50. Se prefieren las composiciones que exhiben índices terapéuticos grandes.

Los datos que se obtienen a partir de los ensayos en cultivo celular o estudios en animales pueden usarse en la formulación de un intervalo de dosificación para usar en humanos. Las dosis terapéuticamente efectivas que se logran en un modelo animal pueden convertirse para usar en otro animal, que incluye humanos, mediante factores de conversión que se conocen en la técnica (ver, por ejemplo, Freireich y otros, Cancer Chemother. Reports 50(4):219-244 (1966) y Tabla 1 para los Factores equivalentes de dosificación para área superficial).

Una composición farmacéutica puede administrarse sola a un paciente o en combinación con otros ingredientes activos suplementarios, agentes, fármacos u hormonas. Las composiciones farmacéuticas pueden fabricarse mediante cualquier variedad de procesos que incluyen, pero no se limitan a, mezcla convencional, disolución, granulación, fabricación de grageas, levigación, emulsificación, encapsulación, atrapamiento y liofilización. La

composición farmacéutica puede tomar cualquiera de una variedad de formas que incluyen, pero no se limitan a, solución estéril, suspensión, emulsión, liofilizado, tableta, píldora, gránulo, cápsula, polvo, jarabe, elixir o cualquier otra forma de dosificación adecuada para la administración.

5 La dosis terapéuticamente efectiva (es decir, ED50) puede variar con la forma de dosificación, vía de administración, edad del sujeto, condición, y sexo, así como también la gravedad de la condición médica del sujeto. La dosificación puede determinarse por un médico y ajustarse, cuando sea necesario, para adecuarse a los efectos observados del tratamiento.

10 El método puede comprender la administración de una cantidad efectiva de un compuesto que se describe en la presente descripción, junto con uno o más otros agentes, que incluyen, pero no se limitan a, uno o más agentes analgésicos. En tal terapia "combinada", se entiende que el antagonista puede liberarse independientemente o simultáneamente, en la misma o en diferentes composiciones farmacéuticas, y por las mismas o por diferentes vías de administración, igual que el uno o más agentes. Un compuesto que se describe en la presente descripción puede
 15 administrarse en combinación con analgésicos no opioides, tales como ácido acetilsalicílico, trisalicilato colina de magnesio, acetaminofeno, ibuprofeno, fenopropeno, diflusinal, y naproxeno; o analgésicos opioides, que incluyen morfina, hidromorfona, metadona, levorfanol, fentanil, oxiconona, y oximorfona. Además de los tratamientos mencionados más arriba, el dolor neuropático, que puede ser difícil de tratar, también se ha tratado con antiepilépticos (por ejemplo, gabapentina, carbamazepina, ácido valproico, topiramato, feniloína), antagonistas de
 20 NMDA (por ejemplo, ketamina, dextrometorfano), lidocaína tópica (para la neuralgia postherpética), y antidepresivos tricíclicos (por ejemplo, fluoxetina, sertralina y amitriptilina).

También se vislumbra que una composición farmacéutica puede incluir opcionalmente portadores farmacéuticamente aceptables que faciliten el procesamiento de un ingrediente activo hacia composiciones farmacéuticamente aceptables. Como se usa en la presente descripción "portador farmacológicamente aceptable" se refiere a cualquier portador que no tenga sustanciales efectos perjudiciales permanentes o a largo plazo cuando se administre, y abarca términos tales como "vehículo, estabilizador, diluyente, auxiliar o excipiente farmacéuticamente aceptable." Tal portador generalmente se mezcla con un componente activo, o permite diluir o incluye el componente activo y puede ser un agente sólido, semisólido, o líquido. Se entiende que los ingredientes activos pueden ser
 25 solubles o pueden entregarse como una suspensión en el portador o diluyente deseado. Puede usarse cualquier variedad de portadores farmacéuticamente aceptables, que incluyen, sin limitaciones, medios acuosos tales como, por ejemplo, agua destilada, agua desionizada, solución salina, solventes; medios de dispersión; recubrimientos; agentes antibacterianos y antifúngicos; agentes isotónicos y agentes retrasadores de la absorción; o cualquier otro ingrediente inactivo. La selección de un portador farmacológicamente aceptable puede depender del modo de
 30 administración. Excepto en la medida en que cualquier portador farmacológicamente aceptable sea incompatible con el ingrediente activo, se contempla su uso en las composiciones farmacéuticamente aceptables. Pueden encontrarse ejemplos no limitantes de los usos específicos de tales portadores farmacéuticos en formas de dosis farmacéuticas y en sistemas de suministro de fármacos (Ansel, H. C. y otros, eds., Lippincott Williams & Wilkins Publishers, 7th ed. 1999); Remington: The Science and Practice of Pharmacy (Gennaro, A. R. ed., Lippincott, Williams & Wilkins, 20th ed. 2000); Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics (Hardman, J. G. y otros, eds., McGraw-Hill Professional, 10th ed. 2001); y Handbook of Pharmaceutical Excipients (Rowe, R. C. y otros, APhA Publications, 4th edition 2003).

Una composición farmacéutica puede incluir opcionalmente, sin limitación, otros componentes farmacéuticamente aceptables, que incluyen, sin limitación, tampones, preservantes, reguladores de tonicidad, sales, antioxidantes, sustancias fisiológicas, sustancias farmacológicas, agentes engrosantes, agentes emulsificantes, agentes humectantes, edulcorantes o saborizantes, y similares. Varios tampones y medios de ajustar el pH pueden usarse para preparar una composición farmacéutica que se describe en la presente especificación, siempre y cuando la preparación resultante sea farmacéuticamente aceptable. Tales tampones incluyen, sin limitación, tampones acetato,
 45 tampones citrato, tampones fosfato, tampones salinos neutrales, tampones fosfato salino y tampones borato. Se entiende que los ácidos o bases se pueden usar para ajustar el pH de una composición según sea necesario. Los antioxidantes farmacéuticamente aceptables incluyen, sin limitación, metabisulfito sódico, tiosulfato sódico, acetilcisteína, hidroxianisol butilado e hidroxitolueno butilado. Los conservantes incluyen, sin limitación, cloruro de benzalconio, clorobutanol, timerosal, acetato fenilmercurio, nitrato fenilmercurio y una composición estabilizada de oxícloro. Los reguladores de la tonicidad útiles en una composición farmacéutica incluyen, pero no se limitan a, sales
 50 tales como por ejemplo, cloruro de sodio, cloruro de potasio, manitol o glicerina y otros reguladores de la tonicidad farmacéuticamente aceptables. La composición farmacéutica puede proporcionarse como una sal y puede formarse con muchos ácidos, que incluyen, pero no se limitan a, clorhídrico, sulfúrico, acético, láctico, tartárico, málico, succínico, etc. Las sales tienden a ser más solubles en medio acuoso que otros solventes protónicos que son las correspondientes formas básicas libres.
 60

Varias vías de administración pueden ser útiles. Las vías de administración periférica que son útiles son, sin limitación, la administración oral, la administración tópica, intravenosa u otra inyección, y las minibombas implantadas y otros dispositivos y formulaciones de liberación prolongada. Una composición farmacéutica puede administrarse periféricamente, por ejemplo, oralmente en cualquier forma aceptable, tal como una tableta, líquido,
 65 cápsula, polvo o similares; por vía intravenosa, intraperitoneal, intramuscular, subcutánea o por inyección parenteral;

por difusión transdérmica o electroforesis; tópicamente en cualquier forma aceptable tal como en gotas, cremas, geles o ungüentos; y mediante minibombas u otros dispositivos implantados de liberación prolongada o formulación.

Modelos de dolor

5 La capacidad de un compuesto que trata dolor puede confirmarse mediante el uso de una variedad de ensayos bien conocidos, como se plantea más adelante en la presente descripción.

10 Modelo de golpe de cola: La prueba del golpe de cola (D'Amour y otros, J. Pharmacol. Exp. and Ther. 72: 74-79 (1941)) es un modelo de dolor agudo. Se coloca una rata suavemente atada en una mesa de prueba de manera que se enfoque una fuente de luz sobre la superficie dorsal o ventral de la cola de la rata. En la mesa de prueba debe haber un fotosensor que se ubica opuesto a la fuente de luz. Para comenzar la prueba, la cola de la rata bloquea la luz, por lo tanto impide que la luz alcance el fotosensor. La medición de la latencia comienza con la activación de la fuente de luz. Cuando la rata mueve o golpea su cola, el fotosensor detecta la fuente de luz y detiene la medición. La prueba mide el periodo de tiempo (duración) que la cola de la rata permanece inmóvil (latente). Las ratas se prueban antes de la administración en ese lugar de un compuesto de interés y después, a varios tiempos después de tal administración.

20 Modelo de inmersión de la cola de la rata: El ensayo de inmersión de la cola de la rata es también un modelo de dolor agudo. Se sostiene suavemente una rata en la mano mientras se cubre con una pequeña toalla doblada de algodón fino y se deja la cola expuesta. Se introduce la punta de la cola dentro de un baño de agua a, por ejemplo, 52 °C hasta una profundidad de dos pulgadas. La rata responde ya sea con meneo de la cola o saca la cola del agua; cualquiera de estas respuestas se registra como el criterio de valoración principal de conducta. A las ratas se les prueba la latencia de respuesta de la cola (TRL) con una puntuación antes de la administración en el lugar de un compuesto de interés y después se repite la prueba para TRL en varios tiempos después de tal administración.

30 Modelo de hiperalgesia de la pata inducido por carragenina: El modelo de hiperalgesia de la pata por carragenina es un modelo de dolor inflamatorio. Se practica una inyección subcutánea de carragenina en las patas traseras izquierdas de la rata. Las ratas se tratan con un agente que se selecciona antes, por ejemplo, 30 minutos, de la inyección de carragenina o después, por ejemplo, dos horas después de la inyección de carragenina. Para cada animal se prueba la sensibilidad a la presión en la pata mediante un analgesímetro tres horas después de la inyección de carragenina. Ver, Randall y otros, Arch. Int. Pharmacodyn. 111: 409-419 (1957).

35 Los efectos de los agentes que se seleccionan sobre el edema inducido por carragenina también pueden examinarse. Esta prueba (ver, Vinegar y otros, J. Pharmacol. Exp. Ther. 166: 96-103 (1969)) permite una evaluación de la capacidad de un compuesto para revertir o prevenir la formación de edema que evoca la inyección de carragenina en la pata. La prueba para el edema de la pata se lleva a cabo mediante el uso de un pletismómetro para mediciones de las patas. Después de la administración de un agente seleccionado, se inyecta una solución de carragenina por vía subcutánea en la almohadilla lateral de la pata en la superficie plantar de la pata trasera izquierda. A las tres horas del tratamiento con carragenina, se mide el volumen de la pata tratada (izquierda) y de la no tratada (derecha) mediante el uso de un pletismómetro.

45 Modelo de respuesta conductual a la formalina: La prueba de la formalina es un modelo de dolor agudo, persistente. La respuesta al tratamiento con formalina es bifásica (Dubuisson y otros, Pain 4: 161-174 (1977)). La respuesta Fase I es indicativa de una respuesta nociceptiva pura al irritante. La Fase 2, que típicamente comienza de 20 a 60 minutos después de la inyección de formalina, se piensa que refleja la sensibilidad aumentada de la médula espinal.

50 Prueba del filamento de Von Frey (modelo de Chang): El efecto de los compuestos sobre la alodinia mecánica puede determinarse mediante la prueba del filamento de von Frey en ratas con una ligadura apretada del nervio espinal L-5: es un modelo de neuropatía periférica dolorosa. El procedimiento quirúrgico se lleva a cabo como se describe en Kim y otros, Pain 50: 355-363 (1992). Se usa una serie de filamentos calibrados de von Frey para evaluar la alodinia mecánica (Chaplan y otros, J. Neurosci. Methods 53: 55-63 (1994)). Se aplican filamentos de rigidez cada vez mayor perpendicular a la superficie medioplantar en la distribución del nervio ciático de la pata trasera izquierda. Los filamentos se introducen lentamente hasta que se curvan y entonces se sostienen durante 4-6 segundos. Se consideran respuestas positivas cuando la pata del animal se estremece y el animal se lame la pata y cuando saca la pata del lado ligado.

60 Daño crónico por constricción: Las respuestas a la alodinia por calor y por frío pueden evaluarse como se describe más abajo en ratas que tienen daño crónico por constricción (CCI). Se produce una mononeuropatía unilateral en ratas mediante el uso del modelo de daño por constricción crónica que se describe en Bennett y otros, Pain 33: 87-107 (1988). CCI se produce en ratas anestesiadas como sigue. El aspecto lateral de cada pata trasera de la rata se afeita y se restriega con Nolvasan. Mediante el uso de técnicas ascépticas, se hace una incisión en el aspecto lateral de la pata trasera a nivel de la mitad del muslo. Se disecciona directamente el bíceps femoral para exponer el nervio ciático. Se hacen cuatro ligaduras flojas en la pata trasera derecha de cada rata (por ejemplo, Chromic gut 4.0; Ethicon, Johnson y Johnson, Somerville, N.J.) alrededor del nervio ciático, separadas aproximadamente 1-2 mm. En la parte izquierda de cada rata, se hace una disección idéntica, excepto que no se liga el nervio ciático (falso

control). Se cierra el músculo con un patrón de sutura continua con, por ejemplo, 4-0 Vicryl (Johnson y Johnson, Somerville, N.J.) y la piel de encima se cierra con presillas. Las ratas se identifican mediante marcas en las orejas y se devuelven a las jaulas.

5 La prueba de Hargreaves: La prueba de Hargreaves (Hargreaves y otros, Pain 32: 77 88 (1998)) es también un modelo de calor radiante para el dolor. Las ratas CCI se prueban para hiperalgesia térmica al menos 10 días después de la operación. El aparato de la prueba consiste en una plataforma de cristal calentada (80-82 grados F.). Al menos 15 minutos antes de la prueba se colocan ocho ratas, que representan todos los grupos de prueba, a la vez en una caja plástica invertida que se coloca sobre el suelo de cristal de la plataforma. Una fuente de calor radiante se coloca por debajo del cristal, dirigida a la planta de las patas traseras de cada rata. La aplicación de calor se continúa hasta que la rata retire la pata (latencia de retirada) o que pase un tiempo de 20 segundos. Esta prueba también se aplica a la pata operada en falso. Se llevan a cabo de dos a cuatro pruebas para cada pata, alternativamente, con al menos 5 minutos de intervalo entre pruebas. El promedio de estos valores representa la latencia de retirada.

15 Modelo de alodinia fría: El aparato de prueba y los métodos de las pruebas de conducta se describen en Gogas y otros, Analgesia 3: 111-118 (1997). El aparato para probar la alodinia fría en ratas neuropáticas (CCI) consiste en una cámara de Plexiglass con una placa metálica de 6 cm desde el fondo de la cámara. La cámara se llena con hielo y agua hasta una profundidad de 2,5 cm sobre la placa metálica, con la temperatura del baño mantenida a 0-4°C durante la prueba. Cada rata se coloca dentro de la cámara individualmente, se inicia un medidor de tiempo, y se mide la respuesta de latencia del animal con una exactitud hasta la décima de segundo. Se define una "respuesta" como la retirada rápida de la pata derecha trasera ligada completamente fuera del agua, cuando el animal está estacionario y no moviéndose. No se considera respuesta una cojera exagerada cuando el animal camina y gira. La línea base de puntuación de los animales para la retirada de la pata ligada del agua típicamente está en el intervalo de 7-13 segundos. El tiempo máximo de inmersión es de 20 segundos con un intervalo de 20 minutos entre pruebas.

20 Mediante el uso de cualquiera de estos ensayos y otras conocidas en la técnica, los expertos en la técnica reconocen que los valores de ED₅₀ y sus errores estándar de la media pueden determinarse mediante el uso de métodos numéricos aceptados, ver, por ejemplo, Roger E. Kirk, Experimental Design: Procedures for the Behavioral Sciences, (Wadsworth Publishing, 3rd ed. 1994).

Todos los porcentajes y relaciones se calculan por peso, a menos que se indique lo contrario.

35 Todos los porcentajes y relaciones se calculan basados en la composición total, a menos que se indique lo contrario.

40 Debe entenderse que toda limitación numérica máxima dada a lo largo de esta especificación incluye todas las limitaciones numéricas bajas, como si tales limitaciones numéricas bajas se escribieran expresamente en la presente descripción. Toda limitación numérica mínima dada a lo largo de esta especificación incluirá todas las limitaciones numéricas altas, como si tales limitaciones numéricas altas se escribieran expresamente en la presente descripción. Todo intervalo numérico dado a lo largo de esta especificación incluirá todos los intervalos numéricos estrechos que caen dentro de tal intervalo numérico ancho, como si tales intervalos numéricos estrechos estuvieran todos expresamente escritos en la presente descripción.

45 Las dimensiones y valores descritos en la presente descripción no deben entenderse como limitados estrictamente a los valores numéricos exactos citados. En lugar de ello, a menos que se especifique de otra manera, se pretende que cada una de estas dimensiones se refiera tanto al valor citado como a un intervalo funcionalmente equivalente alrededor de ese valor. Por ejemplo, se entiende que una dimensión descrita como "20 mm" significa "aproximadamente 20 mm."

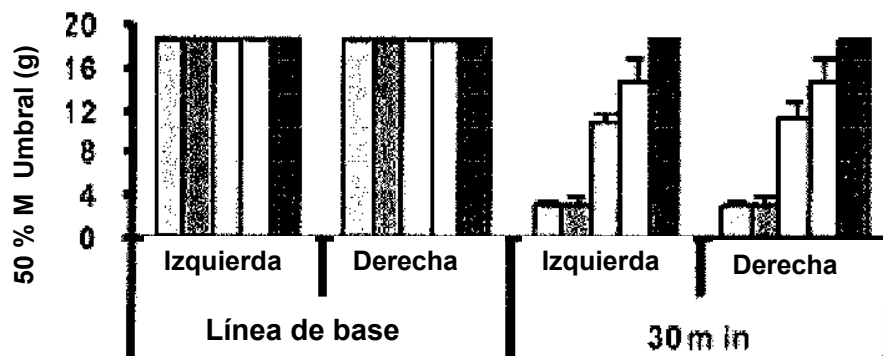
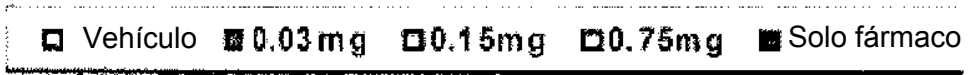
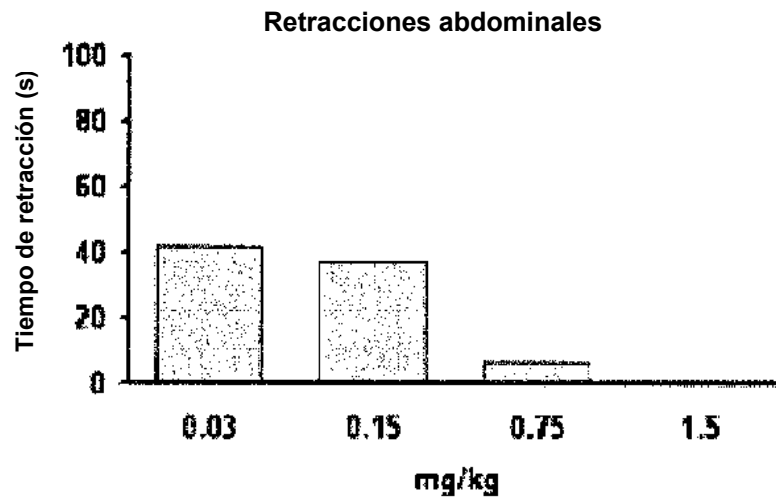
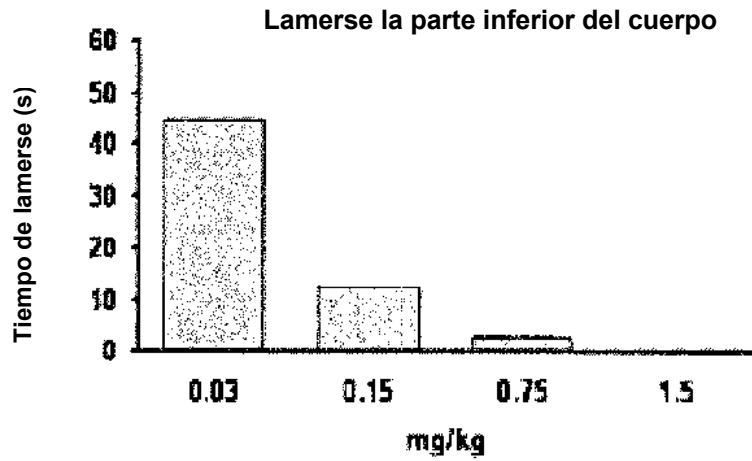
50 Datos Experimentales:

La Fórmula 1a) de la estructura de la quinolina se prueba en células y en ratas. Las ratas tipo salvaje que se dosifican con la Fórmula la) muestran una inhibición dosis respuesta al dolor (Figura 1) sin efectos secundarios obvios, que incluyen no cardiotoxicidad.

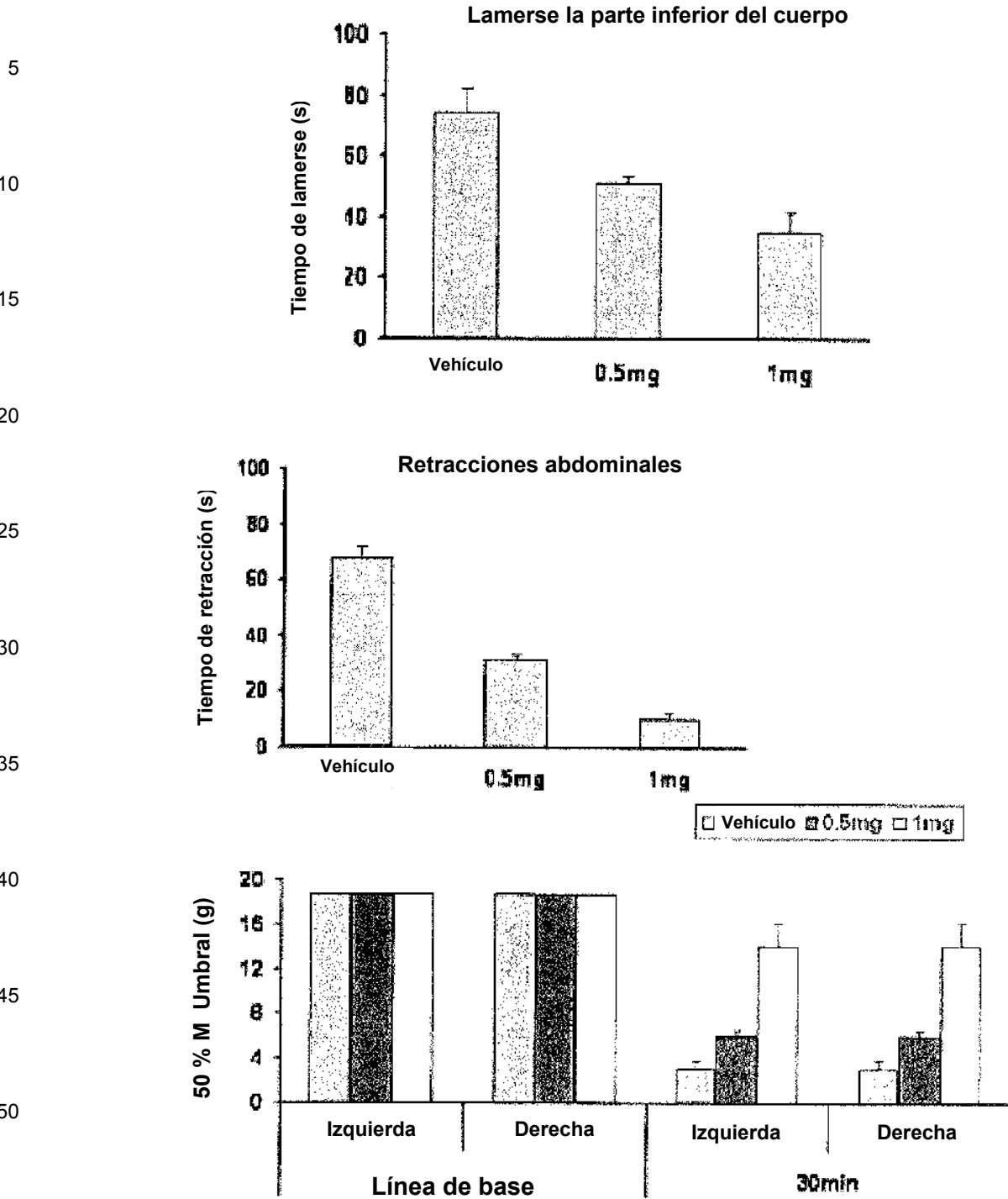
A. Las conductas espontáneas relacionadas con el dolor y 50 % de umbral mecánico (en la pata) después de infusión colónica de mostaza (con la Fórmula 1a).

60

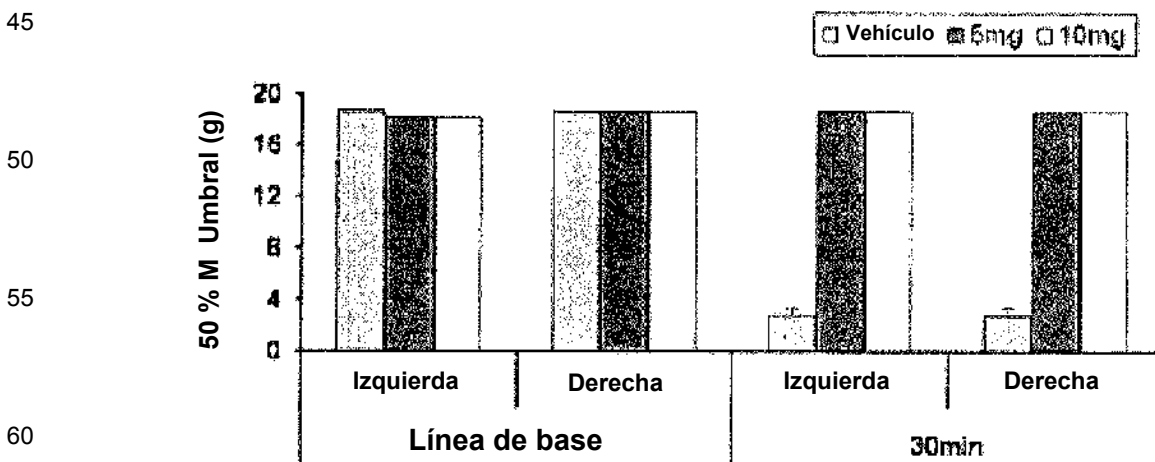
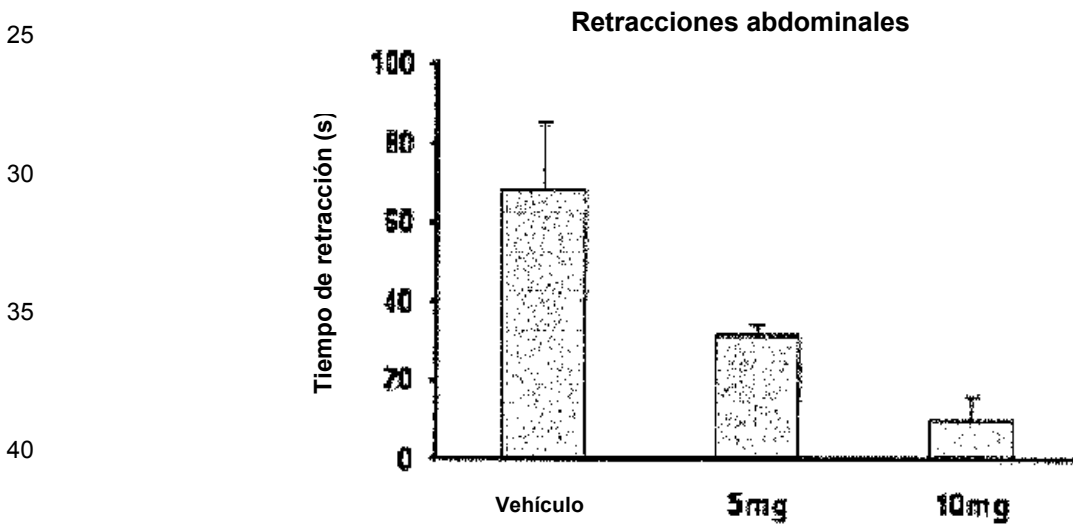
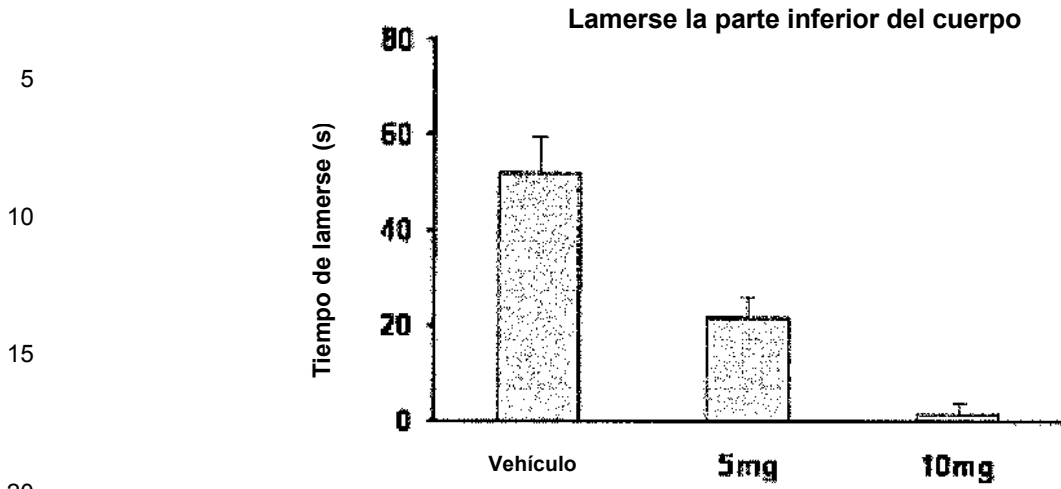
65



B. Las conductas espontáneas relacionadas con el dolor y 50 % de umbral mecánico (en la pata) después de infusión colónica de mostaza (con alimentación oral de ML204); n=4 para cada grupo

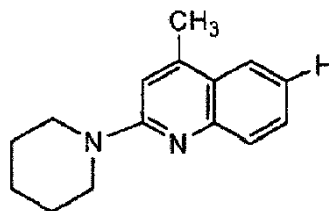


C. Equivalencia de Morfina. El pretratamiento con morfina requiere dosis mucho mayores para inhibir las conductas relacionadas con el dolor inducidas por infusión intracolónica de MO. Las conductas espontáneas relacionadas con el dolor y 50 % de umbral mecánico (en la pata) después de infusión colónica de mostaza (con morfina s.c.); n=3 para cada grupo.



Reivindicaciones

1. Una composición farmacéutica que comprende 4-metil-2-piperidin-1-il-quinolina que tiene la fórmula



para usar en la reducción o prevención del dolor en un mamífero mediante la modulación de la actividad de TRPC4, en donde el dolor se selecciona entre agudo, crónico, neuropático, nociceptivo y dolor visceral, o sus combinaciones.

2. La composición farmacéutica para usar de conformidad con la reivindicación 1, en donde dicho dolor comprende el dolor visceral.
3. La composición farmacéutica para usar de conformidad con la reivindicación 1, en donde dicho dolor comprende el dolor neuropático.
4. La composición farmacéutica para usar de conformidad con la reivindicación 1, en donde dicha composición farmacéutica se administra por vía oral y en donde la cantidad efectiva de 4-metil-2-piperidin-1-il-quinolina se extrapola de los ensayos in vitro e in vivo que se seleccionan entre el Modelo de Golpe de Cola, el Modelo de Inmersión de la Cola de la Rata y el Modelo de Hiperalgnesia de la Pata inducida por Carragenina.
5. La composición farmacéutica para usar de conformidad con la reivindicación 1, en donde dicha composición farmacéutica se administra por vía tópica, y en donde la cantidad efectiva de 4-metil-2-piperidin-1-il-quinolina se extrapola de los ensayos in vitro e in vivo que se seleccionan entre el Modelo de Golpe de Cola, el Modelo de Inmersión de la Cola de la Rata y el Modelo de Hiperalgnesia de la Pata inducida por Carragenina.
6. La composición farmacéutica para usar de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, comprende, además, al menos un agente farmacéuticamente activo adicional.
7. La composición farmacéutica para usar de conformidad con la reivindicación 6, en donde dicho al menos un agente farmacéuticamente activo adicional se selecciona entre analgésicos no opioides, antiepilépticos, antagonistas de NMDA, lidocaína, antidepresivos tricíclicos o sus combinaciones.
8. La composición farmacéutica para usar de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, 6, o 7, en donde dicha composición se administra por vía oral.
9. La composición farmacéutica para usar de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, 6 o 7, en donde la composición farmacéutica se administra tópicamente.
10. La composición farmacéutica para usar de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, o 6-9, en donde dicho dolor crónico es dolor que se asocia con cáncer.
11. La composición farmacéutica para usar de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, o 6-9, en donde dicho dolor agudo es dolor que se asocia al daño de tejidos blandos, infección o inflamación.