

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 699 646**

51 Int. Cl.:

A61K 31/167 (2006.01)
A61K 31/24 (2006.01)
A61K 31/5375 (2006.01)
A61K 31/661 (2006.01)
A61K 31/6615 (2006.01)
C07D 295/185 (2006.01)
A61P 7/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.05.2013 PCT/US2013/040194**
 87 Fecha y número de publicación internacional: **14.11.2013 WO13169939**
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.05.2013 E 13788050 (6)**
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.08.2018 EP 2846787**

54 Título: **Compuestos para uso en el tratamiento de enfermedades mediadas por acuaporina**

30 Prioridad:

08.05.2012 US 201261644268 P
25.05.2012 US 201261651778 P
15.03.2013 US 201361799606 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
12.02.2019

73 Titular/es:

AEROMICS, INC. (100.0%)
11000 Cedar Avenue, Suite 270
Cleveland, OH 44106, US

72 Inventor/es:

PELLETIER, MARC, F.;
FARR, GEORGE, WILLIAM;
MCGUIRK, PAUL, ROBERT;
HALL, CHRISTOPHER, H. y
BORON, WALTER, F.

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 699 646 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

Compuestos para uso en el tratamiento de enfermedades mediadas por acuaporina

Nuevos métodos

5 La materia objeto de este documento está relacionado con la Solicitud Provisional 61/644.268 de los Estados Unidos, presentada el 8 de mayo de 2012, la Solicitud Provisional 61/651.778 de los Estados Unidos, presentada el 25 de mayo de 2012, y la Solicitud Provisional de los Estados Unidos 61/799.606, presentada el 15 de marzo de 2013.

Campo de la invención

10 La presente invención se refiere al uso de inhibidores selectivos de la acuaporina, por ejemplo, de la acuaporina-4 o la acuaporina-2, a saber, los compuestos de fenilbenzamida reivindicados, para la profilaxis, el tratamiento y el control de afecciones mediadas por la acuaporina en la medida en que las reivindicaciones lo describen. Las afecciones mediadas por la acuaporina descritas en este documento son, por ejemplo, enfermedades de desequilibrio hídrico, por ejemplo, el edema (particularmente el edema del cerebro y la médula espinal, por ejemplo, después de un traumatismo o accidente cerebrovascular isquémico), así como el edema asociado con glioma, 15 meningitis, mal agudo de montaña, convulsiones epilépticas, infecciones, trastornos metabólicos, hipoxia, intoxicación por agua, insuficiencia hepática, encefalopatía hepática, cetoacidosis diabética, abscesos, eclampsia, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob y lupus cerebritis, así como el edema como consecuencia de la microgravedad y/o la exposición a la radiación, así como el edema como consecuencia de procedimientos invasivos del sistema nervioso central, por ejemplo neurocirugía, eliminación de coágulos endovasculares, punción espinal, reparación de 20 aneurismas o estimulación cerebral profunda, así como edema de la retina), así como hiponatremia y retención excesiva de líquidos y enfermedades como la epilepsia, isquemia de la retina y otras enfermedades oculares asociadas a anomalías en la presión intraocular y/o la hidratación de los tejidos, isquemia miocárdica, lesión por isquemia/reperfusión del miocardio, infarto de miocardio, hipoxia miocárdica, insuficiencia cardíaca congestiva, sepsis y neuromielitis óptica, así como migrañas. La invención también se refiere a nuevos ensayos para identificar 25 inhibidores de la acuaporina.

Antecedentes de la invención

30 Las acuaporinas son proteínas de la membrana celular que actúan como canales moleculares de agua para mediar el flujo de agua dentro y fuera de las células. Si bien hay cierto grado de difusión pasiva u ósmosis de agua a través de las membranas celulares, el transporte rápido y selectivo del agua dentro y fuera de las células involucra a las acuaporinas. Estos canales de agua conducen selectivamente las moléculas de agua dentro y fuera de la célula, mientras que bloquean el paso de los iones y otros solutos, preservando así el potencial de membrana de la célula. Las acuaporinas se encuentran en prácticamente todas las formas de vida, desde bacterias hasta plantas y animales. En los seres humanos, se encuentran en las células de todo el cuerpo.

35 El edema cerebral (EC) es un importante contribuyente al daño por accidente cerebrovascular, ya que puede resultar en un aumento de la presión intracerebral (PIC), una disminución correspondiente en la perfusión cerebral y un daño cerebral potencialmente permanente o fatal. El edema también contribuye al daño del SNC en, por ejemplo, lesiones traumáticas del cerebro y la médula espinal, glioma, meningitis, mal de montaña agudo, convulsiones epilépticas, infecciones, trastornos metabólicos, hipoxia, intoxicación por agua, insuficiencia hepática, encefalopatía hepática, cetoacidosis diabética, abscesos, eclampsia, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob y lupus cerebritis. Los pacientes que 40 sobreviven al período de PIC máxima, generalmente los tres días posteriores a un accidente cerebrovascular o una lesión cerebral traumática, probablemente sobrevivan. Desafortunadamente, solo unas pocas opciones de tratamiento están disponibles para el EC, y estas tienen una eficacia limitada.

45 La hiponatremia, caracterizada por niveles séricos de sodio ≤ 135 mM, es la forma más común de desequilibrio electrolítico en los hospitales de todo el país que informan una incidencia de 15-20%. La retención de líquidos asociada es sintomática de insuficiencia cardíaca (IC), cirrosis hepática, trastorno nefrótico y síndrome de secreción inadecuada de hormona antidiurética (SIADH). Se utilizan varios diuréticos para tratar la congestión asociada con la IC. Al inhibir el cotransportador de Na/K/Cl en el asa gruesa de Henle ascendente, los diuréticos de asa causan natriuresis al disminuir la reabsorción del Na⁺ y Cl⁻ de la orina. Una terapia alternativa para la hiponatremia es el uso de antagonistas de los receptores de vasopresina, que inhiben la reabsorción de agua al inhibir el tráfico de AQP2 50 inducido por la vasopresina. Desafortunadamente, tanto los diuréticos de asa como los antagonistas de los receptores de vasopresina actúan indirectamente hacia un resultado fisiológico deseado. Un medicamento ideal bloquearía la reabsorción de agua directamente, minimizando así los posibles efectos secundarios causados por los efectores aguas arriba, pero actualmente no se conocen tales medicamentos.

55 La epilepsia es un trastorno cerebral caracterizado por convulsiones recurrentes. Las convulsiones se producen debido a una actividad cerebral perturbada que resulta en algún grado de disfunción cerebral temporal. Las convulsiones pueden causar temblores incontrolables y pérdida de la consciencia, pero, más comúnmente, una persona que experimenta una convulsión deja de moverse o deja de darse cuenta de lo que está sucediendo. Los

anticonvulsivos pueden usarse para tratar la epilepsia, sin embargo, los anticonvulsivos no son eficaces en todas las personas con epilepsia.

5 La isquemia es una afección caracterizada por una interrupción o suministro inadecuado de sangre a los tejidos. La isquemia de la retina se produce debido a un suministro deficiente de sangre a la retina. La oclusión vascular, el glaucoma y la retinopatía diabética se asocian con isquemia de la retina y pueden producir edema de la retina y muerte de células ganglionares, lo que conduce al deterioro visual y ceguera. AQP4 se expresa en las células de Müller en la retina. Debido a un tratamiento relativamente ineficaz, la isquemia de la retina sigue siendo una causa común de discapacidad visual y ceguera.

10 La isquemia miocárdica es una afección causada por una obstrucción o constricción de una o más de las arterias coronarias, como puede ocurrir con la oclusión o ruptura de la placa aterosclerótica. El infarto de miocardio, un ataque cardíaco, se produce cuando la isquemia miocárdica supera un umbral crítico y supera los mecanismos de reparación celular del miocardio diseñados para mantener la función operativa normal y la homeostasis. El infarto de miocardio sigue siendo una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en todo el mundo. Compuestos eficaces en el tratamiento de la isquemia miocárdica, la lesión por isquemia/reperfusión del miocardio, el infarto de miocardio y la insuficiencia cardíaca congestiva serían productos farmacéuticos útiles.

15 Los compuestos de fenilbenzamida son conocidos como productos farmacéuticos. Las fenilbenzamidias incluyen compuestos como la niclosamida (5-cloro-*N*-(2-cloro-4-nitrofenil)-2-hidroxibenzamida), un agente antihelmíntico usado para tratar las tenías, pero no se sabe que tengan ningún efecto sobre las acuaporinas. El documento de patente de Estados Unidos US 2010/0274051 A1 describe ciertas fenilbenzamidias como útiles para inhibir NF- κ B a través de la inhibición selectiva de IKK- β , mientras que el documento de patente de Estados Unidos US 7.626.042 describe derivados de O-acilo de tales compuestos, mientras que el documento de patente de Estados Unidos 7.700.655 describe ciertas fenilbenzamidias como útiles para tratar enfermedades alérgicas. Estas solicitudes de patente, sin embargo, no revelan nada sobre el edema cerebral o desequilibrio del agua (acuairesis) o acuaporinas.

20 En un artículo de 2004, un grupo supuestamente investigó la eficacia de la *N*-(3,5-bis-trifluorometil-fenil)-5-cloro-2-hidroxi-benzamida en el bloqueo de la fosforilación de I κ B en el modelo de lesión de isquemia/reperfusión del miocardio en la rata. Onai, Y. et al., "Inhibition of I κ B phosphorylation in Cardiomyocytes Attenuates Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury," Cardiovascular Research, 2004, 63, 51-59. El grupo informó de alguna actividad. Sin embargo, posteriormente, el efecto de la actividad no se pudo confirmar y, por consiguiente, no se persiguió la *N*-(3,5-bis-trifluorometil-fenil)-5-cloro-2-hidroxi-benzamida para esta indicación en seres humanos.

25 Antes de esta invención no se han conocido inhibidores específicos y validados de las acuaporinas, por ejemplo, AQP4 o AQP2. Ciertos fármacos antiepilépticos o fármacos de sulfonamida (por ejemplo, acetilsulfanilamida, acetazolamida, 6-etoxi-benzotiazol-2-sulfonamida, topiramato, zonisamida, fenitoína, lamotrigina y sumatriptan) se informaron en un punto como posibles inhibidores de AQP4, pero esto, más adelante, se probó que era incorrecto. Yang, et al., Bioorganic & Medicinal Chemistry (2008) 16: 7489-7493. No se han reportado inhibidores directos de AQP2. La búsqueda de inhibidores de la acuaporina terapéuticamente útiles se ha visto obstaculizada por la falta de ensayos de selección eficaces de alto rendimiento, así como por la falta de inhibidores muy selectivos para desarrollar y validar los ensayos y para servir como controles positivos o competidores de la unión.

30 Existe una gran necesidad de enfoques mejorados para tratar y controlar enfermedades de desequilibrio hídrico, tales como el edema, por ejemplo el edema cerebral y retención de agua e hiponatremia, así como enfermedades como la epilepsia, isquemia de la retina, isquemia miocárdica, lesión de isquemia/reperfusión del miocardio, infarto de miocardio, hipoxia miocárdica, insuficiencia cardíaca congestiva, sepsis y neuromielitis óptica, así como migrañas.

Breve compendio de la invención

35 La invención proporciona el uso de inhibidores selectivos de la acuaporina, es decir, de la acuaporina-4 o la acuaporina-2 como se define en las reivindicaciones para la profilaxis, el tratamiento y el control de las afecciones mediadas por acuaporina reivindicadas, es decir, enfermedades específicas de desequilibrio del agua, por ejemplo, el edema. (en particular, el edema del cerebro y la médula espinal, por ejemplo, después de un traumatismo o un accidente cerebrovascular isquémico, así como el edema asociado con glioma, meningitis, mal agudo de montaña, convulsiones epilépticas, infecciones, trastornos metabólicos, intoxicación por agua, insuficiencia hepática, encefalopatía hepática, cetoacidosis diabética, abscesos, eclampsia, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob y lupus cerebritis, así como el edema como consecuencia de la microgravedad y/o la exposición a la radiación, así como el edema como consecuencia de procedimientos invasivos del sistema nervioso central, por ejemplo, neurocirugía, eliminación de coágulos endovasculares, punción espinal, reparación de aneurismas o estimulación cerebral profunda, así como edema de la retina, así como la inflamación del cerebro como consecuencia de un paro cardíaco, por ejemplo, relacionado con el desarrollo de la acidosis metabólica (por ejemplo, acidosis láctica) debida a la hipoxia antes del período de reanimación), así como a la hiponatremia y la retención excesiva de líquidos, así como a enfermedades como la epilepsia, isquemia de la retina, isquemia del miocardio, lesión por isquemia/reperfusión del miocardio, infarto de miocardio, hipoxia miocárdica, insuficiencia cardíaca congestiva y

neuromielitis óptica, así como migrañas. Las enfermedades mencionadas a continuación que no están cubiertas por el alcance de las reivindicaciones no forman parte de la invención.

La invención proporciona además el uso de ciertas fenilbenzamidias para inhibir las acuaporinas, particularmente AQP4 y AQP2.

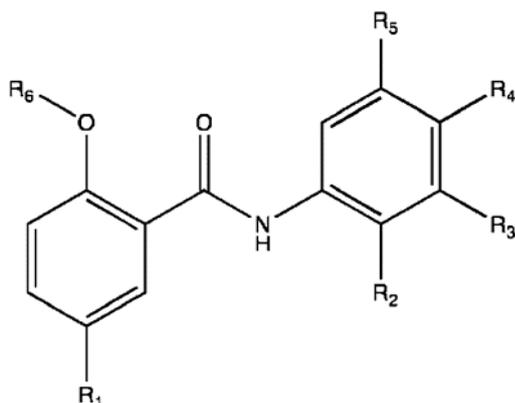
5 La invención proporciona, *inter alia*, métodos para tratar o controlar una enfermedad o afección mediada por una acuaporina, por ejemplo, enfermedades o afecciones de desequilibrio del agua y otras enfermedades, por ejemplo, edema del cerebro o la médula espinal, por ejemplo, edema cerebral, por ejemplo, edema cerebral como consecuencia de traumatismo craneoencefálico, accidente cerebrovascular isquémico, glioma, meningitis, mal agudo de montaña, convulsiones epilépticas, infecciones, trastornos metabólicos, hipoxia (incluyendo la hipoxia sistémica general y la hipoxia debida a paro cardíaco), intoxicación por agua, insuficiencia hepática, encefalopatía hepática, cetoacidosis diabética, abscesos, eclampsia, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, lupus cerebritis o procedimientos
10 invasivos del sistema nervioso central, por ejemplo, neurocirugía, eliminación de coágulos endovasculares, punción espinal, reparación de aneurismas, o estimulación cerebral profunda o, por ejemplo, edema de la médula espinal como consecuencia de un trauma de la médula espinal, por ejemplo, compresión de la médula espinal; o edema del nervio cerebral y/o óptico como consecuencia de la microgravedad y/o la exposición a la radiación; o

edema de la retina; o

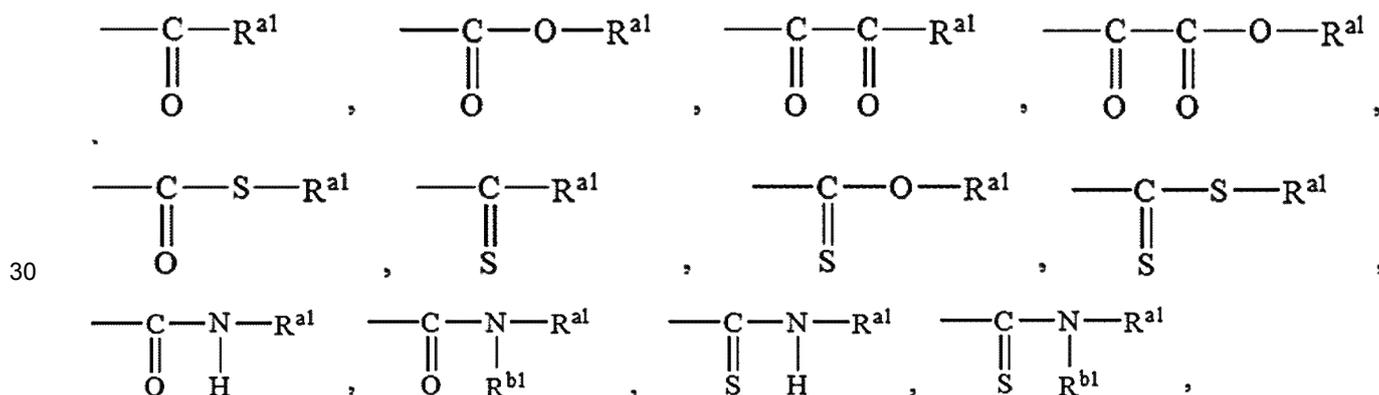
hiponatremia o retención excesiva de líquidos, p. ej., como consecuencia de insuficiencia cardíaca (IC), cirrosis hepática, trastorno nefrótico o síndrome de secreción inadecuada de hormona antidiurética (SIADH); o
20 del miocardio, hipoxia miocárdica, insuficiencia cardíaca congestiva o neuromielitis óptica; o

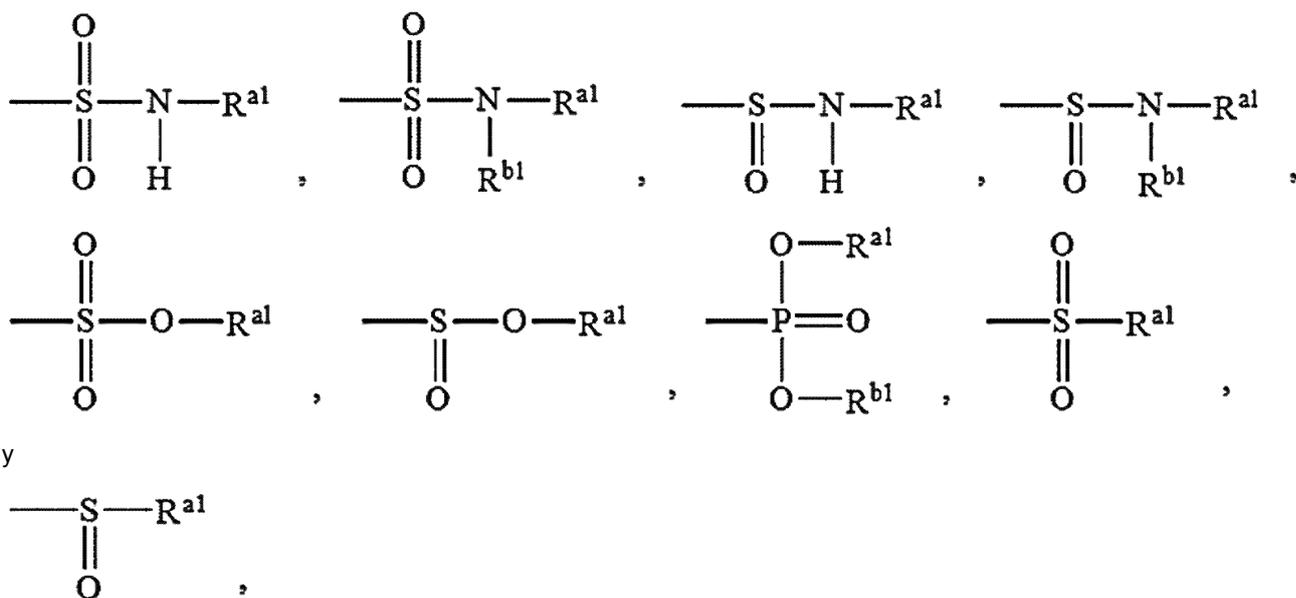
migrañas,

que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un inhibidor de la acuaporina, es decir, un inhibidor de AQP2 o AQP4, que es un compuesto de fenilbenzamida de fórmula 1a:



25 en donde R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ se seleccionan de H, halo, alquilo C₁₋₄ halogenado (por ejemplo, trifluorometilo) y ciano; y R₆ se selecciona de H, un residuo de un aminoácido, formilo, glioxiloilo, tioformilo, carbamilo, tiocarbamilo, sulfamilo, sulfinamilo, carboxi, sulfo, fosfona,

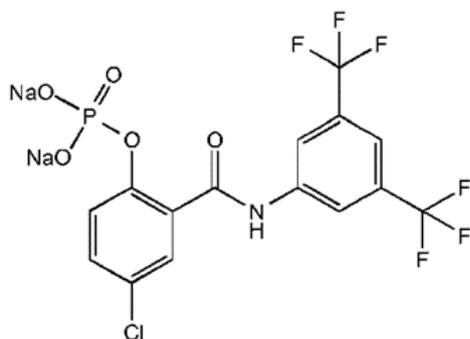




5 en donde R^{a1} y R^{b1} pueden ser iguales o diferentes y representan un grupo hidrocarbonado o un grupo heterocíclico, o R^{a1} y R^{b1} se combinan entre sí, junto con el átomo de nitrógeno al que se unen, forman un grupo amino cíclico; en forma libre o de sal farmacéuticamente aceptable.

La invención proporciona además ensayos de alto rendimiento para la identificación de acuaporinas específicas, que comprende medir la respuesta de una población celular que expresa acuaporina frente a una población celular de control a una solución hipertónica o hipotónica en presencia o ausencia de un compuesto de ensayo.

La invención proporciona además un compuesto de fórmula.



15 En la medida en que estén cubiertas por las reivindicaciones, otras áreas de aplicabilidad de la presente invención se harán evidentes a partir de la descripción detallada que se proporciona a continuación. Debe entenderse que la descripción detallada y los ejemplos específicos, aunque indican la forma de realización preferida de la invención, tienen el propósito de ilustrar solamente y no pretenden limitar el alcance de la invención.

Breve descripción de los dibujos

La presente invención se comprenderá más completamente a partir de la descripción detallada y los dibujos adjuntos, en los que:

20 La Figura 1 muestra los resultados del ensayo de cambio de volumen celular mediado por acuaporina-4 (Figura 1A) y acuaporina-2 (Figura 1B), y el efecto inhibitorio del compuesto 3 (compuesto de fórmula 1a donde R₁, R₃ y R₅ son cada uno cloro, y R₂, R₄ y R₆ son H) frente a estas acuaporinas.

La Figura 2 muestra la especificidad del compuesto 3 hacia AQP-1, AQP-2, AQP-4-M1, AQP-4-M23 y AQP-5.

25 La Figura 3 representa un ensayo de estilo Hummel-Dryer para el compuesto 4 marcado con [3H] (compuesto de fórmula 1a en donde R₁, R₃ y R₅ son cada uno trifluorometilo, y R₂, R₄ y R₆ son H) unidos a AQP4b purificada.

La Figura 4 muestra las curvas de supervivencia en porcentaje para el modelo de toxicidad por agua en el ratón utilizando 0,76 mg/kg del compuesto 1 (compuesto de fórmula 1a donde R₁ es cloro, R₃ y R₅ son cada uno trifluorometilo, y R₂, R₄ y R₆ son H).

La Figura 5 representa la inhibición de la formación de edema cerebral en un modelo de toxicidad por agua en el ratón determinada por el contenido de agua en el cerebro utilizando el compuesto 1.

La Figura 6 representa la inhibición de la formación de edema cerebral por el compuesto 1 en el modelo de toxicidad por agua en el ratón por análisis del volumen cerebral por IRM, con n = 14 ratones/tratamiento. Se muestra formación del edema en un curso de tiempo en el que no se compara ningún fármaco con el compuesto 1 a 0,76 mg/kg. El primer punto de tiempo en 5,67 minutos coincide con el corte de exploración en la mitad del cerebro durante la primera exploración posterior a la inyección. Otros puntos de tiempo se colocan de manera similar. Los datos se ajustan a una sola ecuación exponencial:

$V/V_0 = V_i + dV_{\max}(1 - e^{-kt})$; donde V/V_0 = volumen cerebral relativo, V_i = volumen cerebral relativo inicial, dV_{\max} = cambio máximo en el volumen cerebral relativo, k = constante de velocidad de primer orden (min^{-1}), y t = tiempo en minutos.

La Figura 7 muestra el ensayo de punto final de fluorescencia de calceína utilizado para el cribado de alto rendimiento.

La Figura 8 muestra la validación de aciertos usando el ensayo de acuaporina de explosión de la célula, el recuadro muestra la estructura del compuesto 3.

La Figura 9 muestra la reducción de la presión intracraneal (ICP) en el modelo de toxicidad por agua en el ratón con el compuesto 1 a 0,76 mg/kg.

La Figura 10 muestra los niveles plasmáticos y séricos del compuesto 1 convertido a partir del Compuesto 5 (compuesto de fórmula 1a donde R_1 es cloro, R_3 y R_5 son cada uno trifluorometilo, R_2 y R_4 son H, y R_6 es $P(=O)(O)_2$ en forma de sal disódica).

La Figura 11 muestra el modelo de accidente cerebrovascular isquémico de oclusión de la arteria cerebral media (MCAo), en el ratón.

La Figura 12 muestra el cambio relativo en el volumen cerebral hemisférico en el modelo de oclusión de la arteria cerebral media (MCAo) en el ratón.

La Figura 13 muestra el resultado neurológico después de MCAo en ratones tratados con solución salina (sin fármaco, •) o Compuesto 5 (o).

Descripción detallada de la invención

La siguiente descripción de las formas de realización preferidas es de naturaleza meramente ejemplar y de ninguna manera pretende limitar la invención, su aplicación o usos.

La expresión de aquaporin-4 (AQP4) está regulada al alza en modelos animales de trauma, accidente cerebrovascular e intoxicación por agua, así como alrededor de los tumores cerebrales malignos humanos. Se ha demostrado que la aquaporina-4 (AQP4) desempeña un papel fundamental en el desarrollo del edema cerebral y de la médula espinal. AQP4 proporciona la ruta principal para el movimiento del agua a través de BHE (barrera hematoencefálica) y *glia limitans*. Los ratones knockout para AQP4, sin el gen AQP4, tienen mejor supervivencia, en comparación con los ratones de tipo silvestre, en modelos de accidente cerebrovascular isquémico, toxicidad por agua, meningitis bacteriana y compresión de la médula espinal.

El edema cerebral (EC) generalmente se divide en 2 categorías principales: vasogénico y citotóxico. El edema cerebral vasogénico puede ocurrir cuando una brecha en la barrera hematoencefálica (BHE) permite que el agua y los solutos se difundan en el cerebro. Se ha informado que los ratones con AQP4 nulo tienen el edema cerebral aumentado en un modelo de hemorragia subaracnoidea, lo que sugiere que la AQP4 puede ser necesaria para la depuración del agua recolectada en el espacio intercelular. Por el contrario, el edema cerebral citotóxico puede iniciarse por una isquemia que produce una reducción de la osmolalidad plasmática en lugar de una BHE interrumpida. La isquemia puede disminuir los niveles de ATP, lo que se cree que ralentiza la bomba de $\text{ATPase Na}^+\text{-K}^+$, lo que da lugar a una captación de Na^+ y Cl^- , a través de las vías de fuga. El efecto neto puede ser un desequilibrio osmótico celular, conduciendo el H_2O dentro de las células - astrocitos más que en las neuronas - y conduciendo a un aumento de la PIC. Los modelos de ratón para el accidente cerebrovascular isquémico, la toxicidad por agua, la meningitis bacteriana y la compresión de la médula espinal entran en esta categoría. En estos modelos, los ratones con AQP4 nulo tienen reducido el EC, apuntando a la AQP4 como la vía central para el movimiento del agua en el cerebro durante la formación del EC citotóxico. Sin embargo, el edema citotóxico y vasogénico no son categorías claramente divididas; una lesión que inicialmente causa un edema citotóxico puede ser seguida más adelante, por ejemplo, en las próximas horas o días, por un edema vasogénico. Esto puede sugerir diferentes tratamientos para el edema cerebral en diferentes momentos.

Se ha informado de que la propensión a las convulsiones epilépticas está relacionada con el volumen relativo del espacio celular y extracelular (ECS). La hiperexcitabilidad y el aumento de la actividad epileptiforme se deben a la

exposición hipotónica que disminuye el volumen del ECS, mientras que la actividad epileptiforme atenuada se debe al medio hiperosmolar. Se ha informado de que la furosemida, que bloquea la inflamación celular inducida por convulsiones, inhibe la actividad epileptiforme *in vitro* e *in vivo*. Se informó que los ratones knockout para AQP4 tenían una menor susceptibilidad a las convulsiones por el convulsivo pentileno tetrazol y un mayor umbral de convulsiones electrográficas cuando las convulsiones se inducían por estimulación eléctrica en el hipocampo. También se informó de que los ratones knockout para AQP4 tenían convulsiones evocadas por estimulación del hipocampo más prolongadas en comparación con los ratones de tipo silvestre.

AQP4 se expresa en las células de Müller en la retina. Los estudios han implicado a las células de Müller en la patogénesis de la lesión de la retina después de la isquemia. Se ha informado de que la eliminación de AQP4 en ratones confirió una preservación significativa de la función y arquitectura de la retina después de la isquemia de la retina.

Se ha informado de que AQP4 se encuentra en el corazón de los mamíferos. Se ha informado de que la expresión de AQP4 en el corazón humano está presente tanto a nivel de ARNm como de proteína. El agua se acumula en el miocardio como resultado de la isquemia, cuando el tejido isquémico se vuelve hiperosmolar y atrae el agua desde el lumen capilar. El agua se transporta a las células del miocardio, por ejemplo, a los cardiomiocitos. La reperfusión suministra sangre normoosmolar a las células hiperosmolares, lo que conduce a una mayor inflamación celular, que puede incluso involucrar células fuera del área de riesgo. Esta acumulación de agua conduce a una pronunciada depresión de la función cardíaca y agrava los efectos de la escasez en el suministro de oxígeno y nutrientes. La lesión por isquemia/reperfusión del miocardio se refiere al daño causado por isquemia seguido de reperfusión en el corazón. Se ha informado de que los ratones knockout para AQP4 tienen un tamaño de infarto reducido tanto después de la isquemia-reperfusión *ex vivo* como después de la isquemia *in vivo* sin reperfusión. Se concluyó que el genotipo knockout AQP4 confirió mayor tolerancia a la lesión isquémica.

La neuromielitis óptica (NMO) es una enfermedad desmielinizante neuroinflamatoria que afecta principalmente al nervio óptico y la médula espinal. Una característica de la NMO es la presencia de anticuerpos séricos dirigidos contra epítomos extracelulares en AQP4. Se ha informado de que la mayoría, si no todos, los pacientes con NMO son seropositivos para autoanticuerpos AQP4 (NMO-IgG). Se cree que la unión de NMO-IgG a AQP4 en los astrocitos inicia una cascada inflamatoria y la neuroinflamación y la pérdida de mielina consiguiente producen déficits neurológicos. El bloqueo de la unión de esos anticuerpos a AQP4 podría prevenir el inicio de la cascada inflamatoria.

En una forma de realización, la invención proporciona compuestos como se describen a continuación para su uso en el tratamiento del edema mediado por acuaporina, por ejemplo, AQP4, en donde el edema es consecuencia de la hipoxia, por ejemplo, hipoxia general sistémica, por ejemplo, hipoxia causada por una interrupción de la perfusión sanguínea, por ejemplo en donde el edema es un edema cerebral como consecuencia de la hipoxia causada por un paro cardíaco, un accidente cerebrovascular u otra interrupción de la perfusión sanguínea en el cerebro, o en donde el edema es un edema cardíaco como consecuencia de una isquemia cardíaca u otra interrupción del flujo sanguíneo hacia el corazón. La hipoxia puede conducir al desarrollo de acidosis metabólica (por ejemplo, acidosis láctica), que a su vez produce edema, y el propio edema puede reducir la perfusión sanguínea, lo que lleva a la muerte celular y resultados más deficientes, especialmente en tejidos donde la inflamación está físicamente restringida, por ejemplo dentro del cráneo o dentro del pericardio. Se cree que esta hipoxia es la razón por la cual, por ejemplo, los pacientes que han sido rescatados de un paro cardíaco pueden exhibir posteriormente una inflamación cerebral, así como daños en el tejido cardíaco. El bloqueo de los canales de acuaporina, por ejemplo, AQP4, por ejemplo, mediante la administración de un compuesto inhibidor de la acuaporina como se describe en este documento, inhibe o controla este edema, limitando así el daño adicional al tejido afectado.

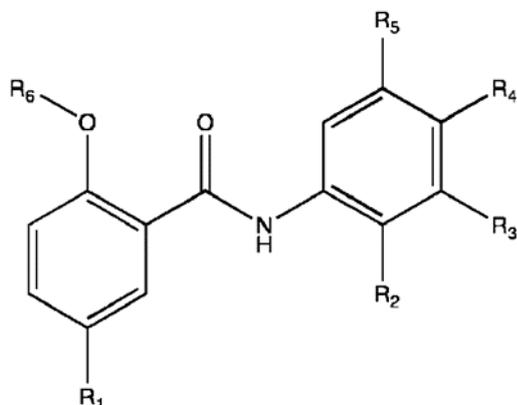
Aquaporin-2 (AQP2) es la ruta principal de movimiento de agua en el conducto colector en el riñón. Bloquear este canal de agua disminuiría la reabsorción de agua sin incurrir en desequilibrios de electrolitos o interferir con la señalización mediada por el receptor de vasopresina. La evidencia de que un bloqueador de AQP2 no produciría desequilibrios electrolíticos y, en cambio, sería un tratamiento eficaz para la hiponatremia, proviene de pacientes con diabetes insípida que carecen de AQP2 funcional. Muestran acuarensis crónica pero, si se mantiene la hidratación normal, no demuestran ninguna otra consecuencia de su pérdida a largo plazo de la función de AQP2.

La invención proporciona así el uso de inhibidores de la acuaporina para controlar enfermedades o afecciones específicas del desequilibrio del agua, incluido el edema, en particular el edema del cerebro y la médula espinal, por ejemplo, después de un traumatismo o accidente cerebrovascular isquémico, así como el edema asociado con glioma, meningitis, mal de montaña agudo, convulsiones epilépticas, infecciones, trastornos metabólicos, hipoxia, intoxicación por agua, insuficiencia hepática, encefalopatía hepática, hipoxia y cetoacidosis diabética mediante la inhibición de la captación de agua a través de la BHE, y también son útiles para tratar y controlar la hiponatremia y la retención excesiva de líquidos, mediante la inhibición de la captación de agua en los riñones. Esta invención también proporciona el uso de inhibidores de la acuaporina para controlar enfermedades o afecciones que incluyen la epilepsia, isquemia de la retina, isquemia miocárdica, lesión de isquemia/reperfusión del miocardio, infarto del miocardio, hipoxia miocárdica, insuficiencia cardíaca congestiva, neuromielitis óptica y migrañas.

En una forma de realización, la invención proporciona un compuesto para uso en un método (Método 1) para tratar o controlar una enfermedad o afección mediada por una acuaporina que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un compuesto de fenilbenzamida, en donde el compuesto se selecciona de las formas libres o de sales farmacéuticamente aceptables de:

- 5 N-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]-5-fluoro-2-hidroxibenzamida,
 N-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]-5-ciano-2-hidroxibenzamida,
 N-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]-2-hidroxi-5-(trifluorometil)benzamida,
 N-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]-2-hidroxi-5-(1,1,2,2,2-pentafluoroetil)benzamida,
 N-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]-5-(2,2-dicianoeteno-1-il)-2-hidroxibenzamida,
- 10 N-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]-5-etinil-2-hidroxibenzamida,
 N-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]-2-hidroxi-5-(feniletinil)benzamida,
 N-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]-2-hidroxi-5-[(trimetilsilil)etinil]benzamida,
 N-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]-4-hidroxibifenil-3-carboxamida,
 N-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]-2-hidroxi-5-(3-tienil)benzamida,
- 15 N-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]-2-hidroxi-5-(1-pirrolil)benzamida,
 N-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]-2-hidroxi-5-(2-metiltiazol-4-il)benzamida,
 N-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]-2-hidroxi-5-(2-piridil)benzamida,
 N-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]-5-dimetilsulfamoil-2-hidroxibenzamida,
 N-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]-2-hidroxi-5-(pirrol-1-sulfonyl)benzamida,
- 20 N-[2,5-bis(trifluorometil)fenil]-5-cloro-2-hidroxibenzamida,
 N-(2,5-bis(trifluorometil)fenil)-5-bromo-2-hidroxibenzamida,
 2-acetoxi-N-[2,5-bis(trifluorometil)fenil]-5-clorobenzamida,
 2-acetoxi-N-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]-5-clorobenzamida,
 5-cloro-N-[2-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-2-hidroxibenzamida,
- 25 5-cloro-N-[2-fluoro-5-(trifluorometil)fenil]-2-hidroxibenzamida,
 5-cloro-N-[2-cloro-5-(trifluorometil)fenil]-2-hidroxibenzamida,
 5-bromo-N-[2-cloro-5-(trifluorometil)fenil]-2-hidroxibenzamida,
 2-acetoxi-5-cloro-N-[2-cloro-5-(trifluorometil)fenil]benzamida,
 5-cloro-N-[3-fluoro-5-(trifluorometil)fenil]-2-hidroxibenzamida,
- 30 5-bromo-N-[3-bromo-5-(trifluorometil)fenil]-2-hidroxibenzamida,
 5-cloro-N-[3-fluoro-5-(trifluorometil)fenil]-2-hidroxibenzamida,
 5-cloro-N-[4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil]-2-hidroxibenzamida,
 5-bromo-N-[4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]-2-hidroxibenzamida,
 5-cloro-2-hidroxi-N-[2-nitro-5-(trifluorometil)fenil]benzamida,
- 35 5-bromo-N-[4-ciano-3-(trifluorometil)fenil]-2-hidroxibenzamida,
 5-cloro-2-hidroxi-N-[2-metil-3-(trifluorometil)fenil]benzamida,
 5-cloro-2-hidroxi-N-[2-metil-5-(trifluorometil)fenil]benzamida,

- 2-hidroxi-5-metil-N-[2-metil-5-(trifluorometil)fenil]benzamida,
 5-cloro-2-hidroxi-N-[4-metil-3-(trifluorometil)fenil]benzamida,
 2-hidroxi-5-metil-N-[4-metil-3-(trifluorometil)fenil]benzamida,
 5-bromo-2-hidroxi-N-[2-metoxi-5-(trifluorometil)fenil]benzamida,
 5 5-cloro-2-hidroxi-N-[2-metoxi-5-trifluorometil]fenil]benzamida,
 5-bromo-2-hidroxi-N-[3-metoxi-5-(trifluorometil)fenil]benzamida,
 5-cloro-2-hidroxi-N-[4-metoxi-3-(trifluorometil)fenil]benzamida,
 5-cloro-2-hidroxi-N-[2-metilsulfanil-5-(trifluorometil)fenil]benzamida,
 5-cloro-2-hidroxi-N-[2-(1-pirrolidino)-5-(trifluorometil)fenil]benzamida,
 10 5-cloro-2-hidroxi-N-[2"-morfolino-5-(trifluorometil)fenil]benzamida,
 5-bromo-N-[5-bromo-4-(trifluorometil)tiazol-2-il]-2-hidroxibenzamida,
 5-cloro-N-[5-ciano-4-[(1,1-dimetil)etil]tiazol-2-il]-2-hidroxibenzamida,
 5-bromo-N-[5-ciano-4-[(1,1-dimetil)etil]tiazol-2-il]-2-hidroxibenzamida,
 Éster etílico del ácido 2-(5-bromo-2-hidroxibenzoil)amino-4(trifluorometil)tiazol-5-carboxílico; o
 15 un compuesto de fórmula 1a:

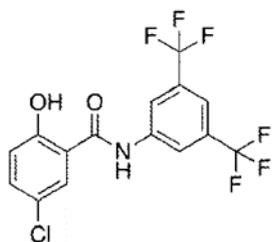


- en donde R_1 , R_2 , R_3 , R_4 y R_5 se seleccionan de H, halo, alquilo C_{1-4} halogenado (por ejemplo, trifluorometilo) y ciano; y R_6 se selecciona de H y acilo fisiológicamente hidrolizable y aceptable como se define a continuación, o, por ejemplo, en donde R_6 es acilo C_{1-4} (por ejemplo acetilo); o el residuo de un aminoácido; o un grupo carbonilo de anillo heterocíclico no aromático de 5 a 6 miembros, por ejemplo un grupo carbonilo de anillo heterocíclico no aromático de 5 a 6 miembros que comprende al menos un átomo de nitrógeno como átomo constitutivo del anillo (átomos que forman el anillo) de dicho anillo heterocíclico y se une al grupo carbonilo en el átomo de nitrógeno, por ejemplo, donde dicho anillo heterocíclico no aromático de 5 a 6 miembros se selecciona del grupo 1-pirrolidinilo, el grupo piperidino, el grupo morfolino y el grupo 1-piperazinilo, y dicho anillo heterocíclico puede estar sustituido con uno o más sustituyentes, por ejemplo, seleccionados independientemente de un grupo alquilo, un grupo alquil-oxi-carbonilo y un grupo carboxi; por ejemplo, (morfolin-4-il)carbonilo; o un grupo carbamoilo N,N-di-sustituido, en donde dos sustituyentes de dicho grupo carbamoilo pueden combinarse entre sí, junto con el átomo de nitrógeno al que se unen, para formar un grupo heterocíclico que contiene nitrógeno que puede estar sustituido; o un grupo fosfono, que puede estar sustituido, por ejemplo, dibencil fosfono, o no sustituido;
- 20
 25
 30 en forma libre, o de sal farmacéuticamente aceptable.

1.1 Método 1 en donde el compuesto es un compuesto de fórmula 1a en donde R_1 se selecciona de trifluorometilo, cloro, fluoro y bromo; R_3 y R_5 son iguales o diferentes y se seleccionan de trifluorometilo, cloro, fluoro y bromo; y R_2 y R_4 son ambos H.

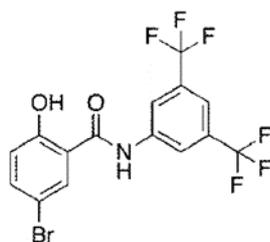
1.2 Método 1.1 en donde el compuesto es un compuesto de fórmula 1a en donde R_1 se selecciona de cloro y bromo; R_3 y R_5 son ambos trifluorometilo; y R_2 , R_4 y R_6 son todos H, por ejemplo, en donde el compuesto de fórmula 1a se selecciona de:

35



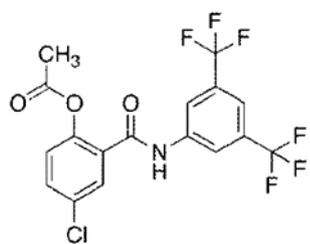
Compuesto 1

y

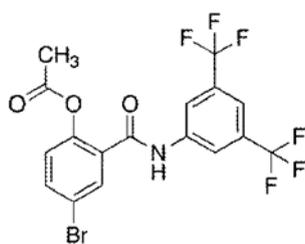


Compuesto 2

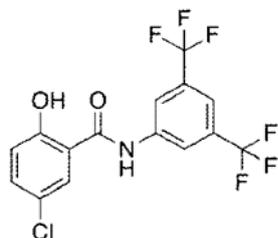
- 5 1.5 Método 1. o 1.1 en donde el compuesto es un compuesto de fórmula 1a en donde R₁ se selecciona de cloro y bromo; R₃ y R₅ son ambos trifluorometilo; y R₂ y R₄ son H y R₆ es acetilo, por ejemplo, en donde el compuesto de fórmula 1a se selecciona de:



y



- 1.6 Método 1.2 en donde el compuesto de fórmula 1a es el compuesto 1



- 10 1.7 Método 1.1 en donde el compuesto es un compuesto de fórmula 1a en donde R₁, R₃ y R₅ son cada uno cloro, y R₂, R₄ y R₆ son cada uno H (compuesto 3).

- 1.8 Método 1.1 en donde el compuesto es un compuesto de fórmula 1a en donde R₁, R₃ y R₅ son cada uno trifluorometilo, y R₂, R₄ y R₆ son cada uno H (compuesto 4).

- 1.9. Método 1. o 1.1 en donde el compuesto es un compuesto de fórmula 1a, y R₆ es aciloC₁₋₄ (por ejemplo acetilo).

- 15 1.10. Método 1. o 1.1 en donde el compuesto es un compuesto de fórmula 1a, y R₆ es el residuo de un aminoácido.

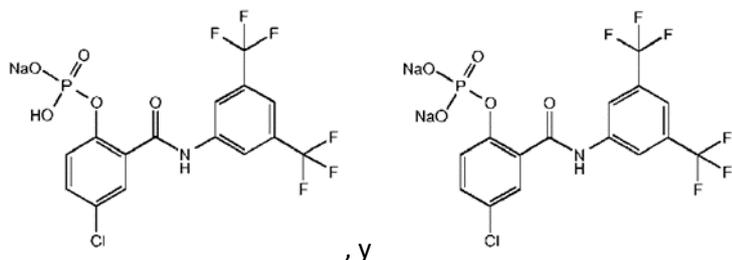
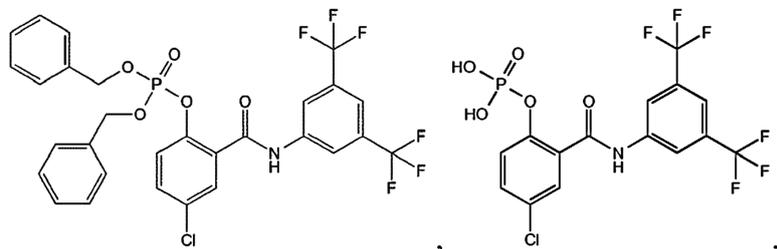
- 20 1.11. Método 1. o 1.1 en donde el compuesto es un compuesto de fórmula 1a, y R₆ es un grupo carbonilo de un anillo heterocíclico no aromático de 5 a 6 miembros, por ejemplo un grupo carbonilo de un anillo heterociclo de 5 a 6 miembros del grupo de anillo carbonilo heterocíclico no aromático que comprende al menos un átomo de nitrógeno como átomo constitutivo del anillo (átomos que forman el anillo) de dicho anillo heterocíclico y se une al grupo carbonilo en el átomo de nitrógeno, por ejemplo, en donde dicho anillo heterocíclico no aromático de 5 a 6 miembros se selecciona del grupo 1-pirrolidinilo, grupo piperidino, grupo morfolino y grupo 1-piperazinilo, y dicho anillo heterocíclico puede estar sustituido con uno o más sustituyentes, por ejemplo, seleccionados independientemente de un grupo alquilo, un grupo alquil-oxi-carbonilo y un grupo carboxi ; por ejemplo, en donde R₆ es (morfolin-4-il)carbonilo.

- 1.12. Método 1. o 1.1 en donde el compuesto es un compuesto de fórmula 1a, y R₆ es un grupo carbamoilo N,N-disustituido, en donde dos sustituyentes de dicho grupo carbamoilo puede combinarse entre sí, junto con el átomo de nitrógeno al cual se unen para formar un grupo heterocíclico que contiene nitrógeno que puede estar sustituido.

- 30 1.13. Método 1. o 1.1 en donde el compuesto es un compuesto de fórmula 1a, y R₆ es un grupo (morfolin-4-il)carbonilo.

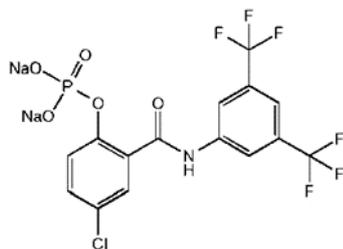
1.14. Método 1. o 1.1 en donde el compuesto es un compuesto de fórmula 1a, y R₆ es un grupo fosfono, que puede estar sustituido, por ejemplo dibencilfosfono, o no sustituido.

1.15. Método 1.14 en donde el compuesto de fórmula 1a se selecciona de:

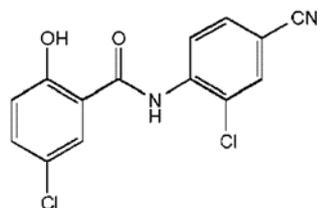


5

1.16. Método 1.15 en donde el compuesto de fórmula 1a es el compuesto 5



1.17. Método 1 en donde el compuesto de fenilbenzamida es el compuesto que se muestra a continuación



10 1.18. Cualquiera de los métodos 1, y siguientes en donde la acuaporina es AQP4.

1.19. Cualquiera de los métodos 1, y siguientes en donde la afección a ser tratada o controlada se selecciona de un edema, por ejemplo, edema del cerebro o la médula espinal, por ejemplo, edema cerebral, por ejemplo, edema cerebral como consecuencia de traumatismo craneoencefálico, accidente cerebrovascular isquémico, glioma, meningitis, mal agudo de montaña, convulsiones epilépticas, infecciones, trastornos metabólicos, intoxicación por agua, insuficiencia hepática, encefalopatía hepática o cetoacidosis diabética o, por ejemplo, edema de la médula espinal, por ejemplo, edema de la médula espinal como consecuencia de un traumatismo de la médula espinal, por ejemplo, compresión de la médula espinal.

1.20. El método 1.19 comprende además un tratamiento seleccionado de uno o más de los siguientes: posicionamiento óptimo de la cabeza y el cuello para facilitar el flujo venoso, por ejemplo, elevación de la cabeza 30°; evitar la deshidratación; hipotensión sistémica; mantenimiento de normotermia o hipotermia; medidas agresivas; osmotherapia, por ejemplo, usando manitol o solución salina hipertónica; hiperventilación; terapia presora terapéutica para potenciar la perfusión cerebral; administración de barbitúricos para reducir el metabolismo cerebral (CMO₂); hemicraniectomía; administración de aspirina; administración de amantadina; trombolisis intravenosa (por ejemplo, usando rtPA); eliminación mecánica de coágulos; angioplastia; y/o stents.

1.21. Cualquiera de los métodos 1, y siguientes en donde el paciente tiene un riesgo elevado de edema cerebral, por ejemplo, debido a traumatismo craneal, accidente cerebrovascular isquémico, glioma, meningitis, mal de

montaña agudo, convulsiones epilépticas, infección, trastorno metabólico, intoxicación por agua, insuficiencia hepática, encefalopatía hepática o cetoacidosis diabética.

- 1.22. Método 1.19 en donde el paciente ha sufrido un accidente cerebrovascular, lesión en la cabeza o lesión en la columna vertebral.
- 5 1.23. Método 1.22 en donde el paciente ha sufrido un accidente cerebrovascular, lesión en la cabeza o lesión en la columna vertebral dentro de las 12 horas, por ejemplo, dentro de las 6 horas, preferiblemente dentro de las 3 horas de comenzar el tratamiento.
- 1.24. Método 1.19 en donde el paciente tiene un riesgo elevado de sufrir un accidente cerebrovascular, lesión en la cabeza o lesión en la columna vertebral, por ejemplo, en combate o en una competición atlética.
- 10 1.25. Cualquiera de los métodos 1, y siguientes en donde el paciente ya tiene edema cerebral.
- 1.26. Cualquiera de los métodos 1, y siguientes en donde la afección a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de un accidente cerebrovascular o una lesión cerebral traumática.
- 1.27. Cualquiera de los métodos 1, y siguientes en donde la afección a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de un accidente cerebrovascular en la arteria cerebral media.
- 15 1.28. Cualquiera de los métodos 1, y siguientes en donde la afección a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de un traumatismo craneal cerrado.
- 1.29. Cualquiera de los métodos 1-1.21, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de convulsiones epilépticas.
- 20 1.30. Cualquiera de los métodos 1-1.21, en donde la afección a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de una infección.
- 1.31. Cualquiera de los métodos 1-1.21, en donde la afección a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de un trastorno metabólico.
- 1.32. Cualquiera de los métodos 1-1.21, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de un glioma.
- 25 1.33. Cualquiera de los métodos 1-1.21, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de la meningitis, el mal agudo de montaña o la intoxicación por agua.
- 1.34. Cualquiera de los métodos 1-1.21, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de una insuficiencia hepática, encefalopatía hepática o cetoacidosis diabética.
- 30 1.35. Cualquiera de los métodos 1-1.20, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de un absceso.
- 1.36. Cualquiera de los métodos 1-1.20, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de la eclampsia.
- 1.37. Cualquiera de los métodos 1-1.20 en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob.
- 35 1.38. Cualquiera de los métodos 1-1.20, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia del lupus cerebritis.
- 1.39. Cualquiera de los métodos 1-1.20 en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema como consecuencia de la hipoxia, por ejemplo, hipoxia sistémica general, por ejemplo, la hipoxia causada por una interrupción de la perfusión de sangre, por ejemplo, en donde el edema es un edema cerebral como consecuencia de la hipoxia causada por un paro cardíaco, accidente cerebrovascular u otra interrupción de la perfusión sanguínea en el cerebro, o en donde el edema es un edema cardíaco como consecuencia de una isquemia cardíaca u otra interrupción del flujo sanguíneo al corazón.
- 40 1.40. Cualquiera de los métodos 1-1.20, en donde la afección a tratar o controlar es un edema cerebral y/o del nervio óptico como consecuencia de la microgravedad y/o la exposición a la radiación, por ejemplo, la exposición en vuelos espaciales o trabajo con materiales radiactivos o trabajo en áreas radioactivas.
- 45 1.41. Cualquiera de los métodos 1-1.20 en donde la afección a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de procedimientos invasivos del sistema nervioso central, por ejemplo, neurocirugía, eliminación de coágulos endovasculares, punción espinal, reparación de aneurismas o estimulación cerebral profunda.

- 1.42. Método 1.40 o 1.41 en donde el paciente tiene un riesgo elevado de edema, por ejemplo, debido a la micro gravedad y/o exposición a la radiación, neurocirugía, eliminación de coágulos endovasculares, punción espinal, reparación de aneurismas o estimulación cerebral profunda.
- 1.43. Método 1.40 o 1.41 en donde el paciente ya tiene un edema.
- 5 1.44. Cualquiera de los métodos 1, y siguientes en donde el edema es un edema cerebral citotóxico o es principalmente edema cerebral citotóxico.
- 1.45. Cualquiera de los métodos 1-1.34 o 1.39 en donde el edema es un edema cerebral citotóxico o es principalmente edema cerebral citotóxico.
- 10 1.46. Cualquiera de los métodos 1-1.19 en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema de la médula espinal, por ejemplo, edema de la médula espinal como consecuencia de un trauma de la médula espinal, por ejemplo, compresión de la médula espinal.
- 1.47. Método 1.46 en donde la afección que se va a tratar o controlar es el edema de la médula espinal como consecuencia de la compresión de la médula espinal.
- 15 1.48. Cualquiera de los métodos 1-1.19 en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema de la retina.
- 1.49. Cualquiera de los métodos 1-1.18 en donde la afección que se va a tratar o controlar es la epilepsia.
- 1.50. Cualquiera de los métodos 1-1.18 en donde la afección que se va a tratar o controlar es la isquemia de la retina u otras enfermedades del ojo asociadas con anomalías en la presión intraocular y/o hidratación del tejido.
- 20 1.51. Cualquiera de los métodos 1-1.18 en donde la afección que se va a tratar o controlar es la isquemia del miocardio.
- 1.52. Cualquiera de los métodos 1-1.18, en donde la afección que se va a tratar o controlar es una lesión por isquemia/reperfusión del miocardio.
- 1.53. Cualquiera de los métodos 1-1.18, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un infarto del miocardio.
- 25 1.54. Cualquiera de los métodos 1-1.18 en donde la afección que se va a tratar o controlar es la hipoxia miocárdica.
- 1.55. Cualquiera de los métodos 1-1.18 en donde la afección que se va a tratar o controlar es la insuficiencia cardíaca congestiva.
- 1.56. Cualquiera de los métodos 1-1.18 en donde la afección que se va a tratar o controlar es la sepsis.
- 30 1.57. Cualquiera de los métodos 1-1.18 en donde la afección que se va a tratar o controlar es una migraña.
- 1.58. Cualquiera de los métodos 1-1.17 en donde la acuaporina es AQP2.
- 1.59. Cualquiera de los métodos 1-1.17 o 1.58 en donde la afección a tratar es la hiponatremia o retención excesiva de líquidos, por ejemplo, como consecuencia de la insuficiencia cardíaca (IC), por ejemplo, insuficiencia cardíaca congestiva, cirrosis hepática, trastorno nefrótico o síndrome de secreción inadecuada de hormona antidiurética (SIADH).
- 35 1.60. Cualquiera de los métodos 1-1.17 o 1.58-1.59 que comprende además uno o más de restricción de sodio, y líquido y/o alcohol en la dieta; y/o la administración de uno o más diuréticos, antagonistas del receptor de vasopresina, inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (ECA), inhibidores de la aldosterona, bloqueadores del receptor de la angiotensina (BRAs), antagonistas beta-adrenérgicos (bloqueadores beta) y/o digoxina.
- 40 1.61. Cualquiera de los métodos 1, y siguientes en donde el compuesto de fórmula 1a inhibe la actividad de la acuaporina, por ejemplo, la actividad de AQP2 y/o AQP4, en al menos un 50% en concentraciones de 10 micromolar o menos, por ejemplo, inhibe la actividad de APQ2 y/o AQP4 en al menos un 50% en concentraciones de 10 micromolar o menos en un ensayo de cambio de volumen celular mediado por acuaporina, por ejemplo, es activo en cualquiera de los ensayos del método 10, y siguientes a continuación.
- 45 1.62. Cualquiera de los métodos 1-1.18 en donde la afección que se va a tratar o controlar es la neuromielitis óptica.
- 1.63. Cualquiera de los métodos 1, y siguientes en donde el compuesto de fórmula 1a se administra por vía oral.

1.64. Cualquiera de los métodos 1, y siguientes en donde el compuesto de fórmula 1a se administra por vía parenteral.

1.65. Método 1.64 en donde el compuesto de fórmula 1a se administra por vía intravenosa.

1.66. Cualquiera de los métodos 1, y siguientes en donde el paciente es un ser humano.

5 1.67. Cualquiera de los métodos 1, y siguientes en donde el inicio de la acción de cualquiera de los compuestos identificados en los métodos 1-1.17 es bastante rápido.

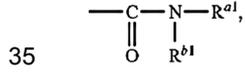
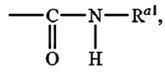
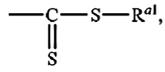
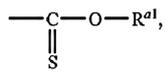
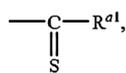
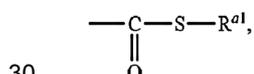
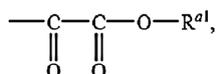
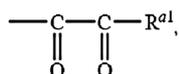
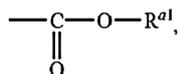
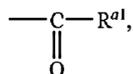
La invención proporciona además un compuesto de fenilbenzamida de fórmula 1a como se describió en este documento anteriormente, para uso en el tratamiento o control de una enfermedad o afección mediada por una acuaporina, por ejemplo, en cualquiera de los métodos 1, 1.1 y siguientes.

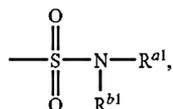
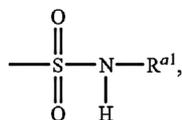
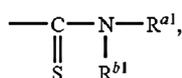
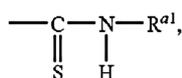
10 La invención proporciona además un compuesto de fenilbenzamida de fórmula 1a como se describió anteriormente en la presente invención, en la fabricación de un medicamento para tratar o controlar una enfermedad o afección mediada por una acuaporina, por ejemplo, para usar en cualquiera de los métodos 1, 1.1 y siguientes.

15 La invención proporciona además una composición farmacéutica que comprende una fenilbenzamida, un compuesto de fórmula 1a como se describe en este documento anteriormente, en combinación con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable para uso en el tratamiento o control de una enfermedad o afección mediada por una acuaporina, por ejemplo, en cualquiera de los métodos. 1, 1.1, y siguientes

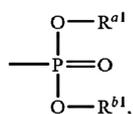
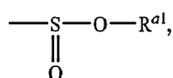
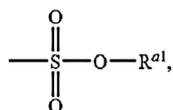
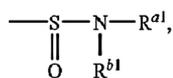
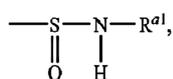
20 Las fenilbenzamidias de fórmula 1a como se describieron anteriormente en este documento, pueden existir en forma libre o en forma de sal, por ejemplo, como sales de adición de ácido. En esta solicitud, a menos que se indique lo contrario, se entenderá que lenguaje como "compuesto de fórmula 1a" o "compuestos de fórmula 1a" abarca los compuestos en cualquier forma, por ejemplo, en forma de sal de adición de base o ácido libre. Las sales farmacéuticamente aceptables son conocidas en la técnica e incluyen sales que son fisiológicamente aceptables en la cantidad y forma de dosificación que se va a administrar, por ejemplo, hidroclouros.

25 El grupo acilo se selecciona de un residuo de un aminoácido, formilo, grupo glioxiloilo, grupo tioformilo, grupo carbamoilo, grupo tiocarbamoilo, grupo sulfamoilo, grupo sulfinamoilo, grupo carboxi, grupo sulfo, grupo fosfono y grupos representados por las siguientes fórmulas:

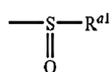
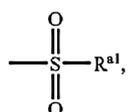




5



10



en donde R^{a1} y R^{b1} pueden ser iguales o diferentes y representan un grupo hidrocarbonado o un grupo heterocíclico, o R^{a1} y R^{b1} se combinan entre sí, junto con el átomo de nitrógeno al que se unen, para formar un grupo amino cíclico. Acilo incluye un grupo acilo fisiológicamente hidrolizable y aceptable. Los ejemplos del grupo acilo de "un grupo acilo que puede estar sustituido" como se usa en este documento, por ejemplo, en relación con "A" incluyen grupos similares al grupo acilo en la definición mencionada anteriormente. "A" es un grupo seleccionado del siguiente grupo sustituyente ω :

15

[Grupo sustituyente ω] un grupo carbonilo de hidrocarburo que puede estar sustituido, un grupo carbonilo de anillo heterocíclico que puede estar sustituido, un grupo oxicarbonilo de hidrocarburo que puede estar sustituido, un grupo sulfonilo de hidrocarburo que puede estar sustituido, un grupo sulfamoilo que puede estar sustituido, un grupo sulfo que puede estar sustituido, un grupo fosfeno que puede estar sustituido, y un grupo carbamoilo que puede estar sustituido. Por el término "acilo fisiológicamente hidrolizable y aceptable" como se usa en este documento, en relación con " R_6 " en los compuestos de fórmula 1a, se entiende un residuo de un ácido, por ejemplo un ácido carboxílico, un ácido carbámico o un ácido fosfórico (por ejemplo, carbonilo opcionalmente sustituido tal como acetilo o el residuo de un aminoácido, carbamoilo opcionalmente sustituido, por ejemplo (morfolin-4-il)carbonilo, o fosfeno opcionalmente sustituido, por ejemplo, dibencilfosfeno), enlazados a un oxígeno, por ejemplo, como se muestra en la fórmula 1a anterior, por ejemplo, para formar un éster o fosfoéster con un compuesto de fórmula 1a, que es capaz de hidrolizarse a partir de dicho oxígeno en condiciones fisiológicas para producir un ácido que es fisiológicamente tolerable en las dosis que se van a administrar, junto con el correspondiente compuesto hidroxilo de fórmula 1a en donde R_6 es H. Como se apreciará, el término abarca así las formas de profármacos farmacéuticos convencionales, aunque no necesariamente se requiere que los compuestos se hidrolicen para ser activos. Los compuestos de acilo

30

se pueden preparar por medios convencionales, por ejemplo, por acilación de un compuesto de fórmula 1a, en donde R₆ es H, con el ácido o haluro de ácido deseado. Se proporcionan ejemplos de compuestos acilados y métodos para prepararlos, por ejemplo, en los documentos de patente de los Estados Unidos US 2010/0274051 A1, US 7.700.655 y en US 7.626.042.

- 5 El término "paciente" incluye un paciente humano o no humano (es decir, un paciente animal). En una forma de realización particular, la invención abarca tanto seres humanos como no humanos. En otra forma de realización, la invención abarca seres no humanos. En otra forma de realización, el término abarca seres humanos.

10 El término "bastante rápido" con respecto al inicio de la acción significa que el tiempo que se tarda después de que se administra un compuesto para observar una respuesta es de 30 minutos o menos, por ejemplo 20 minutos o menos, por ejemplo 15 minutos o menos, por ejemplo, 10 minutos o menos, por ejemplo 5 minutos o menos, por ejemplo 1 minuto o menos.

15 Las fenilbenzamidias de fórmula 1a como se describieron anteriormente en este documento para uso en los métodos de la invención pueden usarse como un único agente terapéutico, pero también pueden usarse en combinación o para la administración conjunta con otros agentes activos, por ejemplo junto con terapias convencionales para el edema cerebral. accidente cerebrovascular, lesión cerebral traumática, glioma, meningitis, mal agudo de montaña, infección, trastorno metabólico, hipoxia, intoxicación por agua, insuficiencia hepática, encefalopatía hepática, cetoacidosis diabética, abscesos, eclampsia, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, lupus cerebritis, edema del nervio óptico, hiponatremia, retención de líquidos, epilepsia, isquemia de la retina u otras enfermedades oculares asociadas con anomalías en la presión intraocular y/o hidratación del tejido, isquemia miocárdica, lesión por isquemia/ 20 reperusión del miocardio, infarto del miocardio, hipoxia miocárdica, insuficiencia cardíaca congestiva, sepsis, neuromielitis óptica, o migrañas.

25 En una forma de realización adicional, la invención proporciona compuestos de fórmula 1a como se describió en este documento anteriormente, por ejemplo, cualquiera de los compuestos identificados en 1-1.17 anterior, para uso en un método (Método 2) para tratar o controlar el edema, por ejemplo, edema del cerebro o de la médula espinal, por ejemplo, edema cerebral, por ejemplo, edema cerebral como consecuencia de traumatismo craneal, accidente cerebrovascular isquémico, glioma, meningitis, mal agudo de montaña, convulsiones epilépticas, infecciones, trastornos metabólicos, hipoxia, intoxicación por agua, insuficiencia hepática, encefalopatía hepática, cetoacidosis diabética, abscesos, eclampsia, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob o lupus cerebritis, así como edema como consecuencia de la microgravedad y/o exposición a la radiación, así como edema como consecuencia de procedimientos invasivos del sistema nervioso central, por ejemplo, neurocirugía, eliminación de coágulos endovasculares, punción espinal, reparación de aneurismas o estimulación cerebral profunda o, por ejemplo, edema de la retina o, por ejemplo, edema de la médula espinal, por ejemplo, edema de la médula espinal como consecuencia de un traumatismo de la médula espinal, por ejemplo, compresión de la médula espinal, el método comprende administrar una cantidad efectiva de un inhibidor de AQP4, por ejemplo, un compuesto que se une a 30 AQP4, a un paciente que lo necesita, por ejemplo, en donde el inhibidor de AQP4 se selecciona de un compuesto de fenilbenzamida de fórmula 1a como se describió anteriormente en este documento, por ejemplo, cualquiera de los compuestos identificados en los métodos 1-1.17 anteriores.

2.

40 2.1. Método 2, que comprende además un tratamiento seleccionado de uno o más de los siguientes: posicionamiento óptimo de la cabeza y el cuello para facilitar el flujo venoso, por ejemplo, elevación de la cabeza 30°; evitar la deshidratación; hipotensión sistémica; mantenimiento de normotermia o hipotermia; medidas agresivas; osmotherapia, por ejemplo, usando manitol o solución salina hipertónica; hiperventilación; terapia presora terapéutica para potenciar la perfusión cerebral; administración de barbitúricos para reducir el metabolismo cerebral (CMO₂); hemicraniectomía; administración de aspirina; administración de amantadina; trombolisis intravenosa (por ejemplo, usando rtPA); eliminación mecánica de coágulos; angioplastia; y/o stents

45 2.2. Método 2 o 2.1 en donde el paciente tiene un riesgo elevado de edema cerebral, por ejemplo, debido a un traumatismo craneal, accidente cerebrovascular isquémico, glioma, meningitis, mal agudo de montaña, convulsiones epilépticas, infección, trastorno metabólico, intoxicación por agua, insuficiencia hepática, encefalopatía hepática, o cetoacidosis diabética.

50 2.3. Método 2, 2.1 o 2.2 en donde el paciente ha sufrido un accidente cerebro vascular, lesión en la cabeza o lesión en la columna vertebral.

2.4. Cualquiera del método 2, y siguientes en donde el paciente ha sufrido un accidente cerebrovascular, lesión en la cabeza o lesión en la columna vertebral dentro de las 12 horas, por ejemplo, dentro de las 6 horas, preferiblemente dentro de las 3 horas de comenzar el tratamiento.

55 2.5. Cualquiera del método 2, y siguientes en donde el paciente tiene un riesgo elevado de sufrir un accidente cerebro vascular, lesión en la cabeza o lesión de la columna vertebral, por ejemplo, en combate o en una competición atlética.

- 2.6. Cualquiera del método 2, y siguientes en donde el paciente ya tiene un edema cerebral.
- 2.7. Cualquiera del método 2, y siguientes en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de un accidente cerebrovascular o una lesión cerebral traumática.
- 5 2.8. Cualquiera del método 2, y siguientes en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de un accidente cerebrovascular en la arteria cerebral media.
- 2.9. Cualquiera del método 2, y siguientes en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de un traumatismo craneal cerrado.
- 2.10 Cualquiera de los métodos 2-2.2, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de convulsiones epilépticas.
- 10 2.11. Cualquiera de los métodos 2-2.2, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de una infección.
- 2.12. Cualquiera de los métodos 2-2.2, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de un trastorno metabólico.
- 15 2.13. Cualquiera de los métodos 2-2.2 en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de un glioma.
- 2.14. Cualquiera de los métodos 2-2.2, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de la meningitis, mal agudo de montaña o intoxicación por agua.
- 2.15. Cualquiera de los métodos 2-2.2, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de una insuficiencia hepática, encefalopatía hepática o cetoacidosis diabética.
- 20 2.16. Método 2 o 2.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de un absceso.
- 2.17. Método 2 o 2.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de la eclampsia.
- 25 2.18. Método 2 o 2.1 en donde la condición que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob.
- 2.19. Método 2 o 2.1, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de lupus cerebritis.
- 2.20. Método 2 o 2.1, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral y/o edema del nervio óptico como consecuencia de la exposición a la microgravedad, por ejemplo, la exposición en vuelos espaciales o el trabajo con materiales radiactivos o el trabajo en áreas radioactivas.
- 30 2.21. Método 2 o 2.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de procedimientos invasivos del sistema nervioso central, por ejemplo, neurocirugía, eliminación de coágulos endovasculares, punción espinal, reparación de aneurismas o estimulación cerebral profunda.
- 35 2.22. Método 2.20 o 2.21 en donde el paciente tiene un riesgo elevado de edema, por ejemplo, debido a la microgravedad y/o exposición a la radiación, neurocirugía, eliminación de coágulos endovasculares, punción espinal, reparación de aneurismas o estimulación cerebral profunda.
- 2.23. Método 2.20 o 2.21 en donde el paciente ya tiene un edema.
- 2.24. Cualquiera de los métodos 2, y siguientes en donde el edema es un edema cerebral citotóxico o es principalmente edema cerebral citotóxico.
- 40 2.25. Cualquiera de los métodos 2-2.15, y siguientes en donde el edema es edema cerebral citotóxico o es principalmente edema cerebral citotóxico.
- 2.26. Método 2, en donde la afección que se va a tratar o controlar es el edema de la médula espinal, por ejemplo, edema de la médula espinal como consecuencia de un traumatismo de la médula espinal, por ejemplo, la compresión de la médula espinal.
- 45 2.27. Método 2.26 en donde la afección que se va a tratar o controlar es el edema de la médula espinal como consecuencia de la compresión de la médula espinal.
- 2.28. Método 2 en donde la afección que se va a tratar o controlar es el edema de la retina.

- 2.29. Cualquiera del método 2, y siguientes en donde el inhibidor de AQP4 inhibe la actividad de AQP4 en al menos un 50% a concentraciones de 10 micromolar o menos, por ejemplo, inhibe la actividad de AQP4 en al menos un 50% a concentraciones de 10 micromolar o menos en un ensayo de cambio de volumen celular mediado por acuaporina, por ejemplo, es activo en cualquiera de los ensayos del método 10, y siguientes a continuación.
- 5 2.30. Cualquiera del método 2, y siguientes en donde la duración del tratamiento con un inhibidor de AQP4 es de menos de 21 días, por ejemplo, menos de 2 semanas, por ejemplo, una semana o menos.
- 2.31. Cualquiera del método 2, y siguientes en donde el inhibidor de AQP4 se administra por vía oral.
- 2.32. Cualquiera del método 2, y siguientes en donde el inhibidor de AQP4 se administra por vía parenteral.
- 2.33. El método 2.32 en donde el inhibidor de AQP4 se administra por vía intravenosa.
- 10 2.34. Cualquiera del método 2, y siguientes en donde el paciente es un ser humano.
- 2.35. Cualquiera del método 2, y siguientes en donde el inicio de la acción de cualquiera de los compuestos identificados en los métodos 1-1.17 es bastante rápido.
- 2.36. Cualquiera del método 2, y siguientes en donde el edema es consecuencia de la hipoxia, por ejemplo, hipoxia general sistémica, por ejemplo, hipoxia causada por una interrupción de la perfusión sanguínea, por ejemplo, donde el edema es edema cerebral como consecuencia de la hipoxia causada por un paro cardíaco u otra interrupción de la perfusión sanguínea en el cerebro.
- 15 En una forma de realización adicional, la invención proporciona un inhibidor de AQP2, por ejemplo, un compuesto que se une a AQP2, en donde el inhibidor de AQP2 se selecciona de un compuesto de fenilbenzamida de fórmula 1a como se describió en este documento anteriormente, por ejemplo, cualquiera de los compuestos identificados en los métodos 1-1.17 anteriores para uso en un método (método 3) para tratar o controlar una afección seleccionada de hiponatremia y retención excesiva de líquidos, por ejemplo, como consecuencia de insuficiencia cardíaca (IC), por ejemplo, insuficiencia cardíaca congestiva, cirrosis hepática, trastorno nefrótico o síndrome de secreción inadecuada de hormona antidiurética (SIADH), en donde se administra una cantidad efectiva de dicho inhibidor de AQP2, por ejemplo, un compuesto que se une a AQP2, por ejemplo, a un paciente que lo necesita.
- 20 3.
- 25 3.1. El método 3 comprende además uno o más de restricción de sodio, líquidos y/o alcohol en la dieta; y/o la administración de uno o más diuréticos, antagonistas del receptor de vasopresina, inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (ECA), inhibidores de la aldosterona, bloqueadores del receptor de la angiotensina (BRAs), antagonistas beta-adrenérgicos (bloqueadores beta) y/o digoxina.
- 30 3.2. Cualquiera de los métodos 3, y siguientes en donde el inhibidor de AQP2 inhibe la actividad de AQP2 en al menos un 50% a concentraciones de 10 micromolar o menos, por ejemplo, inhibe la actividad de APQ2 en al menos un 50% a concentraciones de 10 micromolar o menos en un ensayo de cambio de volumen celular mediado por acuaporina, por ejemplo, es activo en cualquiera de los ensayos del método 10, y siguientes a continuación.
- 3.3. Cualquiera de los métodos 3, y siguientes en donde el inhibidor de AQP2 se administra por vía oral.
- 35 3.4. Cualquiera de los métodos 3, y siguientes en donde el inhibidor de AQP2 se administra por vía parenteral.
- 3.5. Método 3.4 en donde el inhibidor de AQP2 se administra por vía intravenosa.
- 3.6. Cualquiera de los métodos 3, y siguientes en donde el paciente es un ser humano.
- 3.7. Cualquiera de los métodos 3, y siguientes en donde el inicio de la acción de cualquiera de los compuestos identificados en los métodos 1-1.17 es bastante rápido.
- 40 En una forma de realización adicional, la invención proporciona un inhibidor de AQP4, por ejemplo, un compuesto que se une a AQP4, en donde el inhibidor de AQP4 se selecciona de un compuesto de fenilbenzamida de fórmula 1a como se describió aquí anteriormente, por ejemplo, cualquiera de los compuestos identificados en el método 1-1.17 para uso en un método (método 4) para tratar o controlar una afección seleccionada de epilepsia, isquemia de la retina u otras enfermedades oculares asociadas con anomalías en la presión intraocular y/o hidratación del tejido,
- 45 isquemia miocárdica, lesión de isquemia/reperfusión del miocardio, infarto del miocardio, hipoxia miocárdica, insuficiencia cardíaca congestiva, sepsis, neuromielitis óptica o migrañas, el método comprende administrar una cantidad efectiva del inhibidor de AQP4, por ejemplo, un compuesto que se une a AQP4, a un paciente que lo necesite.

4.

4.1. Método 4 en donde la afección que se va a tratar o controlar es la isquemia de la retina u otras enfermedades oculares asociadas con anomalías en la presión intraocular y/o la hidratación del tejido.

4.2. Método 4 en donde la afección que se va a tratar o controlar es la isquemia del miocardio.

5 4.3. Método 4 en donde la afección que se va a tratar o controlar es una lesión de isquemia/reperfusión del miocardio.

4.4. Método 4 en donde la afección que se va a tratar o controlar es el infarto de miocardio.

4.5. Método 4 en donde la afección que se va a tratar o controlar es la hipoxia miocárdica.

4.6. Método 4 en donde la afección que se va a tratar o controlar es la insuficiencia cardíaca congestiva.

10 4.7. Método 4 en donde la afección que se va a tratar o controlar es la sepsis.

4.8. Método 4 en donde la afección que se va a tratar o controlar es la neuromielitis óptica.

4.9. Método 4 en donde la afección que se va a tratar o controlar es una migraña.

15 4.10. Cualquiera de los métodos 4, y siguientes en donde el inhibidor de AQP4 inhibe la actividad de AQP4 en al menos un 50% a concentraciones de 10 micromolar o menos, por ejemplo inhibe la actividad de AQP4 en al menos un 50% a concentraciones de 10 micromolar o menos en un ensayo de cambio de volumen celular mediado por acuaporina, por ejemplo, es activo en cualquiera de los ensayos del método 10, y siguientes a continuación.

4.11. Cualquiera de los métodos 4, y siguientes en donde el inhibidor de AQP4 se administra por vía oral.

4.12. Cualquiera de los métodos 4, y siguientes en donde el inhibidor de AQP4 se administra por vía parenteral.

4.13. Método 4.12 en donde el inhibidor de AQP4 se administra por vía intravenosa.

20 4.14. Cualquiera de los métodos 4, y siguientes en donde el paciente es un ser humano.

4.15. Cualquiera de los métodos 4, y siguientes en donde el inicio de la acción de cualquiera de los compuestos identificados en los métodos 1-1.17 es bastante rápido.

25 En una forma de realización adicional, la invención proporciona un compuesto de fórmula 1a como se describió en este documento anteriormente, por ejemplo, cualquiera de los compuestos identificados en el método 1-1.17 anterior para uso en un método (método 5) para tratar o controlar una enfermedad o afección mediada por una acuaporina que comprende administrar a un paciente que lo necesite el compuesto de fórmula 1a en una cantidad eficaz para inhibir la acuaporina, por ejemplo.

5.

5.1. Método 5 en donde la acuaporina es AQP4.

30 5.2. Método 5 o 5.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar se selecciona de un edema, por ejemplo, edema del cerebro o la médula espinal, por ejemplo, edema cerebral, por ejemplo, edema cerebral como consecuencia de traumatismo craneal, accidente cerebrovascular isquémico, glioma, meningitis, mal agudo de montaña, convulsiones epilépticas, infecciones, trastornos metabólicos, intoxicación por agua, insuficiencia hepática, encefalopatía hepática o cetoacidosis diabética o, por ejemplo, edema de la médula espinal, por ejemplo, edema de la médula espinal como consecuencia de un traumatismo de la médula espinal, por ejemplo, compresión de la médula espinal.

35 5.3. Método 5.2 que comprende además un tratamiento seleccionado de uno o más de los siguientes: posicionamiento óptimo de la cabeza y el cuello para facilitar el flujo venoso, por ejemplo, elevación de la cabeza a 30°; evitar la deshidratación; hipotensión sistémica; mantenimiento de normotermia o hipotermia; medidas agresivas; osmotherapia, por ejemplo, usando manitol o solución salina hipertónica; hiperventilación; terapia presora terapéutica para potenciar la perfusión cerebral; administración de barbitúricos para reducir el metabolismo cerebral (CMO₂); hemicraniectomía; administración de aspirina; administración de amantadina; trombolisis intravenosa (por ejemplo, usando rtPA); eliminación mecánica de coágulos; angioplastia; y/o stents.

40 5.4. Cualquiera de los métodos 5, y siguientes en donde el paciente tiene un riesgo elevado de edema cerebral, por ejemplo, debido a un traumatismo craneal, accidente cerebrovascular isquémico, glioma, meningitis, mal de montaña agudo, convulsiones epilépticas, infección, trastorno metabólico, intoxicación por agua, insuficiencia hepática, encefalopatía hepática o cetoacidosis diabética.

- 5.5. Cualquiera de los métodos 5, y siguientes en donde el paciente ha sufrido un accidente cerebrovascular, lesión en la cabeza o lesión en la columna vertebral.
- 5.6. Cualquiera de los métodos 5, y siguientes en donde el paciente ha sufrido un accidente cerebrovascular, lesión en la cabeza o lesión en la columna vertebral dentro de las 12 horas, por ejemplo, dentro de las 6 horas, preferiblemente dentro de las 3 horas de comenzar el tratamiento.
- 5.7. Cualquiera de los métodos 5, y siguientes en donde el paciente tiene un riesgo elevado de sufrir un accidente cerebrovascular, lesión en la cabeza o lesión en la columna vertebral, por ejemplo, en combate o en una competición atlética.
- 5.8. Cualquiera de los métodos 5 y siguientes en donde el paciente ya tiene un edema cerebral.
- 5.9. Cualquiera de los métodos 5, y siguientes en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de un accidente cerebrovascular o una lesión cerebral traumática.
- 5.10. Cualquiera de los métodos 5, y siguientes en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de un accidente cerebrovascular en la arteria cerebral media.
- 5.11. Cualquiera de los métodos 5, y siguientes en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de un traumatismo craneal cerrado.
- 5.12. Cualquiera de los métodos 5-5.4, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de convulsiones epilépticas.
- 5.13. Cualquiera de los métodos 5-5.4, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de una infección.
- 5.14. Cualquiera de los métodos 5-5.4, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de un trastorno metabólico.
- 5.15. Cualquiera de los métodos 5-5.4, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de un glioma.
- 5.16. Cualquiera de los métodos 5-5.4, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de la meningitis, el mal agudo de montaña o la intoxicación por agua.
- 5.17. Cualquiera de los métodos 5-5.4, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de un fallo hepático, encefalopatía hepática o cetoacidosis diabética.
- 5.18. Cualquiera de los métodos 5-5.3, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de un absceso.
- 5.19. Cualquiera de los métodos 5-5.3, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de la eclampsia.
- 5.20. Cualquiera de los métodos 5-5.3, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob.
- 5.21. Cualquiera de los métodos 5-5.3, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de lupus cerebritis.
- 5.22. Cualquiera de los métodos 5-5.3, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema como consecuencia de la hipoxia, por ejemplo, hipoxia general sistémica, por ejemplo, la hipoxia causada por una interrupción de la perfusión sanguínea, por ejemplo, en donde el edema es un edema cerebral como consecuencia de la hipoxia causada por un paro cardíaco, accidente cerebrovascular u otra interrupción de la perfusión sanguínea en el cerebro, o en donde el edema es un edema cardíaco como consecuencia de una isquemia cardíaca u otra interrupción del flujo sanguíneo al corazón.
- 5.23. Cualquiera de los métodos 5-5.3, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral y/o edema del nervio óptico como consecuencia de la microgravedad y/o la exposición a la radiación, por ejemplo, la exposición en vuelos espaciales o el trabajo con materiales radiactivos o el trabajo en áreas radioactivas.
- 5.24. Cualquiera de los métodos 5-5.3, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de procedimientos invasivos del sistema nervioso central, por ejemplo, neurocirugía, eliminación de coágulos endovasculares, punción espinal, reparación de aneurismas o estimulación cerebral profunda.

- 5.25. Métodos 5.23 o 5.24 en donde el paciente tiene un riesgo elevado de edema, por ejemplo, debido a la microgravidad y/o exposición a la radiación, neurocirugía, eliminación de coágulos endovasculares, punción espinal, reparación de aneurismas o estimulación cerebral profunda.
- 5.26. Métodos 5.23 o 5.24 en donde el paciente ya tiene un edema.
- 5 5.27. Cualquiera de los métodos 5, y siguientes en donde el edema es un edema cerebral citotóxico o es principalmente edema cerebral citotóxico.
- 5.28. Cualquiera de los métodos 5-5.17 o 5.22 en donde el edema es un edema cerebral citotóxico o es principalmente edema cerebral citotóxico.
- 10 5.29. Método 5 o 5.1, en donde la afección que se va a tratar o controlar es el edema de la médula espinal, por ejemplo, el edema de la médula espinal como consecuencia de trauma de la médula espinal, por ejemplo, la compresión de la médula espinal.
- 5.30. Método 5.29 en donde la afección que se va a tratar o controlar es el edema de la médula espinal como consecuencia de la compresión de la médula espinal.
- 15 5.31. Cualquiera de los métodos 5-5.2, en donde la afección que se va a tratar o controlar es el edema de la retina.
- 5.32. Método 5 o 5.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar es la epilepsia.
- 5.33. Método 5 o 5.1, en donde la afección que se va a tratar o controlar es la isquemia de la retina u otras enfermedades oculares asociadas con anomalías en la presión intraocular y/o la hidratación del tejido.
- 5.34. Método 5 o 5.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar es la isquemia del miocardio.
- 20 5.35. Método 5 o 5.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar es una lesión por isquemia/reperfusión del miocardio.
- 5.36. Método 5 o 5.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar es el infarto de miocardio.
- 5.37. Método 5 o 5.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar es la hipoxia miocárdica.
- 5.38. Método 5 o 5.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar es la insuficiencia cardíaca congestiva.
- 25 5.39. Método 5 o 5.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar es la sepsis.
- 5.40. Método 5 o 5.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar es una migraña.
- 5.41. Método 5 en donde la acuaporina es AQP2.
- 5.42. Método 5 o 5.41 en donde la afección que se va a tratar es la hiponatremia o retención excesiva de líquidos, por ejemplo, como consecuencia de insuficiencia cardíaca (IC), por ejemplo insuficiencia cardíaca congestiva, cirrosis hepática, trastorno nefrótico o síndrome de secreción inadecuada de hormona antidiurética (SIADH).
- 30 5.43. Método 5.42 que comprende además una o más restricciones de sodio, líquidos y/o alcohol en la dieta; y/o la administración de uno o más diuréticos, antagonistas del receptor de vasopresina, inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (ECA), inhibidores de la aldosterona, bloqueadores del receptor de la angiotensina (BRAs), antagonistas beta-adrenérgicos (bloqueadores beta) y/o digoxina.
- 35 5.44. Cualquiera de los métodos 5, y siguientes en donde el compuesto de fórmula 1a inhibe la actividad de la acuaporina, por ejemplo, la actividad de AQP2 y/o AQP4, en al menos un 50% en concentraciones de 10 micromolar o menos, por ejemplo, inhibe la actividad de AQP2 y/o AQP4 en al menos un 50% en concentraciones de 10 micromolar o menos en un ensayo de cambio de volumen celular mediado por acuaporina, por ejemplo, es activo en cualquiera de los ensayos del método 10, y siguientes a continuación.
- 40 5.45. Cualquiera de los métodos 5 y siguientes en donde la duración del tratamiento con la fenilbenzamida es de menos de 21 días, por ejemplo, menos de 2 semanas, por ejemplo, una semana o menos.
- 5.46. Cualquiera de los métodos 5, y siguientes en donde el compuesto de fórmula 1a se administra por vía oral.
- 5.47. Cualquiera de los métodos 5, y siguientes en donde el compuesto de fórmula 1a se administra por vía parenteral.
- 45 5.48. Método 5.47 en donde el compuesto de fórmula 1a se administra por vía intravenosa.
- 5.49. Cualquiera de los métodos 5, y siguientes en donde el paciente es un ser humano.

5.50. Cualquiera de los métodos 5, y siguientes en donde el inicio de la acción de cualquiera de los compuestos identificados en los métodos 1-1.17 es bastante rápido.

En una forma de realización adicional, la invención proporciona un compuesto de fórmula 1a como se describe anteriormente en este documento, por ejemplo, cualquiera de los compuestos identificados en los métodos 1-1.17 anteriormente para uso en un método (método 6) de inhibición de una acuaporina, el método comprende poner en contacto la acuaporina con una cantidad eficaz del compuesto de fenilbenzamida de fórmula 1a como se describió anteriormente en este documento, por ejemplo, cualquiera de los compuestos identificados en los métodos 1-1.17 anteriormente.

6.

10 6.1. Método 6 en donde la acuaporina se inhibe *in vivo*.

6.2. Método 6 en donde la acuaporina se inhibe *in vitro*.

6.3. Cualquiera de los métodos 6, y siguientes en donde la acuaporina es AQP4.

6.4. Cualquiera de los métodos 6, y siguientes en donde la acuaporina es AQP2.

15 6.5. Cualquiera de los métodos 6, y siguientes en donde el compuesto de fórmula I o fórmula 1a inhibe la actividad de la acuaporina, por ejemplo, la actividad de AQP2 y/o AQP4, en al menos un 50% en concentraciones de 10 micromolar o menos, por ejemplo, inhibe la actividad de AQP2 y/o AQP4 en al menos un 50% en concentraciones de 10 micromolar o menos en un ensayo de cambio de volumen celular mediado por acuaporina, por ejemplo, es activo en cualquiera de los ensayos del método 10, y siguientes a continuación.

6.6. Método 6.1 en donde el compuesto de fórmula 1a se administra por vía oral.

20 6.7. Método 6.1 en donde el compuesto de fórmula 1a se administra por vía parenteral.

6.8. Método 6.7 en donde el compuesto de fórmula 1a se administra por vía intravenosa.

En una forma de realización adicional, la invención proporciona un compuesto de fórmula 1a como se describe en este documento anteriormente, por ejemplo, cualquiera de los compuestos identificados en los métodos 1-1.17 anterior, para uso en un método (método 7) para inhibir una acuaporina en un paciente que padece una enfermedad. o afección mediada por una acuaporina, el método comprende administrar una cantidad eficaz del compuesto de fenilbenzamida de fórmula 1a para inhibir la acuaporina.

25

7.

7.1. Método 7 en donde la acuaporina es AQP4.

30 7.2. Método 7 o 7.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar se selecciona de un edema, por ejemplo, edema del cerebro o la médula espinal, por ejemplo, edema cerebral, por ejemplo, edema cerebral como consecuencia de traumatismo craneal, accidente cerebrovascular isquémico, glioma, meningitis, mal de montaña agudo, convulsiones epilépticas, infección, trastorno metabólico, intoxicación por agua, insuficiencia hepática, encefalopatía hepática o cetoacidosis diabética o, por ejemplo, edema de la médula espinal, por ejemplo, edema de la médula espinal como consecuencia de un traumatismo de la médula espinal, por ejemplo, compresión de la médula espinal.

35

7.3. Método 7.2, que además comprende un tratamiento seleccionado de uno o más de los siguientes: posicionamiento óptimo de cabeza y cuello para facilitar el flujo venoso, por ejemplo, elevación de la cabeza 30°; evitar la deshidratación; hipotensión sistémica; mantenimiento de normotermia o hipotermia; medidas agresivas; osmoterapia, por ejemplo, usando manitol o solución salina hipertónica; hiperventilación; terapia presora terapéutica para potenciar la perfusión cerebral; administración de barbitúricos para reducir el metabolismo cerebral (CMO₂); hemicraniectomía; administración de aspirina; administración de amantadina; trombolisis intravenosa (por ejemplo, usando rtPA); eliminación mecánica de coágulos; angioplastia; y/o stents.

40

7.4. Cualquiera del método 7, y siguientes en donde el paciente tiene un riesgo elevado de edema cerebral, por ejemplo, debido a traumatismo craneal, accidente cerebrovascular isquémico, glioma, meningitis, mal de montaña agudo, convulsiones epilépticas, infección, trastorno metabólico, intoxicación por agua, insuficiencia hepática, encefalopatía hepática o cetoacidosis diabética.

45

7.5. Cualquiera del método 7, y siguientes en donde el paciente ha sufrido un accidente cerebrovascular, lesión en la cabeza o lesión en la columna vertebral.

7.6. Cualquiera del método 7, y siguientes en donde el paciente ha sufrido un accidente cerebrovascular, lesión en la cabeza o lesión en la columna vertebral dentro de las 12 horas, por ejemplo, dentro de las 6 horas, preferiblemente dentro de las 3 horas de comenzar el tratamiento.

50

- 7.7. Cualquiera del método 7, y siguientes en donde el paciente tiene un riesgo elevado de sufrir un accidente cardiovascular, lesión en la cabeza o lesión de la columna vertebral, por ejemplo, en combate o en una competición atlética.
- 7.8. Cualquiera del método 7, y siguientes en donde el paciente ya tiene un edema cerebral.
- 5 7.9. Cualquiera del método 7, y siguientes en donde la afección a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de un accidente cerebrovascular o una lesión cerebral traumática.
- 7.10. Cualquiera del método 7, y siguientes en donde la afección a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de un accidente cerebrovascular en la arteria cerebral media.
- 10 7.11. Cualquiera del método 7, y siguientes en donde la afección a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de un traumatismo craneal cerrado.
- 7.12. Cualquiera de los métodos 7-7.4, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de convulsiones epilépticas.
- 7.13. Cualquiera de los métodos 7-7.4 en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de una infección.
- 15 7.14. Cualquiera de los métodos 7-7.4, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de un trastorno metabólico.
- 7.15. Cualquiera de los métodos 7-7.4, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de un glioma.
- 20 7.16. Cualquiera de los métodos 7-7.4, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de la meningitis, el mal agudo de montaña o la intoxicación por agua.
- 7.17. Cualquiera de los métodos 7-7.4, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de una insuficiencia hepática, encefalopatía hepática o cetoacidosis diabética.
- 7.18. Cualquiera de los métodos 7-7.3, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de un absceso.
- 25 7.19. Cualquiera de los métodos 7-7.3, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de la eclampsia.
- 7.20. Cualquiera de los métodos 7-7.3, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob.
- 30 7.21. Cualquiera de los métodos 7-7.3, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia del lupus cerebritis.
- 7.22. Cualquiera de los métodos 7-7.3, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema como consecuencia de la hipoxia, por ejemplo, hipoxia general sistémica, por ejemplo, hipoxia causada por una interrupción de la perfusión sanguínea, por ejemplo, en donde el edema es un edema cerebral como consecuencia de la hipoxia causada por el paro cardíaco, accidente cerebrovascular u otra interrupción de la perfusión sanguínea en el cerebro, o en donde el edema es un edema cardíaco como consecuencia de una isquemia cardíaca u otra interrupción del flujo sanguíneo al corazón.
- 35 7.23. Cualquiera de los métodos 7-7.3, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema del nervio cerebral y/o nervio óptico como consecuencia de la microgravedad y/o la exposición a la radiación, por ejemplo, la exposición en vuelos espaciales o el trabajo con materiales radiactivos o el trabajo en áreas radioactivas.
- 40 7.24. Cualquiera de los métodos 7-7.3, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de procedimientos invasivos del sistema nervioso central, por ejemplo, neurocirugía, eliminación de coágulos endovasculares, punción espinal, reparación de aneurismas o estimulación cerebral profunda.
- 7.25. El método 7.23 o 7.24, en donde el paciente tiene un riesgo elevado de edema, por ejemplo, debido a la microgravedad y/o exposición a la radiación, neurocirugía, eliminación de coágulos endovasculares, punción espinal, reparación de aneurismas o estimulación cerebral profunda.
- 45 7.26. El método 7.23 o 7.24 en donde el paciente ya tiene un edema.
- 7.27. Cualquiera del método 7, y siguientes en donde el edema es un edema cerebral citotóxico o es principalmente edema cerebral citotóxico.

- 7.28. Cualquiera de los métodos 7-7.17 o 7.22, en donde el edema es un edema cerebral citotóxico o es principalmente edema cerebral citotóxico.
- 5 7.29. Cualquiera de los métodos 7-7.2, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema de la médula espinal, por ejemplo, edema de la médula espinal como consecuencia de un traumatismo de la médula espinal, por ejemplo, compresión de la médula espinal.
- 7.30. El método 7.29 en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema de la médula espinal como consecuencia de la compresión de la médula espinal.
- 7.31. Cualquiera de los métodos 7-7.2, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema de la retina.
- 10 7.32. Método 7 o 7.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar es la epilepsia.
- 7.33. Método 7 o 7.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar es la isquemia de la retina u otras enfermedades oculares asociadas con anomalías en la presión intraocular y/o la hidratación del tejido.
- 7.34. Método 7 o 7.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar es la isquemia del miocardio.
- 15 7.35. Método 7 o 7.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar es una lesión por isquemia/reperfusión del miocardio.
- 7.36. Método 7 o 7.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar es el infarto del miocardio.
- 7.37. Método 7 o 7.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar es la hipoxia del miocardio.
- 7.38. Método 7 o 7.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar es la insuficiencia cardíaca congestiva.
- 7.39. Método 7 o 7.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar es la sepsis.
- 20 7.40. Método 7 o 7.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar es una migraña.
- 7.41. Método 7 en donde la acuaporina es AQP2.
- 7.42. Método 7 o 7.41 en donde la afección que se va a tratar es la hiponatremia o retención excesiva de líquidos, por ejemplo, como consecuencia de la insuficiencia cardíaca (IC), por ejemplo insuficiencia cardíaca congestiva, cirrosis hepática, trastorno nefrótico o síndrome de secreción inadecuada de hormona antidiurética (SIADH).
- 25 7.43. Método 7.42 que comprende además uno o más de restricción de sodio, líquidos y/o alcohol en la dieta; y/o la administración de uno o más diuréticos, antagonistas del receptor de la vasopresina, inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (ECA), inhibidores de la aldosterona, bloqueadores del receptor de la angiotensina (BRAs), antagonistas beta-adrenérgicos (bloqueadores beta) y/o digoxina.
- 30 7.44. Cualquiera del método 7, y siguientes en donde el compuesto de fórmula 1a inhibe la actividad de la acuaporina, por ejemplo, la actividad de AQP2 y/o AQP4, en al menos un 50% en concentraciones de 10 micromolar o menos, por ejemplo, inhibe la actividad de AQP2 y/o AQP4 en al menos un 50% en concentraciones de 10 micromolar o menos en un ensayo de cambio de volumen celular mediado por acuaporina, por ejemplo, es activo en cualquiera de los ensayos del método 10, y siguientes a continuación.
- 35 7.45. Cualquiera del método 7, y siguientes en donde la duración del tratamiento con la fenilbenzamida es de menos de 21 días, por ejemplo, menos de 2 semanas, por ejemplo, una semana o menos.
- 7.46. Cualquiera del método 7, y siguientes en donde el compuesto de fórmula 1a se administra por vía oral.
- 7.47. Cualquiera del método 7, y siguientes en donde el compuesto de fórmula 1a se administra por vía parenteral.
- 7.48. Método 7.47 en donde el compuesto de fórmula 1a se administra por vía intravenosa.
- 40 7.49. Cualquiera del método 7, y siguientes en donde el paciente es un ser humano.
- 7.50. Cualquiera del método 7, y siguientes en donde el inicio de la acción de cualquiera de los compuestos identificados en los métodos 1-1.17 es bastante rápido.
- 45 En una forma de realización adicional, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fenilbenzamida de fórmula 1a como se describe anteriormente en este documento, por ejemplo, cualquiera de los compuestos identificados en los métodos 1-1.17 anteriores, para uso (uso 8) en la inhibición de una acuaporina en un paciente que sufre de una enfermedad o afección mediada por la acuaporina. Por ejemplo, para uso en cualquiera de los métodos anteriores:

- 8.
- 8.1. Uso 8 en donde la acuaporina es AQP4.
- 8.2. Uso 8 u 8.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar se selecciona de un edema, por ejemplo, edema del cerebro o la médula espinal, por ejemplo, edema cerebral, por ejemplo, edema cerebral como consecuencia de un traumatismo craneal, accidente cerebrovascular isquémico, glioma, meningitis, mal agudo de montaña, convulsiones epilépticas, infección, trastorno metabólico, intoxicación por agua, insuficiencia hepática, encefalopatía hepática o cetoacidosis diabética o, por ejemplo, edema de la médula espinal, por ejemplo, edema de la médula espinal como consecuencia de un traumatismo de la médula espinal, por ejemplo, compresión de la médula espinal.
- 8.3. Uso 8.2 que comprende además un tratamiento seleccionado de uno o más de los siguientes: posicionamiento óptimo de la cabeza y el cuello para facilitar el flujo venoso, por ejemplo, elevación de la cabeza 30°; evitar la deshidratación; hipotensión sistémica; mantenimiento de normotermia o hipotermia; medidas agresivas; osmotherapia, por ejemplo, usando manitol o solución salina hipertónica; hiperventilación; terapia de presión terapéutica para potenciar la perfusión cerebral; administración de barbitúricos para reducir el metabolismo cerebral (CMO₂); hemicraniectomía; administración de aspirina; administración de amantadina; trombolisis intravenosa (por ejemplo, usando rtPA); eliminación mecánica de coágulos; angioplastia; y/o stents.
- 8.4. Cualquiera de los usos de 8, y siguientes en donde el paciente tiene un riesgo elevado de edema cerebral, por ejemplo, debido a un traumatismo craneal, accidente cerebrovascular isquémico, glioma, meningitis, mal de montaña agudo, convulsiones epilépticas, infección, trastorno metabólico, intoxicación por agua, insuficiencia hepática, encefalopatía hepática o cetoacidosis diabética.
- 8.5. Cualquiera de los usos de 8, y siguientes en donde el paciente ha sufrido un accidente cerebrovascular, lesión en la cabeza o lesión en la columna vertebral.
- 8.6. Cualquiera de los usos de 8, y siguientes en donde el paciente ha sufrido un accidente cerebrovascular, lesión en la cabeza o lesión en la columna vertebral dentro de las 12 horas, por ejemplo, dentro de las 6 horas, preferiblemente dentro de las 3 horas de comenzar el tratamiento.
- 8.7. Cualquiera de los usos de 8, y siguientes en donde el paciente tiene un riesgo elevado de sufrir un accidente cerebrovascular, lesión en la cabeza o lesión de la columna vertebral, por ejemplo, en combate o en una competición atlética.
- 8.8. Cualquiera de los usos de 8, y siguientes en donde el paciente ya tiene un edema cerebral.
- 8.9. Cualquiera de los usos de 8, y siguientes en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de un accidente cerebrovascular o una lesión cerebral traumática.
- 8.10. Cualquiera de los usos de 8, y siguientes en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de un accidente cerebrovascular en la arteria cerebral media.
- 8.11. Cualquiera de los usos de 8, y siguientes en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de un traumatismo craneal cerrado.
- 8.12. Cualquiera de los Usos de 8-8.4, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de convulsiones epilépticas.
- 8.13. Cualquiera de los Usos de 8-8.4 en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de una infección.
- 8.14. Cualquiera de los Usos de 8-8.4, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de un trastorno metabólico.
- 8.15. Cualquiera de los Usos de 8-8.4 en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de un glioma.
- 8.16. Cualquiera de los usos de 8-8.4, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de la meningitis, el mal agudo de montaña o la intoxicación por agua.
- 8.17. Cualquiera de los usos de 8-8.4 en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de una insuficiencia hepática, encefalopatía hepática o cetoacidosis diabética.
- 8.18. Cualquiera de los usos de 8-8.3 en donde la afección que se va a a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de un absceso.

- 8.19. Cualquiera de los usos de 8-8.3 en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de la eclampsia.
- 8.20. Cualquiera de los usos de 8-8.3 en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob.
- 5 8.21. Cualquiera de los usos de 8-8.3, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia del lupus cerebritis.
- 8.22. Cualquiera de los usos de 8-8.3 en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema como consecuencia de la hipoxia, por ejemplo, hipoxia sistémica general, por ejemplo, hipoxia causada por una interrupción de la perfusión sanguínea, por ejemplo, en donde el edema es un edema cerebral como consecuencia de la hipoxia causada por el paro cardíaco, accidente cerebrovascular u otra interrupción de la perfusión sanguínea en el cerebro, o en donde el edema es un edema cardíaco como consecuencia de una isquemia cardíaca u otra interrupción del flujo sanguíneo al corazón.
- 10
- 8.23. Cualquiera de los usos de 8-8.3 en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral y/o un edema del nervio óptico como consecuencia de la exposición a la radiación y/o la microgravedad, por ejemplo, la exposición en vuelos espaciales o el trabajo con materiales radiactivos o el trabajo en áreas radioactivas.
- 15
- 8.24. Cualquiera de los usos de 8-8.3 en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de procedimientos invasivos del sistema nervioso central, por ejemplo, neurocirugía, eliminación de coágulos endovasculares, punción espinal, reparación de aneurismas o estimulación cerebral profunda.
- 8.25. Uso de 8.23 u 8.24 en donde el paciente tiene un riesgo elevado de edema, por ejemplo, debido a la exposición a la microgravedad y/o radiación, neurocirugía, eliminación de coágulos endovasculares, punción espinal, reparación de aneurisma o estimulación cerebral profunda.
- 20
- 8.26. Uso de 8.23 u 8.24 en donde el paciente ya tiene un edema.
- 8.27. Cualquiera de los usos de 8, y siguientes en donde el edema es un edema cerebral citotóxico o es principalmente edema cerebral citotóxico.
- 25
- 8.28. Cualquiera de los usos de 8-8.17 u 8.22 en donde el edema es un edema cerebral citotóxico o es principalmente edema cerebral citotóxico.
- 8.29. Cualquiera de los usos de 8-8.2 en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema de la médula espinal, por ejemplo, edema de la médula espinal como consecuencia de un traumatismo de la médula espinal, por ejemplo, compresión de la médula espinal.
- 30
- 8.30. El uso de 8.29 en donde la afección que se va a tratar o controlar es el edema de la médula espinal como consecuencia de la compresión de la médula espinal.
- 8.31. Cualquiera de los usos de 8-8.2 en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema de la retina.
- 8.32. Uso de 8 u 8.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar es la epilepsia.
- 35
- 8.33. Uso de 8 u 8.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar es la isquemia de la retina u otras enfermedades del ojo asociadas con anomalías en la presión intraocular y/o la hidratación del tejido.
- 8.34. Uso de 8 u 8.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar es la isquemia del miocardio.
- 8.35. Uso de 8 u 8.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar es una lesión por isquemia/reperfusión del miocardio.
- 40
- 8.36. Uso de 8 u 8.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar es el infarto del miocardio.
- 8.37. Uso de 8 u 8.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar es la hipoxia del miocardio.
- 8.38. Uso de 8 u 8.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar es la insuficiencia cardíaca congestiva.
- 8.39. Uso de 8 u 8.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar es la sepsis.
- 8.40. Uso de 8 u 8.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar es una migraña.
- 45
- 8.41. Uso de 8 en donde la acuaporina es AQP2.

- 8.42. Uso de 8 o 8.41 en donde la afección que se va a tratar es la hiponatremia o retención excesiva de líquidos, por ejemplo, como consecuencia de la insuficiencia cardíaca (IC), por ejemplo insuficiencia cardíaca congestiva, cirrosis hepática, trastorno nefrótico o síndrome de secreción inadecuada de hormona antidiurética (SIADH).
- 5 8.43. Uso de 8.42 que además comprende una o más restricciones de sodio, líquidos y/o alcohol en la dieta; y/o la administración de uno o más diuréticos, antagonistas del receptor de vasopresina, inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (ECA), inhibidores de la aldosterona, bloqueadores del receptor de la angiotensina (BRAs), antagonistas beta-adrenérgicos (bloqueadores beta) y/o digoxina.
- 10 8.44. Cualquiera de los usos de 8, y siguientes, en donde el compuesto de fórmula 1a inhibe la actividad de la acuaporina, por ejemplo, la actividad de AQP2 y/o AQP4, en al menos un 50% en concentraciones de 10 micromolar o menos, por ejemplo, inhibe la actividad de AQP2 y/o AQP4 en al menos un 50% en concentraciones de 10 micromolar o menos en un ensayo de cambio de volumen celular mediado por acuaporina, por ejemplo, es activo en cualquiera de los ensayos del Método 10, y siguientes a continuación.
- 8.45. Cualquiera de los usos de 8, y siguientes, en donde la duración del tratamiento con la fenilbenzamida es de menos de 21 días, por ejemplo, menos de 2 semanas, por ejemplo, una semana o menos.
- 15 8.46. Cualquiera de los usos de 8, y siguientes en donde la composición farmacéutica se administra por vía oral.
- 8.47. Cualquiera de los usos de 8, y siguientes en donde la composición farmacéutica se administra por vía parenteral.
- 8.48. Uso de 8.47 en donde la composición farmacéutica se administra por vía intravenosa.
- 8.49. Cualquiera de los usos de 8, y siguientes en donde el paciente es un ser humano.
- 20 8.50. Cualquiera de los usos de 8, y siguientes en donde el inicio de la acción de la composición farmacéutica es bastante rápido.
- En una forma de realización adicional, la invención proporciona el uso (uso 9) de una fenilbenzamida, por ejemplo, un compuesto de fórmula 1a como se describió anteriormente en este documento, por ejemplo, cualquiera de los compuestos identificados en los métodos 1-1.17 anteriores, en la fabricación de un medicamento para tratar o controlar una enfermedad o afección mediada por una acuaporina en donde el medicamento comprende la fenilbenzamida en una cantidad eficaz para inhibir la acuaporina. Por ejemplo, para usar en cualquiera de los métodos anteriores.
- 25 9.
- 9.1. Uso 9 en donde la acuaporina es AQP4.
- 30 9.2. Cualquiera de los usos 9 o 9.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar se selecciona del edema, por ejemplo, edema del cerebro o la médula espinal, por ejemplo, edema cerebral, por ejemplo, edema cerebral como consecuencia de traumatismo craneal, accidente cerebrovascular isquémico, glioma, meningitis, mal de montaña agudo, convulsiones epilépticas, infección, trastorno metabólico, intoxicación por agua, insuficiencia hepática, encefalopatía hepática o cetoacidosis diabética o, por ejemplo, edema de la médula espinal, por ejemplo, edema de la médula espinal como consecuencia de un traumatismo de la médula espinal, por ejemplo, compresión de la médula espinal.
- 35 9.3. Uso 9.2 que comprende además un tratamiento seleccionado de uno o más de los siguientes: posicionamiento óptimo de la cabeza y el cuello para facilitar el flujo venoso, por ejemplo, elevación de la cabeza 30°; evitar la deshidratación; hipotensión sistémica; mantenimiento de la normotermia o hipotermia; medidas agresivas; osmotherapia, por ejemplo, usando manitol o solución salina hipertónica; hiperventilación; terapia presora terapéutica para potenciar la perfusión cerebral; administración de barbitúricos para reducir el metabolismo cerebral (CMO₂); hemicraniectomía administración de aspirina; administración de amantadina; trombolisis intravenosa (por ejemplo, usando rtPA); eliminación mecánica de coágulos; angioplastia; y/o stents.
- 40 9.4. Cualquiera de los usos 9, y siguientes en donde el paciente tiene un riesgo elevado de edema cerebral, por ejemplo, debido a un traumatismo craneal, accidente cerebrovascular isquémico, glioma, meningitis, mal de montaña agudo, convulsiones epilépticas, infección, trastorno metabólico, intoxicación por agua, insuficiencia hepática, encefalopatía hepática o cetoacidosis diabética.
- 45 9.5. Cualquiera de los usos 9, y siguientes en donde el paciente ha sufrido un accidente cerebrovascular, lesión en la cabeza o lesión en la columna vertebral.
- 50 9.6. Cualquiera de los usos 9, y siguientes en donde el paciente ha sufrido un accidente cerebrovascular, lesión en la cabeza o lesión en la columna vertebral dentro de las 12 horas, por ejemplo, dentro de las 6 horas, preferiblemente dentro de las 3 horas anteriores de comenzar el tratamiento.

- 9.7. Cualquiera de los usos 9, y siguientes en donde el paciente tiene un riesgo elevado de sufrir un accidente cerebrovascular, lesión en la cabeza o lesión de la columna vertebral, por ejemplo, en combate o en una competición atlética.
- 9.8. Cualquiera de los usos 9, y siguientes en donde el paciente ya tiene un edema cerebral.
- 5 9.9. Cualquiera de los usos 9, y siguientes en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de un accidente cerebrovascular o una lesión cerebral traumática.
- 9.10. Cualquiera de los usos 9, y siguientes en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de un accidente cerebrovascular en la arteria cerebral media.
- 10 9.11. Cualquiera de los usos 9, y siguientes en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de un traumatismo craneal cerrado.
- 9.12. Cualquiera de los usos 9-9.4, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de convulsiones epilépticas.
- 9.13. Cualquiera de los usos 9-9.4 en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de una infección.
- 15 9.14. Cualquiera de los usos 9-9.4 en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de un trastorno metabólico.
- 9.15. Cualquiera de los usos 9-9.4 en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de un glioma.
- 20 9.16. Cualquiera de los usos 9-9.4, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de la meningitis, mal de montaña agudo o intoxicación por agua.
- 9.17. Cualquiera de los usos 9-9.4 en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de una insuficiencia hepática, encefalopatía hepática o cetoacidosis diabética.
- 9.18. Cualquiera de los usos 9-9.3 en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de un absceso.
- 25 9.19. Cualquiera de los usos 9-9.3, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de la eclampsia.
- 9.20. Cualquiera de los usos 9-9.3, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob.
- 30 9.21. Cualquiera de los usos 9-9.3, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia del lupus cerebritis.
- 35 9.22. Cualquiera de los usos 9-9.3 en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema resultante de la hipoxia, por ejemplo, hipoxia sistémica general, por ejemplo, hipoxia causada por una interrupción de la perfusión sanguínea, por ejemplo, en donde el edema es un edema cerebral como consecuencia de la hipoxia causada por un paro cardíaco, accidente cerebrovascular u otra interrupción de la perfusión sanguínea en el cerebro, o en donde el edema es un edema cardíaco como consecuencia de una isquemia cardíaca u otra interrupción del flujo sanguíneo al corazón.
- 9.23. Cualquiera de los usos 9-9.3, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral y/o un edema del nervio óptico como consecuencia de la microgravedad y/o la exposición a la radiación, por ejemplo, la exposición en vuelos espaciales o al trabajo con materiales radiactivos o al trabajo en áreas radioactivas.
- 40 9.24. Cualquiera de los usos 9-9.3, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral como consecuencia de procedimientos invasivos del sistema nervioso central, por ejemplo, neurocirugía, eliminación de coágulos endovasculares, punción espinal, reparación de aneurismas o estimulación cerebral profunda.
- 45 9.25. Uso 9.24 o 9.25 en donde el paciente tiene un riesgo elevado de edema, por ejemplo, debido a la microgravedad y/o exposición a la radiación, neurocirugía, eliminación de coágulos endovasculares, punción espinal, reparación de aneurisma o estimulación cerebral profunda.
- 9.26. Uso 9.24 o 9.25 en donde el paciente ya tiene un edema.
- 9.27. Cualquiera de los usos 9, y siguientes en donde el edema es un edema cerebral citotóxico o es principalmente un edema cerebral citotóxico.

- 9.28. Cualquiera de los usos 9-9.17 o 9.22 en donde el edema es un edema cerebral citotóxico o es principalmente un edema cerebral citotóxico.
- 5 9.29. Cualquiera de los usos 9-9.2, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema de la médula espinal, por ejemplo, edema de la médula espinal como consecuencia de un traumatismo de la médula espinal, por ejemplo, compresión de la médula espinal.
- 9.30. Uso 9.29 en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema de la médula espinal como consecuencia de la compresión de la médula espinal.
- 9.31. Cualquiera de los usos 9-9.2 en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema de la retina.
- 9.32. Uso 9 o 9.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar es la epilepsia.
- 10 9.33. Uso 9 o 9.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar es la isquemia de la retina u otras enfermedades del ojo asociadas con anomalías en la presión intraocular y/o la hidratación del tejido.
- 9.34. Uso 9 o 9.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar es la isquemia del miocardio.
- 9.35. Uso 9 o 9.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar es una lesión por isquemia/reperfusión del miocardio.
- 15 9.36. Uso 9 o 9.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar es el infarto del miocardio.
- 9.37. Uso 9 o 9.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar es la hipoxia del miocardio.
- 9.38. Uso 9 o 9.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar es la insuficiencia cardíaca congestiva.
- 9.39. Uso 9 o 9.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar es la sepsis.
- 9.40. Uso 9 o 9.1 en donde la afección que se va a tratar o controlar es una migraña.
- 20 9.41. Uso 9 en donde la acuaporina es AQP2.
- 9.42. Uso 9 o 9.41 en donde la afección que se va a tratar es la hiponatremia o retención excesiva de líquidos, por ejemplo, como consecuencia de la insuficiencia cardíaca (IC), por ejemplo, insuficiencia cardíaca congestiva, cirrosis hepática, trastorno nefrótico o síndrome de secreción inadecuada de hormona antidiurética (SIADH).
- 25 9.43. Uso 9.42 que además comprende una o más restricciones de sodio, líquidos y/o alcohol en la dieta; y/o la administración de uno o más diuréticos, antagonistas del receptor de vasopresina, inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (ECA), inhibidores de la aldosterona, bloqueadores del receptor de la angiotensina (BRAs), antagonistas beta-adrenérgicos (bloqueadores beta) y/o digoxina.
- 30 9.44. Cualquiera de los usos 9, y siguientes en donde el compuesto de fórmula 1a inhibe la actividad de la acuaporina, por ejemplo, la actividad de AQP2 y/o AQP4, en al menos un 50% en concentraciones de 10 micromolar o menos, por ejemplo, inhibe la actividad de AQP2 y/o AQP4 en al menos un 50% en concentraciones de 10 micromolar o menos en un ensayo de cambio de volumen celular mediado por acuaporina, por ejemplo, es activo en cualquiera de los ensayos del Método 10, y siguientes a continuación.
- 9.45. Cualquiera de los usos 9, y siguientes en donde la duración del tratamiento con la fenilbenzamida es de menos de 21 días, por ejemplo, menos de 2 semanas, por ejemplo, una semana o menos.
- 35 9.46. Cualquiera de los usos 9, y siguientes en donde el medicamento está formulado para la administración oral.
- 9.47. Cualquiera de los usos 9, y siguientes en donde el medicamento está formulado para la administración parenteral.
- 9.48. Uso 9.47 en donde el medicamento está formulado para la administración intravenosa.
- 40 La dosis o método de administración de la dosis de la presente invención no están particularmente limitados. Por supuesto, las dosis empleadas en la práctica de la presente invención variarán dependiendo, por ejemplo, de la enfermedad o afección particular a tratar, el compuesto particular usado, el modo de administración y la terapia deseada. Los compuestos pueden administrarse por cualquier vía adecuada, incluyendo la vía oral, parenteral, transdérmica o por inhalación. En el accidente cerebrovascular u otras enfermedades o afecciones severamente debilitantes, por ejemplo, cuando el paciente puede estar inconsciente o no puede tragar, puede preferirse una infusión intravenosa o un bolo intravenoso. En general, se indica que se obtienen resultados satisfactorios, por ejemplo, para el tratamiento de enfermedades como se expone anteriormente en este documento, con la administración oral en dosis del orden de 0,01 a 15,0 mg/kg. En mamíferos más grandes, por ejemplo, seres humanos, una dosis diaria indicada para administración oral estará en el rango de 0,75 a 1000 mg por día,
- 45

- convenientemente administrada una vez, o en dosis divididas de 2 a 3 veces, diariamente o en forma de liberación sostenida. Las formas de dosificación unitaria para administración oral, por lo tanto, por ejemplo, pueden comprender de 0,2 a 75 o 150 mg, por ejemplo, de 0,2 o 2,0 a 50, 75, 100, 125, 150 o 200 mg de un compuesto de la Invención, junto con un diluyente farmacéuticamente aceptable o portador del mismo. Cuando el medicamento se usa mediante inyección (por vía subcutánea, intramuscular o intravenosa), la dosis puede ser de 0,25 a 500 mg por día en bolo o si es intravenosa por bolo o infusión.
- Las composiciones farmacéuticas que comprenden compuestos de fórmula 1a pueden prepararse usando diluyentes o excipientes convencionales y técnicas conocidas en la técnica galénica. Así, las formas de dosificación oral pueden incluir comprimidos, cápsulas, soluciones, suspensiones y similares.
- Los métodos para fabricar y formular los compuestos de fórmula 1a se exponen en los documentos de patente de Estados Unidos US 2010/0274051 A1, US 7.700.655 y en US 7.626.042.
- En una forma de realización adicional, la invención proporciona un método, por ejemplo, el Método 10, para la identificación de inhibidores específicos de la acuaporina, que comprende medir la respuesta de una población celular que expresa la acuaporina frente a una población celular de control a una solución hipertónica o hipotónica en presencia o ausencia de un compuesto de ensayo. Por ejemplo, la invención proporciona, por ejemplo,
- 10.
- 10.1. Método 10 en donde la población celular que expresa la acuaporina expresa AQP2 o AQP4.
- 10.2. Cualquiera de los métodos 10 o 10.1, en donde las células son de mamífero, por ejemplo, células CHO transgénicas.
- 10.3. Cualquiera de los métodos 10, y siguientes en donde las células de control expresan una proteína de membrana transgénica diferente de una acuaporina, por ejemplo, CD81.
- 10.4. Cualquiera de los Métodos 10, y siguientes en donde las células se exponen a un entorno hipotónico durante un período de tiempo y a una concentración que hace que la mayoría de la población celular que expresa la acuaporina explote en ausencia del compuesto de prueba, pero no la población celular de control, por ejemplo, de 3-8 minutos en agua.
- 10.5. Método 10.4, en donde la explosión celular se mide mediante una señal fluorescente producida por células viables pero no por células que han explotado, por ejemplo, la conversión de acetoximetil calceína (calceína-AM) al colorante fluorescente calceína.
- 10.6. Método 10.4 o 10.5 en donde las células se exponen a un entorno hipotónico, por ejemplo, agua desionizada, durante un período de 3 a 8 minutos, y luego se devuelven al ambiente normotónico (por ejemplo, aproximadamente 300 mOSM) y luego se mide la proporción de células viables.
- 10.7. Cualquiera de los métodos 10, y siguientes en donde la medida de la viabilidad es la capacidad de las células para convertir la acetoximetil calceína (calceína-AM) en el colorante fluorescente calceína.
- 10.8. Cualquiera de los anteriores métodos 10.4, y siguientes en donde un compuesto de fórmula 1a como se describe en este documento anteriormente se usa como control positivo, que inhibe la explosión de la población celular que expresa acuaporina en un entorno hipotónico.
- 10.9. Cualquiera de los métodos 10.4-10.8 anteriores en donde se identifica que un compuesto de ensayo tiene actividad inhibidora de la acuaporina cuando la población celular que expresa acuaporina se identifica como viable, por ejemplo, por la capacidad de las células para convertir la acetoximetil calceína (calceína-AM) en el tinte fluorescente calceína, después de la exposición en presencia de un compuesto de ensayo a un ambiente hipotónico que hace que la población de células que expresan acuaporina no sea viables en ausencia del compuesto de ensayo.
- 10.10. Cualquiera de los métodos 10 o 10.1-10.3, en donde las células se exponen a un entorno hipertónico durante un período de tiempo y a una concentración suficiente para hacer que la población celular que expresa acuaporina se contraiga en ausencia del compuesto de ensayo, por ejemplo, de 3-8 minutos a aproximadamente 530 mOsm.
- 10.11. Método 10.9, en donde la contracción de las células se mide mediante la dispersión de la luz.
- 10.12. Cualquiera de los métodos 10.10, y siguientes en donde el ambiente hipertónico es aproximadamente 530 mOsm y el ambiente normotónico es aproximadamente 300 mOsm.
- 10.13. Cualquiera de los métodos anteriores 10.10, y siguientes en donde un compuesto anteriormente descrito de fórmula 1a, se usa como control positivo que inhibe la contracción de la población celular que expresa acuaporina en un ambiente hipertónico.

10.14. Cualquiera de los métodos anteriores 10.10, y siguientes en donde un compuesto de ensayo se identifica como inhibidor de la actividad de la acuaporina al inhibir la contracción de la población celular que expresa acuaporina en un ambiente hipertónico.

5 10.15. Cualquiera de los métodos anteriores en donde un compuesto de ensayo se identifica como inhibidor de la actividad de la acuaporina.

10.16. Cualquiera de los métodos 10, y siguientes en donde la población celular que expresa acuaporina expresa AQP2.

10.17. Cualquiera de los métodos 10, y siguientes en donde la población celular que expresa acuaporina expresa AQP4.

10 10.18. Cualquiera de los métodos 10, y siguientes en donde el compuesto de ensayo es una fenilbenzamida, como se describe anteriormente en este documento de fórmula 1a.

15 Tal como se usa en este documento, los rangos se usan como abreviatura para describir todos y cada uno de los valores que están dentro del rango. Cualquier valor dentro del rango puede seleccionarse como el término del rango. En el caso de un conflicto en una definición en la presente divulgación y la de una referencia citada, la presente divulgación controla.

A menos que se especifique lo contrario, debe entenderse que todos los porcentajes y cantidades expresados en este documento y en otras partes de la especificación se refieren a porcentajes en peso. Las cantidades dadas se basan en el peso activo del material.

Ejemplos

20 Ejemplo 1 - Relación estructura-actividad de fenilbenzamida-AQP

Las relaciones de estructura-actividad (SARs) se determinan mediante el análisis de los análogos de aciertos seleccionados a fin de guiar a los químicos en la preparación de nuevas moléculas a probar a fin de mejorar la potencia. Para este proceso iterativo utilizamos un ensayo cinético cuantitativo, el ensayo de cambio de volumen de las células mediado por acuaporina, en un lector multiplaca de 96 pocillos. Detecta cambios en la dispersión de la luz por una monocapa de células CHO que expresan la AQP deseada a medida que se contraen cuando se les expone a una solución hipertónica (300 mOsm \rightarrow 530 mOsm). La Figura 1 muestra el ensayo de cambio de volumen celular mediado por acuaporina con células que expresan AQP4 (Figura 1A) y células que expresan AQP2 (Figura 1B). Las células que expresan acuaporina se contraen más rápidamente que las células de control, debido a un mayor flujo de agua, cuya contracción puede ser inhibida por un compuesto que inhibe la acuaporina.

30 En la Figura 1, se muestran células que expresan acuaporina en presencia de DMSO (triángulos) o en presencia del compuesto de ensayo (aquí, el compuesto 3) a 10 μ M (cuadrados), junto con células de control que expresan CHO-CD81 en presencia de DMSO (diamantes). Cada curva representa un promedio de 16 pocillos en la placa de 96 pocillos.

35 En la Figura 1A, cuando las células AQP4b tratadas con DMSO son expuestas a un shock hipertónico, las células muestran una contracción rápida, lo que produce un aumento en la dispersión de la luz (aumento del cambio relativo en la absorbancia, Abs/Abs_0) seguido de una descomposición a medida que las células se desprenden de la placa. La línea celular CHO-AQP4b muestra un aumento de 4,5 veces en la tasa de contracción en comparación con las células de control CHO-CD81 (ajustado a un modelo exponencial doble). Las células CHO-AQP4b tratadas con el análogo del compuesto 3 a 10 μ M (cuadrados) muestran una tasa de contracción más lenta (55% de inhibición) como se ve por la característica falta de flexibilidad en la curva de dispersión de la luz. De manera similar, la Figura 1B muestra un experimento que compara la línea celular CHO-AQP2 tratada con DMSO o con el compuesto 3 a 10 μ M. La acuaporina-2 tiene una permeabilidad intrínseca al agua más baja que AQP4 como se observa aquí. Las líneas celulares CHO-AQP2 tratadas con DMSO (Figura 1B, triángulos) muestran un aumento de 1,7 veces en la tasa de contracción en comparación con las células de control CHO-CD81 (diamantes) también tratadas con DMSO (ajustado a un modelo exponencial doble) (Figura 1B). Las células CHO-AQP2 tratadas con el compuesto 3 a 10 μ M (cuadrados) muestran una tasa de contracción más lenta (81% de inhibición), al comparar el cambio relativo en Abs (Abs/Abs_0) (Figura 1B).

Los datos indican que en este ensayo, el compuesto 3 es capaz de inhibir significativamente la actividad de AQP2 y AQP4, por ejemplo, en más del 50%, a concentraciones de 10 μ M.

50 Ejemplo 2 - Especificidad a la acuaporina de los compuestos de fenilbenzamida

La especificidad de los compuestos se prueba frente a la más estrechamente relacionada de las 13 acuaporinas conocidas: AQP1, AQP2, AQP5 y ambas variantes de empalme de AQP4 (A y B). Se crea una línea celular CHO estable para cada una de las acuaporinas anteriores y se comprueba la inhibición de la permeabilidad al agua

utilizando el ensayo de cambio de volumen celular mediado por acuaporina con el compuesto 3 10 μM . El Compuesto 3 inhibe AQP2 y 4, mientras que inhibe poco a AQP1 y 5 (Figura 2).

Ejemplo 3 - Interacciones directas fármaco-diana entre fenilbenzamidas y AQP4

5 Para respaldar el mecanismo de acción por el cual las fenilbenzamidas bloquean directamente AQP4, realizamos estudios de unión *in vitro* utilizando AQP4b purificada y el compuesto 4 radiomarcado con ^3H . Usando un ensayo de tipo Hummel-Dryer, una columna de filtración de gel se equilibra con un detergente que contiene tampón, para mantener la solubilidad de AQP4b y [^3H]-compuesto 4 1 μM . AQP4b se diluye a 250 μM en este tampón de columna y se incuba a temperatura ambiente durante 30 minutos. Luego, la muestra se aplica a la columna, se recogen las fracciones y se detecta la presencia del [^3H]-compuesto 4 por recuento de centelleo líquido. La Figura 3 muestra el perfil de elución del [^3H]-compuesto 4 de la columna de filtración de gel con las posiciones de elución indicadas de AQP4b tetramérico y monomérico. El aumento de [^3H]-compuesto 4 a partir de un valor de referencia de 1 μM representa la unión a cada una de estas proteínas. Aunque no se puede detectar fácilmente AQP4b monomérico en nuestro AQP4b altamente purificado por medios convencionales, este ensayo revela la presencia de una pequeña cantidad de monómero que se desvanece. Las afinidades relativas para el compuesto 4 son $\sim 100 \mu\text{M}$ y menos de 1 μM para tetrámero y monómero, respectivamente. Este ensayo muestra una unión relativamente débil del compuesto 4 a AQP4b solubilizada; sin embargo, demuestra claramente que esta fenilbenzamida interactúa directamente con AQP4b.

Ejemplo 4 - Prueba de concepto farmacológico

20 Modelo de toxicidad por agua en el ratón - Curvas de supervivencia: las eficacias *in vivo* de los compuestos se prueban utilizando el modelo de toxicidad por agua en el ratón, donde se inyecta agua a un ratón al 20% de su peso corporal. Manley, GT et al. *Aquaporin-4 deletion in mice reduces brain edema after acute water intoxication and ischemic stroke*. *Nat Med* 6, 159-163 (2000); Gullans, S. R. & Verbalis, J. G. *Control of brain volume during hyperosmolar and hypoosmolar conditions*. *Annual Review of Medicine* 44, 289-301 (1993). La hiponatremia euvolémica resultante lleva rápidamente al EC, lo que lo convierte en un modelo práctico para probar un inhibidor de la acuaporina del SNC, AQP4b.

25 La capacidad de los ratones para sobrevivir la toxicidad por H_2O se determina en tres experimentos utilizando de 10-12 ratones cada uno (16-19 semanas de edad macho/hembra). El agua desionizada se prepara para inyección con 0,39 mg/kg de fenilbenzamida (placebo) o con 0,76 mg/kg con compuesto de ensayo. La Figura 4 muestra los resultados combinados de estos experimentos ($n=33$ placebo, $n=34$ compuesto 1). El porcentaje de supervivencia de las cohortes del compuesto 1 mejora 3,2 veces, y el tiempo hasta el 50% de supervivencia para los animales tratados con el compuesto 1 se mejora en aproximadamente 52 minutos.

35 Modelo de toxicidad por agua en el ratón - Contenido de agua en el cerebro: los compuestos también se analizan para determinar la capacidad de reducir el EC en ratones expuestos al shock de agua mediante el examen del contenido de agua en el cerebro. Los ratones se tratan con un bolo de agua como se describe anteriormente, y luego se sacrifican a los 30 minutos. El contenido de agua cerebral se evalúa por la relación peso fresco/seco, es decir, los cerebros se pesan inmediatamente y luego se secan en un horno a 100°C durante 24 horas y se miden los pesos secos (porcentaje de agua cerebral = $100 \times \text{peso seco/peso fresco}$). A los 30 minutos, los ratones tratados con 0,76 mg/kg y 7,6 mg/kg del compuesto 1 muestran una reducción de 11,2% y 15,9% en EC, respectivamente (Figura 5).

40 Modelo de toxicidad por agua en el ratón - Volumen cerebral por imagen de resonancia magnética (IRM): la IRM se utiliza para medir los cambios en el volumen cerebral en respuesta al shock hídrico, utilizando el modelo de toxicidad por agua. Como se describió para los estudios de supervivencia y contenido de agua cerebral anteriores, los ratones se inyectan, IP, con un bolo de agua solo o bolo de agua y compuesto de prueba a 0,76 mg/kg, y se monitorean los cambios en el volumen cerebral detectados por IRM. Los volúmenes cerebrales del ratón se evalúan utilizando imágenes de resonancia magnética recolectadas con un escáner de resonancia magnética Bruker Biospec RMI de 9,4T en el Case Center for Imaging Research en la Universidad de Case Western Reserve University. Se ha encontrado que este método de obtención de imágenes proporciona un contraste y una resolución suficientes para detectar de manera sensible cambios en el volumen cerebral total en el modelo de toxicidad por agua en el ratón para el edema cerebral. Se obtienen exploraciones sagitales de alta resolución ponderadas en T2 (resolución = 0,1 mm x 0,1 mm x 0,7 mm) de la cabeza del ratón antes de la inyección de agua, 5,67 minutos después de la inyección de agua, y luego cada 5,2 minutos hasta que el animal expira por la carga de agua. Cada exploración contiene veinticinco secciones de imágenes contiguas de 0,7 mm, de las cuales 14-15 secciones contienen una porción del cerebro. El área de la sección transversal del cerebro en cada sección de imagen se mide mediante la selección manual de la región de interés utilizando ImageJ. Los volúmenes cerebrales se calculan después para cada exploración sumando las áreas cerebrales de cada sección transversal y multiplicándolas por el grosor de la sección (0,7 mm).

55 El tratamiento con el compuesto 1 a 0,76 mg/kg reduce la tasa de desarrollo del EC de 0,081 a 0,032 min^{-1} (o 2,5 veces) ajustado a un solo modelo exponencial (Figura 6). Además, se reduce la extensión del EC durante el período de observación (Figura 6). Además, se encuentra que los niveles plasmáticos en el mismo ensayo varían entre 0,03-

0,06 μg según lo determinado por LC-MS/MS (realizado en Lerner Center, Cleveland Clinic, Cleveland, OH) y son suficientes para mostrar la eficacia en este modelo para el EC.

El volumen cerebral mediante el experimento de imágenes por resonancia magnética también se realiza con fenilbenzamida (0,39 mg/kg) y el compuesto 4 (0,83 mg/kg). El compuesto 4 reduce la tasa de desarrollo de EC de 0,081 a 0,022 min^{-1} (Tabla 1). La fenilbenzamida no muestra una reducción en la tasa de EC en los ratones (Tabla 1).

Tabla 1. Eficacia de los compuestos sobre la formación de EC en el modelo de toxicidad por agua en el ratón

Compuesto	Ensayo basado en la inhibición celular de AQP (%)	Tasa de edema cerebral por IRM (min^{-1})
Sin fármacos	0	0,081
Compuesto 1	47,9	0,032
Fenilbenzamida	4,5	0,096
Compuesto 4	38,9	0,022

Para sin fármacos y el compuesto 1, n = 14 ratones cada uno. Para la fenilbenzamida y el compuesto 4, n = 12 ratones cada uno.

Ejemplo 5 - Ensayo de selección de alto rendimiento

Bajo choque hipotónico, tanto las células no transfectadas como las células que expresan una proteína transmembrana no relacionada (CD81, en niveles equivalentes a AQP4b) se hinchan lentamente pero permanecen intactas. Estas observaciones se utilizan para desarrollar nuestro ensayo de detección de alto rendimiento (HTS).

Después del choque hipotónico en un formato de placa de 384 pocillos, devolvimos la osmolalidad a la normalidad (300 mOSM) agregando 2x de solución salina tamponada con fosfato concentrada complementada a 2 μM con un derivado acetoximetílico no fluorescente de calceína (calceína-AM) a cada pocillo. Las células intactas absorben la calceína-AM y la convierten en el colorante fluorescente calceína, lo que proporciona una medida cuantitativa de las células intactas restantes. Las células explotadas no convierten el precursor en el tinte. La captación de agua por las células que expresan AQP4 es relativamente rápida, con la mayoría de las células de prueba explotando dentro de los 4 minutos del choque hipotónico, mientras que la mayoría de las células que expresan CD81 siguen siendo viables después de 8 minutos. La conversión intracelular de calceína-AM proporciona una señal fuerte y fácilmente detectable a 535 nM en nuestro ensayo (Figura 7).

Ensayo de punto final de fluorescencia de calceína: las células se siembran 24 horas antes del ensayo para alcanzar el 100% de confluencia. El medio de cultivo se reemplaza con H_2O durante 5:30 minutos (choque osmótico). La osmolalidad se normaliza luego con la adición de 2x PBS más 2 μM de calceína-AM. Las células se incuban después a 37° C durante 30 minutos adicionales y se mide la fluorescencia en un lector de placas. Las filas 1-22 se siembran con células CHO-AQP4, y las filas 23-24, con células CHO-CD81 (placa de 384 pocillos). Nótese que todos los bordes de la placa se descartan. La intensidad de la fluorescencia relativa se calcula como la intensidad de fluorescencia (FI) de cada pocillo dividida por la FI media de las células AQP4 tratadas con DMSO (control). Criterios para un ensayo exitoso: coeficientes de variación (CVs) < 15% y factores Z > 0,5. El análisis estadístico muestra que 5,5 minutos de shock osmótico proporciona la relación óptima de señal a ruido.

Tabla 2. Estadísticas para el ensayo de 'calceína' de punto final en la Figura 7; punto de tiempo mostrado 5:30 minutos:

	Promedio	Desv. Estd.	CV	Z'	S/B
AQP4	581618	66311	11%	0,629	5,0
CD81	2910106	221240	8%		

Como se observará, la señal para las células CD81 es aproximadamente 5 veces mayor que la señal para las células AQP4, ya que a los 5,5 minutos, la mayoría de las células AQP4 han explotado, mientras que la mayoría de

las células CD81 permanecen intactas. Por lo tanto, se esperaría que la inhibición de AQP4 proporcione una señal más alta, más como las células CD81.

Este ensayo se aplica en una pantalla piloto de las bibliotecas MicroSource GenPlus 960 y Maybridge Diversity™ 20k (aproximadamente 21,000 compuestos analizados, cada compuesto a 10-20 µM).

- 5 A partir de este ensayo, se identifica una serie química específica, las fenilbenzamidas, que representan 3 de los 234 resultados más importantes.

Los éxitos del HTS se validan utilizando el mismo ensayo utilizando una disposición de revestimiento diferente. En la Figura 8, mostramos este ensayo de validación utilizado para examinar el compuesto 3. Las células se siembran en un formato multiplaca de 96 pocillos con los bordes de las placas omitidos (carriles 1 y 24) y se utiliza una columna completa (n=16) para probar la capacidad de un compuesto para bloquear la explosión celular mediada por AQP4 con el shock de H₂O. Las células CHO que expresan CD81 se siembran en los carriles 2-3 como control, y las células CHO que expresan AQP4, en los carriles 4-23. Las células se tratan con DMSO al 0,1% en FBS al 10%, DMEM (columnas de número par) o Compuesto 1 10 µM (columnas de número impar) en DMSO al 0,1%, FBS al 10%, DMEM durante 30 minutos. Las células se someten a shock con H₂O durante 5:30 minutos, a continuación, la osmolalidad se vuelve 300 mOsm en presencia de 1 mM de calceína-AM, como se describe anteriormente. Las células se incuban a 37° C durante 30 minutos y se mide la fluorescencia relativa (por ejemplo, 495 de excitación/535 de emisión nM) en un lector multiplaca de fluorescencia. Los datos en la Figura 8 representan las unidades de fluorescencia relativa promedio (RFU ± error standard de la media, n = 16).

Ejemplo 6 - Modelo de toxicidad por agua para EC: presión intracraneal (PIC)

20 La ICP se mide utilizando un sensor Samba 420, un transductor de presión, con una unidad de control Samba 202 (Harvard Apparatus, Holliston, MA). Este sistema de monitoreo de ICP consiste en un elemento sensor de silicón de 0,42 mm montado en una fibra óptica. Se implanta una aguja de jeringa de calibre 20 a través de la cisterna magna hasta una profundidad de ~ 1 cm. Luego, la aguja actúa como una guía para la inserción del sensor Samba y el sitio de implantación y el extremo abierto de la aguja se sellan con un 100% sellador de 100% silicón. Se establece una lectura de ICP de referencia seguida de una inyección IP de bolo de agua (20% en peso del animal) con o sin el compuesto 1. Se controla la ICP hasta que el animal expira por la carga de agua.

Ajustando por el aumento leve en la ICP observado en los animales cuando se monitorizan sin la inyección de bolo de agua (Figura 9, Sin Toxicidad por Agua), el compuesto 1 a 0,76 mg/kg redujo la tasa relativa de aumento de la ICP en un 36%, de $3,6 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ a $2,3 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ (n = 6 ratones/tratamiento, media ± error estándar de la media).

30 Ejemplo 7 - Conversión del compuesto 5 en el compuesto 1

Los niveles plasmáticos o séricos del Compuesto 1 se miden por LC-MS/MS en las instalaciones de Mass Spectrometry II Core en el Lerner Research Institute de la Cleveland Clinic Foundation. Las mediciones se toman a los 15 minutos y 24 horas después de una dosis de carga ip de 10 mg/kg y 1 mg/ml a una dosis de mantenimiento de 8 µl/hora (administrada por una bomba osmótica ip de Alzet, Durect Corp., Cupertino, CA) del compuesto 5 (n = 5 ratones/ punto de tiempo, promedio ± error estándar de la media) (Figura 10). Después del procesamiento inicial para eliminar las proteínas (75% de extracción con acetonitrilo), se introduce el compuesto 3 para mejorar la cuantificación utilizando el monitoreo de reacción múltiple (MRM). Las muestras se analizan mediante LC-MS/MS en tándem utilizando cromatografía de fase inversa C18 y análisis de masas con un espectrómetro de masas de triple cuadrupol. El método de LC es suficiente para separar el compuesto 1 del compuesto 3 y el MRM posterior proporcionó una cuantificación confiable con una respuesta lineal de 0,004 a 0,4 ng del Compuesto 1 para su ion producto más abundante. La línea discontinua en la Figura 10 es la concentración plasmática efectiva relativa del compuesto 1 observada en el modelo de toxicidad por agua en el ratón. La inclusión de una bomba osmótica Alzet (Durect Corp., Cupertino, CA) que contenía el compuesto 5 en el peritoneo fue suficiente, junto con una dosis de carga inicial, para mantener el compuesto 1 por encima de la concentración plasmática eficaz esperada de 20 ng/ml durante 24 horas (Figura 10).

La solubilidad del compuesto 1 en agua es de 3,8 µg/ml. La solubilidad del compuesto 5 en agua es de 1 mg/ml. Los experimentos iniciales mostraron una rápida bioconversión del Compuesto 5 al Compuesto 1 cuando se agregó al plasma de ratón *in vitro*. Menos de 5 minutos a 20° C es suficiente para hacer que el Compuesto 5 no se detecte. Además, el compuesto 1 no se detecta en muestras de plasma tomadas de ratones inyectados IP con el compuesto 5. En su lugar, el compuesto 1 se detecta a una concentración consistente con una buena biodisponibilidad y una conversión casi completa del compuesto 5. Con el compuesto 5, se pueden usar dosis de 10 mg/Kg y volúmenes de inyección IP en solución salina (0,5 ml para un ratón de 30 g), que proporcionan concentraciones séricas del Compuesto 1 en exceso de 400 ng/ml (Figura 10). Los parámetros clave de PK para el compuesto 5 son: tasa de absorción 0,12 min⁻¹; tasa de eliminación 0,017 min⁻¹.

55 Ejemplo 8 - Modelo de accidente cerebrovascular en animales

La mayoría de los accidentes cerebrovasculares isquémicos (~ 80%) se producen en la región de la arteria cerebral media (ACM). Para imitar esta lesión en ratones, se utiliza un modelo de monofilamento intraluminal de oclusión de

la arteria cerebral media (ACMo). La oclusión se logra insertando un filamento quirúrgico en la arteria carótida externa (AEC) y enroscándolo hacia delante en la arteria carótida interna (ACI) hasta que la punta bloquee el origen de la ACM. El cese del flujo sanguíneo resultante da lugar a un infarto cerebral posterior en el territorio de la ACM (Longa, EZ et al., Reversible Middle Cerebral Artery Occlusion Without Craniectomy in Rats, *Stroke*, 20, 84-91 (1989)). Esta técnica se utiliza para estudiar una oclusión temporal en la que se bloquea la ACM durante una hora. Luego, se retira el filamento, lo que permite que se produzca la reperfusión durante 24 horas antes de que se tome una imagen del cerebro del animal utilizando exploraciones ponderadas en T2 en un escáner de resonancia magnética Bruker 9.4T en el Case Center for Imaging Research (Figura 11). La Figura 11 muestra una única sección de una imagen de RM ponderada en T2 que muestra el centro del cerebro mostrando la corteza cerebral, el hipocampo, el tálamo, la amígdala y el hipotálamo para un ratón "normal" (paneles de la izquierda) y un ratón que ha recibido ACMo durante una hora seguido de 24 horas de reperfusión (paneles a la derecha). Las líneas discontinuas marcan la línea media del cerebro y muestran un gran desplazamiento en el cerebro de ACMo debido a un edema cerebral. La línea continua resalta la región del infarto en el cerebro de ACMo.

Supervivencia: los ratones se tratan con el compuesto 5 utilizando una dosis de carga ip de 2 mg/kg y 1 mg/ml a una dosis de mantenimiento de 8 µl/h (administrada por una bomba osmótica ip) del compuesto 5, o se administra solución salina (controles; n = 17) utilizando un enfoque idéntico. En este modelo, observamos una mejora del 29,4% en la supervivencia general a las 24 horas cuando los animales se trataron con el compuesto 5 ($X^2(1) = 4,26$; $P < 0,05$).

Edema cerebral: los ratones reciben solución salina o se tratan con el Compuesto 5 mediante dosis múltiples de 5 mg/kg ip cada tres horas (n = 8 por tratamiento). Este régimen de dosificación es suficiente para mantener una concentración plasmática del compuesto 1 > 10 ng/ml durante la duración del estudio. El volumen hemisférico ipsilateral y contralateral se mide a partir de las imágenes de RM ponderadas en T2 de los ratones 24 horas después del ictus. El cambio relativo en el volumen hemisférico se calcula como un porcentaje de la diferencia entre el volumen cerebral ipsilateral (V_i) y el volumen cerebral contralateral (V_c) en relación con el volumen cerebral contralateral (cambio porcentual en el volumen cerebral hemisférico = $((V_i - V_c)/V_c) \times 100\%$).

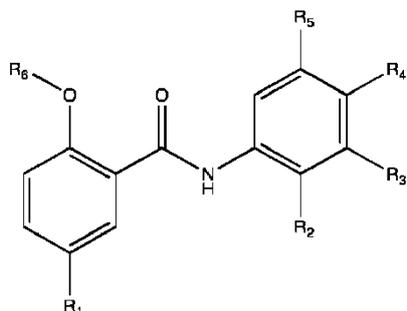
Los animales de control mostraron hinchazón en el hemisferio ipsilateral con un cambio relativo en el volumen cerebral ipsilateral de $13,4\% \pm 1,9\%$, mientras que los animales que recibieron el compuesto 5 mostraron un cambio de $4,2 \pm 1,7\%$ ($P = 0,003$, \pm error estándar de la media, véase la Figura 12). Esto representa una reducción de 3,2 veces en la inflamación del cerebro después de ACMo.

Resultado neurológico: en el mismo experimento anterior, los animales recibieron una puntuación para el resultado neurológico en una escala simple de 5 puntos descrita en Manley, GT et al., Aquaporin-4 Deletion in Mice Reduces Brain Edema After Acute Water Intoxication and Ischemic Stroke, *Nature Medicine*, 6, 159-163 (2000). Se observa una mejora en el resultado neurológico para los animales que recibieron el compuesto 5. Los animales de control tuvieron una puntuación neurológica promedio de $2,77 \pm 0,66$, mientras que los animales que recibieron el Compuesto 5 tuvieron una puntuación promedio de $0,88 \pm 0,31$ (Figura 13, recuadro, $P = 0,025$, n = 9 por tratamiento). Los animales que recibieron el compuesto 5 no progresaron a un estado de parálisis severa o muerte.

Los datos del modelo de accidente cerebrovascular ACMo junto con el modelo de toxicidad por agua (edema cerebral) vinculan la farmacología del compuesto 5/compuesto 1 con mejores resultados en el accidente cerebrovascular.

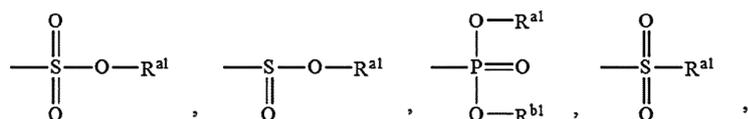
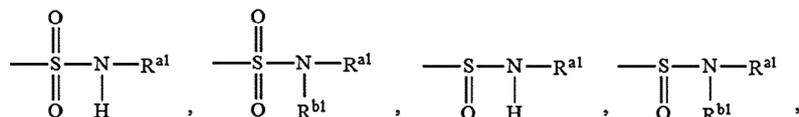
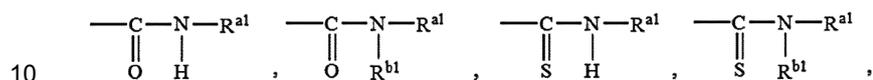
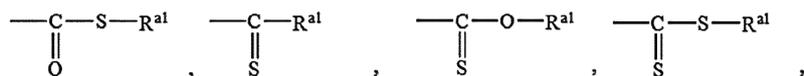
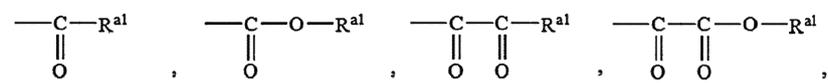
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula 1a

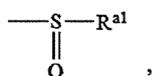


en donde:

5 R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ se seleccionan de H, halo, alquilo C₁₋₄ halogenado y ciano; y R₆ se selecciona de H, un residuo de un aminoácido, un formilo, glioilo, tioformilo, carbamoilo, tiocarbamoilo, sulfamoilo, sulfinamoilo, carboxi, sulfo, fosfo,



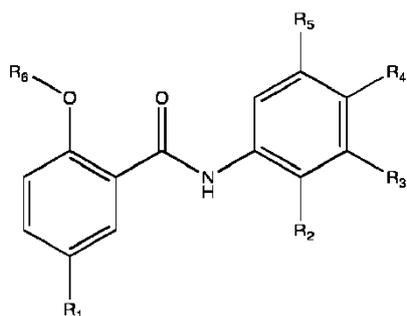
y



15 en donde R^{a1} y R^{b1} pueden ser iguales o diferentes y representan un grupo hidrocarbonado o un grupo heterocíclico, o R^{a1} y R^{b1} se combinan entre sí, junto con el átomo de nitrógeno al que se unen, para formar un grupo amino cíclico; en forma libre o de sal farmacéuticamente aceptable,

20 para usar como un medicamento en el tratamiento de una enfermedad o afección mediada por la acuaporina mediante la inhibición de la acuaporina-2 y/o la acuaporina-4, en donde la afección o enfermedad mediada por la acuaporina se selecciona de la isquemia del miocardio, infarto de miocardio, hipoxia del miocardio e insuficiencia cardiaca congestiva.

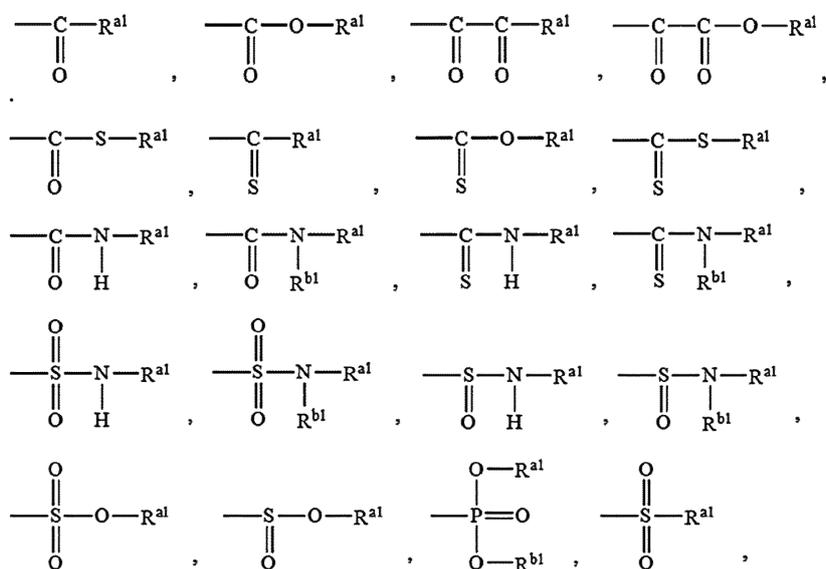
2. Un compuesto de fórmula 1a



en donde:

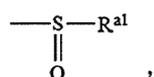
R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ se seleccionan de H, halo, alquilo C₁₋₄ halogenado y ciano; y R₆ se selecciona de H, un residuo de un aminoácido, un formilo, glioxiloilo, tioformilo, carbamoilo, tiocarbamoilo, sulfamoilo, sulfinamoilo, carboxi, sulfo, fosfona,

5



10

y



en donde R^{a1} y R^{b1} pueden ser iguales o diferentes y representan un grupo hidrocarbonado o un grupo heterocíclico, o R^{a1} y R^{b1} se combinan entre sí, junto con el átomo de nitrógeno al que se unen, para formar un grupo amino cíclico;

15

en forma libre o de sal farmacéuticamente aceptable,

para uso en el tratamiento o control de una enfermedad o afección mediada por acuaporina mediante la inhibición de acuaporina-2 y/o acuaporina-4, en donde la afección o enfermedad mediada por acuaporina se selecciona del edema, epilepsia, neuromielitis óptica, una migraña, hiponatremia, isquemia de la retina y retención excesiva de líquidos.

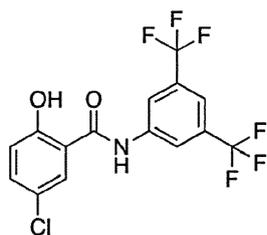
20

3. El compuesto para uso de la reivindicación 1 o 2, en donde R₆ es acetilo o en donde R₆ es un grupo carbonilo de anillo heterocíclico no aromático de 5 a 6 miembros que comprende al menos un nitrógeno como un átomo constitutivo del anillo y se une al grupo carbonilo en el átomo de nitrógeno y el anillo heterocíclico puede estar sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente entre alquilo, alquil-oxi-carbonilo y carboxi, opcionalmente en donde el anillo heterocíclico no aromático de 5 a 6 miembros se selecciona de 1-pirrolidinilo, piperidino, morfolino y 1-piperazinilo, opcionalmente en donde R₆ es (morfolin-4-il)carbonilo.

25

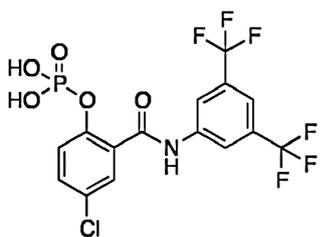
4. El compuesto para uso de la reivindicación 1 o 2, en donde:

R₁ se selecciona de trifluorometilo, cloro, flúor y bromo;



en forma libre o de sal farmacéuticamente aceptable, en donde preferiblemente el compuesto está en forma libre.

9. El compuesto para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 4, 6 o 7, en donde el compuesto de fórmula 1a es



5

en forma libre o de sal farmacéuticamente aceptable.

10. El compuesto para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 2-9, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema cerebral, opcionalmente en donde el edema cerebral es consecuencia de un traumatismo craneal, accidente cerebrovascular, glioma, meningitis, mal agudo de montaña, convulsiones epilépticas, infección, trastorno metabólico, hipoxia, intoxicación por agua, insuficiencia hepática, encefalopatía hepática, cetoacidosis diabética, exposición a la microgravedad, exposición a la radiación, un procedimiento invasivo del sistema nervioso central, un absceso, eclampsia, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob o lupus cerebritis.

10

11. El compuesto para uso de la reivindicación 10, en donde el edema cerebral es

- como consecuencia de un accidente cerebrovascular, opcionalmente un accidente cerebrovascular isquémico, o

15 - como consecuencia de una lesión cerebral traumática.

12. El compuesto para uso de la reivindicación 10, en donde el edema cerebral es consecuencia de la hipoxia, opcionalmente, en donde la hipoxia está causada por un paro cardíaco, accidente cerebrovascular u otra interrupción de la perfusión sanguínea en el cerebro.

20 13. El compuesto para uso de la reivindicación 10, en donde el edema cerebral es consecuencia de un traumatismo craneal cerrado.

14. El compuesto para uso de la reivindicación 10, en donde el edema cerebral es consecuencia de un accidente cerebrovascular en la arteria cerebral media.

15. El compuesto para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 10-14, en donde el edema cerebral es un edema cerebral citotóxico.

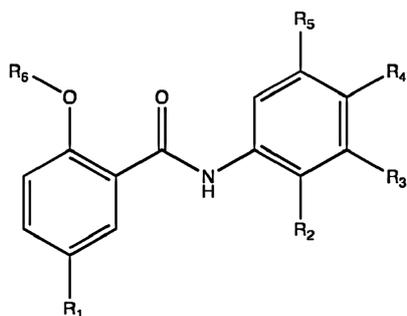
25 16. El compuesto para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 2-9, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema de la médula espinal, opcionalmente en donde el edema de la médula espinal es como consecuencia de un trauma de la médula espinal, opcionalmente en donde el trauma de la médula espinal es la compresión de la médula espinal.

30 17. El compuesto para uso de cualquiera de las reivindicaciones 10-16, en donde el paciente ha sufrido un accidente cerebrovascular, lesión en la cabeza o lesión en la médula espinal dentro de las 12 horas de comenzar el tratamiento, opcionalmente dentro de las 6 horas de comenzar el tratamiento, opcionalmente dentro de las 3 horas de comenzar el tratamiento.

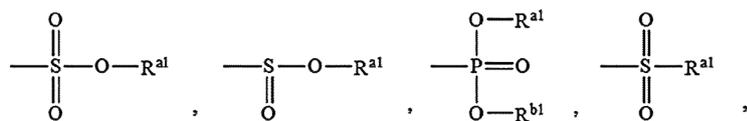
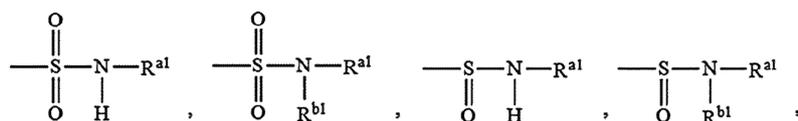
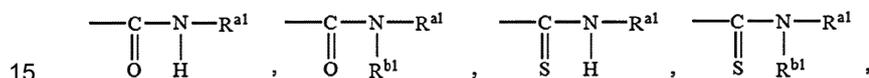
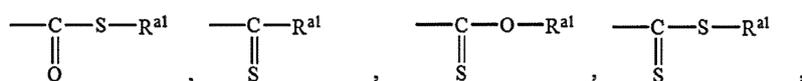
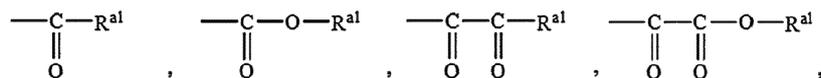
35 18. El compuesto para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 2-9, en donde la afección que se va a tratar o controlar es un edema de la retina, edema del nervio óptico como consecuencia de la exposición a la microgravedad o exposición a la radiación, edema como consecuencia de la hipoxia o edema cardíaco, opcionalmente en donde el edema cardíaco es como consecuencia de la isquemia cardíaca, opcionalmente, en donde el edema es un edema cerebral como consecuencia de la hipoxia causada por paro cardíaco, accidente cerebrovascular u otra interrupción de la perfusión sanguínea en el cerebro.

19. El compuesto para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 2-9, en donde la afección que se va a tratar o controlar es la hiponatremia o retención excesiva de líquidos, opcionalmente en donde la hiponatremia o retención excesiva de líquidos es como consecuencia de insuficiencia cardíaca, cirrosis hepática, trastorno nefrótico, o síndrome de secreción inadecuada de hormona antidiurética (SIADH).

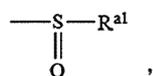
5 20. Un método para la identificación de inhibidores específicos de la acuaporina, que comprende medir la respuesta de una población de células que expresan acuaporina frente a una población de células control a una solución hipertónica o hipotónica en presencia o ausencia de un compuesto de ensayo, en donde las células son de mamíferos. El compuesto de ensayo es un control positivo y es un compuesto de fórmula 1a.



10 en donde: R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ se seleccionan de H, halo, alquilo C₁₋₄ halogenado y ciano; y R₆ se selecciona de H, un residuo de un aminoácido, un formilo, glioxiloilo, tioformilo, carbamoilo, tiocarbamoilo, sulfamoilo, sulfinamoilo, carboxi, sulfo, fosfono,



y



20 en donde R^{a1} y R^{b1} pueden ser iguales o diferentes y representan un grupo hidrocarbonado o un grupo heterocíclico, o R^{a1} y R^{b1} se combinan entre sí, junto con el átomo de nitrógeno al que se unen, para formar un grupo amino cíclico;

en forma libre o de sal farmacéuticamente aceptable, y opcionalmente, en donde la población de células que expresa acuaporina expresa acuaporina-2 o acuaporina-4.

25

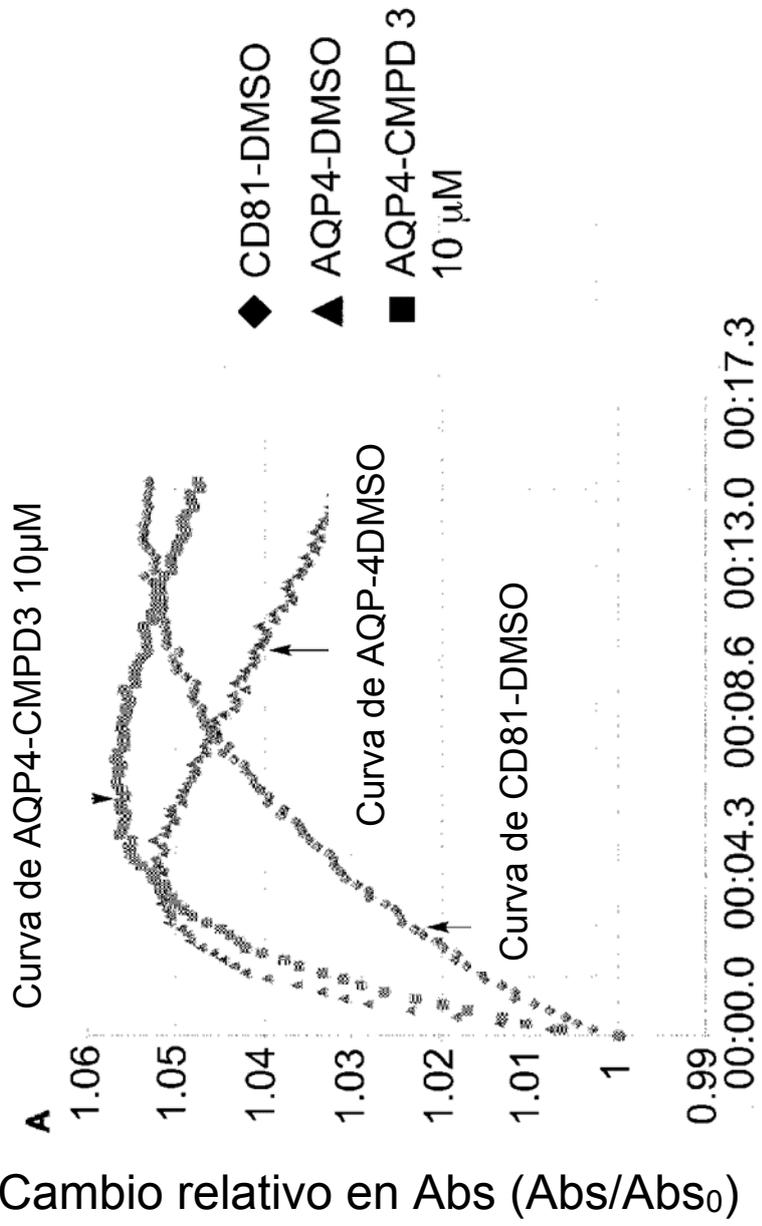


Figura 1A

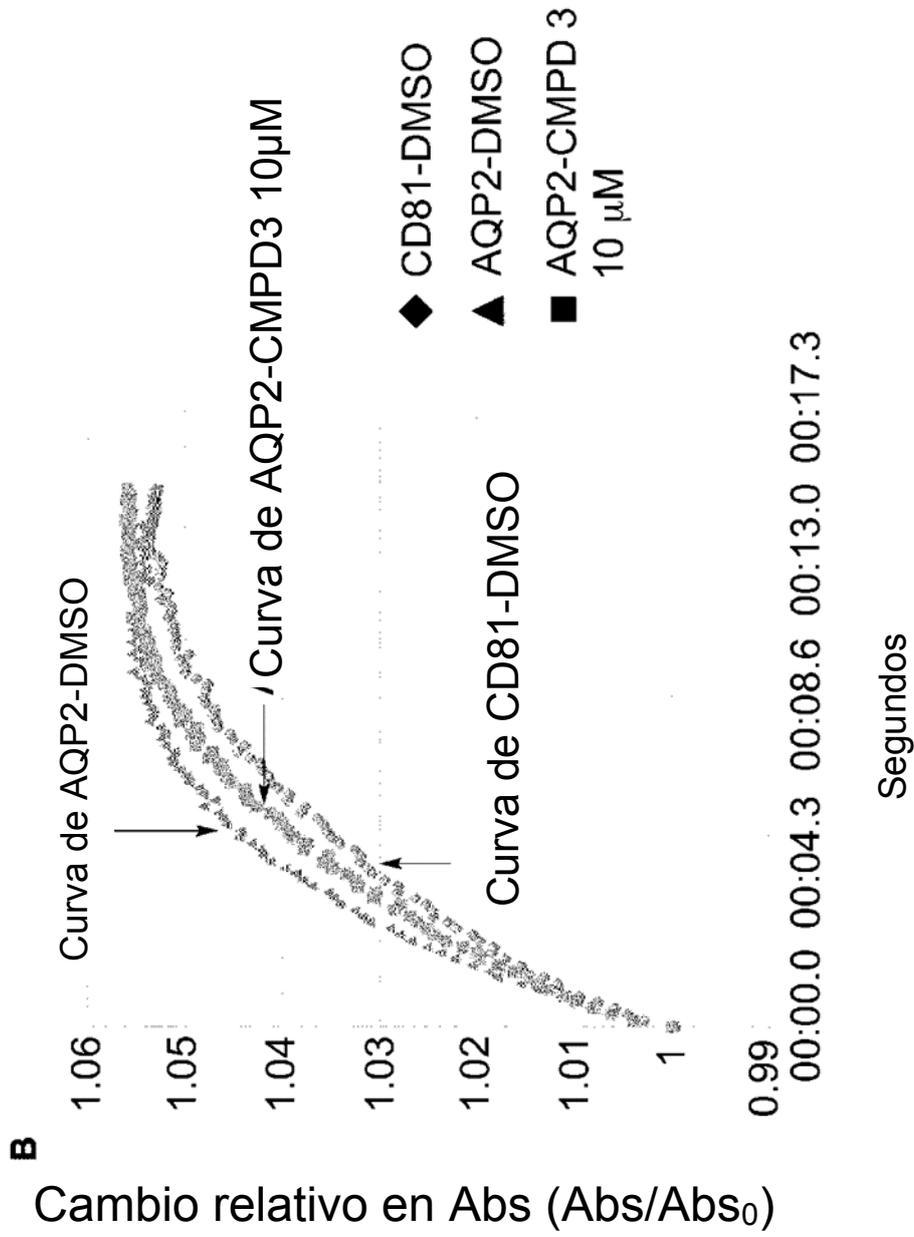


Figura 1B

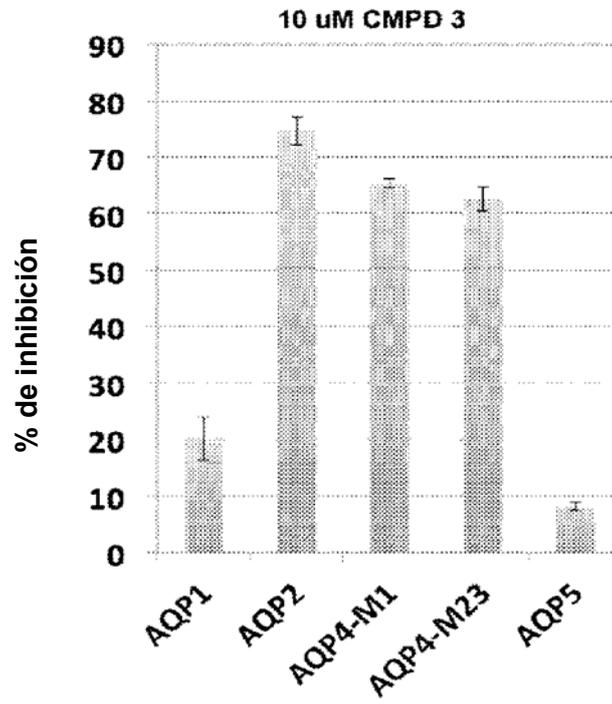


FIGURA 2

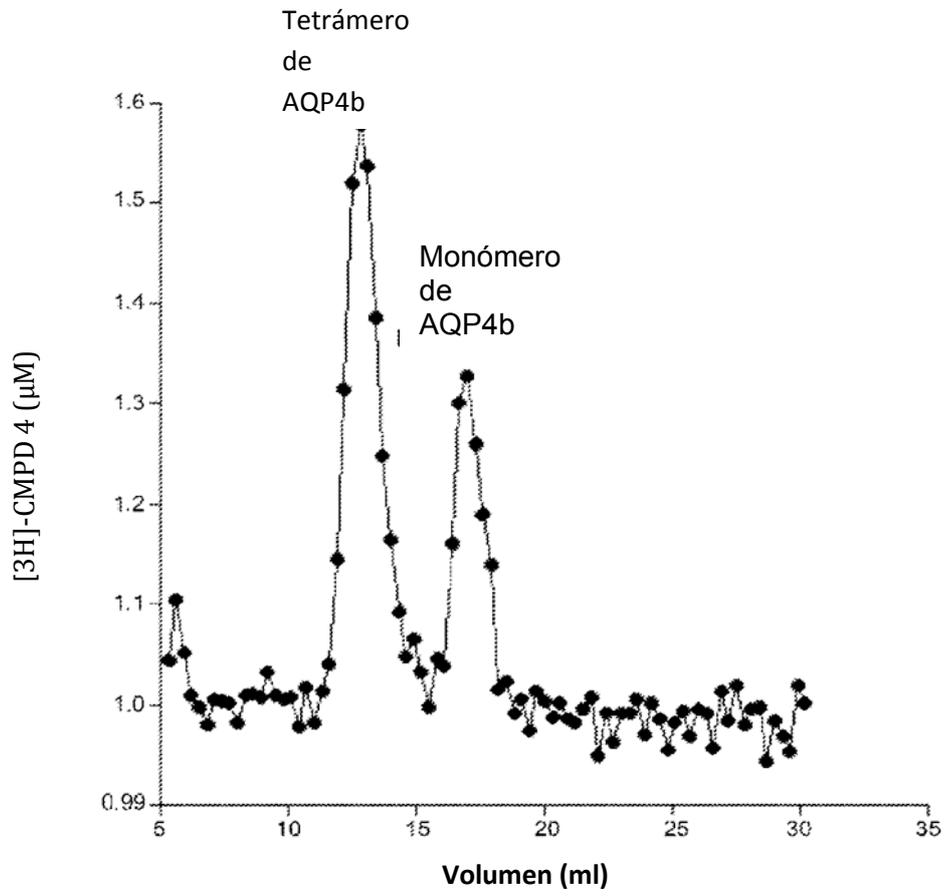


FIGURA 3

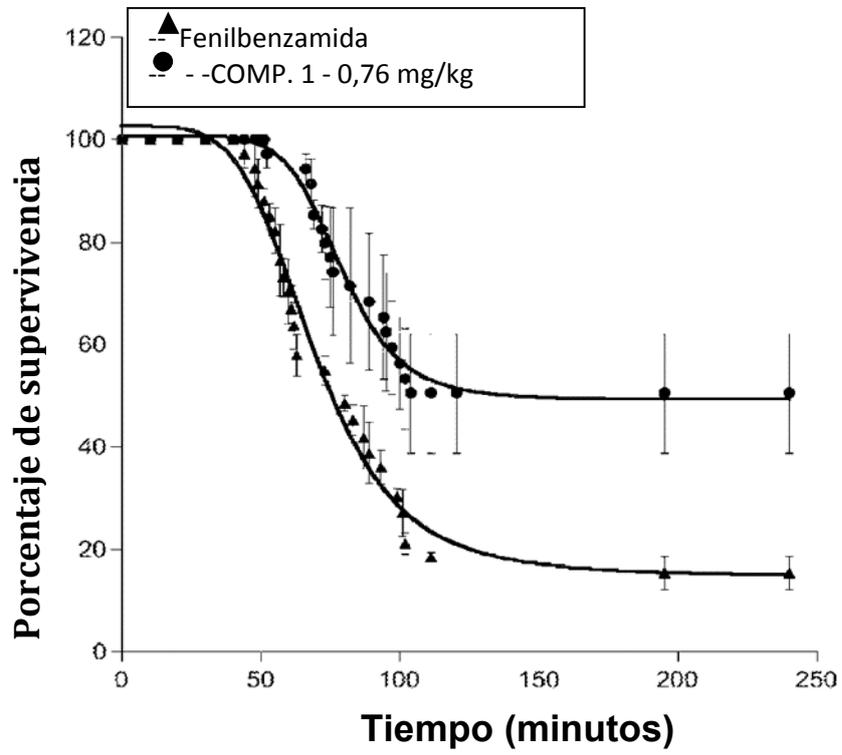


FIGURA 4

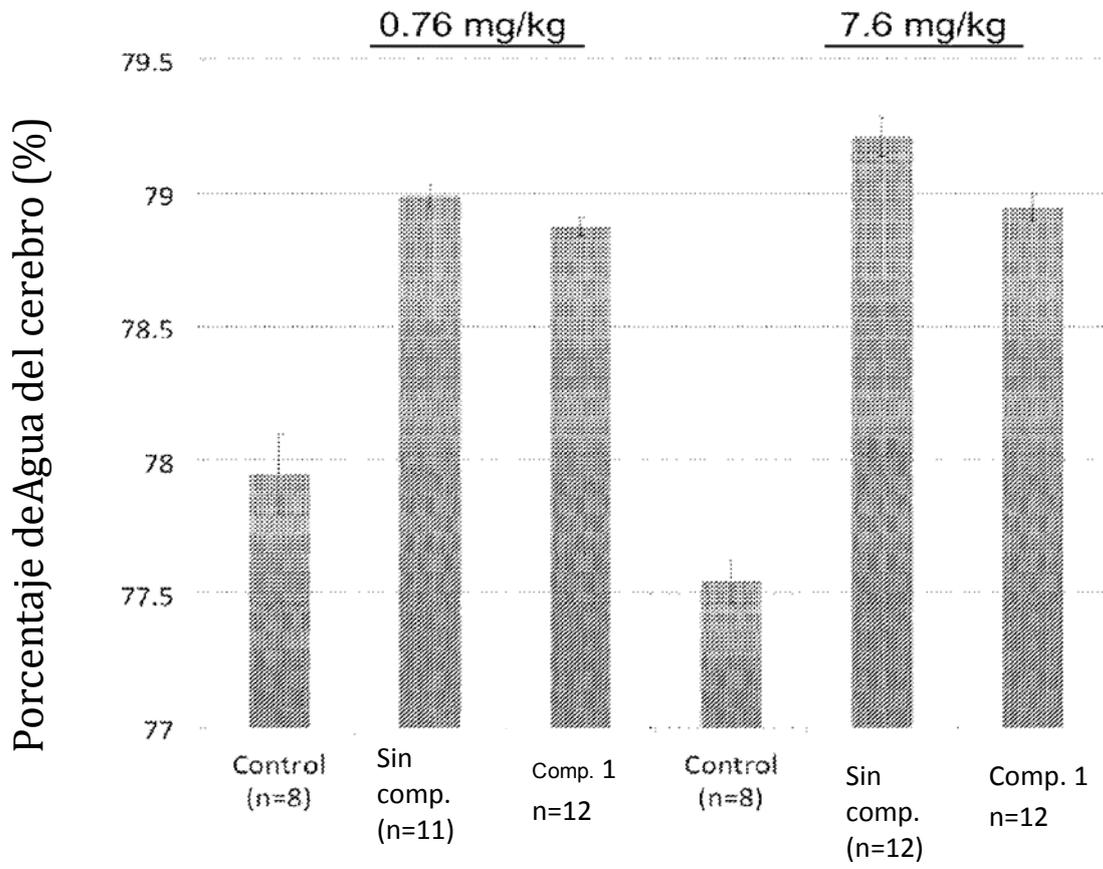


FIGURA 5

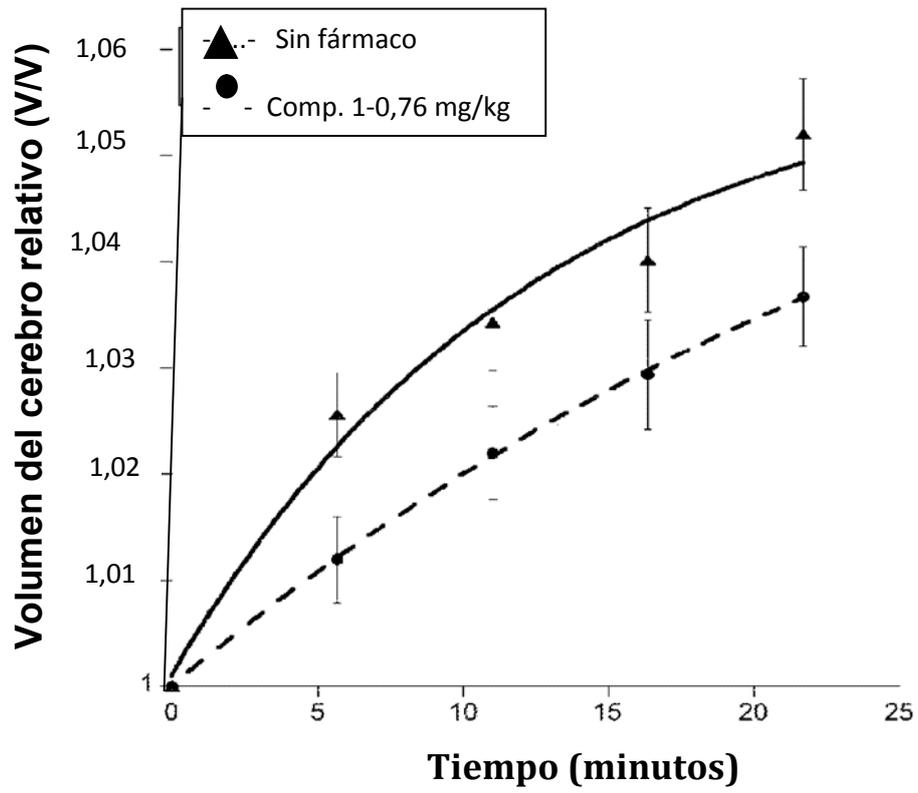


FIGURA 6

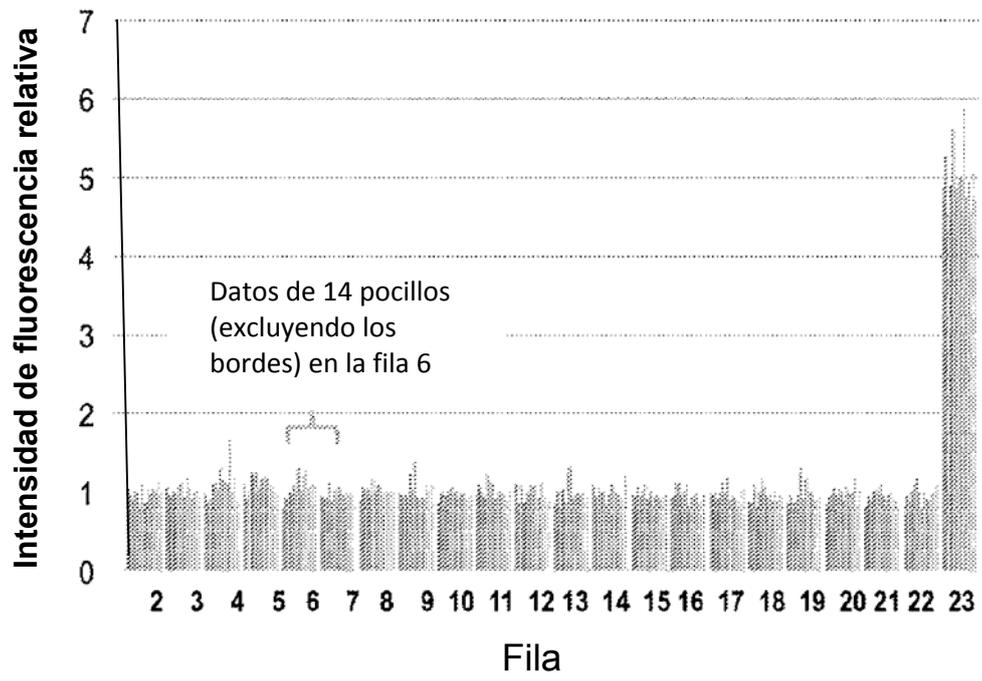


FIGURA 7

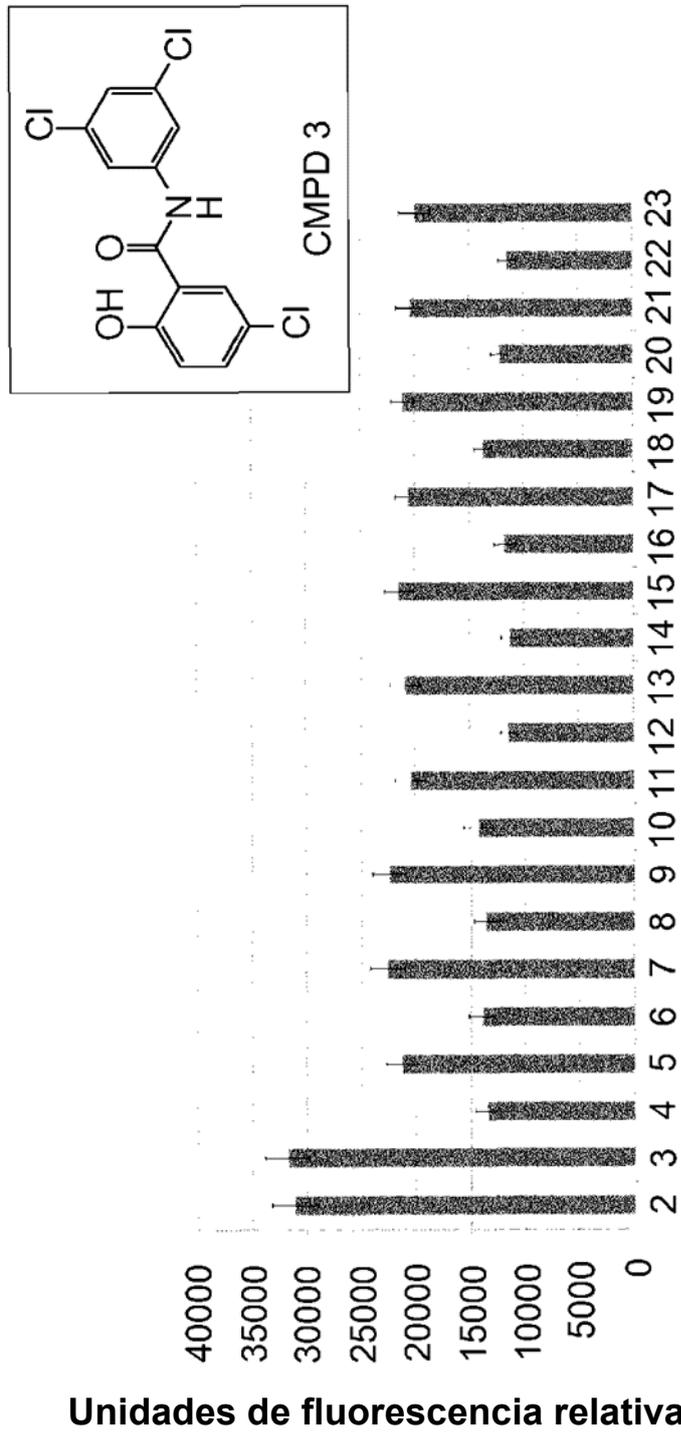


FIGURA 8

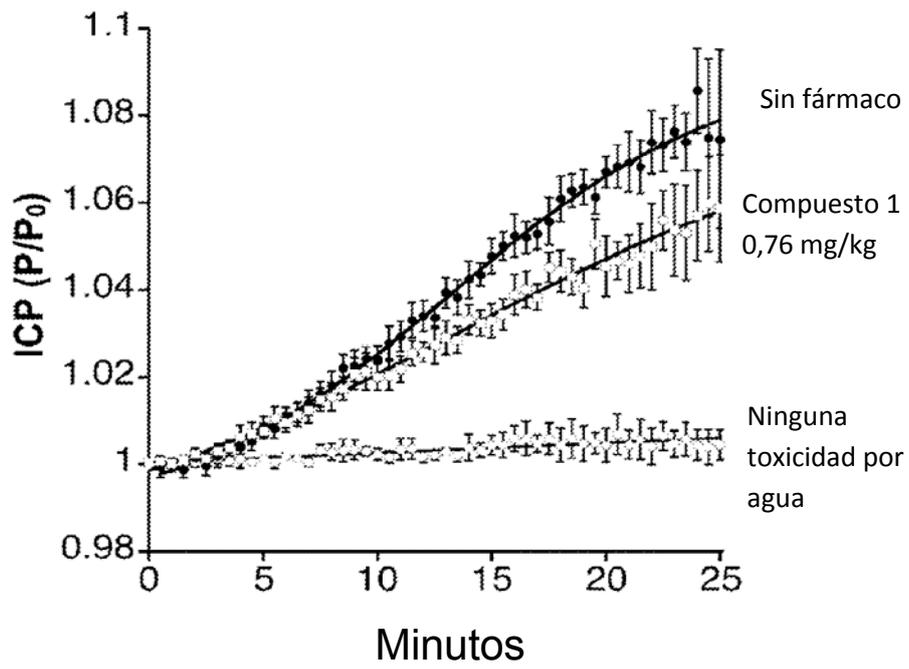


FIGURA 9

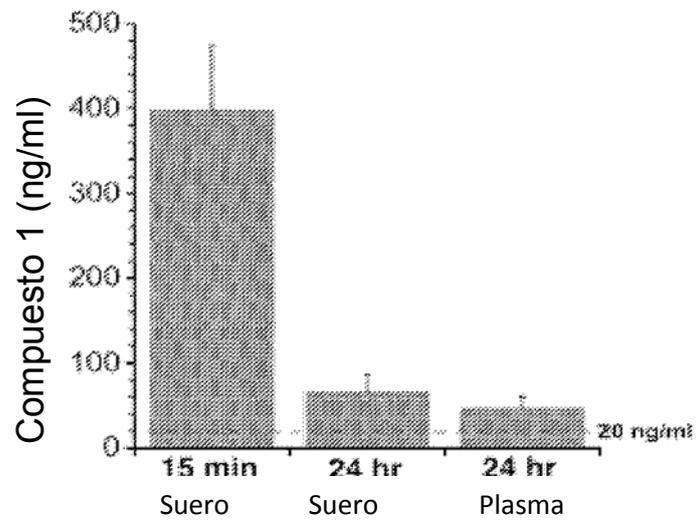


FIGURA 10

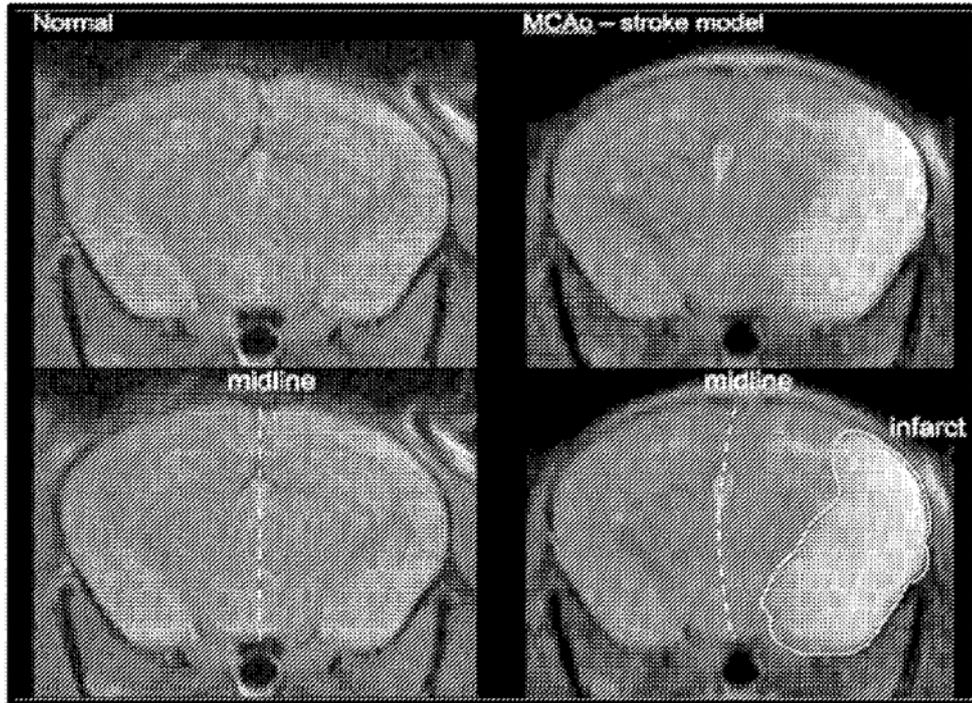


FIGURA 11

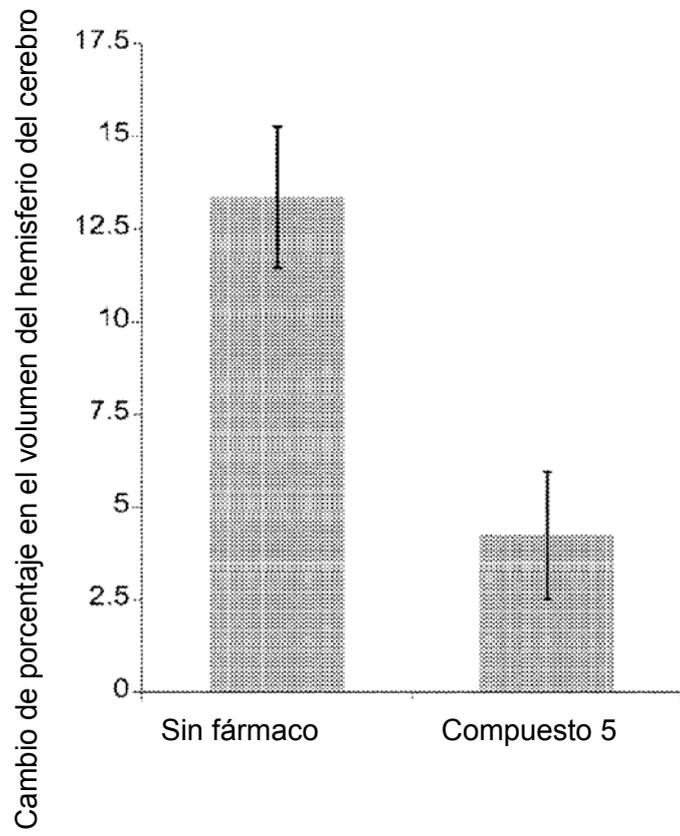


FIGURA 12

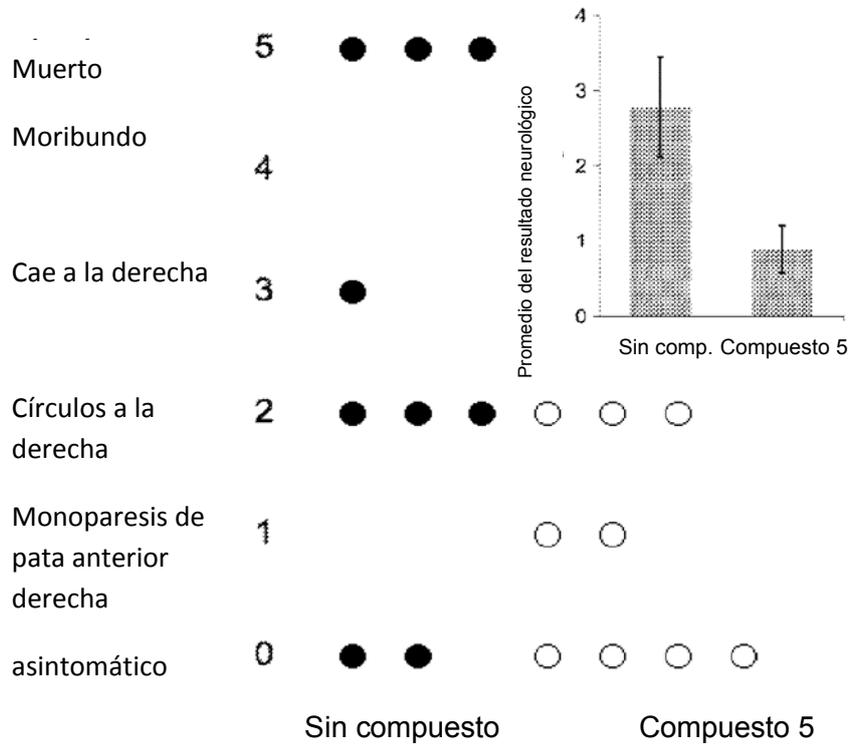


FIGURA 13