

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 708 930**

51 Int. Cl.:

A61K 31/438 (2006.01)

C07D 471/10 (2006.01)

A61P 25/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.07.2011 E 14000496 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.12.2018 EP 2740476**

54 Título: **Derivados de cis-tetrahydro-espiro(ciclohexano-1,1'-pirido[3,4-b]indol)-4-amina**

30 Prioridad:

28.07.2010 EP 10007822

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

12.04.2019

73 Titular/es:

**GRÜNENTHAL GMBH (100.0%)
Zieglerstrasse 6
52078 Aachen, DE**

72 Inventor/es:

**LINZ, KLAUS;
ZEMOLKA, SASKIA;
NOLTE, BERT;
SCHUNK, STEFAN y
SCHICK, HANS**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 708 930 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

Derivados de cis-tetrahydro-espiro(ciclohexano-1,1'-pirido[3,4-b]indol)-4-amina

5 La invención se refiere a compuestos que actúan sobre el sistema receptor de nociceptina/ORL-1, así como sobre el sistema receptor opioide μ y que se distinguen en particular por la eficacia selectiva en el tratamiento del dolor crónico (entre otros, dolor inflamatorio, dolor visceral, dolor tumoral, preferiblemente dolor neuropático), sin desarrollar al mismo tiempo una eficacia marcada en caso de dolor nociceptivo agudo. Los compuestos usados de acuerdo con la invención son derivados de cis-tetrahydro-espiro(ciclohexano-1,1'-pirido[3,4-b]indol)-4-amina.

10 El dolor crónico se puede dividir en dos grupos principales. El dolor nociceptivo fisiopatológico es provocado por la excitación de nociceptores intactos después de traumatismos tisulares. Esto incluye en particular el dolor inflamatorio crónico. Por otro lado, el dolor causado por un daño mecánico, metabólico o inflamatorio de los propios nervios se denomina dolor neuropático. El tratamiento del dolor crónico posee un gran reto para la medicina, ya que aunque algunos de los medicamentos que se encuentran en el mercado son altamente eficaces en el caso del dolor agudo, en muchos casos no conducen a un tratamiento del dolor satisfactorio en el caso de dolor crónico y, en particular, neuropático.

20 Los eventos inflamatorios se encuentran entre los mecanismos más importantes de la formación del dolor. El dolor inflamatorio típico está provocado por la liberación de bradiquinina, histamina y prostaglandinas, con una acidificación del tejido y la presión del exudado sobre los nociceptores. Como consecuencia, frecuentemente se producen fenómenos de sensibilización en el sistema nervioso central que se manifiestan en un aumento de la actividad espontánea neuronal y en respuestas a estímulos más fuertes de las neuronas centrales (Coderre et al., Pain 1993, 52, 259-285). Estos cambios en el comportamiento de respuesta de las neuronas centrales pueden contribuir al dolor espontáneo y la hiperalgesia (aumento de la sensibilidad del dolor con respecto a un estímulo nócico), típicos de un tejido inflamado (Yaksh et al., PNAS 1999, 96, 7680-7686).

30 Los antiinflamatorios no esteroideos (AINE), que también tienen un componente antiinflamatorio además de la acción analgésica, han demostrado ser particularmente exitosos en el tratamiento del dolor inflamatorio. (Dickensen, A., International Congress and Symposium Series - Royal Society of Medicine (2000), 246, 47-54). Sin embargo, su uso en la terapia del dolor crónico a largo plazo está limitada con frecuencia por efectos no deseados considerables, tales como úlceras gastroentéricas o toxicidad renal. En el caso de dolor inflamatorio grave a muy intenso (por ejemplo, en el contexto de una pancreatitis crónica), los AINE posiblemente reduzcan el dolor solo ligeramente, pero conllevan un riesgo elevado debido al mayor peligro de hemorragia. El siguiente paso es generalmente el tratamiento con opiáceos μ , con una dependencia de los narcóticos que está muy extendida entre las personas afectadas (Vercauteren et al., Acta Anaesthesiologica Bélgica 1994, 45, 99-105). Por lo tanto, existe la necesidad urgente de compuestos que sean altamente eficaces en el caso de dolor inflamatorio y tengan un potencial de dependencia reducido.

40 El dolor neuropático se produce cuando los nervios periféricos se dañan de forma mecánica, metabólica o inflamatoria. Los perfiles de dolor que se presentan aquí se caracterizan predominantemente por la aparición de dolor espontáneo, hiperalgesia y alodinia (el dolor ya está provocado por estímulos no tóxicos) (véase Baron, Clin. J. Pain 2000; 16 (2 Suppl), 12-20). Las causas y características, y por lo tanto también las necesidades de tratamiento, del dolor neuropático son muchas y variadas. Se produce como resultado de daño al o enfermedad del cerebro, la médula espinal o los nervios periféricos. Las causas pueden ser operaciones (por ejemplo, dolor fantasma después de la amputación), lesiones de la médula espinal, ictus, esclerosis múltiple, abuso de alcohol o medicamentos u otras sustancias tóxicas, cáncer y también enfermedades metabólicas tales como diabetes, gota, insuficiencia renal o cirrosis hepática, así como enfermedades infecciosas (entre otras, herpes zoster, fiebre glandular de Pfeiffer, erliquiosis, tífus, difteria, VIH, sífilis o borreliosis). La experiencia del dolor tiene signos y síntomas muy diferentes (por ejemplo, hormigueo, ardor, punzadas electrizantes o dolor radiante), que pueden cambiar con el tiempo en número e intensidad.

50 La terapia farmacológica básica del dolor neuropático incluye antidepresivos tricíclicos y anticonvulsivos, que se usan como monoterapia o también en combinación con opiáceos. Estos medicamentos generalmente solo proporcionan un cierto grado de alivio del dolor, mientras que a menudo no se logra la ausencia de dolor. Los efectos secundarios que se producen con frecuencia impiden a menudo aumentos de dosis de los medicamentos con el fin de lograr un alivio del dolor adecuado. De hecho, el tratamiento satisfactorio del dolor neuropático a menudo requiere una dosificación más alta de un opioide μ que el tratamiento del dolor agudo, como resultado de lo cual los efectos secundarios ganan aún más importancia. Esto significa que hoy en día el dolor neuropático es difícil de tratar. Solo se alivia parcialmente incluso con altas dosis de opiáceos de la fase 3 (Saudi Pharm. J. 2002, 10 (3), 73-85).

60

Los opiáceos que se usan en el tratamiento del dolor neuropático también suelen ser eficaces contra el dolor agudo al mismo tiempo. Hasta ahora no ha sido posible separar el tratamiento del dolor neuropático por un lado y el dolor agudo por el otro. Dependiendo de la dosis de los opiáceos, por lo tanto, se suprime cualquier sensación de dolor del paciente, lo que puede ser realmente desventajoso. El dolor agudo cumple una función protectora para el cuerpo, que se pierde si la sensación de dolor agudo se ve afectada o suprimida. Por lo tanto, es necesario mantener la sensación general de dolor mientras se controla el dolor neuropático.

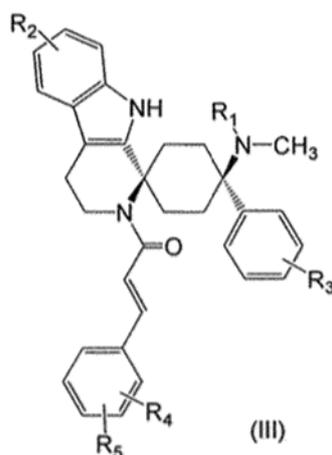
Los derivados de ciclohexano espirocíclicos que actúan sobre el sistema receptor de nociceptina/ORL-1 y opioide μ son conocidos en la técnica anterior. Estos compuestos se distinguen por, entre otras cosas, una variabilidad estructural extraordinariamente grande y son adecuados para, entre otras cosas, el tratamiento del dolor inflamatorio y neuropático. A este respecto, se puede hacer referencia, por ejemplo, a la totalidad de los documentos WO 2004/043967, WO2005/063769, WO2005/066183 y WO2006/108565.

Existe la necesidad de medicamentos que sean eficaces en el tratamiento del dolor crónico, en particular el dolor neuropático, y que al mismo tiempo afecten a la percepción del dolor agudo en la menor medida posible. Siempre que sea posible, estos medicamentos deben contener una dosis tan pequeña de principio activo como para asegurar una terapia satisfactoria del dolor sin que se produzcan efectos secundarios intolerables.

El objeto subyacente de la invención es proporcionar nuevos compuestos que sean adecuados como medicamentos y tengan ventajas sobre la técnica anterior.

Este objeto se logra mediante la materia objeto de las reivindicaciones de la patente.

La invención se refiere a compuestos de la fórmula general (III)



en la que

- R₁ es -H o CH₃;
- R₂ es -H o -halógeno ;
- R₃ es -H o -halógeno;
- R₄ es -H, -halógeno o -Oalquilo C₁₋₃ ; y
- R₅ es -H, -halógeno o -Oalquilo C₁₋₃ ;

donde el compuesto está presente como una sal clorhidrato, citrato o hemi-citrato.

Se ha encontrado, sorprendentemente, que los compuestos de acuerdo con la fórmula general (III) actúan sobre el sistema receptor de nociceptina/ORL-1 y opioide μ , y son particularmente eficaces en el tratamiento del dolor crónico, especialmente el dolor neuropático, sin suprimir al mismo tiempo la percepción del dolor agudo. Además, sorprendentemente, estos compuestos presentan, si acaso, efectos secundarios muy ligeros típicos de los opiáceos en el intervalo de dosificación analgésicamente eficaz.

Los compuestos de acuerdo con la fórmula general (III) presentan una eficacia analgésica muy alta en el tratamiento del dolor crónico, en particular dolor neuropático, preferiblemente resultado de enfermedades poli o mononeuropáticas.

5 Se ha encontrado, sorprendentemente, que los compuestos no tienen efecto sobre la nocicepción normal en animales sanos o en el tejido sano de animales mononeuropáticos a dosis que conducen a la eliminación prácticamente completa del dolor neuropático en modelos de mononeuropatía o polineuropatía. Esto significa que estos compuestos eliminan la afección patológica (alodinia o hiperalgesia), pero al mismo tiempo deterioran la sensación normal de dolor solo ligeramente, si es que lo hacen. La acción antinociceptora de los compuestos en el dolor agudo es, por lo tanto, insignificante.

10 Por lo tanto, los compuestos de acuerdo con la fórmula general (III) permiten una eficacia selectiva contra el dolor crónico, preferiblemente contra el dolor neuropático, más preferiblemente contra el dolor mononeuropático/neurálgico o polineuropático, incluso más preferiblemente contra el dolor en el caso de la neuralgia posherpética o en el caso de polineuropatía diabética, preferiblemente con una eficacia antinociceptora insignificante en el caso de dolor agudo. Esta propiedad inusual de los compuestos de acuerdo con la invención es de importancia fundamental para el tratamiento del dolor en conjunto.

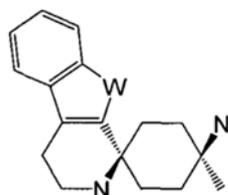
20 Los compuestos de acuerdo con la fórmula general (III) representan una selección de los compuestos descritos en los documentos WO2004/043967, WO2005/066183 y WO2006/108565. Se ha encontrado, sorprendentemente, que las espiroaminas de acuerdo con la invención, que tienen la configuración cis (derivados de cis-tetrahidro-espiro(ciclohexan-1,1'-pirido[3,4-b]indol)-4-amina) en el anillo de ciclohexano con respecto a los dos nitrógenos, tienen ventajas sobre los otros heterociclos.

25 Por lo tanto, las cis-espiroamidas de acuerdo con la invención, en contraste con los otros compuestos de acuerdo con los documentos WO2004/043967, WO2005/066183 y WO2006/108565, en el modelo animal presentan una acción sobresaliente contra el dolor crónico, preferiblemente neuropático, más preferiblemente dolor en el caso de polineuropatía diabética, sin demostrar una acción significativa contra el dolor agudo en la dosis terapéutica requerida para ello. Dado que numerosos efectos secundarios de los analgésicos convencionales están asociados con el mecanismo de acción contra el dolor agudo, los derivados de ciclohexano cis-sustituidos espirocíclicos de acuerdo con la invención se distinguen por un perfil de efectos secundarios particularmente ventajoso, particularmente con respecto a los efectos secundarios típicos de los opiáceos.

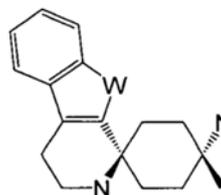
35 Los compuestos de acuerdo con la fórmula general (III) son preferiblemente aquirales; la estructura básica de la fórmula general (III) no contiene un elemento de quiralidad (centro, eje o plano).

40 Los compuestos de acuerdo con la fórmula general (III) en relación con el sistema anular espiro son isómeros en los que el patrón de sustitución en el sistema anular de espirociclohexano (no en el indol) se pueden denominar cis/trans, Z/E o syn/anti. Los "isómeros cis-trans" son un subgrupo de los estereoisómeros (isómeros de configuración).

En los compuestos de acuerdo con la fórmula general (III), los dos átomos de nitrógeno de la espiroamina están en cada caso en la configuración syn o cis o Z uno con respecto al otro:



cis-espiroamina



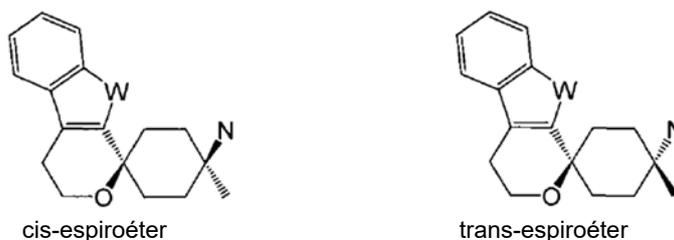
trans-espiroamina

45 En una realización preferida de la invención, el exceso del isómero cis así designado es al menos del 50 % de e.d., más preferiblemente al menos del 75 % de e.d., incluso más preferiblemente al menos del 90 % de e.d., mucho más preferiblemente al menos del 95 % de e.d. y en particular al menos del 99 % de e.d.

Los expertos en la técnica conocen métodos adecuados para separar los isómeros (diastereómeros). Los procesos de cromatografía en columna, la HPLC preparativa y de cristalización se pueden mencionar como ejemplos. Los

procesos de síntesis dirigidos, en los que un isómero se forma en exceso, también son conocidos en principio por los expertos en la técnica.

5 Las ventajas del isómero cis son más particularmente sorprendentes ya que, en el caso de los espiroéteres estructuralmente relacionados, normalmente no es el isómero cis sino el isómero trans el que tiene propiedades ventajosas desde el punto de vista farmacológico (pero que ocasionalmente son de una naturaleza diferente de las ventajas de las espiroaminas cis de acuerdo con la invención).

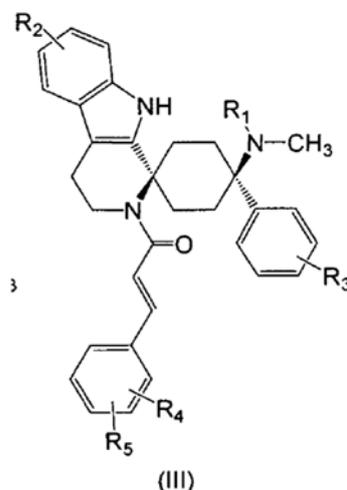


Para los fines de la descripción, "halógeno" significa preferiblemente -F, -Cl, -Br o -I, más preferiblemente -F o -Cl, en particular -F.

15 Para los fines de la descripción, "alquilo C₁₋₃", en cada caso independientemente, es lineal o ramificado, saturado o monoinsaturado o poliinsaturado. Por lo tanto, "alquilo C₁₋₃" incluye residuos de hidrocarburo acíclicos saturados o insaturados que pueden ser de cadena lineal o ramificada, es decir, alcanilos C₁₋₃, alquenos C₁₋₃ y alquinos C₁₋₃.

Se prefieren los compuestos de la fórmula general (III):

20

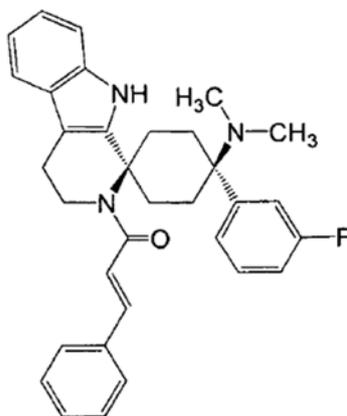


donde el compuesto está presente como una sal clorhidrato, citrato o hemi-citrato.

25 Se prefiere R₂ -H y/o R₃ -F.

Se prefieren R₄ y R₅, son ambos -H o ambos -OCH₃.

30 En otra realización particularmente preferida, la invención se refiere al compuesto de fórmula general (VI)



(VI)

donde el compuesto está presente como una sal clorhidrato, citrato o hemi-citrato.

- 5 La base libre del compuesto de la fórmula general (VI) puede designarse sistemáticamente (E)-2',3',4',9'-tetrahidro-N,N-dimetil-4-(3-fluorofenil)-2'-(2-fenilvinil)carbonil-espiro[ciclohexano-1,1'(1'H)-pirido[3,4-b]indolo]-4-amina (diastereómero cis) o también como (E)-1-((1s,4s)-4-(dimetilamino)-4-(3-fluorofenil)-3',4'-dihidroespiro[ciclohexano-1,1'-pirido[3,4-b]indolo]-2'(9'H)-il)-3-fenilprop-2-en-1-ona. Este compuesto está presente en forma de clorhidrato, citrato o hemi-citrato.

10

De acuerdo con la invención, los compuestos se seleccionan, en particular, del grupo que consiste en

(E)-2',3',4',9'-tetrahidro-N,N-dimetil-4-fenil-2'-(2-fenilvinil)carbonil-espiro[ciclohexano-1,1'(1'H)-pirido[3,4-b]indolo]-4-amina (diastereómero cis) o	AMD-1 ^{cis}
(E)-1-((1s,4s)-4-(dimetilamino)-4-fenil-3',4'-dihidroespiro[ciclohexano-1,1'-pirido[3,4-b]indolo]-2'(9'H)-il)-3-fenilprop-2-en-1-ona	
(E)-2',3',4',9'-tetrahidro-N,N-dimetil-4-(3-fluorofenil)-2'-(2-fenilvinil)-carbonil-espiro[ciclohexano-1,1'(1'H)-pirido[3,4-b]indolo]-4-amina (diastereómero cis) o (E)-1-((1s,4s)-4-(dimetilamino)-4-(3-fluorofenil)-3',4'-dihidro-espiro[ciclohexano-1,1'-pirido[3,4-b]indolo]-2'(9'H)-il)-3-fenilprop-2-en-1-ona	AMD-5 ^{cis} AMD-6 ^{cis}
(E)-2',3',4',9'-tetrahidro-N,N-dimetil-6'-fluoro-4-(3-fluorofenil)-2'-(2-fenilvinil)carbonil-espiro[ciclohexano-1,1'(1'H)-pirido[3,4-b]indolo]-4-amina (diastereómero cis) o (E)-1-((1s,4s)-4-(dimetilamino)-6'-fluoro-4-(3-fluorofenil)-3',4'-dihidroespiro[ciclohexano-1,1'-pirido[3,4-b]indolo]-2'(9'H)-il)-3-fenilprop-2-en-1-ona	AMD-8 ^{cis}
(E)-2',3',4',9'-tetrahidro-N,N-dimetil-6'-fluoro-4-fenil-2'-(2-fenilvinil)carbonil-espiro[ciclohexano-1,1'(1'H)-pirido[3,4-b]indolo]-4-amina (diastereómero cis) o (E)-1-((1s,4s)-4-(dimetilamino)-6'-fluoro-4-fenil-3',4'-dihidroespiro-[ciclohexano-1,1'-pirido[3,4-b]indolo]-2'(9'H)-il)-3-fenilprop-2-en-1-ona	AMD-10 ^{cis}
(E)-2',3',4',9'-tetrahidro-N,N-dimetil-4-(4-fluorofenil)-2'-(2-fenilvinil)carbonil-espiro[ciclohexano-1,1'(1'H)-pirido[3,4-b]indolo]-4-amina (diastereómero cis) o (E)-1-((1s,4s)-4-(dimetilamino)-4-(4-fluorofenil)-3',4'-dihidroespiro-[ciclohexano-1,1'-pirido[3,4-b]indolo]-2'(9'H)-il)-3-fenilprop-2-en-1-ona	AMD-12 ^{cis}

en cada caso, en forma de sal clorhidrato, citrato o hemi-citrato.

15

En una realización preferida de la invención, los compuestos de acuerdo con la fórmula general (III) se usan dos veces al día, una vez al día o con menos frecuencia, particularmente preferiblemente no más de una vez al día.

20

En una realización adicional, los compuestos de acuerdo con la fórmula general (III) se usan en el tratamiento del dolor crónico. El dolor crónico se selecciona preferiblemente del grupo que comprende dolor inflamatorio, dolor visceral, dolor tumoral y dolor neuropático. El dolor neuropático puede ser de origen mononeuropático/neurálgico o polineuropático.

En una realización preferida adicional, los compuestos de acuerdo con la fórmula general (III) se usan en el tratamiento del dolor en el caso de la polineuropatía diabética.

- 5 En una realización preferida adicional, los compuestos de acuerdo con la fórmula general (III) se usan en el tratamiento del dolor que es resultado de la neuralgia postherpética.

Los compuestos de acuerdo con la fórmula general (III) son adecuados para su uso en el tratamiento del dolor neuropático, preferiblemente de dolor mononeuropático/neurálgico o polineuropático. El dolor es preferiblemente dolor polineuropático periférico o dolor polineuropático central.

10 La polineuropatía o dolor polineuropático es preferiblemente agudo (hasta cuatro semanas), subagudo (de cuatro a ocho semanas) o crónico (más de ocho semanas).

15 En la polineuropatía, el sistema nervioso motor, sensorial, autónomo, sensomotor o central se ve afectado preferiblemente. Los síntomas se distribuyen preferiblemente de forma simétrica o asimétrica. El dolor puede ser leve, moderado, medio-grave, grave o muy grave. La escala de dolor neuropático (NPS) puede usarse como una medida (véase B.S. Galer et al., Neurology 1997, 48, 332-8).

20 Los ejemplos de causas de dolor neuropático periférico son polineuropatía diabética, neuralgia postherpética, radioculopatía, neuralgia postraumática, polineuropatía inducida por sustancias químicas, por ejemplo, por quimioterapia, dolor fantasma de las extremidades, síndrome regional complejo, polineuropatía sensorial inducida por VIH y polineuropatía alcohólica. Los ejemplos de causas de dolor neuropático central son mielopatía compresiva resultante de estrechez de la estenosis del canal, dolor espinal postraumático, dolor debido a ictus, mielopatía posisquémica, mielopatía inducida por radiación, mielopatía inducida por esclerosis múltiple y mielopatía inducida por VIH.

En una realización preferida, la neuropatía que causa el dolor neuropático se asocia con una enfermedad seleccionada del grupo que comprende diabetes mellitus, vasculitis, uremia, hipotiroidismo, abuso de alcohol, neuralgia postherpética, neuropatía idiopática, neuropatía desmielinizante inflamatoria crónica, neuropatía motora multifocal, polineuropatía hereditaria, síndrome de Guillain-Barré, intoxicación [por ejemplo, causada por alcohol, metales pesados {en particular Pb, Hg, As}, hidrocarburos, resultante de la quimioterapia con citostáticos], porfiria, enfermedades infecciosas, enfermedades cancerosas [por ejemplo, mieloma, amiloide, leucemia, linfoma], anemia perniciosa, deficiencia de vitamina E, enfermedad de Refsum, síndrome de Bassen-Kornzweig, enfermedad de Fabry, vasculitis y amiloidosis. La polineuropatía diabética y la neuralgia postherpética son particularmente preferidas. Si se trata de una enfermedad infecciosa, se selecciona preferiblemente del grupo que comprende mononucleosis, erliquiosis, tífus, difteria, lepra, VIH, sífilis y borreliosis.

El dolor polineuropático es preferiblemente dolor causado por una polineuropatía en el sentido de la ICD-10 (International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems, Edición de la OMS, preferiblemente edición de 2008).

Una materia objeto adicional de la invención se refiere a los compuestos de acuerdo con la invención para su uso en el tratamiento de estados de ansiedad, estrés y síndromes asociados con el estrés, depresión, epilepsia, enfermedad de Alzheimer, demencia senil, disfunciones cognitivas generales, trastornos del aprendizaje y de la memoria (como nootrópico), síntomas de abstinencia, abuso y/o dependencia del alcohol y/o drogas y/o medicamentos, disfunciones sexuales, enfermedades cardiovasculares, hipotensión, hipertensión, tinnitus, prurito, migraña, sordera, motilidad intestinal insuficiente, trastorno del consumo de alimentos, anorexia, obesidad, trastornos locomotores, diarrea, caquexia, incontinencia urinaria, o como relajante muscular, anticonvulsivo o anestésico o para la administración conjunta en el caso del tratamiento con un analgésico opiode o con un anestésico, para la diuresis o antinatriuresis, ansiólisis, para la modulación de la actividad locomotora, para la modulación de la excreción de neurotransmisores y el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas asociado con la misma, para el tratamiento de los síntomas de abstinencia y/o para reducir el potencial adictivo de los opioides.

Un objeto adicional de la invención se refiere a los compuestos de acuerdo con la invención para su uso, en particular en una de las indicaciones mencionadas anteriormente, en el tratamiento de un mamífero no humano o un humano que requiere tratamiento para dolor crónico, preferiblemente dolor neuropático, más preferiblemente dolor en una polineuropatía diabética o neuralgia postherpética, administrando una dosis diaria individual terapéuticamente necesaria de un compuesto de acuerdo con la invención, o de una forma de administración de acuerdo con la invención, preferiblemente al mismo tiempo sin supresión significativa de la sensación de dolor nociceptor agudo y/o

sin efectos secundarios típicos de los opioides significativos que se producen, en particular, sustancialmente sin depresión respiratoria y/o estreñimiento y/o retención urinaria y/o náuseas y/o vómitos y/o hipotonía y/o bradicardia y/o adicción y/o dependencia y/o euforia y/o depresión y/o sedación y/o mareos.

5 Un objeto adicional de la invención se refiere a los compuestos de acuerdo con la invención para su uso, en particular en una de las indicaciones mencionadas anteriormente, en el tratamiento de un mamífero no humano o un humano que requiere tratamiento para dolor crónico, preferiblemente dolor neuropático, más preferiblemente dolor en una polineuropatía diabética o neuralgia postherpética, administrando una dosis diaria X de un compuesto de acuerdo con la invención, o de una forma de administración de acuerdo con la invención, preferiblemente sin supresión simultánea significativa de la sensación de dolor nociceptor agudo y/o sin efectos secundarios típicos de los opioides significativos que se producen, en particular, sustancialmente sin depresión respiratoria y/o estreñimiento y/o retención urinaria y/o náuseas y/o vómitos y/o hipotonía y/o bradicardia y/o adicción y/o dependencia y/o euforia y/o depresión y/o sedación y/o mareos; seleccionándose la dosis diaria del grupo que comprende 0,001, 0,002, 0,003, 0,004, 0,005, 0,006, 0,007, 0,008, 0,009, 0,01, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05, 0,06, 0,07, 0,08, 0,09, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 mg.

Una materia objeto adicional de la invención se refiere a los compuestos de acuerdo con la invención de fórmula general (III) que tienen afinidad por el receptor opioide μ y el receptor ORL-1 para su uso.

20 - en el tratamiento del dolor neuropático, preferiblemente en la rata, más preferiblemente como dolor mononeuropático en el modelo según Chung, que son significativamente eficaces y se caracterizan por una dosis eficaz semimáxima ED_{50}^n , y
- que sustancialmente no son significativamente eficaces en el tratamiento del dolor agudo, preferiblemente en la rata, más preferiblemente en la prueba de sacudida, de la cola, en una dosis que es superior a ED_{50}^n en un factor de 5.

25 Por lo tanto, los compuestos de acuerdo con la fórmula general (III) cuando se administran en esta dosis semimáxima ED_{50}^n , que se define en relación con la eficacia del compuesto contra el dolor neuropático, e incluso en una dosis que es superior a ED_{50}^n en un factor de 5, presentan, si es que lo hacen, a lo sumo una acción antinociceptora insignificante en el caso de dolor agudo, preferiblemente en la rata, más preferiblemente en la prueba de sacudida de la cola.

30 En una realización preferida, el dolor neuropático es dolor mononeuropático o neurálgico, preferiblemente dolor resultante de neuralgia postherpética. En otra realización preferida, el dolor es polineuropático, preferiblemente dolor en el caso de polineuropatía diabética.

35 Preferiblemente, los compuestos de acuerdo con la fórmula general (III) se usan en una dosis sustancialmente no significativamente eficaz en el tratamiento del dolor agudo o nociceptivo que es superior a la dosis eficaz semimáxima ED_{50}^n en un factor de 10, 20, 30, 40 o 50, más preferiblemente en un factor de 75, 100, 125, 150 o 175, incluso más preferiblemente en un factor de 200, 300, 400 o 500, mucho más preferiblemente en un factor de 600, 700, 800 o 900, y, en particular, en un factor de 1000.

40 La dosis eficaz semimáxima ED_{50}^n se conoce por el experto en la técnica. Se define preferiblemente como la dosis a la que, con respecto al tratamiento del dolor neuropático, se alcanza el 50 % de la acción terapéutica máxima. Por consiguiente, una dosis eficaz semimáxima ED_{50}^a puede definirse como la dosis a la que, con respecto al tratamiento del dolor agudo, se consigue el 50 % de la acción terapéutica máxima. Sin embargo, los compuestos de acuerdo con la invención, se definen por ED_{50}^n , no por ED_{50}^a .

45 Los expertos en la técnica conocen métodos adecuados para estudiar la eficacia de un principio activo en el tratamiento del dolor neuropático y para determinar la dosis eficaz semimáxima ED_{50}^n en el tratamiento del dolor neuropático. Lo mismo se aplica al estudio de la eficacia de un principio activo contra el dolor agudo.

50 Por ejemplo, la determinación puede realizarse en un modelo animal (por ejemplo, ratón o rata), en el que

- el dolor mononeuropático se puede estudiar según Chung (S.H. Kim, J.M. Chung, Pain. 1992, 50(3), 355-63) o Bennett (G.J. Bennett, Y.K. Xie, Pain. 1988, 33 (1), 87-107),
55 - Dolor en el caso de polineuropatía diabética después de diabetes inducida por estreptozotocina (STZ) (E.K. Joseph, J.D. Levine, Neuroscience. 2003;120(4):907-13) y
- el dolor agudo puede estudiarse en la llamada prueba de sacudida de la cola (D'Amour y Smith, J. Pharm. Exp. Ther. 72, 1941, 74-9).

60 La determinación se realiza preferiblemente en el modelo animal, con respecto a la eficacia contra el dolor neuropático

como eficacia contra el dolor mononeuropático en la rata en el modelo según Chung, y con respecto a la eficacia contra el dolor agudo en la prueba de sacudida de la cola de rata, preferiblemente en cada caso como se describe en la sección experimental.

5 Por lo tanto, los compuestos de acuerdo con la invención preferiblemente tienen una afinidad por el receptor opioide μ y el receptor ORL-1, que en la rata

- son significativamente eficaces en el tratamiento del dolor mononeuropático en el modelo según Chung y se caracterizan por una dosis eficaz semimáxima ED_{50}^n , y

10 - que no son significativamente eficaces en el tratamiento del dolor agudo en la prueba de sacudida de la cola en una dosis que es superior a ED_{50}^n en un factor de 5.

15 La evaluación de los hallazgos experimentales con respecto a las diferencias estadísticamente significativas entre los respectivos grupos de dosis y los grupos de control del vehículo se realiza preferiblemente mediante análisis de varianza con medidas repetidas (ANOVA de medidas repetidas), así como un análisis post hoc según Bonferroni, preferiblemente como se describe en la sección experimental. Aquí el nivel de significación se establece en $p < 0,05$. El tamaño de los grupos suele ser $n = 10$.

20 En principio, la determinación comparativa de la eficacia analgésica contra el dolor neuropático y el dolor nociceptivo agudo también puede llevarse a cabo en seres humanos, pero esto es menos preferido, por consideraciones éticas, entre otras cosas. El estudio de la eficacia contra el dolor neuropático, es decir, en pacientes que padecen dolor neuropático, puede llevarse a cabo de acuerdo con Hansson P, Backonja M, Bouhassira D. (2007). Usefulness and limitations of quantitative sensory testing: clinical and research application in neuropathic pain states. *Pain*. 129(3): 256-9. El estudio de la eficacia contra el dolor agudo se puede llevar a cabo de acuerdo con Posner J, Telekes A, Crowley D, Phillipson R, Peck AW. (1985). Effects of an opiate on cold-induced pain and the CNS in healthy volunteers. *Pain*. 23(1):73-82.

30 Sorprendentemente, se encontró que los compuestos de acuerdo con la fórmula general (III) se distinguen por un perfil de efectos secundarios muy ventajoso en comparación con los opiáceos en fase 3 convencionales. Por lo tanto, incluso con la administración de dosis terapéuticamente eficaces como se requieren en particular para el tratamiento del dolor neuropático, no se observan efectos secundarios típicos de los opiáceos pronunciados, o como mucho solo ligeramente pronunciados, tales como, por ejemplo, depresión respiratoria, estreñimiento, retención urinaria, náuseas, vómitos, hipotonía, bradicardia, adicción, dependencia, euforia, depresión, sedación y mareos. Hasta ahora, la aparición muy reducida de los efectos secundarios típicos de los opiáceos, depresión respiratoria, estreñimiento, hipotonía, bradicardia, alteración de la capacidad de coordinación motora (como una medida de los efectos secundarios del sistema nervioso central), la dependencia física y mental, se ha demostrado experimentalmente en modelos animales.

40 En una realización preferida de la solicitud de acuerdo con la invención, los compuestos de acuerdo con la fórmula general (III), cuando se administran en la dosis eficaz semimáxima ED_{50}^n , que se define con respecto a la eficacia del compuesto contra el dolor neuropático, y preferiblemente incluso en una dosis que es superior a ED_{50}^n en un factor de 5, no presentan una depresión respiratoria significativa como efecto secundario, preferiblemente en la rata, más preferiblemente en el modelo de análisis de gases en la sangre. Preferiblemente, los compuestos de acuerdo con la fórmula general (III), incluso al usarse en una dosis que es superior a la dosis eficaz semimáxima ED_{50}^n en un factor de 10, 20, 30, 40 o 50, más preferiblemente en un factor de 75, 100, 125, 150 o 175, incluso más preferiblemente en un factor de 200, no presentan una depresión respiratoria significativa como efecto secundario.

50 Los métodos adecuados para estudiar la depresión respiratoria inducida por los principios activos se conocen por los expertos en la técnica. El estudio se lleva a cabo preferiblemente en un modelo de análisis de gas en sangre en la rata como el cambio en las presiones parciales de O_2 y CO_2 arterial. La evaluación de los hallazgos experimentales con respecto a las diferencias estadísticamente significativas entre los respectivos grupos de dosis y los grupos de control del vehículo se lleva a cabo preferiblemente por medio de análisis de varianza unifactorial (ANOVA de una vía), así como por análisis post hoc según Dunnett, preferiblemente como se describe en la sección experimental. Aquí el nivel de significación se establece en $p < 0,05$. El tamaño de los grupos suele ser $n = 6$. Para obtener más detalles de este modelo animal, también se hace referencia a la sección experimental.

60 En una realización preferida de la solicitud de acuerdo con la invención, los compuestos de acuerdo con la fórmula general (III), cuando se administran en la dosis eficaz semimáxima ED_{50}^n , que se define con respecto a la eficacia del compuesto contra el dolor neuropático, y preferiblemente incluso en una dosis que es superior a ED_{50}^n en un factor de 5, no presentan estreñimiento significativo como efecto secundario, preferiblemente en el ratón, más preferiblemente

en la prueba de pase de carbón. Preferiblemente, los compuestos no presentan ningún estreñimiento significativo como efecto secundario, incluso en una dosis que es superior a la dosis eficaz semimáxima ED_{50}^n en un factor de 10, 20, 30, 40 o 50, más preferiblemente en un factor de 75, 100, 125, 150 o 175, incluso más preferiblemente en un factor de 200, 300, 400 o 500, mucho más preferiblemente en un factor de 600.

5 Los métodos adecuados para estudiar el estreñimiento inducido por los principios activos se conocen por los expertos en la técnica. El estudio se realiza preferiblemente en un modelo de pase de carbón en el ratón como el cambio en la velocidad del tránsito gastrointestinal. La evaluación de los hallazgos experimentales con respecto a las diferencias estadísticamente significativas entre los respectivos grupos de dosis y los grupos de control del vehículo se lleva a cabo preferiblemente por medio de análisis de varianza unifactorial (ANOVA de una vía), así como por análisis post hoc según Dunnett, preferiblemente como se describe en la sección experimental. Aquí el nivel de significación se establece en $p < 0,05$. El tamaño de los grupos suele ser $n = 10$. Para obtener más detalles de este modelo animal, también se hace referencia a la sección experimental.

15 En una realización preferida de la solicitud de acuerdo con la invención, los compuestos de acuerdo con la fórmula general (III), cuando se administran en la dosis eficaz semimáxima ED_{50}^n , que se define con respecto a la eficacia del compuesto contra el dolor neuropático, y preferiblemente incluso en una dosis que es superior a ED_{50}^n en un factor de 5, no presentan hipotonía significativa como efecto secundario, preferiblemente en conejos despiertos, más preferiblemente en el modelo circulatorio en conejos despiertos con telemetría. Preferiblemente, los compuestos no presentan ninguna hipotonía significativa como efecto secundario, incluso en una dosis que es superior a la dosis eficaz semimáxima ED_{50}^n en un factor de 10, 20, 30, 40 o 50, más preferiblemente en un factor de 75, 100, 125, 150 o 175, incluso más preferiblemente en un factor de 200.

25 Los métodos adecuados para estudiar la hipotonía inducida por los principios activos se conocen por los expertos en la técnica. El estudio se realiza preferiblemente en un modelo circulatorio en conejos despiertos con telemetría como el cambio en la presión arterial (sistólica, diastólica y valor medio). La evaluación de los hallazgos experimentales con respecto a las diferencias estadísticamente significativas entre los respectivos grupos de dosis y los grupos de control del vehículo se lleva a cabo preferiblemente por medio de análisis de varianza unifactorial (ANOVA de una vía), así como por análisis post hoc según Dunnett, preferiblemente como se describe en la sección experimental. Aquí el nivel de significación se establece en $p < 0,05$. El tamaño de los grupos suele ser $n = 6$. Para obtener más detalles de este modelo animal, también se hace referencia a la sección experimental.

35 En una realización preferida de la solicitud de acuerdo con la invención, los compuestos de acuerdo con la fórmula general (III), cuando se administran en la dosis eficaz semimáxima ED_{50}^n , que se define con respecto a la eficacia del compuesto contra el dolor neuropático, y preferiblemente incluso en una dosis que es superior a ED_{50}^n en un factor de 5, no presentan una bradicardia significativa como efecto secundario, preferiblemente en conejos despiertos, más preferiblemente en el modelo circulatorio en conejos despiertos con telemetría. Preferiblemente, los compuestos no presentan ningún nivel de bradicardia significativo como efecto secundario, incluso en una dosis que es superior a la dosis eficaz semimáxima ED_{50}^n en un factor de 10, 20, 30, 40 o 50, más preferiblemente en un factor de 75, 100, 125, 150 o 175, incluso más preferiblemente en un factor de 200.

45 Los métodos adecuados para estudiar la bradicardia inducida por los principios activos se conocen por los expertos en la técnica. El estudio se realiza preferiblemente en un modelo circulatorio en conejos despiertos con telemetría como un cambio en la frecuencia cardíaca. La evaluación de los hallazgos experimentales con respecto a las diferencias estadísticamente significativas entre los respectivos grupos de dosis y los grupos de control del vehículo se lleva a cabo preferiblemente por medio de análisis de varianza unifactorial (ANOVA de una vía), así como por análisis post hoc según Dunnett, preferiblemente como se describe en la sección experimental. Aquí el nivel de significación se establece en $p < 0,05$. El tamaño de los grupos suele ser $n = 6$. Para obtener más detalles de este modelo animal, también se hace referencia a la sección experimental.

50 En una realización preferida de la solicitud de acuerdo con la invención, los compuestos de acuerdo con la fórmula general (III), cuando se administran en la dosis eficaz semimáxima ED_{50}^n , que se define con respecto a la eficacia del compuesto contra el dolor neuropático, y preferiblemente incluso en una dosis que es superior a ED_{50}^n en un factor de 5, no presentan una alteración significativa de la capacidad de coordinación motora (como una medida de los efectos secundarios del sistema nervioso central) como efecto secundario, preferiblemente en el ratón, más preferiblemente en la prueba RotaRod. Preferiblemente, los compuestos no presentan ningún nivel de alteración significativa de la capacidad de coordinación motora (como una medida de los efectos secundarios del sistema nervioso central) como efecto secundario, incluso en una dosis que es superior a la dosis eficaz semimáxima ED_{50}^n en un factor de 10, 20, 30, 40 o 50, más preferiblemente en un factor de 75, 100, 125, 150 o 175, incluso más preferiblemente en un factor de 200, 300, 400 o 500, mucho más preferiblemente en un factor de 600, 700, 800 o 900, y, en particular, en un factor

de 1000.

Los métodos adecuados para estudiar la alteración de la capacidad de coordinación motora inducida por los principios activos se conocen por el experto en la técnica. El estudio se realiza preferiblemente en un modelo de RotaRod en el ratón (de forma análoga a Kuribara H., Higuchi Y., Tadokoro S. (1977), Effects of central depressants on Rota-Rod and traction performance in mice. Japan. J. Pharmacol. 27, 117-126) como el cambio en la capacidad de correr en una barra giratoria. La evaluación de los hallazgos experimentales con respecto a las diferencias estadísticamente significativas entre los respectivos grupos de dosis y los grupos de control del vehículo se lleva a cabo preferiblemente por medio de análisis de varianza unifactorial (ANOVA de una vía), así como por análisis post hoc según Dunnett, preferiblemente como se describe en la sección experimental. Aquí el nivel de significación se establece en $p < 0,05$. El tamaño de los grupos suele ser $n = 10$. Para obtener más detalles de este modelo animal, también se hace referencia a la sección experimental.

En una realización preferida de la solicitud de acuerdo con la invención, los compuestos de acuerdo con la fórmula general (III), cuando se administran en la dosis eficaz semimáxima ED_{50}^n , que se define con respecto a la eficacia del compuesto contra el dolor neuropático, y preferiblemente incluso en una dosis que es superior a ED_{50}^n en un factor de 5, no presentan una dependencia física significativa o un síntoma de abstinencia como efecto secundario, preferiblemente en el ratón, más preferiblemente en la prueba de salto.

Preferiblemente, los compuestos no presentan ningún nivel significativo de dependencia física o síntoma de abstinencia como efecto secundario, incluso en una dosis que es superior a la dosis eficaz semimáxima ED_{50}^n en un factor de 10, 20, 30, 40 o 50, más preferiblemente en un factor de 75, 100, 125, 150 o 175, incluso más preferiblemente en un factor de 200, 300, 400 o 500, mucho más preferiblemente en un factor de 600, 700, 800 o 900, y, en particular, en un factor de 1000.

Los métodos adecuados para estudiar la dependencia física inducida por los principios activos se conocen por el experto en la técnica. El estudio se realiza preferiblemente en el modelo de salto en el ratón (de forma análoga a Saelens JK, Arch Int Pharmacodyn 190: 213-218, 1971) como la abstinencia inducida por naloxona. La evaluación de los hallazgos experimentales con respecto a las diferencias estadísticamente significativas entre los respectivos grupos de dosis y los grupos de control del vehículo se realiza preferiblemente por medio de la prueba exacta de Fisher para el parámetro "número de animales con síntomas de abstinencia", así como por medio de la prueba de Kruskal-Wallis para el parámetro "frecuencia de salto", preferiblemente como se describe en la sección experimental. Aquí el nivel de significación se establece en $p < 0,05$ en cada caso. El tamaño de los grupos suele ser $n = 12$. Para obtener más detalles de este modelo animal, también se hace referencia a la sección experimental.

En una realización preferida de la solicitud de acuerdo con la invención, los compuestos de acuerdo con la fórmula general (III), cuando se administran en la dosis eficaz semimáxima ED_{50}^n , que se define con respecto a la eficacia del compuesto contra el dolor neuropático, y preferiblemente incluso en una dosis que es superior a ED_{50}^n en un factor de 5, no presentan una dependencia mental o adicción significativa como efecto secundario, preferiblemente en la rata, más preferiblemente por medio de preferencia de espacio condicionada. Preferiblemente, los compuestos no presentan ningún nivel significativo de dependencia mental o adicción como efecto secundario, incluso en una dosis que es superior a la dosis eficaz semimáxima ED_{50}^n en un factor de 10, 20, 30, 40 o 50, más preferiblemente en un factor de 75, 100, 125, 150 o 175, incluso más preferiblemente en un factor de 200, 300, 400 o 500, mucho más preferiblemente en un factor de 600, 700, 800 o 900, y en particular, en un factor de 1000.

Los métodos adecuados para estudiar la dependencia mental y adicción inducidas por los principios activos se conocen por el experto en la técnica. El estudio se realiza preferiblemente por medio de preferencia de espacio condicionada en ratas, preferiblemente como se describe en Tzschentke, T.M., Bruckmann, W. y Friderichs, F. (2002) Lack of sensitization during place conditioning in rats is consistent with the low abuse potential of tramadol. Neuroscience Letters 329, 25-28. La evaluación de los hallazgos experimentales con respecto a las diferencias estadísticamente significativas en las preferencias de los animales por el principio activo o el vehículo se realiza preferiblemente por medio de la prueba t pareada. El nivel de significación se establece en $p < 0,05$. El tamaño de los grupos suele ser $n = 8$. Para más detalles de este modelo animal, se hace referencia a la descripción del método en Tzschentke, T.M., Bruckmann, W. y Friderichs, F. (2002) Neuroscience Letters 329, 25-28.

Los compuestos de acuerdo con la fórmula general (III) son adecuados para su uso en el tratamiento del dolor crónico, preferiblemente dolor neuropático, más preferiblemente contra el dolor mononeuropático/neurálgico o polineuropático, incluso más preferiblemente contra el dolor en el caso de la neuralgia postherpética o en el caso de polineuropatía diabética.

Las definiciones de las diferentes formas de dolor crónico se conocen por el experto en la técnica. A este respecto, se puede hacer referencia, por ejemplo, a Merskey H., Bogduk N. Classification of chronic pain. Seattle: IASP Press 1994, Bennett G.J., Anesth Analg. 2003, 97, 619-20, y Backonja M.M., Anesth Analg. 2003, 97, 785-90.

- 5 Para los fines de la descripción, el dolor crónico se define preferiblemente como síntomas de dolor que existen durante un período prolongado (normalmente al menos 3, 4, 5 o 6 meses) y que persisten más allá del tiempo de cicatrización normal. El dolor neuropático se describe preferiblemente como dolor o un fenómeno sensorial causado por una lesión, enfermedad o disfunción del sistema nervioso central o periférico. A los efectos de la descripción, el dolor agudo se describe preferiblemente como una experiencia sensorial y emocional desagradable que acompaña al daño tisular agudo o potencial o se describe en términos de dicho daño (véase la definición de la Association for the Study of Pain® (IASP)).

15 Los compuestos usados de acuerdo con la invención de acuerdo con la fórmula general (III) tienen un valor de K_i en el receptor opioide μ de preferiblemente no más de 1000 nM, más preferiblemente no más de 500 nM, incluso más preferiblemente 100 nM, mucho más preferiblemente no más de 50 nM y en particular no más de 25 nM.

20 Los métodos para determinar el valor K_i en el receptor opioide μ son conocidos por los expertos en la técnica. La determinación se lleva a cabo preferiblemente en un lote homogéneo en placas de microtitulación. Con este fin, las diluciones en serie de cada una de las sustancias a ensayar se incuban preferiblemente durante 90 minutos a temperatura ambiente con una preparación de membrana receptora (15-40 μ g de proteína por 250 μ l de lote de incubación) de células CHO-K1 que expresan el humano receptor opioide μ (preparación de la membrana del receptor RB-HOM de NEN, Zaventem, Bélgica) en presencia de 1 nmol/l del ligando radiactivo [3 H]-naloxona (NET719, NEN, Zaventem, Bélgica) y 1 mg de perlas WGA-SPA (perlas de SPA de aglutinina de germen de trigo de Amersham/Pharmacia, Freiburg, Alemania) en un volumen total de 250 μ l. Se usan 50 mmol/l de Tris-HCl complementado con el 0,05 % en peso de azida sódica y el 0,06 % en peso de albúmina sérica bovina como el tampón de incubación. Para la determinación de una unión no específica, preferiblemente también se añaden 25 μ mol/l de naloxona. Al finalizar el tiempo de incubación de noventa minutos, las placas de microtitulación se separan por centrifugación preferiblemente durante 20 minutos a 1000 g y la radioactividad se mide en un contador β (Microbeta-Trilux, PerkinElmer Wallac, Freiburg, Alemania). El porcentaje de desplazamiento del ligando radiactivo de su unión al receptor opioide μ humano a una concentración de las sustancias de ensayo de preferiblemente 1 μ mol/l se determina y se indica como el porcentaje de inhibición (% de inhibición) de la unión específica. Sobre la base del desplazamiento porcentual por diferentes concentraciones de los compuestos a ensayar, es posible calcular las concentraciones de inhibición de CI_{50} que efectúan un desplazamiento del 50 por ciento del ligando radiactivo. Los valores de K_i para las sustancias de ensayo se pueden calcular por conversión mediante la ecuación de Cheng-Prusoff.

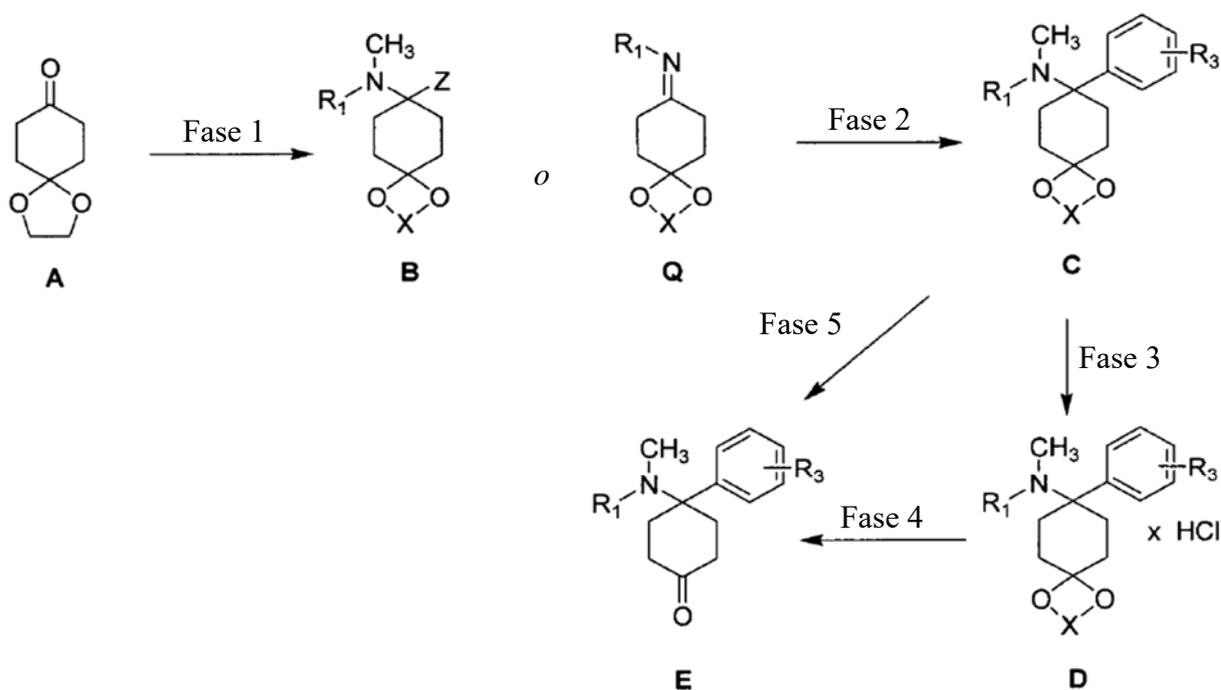
40 Los compuestos usados de acuerdo con la invención de acuerdo con la fórmula general (III) tienen un valor de K_i en el receptor ORL1 de preferiblemente no más de 500 nM, más preferiblemente no más de 100 nM, mucho más preferiblemente no más de 50 nM y en particular no más de 10 nM.

45 Los métodos para determinar el valor K_i en el receptor ORL1 se conocen por los expertos en la técnica. La determinación se realiza preferiblemente en un ensayo de unión al receptor con 3 H-nociceptina/orfanina FQ con membranas de células CHO-ORL1 recombinantes. Este sistema de ensayo se realiza preferiblemente de acuerdo con el método presentado por Ardati et al. (Mol. Pharmacol., 51, 1997, págs. 816-824). La concentración de 3 H-nociceptina/orfanina FQ en estos ensayos es preferiblemente 0,5 nM. Los ensayos de unión se realizan preferiblemente con 20 μ g de proteína de membrana por 200 μ l de lote en Hepes 50 mM, pH 7,4, $MgCl_2$ 10 mM y EDTA 1 mM. La unión al receptor ORL1 se determina preferiblemente usando en cada caso 1 mg de perlas de WGA-SPA (Amersham-Pharmacia, Freiburg) incubando el lote durante una hora a TA y luego midiendo en un contador de centelleo Trilux (Wallac, Finlandia).

50 Un materia objeto adicional de la invención se refiere a un proceso para preparar los compuestos de acuerdo con la invención. Los procesos adecuados para la síntesis de los compuestos de acuerdo con la invención se conocen en principio por los expertos en la técnica.

55 Las rutas de síntesis preferidas se describen a continuación:

Síntesis de las unidades estructurales de cetona E:



Fase 1 (Vía B)

- 5 Las estructuras de fórmula B se pueden preparar por reacción de cetonas A con aminas y reactivos ácidos Z-H. Los reactivos Z-H adecuados son, por ejemplo, cianuro de hidrógeno, 1,2,3-triazol, benzotriazol o pirazol. Una ruta particularmente preferida para compuestos de estructura B es la reacción de cetonas con cianuros metálicos y la amina correspondiente en presencia de ácido, preferiblemente en un alcohol, a temperaturas de -40 a 60 °C, preferiblemente a temperatura ambiente con cianuros de metales alcalinos en metanol. Otra ruta particularmente
- 10 preferida para los compuestos de estructura B es la reacción de cetonas con 1,2,3-triazol y la amina correspondiente en presencia en condiciones de eliminación de agua, preferiblemente usando un separador de agua a temperatura elevada en un disolvente inerte o usando un tamiz molecular u otro agente de secado. De manera análoga, las estructuras análogas a B pueden introducirse utilizando grupos de benzotriazol o pirazol en lugar de grupos de triazol.

Fase 1 (Vía Q)

La preparación de iminas de fórmula general Q a partir de cetonas A se encuentra en la técnica anterior general.

Fase 2 (vía B)

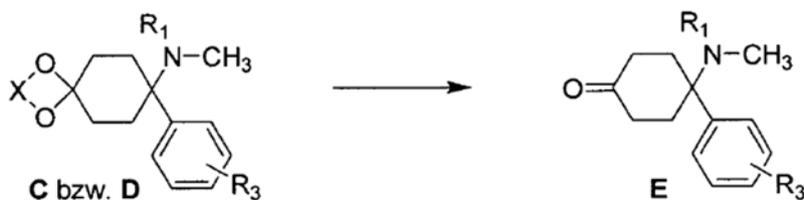
- 20 En general, los acetales C pueden obtenerse por sustitución de grupos salientes adecuados Z en estructuras de fórmula B. Los grupos salientes adecuados son preferiblemente grupos ciano; grupos 1,2,3-triazol-1-ilo. Otros grupos salientes adecuados son los grupos 1H-Benzo[d][1,2,3]triazol-1-ilo y los grupos pirazol-1-ilo (Katritzky et al., Synthesis 1989, 66-69). Una ruta particularmente preferida para compuestos de estructura C es la reacción de amino nitrilos B (Z = CN) con compuestos organometálicos correspondientes, preferiblemente compuestos de Grignard, preferiblemente en éteres, preferiblemente a TA. Los compuestos organometálicos están comercialmente disponibles o se pueden preparar de acuerdo con la técnica anterior general. Otra vía particularmente preferida para los compuestos de estructura C es la reacción de aminotriazoles B (Z = triazol) con compuestos organometálicos correspondientes, preferiblemente compuestos de Grignard, preferiblemente en éteres, preferiblemente a TA. Los compuestos organometálicos están comercialmente disponibles o se pueden preparar de acuerdo con la técnica
- 25 anterior general.
- 30

Fase 2 (vía Q)

- 35 Los aminoacetales C con un máximo de un sustituyente en el átomo de nitrógeno se pueden obtener de acuerdo con

procesos conocidos en principio por los expertos en la técnica mediante la adición de nucleófilos de carbono a iminas Q, preferiblemente compuestos organometálicos en disolventes inertes, particularmente preferiblemente con reactivos de Grignard o compuestos de organolitio, preferiblemente en éteres, preferiblemente a temperaturas de 100 a TA.

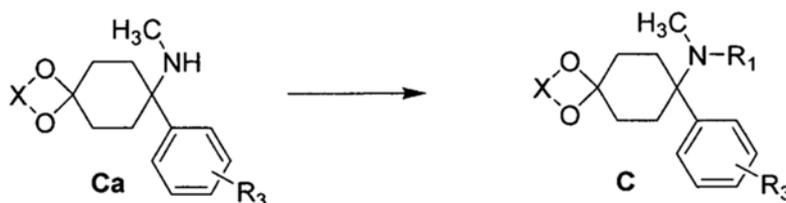
5 Fase 4/5:



Los compuestos de fórmula E pueden liberarse de los correspondientes acetales C o de sus sales D de acuerdo con la técnica anterior generalmente conocida mediante desprotección por medio de ácidos. Aquí X se selecciona del grupo alquilo, alquilo/alquilideno/alquilideno sustituido por arilo o alquilo (saturado/insaturado).

10

Preparación de C ($R_1 \neq -H$) a partir de Ca ($R_1 = -H$)



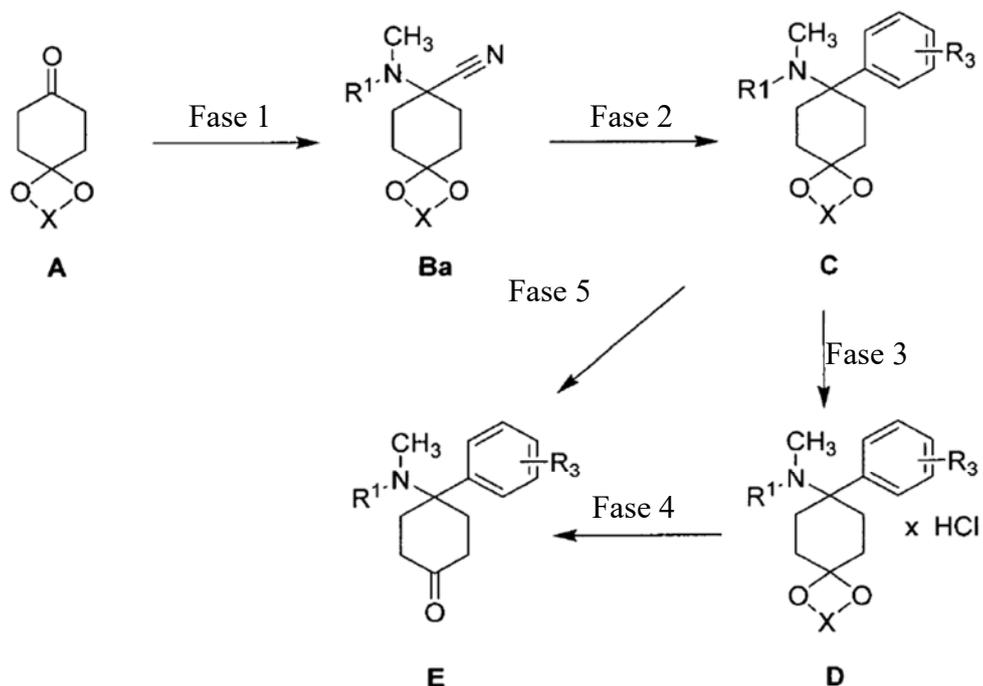
15 Los aminoacetales Ca que tienen un máximo de un sustituyente en el átomo de nitrógeno se pueden convertir de acuerdo con procesos conocidos en principio por los expertos en la técnica, por ejemplo, por aminación reductora, en aminoacetales C correspondientes que tienen uno o dos sustituyentes adicionales en el nitrógeno.

20 Ruta de aminonitrilo, ruta de imina y ruta de triazol

El intermedio E de cetona requerido puede prepararse, por ejemplo, de acuerdo con las siguientes tres rutas diferentes: (1) Ruta de aminonitrilo (2) Ruta de imina y (3) Ruta de triazol.

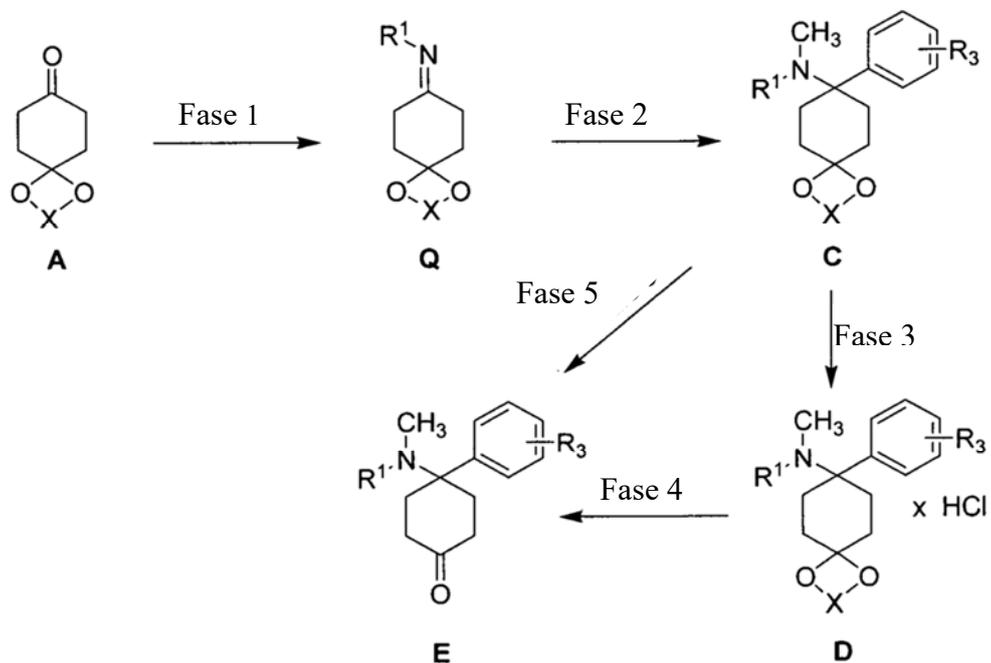
(1) Ruta de aminonitrilo:

25 En la ruta de aminonitrilo se sintetiza, como se describe en el siguiente esquema de síntesis, a partir de un precursor de cetona A, el aminonitrilo Ba, que se convierte en las unidades estructurales C o D y posteriormente en E usando un nucleófilo MR3. Esta ruta de síntesis ya se ha descrito y usado en el documento WO 2004/043967.



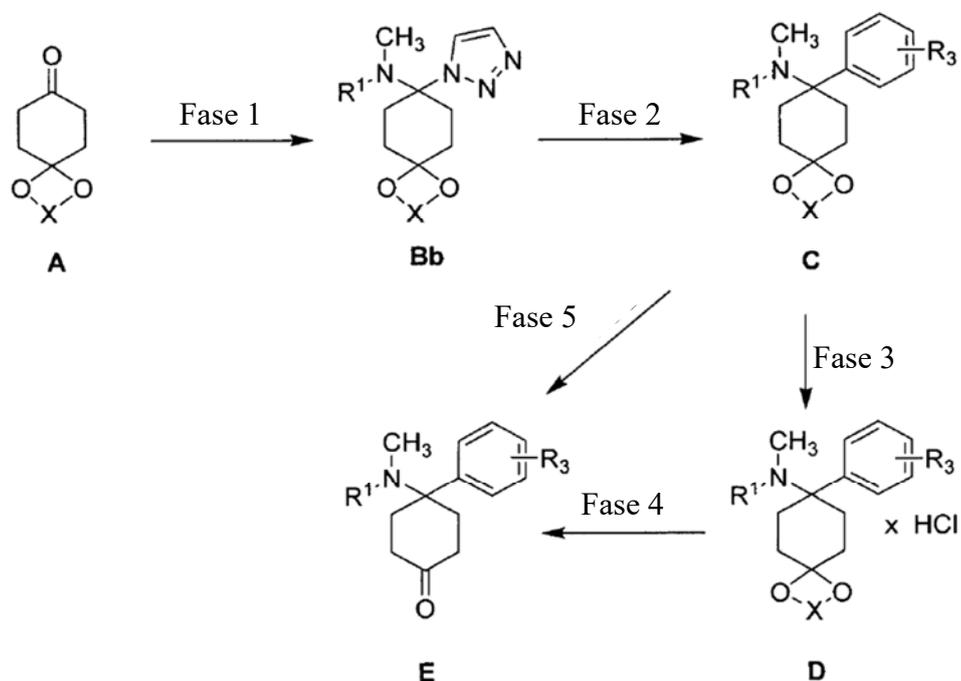
(2) Ruta de imina:

- 5 En la ruta de imina se sintetiza, como se describe en el siguiente esquema, a partir de un precursor de cetona A, la imina Q, que se convierte en las unidades estructurales C o D y posteriormente en E usando un nucleófilo MR₃. Las unidades estructurales Q requeridas se pueden preparar de acuerdo con un método conocido por las personas expertas en la técnica (Layer, Chem. Rev., 1963, 8, 489- 510). Para la adición de la especie organometálica MR₃ a la imina Q, se usaron procesos conocidos en la bibliografía (por ejemplo, Maddox et al., J. Med. Chem., 1965, 8, 230-235. Kudzma et al., J. Med. Chem., 1989, 32, 2534-2542). Las fases 3, 4 y 5 se realizan de forma análoga a la ruta de aminonitrilo.
- 10

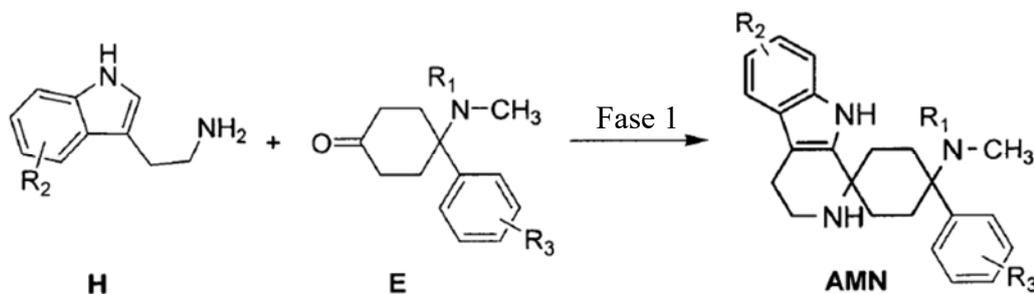


(3) Ruta de triazol:

- 5 En la ruta de triazol se sintetizó, como se describe en el siguiente esquema, a partir de un precursor de cetona A, el triazol Bb, que se convierte en las unidades estructurales C o D y posteriormente en E usando un nucleófilo MR3. Las condiciones se pueden encontrar en las referencias bibliográficas indicadas: (a) Katritzky et al. *Synthesis*, 1992, 1295-1298. (b) Prashad, et al., *Tetrahedron Lett.* 2005, 46, 5455-5458.



Síntesis de las espiroaminas (AMN)



5

Las triptaminas de tipo H pueden hacerse reaccionar en reacciones del tipo Pictet-Spengler con las cetonas E, con la adición de al menos un reactivo del grupo de los ácidos, anhídridos de ácido, ésteres, sales que reaccionan débilmente con ácido o ácidos de Lewis para formar productos de la fórmula AMN.

10

El uso se hace preferiblemente de al menos un reactivo del grupo de ácidos carboxílicos, ácidos fosfóricos o ácidos sulfónicos o sus respectivos anhídridos, trialquilsilil ésteres de ácido carboxílico, sales que reaccionan con ácidos, ácidos minerales o ácidos de Lewis seleccionados del grupo que comprende trifluoruro de boro, cloruro de indio (III), tetracloruro de titanio, cloruro de aluminio (III), o con la adición de al menos una sal de metal de transición, preferiblemente con la adición de al menos un triflato de metal de transición (trifluorometanosulfonato de metal de transición), de forma particularmente preferible con la adición de al menos un trifluorometanosulfonato de metal de transición seleccionado del grupo que comprende trifluorometanosulfonato de escandio (III), trifluorometanosulfonato de iterbio (III) y trifluorometanosulfonato de indio (III), en caso necesario con la adición de celite, con reactantes o reactivos unidos a la fase sólida, a temperatura elevada o reducida, con o sin radiación de microondas, de ser apropiado en un disolvente apropiado o mezcla de disolventes tal como, por ejemplo, hidrocarburos clorados o no

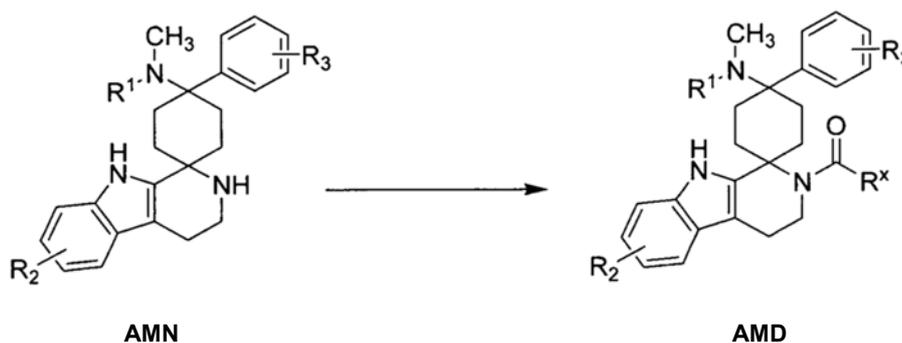
20

clorados, luego preferiblemente aromáticos, acetonitrilo; en disolventes etéricos, preferiblemente en éter dietílico o THF; o en nitrometano, en casos apropiados también en alcoholes o agua. Se da preferencia particular a para-toluenosulfonato de piridinio, pentóxido de fósforo en presencia de celite, eterato de trifluoruro de boro, ácido trifluoroacético, éster tetraisopropílico de ácido orto-titánico junto con ácido trifluoroacético, éster trimetilsilílico de ácido trifluorometanosulfónico, ácido trifluorometanosulfónico, ácido metanosulfónico, ácido trifluoroacético, ácido acético, ácido fosfórico, ácido polifosfórico, ésteres de polifosfato, ácido p-toluenosulfónico, ácido clorhídrico, gas HCl, ácido sulfúrico junto con tampón acetato, tetracloruro de estaño.

Las condiciones indicadas en los siguientes ejemplos se usan preferiblemente de nuevo.

Los compuestos de las fórmulas generales H y E están disponibles comercialmente o su preparación se conoce de la técnica anterior o puede derivarse de la técnica anterior de una manera obvia para el experto en la técnica. Las siguientes citas son particularmente relevantes en este contexto: Jirkovsky et al., J. Heterocycl. Chem., 12, 1975, 937-940; Beck et al., J. Chem. Soc. Perkin 1, 1992, 813-822; Shinada et al., Tetrahedron Lett., 39, 1996, 7099-7102; Garden et al., Tetrahedron, 58, 2002, 8399-8412; Ledniceret et al., J. Med. Chem., 23, 1980, 424-430; Bandini et al. J. Org. Chem. 67, 15; 2002, 5386 - 5389; Davis et al., J. Med. Chem. 35, 1, 1992, 177-184; Yamagishi et al., J. Med. Chem. 35, 11, 1992, 2085-2094; Gleave et al., Bioorg. Med. Chem. Lett. 8, 10, 1998, 1231-1236; Sandmeyer, Helv. Chim. Acta; 2; 1919; 239; Katz et al.; J. Med. Chem. 31, 6, 1988; 1244-1250; Bac et al. Tetrahedron Lett. 1988, 29, 2819; Ma et al. J. Org. Chem. 2001, 66, 4525; Kato et al. J. Fluorine Chem. 99, 1, 1999, 5 - 8.

Síntesis de las espiroamidas (AMD)



Los compuestos de la fórmula general AMN pueden hacerse reaccionar con ácidos carboxílicos en al menos un disolvente, preferiblemente seleccionado del grupo que comprende diclorometano, acetonitrilo, dimetilformamida, éter dietílico, dioxano y tetrahidrofurano, con la adición de al menos un agente de acoplamiento, preferiblemente seleccionado del grupo que comprende carbonildiimidazol (CDI), yoduro de 2-cloro-1 metilpiridinio (reactivo de Mukaiyama), *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida (EDCI), tetrafluoroborato de *O*-(benzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio (TBTU), *N,N'*-diciclohexilcarbodiimida (DCC) y hexafluorofosfato de 1-benzotriazoliloxi-tri-(dimetilamino)-fosfonio (BOP), si corresponde en presencia de al menos una base inorgánica, preferiblemente seleccionada del grupo que comprende carbonato de potasio y carbonato de cesio, o una base orgánica, preferiblemente seleccionada del grupo que comprende trietilamina, diisopropiletilamina y piridina y, si es apropiado, con la adición de 4-(dimetilamino)piridina o 1-hidroxibenzotriazol a temperaturas preferiblemente entre 25 °C y 150 °C, si es apropiado con radiación de microondas para dar compuestos de la fórmula general AMD.

Los compuestos de la fórmula general AMN pueden hacerse reaccionar con anhídridos de ácido y cloruros de ácido carboxílico en al menos un disolvente, preferiblemente seleccionado del grupo que comprende diclorometano, acetonitrilo, dimetilformamida, éter dietílico, dioxano y tetrahidrofurano, si es apropiado en presencia de al menos una base inorgánica, preferiblemente seleccionada del grupo que comprende carbonato de potasio y carbonato de cesio, o de una base orgánica, preferiblemente seleccionada del grupo que comprende trietilamina, diisopropiletilamina y piridina y, si es apropiado, con la adición de 4-(dimetilamino)piridina o 1-hidroxibenzotriazol a temperaturas preferiblemente entre 25 °C y 150 °C, si es apropiado con radiación de microondas para dar compuestos de la fórmula general AMD.

Para más detalles completos relacionados con la síntesis de los compuestos usados de acuerdo con la invención, particularmente con respecto a la síntesis de unidades estructurales de partida adecuadas, se hace referencia a los documentos WO2004/043967, WO2005/063769, WO2005/066183, WO2006/018184, WO2006/108565,

WO2007/124903 y WO2008/009416. Un experto en la técnica reconocerá que las unidades estructurales de partida adecuadas para la síntesis de los compuestos de acuerdo con la invención se pueden preparar de forma análoga a los esquemas de síntesis y las realizaciones ejemplares descritas en estas publicaciones.

5 Los compuestos usados de acuerdo con la invención actúan, por ejemplo, sobre los receptores ORL-1 y opioides μ que son relevantes en relación con diversas enfermedades, de manera que son adecuados como un principio activo (medicamento) en una composición farmacéutica.

10 Una materia objeto adicional de la invención se refiere a la aplicación de una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento del dolor neuropático y/o crónico, conteniendo la composición un vehículo fisiológicamente aceptable y al menos un compuesto de acuerdo con la fórmula general (III).

Preferiblemente, la composición usada es

15 - sólida, líquida o pastosa; y/o
- contiene el compuesto de acuerdo con la invención en una cantidad del 0,001 al 99 % en peso, preferiblemente del 1,0 al 70 % en peso, con relación al peso total de la composición.

20 La composición farmacéutica usada de acuerdo con la invención puede contener, si es apropiado, aditivos y/o sustancias auxiliares adecuados y/o, si es apropiado, otros principios activos.

25 Los ejemplos de vehículos, aditivos y/o sustancias auxiliares fisiológicamente aceptables adecuados son cargas, disolventes, diluyentes, colorantes y/o aglutinantes. Estas sustancias son conocidas por el experto en la técnica (véase H.P. Fiedler, Lexikon der Hilfsstoffe für Pharmazie, Kosmetik und angrenzende Gebiete, Editio Cantor Aulendorf).

30 Preferiblemente, la composición usada de acuerdo con la invención contiene el compuesto de acuerdo con la invención en una cantidad de preferiblemente del 0,001 al 99 % en peso, más preferiblemente del 0,1 al 90 % en peso, incluso más preferiblemente del 0,5 al 80 % en peso, mucho más preferiblemente del 1,0 al 70 % en peso, y particularmente del 2,5 al 60 % en peso, con relación al peso total de la composición.

La composición para su uso de acuerdo con la invención se produce preferiblemente para administración sistémica, tópica o local, preferiblemente para administración oral.

35 Una realización adicional del uso de acuerdo con la invención proporciona una forma farmacéutica de administración que contiene la composición farmacéutica de acuerdo con la invención.

40 En una realización preferida, la forma de administración usada de acuerdo con la invención se produce para administración dos veces al día, para administración una vez al día o para administración con menos frecuencia de una vez al día, preferiblemente para administración no más de una vez al día.

La administración es preferiblemente sistémica, en particular oral.

45 En una realización preferida, la forma de administración usada de acuerdo con la invención contiene el compuesto de acuerdo con la fórmula general (III) en tal dosis tan pequeña que no es significativamente eficaz en el tratamiento del dolor agudo. Esta dosis está preferiblemente dentro del intervalo de entre 1,0 μ g y 10 mg, con relación al peso molecular de la base libre.

50 La dosis es preferiblemente 0,001 mg \pm 50 %, 0,002 mg \pm 50 %, 0,003 mg \pm 50 %, 0,004 mg \pm 50 %, 0,005 mg \pm 50 %, 0,006 mg \pm 50 %, 0,007 mg \pm 50 %, 0,008 mg \pm 50 %, 0,009 mg \pm 50 %, 0,01 mg \pm 50 %, 0,02 mg \pm 50 %, 0,03 mg \pm 50 %, 0,04 mg \pm 50 %, 0,05 mg \pm 50 %, 0,06 mg \pm 50 %, 0,07 mg \pm 50 %, 0,08 mg \pm 50 %, 0,09 mg \pm 50 %, 0,1 mg \pm 50 %, 0,15 mg \pm 50 %, 0,2 mg \pm 50 %, 0,25 mg \pm 50 %, 0,3 mg \pm 50 %, 0,35 mg \pm 50 %, 0,4 mg \pm 50 %, 0,45 mg \pm 50 %, 0,5 mg \pm 50 %, 0,55 mg \pm 50 %, 0,6 mg \pm 50 %, 0,65 mg \pm 50 %, 0,7 mg \pm 50 %, 0,75 mg \pm 50 %, 0,8 mg \pm 50 %, 0,85 mg \pm 50 %, 0,9 mg \pm 50 %, 0,95 mg \pm 50 %, 1 mg \pm 50 %, 1,5 mg \pm 50 %, 2 mg \pm 50 %, 2,5 mg \pm 50 %, 3 mg \pm 50 %, 3,5 mg \pm 50 %, 4 mg \pm 50 %, 4,5 mg \pm 50 %, 5 mg \pm 50 %, 5,5 mg \pm 50 %, 6 mg \pm 50 %, 6,5 mg \pm 50 %, 7 mg \pm 50 %, 7,5 mg \pm 50 %, 8 mg \pm 50 %, 8,5 mg \pm 50 %, 9 mg \pm 50 %, 9,5 mg \pm 50 % o 10 mg \pm 50 %, con respecto al peso molecular de la base libre.

60 Más preferiblemente, la dosis es 0,001 mg \pm 25 %, 0,002 mg \pm 25 %, 0,003 mg \pm 25 %, 0,004 mg \pm 25 %, 0,005 mg \pm 25 %, 0,006 mg \pm 25 %, 0,007 mg \pm 25 %, 0,008 mg \pm 25 %, 0,009 mg \pm 25 %, 0,01 mg \pm 25 %, 0,02 mg \pm 25 %, 0,03 mg \pm 25 %, 0,04 mg \pm 25 %, 0,05 mg \pm 25 %, 0,06 mg \pm 25 %, 0,07 mg \pm 25 %, 0,08 mg \pm 25 %, 0,09 mg \pm 25 %, 0,1

5 mg \pm 25 %, 0,15 mg \pm 25 %, 0,2 mg \pm 25 %, 0,25 mg \pm 25 %, 0,3 mg \pm 25 %, 0,35 mg \pm 25 %, 0,4 mg \pm 25 %, 0,45 mg \pm 25 %, 0,5 mg \pm 25 %, 0,55 mg \pm 25 %, 0,6 mg \pm 25 %, 0,65 mg \pm 25 %, 0,7 mg \pm 25 %, 0,75 mg \pm 25 %, 0,8 mg \pm 25 %, 0,85 mg \pm 25 %, 0,9 mg \pm 25 %, 0,95 mg \pm 25 %, 1 mg \pm 25 %, 1,5 mg \pm 25 %, 2 mg \pm 25 %, 2,5 mg \pm 25 %, 3 mg \pm 25 %, 3,5 mg \pm 25 %, 4 mg \pm 25 %, 4,5 mg \pm 25 %, 5 mg \pm 25 %, 5,5 mg \pm 25 %, 6 mg \pm 25 %, 6,5 mg \pm 25 %, 7 mg \pm 25 %, 7,5 mg \pm 25 %, 8 mg \pm 25 %, 8,5 mg \pm 25 %, 9 mg \pm 25 %, 9,5 mg \pm 25 % o 10 mg \pm 25 %, con respecto al peso molecular de la base libre.

10 Particularmente, la dosis es preferiblemente 0,001 mg, 0,002 mg, 0,003 mg, 0,004 mg, 0,005 mg, 0,006 mg, 0,007 mg, 0,008 mg, 0,009 mg, 0,01 mg, 0,02 mg, 0,03 mg, 0,04 mg, 0,05 mg, 0,06 mg, 0,07 mg, 0,08 mg, 0,09 mg, 0,1 mg, 0,15 mg, 0,2 mg, 0,25 mg, 0,3 mg, 0,35 mg, 0,4 mg, 0,45 mg, 0,5 mg, 0,55 mg, 0,6 mg, 0,65 mg, 0,7 mg, 0,75 mg, 0,8 mg, 0,85 mg, 0,9 mg, 0,95 mg, 1 mg, 1,5 mg, 2 mg, 2,5 mg, 3 mg, 3,5 mg, 4 mg, 4,5 mg, 5 mg, 5,5 mg, 6 mg, 6,5 mg, 7 mg, 7,5 mg, 8 mg, 8,5 mg, 9 mg, 9,5 mg o 10 mg, con respecto al peso molecular de la base libre.

15 En una realización preferida, la forma de administración usada de acuerdo con la invención contiene un compuesto de acuerdo con la fórmula general (III) en la cantidad de 10 μ g \pm 90 %, más preferiblemente 10 μ g \pm 75 %, incluso más preferiblemente 10 μ g \pm 50 %, mucho más preferiblemente 10 μ g \pm 25 %, y en particular 10 μ g \pm 10 %, con respecto al peso molecular de la base libre.

20 En otra realización preferida, la forma de administración usada de acuerdo con la invención contiene un compuesto de acuerdo con la fórmula general (III) en la cantidad de 100 μ g \pm 90 %, más preferiblemente 100 μ g \pm 75 %, incluso más preferiblemente 100 μ g \pm 50 %, mucho más preferiblemente 100 μ g \pm 25 %, y en particular 100 μ g \pm 10 %, con respecto al peso molecular de la base libre.

25 En una realización preferida adicional, la forma de administración usada de acuerdo con la invención contiene un compuesto de acuerdo con la fórmula general (III) en la cantidad de 250 μ g \pm 90 %, más preferiblemente 250 μ g \pm 75 %, incluso más preferiblemente 250 μ g \pm 50 %, mucho más preferiblemente 250 μ g \pm 25 %, y en particular 250 μ g \pm 10 %, con respecto al peso molecular de la base libre.

30 En una realización preferida adicional, la forma de administración usada de acuerdo con la invención contiene un compuesto de acuerdo con la fórmula general (III) en la cantidad de 500 μ g \pm 90 %, más preferiblemente 500 μ g \pm 75 %, incluso más preferiblemente 500 μ g \pm 50 %, mucho más preferiblemente 500 μ g \pm 25 %, y en particular 500 μ g \pm 10 %, con respecto al peso molecular de la base libre.

35 En otra realización preferida, la forma de administración usada de acuerdo con la invención contiene un compuesto de acuerdo con la fórmula general (III) en la cantidad de 750 μ g \pm 90 %, más preferiblemente 750 μ g \pm 75 %, incluso más preferiblemente 750 μ g \pm 50 %, mucho más preferiblemente 750 μ g \pm 25 %, y en particular 750 μ g \pm 10 %, con respecto al peso molecular de la base libre.

40 En una realización preferida adicional, la forma de administración usada de acuerdo con la invención contiene un compuesto de acuerdo con la fórmula general (III) en la cantidad de 1000 μ g \pm 90 %, más preferiblemente 1000 μ g \pm 75 %, incluso más preferiblemente 1000 μ g \pm 50 %, mucho más preferiblemente 1000 μ g \pm 25 %, y en particular 1000 μ g \pm 10 %, con respecto al peso molecular de la base libre.

45 La forma de administración utilizada de acuerdo con la invención se puede administrar, por ejemplo, como una forma de dosificación líquida en forma de soluciones de inyección, gotas o jugos, o como una forma de dosificación semisólida en forma de gránulos, comprimidos, gránulos, parches, cápsulas, emplastos/apósitos en pulverización o aerosoles. La elección de sustancias auxiliares, etc., así como las cantidades a usar, dependen de si la forma de administración es oral, peroral, parenteral, intravenosa, intraperitoneal, intradérmica, intramuscular, intranasal, bucal, rectal o local, por ejemplo, aplicado a la piel, la mucosa o en los ojos.

50 Las formas de administración en forma de comprimidos, comprimidos recubiertos, cápsulas, gránulos, gotas, jugos y jarabes son adecuadas para la aplicación oral, y las soluciones, suspensiones, preparaciones secas fácilmente reconstituibles, así como los aerosoles son adecuados para aplicación parenteral, tópica e inhalatoria. Los compuestos en un depósito, en forma disuelta o en un emplasto, si es aplicable con la adición de agentes que promueven la penetración a través de la piel, son preparaciones de administración percutánea adecuadas para la aplicación de acuerdo con la invención.

55 Las formas de administración que pueden aplicarse por vía oral o percutánea pueden afectar a la liberación retardada de los compuestos usados de acuerdo con la invención. Los compuestos usados de acuerdo con la invención también se pueden administrar en formas de depósito parenteral a largo plazo tales como, por ejemplo, implantes o bombas

implantadas. Otros principios activos conocidos por los expertos en la técnica pueden añadirse, en principio, a las formas de administración usadas de acuerdo con la invención.

5 En una realización preferida, los compuestos usados de acuerdo con la invención se liberan de la forma de administración inmediatamente (liberación inmediata, IR), es decir, preferiblemente al menos 80 % del principio activo originalmente incluido se libera en condiciones in vitro, preferiblemente de acuerdo con Ph. Eur., después de 20 minutos.

10 Sorprendentemente, se encontró que los compuestos usados de acuerdo con la invención de acuerdo con la fórmula general (III) se distinguen por una semivida inusualmente larga ($t_{1/2}$) o una duración de acción farmacodinámica, de manera que una administración comparativamente infrecuente es suficiente para lograr una eficacia farmacológica comparativamente duradera y, por lo tanto, aliviar el dolor.

15 Las formas de administración con liberación prolongada de los compuestos usados de acuerdo con la invención no son absolutamente necesarios para esto, incluso en el caso de la liberación inmediata (IR) se consigue una acción a largo plazo debido a la larga semivida. La ventaja adicional de la propiedad IR de tales formas de administración es que, con una eficacia a largo plazo, la captación rápida del principio activo y, por lo tanto, el inicio rápido de la eficacia farmacológica se consiguen sin embargo después de la primera administración. Por lo tanto, las propiedades de las formas de administración IR se combinan con las propiedades de las formas de administración PR (PR, liberación prolongada).

20 En una realización preferida, la forma de administración usada de acuerdo con la invención es una forma de administración con liberación inmediata (IR) del principio activo que contiene un compuesto de acuerdo con la invención, preferiblemente de la fórmula general (VI) como la base libre o una sal fisiológicamente aceptable, preferiblemente el clorhidrato, citrato o hemi-citrato, y se produce preferiblemente para administración oral no más de una vez al día, preferiblemente exactamente una vez al día. A este respecto, la "liberación inmediata del principio activo" significa que, bajo condiciones in vitro, preferiblemente de acuerdo con Ph. Eur., al menos el 80 % del principio activo originalmente incluido se ha liberado después de 20 minutos.

30 La cantidad de compuestos usados de acuerdo con la invención para administrar al paciente varía dependiendo del peso del paciente, el tipo de administración, la indicación y la gravedad de la enfermedad. Usualmente, se administran de 0,00005 a 50 mg/kg, preferiblemente de 0,001 a 0,5 mg/kg, más preferiblemente de 1 a 10 µg/kg de al menos un compuesto de acuerdo con la fórmula general (III).

35 Para todas las realizaciones anteriores de las formas de administración usadas de acuerdo con la invención, se prefiere particularmente que la forma de administración contenga, además de al menos un compuesto de acuerdo con la fórmula general (III), un principio activo adicional.

40 El receptor ORL1 y el receptor opioide μ se asocian en particular con la aparición de dolor. Por consiguiente, los compuestos usados de acuerdo con la invención se pueden usar para la preparación de un medicamento para el tratamiento de dolor crónico, preferiblemente de dolor neuropático, más preferiblemente de dolor mononeuropático/neurálgico o polineuropático, incluso más preferiblemente de dolor en el caso de neuralgia postherpética o en el caso de polineuropatía diabética.

45 Los siguientes ejemplos sirven para explicar la invención, pero no deben interpretarse como limitativos.

En la siguiente nomenclatura de la estereoquímica de los compuestos de ejemplo, "(E)" se refiere a la sustitución en un doble enlace, por ejemplo, en un derivado de ácido cinámico, y "cis" y "trans" a la sustitución en el anillo de ciclohexilo.

50 Síntesis de las unidades estructurales de indol (H)

Unidad estructural H-1:

55 2-(1H-indolo-3-il)etanamina (H-1)
Disponibile en el mercado en el momento de la síntesis en Aldrich.

Unidad estructural H-2:

60 2-(5-fluoro-1H-indolo-3-il)etanamina (H-2)

Disponible en el mercado en el momento de la síntesis en Fluorochem.

Síntesis de las unidades estructurales de cetona (E)

5 Unidad estructural E-1:

Clorhidrato de dimetil-(8-fenil-1,4-dioxaspiro[4,5]dec-8-il)amina (D-1)

10 El aminonitrilo B-1 (21 g, 0,1 mol), disuelto en THF (210 ml), se añadió en el transcurso de 15 minutos, en una atmósfera de argón y mientras se enfriaba con hielo, a una solución 1,82 M de cloruro de fenilmagnesio en THF (109 ml, 0,198 mol), y después se agitó durante 16 h a temperatura ambiente. Para tratar la mezcla de reacción, se añadió una solución saturada de cloruro de amonio (150 ml), mientras se enfriaba con hielo, y se extrajo con éter dietílico (3 x 100 ml). La fase orgánica se extrajo con agitación con agua (100 ml) y solución saturada de NaCl (100 ml) y se concentró. Quedó un aceite de color amarillo (25,2 g). El producto en bruto se disolvió en etil metil cetona (280 ml), y se añadió ClSiMe_3 (18,8 ml, 0,15 mol) mientras se enfriaba con hielo. Después de un tiempo de reacción de 6 h, el clorhidrato D-1 pudo aislarse en forma de un sólido de color blanco con un rendimiento del 35 % (10,5 g).

4-Dimetilamino-4-fenilciclohexanona (E-1)

20 El clorhidrato D-1 (10,5 g, 35,2 mmol) se disolvió en ácido clorhídrico 7,5 N (36 ml) y se agitó durante 96 h a temperatura ambiente. Una vez se completó la hidrólisis, la mezcla de reacción se extrajo con éter dietílico (2 x 50 ml). Mientras se enfriaba con hielo, la fase acuosa se hizo alcalina con una solución 5 N de hidróxido sódico, se extrajo con diclorometano (3 x 50 ml) y se concentró. Por lo tanto, la cetona 6 pudo aislarse en forma de un sólido de color amarillo con un punto de fusión de 104-108 °C con un rendimiento del 97 % (7,4 g).

25 Unidad estructural E-2:

Variante 1:

Clorhidrato de [8-(3-fluorofenil)-1,4-dioxaspiro[4,5]dec-8-il]dimetilamina (D-2)

30 Se añadió una solución 0,5 M de bromuro de 3-fluorofenilmagnesio en THF (3, 750 ml, 375 mmol) en el transcurso de 15 minutos, en una atmósfera de argón y mientras se enfriaba con hielo, a una solución del aminonitrilo B-1 (19,8 g, 94 mmol) en THF (100 ml) y después se agitó durante 16 h a temperatura ambiente. Para tratar la mezcla de reacción, se añadieron una solución saturada de cloruro de amonio (150 ml) y agua (60 ml), mientras se enfriaba con hielo, y se extrajeron con éter dietílico (3 x 100 ml). La fase orgánica se extrajo con agitación con agua (50 ml) y solución saturada de NaCl (50 ml) y se concentró. Quedó un aceite de color pardo (26,5 g), que además del compuesto de fenilo 4 también contenía el cetal 2. El producto en bruto se disolvió en etil metil cetona (156 ml), y se añadió ClSiMe_3 (17,8 ml, 141 mol) mientras se enfriaba con hielo. Después de un tiempo de reacción de 6 h el clorhidrato D-2 pudo aislarse en forma de un sólido de color blanco que tenía un punto de fusión de 275-278 °C con un rendimiento del 55 % (16,3 g).

Variante 2:

Clorhidrato de [8-(3-Fluorofenil)-1,4-dioxaspiro[4,5]dec-8-il]dimetil-amina (D-2)

45 Una solución de 1-bromo-3-fluorobencina (5,00 g, 28,6 mmol) en éter abs. (15 ml) se añadió gota a gota a una suspensión de magnesio (694 mg, 28,6 mmol) en éter abs. (10 ml) de tal forma que el éter hirvió. Una vez se completó la adición, se realizó la agitación durante 10 min a TA, después de lo cual el magnesio se disolvió por completo. La solución de reacción se enfrió en un baño de hielo y el aminonitrilo B-1 (3,00 g, 14,3 mmol) en THF abs. (30 ml) se añadió gota a gota a 10 °C. El lote se agitó durante una noche a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se añadió a una solución al 20 % de NH_4Cl (20 ml) y agua (30 ml) mientras se enfriaba con hielo, y la extracción se realizó con éter (3 x 50 ml). La fase org. se lavó con agua (50 ml) y después con una solución saturada de NaCl (50 ml), se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacío. El producto en bruto se disolvió en etil metil cetona (25 ml), se añadió ClSiMe_3 (3,2 ml, 25 mmol) mientras se enfriaba con hielo, y la agitación se realizó durante 5 h a temperatura ambiente. El precipitado resultante se eliminó por filtración y se secó al vacío.

55 Rendimiento de D-2: 2,8 g (62 %)

$^1\text{H-RMN}$ (DMSO-d_6): 1,91 (8 H, m); 2,54 (6 H, s); 3,91 (4 H, d); 7,37 (1 H, m); 7,61 (3 H, m).

Variante 1:

60

4-Dimetilamino-4-(3-fluoro-fenil)-ciclohexanona (E-2)

El clorhidrato D-2 (7,2 g, 22,75 mmol) se disolvió en agua (9,6 ml), se concentró, se añadió ácido clorhídrico (14 ml, 455 mmol), y la agitación se realizó durante 4 d a temperatura ambiente. Una vez se completó la hidrólisis, la mezcla de reacción se extrajo con éter dietílico (2 x 50 ml), la fase acuosa se hizo alcalina con una solución 5 N de hidróxido sódico mientras se enfriaba con hielo, después de lo cual el producto precipitó. La cetona E-2 pudo aislarse en forma de un sólido de color amarillo que tenía un punto de fusión de 83-88 °C y un rendimiento del 50 % (6,05 g).

Variante 2:

4-Dimetilamino-4-(3-fluoro-fenil)-ciclohexanona (E-2)

El clorhidrato D-2 (2,80 g, 8,86 mmol) se disolvió en agua (3,7 ml), se concentró, se añadió ácido clorhídrico (5,5 ml), y la agitación se realizó durante 4 d a TA. Una vez se completó la hidrólisis, la mezcla de reacción se extrajo con éter (2 x 10 ml), la solución acuosa se hizo alcalina con una solución 5 N de hidróxido sódico mientras se enfriaba con hielo, la mezcla de reacción se extrajo con diclorometano (3 x 50 ml), la fase orgánica se secó sobre sulfato sódico y se concentró al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida con CHCl₃/MeOH (20:1).

Rendimiento de E-2: 676 mg (32 %), sólido incoloro

Punto de fusión: 62-67 °C

¹H-RMN (DMSO-d₆): 2,02 (6 H, s); 2,12 (5 H, m); 2,45 (3 H, m); 7,24 (3 H, m); 7,43 (1 H, m).

Unidad estructural E-3:

Clorhidrato de [8-(4-Fluorofenil)-1,4-dioxaspiro[4,5]dec-8-il]dimetilamina (D-3)

Se añadió una solución 1 M de bromuro de 4-fluorofenilmagnesio en THF (3, 125 ml, 125 mmol) en el transcurso de 15 min a una solución del aminonitrilo B-1 (10,5 g, 50 mmol) en THF (150 ml) en una atmósfera de argón y mientras se enfriaba con hielo, y después se agitó durante 16 h a temperatura ambiente. Para tratar la mezcla de reacción, se añadieron una solución saturada de cloruro de amonio (37 ml) y agua (50 ml), mientras se enfriaba con hielo, y la extracción se realizó con éter dietílico (3 x 100 ml). La fase orgánica se extrajo con agitación con agua (50 ml) y solución saturada de NaCl (50 ml) y se concentró. Quedó un aceite de color pardo (12,55 g), que contenía, además del compuesto de fenilo C-3, también el cetal B-1. El producto en bruto se disolvió en etil metil cetona (75 ml) y se añadió ClSiMe₃ (9,5 ml, 75 mmol) mientras se enfriaba con hielo. Después de un tiempo de reacción de 6 h, el clorhidrato D-3 pudo aislarse en forma de un sólido de color blanco con un rendimiento del 47 % (7,48 g).

4-Dimetilamino-4-(4-fluorofenil)ciclohexanona (E-3)

El clorhidrato D-3 (7,2 g, 22,75 mmol) se disolvió en agua (9,6 ml), se concentró, se añadió ácido clorhídrico (14 ml, 455 mmol), y la agitación se realizó durante 4 d a temperatura ambiente. Una vez se completó la hidrólisis, la mezcla de reacción se extrajo con éter dietílico (2 x 50 ml), la fase acuosa se hizo alcalina con una solución 5 N de hidróxido sódico mientras se enfriaba con hielo, se extrajo con diclorometano (3 x 50 ml) y se concentró. La cetona E-3 pudo aislarse en forma de un sólido de color amarillo con un punto de fusión de 128-133 °C y un rendimiento del 76 % (4,05 g).

Unidad estructural E-4:

Clorhidrato de dimetil-(8-tiofen-2-il-1,4-dioxaspiro[4,5]dec-8-il)amina (D-4)

Se disolvió 2-yodotiofeno (1, 22,9 g, 109 mmol) en una atmósfera de argón en THF (80 ml) y se añadió cloruro de isopropilmagnesio 2 M (2, 35,7 ml, 72 mmol) en THF a 0 °C en el transcurso de 30 min. Después de un tiempo de reacción de 1 h a 3-5 °C, se añadió el aminonitrilo B-1 (10 g, 47,6 mmol), disuelto en tetrahidrofurano (20 ml), y la agitación se realizó durante 20 h a temperatura ambiente. El lote se trató mediante la adición de una solución saturada de NH₄Cl (85 ml) y la extracción con éter dietílico (3 x 100 ml). La fase orgánica se extrajo con agitación con agua (50 ml) y solución saturada de NaCl (50 ml) y se concentró. Se obtuvo un aceite de color pardo oscuro (21,3 g), que, además del cetal deseado, contenía el aminonitrilo B-1 y el 2-yodotiofeno. El producto en bruto se disolvió en etil metil cetona (140 ml), y se añadió ClSiMe₃ (9,1 ml, 71,4 mmol). Después de un tiempo de reacción de 6 h, el clorhidrato D-4 se aisló en forma de un compuesto cristalino de color blanco con un rendimiento del 60 % (8,74 g).

4-Dimetilamino-4-tiofen-2-ilociclohexanona (E-4)

El clorhidrato D-4 (8,68 g, 28,6 mmol) se disolvió en ácido clorhídrico 7,5 N (29 ml) y se agitó durante 48 h a temperatura ambiente. Una vez se completó la hidrólisis, la mezcla de reacción se extrajo con éter dietílico (2 x 50 ml). Mientras se enfriaba con hielo, la fase acuosa se hizo alcalina con una solución 5 N de hidróxido sódico, se extrajo con diclorometano (3 x 50 ml) y se concentró. Por lo tanto, la cetona E-4 se obtuvo en forma de un sólido de color amarillo con un punto de fusión de 108-110 °C con un rendimiento del 89 % (5,66 g).

Unidad estructural E-5:

N,N-dimetil-8-(tiofen-3-il)-1,4-dioxaspiro[4,5]decano-8-amina (D-5)

Se disolvió 3-yodotiofeno (1,5 g, 23,8 mmol) en una atmósfera de argón en THF (18 ml) y se añadió cloruro de isopropilmagnesio 2 M (2,78 ml, 15,5 mmol) en THF a 0 °C en el transcurso de 8 min. Después de un tiempo de reacción de 1 h a 3-5 °C, se añadió el aminonitrilo B-1 (2,16 g, 10,3 mmol), disuelto en tetrahidrofurano (20 ml). La agitación se realizó entonces durante 20 h a temperatura ambiente. El lote se trató mediante la adición de una solución saturada de NH₄Cl (20 ml) y la extracción con éter dietílico (3 x 50 ml). La fase orgánica se extrajo con agitación con agua (20 ml) y solución saturada de NaCl (20 ml) y se concentró. Se obtuvo un aceite de color pardo claro (3,95 g). El producto en bruto se disolvió en etil metil cetona (40 ml), y se añadió ClSiMe₃ (1,95 ml, 15,5 mmol). Después de un tiempo de reacción de 3 h el clorhidrato deseado pudo aislarse en forma de un compuesto cristalino de color blanco con un rendimiento del 60 % (1,86 g) con un punto de fusión de 250-251 °C.

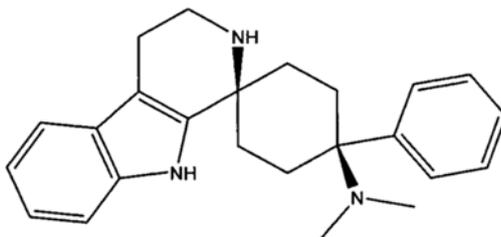
4-(Dimetilamino)-4-(tiofen-3-il)ciclohexanona (E-5)

El clorhidrato D-5 (1,8 g, 5,9 mmol) se disolvió en ácido clorhídrico 7,5 N (7 ml) y se agitó durante 48 h a temperatura ambiente. Una vez se completó la hidrólisis, la mezcla de reacción se extrajo con éter dietílico (2 x 30 ml), mientras se enfriaba con hielo la fase acuosa se hizo alcalina con una solución 5 N de hidróxido sódico, se extrajo con diclorometano (3 x 30 ml) y se concentró. La cetona E-5 pudo aislarse en forma de un sólido de color amarillo con un punto de fusión de 147-150 °C y un rendimiento del 98 % (1,27 g).

Síntesis de las unidades estructurales de espiroamina (AMN^{cis} / AMN^{trans})

Ejemplo de comparación AMN-1^{cis}

2',3',4',9'-Tetrahidro-N,N-dimetil-4-(fenil)-espiro[ciclohexano-1,1'-(1'H)-pirido[3,4-b]indolo]-4-amina (diastereómero cis)



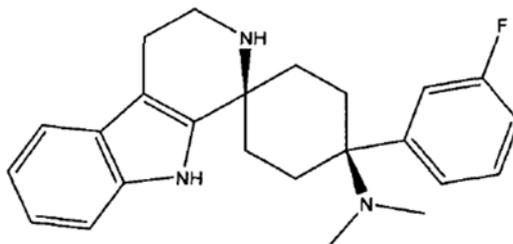
Nota: De acuerdo con esta prescripción, predominantemente se obtiene el producto cis AMN-1^{cis}. El producto trans AMN-1^{trans} se obtiene solamente como un producto secundario o en forma impura.

La cetona E-1 (3,26 g, 15 mmol) y la triptamina H-1 (2,4 g, 15 mmol) se disolvieron en MeOH seco (100 ml) con la exclusión de oxígeno. Se añadió sulfato sódico (3 g) a esta mezcla. Después de un tiempo de reacción de 17 h, el disolvente se eliminó por destilación en un separador rotatorio y el residuo se recogió en 1,2-dicloroetano (100 ml). Se añadió ácido trifluoroacético (15 ml) a la mezcla de reacción y la agitación se realizó durante 1 h a temperatura ambiente. El avance de la reacción se controló por TLC. Para el tratamiento, se añadió H₂O (40 ml) al lote, y el pH se ajustó a 11 con NaOH (5 mol/l). Precipitó un sólido de color blanco, y se eliminó por filtración con succión sobre una frita. El sólido se lavó con H₂O (3 x 5 ml) y se secó. Fue el producto cis AMN-1^{cis} el que se obtuvo en forma de un sólido de color blanco con un punto de fusión de 214- 218 °C con un rendimiento de 4 g (74 %). Las aguas madre (fase acuosa) se extrajeron con 1,2-dicloroetano (3 x 25 ml). La fase orgánica se secó con Na₂SO₄ y se concentró. El residuo de color pardo sólido se recrystalizó en MeOH (10 ml) y produjo una mezcla de espiroamina cis-AMN-1^{cis} y trans-AMN-1^{trans} (1 : 1). La mezcla se obtuvo en forma de un sólido de color blanco con un rendimiento de 940 mg (17 %).

^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6): 1,61 (m, 2 H) 1,63 (m, 2 H) 1,92 (s, 6 H) 2,12 (m, 2 H) 2,39 (m, 2 H) 2,53 (t, J = 5,36 Hz, 2 H) 2,99 (t, J = 5,35 Hz, 2 H) 6,86 (m, 1 H) 6,91 (m, 1 H) 7,16 (d, J = 7,52 Hz, 1 H) 7,28 (d, J = 7,52 Hz, 1 H) 7,31 (m, 1 H) 7,43 (m, 4 H) 10,21 (s, 1 H)

5 Ejemplo de comparación AMN-2^{cis}

2',3',4',9'-Tetrahidro-N,N-dimetil-4-(3-fluorofenil)-espiro[ciclohexano-1,1'(1'H)-pirido[3,4-b]indolo]-4-amina (diastereómero cis)

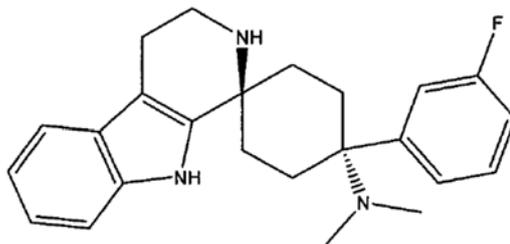


10 La cetona E-2 (4,71 g, 20 mmol) y la triptamina H-1 (3,2 g, 20 mmol) se disolvieron en MeOH seco (200 ml) en una atmósfera de argón. Después de un tiempo de reacción de 24 h, se eliminó MeOH por destilación y el residuo oleoso de color amarillo se suspendió en 1,2-dicloroetano (200 ml). Se añadió ácido trifluoroacético (20 ml) a la mezcla del residuo y la agitación se realizó durante 2 h a temperatura ambiente. El avance de la reacción se controló por TLC. Para el tratamiento, el lote se diluyó con H₂O (100 ml) ajustado a pH 11 con NaOH (5 mol/l). Después de la adición de acetato de etilo (50 ml), un sólido de color blanco precipitó tras la agitación y se eliminó por filtración con succión sobre una frita. El sólido se lavó con H₂O (3 x 25 ml) y después se secó. Era el diastereómero cis AMN-2^{cis}, que se obtuvo en forma de un sólido de color blanco con un punto de fusión de 220-225 °C con un rendimiento de 5,5 g (73 %).

15 ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6): 1,61 (m, 2 H) 1,62 (m, 2 H) 1,93 (s, 6 H) 2,11 (m, 2 H) 2,38 (m, 2 H) 2,53 (t, J = 5,56 Hz, 2 H) 2,99 (t, J = 5,56 Hz, 2 H) 6,87 (m, 1 H) 6,92 (m, 1 H) 7,14 (m, 1 H) 7,17 (d, J = 8,34 Hz, 1 H) 7,20 (m, 1 H) 7,25 (d, J = 7,82 Hz, 1 H) 7,28 (d, J = 7,47 Hz, 1 H) 7,47 (m, 1 H) 10,26 (s, 1 H)

25 Ejemplo de comparación AMN-2^{trans}

2',3',4',9'-Tetrahidro-N,N-dimetil-4-(3-fluorofenil)-espiro[ciclohexano-1,1'(1'H)-pirido[3,4-b]indolo]-4-amina (diastereómero trans)



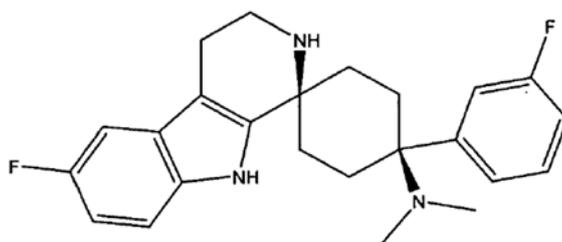
30 La triptamina H-1 (2,03 g, 12,7 mmol) y la cetona (E-2, 3,0 g, 12,7 mmol) se disolvieron en metanol abs. (130 ml) y se agitaron durante 16 h a temperatura ambiente en una atmósfera de argón. Después, la mezcla de reacción se concentró. El residuo se disolvió en 1,2-dicloroetano abs. (130 ml), se añadió rápidamente ácido trifluoroacético (12,7 ml) y la agitación se realizó durante 2 h a temperatura ambiente. Mientras se enfriaba con hielo, se añadieron agua (120 ml) y una solución 5 N de hidróxido sódico (40 ml), y la agitación se realizó durante 1 h. El sólido incoloro resultante se eliminó por separación por filtración y se lavó con 1,2-dicloroetano (30 ml) y agua (4 x 25 ml). La espiroamina cis AMN-2^{cis} se obtuvo con un rendimiento del 77 % (3,7 g) con trazas de la espiroamina trans AMN-2^{trans}. La fase del filtrado se separaron. La fase orgánica se secó con sulfato sódico y se concentraron, se añadió metanol (3 ml), y la agitación se realizó durante 1 h a temperatura ambiente. Un precipitado de color blanco se eliminó por separación por filtración y se lavó con metanol (4 x 3 ml). La espiroamina trans AMN-2^{trans} se obtuvo con un rendimiento del 5 % (250 mg) con trazas de la espiroamina cis AMN-2^{cis}. Después de la purificación por cromatografía [gel de sílice 60 (20 g); metanol (200 ml)], se obtuvo la espiroamina trans AMN-2^{trans} (170 mg) con un punto de fusión de 296-299

°C.

5 ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6): 1,55 (m, 2 H) 1,62 (m, 2 H) 1,88 (s, 6 H) 2,26 (m, 2 H) 2,43 (m, 2 H) 2,55 (t, J = 5,49 Hz, 2 H) 2,96 (t, J = 5,25 Hz, 2 H) 6,91 (m, 1 H) 6,99 (m, 1 H) 7,08 (m, 1 H) 7,14 (m, 1 H) 7,20 (d, J = 7,64 Hz, 1 H) 7,32 (m, 2 H) 7,40 (m, 1 H) 10,63 (s, 1 H)

Ejemplo de comparación AMN-3^{cis}

10 6'-Fluoro-2',3',4',9'-tetrahidro-N,N-dimetil-4-(3-fluorofenil)-espiro[ciclohexano-1,1'(1'H)-pirido[3,4-b]indolo]-4-amina (diastereómero cis)



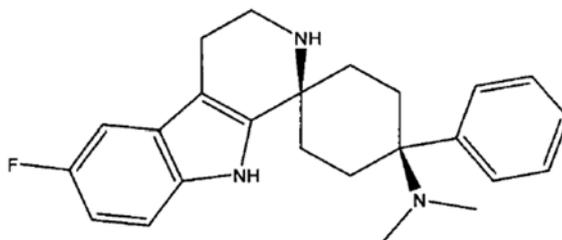
15 La cetona E-2 (9,6 g, 41,2 mmol) y la fluorotriptamina H-2 (7,3 g, 41,2 mmol) se disolvieron en etanol (200 ml) y se calentaron durante 12 horas a reflujo. Después, el etanol se eliminó por destilación y el producto en bruto se suspendió en 1,2-dicloroetano (100 ml). Se añadió ácido trifluoroacético (90 ml) a la mezcla de reacción y la agitación se realizó durante 12 h a temperatura ambiente. El avance de la reacción se controló por TLC. Para el tratamiento, el lote se hizo básico con 500 ml de una solución 1 N de NaOH a 0 °C y después se extrajo 3x con 500 ml de acetato de etilo. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio y se concentraron a presión reducida. Después

20 de la adición de metanol (100 ml), un sólido de color blanco precipitó tras la agitación y se eliminó por filtración con succión sobre una frita. El sólido se lavó con metanol (2 x 25 ml) y después se secó. Era el diastereómero AMN-3^{cis} que se obtuvo en forma de un sólido de color blanco con un rendimiento de 3,6 g (22 %).

25 ^1H RMN (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 10,39(s, 1H), 7,44-7,49 (m, 1H), 7,11-7,24 (m, 4H), 7,00-7,04 (m, 1H), 6,72-6,78 (m, 1H), 2,95-2,98 (t, 2H), 2,48-2,50 (m, 1H), 2,36-2,39 (d, 2H), 1,98- 2,11 (m, 2H), 1,91 (s, 6H), 1,51-1,67 (m, 5H)
MS m/z (M+1): 396,4; Pureza (HPLC): 95,03 %

Ejemplo de comparación AMN-4^{cis}

30 6'-Fluoro-2',3',4',9'-Tetrahidro-N,N-dimetil-4-(fenil)-espiro[ciclohexano-1,1'(1'H)-pirido[3,4-b]indolo]-4-amina (diastereómero cis)



35 La cetona E-1 (8,4 g, 47 mmol) y la fluorotriptamina H-2 (10,2 g, 47 mmol) se disolvieron en etanol (200 ml) y se calentaron durante 12 horas a reflujo. Después, el etanol se eliminó por destilación y el producto en bruto se suspendió en 1,2-dicloroetano (120 ml). Se añadió ácido trifluoroacético (100 ml) a la mezcla de reacción y la agitación se realizó durante 12 h a temperatura ambiente. El avance de la reacción se controló por TLC. Para el tratamiento, el lote se hizo básico con una solución 1 N de NaOH a 0 °C y después se extrajo 3x con 500 ml de acetato de etilo. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio y se concentraron a presión reducida. Después de la

40 adición de metanol (100 ml), un sólido de color blanco precipitó tras la agitación y se eliminó por filtración con succión sobre una frita. El sólido se lavó con metanol (2 x 25 ml) y después se secó. Era el diastereómero AMN-4^{cis} que se obtuvo en forma de un sólido de color blanco con un rendimiento de 4 g (28 %).

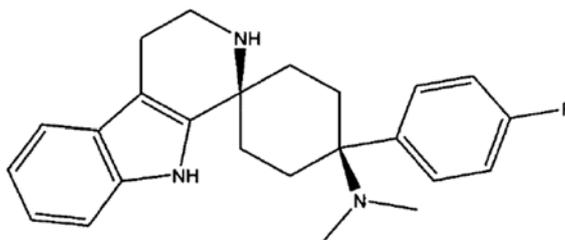
¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz): δ 10,36(s, 1H), 7,45-7,42 (t, 4H), 7,32-7,29 (m, 1H), 7,14- 7,10 (m, 1H), 7,03-7,00 (m, 1H), 6,76-6,71 (m, 1H), 2,99-2,96 (t, 2H), 2,40-2,37 (d, 2H), 2,13- (m, 2H), 1,91 (s, 6H), 1,88 (s, 1H), 1,65-1,54 (m, 4H), 1,23 (s, 1H).

5

Ejemplo de comparación AMN-5^{cis}

2',3',4',9'-Tetrahidro-N,N-dimetil-4-(4-fluorofenil)-espiro[ciclohexano-1,1'(1'H)-pirido[3,4-b]indolo]-4-amina (diastereómero cis)

10



La cetona E-3 (2800 mg, 11,90 mmol) y la triptamina (H-1, 1910 mg, 11,90 mmol) se disolvieron en una atmósfera de argón en metanol seco (119 ml) y se agitó durante 18 h. El metanol se eliminó por destilación al vacío y el residuo se suspendió en 1,2-dicloroetano (119 ml). Se añadió ácido trifluoroacético (11,9 ml) a la mezcla de reacción y la agitación se realizó durante 2 h a temperatura ambiente. Después, la mezcla de reacción se diluyó con 1,2-dicloroetano (119 ml) y se ajustó a pH 11 con una solución 1 N de hidróxido sódico mientras se enfriaba con hielo. Se formó un precipitado de color pálido. La mezcla se agitó durante una noche a temperatura ambiente. El precipitado se eliminó por filtración con succión, se lavó con agua y se secó al vacío. El diastereómero cis AMN-5^{cis} (p.f. 249-250 °C, en algunos casos 225-230 °C) pudo aislarse con un rendimiento del 80 % (3610 mg, 9,56 mmol). Las fases se separaron. La fase orgánica se secó con sulfato sódico, se filtró, y se liberó de los constituyentes volátiles al vacío. El residuo de color pálido (diastereoisómero trans AMN-5^{trans}) se recogió en metanol (5 ml) y se agitó durante 48 h. El precipitado se eliminó por filtración y se secó al vacío. El diastereoisómero trans AMN-5^{trans} (268-271 °C) pudo aislarse con un rendimiento del 6 % (279 mg, 0,74 mmol).

15

20

25

¹³C{¹H}-RMN (101 MHz, DMSO-D₆) δ ppm: 22,8 (1 C), 27,3 (2 C), 32,6 (2 C), 37,8 (2 C), 38,6 (1 C), 51,2 (1 C), 60,5 (1 C), 106,7 (1 C), 110,8 (1 C), 114,2 (2 C, d, J = 21 Hz), 117,2 (1 C), 117,9 (1 C), 120,0 (1 C), 126,9 (1 C), 129,7 (2 C, d, J = 8 Hz), 132,8 (1 C, d, J = 3 Hz), 135,4 (1 C), 141,4 (1 C), 160,7 (1 C, d, J = 242 Hz)

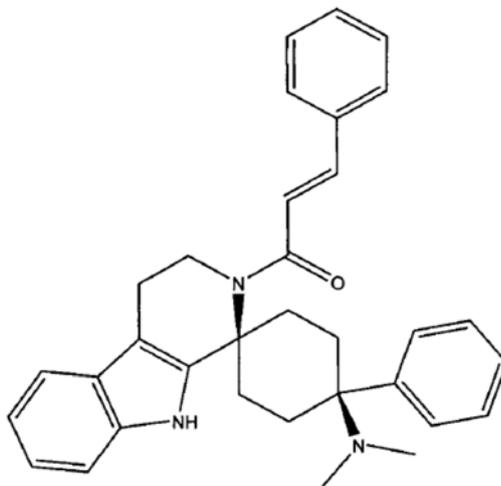
30

Síntesis de los ejemplos de espiroamida cis (AMD^{cis})

Ejemplo AMD-1^{cis}:

35

(E)-2',3',4',9'-tetrahidro-N,N-dimetil-4-fenil-2'-(2-fenilvinil)carbonil-espiro[ciclohexano- 1,1'(1'H)-pirido[3,4-b]indolo]-4-amina metano sulfonato (1:1) (diastereómero cis)

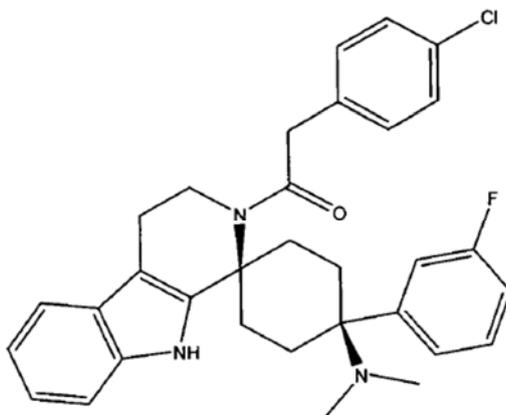


5 AMN-1^{cis} se disolvió en THF (8 ml). Después, se añadieron cloruro del ácido cinnámico (254 mg, 1,53 mmol) y diisopropiletilamina (216 mg, 1,67 mmol) y la agitación se realizó durante 2 d a TA. Una vez que la reacción se completó, el sólido se eliminó por filtración y se añadió una solución saturada de Na₂CO₃ al filtrado. La fase acuosa se extrajo tres veces, cada vez con 10 ml de acetato de etilo. Después, la fase orgánica se secó sobre MgSO₄ y se concentró en un evaporador rotatorio. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna [gel de sílice 60; DCM/metanol (19 : 1, 570 ml)]. El producto se obtuvo con un rendimiento de 174 mg (26 %). Con el fin de preparar el metanosulfonato, la espiroamida recién obtenida (174 mg, 0,355 mmol) se suspendió en DCM (6 ml) y se añadió ácido metanosulfónico (23,7 µl, 0,355 mmol) a TA. Después, se añadió acetona (0,8 ml) y se añadió suficiente éter dietílico para dispersar la turbidez que se produjo por la agitación. La agitación se realizó durante 30 min más y el sólido resultante se eliminó entonces por filtración con succión, se lavó con éter dietílico, y se secó durante 3 h a 50 °C bajo vacío de bomba de aceite. El producto AMD-1^{cis} se obtuvo con un rendimiento de 159 mg (76 %).

15 ¹H RMN (600 MHz, DMSO-d₆) 1,65 (t, J = 13,22 Hz, 2 H) 2,20 (t, J = 12,84 Hz, 2 H) 2,51 (d, J = 4,53 Hz, 9 H) 2,87 - 3,16 (m, 4 H) 4,13 (s a, 2 H) 6,92 (t, J = 7,55 Hz, 1 H) 6,99 (t, J = 7,55 Hz, 1 H) 7,20 (d, J = 8,31 Hz, 1 H) 7,31 (d, J = 7,55 Hz, 1 H) 7,36 - 7,51 (m, 5 H) 7,56 - 7,69 (m, 3 H) 7,74 (d, J = 7,55 Hz, 2 H) 7,82 (d, J = 7,55 Hz, 2 H) 9,62 (a, s, 1 H)

20 Ejemplo de comparación AMD-2^{cis}

2',3',4',9'-Tetrahidro-N,N-dimetil-4-(3-fluoro-fenil)-2'-(4-clorobencil)-carbonil-espiro- [ciclohexano-1,1'(1'H)-pirido[3,4-b]indolo]-4-amina (diastereómero cis)



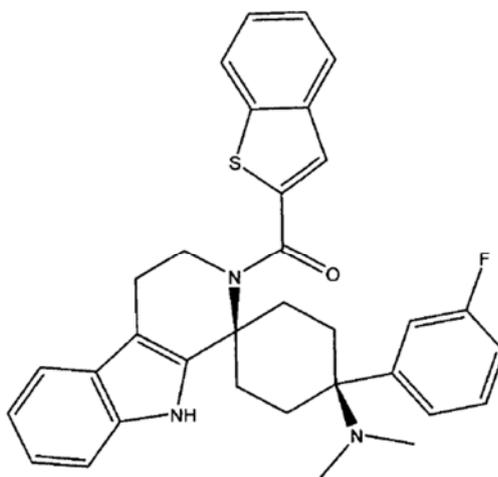
25 La espiroamina (AMN-2^{cis}; 396 mg, 1,05 mmol) se suspendió en DCM (15 ml) en un recipiente compatible con

microondas y se añadieron cloruro de 2-(4-clorofenil)acetilo (397 mg, 2,1 mmol) y diisopropiletilamina (269 mg, 2,1 mmol). La mezcla de reacción se irradió durante 10 min a 120 °C en el microondas (Initiator Eight, Firma Biotage). Una vez se completó la reacción (supervisión por TLC), la mezcla de reacción se filtró en primer lugar, se añadió éter dietílico (15 ml), y la filtración se realizó de nuevo. Se añadió una solución saturada de Na₂CO₃ (8ml). Tras la separación de las fases, la fase acuosa se lavó de nuevo con DCM. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron en un evaporador rotatorio. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna [gel de sílice 60; DCM/metanol (19 : 1)]. El producto AMD-2^{cis} se obtuvo con un rendimiento de 91 mg (16 %).

¹H RMN (600 MHz, DMSO-d₆) d ppm 1,55 (t, J = 13,60 Hz, 2 H) 1,79 (t, J = 12,84 Hz, 2 H) 1,92 (s. a., 6 H) 2,60 - 2,70 (m, 2 H) 2,73 - 2,87 (m, 2 H) 3,17 (d, J = 5,29 Hz, 2 H) 3,89 - 4,01 (m, 4 H) 6,90 (t, J = 7,55 Hz, 1 H) 6,97 (t, J = 7,55 Hz, 1 H) 7,08 - 7,16 (m, 1 H) 7,18 (d, J = 8,31 Hz, 1 H) 7,21 - 7,30 (m, 3 H) 7,34 (c, J = 8,31 Hz, 4 H) 7,46 (c, J = 7,30 Hz, 1 H) 10,53 (s, 1 H)

Ejemplo de comparación AMD-3^{cis}

2',3',4',9'-tetrahidro-N,N-dimetil-4-(3-fluorofenil)-2'-(benzotiofen-2-il)carbonil-espiro[ciclohexano-1,1'(1'H)-pirido[3,4-b]indolo]-4-amina (diastereómero cis)

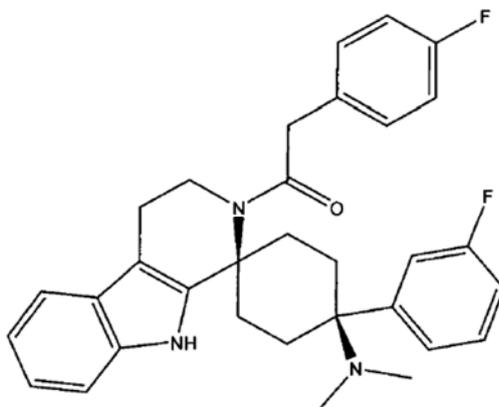


La espiroamina (AMN-2^{cis} 264 mg, 0,7 mmol) se suspendió en DCM (7 ml) en un recipiente compatible con microondas y se añadieron cloruro de benzo[b]tiofen-2-carbonilo (239 mg, 1,21 mmol) y diisopropiletilamina (180 mg, 1,4 mmol). La mezcla de reacción se irradió durante 10 min a 100 °C en el microondas (Initiator Eight, Firma Biotage). Una vez se completó la reacción (supervisión por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con DCM (15 ml) y se filtró. Se añadió una solución saturada de Na₂CO₃ (8 ml) a las aguas madre. Tras la separación de las fases, la fase acuosa se lavó dos veces más con DCM. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron en un evaporador rotatorio. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna [gel de sílice 60; DCM/metanol (19 : 1)]. El producto AMD-3^{cis} se obtuvo con un rendimiento de 125 mg (33 %).

¹H RMN (600 MHz, DMSO-D₆) d ppm 1,63 - 1,79 (m, 2 H) 1,83 - 1,93 (m, 2 H) 1,95 (s, 6 H) 2,60 (d, J = 13,60 Hz, 2 H) 2,65 (t, J = 5,67 Hz, 2 H) 2,78 - 2,94 (m, 2 H) 4,08 - 4,22 (m, 2 H) (t, J = 7,55 Hz, 1 H) 6,99 (t, J = 7,55 Hz, 1 H) 7,16 (t, J = 8,31 Hz, 1 H) 7,23 (d, J = 8,31 Hz, 1 H) 7,26 - 7,36 (m, 3 H) 7,44 - 7,54 (m, 3 H) 7,95 (s, 1 H) 8,03 (d, J = 7,55 Hz, 1 H) 8,07 (d, J = 8,31 Hz, 1 H) 10,66 (s, 1 H)

Ejemplo de comparación AMD-4^{cis}

2',3',4',9'-Tetrahidro-N,N-dimetil-4-(3-fluoro-fenil)-2'-(4-fluorobencil)-carbonil-espiro[ciclohexano-1,1'(1'H)-pirido[3,4-b]indolo]-4-amina metano-sulfonato (diastereómero cis)

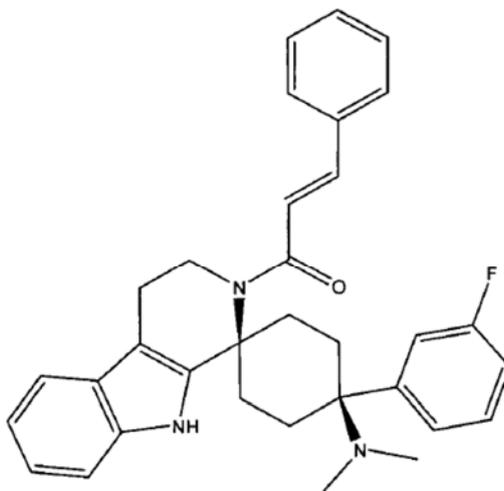


La espiroamina (AMN-2^{cis}; 600 mg, 1,59 mmol) se suspendió en DCM (15 ml) en un recipiente compatible con microondas y se añadieron cloruro de 2-(4-fluorofenil)acetilo (548 mg, 3,18 mmol) y diisopropiletamina (408 mg, 3,18 mmol). La mezcla de reacción se irradió durante 10 min a 130 °C en el microondas (Initiator Eight, Firma Biotage). Una vez se completó la reacción (supervisión por TLC), la mezcla de reacción se filtró en primer lugar, las aguas madre se diluyeron con DCM (45 ml), y se añadió una solución saturada de Na₂CO₃ (25 ml). Después de la separación de las fases, la fase orgánica se lavó de nuevo con una solución saturada de Na₂CO₃. La fase orgánica se secó sobre MgSO₄ y se concentró en un evaporador rotatorio. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna [gel de sílice 60; DCM/metanol (4 : 1)]. El producto se obtuvo con un rendimiento de 150 mg (18 %). Con el fin de preparar el metanosulfonato, la espiroamida (150 mg, 0,29 mmol) se disolvió en DCM (1 ml) y se añadió ácido metanosulfónico (18,9 µl, 0,29 mmol) a TA. Se diluyó con éter dietílico de manera que se formó una mezcla agitable. El sólido se eliminó por filtración con succión, con la exclusión de agua, se lavó con éter dietílico, y se secó a 50 °C bajo vacío de bomba de aceite. El producto AMD-4^{cis} se obtuvo con un rendimiento de 148 mg (83 %).

¹H RMN (600 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1,58 (t, J = 12,84 Hz, 2 H) 2,16 (t, J = 12,09 Hz, 2 H) 2,31 (s, 3 H) 2,53 - 2,58 (m, 6 H) 2,58 - 2,68 (m, 2 H) 2,83 - 3,03 (m, 4 H) 3,98 (s, 2 H) 3,99 - 4,06 (m, 2 H) 6,92 (t, J = 7,18 Hz, 1 H) 6,99 (t, J = 7,18 Hz, 1 H) 7,14 (t, J = 8,31 Hz, 2 H) 7,18 (d, J = 8,31 Hz, 1 H) 7,29 (d, J = 7,55 Hz, 1 H) 7,36 (t, J = 6,42 Hz, 2 H) 7,45 (t, J = 7,93 Hz, 1 H) 7,58 - 7,75 (m, 3 H) 9,65 (s, 1 H)

Ejemplo AMD-5^{cis}

(E)-2',3',4',9'-Tetrahidro-N,N-dimetil-4-(3-fluorofenil)-2'-(2-fenilvinil)carbonil-espiro[ciclohexano-1,1'(1'H)-pirido[3,4-b]indolo]-4-amina (diastereómero cis)

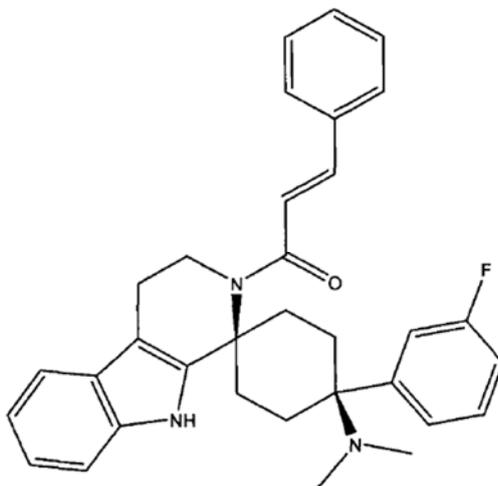


5 La espiroamina (AMN-2^{cis}; 378 mg, 1,0 mmol) se disolvió en disolvente aprótico seco (6 ml), se añadieron cloruro de cinnamoilo (183 mg, 1,1 mmol) y diisopropiletilamina (155 mg, 1,2 mmol) y la agitación se realizó durante una noche a TA. Una vez se completó la reacción (supervisión por TLC), el disolvente se eliminó, el residuo se sometió a tratamiento acuoso, y la extracción se realizó con disolvente halogenado. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna. Durante la concentración, un sólido precipitó, se eliminó por filtración y después se secó. El producto se obtuvo con un rendimiento de 220 mg (43 %).

10 ¹H RMN (600 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1,63 (t, J = 13,60 Hz, 2 H) 1,84 (t, J = 13,22 Hz, 2 H) 1,91 (s, 6 H) 2,54 - 2,63 (m, 2 H) 2,65 (t, J = 5,67 Hz, 2 H) 2,82 - 3,02 (m, 2 H) 3,17 (d, J = Hz, 2 H) 4,00 - 4,22 (m, 2 H) 6,90 (t, J = 7,18 Hz, 1 H) 6,97 (t, J = 7,55 Hz, 1 H) 7,11 - 7,18 (m, 1 H) 7,20 (d, J = 8,31 Hz, 1 H) 7,23 - 7,33 (m, 3 H) 7,35 - 7,54 (m, 5 H) 7,72 (d, J = 6,80 Hz, 2 H) 10,59 (s, 1 H)

15 Ejemplo AMD-6^{cis}:

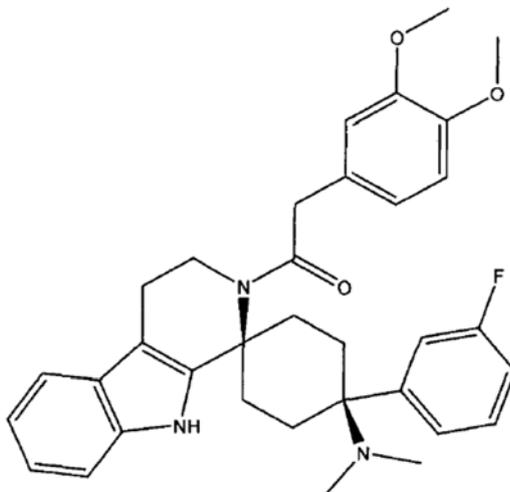
Citrato de (E)-2',3',4',9'-Tetrahidro-N,N-dimetil-4-(3-fluorofenil)-2'-(2-fenilvinil)carbonil-espiro[ciclohexano-1,1'(1'H)-pirido[3,4-b]indolo]-4-amina (diastereómero cis)



20 Para preparar la sal, la amida AMD-5^{cis} (220 mg, 0,43 mmol) se disolvió en disolvente aprótico seco (1,5 ml) y se añadió ácido cítrico (83 mg, 0,43 mmol), disuelto en el menor disolvente prótico como sea posible. Para precipitar el producto, se añadió gota a gota un disolvente no polar. Después, el sólido se eliminó por filtración con succión, con la exclusión de agua, y se secó a 50 °C bajo vacío de bomba de aceite. El producto AMD-6^{cis} se obtuvo con un rendimiento de 100 mg (33 %).

Ejemplo de comparación AMD-7^{cis}

30 2',3',4',9'-Tetrahidro-N,N-dimetil-4-(3-fluorofenil)-2'-(3,4-dimetoxibenil)carbonil-espiro[ciclohexano-1,1'(1'H)-pirido[3,4-b]indolo]-4-amina (diastereómero cis)

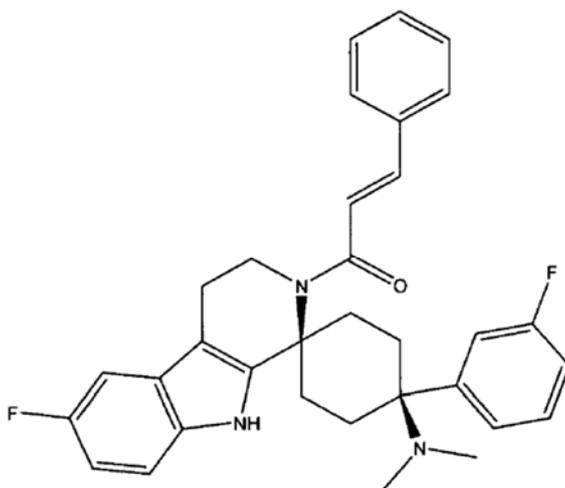


5 La espiroamina (AMN-2^{cis}; 200 mg, 0,54 mmol) se suspendió en disolvente halogenado (5 ml) en un recipiente compatible con microondas y se añadieron cloruro de 2-(3,4-clorofenil)acetilo (230 mg, 1,1 mmol) y diisopropiletilamina (138 mg, 1,1 mmol). La mezcla de reacción se irradió durante 10 min a 120 °C en el microondas (Initiator Eight, Firma Biotage). Una vez se completó la reacción (supervisión por TLC), la filtración se realizó en primer lugar y después se añadió una solución de NaOH (5 N, 10 ml) a las aguas madre. Después de la separación de las fases, la fase acuosa se extrajo tres veces con un disolvente aprótico polar (5 ml en cada caso). La fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna. El producto AMD-7^{cis} se obtuvo con un rendimiento de 140 mg (47 %).

15 ¹H RMN (600 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1,54 (t, J = 12,46 Hz, 2 H) 1,79 (t, J = 13,22 Hz, 2 H) 1,85 - 1,96 (m, 6 H) 2,52 - 2,60 (m, 2 H) 2,62 - 2,72 (m, 2 H) 2,73 - 2,89 (m, 2 H) 3,74 (s, 3 H) 3,77 (s, 3 H) 3,82 (s a, 2 H) 3,90 (s a, 2 H) 6,83 - 6,93 (m, 4 H) 6,97 (t, J = 7,55 Hz, 1 H) 7,13 (t, J = 7,18 Hz, 1 H) 7,19 (d, J = 8,31 Hz, 1 H) 7,20 - 7,32 (m, 3 H) 7,41 - 7,54 (m, 1 H) 10,53 (s, 1 H)

Ejemplo AMD-8^{cis}

20 (E)-2',3',4',9'-Tetrahidro-N,N-dimetil-6'-fluoro-4-(3-fluorofenil)-2'-(2-fenilvinil)carbonil-espiro[ciclohexano-1,1'(1'H)-pirido[3,4-b]indolo]-4-amina (diastereómero cis)



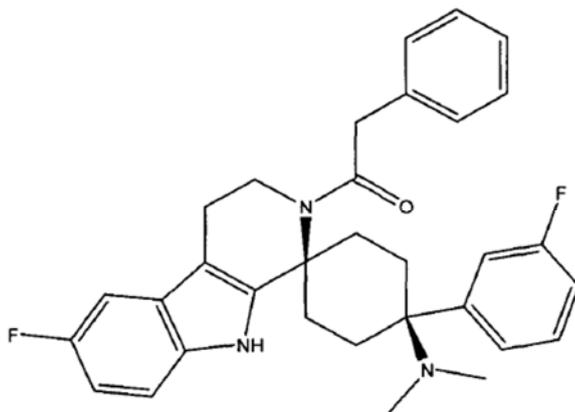
Una suspensión de la espiroamina AMN-3^{cis} (0,197 g; 0,5 mmol; 1 equiv.) en 15 ml de DCM abs. se puso en un

recipiente para microondas. Se añadieron en sucesión etil-diisopropilamina (0,129 g; 1 mmol; 2 equiv.) y cloruro de ácido cinnámico (0,166 g; 1 mmol; 2 equiv.) a esta suspensión. El reactor para microondas se cerró y se calentó en el microondas (Initiator Eight, Firma Biotage) durante 10 min a 120 °C. Para el tratamiento, se añadieron 4 ml de agua y 4 ml de una solución 1 N de hidróxido sódico a la mezcla de reacción. La mezcla se agitó durante 2 h a TA. Después, las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo 3x con DCM. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua y se secaron sobre sulfato sódico. Después de eliminar el disolvente a presión reducida, el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice; acetato de etilo/ciclohexano, 1:2 → 1:0). Se obtuvieron 0,087 g de producto AMD-8^{cis} (33 %).

10 Análisis HPLC/MS: T_r = 4,2 min; Pureza (UV 200-400 nm) 97 %; M/Z = 526,1

Ejemplo de comparación AMD-9^{cis}

15 2',3',4',9'-Tetrahidro-N,N-dimetil-6'-fluoro-4-(3-fluorofenil)-2'-(bencil)carbonil-espiro[ciclohexano-1,1'(1'H)-pirido[3,4-b]indolo]-4-amina (diastereómero cis)

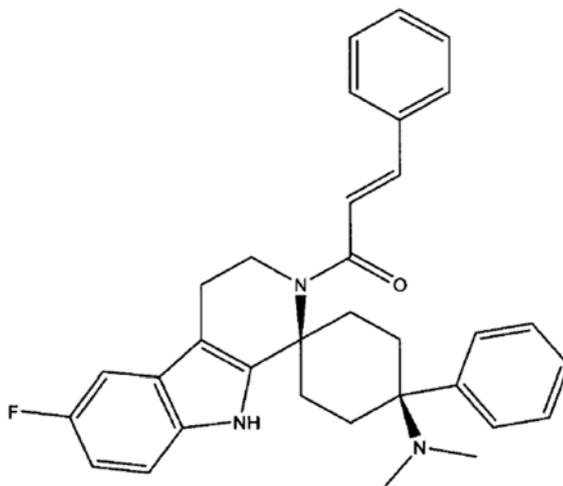


20 Una suspensión de la espiroamina AMN-3^{cis} (0,25 g; 0,63 mmol; 1 equiv.) en 19 ml de DCM abs. se puso en un recipiente para microondas. Se añadieron en sucesión etil-diisopropilamina (0,163 g; 1,26 mmol; 2 equiv.) y cloruro de 2-fenilacetilo (0,195 g; 1,26 mmol; 2 equiv.) a esta suspensión. El recipiente para microondas se cerró y se calentó durante 10 min a 120 °C en el microondas (Initiator Eight, Firma Biotage). Para el tratamiento, se añadieron 5 ml de agua y 5 ml de una solución 1 N de hidróxido sódico a la mezcla de reacción. La mezcla se agitó durante 2 h a TA. Después, las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo 3x con DCM. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua y se secaron sobre sulfato sódico. Después de eliminar el disolvente a presión reducida, el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice; acetato de etilo → acetato de etilo/metanol, 9:1). Se obtuvieron 0,145 g de producto AMD-9^{cis} (45 %).

30 Análisis HPLC/MS: T_r = 3,9 min; Pureza (UV 200-400 nm) 98 %; M/Z = 514,1

Ejemplo AMD-10^{cis}

35 (E)-2',3',4',9'-Tetrahidro-N,N-dimetil-6'-fluoro-4-fenil-2'-(2-fenilvinil)carbonil-espiro[ciclohexano-1,1'(1'H)-pirido[3,4-b]indolo]-4-amina (diastereómero cis)

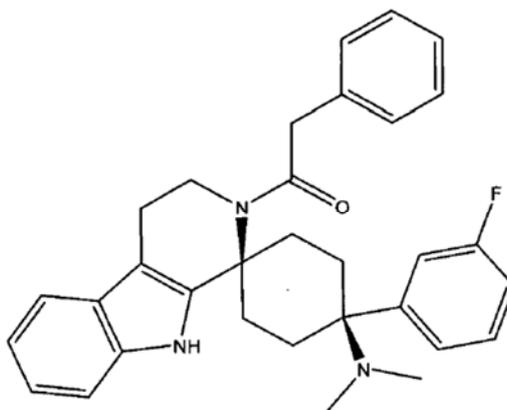


Una solución de la espiroamina AMN-4^{cis} (0,15 g; 0,397 mmol; 1 equiv.) en 9 ml de THF abs. se añadió en una atmósfera de nitrógeno a TA a una solución de cloruro de ácido cinnámico (0,198 g; 1,192 mmol; 3 equiv.) en 4,5 ml de THF abs. Después de la agitación durante 1 h a TA, en primer lugar se añadieron 3 ml de agua y, mientras se enfriaba con hielo, se añadieron 3 ml de hidróxido sódico 1 N a la solución de reacción turbia. La agitación se realizó durante 1,5 h. Después de haber eliminado el disolvente a presión reducida, el sólido resultante se eliminó por filtración y se lavó con agua. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna [gel de sílice; acetato de etilo]. Se obtuvieron 0,043 g de producto AMD-10^{cis} (21 %).

Análisis HPLC/MS: T_r = 4,2 min; Pureza (UV 200-400 nm) 98 %; M/Z = 508,2

Ejemplo de comparación AMD-11^{cis}

2',3',4',9'-Tetrahidro-N,N-dimetil-4-(3-fluorofenil)-2'-bencilcarbonil-espiro[ciclohexano-1,1'(1'H)-pirido[3,4-b]indolo]-4-amina (diastereómero cis))



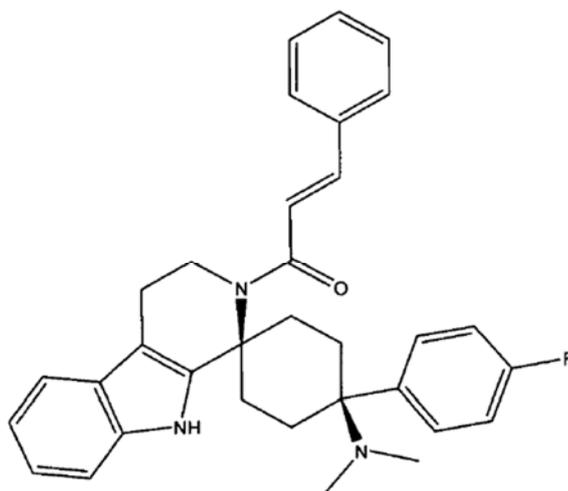
La espiroamina cis AMN-2^{cis} (1,29 g, 3,4 mmol) se disolvió, con la exclusión de oxígeno, en tetrahidrofurano absoluto (20 ml) y diclorometano absoluto (120 ml), se añadió base de Hünig (1,167 ml, 6,8 mmol) y se añadió cloruro de 2-fenilacetilo (900 µl, 6,8 mmol) a temperatura ambiente. Después de un tiempo de reacción de 30 min, se añadió una solución 5 N de hidróxido sódico (100 ml) a la mezcla y la agitación se realizó durante 2 h. La fase acuosa se eliminó por separación y se extrajo con diclorometano (3 x 10 ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ y después se concentraron. Se aisló un producto en bruto y se separó por cromatografía [gel de sílice 60 (100 g); EtOAc (1000 ml)]. La amida cis AMD-11^{cis} se obtuvo en forma de un sólido incoloro con un rendimiento de 820 mg (49 %) con un punto de fusión de 95-100 °C.

¹³C-RMN (101 MHz, DMSO-D₆) δ ppm: 22,1, 29,1, 33,0, 38,0, 40,8, 43,1, 60,0, 60,3, 105,5, 111,1, 113,7, 113,2, 114,5,

114,7, 117,3, 118,4, 120,5, 123,8, 126,2, 126,5, 128,2, 129,0, 129,3, 135,3, 136,5, 139,5, 140,6, 161,1, 163,5, 173,4

Ejemplo AMD-12^{cis}

- 5 (E)-2',3',4',9'-Tetrahidro-N,N-dimetil-4-(4-fluorofenil)-2'-(2-fenilvinil)carbonil-espiro[ciclohexano-1,1'(1'H)-pirido[3,4-b]indolo]-4-amina (diastereómero cis)



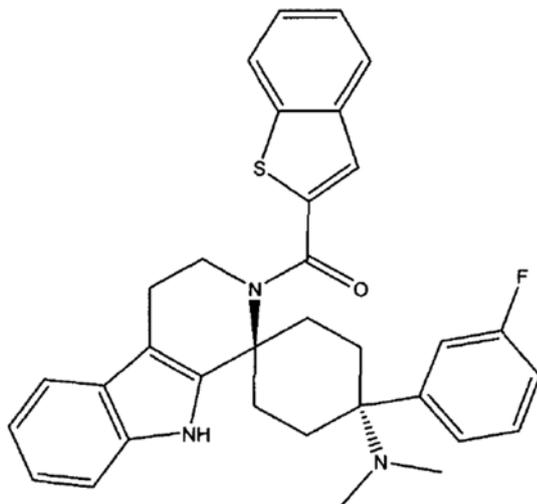
- 10 Se añadieron gota a gota base de Hünig (0,45 ml, 342 mg, 2,64 mmol) y cloruro del ácido cinnámico (440 mg, 2,64 mmol), disuelto en diclorometano absoluto (12 ml) en sucesión en el transcurso de 10 min, en una atmósfera de argón, a una suspensión de la espiroamina cis AMN-5^{cis} (500 mg, 1,32 mmol) en diclorometano absoluto (40 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 1 h a temperatura ambiente, se añadieron entonces agua (30 ml) y una solución 1 N de hidróxido sódico (5 ml) y la agitación se realizó durante 1,5 h. Después, el diclorometano se eliminó al vacío. Un precipitado sólido de color pálido se eliminó por separación por filtración y después se lavó con agua (3 x 30 ml). El producto en bruto obtenido de este modo se purificó por cromatografía [gel de sílice 60 (70 g), acetato de etilo/ciclohexano, 1 : 1 (500 ml), acetato de etilo (1000 ml), acetato de etilo/metanol, 10:1 (330 ml), acetato de etilo/metanol, 4 : 1 (800 ml), metanol (300 ml)]. Para la aplicación del producto en bruto en la columna, éste tenía que disolverse en acetato de etilo/ciclohexano, 1 : 1 con una pequeña cantidad de tetrahidrofurano. Las amida cis AMD-12^{cis} (p.f. 145-155 °C) se obtuvo en forma de un sólido incoloro con un rendimiento del 31 % (204 mg, 0,40 mmol).

- 15 ¹³C{¹H}-RMN (101 MHz, DMSO-D₆) δ ppm: 22,5 (1 C), 29,3 (2 C), 32,6 (2 C), 37,8 (2 C), 41,3 (1 C), 59,5 (1 C), 60,3 (1 C, a), 105,4 (1 C), 111,1 (1 C), 114,3 (2 C, d, J = 20 Hz), 117,3 (1 C), 118,4 (1 C), 120,5 (1 C), 123,1 (1 C), 126,6 (1 C), 127,9 (2 C), 128,7 (2 C), 129,3 (2 C), 129,8 (2 C, d, J = 8 Hz), 132,4 (1 C, a), 135,1 (1 C), 135,4 (1 C), 139,4 (1 C), 140,4 (1 C), 160,9 (1 C, d, J = 243 Hz), 170,3 (1 C)

Síntesis de los ejemplos de comparación espiroamida trans (AMD^{trans})

Ejemplo de comparación AMD-3^{trans}

- 30 Citrato de 2',3',4',9'-Tetrahidro-N,N-dimetil-4-(3-fluorofenil)-2'-(benzotiofen-2-il)carbonil-espiro[ciclohexano-1,1'(1'H)-pirido[3,4-b]indolo]-4-amina (1:1) (diastereómero trans)



2',3',4',9'-Tetrahidro-N,N-dimetil-4-(3-fluorofenil)-2'-(benzotiofen-2-il)carbonil-espiro[ciclohexano-1,1'(1'H)-pirido[3,4-b]indolo]-4-amina (diastereoisómero trans)

5 Se disolvió cloruro del ácido benzo[b]tiofen-2-carboxílico (728 mg, 3,96 mmol), en una atmósfera de argón, en tetrahidrofurano abs. (30 ml) y la espiroamina trans AMN-2^{trans} (500 mg, 1,32 mmol), disuelta en tetrahidrofurano abs. (60 ml), se añadió en el transcurso de 75 min a temperatura ambiente. Se formó un ligero precipitado. Después de un tiempo de reacción de 2 h, la mezcla de reacción se diluyó con agua (15 ml), se añadió una solución 1 N de hidróxido sódico (15 ml) mientras se enfriaba con hielo, y la agitación se realizó durante 2,5 h. El tetrahidrofurano se eliminó al vacío. Se formó un sólido, se separó por filtración y se lavó con agua (3 x 20 ml). El producto en bruto (587 mg) se separó por cromatografía [gel de sílice 60 (80 g); acetato de etilo/ciclohexano, 1 : 1 (1 l), acetato de etilo/metanol, 4 : 1 (500 ml)]. La amida trans se obtuvo de este modo en forma de un sólido incoloro con un rendimiento del 12 % (82 mg) con un punto de fusión de 219-221 °C.

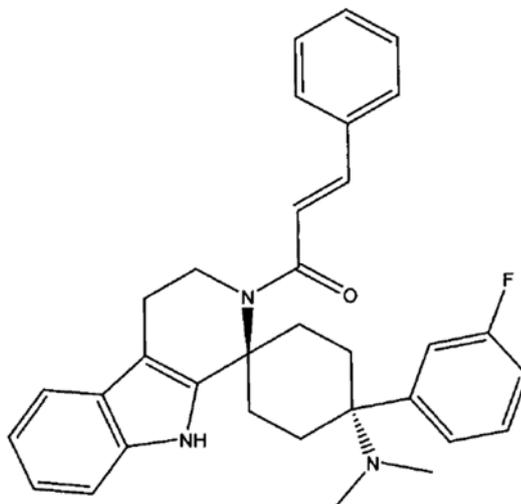
15 ¹³C-RMN (101 MHz, CDCl₃) δ ppm: 22,4, 30,0, 30,9, 38,2, 46,4, 58,3, 59,5, 106,2, 111,0, 113,5, 113,7, 114,4, 114,7, 118,0, 119,1, 121,4, 122,5, 123,1, 124,7, 125,5, 125,8, 126,4, 128,7, 136,0, 138,7, 140,1, 140,4, 141,1, 142,1, 161,2, 163,7, 167,1

20 Citrato de 2',3',4',9'-Tetrahidro-N,N-dimetil-4-(3-fluorofenil)-2'-(benzotiofen-2-il)carbonil-espiro- [ciclohexano-1,1'(1'H)-pirido[3,4-b]indolo]-4-amina (1:1) (diastereómero trans; AMD-3^{trans})

La amida trans recién preparada (82 mg, 0,152 mmol) se suspendió a 80 °C en etanol (8 ml) y se añadió una solución etanólica (3 ml) de ácido cítrico (32 mg, 0,167 mmol). En refrigeración a temperatura ambiente, precipitó un sólido a partir en la solución transparente. Después de 1,5 h, la mezcla se concentró en 2 ml, se añadió éter dietílico (20 ml) y la agitación se realizó durante 20 min. Un sólido incoloro se eliminó por separación por filtración y se lavó con éter dietílico (2 x 3 ml) (64 mg). Después de 3 días, había precipitado más cantidad de sólido del filtrado a temperatura ambiente y se eliminó por filtración con succión y se lavó con éter dietílico (2 x 2 ml) (35 mg). Las dos fracciones se combinaron. El citrato AMD-3^{TRANS} se obtuvo de este modo con un rendimiento del 81 % (89 mg) con un punto de fusión de 175-185 °C.

30 Ejemplo de comparación AMD-6^{trans}

Citrato de (E)-2',3',4',9'-Tetrahidro-N,N-dimetil-4-(3-fluorofenil)-2'-(2-fenilvinil)carbonil-espiro- [ciclohexano-1,1'(1'H)-pirido[3,4-b]indolo]-4-amina (1:1) (diastereómero trans)



2',3',4',9'-Tetrahidro-N,N-dimetil-4-(3-fluorofenil)-2'-(2-fenilvinil)carbonil-espiro[ciclohexano-1,1'(1'H)-pirido[3,4-b]indolo]-4-amina (diastereómero trans)

5 Se disolvió cloruro del ácido cinnámico (1,32 g, 7,92 mmol) en una atmósfera de argón en tetrahidrofurano abs. (30 ml) y se añadió espiroamina AMN-2^{cis} impura (1,0 g, 2,64 mmol, contenía casi el 10 % de diastereoisómero trans AMN-2^{trans}), disuelta en tetrahidrofurano abs. (60 ml) en el transcurso de 40 min a temperatura ambiente. Después de un tiempo de reacción de 1 h, se añadieron agua (20 ml) y, mientras se enfriaba con hielo, una solución 1 N de hidróxido sódico (20 ml) a la solución de reacción turbia y la agitación se realizó durante 1,5 h. El tetrahidrofurano se eliminó al vacío. Un sólido precipitó y se eliminó por separación por filtración y se lavó con agua (3 x 25 ml). El producto en bruto (1,16 mg) se separó por cromatografía [gel de sílice 60 (200 g); acetato de etilo/ciclohexano, 1 : 1 (1,3 l), acetato de etilo (1,6 l)]. La amida cis se obtuvo en forma de un sólido incoloro con un rendimiento del 40 % (540 mg) con un punto de fusión de 155-158 °C. La amida trans se aisló con un rendimiento del 7 % (93 mg) con un punto de fusión de 151-155 °C.

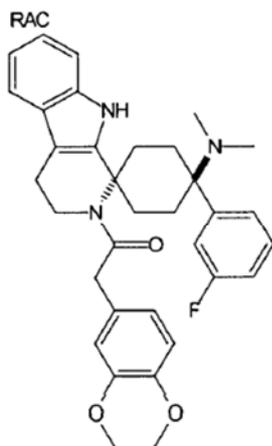
Citrato de 2',3',4',9'-Tetrahidro-N,N-dimetil-4-(3-fluorofenil)-2'-(2-fenilvinil)carbonil-espiro[ciclohexano-1,1'(1'H)-pirido[3,4-b]indolo]-4-amina (1:1) (diastereómero trans; AMD-6^{trans})

20 La amida trans recién obtenida (188 mg, 0,37 mmol) se disolvió a 80 °C en etanol (35 ml) y se añadió una solución etanólica (2 ml) de ácido cítrico (77 mg, 0,4 mmol). La agitación se realizó durante 2 h a temperatura ambiente, produciéndose la cristalización gradualmente. La mezcla se almacenó durante 1,5 h a 5 °C, el sólido incoloro se eliminó por separación por filtración y se lavó con éter dietílico (3 x 3 ml) (146 mg). El filtrado se concentró, se recogió en etanol (1 ml) y se añadió éter dietílico (20 ml). Después de 16 h, se eliminó más cantidad de sal incolora por separación y se lavó con éter dietílico (2 x 2 ml) (36 mg). Las dos fracciones se combinaron y el citrato trans AMD-6^{trans} se obtuvo con un rendimiento del 71 % (182 mg) con un punto de fusión de 161-164 °C.

30 ¹³C-RMN (101 MHz, DMSO-D₆) δ ppm: (diastereoisómero trans) 22,4, 29,2, 30,7, 37,9, 41,5, 58,5, 59,6, 72,0, 105,5, 111,3, 113,2, 113,4, 113,5, 113,8, 117,3, 118,4, 120,5, 122,8, 123,1, 126,5, 127,7, 128,6, 129,1, 129,2, 135,0, 135,6, 139,8, 140,1, 160,7, 163,1, 169,9, 171,2, 175,2

Ejemplo de comparación AMD-7^{trans}

35 2',3',4',9'-Tetrahidro-N,N-dimetil-4-(3-fluorofenil)-2'-(3,4-dimetoxibenil)carbonil-espiro[ciclohexano-1,1'(1'H)-pirido[3,4-b]indolo]-4-amina (diastereómero trans)



Se suspendió 3,4-dimetoxifenilacético (1 g, 5,1 mmol, 2,2 equiv.) en 25 ml de tolueno abs. y se añadió cloruro de tionilo (0,84 ml, 11,6 mmol, 5,0 equiv.). El calentamiento se realizó durante 2 h a reflujo y después el disolvente se eliminó. El residuo se codestiló con tolueno abs. (3 x 50 ml) y el producto en bruto se disolvió en diclorometano (37 ml) y se transfirió a un recipiente para microondas. Se añadieron espiroamina AMN-2^{trans} (0,875 mg, 2,32 mmol) y base de Hünig (0,78 ml, 580 mmol, 250 equiv.), el recipiente para microondas se cerró y se calentó durante 20 min a 120 °C en el microondas (Initiator Eight, Firma Biotage). Para el tratamiento, se añadieron 17 ml de agua y 17 ml de una solución 1 N de hidróxido sódico a la mezcla de reacción. Esta mezcla se agitó durante 2 h a TA. Después, las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo 3x con diclorometano. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua y se secaron sobre sulfato sódico. Después de eliminar el disolvente a presión reducida, el residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice; acetato de etilo/n-hexano, 2:1). Se obtuvo 0,236 g de producto AMD-7^{trans} (18 %).

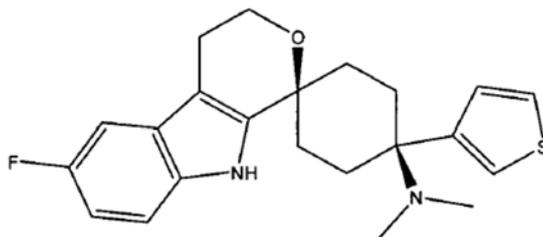
15 Análisis HPLC/MS: T_r = 5,45 min; Pureza (UV 200-400 nm) 99 %; m/z = 555,8

Síntesis de los ejemplos de comparación de espiroéter cis (ÉTER^{cis})

20 Ejemplo de comparación ÉTER-1^{cis}

6'-Fluoro-4',9'-dihidro-N,N-dimetil-4-(3-tienil)-espiro[ciclohexano metanosulfonato (2:5) (diastereómero cis)

1,1'(3'H)-pirano[3,4-b]indolo]-4-amina,



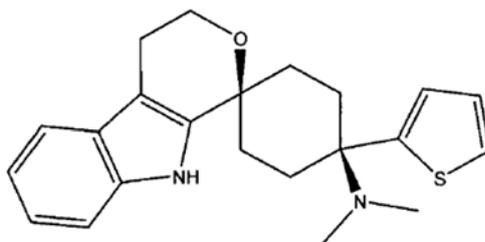
25 La cetona E-5 (446,6 mg, 2 mmol) se disolvió junto con 5-fluorotriptofol (2, 394,4 mg, 2 mmol) en 1,2-dicloroetano absoluto (30 ml). Después, se añadió ácido metanosulfónico (0,13 ml, 2 mmol) a la mezcla, después de lo cual el color de la solución de reacción cambió de pardo rojizo a gris oscuro. Después de 5 min, un sólido de color gris pálido comenzó a precipitar. El lote se agitó durante 20 h a TA. El metanosulfonato del cis-espiroéter se eliminó entonces por filtración con succión y se lavó con 1,2-dicloroetano (2 x 10 ml). El sólido de color gris pálido se obtuvo con un rendimiento del 76 % (733 mg) y con un punto de fusión de 143-145 °C (ÉTER-1^{cis}). Después, se añadió NaOH 1 N (30 ml) al filtrado, y la agitación se realizó durante 2 h a TA. El espiroéter trans precipitó así como un sólido incoloro y se obtuvo después de la filtración con un rendimiento del 8 % (58,5 mg).

35 ¹H RMN (600 MHz, DMSO-d₆): 1,67 (m, 2 H) 1,94 (m, 2 H) 2,24 (m, 2 H) 2,44 (s, 8 H) 2,53 (s, 3 H) 2,54 (s, 3 H) 2,66

(t, J = 5,27 Hz, 2 H) 2,72 (m, 2 H) 3,95 (t, J = 5,28 Hz, 2 H) 6,84 (m, 1 H) 7,14 (m, 1 H) 7,19 (dd, J = 4,50 / 8,70 Hz, 1 H) 7,47 (d, J = 5,10 Hz, 1 H) 7,83 (m, 1 H) 8,07 (m, 1 H) 9,67 (m, 1 H) 10,80 (s, 1 H)

Ejemplo de comparación ÉTER-2^{cis}

5 4',9'-Dihidro-N,N-dimetil-4-(2-tienil)-espiro[ciclohexano 1,1'-(3'H)-pirano[3,4-b]indolo]-4- amina, metanosulfonato (1:2) (diastereómero cis)



10 La cetona E-4 (223 mg, 1 mmol) se puso junto con triptofol (2, 161 mg, 1 mmol) en diclorometano absoluto (40 ml). Después, se añadió ácido metanosulfónico (0,071 ml, 1,1 mmol). La mezcla se agitó durante 16 h a TA, después de lo cual el metanosulfonato del espiroéter precipitó. El sólido de color gris pálido (ÉTER-2^{cis}) se eliminó por filtración con succión, se lavó con diclorometano (2 x 10 ml) y se obtuvo con un rendimiento del 25 % (117 mg) con un punto de fusión de 132 °C. Se añadió NaOH 1 N (20 ml) al filtrado y la agitación se realizó durante 16 h a TA. La fase orgánica se eliminó por separación y la fase acuosa se extrajo con diclorometano (2 x 20 ml). Las fases orgánicas se combinaron, se secaron y se concentraron. Una mezcla de sustancia (274 mg) se obtuvo de este modo y se separó por cromatografía [gel de sílice G (20 g); acetato de etilo/metanol, 8:1]. El espiroéter trans se obtuvo con un rendimiento del 54 % ((196 mg, p.f. 235-238 °C), el espiroéter cis con un rendimiento del 10 % (38 mg).

20 ¹H RMN (600 MHz, DMSO-d₆)

25 1,82 (m, 2 H) 1,98 (m, 2 H) 2,33 (m, 2 H) 2,36 (s, 6 H) 2,60 (s, 3 H) 2,61 (s, 3 H) 2,53 (m, 2 H) 2,70 (t, J = 5,23 Hz, 2 H) 3,96 (t, J = 5,23 Hz, 2 H) 6,94 (m, 1 H) 7,00 (m, 1 H) 7,21 (d, J = 8,29 Hz, 1 H) 7,34 (dd, J = 3,74 / 5,28 Hz, 1 H) 7,37 (d, J = 7,37 Hz, 1 H) 7,59 (d, J = 2,76 Hz, 1 H) 7,95 (d, J = 5,32 Hz, 1 H) 9,78 (m, 1 H) 10,74 (s, 1 H)

30 Equipos y métodos para el análisis HPLC-MS: HPLC: Waters Alliance 2795 con PDA Waters 996; MS: Detector MS ZQ 2000 MassLynx Single Quadrupol; COLUMNA: Waters Atlantis™ dC18, 3 μm, 2,1 x 30 mm; TEMPERATURA DE COLUMNA: 40 °C, ELUYENTE A: agua purificada + ácido fórmico al 0,1 %; ELUYENTE B: acetonitrilo (calidad de gradiente) + ácido fórmico al 0,1 %; GRADIENTE: 0 % de B al 100 % de B en 8,8 min, 100 % de B durante 0,4 min, 100 % de B al 0 % de B en 0,01 min, 0 % de B durante 0,8 min; FLUJO: 1,0 ml/min; IONIZACIÓN: ES+, 25 V; REPOSICIÓN: 100 μl/min metanol al 70 % + ácido fórmico al 0,2 %; UV: 200 - 400 nm.

35 Estudio de las propiedades farmacológicas de los compuestos de ejemplo

A) Comparación de la eficacia analgésica (como ED₅₀, o % de MPE en una dosis de ensayo específica) en el modelo de dolor agudo (sacudida de la cola, rata/ratón) y en modelos de dolor mononeuropático (Chung, Rata, Bennett, Rata) o modelo de dolor por polineuropatía (polineuropatía por STZ, rata).

40 Las sorprendentes propiedades farmacológicas de los compuestos de acuerdo con la invención se describen principalmente comparando entre sí los resultados del modelo de dolor de mononeuropatía según Chung en la rata y el modelo de dolor agudo de sacudida de la cola en la rata. Esto hace posible mostrar que los compuestos de acuerdo con la invención no presentan una acción antinociceptora significativa en el modelo de sacudida de cola en la rata a un múltiplo de una dosis que tiene una eficacia analgésica significativa en el modelo de Chung (por ejemplo, ED₅₀⁰).
45 Los hallazgos de modelos adicionales de dolor neuropático, tal como el modelo de Bennett en la rata o la polineuropatía STZ en la rata, subrayan la eficacia generalmente muy buena de los compuestos en diferentes formas de dolor neuropático.

50 PRUEBA DE ANALGESIA EN LA PRUEBA DE SACUDIDA DE LA COLA EN LA RATA

Animales de ensayo: Ratas hembra Sprague Dawley (crl: CD (SD) exógamias; criador: Charles River, Sulzfeld,

Alemania); peso corporal: 130 - 190 g; los animales se mantienen en jaulas estándar (jaulas Makrolon de tipo IV, Ebeco, Castrop-Rauxel, Alemania), cada una ocupada por un máximo de 8 animales con un ritmo luz/oscuridad de 12:12 h con alimento y agua del grifo a voluntad.

5 **Descripción del método:** La eficacia analgésica de los compuestos de ensayo se estudió en la prueba de rayo de quemado (sacudida de la cola) en la rata de acuerdo con el método de D'Amour y Smith (J. Pharm. Exp. Ther. 72, 74 79 (1941)). Los animales se colocaron solos en jaulas de ensayo especiales y la base de la cola se expuso a un rayo de calor enfocado de una lámpara (tipo 50/08/1.bc de sacudida de la cola, Labtec, Dr. Hess). La intensidad de la lámpara se ajustó de tal manera que el tiempo transcurrido entre el encendido de la lámpara y la retirada repentina de la cola (latencia de retirada) en animales no tratados fue de 2,5 a 5 segundos. Antes de la administración de un compuesto de ensayo, los animales se ensayaron previamente dos veces en 30 minutos y el valor medio de estas mediciones se calculó como el valor medio antes del ensayo. La medición del dolor se realizó generalmente 5, 20, 40, 60, 90, 120, 180 y 240 minutos después de la administración intravenosa del compuesto de ensayo o su vehículo. La eficacia antinociceptora se determinó como el aumento de la latencia de retirada según la siguiente fórmula: (% de MPE) = $[(T_1 - T_0)/(T_2 - T_0)] \times 100$, donde T_0 es el período de latencia de control antes de la administración de la sustancia, T_1 el período de latencia después de la administración de la sustancia, T_2 el tiempo máximo de exposición al rayo de quemado (12 segundos), MPE: máximo efecto posible.

20 En los compuestos de ensayo que tienen acción antinociceptora, la dependencia de la dosis se determinó administrando 3-5 dosis logarítmicamente crecientes, cada una de las cuales incluía la dosis umbral y la dosis de efecto máximo. La dosis eficaz semimáxima (ED_{50}) con los correspondientes intervalos de confianza del 95 % se determinó mediante análisis de regresión semilogarítmica en el momento de la acción máxima.

25 Evaluación estadística: El tamaño de los grupos fue usualmente $n = 10$. El análisis de varianza con medidas repetidas (ANOVA de medidas repetidas), así como un análisis post hoc según Bonferroni se usaron para evaluar las diferencias estadísticamente significativas en los datos de % de MPE entre los grupos de dosis respectivos y los grupos de control de vehículo. El nivel de significación se estableció en $p < 0,05$.

SACUDIDA DE LA COLA CON INTENSIDAD DEL RAYO DE QUEDADO REDUCIDA EN LA RATA

30 Animales de ensayo: Ratas macho Sprague-Dawley (criador: Janvier, Le Genest St. Isle, Francia); peso corporal: 200 - 250 g; los animales se mantienen en jaulas estándar (jaulas Makrolon de tipo IV, Ebeco, Castrop-Rauxel, Alemania), ocupadas en cada caso por un máximo de 5 animales, con un ritmo de luz/oscuridad de 12:12 h y con alimento y agua del grifo a voluntad.

35 Descripción del método: La eficacia moduladora de las sustancias de ensayo en estímulos térmicos nocivos agudos se estudió en la prueba de rayo de quemado (sacudida de la cola) en la rata de acuerdo con el método de D'Amour y Smith (J. Pharm. Exp. Ther. 72, 74 79 (1941)). Para este propósito se usaron. Los animales se alojaron individualmente en compartimentos de ensayo especiales y la base de la cola se expuso a un rayo de quemado enfocado de un medidor de analgesia (Modelo 2011, Rhema Labortechnik, Hofheim, Alemania). La intensidad del rayo de quemado se ajustó de tal manera que el tiempo entre el encendido del rayo de quemado y la retirada repentina de la cola (latencia de retirada) en animales no tratados fue de aprox. 12-13 segundos. Antes de la administración de una sustancia de acuerdo con la invención, la latencia de retirada se determinó dos veces en un intervalo de cinco minutos y el valor medio se definió como el período de latencia de control. La medición de la latencia de retirada de la cola se realizó por primera vez 10 minutos después de la administración intravenosa del compuesto de ensayo o su vehículo. Una vez que el efecto antinociceptor había disminuido (después de 2-4 horas), se tomaron medidas a intervalos de 30 minutos hasta un máximo de 6,5 horas después de la administración de la sustancia. La eficacia antinociceptora o pronociceptora se determinó como el aumento o la reducción del período de latencia de retirada de acuerdo con la siguiente fórmula: (% de MPE) = $[T_1 - T_0]/(T_2 - T_0) \times 100$, donde T_0 es el período de latencia de control antes de la administración de la sustancia, T_1 es el período de latencia después de la administración de la sustancia, T_2 es el tiempo de exposición máximo al rayo de quemado (30 segundos), MPE: máximo efecto posible. En los compuestos de ensayo que tienen acción antinociceptora, la dependencia de la dosis se determinó administrando 3-5 dosis logarítmicamente crecientes, que en cada caso incluía la dosis umbral y la dosis de efecto máximo. La dosis eficaz semimáxima (ED_{50}) con los correspondientes intervalos de confianza del 95 % se determinó mediante análisis de regresión semilogarítmica en el momento de la acción máxima.

55 Evaluación estadística: El tamaño de los grupos fue usualmente $n = 10$. El análisis de varianza con medidas repetidas (ANOVA de medidas repetidas), así como un análisis post hoc según Bonferroni se usaron para evaluar las diferencias estadísticamente significativas en los datos de % de MPE entre los grupos de dosis respectivos y los grupos de control de vehículo. El nivel de significación se estableció en $p < 0,05$.

60

PRUEBA DE ANALGESIA EN LA PRUEBA DE SACUDIDA DE LA COLA EN EL RATÓN

5 Animales de ensayo: Ratones macho NMRI (criador: Charles River, Sulzfeld, Alemania); peso corporal: 20 - 25 g; los animales se mantienen en jaulas estándar (jaulas Makrolon de tipo III, Ebeco, Castrop-Rauxel, Alemania), cada una ocupada por un máximo de 6 animales, con un ritmo de luz/oscuridad de 12:12 h y con alimento y agua del grifo a voluntad.

10 Descripción del método: La eficacia analgésica del compuesto de ensayo se estudió en la prueba de rayo de quemado (sacudida de la cola) en el ratón de acuerdo con el método de D'Amour y Smith (J. Pharm. Exp. Ther. 72, 74 79 (1941). Los animales se colocaron solos en jaulas de ensayo especiales y la base de la cola se expuso a un rayo de calor enfocado de una lámpara eléctrica (tipo 55/12/10.fl de sacudida de la cola, Labtec, Dr. Hess). La intensidad de la lámpara se ajustó de tal manera que el tiempo transcurrido entre el encendido de la lámpara y la retirada repentina de la cola (latencia de retirada) en animales no tratados fue de 2,5 a 5 segundos. Antes de la administración de un
15 compuesto de ensayo, los animales se ensayaron previamente dos veces en 30 minutos y el valor medio de estas mediciones se calculó como el valor medio antes del ensayo. La medición del dolor se realizó generalmente 20, 40 y 60 min después de la administración intravenosa del compuesto de ensayo o su vehículo. La acción antinociceptora se determinó como el aumento de la latencia de retirada según la siguiente fórmula: (% de MPE) = $[(T_1 - T_0)/(T_2 - T_0)]$
20 x 100. Donde T_0 : es el periodo de latencia de control antes de la administración de la sustancia, T_1 : el periodo de latencia después de la administración de la sustancia, T_2 : el tiempo de exposición máximo con respecto al rayo de quemado (12 segundos), MPE: máximo efecto posible. En los compuestos de ensayo que tienen acción antinociceptora, la dependencia de la dosis se determinó administrando 3-5 dosis logarítmicamente crecientes, cada una de las cuales incluía la dosis umbral y la dosis de efecto máximo. La dosis eficaz semimáxima (ED_{50}) con los correspondientes intervalos de confianza del 95 % se determinó mediante análisis de regresión semilogarítmica en el
25 momento de la acción máxima.

Evaluación estadística: El tamaño de los grupos fue usualmente $n = 10$. El análisis de varianza con medidas repetidas (ANOVA de medidas repetidas), así como un análisis post hoc según Bonferroni se usaron para evaluar las diferencias estadísticamente significativas en los datos de % de MPE entre los grupos de dosis respectivos y los grupos de control de vehículo. El nivel de significación se estableció en $p < 0,05$.
30

MODELO CHUNG: DOLOR MONONEUROPÁTICO TRAS LA LIGADURA DEL NERVI0 ESPINAL

35 Animales de ensayo: Ratas macho Sprague Dawley (RjHahn:SD exógamas; criador: Janvier, Genest St. Isle, Francia) con un peso corporal de 140-160 g se mantuvieron en jaulas estándar (jaulas Makrolon de tipo IV, Ebeco, Castrop-Rauxel, Alemania), cada una ocupada por un máximo de 8 animales, con un ritmo de luz/oscuridad de 12:12 h y con alimento y agua del grifo a voluntad. Se observó un intervalo de una semana entre la entrega de los animales y la operación. Después de la operación, los animales se ensayaron varias veces durante un período de 4 a 5 semanas, observándose un período de lavado de al menos una semana.
40

Descripción del modelo: Bajo anestesia con pentobarbital (Narcoren®, 60 mg/kg i.p., Merial GmbH, Hallbergmoos, Alemania), los nervios espinales izquierdos L5, L6 se expusieron al extraer un trozo del músculo paravertebral y parte de la apófisis espinosa izquierda de la vértebra lumbar L5. Los nervios espinales L5 y L6 Los se aislaron cuidadosamente y se unieron con una ligadura apretada (seda negra NC, USP 5/0, métrica 1, Braun Melsungen AG, Melsungen, Alemania) (Kim y Chung 1992). Después de la ligadura, el músculo y el tejido adyacente se suturaron y la herida se cerró por medio de grapas metálicas. Después de un período de recuperación de una semana, los animales se colocaron en jaulas con un suelo de alambre para la medición de la alodinia mecánica. El umbral de extracción se determinó sobre las patas traseras ipsi y/o contralaterales por medio de un filamento electrónico de von Frey (Somedic AB, Malmö, Suecia). La mediana de cinco estimulaciones dio un punto de datos. Los animales se probaron 30 minutos antes y varias veces después de la administración de la sustancia de ensayo o la solución de vehículo. Los datos se determinaron como % de efectos posibles máximos (% de MPE) de los ensayos previos de los animales individuales (= 0 % de MPE) y los valores de ensayo de un grupo de control simulado independiente (= 100 % de MPE). Como alternativa, los umbrales de retirada se indicaron en gramos. En los compuestos de ensayo que tienen acción analgésica, la dependencia de la dosis se determinó administrando 3-5 dosis logarítmicamente crecientes, cada una de las cuales incluía la dosis umbral y la dosis eficaz máxima. La dosis eficaz semimáxima (ED_{50}) con los correspondientes intervalos de confianza del 95 % se determinó mediante análisis de regresión semilogarítmica en el momento de la acción máxima.
55

Evaluación estadística: El tamaño de los grupos fue usualmente $n = 10$. El análisis de varianza con medidas repetidas (ANOVA de medidas repetidas), así como un análisis post hoc según Bonferroni se usaron para evaluar las diferencias
60

estadísticamente significativas en los datos de % de MPE entre los grupos de dosis respectivos y los grupos de control de vehículo. El nivel de significación se estableció en $p < 0,05$.

5 Bibliografía: Kim, S.H. y Chung, J.M., An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat, Pain, 50 (1992) 355-363.

MODELO DE BENNETT: DOLOR MONONEURÓPÁTICO EN LA RATA

10 Animales de ensayo: Ratas macho Sprague Dawley RjHahn:SD exógamas; (criador: Janvier, Genest St. Isle, Francia) con un peso corporal de 140-160 g se mantuvieron en jaulas estándar (jaulas Makrolon de tipo IV, Ebeco, Castrop-Rauxel, Alemania), cada una ocupada por un máximo de 8 animales, con un ritmo de luz/oscuridad de 12:12 h y con alimento y agua del grifo a voluntad. Se observó un intervalo de una semana entre la entrega de los animales y la operación. Después de la operación, los animales se ensayaron varias veces durante un período de 4 semanas, observándose un período de lavado de al menos una semana.

15 Descripción del método: El estudio de la eficacia en el dolor neuropático se llevó a cabo en el modelo de Bennett (lesión por constricción crónica; Bennett y Xie, 1988, Pain 33: 87-107). Bajo la narcosis con narcorene, a las ratas se les proporcionaron cuatro ligaduras sueltas del nervio isquiático derecho. Los animales desarrollan hipersensibilidad de la pata inervada por el nervio dañado, que se cuantifica, después de una fase de recuperación de una semana, durante aproximadamente cuatro semanas mediante una placa de metal fría a 4 °C (alodinia fría). Los animales se observan en esta placa durante un período de 2 min, y se mide el número de reacciones de retirada de la pata dañada.

20 Evaluación y estadística: Basándose en el valor preliminar antes de la administración de la sustancia, la acción de la sustancia se determina durante un período de una hora en cuatro puntos en el tiempo (por ejemplo, 15, 30, 45, 60 minutos después de la administración), y el área resultante bajo la curva (AUC), así como la inhibición de la alodinia fría en los puntos de medición individuales se expresan como acción porcentual relativa al control del vehículo (AUC) o el valor de partida (puntos de medición individuales). El tamaño del grupo es $n = 10$, la significación de una acción antialodínica ($p < 0,05$) se determina por medio de un análisis de varianza con medidas repetidas y un análisis post hoc según Bonferroni.

25 **MODELO STZ: DOLOR POLINEURÓPÁTICO EN LA RATA**

30 Animales de ensayo: Ratas macho Sprague-Dawley (criador: Janvier, Le Genest St. Isle, Francia); peso corporal: 140 - 160 g; los animales se mantienen en jaulas estándar (jaulas Makrolon de tipo IV, Ebeco, Castrop-Rauxel, Alemania), cada una ocupada por un máximo de 8 animales, con un ritmo de luz/oscuridad de 12:12 h y con alimento y agua del grifo a voluntad.

35 Descripción del método: Para inducir diabetes, a ratas Sprague Dawley macho se les inyectó por vía intraperitoneal estreptozotocina (STZ, 75 mg/kg). Las ratas diabéticas tenían un nivel de glucosa en sangre de al menos 17 mM una semana después de la inyección de STZ. A los animales de control se les inyectó una solución de vehículo. La determinación del umbral de estímulo nociceptor mecánico (en gramos) se realizó con un algosímetro en la prueba de presión de la pata según Randall y Selitto (1957). Aquí se ejerció un estímulo de presión creciente sobre la superficie dorsal de la pata trasera y se registró la presión que finalmente condujo a la retirada refleja de la pata o a la vocalización. Los ensayos tuvieron lugar tres semanas después de la inducción de la diabetes. El umbral del estímulo nociceptor mecánico se midió antes y 15, 30, 45 y 60 minutos después de la administración de una sustancia a animales diabéticos y a animales de control.

40 Bibliografía: Randall LO, Selitto JJ. A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue. Arch. Int. Pharamcodyn. 1957; 111: 409-19

45 B) Comparación del rango de dosis analgésicamente eficaz en el modelo de dolor mononeurópático (Chung, rata) con el rango de dosis en el que se observan los efectos secundarios típicos de los opiáceos.

50 Las sorprendentes propiedades farmacológicas de los compuestos de acuerdo con la invención se describen principalmente comparando entre sí los resultados del modelo de Chung en la rata (como un ejemplo de eficacia analgésica contra el dolor neuropático) y el modelo de análisis de gases en sangre en la rata (como un ejemplo de depresión respiratoria como un efecto secundario típico de los opiáceos muy serio pero fácilmente cuantificable). Esto hace posible mostrar que los compuestos de acuerdo con la invención no desencadenan una depresión respiratoria significativa en la rata a un múltiplo de una dosis que tiene una eficacia analgésica significativa en el modelo de Chung (por ejemplo, ED₅₀ⁿ). Los hallazgos de otros modelos de efectos secundarios típicos de los opiáceos, tales como los

parámetros circulatorios en el conejo, el pase del carbón gastrointestinal en el ratón, la prueba RotaRod en el ratón, la prueba de salto en el ratón, así como la preferencia de espacio condicionada en la rata, subrayan los efectos secundarios de los compuestos de acuerdo con la invención generalmente deficientes o muy leves típicos de los opiáceos.

5

ANÁLISIS DE GAS EN SANGRE MÉTODO PARA LA MEDICIÓN DE PCO₂ Y PO₂ ARTERIAL EN LA RATA

La acción de la depresión respiratoria de las sustancias de prueba se estudia tras la administración i.v. a ratas despiertas a las ratas instrumentadas. El parámetro de ensayo es el cambio en la presión parcial de dióxido de carbono (pCO₂) y la presión parcial de oxígeno (pO₂) en la sangre arterial después de la administración de la sustancia.

10

Animales de ensayo: Ratas macho Sprague-Dawley (crl: CD (SD) exógamas; criador: Charles River, Sulzfeld, Alemania); peso: 250 - 275 g; los animales se mantienen individualmente en jaulas estándar (jaulas Makrolon de tipo II, Ebeco, Castrop-Rauxel, Alemania) con un ritmo de luz/oscuridad de 12:12 h y con alimento y agua del grifo a voluntad.

15

Descripción del método: Al menos 6 antes de la administración de la sustancia de ensayo, se implanta un catéter de PP en la arteria femoral y la vena yugular de las ratas bajo anestesia con pentobarbital. Los catéteres se llenan con solución de heparina (4000 I.E.) y se cierran con un hilo de alambre. La administración de la sustancia de ensayo o vehículo se realiza a través del catéter venoso. Antes de la administración de la sustancia o vehículo y en puntos definidos en el tiempo después de la administración de la sustancia o el vehículo, cada catéter arterial se abre y se enjuaga con aprox. 500 µl de solución de heparina. Después, se retiran aprox. 100 µl de sangre del catéter y se toman por medio de un capilar de vidrio heparinizado. El catéter se lava abundantemente de nuevo con una solución de heparina y se vuelve a cerrar. La sangre arterial se analiza inmediatamente utilizando un dispositivo de análisis de gases en sangre (ABL 5, Radiometer GmbH, Willich, Alemania). Después de un período de lavado mínimo de una semana, los animales pueden volver a incluirse en el ensayo.

20

25

Evaluación y estadísticas de ensayo: El dispositivo de análisis de gases en sangre suministra automáticamente los valores de pCO₂ y pO₂ de la sangre en mmHg. Los efectos de la sustancia en la presión parcial se calculan como cambios porcentuales en relación con los valores preliminares sin sustancia o vehículo. Para la evaluación estadística, los valores medidos después de la administración de la sustancia y los valores medidos simultáneamente después de la aplicación del vehículo se comparan por medio de análisis de varianza unifactorial (ANOVA de undireccional), así como un análisis post hoc de acuerdo con Dunnett. El nivel de significación se estableció en p < 0,05. El tamaño de los grupos suele ser n = 6.

30

35

PARÁMETROS CARDIOVASCULARES: MÉTODO PARA MEDIR LA PRESIÓN SANGUÍNEA Y LA FRECUENCIA CARDIACA EN EL CONEJO DESPIERTO.

La acción de las sustancias de ensayo en el sistema cardiovascular se estudia después de la administración i.v. a conejos despiertos con telemetría. Los parámetros de prueba son el cambio en la frecuencia cardíaca y la presión arterial después de la administración de la sustancia.

40

Animales de ensayo: Conejos hembra (New Zealand Whites; criador: Charles River, Kisslegg, Alemania); peso corporal: aprox. 3-5,5 kg; los animales se mantienen individualmente en jaulas para conejo especiales (An. x D x Al. = 885 x 775 x 600 mm; Ebeco, Castrop-Rauxel, Alemania) con un ritmo de luz-oscuridad de 12:12 h con alimentación y agua del grifo a voluntad.

45

Preparación de ensayo: Al menos 21 días antes del inicio de los experimentos, se implanta una unidad de telemetría (TL11M2-D70-PCT de DSI, St. Paul, Minnesota, Estados Unidos) para medir la presión sanguínea y de electrocardiograma (ECG) en los animales bajo anestesia completa (Isoflurano al 2-3 %). El catéter de presión de la unidad de telemetría se introduce en el A. FEMORALIS y los dos electrodos bipotenciales se fijan por vía subcutánea en la región del esternón o en la región de la pared del tórax superior izquierda. La unidad transmisora se cose en un bolsillo de la piel en la región del costado izquierdo de los animales. Las señales de telemetría se registran por receptores de tipo RMC-1 (DSI). El paquete de software Po-Ne-Mah (DSI) se usa para el registro de datos, el almacenamiento de datos y el procesamiento de datos.

50

55

Procedimiento de ensayo: La administración de la sustancia o vehículo se realiza a través de un catéter venoso (V. AURICULARIS). Antes de la administración de la sustancia o vehículo y en momentos definidos en el tiempo después de la administración de la sustancia o vehículo, la frecuencia cardíaca y la presión arterial (sistólica, diastólica y media) se determinan directamente por medio del sistema de telemetría calibrado y se almacenan electrónicamente. Después

60

de un período de lavado mínimo de una semana, los animales pueden volver a incluirse en el ensayo.

5 Evaluación y estadísticas de ensayo: A partir de los valores medidos de la presión arterial (en mmHg) y la frecuencia cardíaca (en latidos por minuto) en los puntos definidos en el tiempo, se determinan los valores medios de cada uno de los 10 latidos cardiacos sucesivos. Los efectos de la sustancia en los parámetros de ensayo se calculan como cambios porcentuales en relación con los valores preliminares sin sustancia o vehículo. Para la evaluación estadística, los valores medidos después de la administración de la sustancia y los valores medidos simultáneamente después de la aplicación del vehículo se comparan por medio de análisis de varianza unifactorial (ANOVA de undireccional), así como un análisis post hoc de acuerdo con Dunnett. El nivel de significación se estableció en $p < 0,05$. El tamaño de los grupos suele ser $n = 6$.

PRUEBA DE PASE DE CARBÓN: MÉTODO PARA MEDIR LA VELOCIDAD DEL TRÁNSITO GASTROINTESTINAL EN EL RATÓN

15 Animales de ensayo: Ratones macho NMRI (criador: Charles River, Sulzfeld, Alemania); peso corporal: 30 - 35 g; los animales se mantienen en jaulas estándar (jaulas Makrolon de tipo IV, Ebeco, Castrop-Rauxel, Alemania), cada una ocupada por un máximo de 18 animales, con un ritmo de luz/oscuridad de 12:12 h y con alimento y agua del grifo a voluntad.

20 Descripción del ensayo: Antes del ensayo, los animales se dejan en ayunas durante 20-24 h en los insertos de la jaula de rejilla de alambre. Una suspensión de carbón activo (10 % de carbón activo en el 0,5 % de CMC Lösung; volumen administrado: Se administran por vía oral 0,1 ml/10 g de peso corporal a los animales como sustancia marcadora para el pase intestinal. La sustancia de ensayo o una solución de vehículo se administra por vía intravenosa. Dos horas después de la administración de la suspensión de carbón activo, los animales se sacrifican por gasificación con CO₂. El tracto intestinal se extrae entonces del estómago hasta e incluyendo el ciego, y se extiende sobre una placa de vidrio humedecida con una solución de NaCl al 0,9 %. La distancia del píloro-ciego y la distancia recorrida por la suspensión de carbón (punto más alejado) se miden entonces inmediatamente.

25 Evaluación de ensayo: Para determinar la inhibición relativa del tránsito gastrointestinal, se forma la distancia del cociente recorrida por la suspensión de carbón (en cm), y se indica en % de inhibición. Para la evaluación estadística, los valores medidos después de la administración de la sustancia y los valores medidos simultáneamente después de la aplicación del vehículo se comparan por medio de análisis de varianza unifactorial (ANOVA de undireccional), así como un análisis post hoc de acuerdo con Dunnett. El nivel de significación se estableció en $p < 0,05$. El tamaño de los grupos suele ser $n = 10$.

35 **PRUEBA ROTA-ROD: MÉTODO PARA ESTUDIAR LA COORDINACIÓN MOTORA EN EL RATÓN**

Animales de ensayo: Ratones macho CD-1 (criador: Charles River, Sulzfeld, Alemania); peso corporal: 18 - 25 g; los animales se mantienen en jaulas estándar (jaulas Makrolon de tipo IV, Ebeco, Castrop-Rauxel, Alemania), cada una ocupada por un máximo de 18 animales, con un ritmo de luz/oscuridad de 12:12 h y con alimento y agua del grifo a voluntad.

40 Descripción del método: Para la descripción del método, véase: Kuribara H., Higuchi Y., Tadokoro S. (1977), Effects of central depressants on Rota-Rod and traction performance in mice. Japan. J. Pharmacol. 27, 117-126.

45 Evaluación estadística: Para la evaluación estadística, los valores medidos después de la administración de la sustancia y los valores medidos simultáneamente después de la aplicación del vehículo se comparan por medio de análisis de varianza unifactorial (ANOVA de undireccional), así como un análisis post hoc de acuerdo con Dunnett. El nivel de significación se estableció en $p < 0,05$. El tamaño de los grupos suele ser $n = 10$.

50 **PRUEBA DE SALTO: MÉTODO PARA ESTUDIAR LA DEPENDENCIA FÍSICA POTENCIAL EN EL RATÓN**

Animales de ensayo: Ratones macho NMRI (criador: Charles River, Sulzfeld, Alemania); peso corporal: 20 - 24 g; los animales se mantienen en jaulas estándar (jaulas Makrolon de tipo III, Ebeco, Castrop-Rauxel, Alemania), cada una ocupada por un máximo de 6 animales, con un ritmo de luz/oscuridad de 12:12 h y con alimento y agua del grifo a voluntad.

55 Descripción del método: Las sustancias de ensayo se administran por vía intraperitoneal un total de 7 veces durante dos días. Se realizan 5 administraciones el primer día a las 9:00, 10:00, 11:00, 13:00 y 15:00 horas y el segundo día a las 9:00 y 11:00 horas. Las primeras 3 administraciones se administran en dosis crecientes (esquema de dosificación) y adicionalmente a la dosis del tercero. La retirada se precipita con naloxona 30 mg/kg (i.p.) 2 horas

después de la última administración de la sustancia. Inmediatamente después, los animales se colocan individualmente en cajas de observación transparentes (altura 40 cm, diámetro 15 cm) y las reacciones de salto se cuentan durante un período de 15 minutos a intervalos de 5 minutos. La morfina se administra concomitantemente en una dosis como comparación/estándar. La cuantificación de la extracción se realiza por medio del número de saltos de 0 a 10 min después de la administración de naloxona. La cantidad de animales por grupo con más de 10 saltos/10 min se determina y se documenta como "% de animales positivos". La frecuencia promedio de salto en el grupo también se calcula.

Evaluación estadística: La evaluación de los hallazgos experimentales con respecto a las diferencias estadísticamente significativas entre los respectivos grupos de dosis y los grupos de control del vehículo se realiza preferiblemente por medio de la prueba exacta de Fisher para el parámetro "% de animales positivos", así como por medio de la prueba de Kruskal-Wallis para el parámetro "frecuencia de salto", preferiblemente como se describe en la sección experimental. Aquí el nivel de significación se establece en $p < 0,05$ en cada caso. El tamaño de los grupos suele ser $n = 12$.

Bibliografía: Saelens JK, Arch Int Pharmacodyn 190: 213-218, 1971

PREFERENCIA DE ESPACIO CONDICIONADA: MÉTODO PARA ESTUDIAR LA POSIBLE INDUCCIÓN DE LA DEPENDENCIA MENTAL/ADICCIÓN EN LA RATA

Descripción del método: Para el estudio de la preferencia de espacio véase: Tzschentke, T.M., Bruckmann, W. y Friderichs, F. (2002) Lack of sensitization during place conditioning in rats is consistent with the low abuse potential of tramadol. Neuroscience Letters 329, 25-28.

Evaluación estadística: La evaluación de los hallazgos experimentales con respecto a las diferencias estadísticamente significativas en la preferencia de los animales por el principio activo o el vehículo se realiza preferiblemente por medio de la prueba t pareada. El nivel de significación se establece en $p < 0,05$. El tamaño de los grupos suele ser $n = 8$.

Tabla 1a: Resumen de los datos farmacológicos para el ejemplo **AMD-6**^{cis}

Sistema de ensayo	Parámetro medido	Hallazgos ¹	Factor de diferencia ²
Unión al receptor ORL1	Afinidad de unión	Ki = 0,030 µM	---
Unión al receptor opioide µ	Afinidad de unión	Ki = 0,138 µM	---
Chung, rata	Inhibición del dolor neuropático en la mononeuropatía (separación de la acción antialodínica y antinociceptora)	ED ₅₀ = 9 µg/kg i.v.; hasta la dosis de ensayo más alta (21,5 µg/kg i.v.): No hay acción antinociceptora en el tejido sano.	---
Bennett, rata	Inhibición del dolor neuropático en la mononeuropatía	ED ₅₀ = 7 µg/kg i.v.	---
STZ, rata	Inhibición del dolor neuropático en polineuropatía diabética	ED ₅₀ aprox. 1 µg/kg i.v.; hasta la dosis de ensayo más alta (10 µg/kg i.v.): No hay acción antinociceptora en animales de control no neuropáticos.	---
Sacudida de la cola, rata	Inhibición del dolor agudo (dolor nociceptor)	NOEL: 1 mg/kg i.v. o 4,64 mg/kg i.v. a una intensidad de rayo de quemado reducida	220 - 1000x
Análisis de gas en sangre rata	La depresión respiratoria se mide como un aumento de pCO ₂ arterial y una disminución de pO ₂ arterial	NOEL: 1 mg/kg i.v.	220x
Sistema cardiovascular, conejo	Presión arterial y frecuencia cardiaca	NOEL: 1 mg/kg i.v.	220x
Pase de carbón, ratón	Tránsito gastrointestinal	NOEL: 3 mg/kg i.v.	660x
Prueba RotaRod, ratón	Coordinación motora	NOEL: ≥10 mg/kg i.v.	>2200x
Prueba de salto,	Dependencia física/síntomas de	NOEL: 10 mg/kg i.p.	2200x

ratón	abstinencia		
Preferencia de espacio, rata	Dependencia mental	NOEL: ≥ 13.8 mg/kg i.p.	>3000x

¹⁾ NOEL (= Sin nivel de efecto observado) representa la dosis superior sin hallazgos (es decir, dosis sin efecto significativo)

²⁾ Los factores de diferencia se calcularon como el cociente de NOEL y ED₅₀ⁿ medio de los modelos de neuropatía (aquí: 4.5 µg/kg)

5

Tabla 1b: Resumen de los datos farmacológicos para el ejemplo **AMD-7^{cis}**

Sistema de ensayo	Parámetro medido	Hallazgos ¹	Factor de diferencia ²
Unión al receptor ORL1	Afinidad de unión	Ki = 0,070 µM	---
Unión al receptor opioide µ	Afinidad de unión	Ki = 0,450 µM	---
Chung, rata	Inhibición del dolor neuropático en la mononeuropatía (separación de la acción antialodínica y antinociceptora)	ED ₅₀ = 88 µg/kg i.v.; no hay acción antinociceptora en el tejido sano. (Dosis de ensayo: 100 µg/kg i.v.)	---
STZ, ratón	Inhibición del dolor neuropático en polineuropatía diabética	68 % de MPE a 100 µg/kg i.p.; no hay acción antinociceptora en animales de control no neuropáticos.	---
Sacudida de la cola, rata	Inhibición del dolor agudo (dolor nociceptor)	NOEL: ≥ 10 mg/kg i.v.	>110x
Análisis de gas en sangre rata	La depresión respiratoria se mide como un aumento de pCO ₂ arterial y una disminución de pO ₂ arterial	NOEL: 1 mg/kg i.v.	11 x
Sistema cardiovascular, conejo	Presión arterial y frecuencia cardiaca	NOEL: ≥ 3 mg/kg i.v.	>34x
Pase de carbón, ratón	Tránsito gastrointestinal	NOEL: 1 mg/kg i.v.	11x
Prueba RotaRod, ratón	Coordinación motora	NOEL: 10 mg/kg i.v.	110x
Prueba de salto, ratón	Dependencia física/síntomas de abstinencia	NOEL: ≥ 10 mg/kg i.p.	>110x
Preferencia de espacio, rata	Dependencia mental	NOEL: ≥ 20 mg/kg i.p.	>220x

¹⁾ MPE (= Máximo efecto posible) representa el tamaño del máximo efecto posible; NOEL (= Sin nivel de efecto observado) representa la dosis superior sin hallazgos (es decir, dosis sin efecto significativo)

²⁾ Los factores de diferencia se calcularon como el cociente de NOEL y ED₅₀ⁿ medio de los modelos de neuropatía (aquí: 88 µg/kg)

10

Conclusión: El ejemplo **AMD-6^{cis}** se seleccionó para ilustrar las sorprendentes propiedades farmacológicas de los compuestos usados de acuerdo con la invención.

15

Estos son ligandos del receptor ORL1 de alta afinidad y del receptor opioide µ que tienen una relación de afinidad por el receptor ORL1 con respecto a una afinidad por el receptor opioide µ de aprox. 5 o aprox.

20

6. El ejemplo **AMD-6^{cis}** demuestra QUE LOS COMPUESTOS USADOS SEGÚN LA INVENCIÓN tienen una eficacia muy alta frente al dolor neuropático (aquí: ED₅₀ⁿ entre 1 y 10 µg/kg i.v. o 88 µg/kg i.V.). En el modelo de dolor agudo, por otro lado, incluso a dosis que eran entre 100 y 1000 veces mayores que las dosis eficaces en el modelo de neuropatía, no se observó una acción antinociceptora significativa. Asimismo, en animales para estudiar los efectos secundarios, no se observaron efectos secundarios por opioides significativos (tales como depresión respiratoria, reducción de la presión arterial y frecuencia cardíaca, estreñimiento, efectos del sistema nervioso central, dependencia física, dependencia mental/adicción) a dosis que fueron de 11 a más de 3000 veces mayor.

Tabla 2: Descripción general de las características farmacológicas o farmacocinéticas seleccionadas de otros ejemplos

Compuesto	Ki (ORL1) [μM]	Ki (μ) [μM]	Chung, rata	Sacudida de la cola, rata	Análisis de gas en sangre, rata	Pase de carbón, ratón	RotaRod, ratón	t _{1/2} , rata, 100 μg/kg, i.v. // duración farmacodinámica de la acción (dosis)
AMD-6 ^{CIS}	0,030	0,138	ED ₅₀ = 9 μg/kg i.v.	NOEL ² = 1000 μg/kg i.v.	NOEL = 1000 μg/kg i.v.	NOEL = 3000 μg/kg i.v.	NOEL: ≥10000 μg/kg i.v.	8 h // >> 5 h (10 μg/kg i.v.)
AMD-1 ^{CIS}	0,018	0,032	18 % de MPE a 100 μg/kg i.v.	NOEL > 100 μg/kg i.v.	NOEL = 1000 μg/kg i.v.	Sin realizar	Sin realizar	No determinado // no determinado
AMD-2 ^{CIS}	0,017	0,05	35 % de MPE a 100 μg/kg i.v.	NOEL > 1000 μg/kg i.v.	Sin realizar	NOEL = 4600 μg/kg i.v.	Sin realizar	no determinado // aprox. 3 h (100 μg/kg i.v.)
AMD-3 ^{CIS}	0,016	0,059	42 % de MPE a 100 μg/kg i.v.	NOEL > 1000 μg/kg i.v.	Sin realizar	NOEL = 3000 μg/kg i.v.	NOEL: ≥10000 μg/kg i.v.	no determinado // aprox. 3 h (100 μg/kg i.v.)
AMD-4 ^{CIS}	0,003	0,009	20 % de MPE a 100 μg/kg i.v.	NOEL > 100 μg/kg i.v.	NOEL = 300 μg/kg i.v.	Sin realizar	Sin realizar	no determinado // 1 - 3 h (100 μg/kg i.v.)
AMD-7 ^{CIS}	0,070	0,450	ED ₅₀ = 88 μg/kg i.v.	NOEL ≥ 10000 μg/kg i.v.	NOEL = 1000 μg/kg i.v.	NOEL = 1000 μg/kg i.v.	NOEL = 10000 μg/kg i.v.	3 h // aprox. 3 h (100 μg/kg i.v.)

¹⁾ Relación de afinidad ORL1/μ definida como 1/[K_{i(ORL1)}/K_{i(μ)}]

²⁾ NOEL (= Sin nivel de efecto observado) representa la dosis superior sin hallazgos (es decir, dosis sin efecto significativo)

CONCLUSIÓN: Los compuestos usados de acuerdo con la invención presentan muy buena eficacia contra el dolor neuropático. Sorprendentemente, por otro lado, en el modelo de dolor agudo, incluso a dosis que fueron entre 10 a 100 veces mayores que las dosis eficaces en el modelo de neuropatía, no se observó una acción antinociceptora significativa. Asimismo, sorprendentemente, no se observaron efectos secundarios significativos típicos de opiáceos en modelos animales de efectos secundarios (por ejemplo, análisis de gas en sangre, pase de carbón gastrointestinal y prueba RotaRod) a dosis mayores de 10 veces a más de 300 veces.

Tabla 3: Comparación de espiroamina cis y trans

Compuesto	Ki (ORL1) [μM]	Ki (μ) [μM]	Chung, rata	Sacudida de la cola, rata	Análisis de gas en sangre, rata
AMD-6 ^{CIS}	0,030	0,138	ED ₅₀ = 9 μg/kg i.v.	NOEL ² = 1000 μg/kg i.v.	NOEL = 1000 μg/kg i.v.
AMD-6 ^{TRANS}	0,002	0,008	NOEL ≥ 100 μg/kg i.v.	ED ₅₀ = 640 μg/kg i.v.	NOEL = 300 μg/kg i.v.
AMD-7 ^{CIS}	0,070	0,450	ED ₅₀ = 88 μg/kg i.v.	NOEL ² ≥ 10000 μg/kg i.v.	NOEL = 1000 μg/kg i.v.
AMD-7 ^{TRANS}	0,001	0,001	SIN REALIZAR	54 % de MPE a 31,6 μg/kg i.v.	SIN REALIZAR
AMN-2 ^{CIS}	0,012	0,031	ED ₅₀ = 895 μg/kg i.v.	NOEL = 1000 μg/kg i.v.	SIN REALIZAR
AMN-2 ^{TRANS}	0,0004	0,0005	27 % de MPE a 30 μg/kg i.v.	60 % de MPE a 100 μg/kg i.v.	SIN REALIZAR

¹⁾ Relación de afinidad ORL1/μ definida como 1/[K_{i(ORL1)}/K_{i(μ)}]

²⁾ NOEL (= Sin nivel de efecto observado) representa la dosis superior sin hallazgos (es decir, dosis sin

efecto significativo)

CONCLUSIÓN: Sorprendentemente, solamente las espiroaminas cis de acuerdo con la fórmula general (I) (aquí, ejemplo **AMD-6^{cis}** y ejemplo de comparación **AMN-2^{cis}**) presentan buena eficacia contra el dolor neuropático mientras que al mismo tiempo no tienen acción antinociceptora en el dolor agudo. Asimismo, no se observan efectos secundarios significativos típicos de opiáceos en los modelos animales de efectos secundarios (análisis de gas en sangre como un ejemplo aquí) en dosis que son más altas en un múltiplo. Las espiroaminas trans respectivas (aquí, ejemplo de comparación **AMD-6^{trans}** y ejemplo de comparación **AMN-2^{trans}**), por otro lado, no muestran diferencia entre las dosis que son eficaces efectivas contra el dolor neuropático o contra el dolor agudo. Asimismo, no se observa diferencia entre las dosis a las que se producen los efectos secundarios típicos de los opiáceos (análisis de gas en sangre como ejemplo aquí). En la comparación general, **AMD-5^{cis}** y **AMD-6^{cis}** muestran las mayores diferencias con la mayor acción analgésica posible.

Tabla 4: Comparación de espiroaminas cis y espiroéteres cis

Compuesto	K _i (ORL ₁) [μM]	K _i (μ) [μM]	Chung, rata	Sacudida de la cola, rata o ratón*
AMN-2^{cis}	0,012	0,031	ED ₅₀ = 895 μg/kg i.v.	NOEL ² = 1000 μg/kg i.v.
Éter-2^{cis}	0,031	0,092	17 % de MPE a 100 μg/kg i.v.	78 % de MPE a 1000 μg/kg i.v.*
Éter-1^{cis}	0,06	0,12	28 % de MPE a 100 μg/kg i.v.	33 % de MPE a 1000 μg/kg i.v.

¹⁾ Relación de afinidad ORL₁/μ definida como $1/[K_{i(ORL1)}/K_{i(μ)}]$

²⁾ NOEL (= Sin nivel de efecto observado) representa la dosis superior sin hallazgos (es decir, dosis sin efecto significativo)

Conclusión: Sorprendentemente, cuando se usan de acuerdo con la invención, solo las espiroaminas cis (aquí, ejemplo **AMN-2^{cis}**) presentan buena eficacia contra el dolor neuropático mientras que al mismo tiempo no tienen acción antinociceptora en el dolor agudo. Asimismo, no se observan efectos secundarios típicos de opiáceos en los modelos animales de efectos secundarios (análisis de gas en sangre como un ejemplo aquí) en dosis que son más altas en un múltiplo. Espiroéter cis (aquí, ejemplo de comparación **Éter-2^{cis}** y ejemplo de comparación **Éter-1^{cis}**), por otro lado, no muestran diferencias marcadas entre las dosis que son eficaces contra el dolor neuropático o contra el dolor agudo.

Tabla 5: Comparación de **AMD-5^{cis}** (base libre) y **AMD-6^{cis}** (sal citrato)

Compuesto	K _i (ORL ₁) [μM]	K _i (μ) [μM]	Chung, rata	Sacudida de la cola, rata
AMD-5^{cis}	0,030	0,138	ED ₅₀ = 17 μG/KG I.V.	NOEL ² = 30000 μg/kg i.p.
AMD-6^{cis}	0,020	0,117	ED ₅₀ = 9 μG/KG I.V.	NOEL > 10000 μg/kg i.v.

¹⁾ Relación de afinidad ORL₁/μ definida como $1/[K_{i(ORL1)}/K_{i(μ)}]$

²⁾ NOEL (= Sin nivel de efecto observado) representa la dosis superior sin hallazgos (es decir, dosis sin efecto significativo)

Conclusión: Una comparación de **AMD-5^{cis}** (base libre) y **AMD-6^{cis}** (sal citrato) reveló que no había diferencias relevantes en las propiedades farmacológicas de la base y la sal.

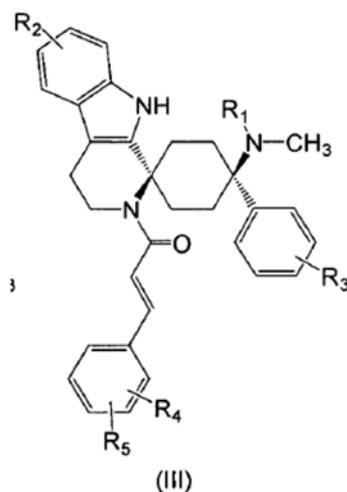
Tabla 6: Comparación de las afinidades hacia los receptores individuales

	ORL1		opioide μ		opioide k		opioide d		dolor, rata	
	Ki *	CE ₅₀ **	Ki	CE ₅₀	Ki	CE ₅₀	Ki	CE ₅₀	Agudo	neuropático (SNL
									(sacudida de la cola)	(Chungj))
									ED ₅₀ RATA [μ g/kg]	
									% DE MPE (@ μ g/kg)	
AMD-3 ^{cis}	16	102 / 92 %	59	1112 / 82 %	160	874 / 42 %	6,7	41 / 92 %	0% (1000) 73 % (10000)	106
AMD-3 ^{TRANS}	14	16 / 81 %	12	13 / 66 %	49	- / 55 %	8	- / 87 %	0% (1000)	20% (100)
AMD-5 ^{cis}	30	76 / 106 %	138	300 / 63 %	768	1035 / 30 %	38	463 / 78 %	0% (1000) 58 % (10000)	9,2
AMD-6 ^{TRANS}	3	47 / 104 %	8	79 / 97 %	19	59 / 88 %	6	19 / 126 %	640	400
AMD-7 ^{cis}	70	50 / 90 %	450	49 / 94 %	542	1170 / 85 %	791	2684 / 106 %	0% (10000)	88
AMD-7 ^{TRANS}	1	16 / 90 %	1	3 / 88 %	4	29 / 64 %	1	5 / 82 %	54 % (31.6)	sin realizar
* Ensayo de radiounión - Ki en nM										
** Ensayo GTPgammaS - CE50 en nM y eficacia relativa en %										

Ki [nM]

CE₅₀ [ef. %]

5 En otro aspecto, la invención se refiere a un compuesto de la fórmula general (III)



DONDE EL COMPUESTO ESTÁ PRESENTE COMO UNA SAL CLORHIDRATO, CITRATO O HEMI-CITRATO.

- 10 En una realización preferida adicional de los compuestos de acuerdo con la invención, R₂ es -H y/o R₃ es -F.
- En una realización preferida adicional de los compuestos de acuerdo con la invención, R₄ y R₅ son ambos -H o ambos -OCH₃.
- 15 En una realización preferida adicional de los compuestos de acuerdo con la invención, estos se seleccionan del grupo que consiste en
- (E)-1-((1s,4s)-4-(dimetilamino)-4-fenil-3',4'-dihidroespiro[ciclohexano-1,1'-pirido[3,4-b]indolo]-2'(9'H)-il)-3-fenilprop-2-en-1-ona;
- 20

- (E)-1-((1s,4s)-4-(dimetilamino)-4-(3-fluorofenil)-3',4'-dihidroespiro[ciclohexano-1,1'-pirido[3,4-b]indolo]-2'(9'H)-il)-3-fenilprop-2-en-1-ona;
- (E)-1-((1s,4s)-4-(dimetilamino)-6'-fluoro-4-(3-fluorofenil)-3',4'-dihidroespiro-[ciclohexano-1,1'-pirido[3,4-b]indolo]-2'(9'H)-il)-3-fenilprop-2-en-1-ona;
- 5 • (E)-1-((1s,4s)-4-(dimetilamino)-6'-fluoro-4-fenil-3',4'-dihidroespiro[ciclohexano-1,1'-pirido[3,4-b]indolo]-2'(9'H)-il)-3-fenilprop-2-en-1-ona;
- (E)-1-((1s,4s)-4-(dimetilamino)-4-(4-fluorofenil)-3',4'-dihidroespiro[ciclohexano-1,1'-pirido[3,4-b]indolo]-2'(9'H)-il)-3-fenilprop-2-en-1-ona;

10 en cada caso, en forma de sal clorhidrato, citrato o hemi-citrato.

En una realización preferida adicional de la invención, los compuestos de acuerdo con la invención son medicamentos.

15 Una realización preferida adicional de la invención se refiere a una composición farmacéutica que contiene un vehículo fisiológicamente aceptable y uno de los compuestos de acuerdo con la invención.

En una realización preferida de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención, ésta es:

- 20 - sólida, líquida o pastosa; y/o
- contiene el compuesto de acuerdo con la invención en una cantidad del 0,001 al 99 % en peso con respecto al peso total de la composición.

25 Una realización preferida adicional de la invención se refiere a una forma de dosificación farmacéutica que contiene una de las composiciones farmacéuticas descritas anteriormente.

En una realización adicional de la invención, la forma de dosificación mencionada anteriormente se prepara para la administración no más de una vez al día.

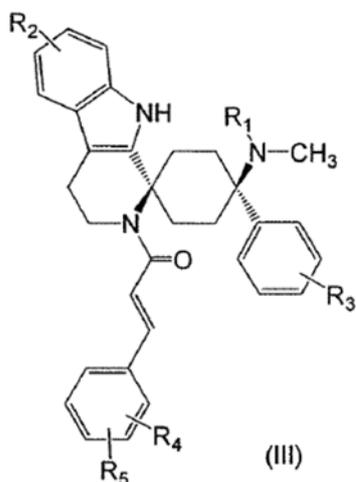
30 En una realización preferida adicional de la invención, la forma de dosificación de acuerdo con la invención se prepara para administración sistémica.

En una realización preferida adicional de la invención, la forma de dosificación de acuerdo con la invención se prepara para administración oral.

35 En una realización preferida adicional de la invención, la forma de dosificación de acuerdo con la invención contiene uno de los compuestos de acuerdo con la invención in a dosis dentro del intervalo 1,0 µg a 10 mg, en base al peso molecular de la base libre.

REIVINDICACIONES:

1. Compuesto de la fórmula general (III),



5

en la que

- R₁ es -H o CH₃;
- R₂ es -H o -halógeno;
- R₃ es -H o -halógeno;
- R₄ es -H, -halógeno o -Oalquilo C₁₋₃; y
- R₅ es -H, -halógeno o -Oalquilo C₁₋₃;

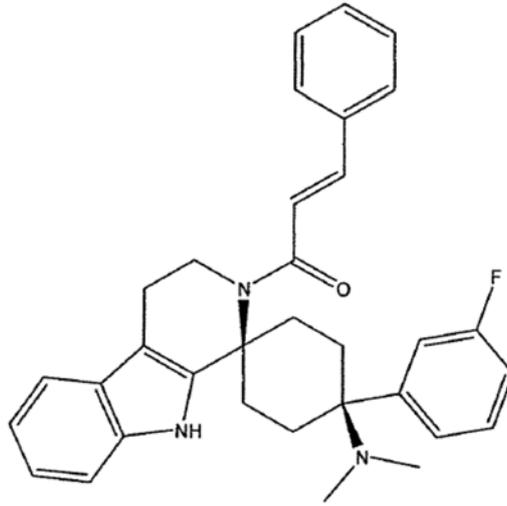
10 donde el compuesto está presente como una sal clorhidrato, citrato o hemi-citrato.

2. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, donde R₂ es -H y/o R₃ es -F.
3. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, donde R₄ y R₅ son ambos -H o ambos - **OCH₃**.
4. Compuesto de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, seleccionado del grupo que consiste en

- (E)-1-((1s,4s)-4-(dimetilamino)-4-fenil-3',4'-dihidroespiro[ciclohexano-1,1'-pirido[3,4-b]indolo]-2'(9'H)-il)-3-fenilprop-2-en-1-ona;
- (E)-1-((1s,4s)-4-(dimetilamino)-4-(3-fluorofenil)-3',4'-dihidroespiro[ciclohexano-1,1'-pirido[3,4-b]indolo]-2'(9'H)-il)-3-fenilprop-2-en-1-ona;
- (E)-1-((1s,4s)-4-(dimetilamino)-6'-fluoro-4-(3-fluorofenil)-3',4'-dihidroespiro[ciclohexano-1,1'-pirido[3,4-b]indolo]-2'(9'H)-il)-3-fenilprop-2-en-1-ona;
- (E)-1-((1s,4s)-4-(dimetilamino)-6'-fluoro-4-fenil-3',4'-dihidroespiro[ciclohexano-1,1'-pirido[3,4-b]indolo]-2'(9'H)-il)-3-fenilprop-2-en-1-ona;
- (E)-1-((1s,4s)-4-(dimetilamino)-4-(4-fluorofenil)-3',4'-dihidroespiro[ciclohexano-1,1'-pirido[3,4-b]indolo]-2'(9'H)-il)-3-fenilprop-2-en-1-ona,

30 en cada caso, en forma de sal clorhidrato, citrato o hemi-citrato.

5. Compuesto de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 4 con la estructura



en forma de la sal clorhidrato, citrato o hemi-citrato.

- 5 6. Compuesto de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 4 para su uso como medicamento.
7. Composición farmacéutica que contiene un vehículo fisiológicamente aceptable y un compuesto de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 5.
- 10 8. Composición de acuerdo con la reivindicación 7, que
- es sólido, líquido o pastoso; y/o
 - contiene el compuesto de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 5 en una cantidad del 0,001 al 99 % en peso con respecto al peso total de la composición.
- 15 9. Forma de dosificación farmacéutica que contiene la composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 7 u 8.
- 20 10. Forma de dosificación de acuerdo con la reivindicación 9, que se prepara para la administración no más de una vez al día.
11. Forma de dosificación de acuerdo con la reivindicación 9 o 10, que se prepara para administración sistémica.
- 25 12. Forma de dosificación de acuerdo con la reivindicación 11, que se prepara para administración oral.
13. Forma de dosificación de acuerdo con la reivindicación 12, que contiene el compuesto de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 5 en una dosis dentro del intervalo de 1,0 µg a 10 mg con respecto al peso molecular de la base libre.
- 30 14. Compuesto de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 5 para aplicación en el tratamiento del dolor neuropático y/o crónico.
- 35 15. Compuesto para la aplicación de acuerdo con la reivindicación 14, realizándose la aplicación no más de una vez al día.