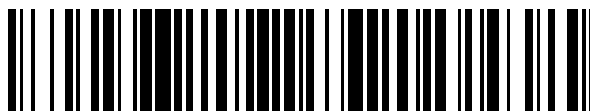


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 623 362**

51 Int. Cl.:

C07D 489/00 (2006.01)

C07D 489/02 (2006.01)

C07H 7/02 (2006.01)

C07H 17/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **31.05.2005 PCT/US2005/019000**

87 Fecha y número de publicación internacional: **15.12.2005 WO05117589**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.05.2005 E 05754845 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.01.2017 EP 1758452**

54 Título: **Analgésicos metabólicamente estables y medicaciones para el dolor**

30 Prioridad:

28.05.2004 US 575451 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
11.07.2017

73 Titular/es:

**HUMAN BIOMOLECULAR RESEARCH INSTITUTE
(100.0%)
5310 EASTGATE MALL
SAN DIEGO CA 92121, US**

72 Inventor/es:

**CASHMAN, JOHN R. y
MACDOUGALL, JAMES M.**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

Observaciones :

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques
o Bemerkungen) en el folleto original publicado
por la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 623 362 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

Analgésicos metabólicamente estables y medicaciones para el dolor

REFERENCIAS CRUZADAS A SOLICITUDES RELACIONADAS

- 5 La presente solicitud reivindica prioridad a la solicitud de patente provisional de Estados Unidos N.º 60/575.451, presentada el 28 de mayo de 2004.

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente divulgación se refiere a agentes farmacéuticos que interaccionan con receptores analgésicos, métodos de preparación de estos agentes, y su uso para analgesia, dolor, adicciones y otras afecciones.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

- 10 La morfina y otros opiáceos actúan de analgésicos poderosos [Foye, W.O. en "Principles of Medicinal Chemistry," Tercera Edición, Lea & Febiger, Philadelphia, 1989]. Se ha hecho un esfuerzo considerable por desarrollar y entender el uso apropiado de analgésicos narcóticos para pacientes terminales y para aliviar el dolor de cáncer, aunque se necesitan enormemente nuevas medicaciones. La morfina provoca varias actividades farmacológicas
- 15 mediadas por los receptores de opioides μ , que incluyen analgesia, depresión respiratoria e inhibición del tránsito gastrointestinal [véase O. Ray, "Drugs, Society and Human Behavior," Tercera Edición, The C.V. Mosby Co., St. Louis (1983)]. Sin embargo, efectos secundarios adversos y el posible abuso han limitado la disponibilidad de la morfina y el uso óptimo. Cuestiones de solubilidad y potencia también limitan la cantidad de morfina inyectable. Existe la necesidad de agentes de vida más larga para el dolor grave. Existe la necesidad de agentes que no
- 20 necesiten administrarse por vías de administración i.v. o epidurales caras. También existe la necesidad de medicaciones que no produzcan depresión respiratoria, tolerancia, retención urinaria, estreñimiento, dependencia física y/o adicción. Además, algunas de las afecciones de dolor existentes son resistentes a la acción analgésica de los opiáceos actualmente disponibles. También existe la necesidad de analgésicos eficaces que solo funcionen en la periferia y no entren en el cerebro.
- 25 La tolerancia se define como una sensibilidad reducida al efecto de un opiáceo y generalmente indica una atenuación en la eficacia analgésica, causando dependencia revelada por las manifestaciones físicas de la abstinencia [véase B. L. Kieffer et al., Cell, 108:87-90 (2002)]. La tolerancia está casi exclusivamente asociada a la analgesia. Durante mucho tiempo se pensó que la tolerancia se producía por una reducción en los receptores de superficie y la señalización de receptores de opioides. Sin embargo, la morfina no promueve la eficiencia de
- 30 internalización de receptores μ [véase J. L. Whistler et al., Neuron, 23:737-46 (1999)], mientras que otros opioides tales como el péptido selectivo de μ DAMGO y el alcaloide fentanilo sí promueven tal internalización. Modelos *in vitro* muestran que DAMGO administrado a concentraciones por debajo del umbral para inducir la internalización pueden inducir la internalización del receptor μ en presencia de morfina [véase L. He et al., Cell, 108:271-82 (2002)]. La analgesia tras la administración continua de morfina está marcadamente potenciada cuando una dosis sub-internalizante de DAMGO se co-administra a ratas [véase L. He et al., arriba]. Este enlace entre la
- 35 internalización del receptor μ al nivel celular y la tolerancia *in vivo* sugiere que la internalización de receptores puede proporcionar protección contra la tolerancia. La determinación de qué análogos de M6G afectan la internalización de receptores puede, por tanto, ser una etapa importante para desarrollar un analgésico no adictivo y promover el entendimiento de los presentes inventores del proceso de adicción. El desarrollo de antagonistas del receptor μ , delta o kappa también produce medicaciones útiles. La sustitución del grupo metilo N-17 en estos
- 40 análogos de M6G con otros grupos alquilo, cicloalquilo y alquenilo podría proporcionar antagonistas farmacológicamente activos en los receptores de opioides. Tales antagonistas podrían ser útiles en el tratamiento de enfermedades del SNC que incluyen adicción a las drogas, adicción al juego y alcoholismo. La elaboración de un derivado que es constantemente cargado y contiene una amina cuaternaria o un grupo guanadino también podría proporcionar un nuevo conjunto de analgésicos que solo funcionan en la periferia.
- 45 Una vía importante para eliminar la morfina y opiáceos relacionados del cuerpo es mediante la formación de conjugados de glucurónido solubles en agua en el hígado y la posterior eliminación en la orina. En el caso de la morfina, se forman tres glucurónidos: morfina-6- β -D-glucurónido, morfina-3- β -D-glucurónido y morfina-3,6-di- β -D-glucurónido. La morfina-6- β -D-glucurónido (M6G) es un analgésico con una potencia 100 veces superior a la propia morfina [Véase G. W. Pasternak, Life Sci., 41:2845-2849 (1987)]. La baja biodisponibilidad (11 %) de M6G debido a
- 50 la hidrólisis en el intestino por el ácido del estómago es una limitación significativa en el desarrollo de un fármaco a partir de este compuesto [Véase R. T. Penson et al., Br. J. Clin. Pharmacol., 53:347-354 (2002)]. El desarrollo de nuevas medicaciones basadas en M6G es prometedora debido a su potencia analgésica, perfil de efectos secundarios favorable y actividad farmacológica distinta [Véase M.H. Hanna et al., Anesthesiology, 102:815-821 (2005)].
- 55 Se cree normalmente que los glucurónidos son metabolitos altamente polares e incapaces de cruzar la barrera hematoencefálica (BBB) [Véase G. W. Pasternak, Clin. Neuropharmacol., 16:1-18 (1993)]. Sin embargo, M6G es evidentemente mucho más lipófilo de lo predicho [Véase P. A. Carrupt et al., J. Med. Chem., 34:1272-1275 (1991)]. Los cálculos del área superficial polar (PSA) sugieren que moléculas por encima de 90 Å² no entran en el cerebro

[Véase K. Palm et al., J. Pharm. Sci., 85:32-39 (1996a)]. Para la penetración de BBB mediante la vía transcelular, una molécula debe tener un MW de <450 y un PSA <90 Å². Cálculos relacionados muestran que la absorción oral es óptima con un PSA <120 Å² [Véase J. Kelder et al., Pharmaceutical Research, 16:1514-1519 (1999)]. En ratas, después de la administración por vía oral, M6G se absorbió por sí mismo en el intestino proximal, que muestra que M6G es capaz de penetración en la membrana [Véase R. Stain-Textier et al., Drug Metab. Dispos., 26:383-387, (1998)]. Pero se predice que análogos de M6G con un peso molecular superior a 450 no entran en el cerebro, y debido a la naturaleza más polar en comparación con la morfina, otros predicen que no tiene biodistribución en el SNC más favorable y aparición de propiedades de acción.

El documento EP 0 632 041 A1 desvela derivados de morfina que están sustituidos en la posición 6 u 8, por ejemplo, con un resto de monosacárido.

BREVE SUMARIO DE LA INVENCION Y LA DIVULGACION ADICIONAL

En un aspecto, la presente divulgación proporciona agentes relacionados con analgésicos que tienen actividad farmacológica contra receptores analgésicos. En realizaciones típicas, los agentes comprenden un analgésico o derivado del mismo asociado a un arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, o un sacárido. En realizaciones preferidas, el analgésico o derivado del mismo es un opiáceo o un derivado de opiáceo. El agente relacionado con analgésico puede ser un agonista o un antagonista de un receptor analgésico correspondiente al que se une específicamente el agente.

Los agentes de la presente divulgación son útiles, por ejemplo, para reducir el dolor en un sujeto, o para el tratamiento o la profilaxis de una enfermedad o trastorno susceptible a tal tratamiento o prevención por modulación (por ejemplo, inhibición o estimulación) de receptores analgésicos. Por consiguiente, en otro aspecto, la presente divulgación proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden un agente relacionado con analgésico como se expone en el presente documento. También se proporcionan métodos de reducción del dolor, o de tratamiento o prevención de una enfermedad o trastorno susceptible a tal tratamiento o prevención por modulación de la actividad de receptores analgésicos, por la administración de una cantidad eficaz de un agente relacionado con analgésico a un sujeto. Enfermedades o trastornos susceptibles a intervención terapéutica según las composiciones y métodos proporcionados en el presente documento incluyen, por ejemplo, adicciones u otros trastornos del SNC que están mediados, al menos en parte, directamente o indirectamente, por receptores analgésicos. En ciertas variaciones de las composiciones farmacéuticas o métodos, tales como, por ejemplo, para el tratamiento de dolor, el agente relacionado con analgésico es un agonista de receptor analgésico. En otras realizaciones, tales como, por ejemplo, para el tratamiento de la adicción a las drogas, adicción al juego o alcoholismo, el agente normalmente es un antagonista de receptor analgésico.

Para la modulación de receptores analgésicos en la periferia, sin efecto significativo sobre tales receptores en el cerebro, el agente normalmente tiene una carga constante a pH fisiológico. Tales agentes pueden incluir, por ejemplo, aminas cuaternarias, guanidinas, y similares, y son particularmente adecuados para su uso como, por ejemplo, analgésicos periféricos.

La presente invención se refiere a una parte de la presente divulgación, concretamente a compuestos como se define en la reivindicación 1 y composiciones farmacéuticas como se define en la reivindicación 4.

DEFINICIONES

A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que comúnmente es entendido por un experto habitual en la materia a la que pertenece la presente invención. Aunque cualquier método y material similar a aquellos descritos en el presente documento pueda usarse en la práctica o prueba de la presente invención, solo se describen métodos y materiales a modo de ejemplo. Para los fines de la presente invención, a continuación se definen los siguientes términos.

Los términos "un", "una", "el" y "la" incluyen referentes plurales, a menos que el contexto dicte claramente de otro modo.

El término "alquilo" se refiere a grupos alifáticos saturados que incluyen grupos de cadena lineal y cadena ramificada. Grupos alquilo adecuados incluyen metilo, etilo y similares.

El término "alqueno" se refiere a grupos insaturados que contienen al menos un doble enlace carbono-carbono e incluye grupos de cadena lineal y cadena ramificada.

El término "alquino" se refiere a grupos insaturados que contienen al menos un triple enlace carbono-carbono e incluye grupos de cadena lineal y cadena ramificada.

Grupos alquino adecuados incluyen etinilo, propinilo, butinilo y similares.

El término "arilo" se refiere a grupos aromáticos que tienen al menos un anillo que tiene sistema de electrones "pi" conjugados e incluye arilo carbocíclico, biarilo, ambos de los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos.

El término "aralquilo" se refiere a un grupo alquilo sustituido con un grupo arilo. Grupos aralquilo adecuados incluyen bencilo, y similares, y pueden estar opcionalmente sustituidos.

El término "heteroarilo" se refiere a radicales insaturados cíclicos de 5-14 miembros que contienen carbono que contienen uno, dos, tres o cuatro átomos de O, N, P o S y que tienen 6, 10 o 14 electrones π deslocalizados en uno o más de un anillo.

El término "derivado farmacéuticamente aceptable" se refiere a cualquier derivado de un compuesto como se describe en el presente documento que es adecuado para uso farmacológico, que incluye, por ejemplo, ésteres, amidas o sales farmacéuticamente aceptables. Ésteres, amidas o sales farmacéuticamente aceptables se refiere a ésteres, amidas o sales derivados de la combinación de un compuesto de la presente invención y un ácido orgánico o inorgánico.

El término "analgésico" se refiere a un compuesto capaz de producir analgesia, es decir, reducir o inhibir el dolor alterando la percepción de estímulos nociceptivos sin producir anestesia o pérdida de conciencia. En realizaciones preferidas de la presente invención, un analgésico es un opiáceo.

Los términos "opiáceo" y se refiere a cualquier agente, natural o sintético, capaz de unirse específicamente a un receptor de opioides, que incluye opio o cualquiera de sus derivados (por ejemplo, morfina), además de narcóticos sintéticos o semi-sintéticos.

El término "agente relacionado con analgésico" se refiere a un metabolito, análogo o derivado de un analgésico. El término "agente relacionado con opiáceo" se refiere a un metabolito, análogo o derivado de un opiáceo, tal como se describe además en el presente documento. Según la presente invención, agentes relacionados con analgésico, que incluyen agentes relacionados con opiáceo, pueden tener actividad de agonista o de antagonista con respecto a uno o más receptores analgésicos a los que se une específicamente el agente.

El término "inhibir" significa reducir una cantidad medible, o prevenir completamente.

La expresión "promueven la eficiente internalización de receptores" significa que un agente es capaz de promover la internalización celular de un receptor al que el agente se une específicamente de forma que, en comparación con las células de control no puestas en contacto con el agente, las células puestas en contacto con el agente no muestran más del 80 %, normalmente no más del 70 % o 60 %, y más normalmente no más del 50 % o 40 %, de tinción superficial para el receptor correspondiente por FACS.

"Tratar", "tratamiento" o "terapia" de una enfermedad o trastorno significa ralentizar, detener o invertir la progresión de la enfermedad o trastorno, como se demuestra por una reducción o eliminación de tanto síntomas clínicos como de diagnóstico, usando las composiciones y métodos de la presente divulgación como se describe en el presente documento.

"Prevenir", "profilaxis" o "prevención" de una enfermedad o trastorno significa la prevención de la aparición o la aparición de una enfermedad o trastorno o algunos o todos de sus síntomas.

"Adicción", como se usa en el presente documento, se refiere a una enfermedad o trastorno caracterizado por una dependencia psicológica y fisiológica habitual de una sustancia o práctica que está sustancialmente fuera del control voluntario. Adicciones susceptibles a tratamiento usando los compuestos y métodos descritos en el presente documento incluyen adicciones a sustancias tales como, por ejemplo, adicciones a narcóticos (por ejemplo, morfina, heroína), alcohol y nicotina, además de adicciones de conducta tales como, por ejemplo, adicción al juego.

El término "sujeto", como se usa en el presente documento, significa cualquier paciente mamífero al que las composiciones de la presente invención pueden administrarse según los métodos descritos en el presente documento. Los sujetos específicamente previstos para el tratamiento o la profilaxis usando los métodos de la presente divulgación incluyen seres humanos.

El término "pauta terapéuticamente eficaz" significa que una composición farmacéutica o combinación de la misma se administra en cantidad y frecuencia suficientes y por una vía apropiada para reducir el dolor, o para prevenir, retrasar, inhibir o invertir al menos detectablemente el desarrollo de al menos un síntoma o marcador bioquímico de una enfermedad o trastorno susceptible al tratamiento por modulación de un receptor analgésico.

El término "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad de un agente de la presente invención, o una combinación de un agente de la presente invención con otro(s) agente(s), que está presente para lograr un resultado deseado, por ejemplo, reducir el dolor, o prevenir, retrasar, inhibir o invertir un síntoma o marcador bioquímico de una enfermedad o trastorno susceptible a tratamiento por modulación de un receptor analgésico, cuando se administra en una pauta apropiada.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La Figura 1 representa la síntesis de los compuestos representados por la fórmula IV.

La Figura 2 representa la síntesis de los tiosacáridos 2a y 2b.

La Figura 3 representa la síntesis de compuestos de fórmula V.

La Figura 4 representa la síntesis de compuestos de fórmula VI.

La Figura 5 representa analgesia dependiente de la dosis inducida por la administración de morfina. Los datos son media de % de MPE (\pm EEM). Los asteriscos representan diferencias significativas de controles de vehículo (Student Newman-Keuls, $p < 0,05$). Los signos más representan una diferencia significativa de 3 mg/kg de morfina (Student Newman-Keuls, $p < 0,05$).

La Figura 6 efectos analgésicos producidos por dos dosis altas de 13e. Los datos son media de % de MPE (\pm EEM). Los asteriscos representan diferencias significativas de controles de vehículo (Student Newman-Keuls, $p < 0,05$). Los signos más representan una diferencia significativa entre 10 y 30 mg/kg de 13e (Student Newman-Keuls, $p < 0,05$).

La Figura 7 representa analgesia dependiente de la dosis inducida por la administración de 3a. Los datos son media de % de MPE (\pm EEM). Los asteriscos representan diferencias significativas de controles de vehículo (Student Newman-Keuls, $p < 0,05$). Los signos más representan una diferencia significativa de 3 mg/kg de 3a (Student Newman-Keuls, $p < 0,05$).

Las Figuras 8A-C representan un efecto del análogo de opiáceo **13e** sobre el consumo de heroína en una rata dependiente de heroína (Rata N.º 96). Las ratas se inyectaron en diseño intraindividual con el análogo de opiáceo **13e** (0, 0,04 y 0,2 mg/kg, s.c.) 15 min antes (5:45 pm) de la fase activa / oscura (6 pm-6 am). Los datos se expresan como consumo de heroína total (60 μ g/kg/0,1 ml de infusión) para cada hora (Figura 8A), cada 3 horas (Figura 8B) y a las 12 horas (Figura 8C) en la fase oscura.

Las Figuras 9A-C representan un efecto del análogo de opiáceo **3a** sobre el consumo de heroína en una rata dependiente de heroína (Rata N.º 99). Las ratas se inyectaron en diseño intraindividual con el análogo de opiáceo **3a** (0, 0,04 y 0,2 mg/kg, s.c.) 15 min antes (5:45 pm) de la fase activa / oscura (6 pm-6 am). Los datos se expresan como consumo de heroína total (60 μ g/kg/0,1 ml de infusión) para cada hora (Figura 9A), cada 3 horas (Figura 9B) y a las 12 horas (Figura 9C) en la fase oscura.

Las Figuras 10A-C representan un efecto del análogo de opiáceo **13g** sobre el consumo de heroína en una rata dependiente de heroína (Rata N.º 100). Las ratas se inyectaron en diseño intraindividual con el análogo de opiáceo **13g** (0, 0,04 y 0,2 mg/kg, s.c.) 15 min antes (5:45 pm) de la fase activa / oscura (6 pm-6 am). Los datos se expresan como consumo de heroína total (60 μ g/kg/0,1 ml de infusión) para cada hora (Figura 10A), cada 3 horas (Figura 10B) y a las 12 horas (Figura 10C) en la fase oscura.

Las Figuras 11A-C representan un efecto de M6G sobre el consumo de heroína en una rata dependiente de heroína (Rata N.º 103). Las ratas se inyectaron en diseño intraindividual con M6G (0, 0,04 y 0,2 mg/kg, s.c.) 15 min antes (5:45 pm) de la fase activa / oscura (6 pm-6 am). Los datos se expresan como consumo de heroína total (60 μ g/kg/0,1 ml de infusión) para cada hora (Figura 11A), cada 3 horas (Figura 11B) y a las 12 horas (Figura 11C) en la fase oscura.

Las Figuras 12A-C representan un efecto del análogo de opiáceo 13h sobre el consumo de heroína en ratas dependientes de heroína ($n=4$). Las ratas se inyectaron en un diseño intraindividual con el análogo de opiáceo 13h (0 [Rata N.º 96], 0,01 [Rata N.º 99], 0,04 [Rata N.º 100] y 0,2 mg/kg [Rata N.º 103], s.c.) 15 min antes (5:45 pm) de la fase activa / oscura (6 pm-6 am). Los datos se expresan como consumo de heroína total (60 μ g/kg/0,1 ml de infusión) para cada hora (Figura 12A), cada 3 horas (Figura 12B) y a las 12 horas (Figura 12C) en la fase oscura.

La Figura 13 representa estructuras químicas de MG6 (1) y dos análogos metabólicamente estables (2 y 3) descritos en el Ejemplo 33.

La Figura 14 representa la preparación de los C-glucósidos de MG6 descritos en el Ejemplo 33. (i) $\text{CH}_3\text{S}(\text{O})\text{CH}_3$, Ac_2O ; (ii) $\text{LiCH}_2\text{CO}_2\text{Et}$, THF luego HCl, -78°C hasta ta; (iii) Et_3SiH , $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, CH_3CN , 0°C hasta ta; (iv) NaOH, H_2O , THF, reflujo, luego HCl; (v) SOCl_2 ; (vi) 3-O-triisopropilsilil-6- β -aminomorfina, Et_3N , CH_2Cl_2 ; (vii) B_{10}NF , THF, H_2O ; (viii) H_2 , 10 % de Pd-C, MeOH; (ix) H_2 , 10 % de Pd-C, MeOH, HCl.

La Figura 15 representa estructuras químicas de norBNI y naltrindol (NTI).

La Figura 16 representa estructuras químicas de JDTC y guanidinnaltrindol (GNTI).

La Figura 17 representa las estructuras químicas de nalmefeno (1) y naltrexona (2).

La Figura 18 representa la síntesis general de antagonistas de opioides.

La Figura 19 representa el efecto del compuesto 6d del Ejemplo 38 sobre los signos somáticos de la abstinencia.

La Figura 20 representa el efecto del compuesto 6a del Ejemplo 35 sobre los signos somáticos de la abstinencia.

5 DESCRIPCIÓN DETALLADA

La presente divulgación se refiere a analgésicos y derivados de analgésicos, particularmente compuestos relacionados con opiáceos. La estructura, síntesis y evaluación biológica de estos compuestos se describen en el presente documento, además de composiciones farmacéuticas que comprenden estos compuestos y su uso farmacológico tal como, por ejemplo, para el tratamiento de dolor y adicción a sustancias. En ciertas realizaciones, los compuestos descritos en el presente documento están relacionados con el metabolito de morfina M6G. Inesperadamente, los análogos no relacionados con M6G poseyeron propiedades farmacológicas más favorables que M6G en varias pruebas funcionales *in vitro* e *in vivo*.

Estudios farmacológicos y metabólicos *in vitro* y modelos animales de diferentes componentes de señalización de receptores analgésicos y adicción a sustancias pueden predecir el desarrollo de medicaciones que serán eficaces en diferentes componentes de un modelo humano en el tratamiento de dolor y la adicción a sustancias. Usando una retroalimentación de química medicinal dinámica de los componentes *in vitro* e *in vivo*, ambos de los cuales racionalizan la información para facilitar el desarrollo definitivo de medicaciones, se han identificado compuestos útiles para, por ejemplo, el tratamiento de dolor y/o la adicción. La actividad farmacológica de estos compuestos en uno o más componentes del ciclo de adicción proporciona, entre otras cosas, una base para terapias de combinación de forma que múltiples componentes del ciclo de adicción puedan ser cubiertos por un agente farmacológico dado.

Para los fines de exponer realizaciones de la presente divulgación, se entiende que las fórmulas químicas descritas en el presente documento incluyen derivados farmacéuticamente aceptables de los compuestos respectivos, que incluyen sales, ésteres y amidas, además de todas las posibles disposiciones estereoquímicas de sustituyentes, que incluyen compuestos racémicos o estereoquímicamente puros.

Compuestos

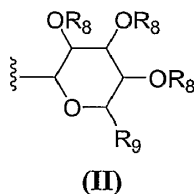
La presente invención se refiere a compuestos como se define en la reivindicación 1.

En un aspecto de la presente divulgación adicional, se proporcionan compuestos que tienen actividad farmacológica contra receptores analgésicos y que son útiles para, por ejemplo, el tratamiento de dolor o enfermedades o trastornos susceptibles a tratamiento mediante la modulación de tales receptores, que incluyen adicciones. Los compuestos de la presente divulgación generalmente tienen la siguiente fórmula I:



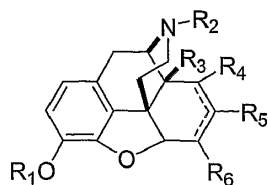
donde A es un analgésico o derivado del mismo, B es un grupo de enlace y C está seleccionado del grupo que consiste en arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido y un sacárido; y todos los derivados farmacéuticamente aceptables de los mismos. En variaciones preferidas, el analgésico A es un opiáceo. Opiáceos particularmente adecuados para su uso según la presente divulgación incluyen, por ejemplo, naltrexonas, fenilpiperidinas, piperidinoles, prodinas, piperidilpropionanilidas, isoprodinas, prodilidinas, benzomorfanos, morfanos, azabicclicos, morfinaos, prodinas, difenilaminoetilpropionatos, metadonas, isometadonas, propoxifenos, dextrometorfanos, benzazocin-8-oles, norbinaltrofinas, naltrindoles y guanidinnaltrindoles. El grupo de enlace B puede ser, por ejemplo, -S- o -NH(CO)(CH₂)_n-, donde el subíndice n es un número entero de 0 a 5.

En ciertas realizaciones, C es arilo o heteroarilo, opcionalmente sustituido con halógeno, alcoxi (C₁-C₅), nitro o CO₂R, donde R es H o alquilo (C₁-C₅). En realizaciones específicas, C es, por ejemplo, fenilo, tiofeno, o un sacárido. Sacáridos particularmente adecuados son aquellos que tienen la siguiente fórmula II:



donde cada R₈ es independientemente H, alquil (C₁-C₅)-C(O)-, aralquil (C₇-C₁₀)-C(O)-, aralquilo (C₇-C₁₀), alquilo (C₁-C₅), arilo (C₆-C₁₂) o aril (C₆-C₁₂)-(CO)-; R₉ es CH₂OH, CH₂O-alquilo (C₁-C₅), CH₂O₂C-alquilo (C₁-C₅), CH₂O.aralquilo (C₇-C₁₀), CH₂O-arilo (C₆-C₁₂), CO₂H, CO₂-alquilo (C₁-C₅), CO₂-arilo (C₆-C₁₂) o CO₂-aralquilo (C₇-C₁₀); y la línea ondulada indica el punto de unión al resto de la molécula.

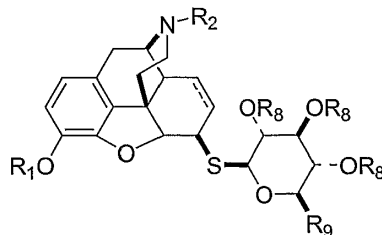
En una variación adecuada, el compuesto tiene la siguiente fórmula III:



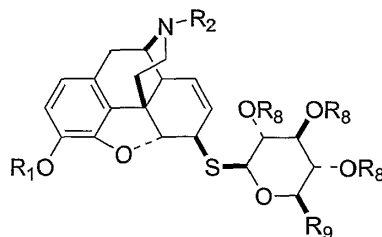
(III)

donde la línea discontinua indica un enlace sencillo, doble o normalizado; R₁ es H, alquil (C₁-C₅)-C(O)-, aralquil (C₇-C₁₀)-C(O)-, aralquilo (C₇-C₁₀), alquilo (C₁-C₅), arilo (C₆-C₁₂), aril (C₆-C₁₂)-(CO)-, o sililo; R₂ es alquilo (C₁-C₅), cicloalquilo (C₃-C₆), cicloalquil (C₃-C₆)-alquilo, cicloalquenil (C₅-C₇)-alquilo, arilo (C₆-C₁₂), aralquilo (C₇-C₁₂), heteroarilo (C₆-C₁₂), heteroaralquilo (C₇-C₁₂), alquenilo (C₂-C₅), alquinilo (C₂-C₅), opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado del grupo que consiste en halógeno, alcoxi (C₁-C₅), nitro, o CO₂R, donde R es H o alquilo (C₁-C₅); R₃ es H o OH; R₄ es H; R₅ es H o se combina con R₆ para formar un grupo heteroarilo sustituido con YR₇; R₆ es YR₇ o se combina con R₅ para formar un grupo heteroarilo sustituido con YR₇; Y es -S- o -NH(CO)(CH₂)_n-, donde el subíndice n es un número entero de 0 a 5; y R₇ es un arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, o un sacárido, teniendo el sacárido la fórmula II como se expone anteriormente. Grupos R₂ particularmente adecuados incluyen, por ejemplo, ciclopropilmetilo, ciclobutilmetilo y alilo.

En algunas realizaciones alternativas, el compuesto tiene la siguiente fórmula IVa o IVb:



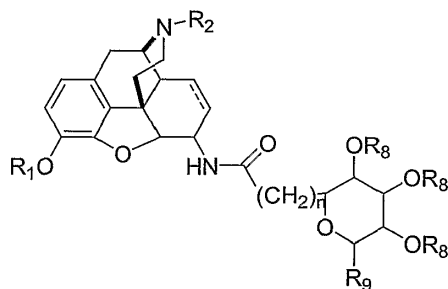
(IVa)



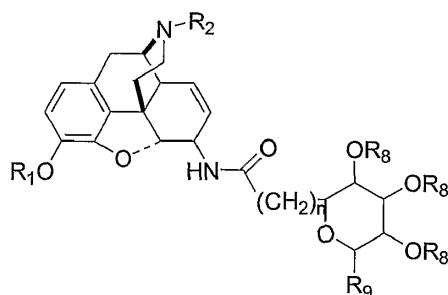
(IVb)

donde R₁ es H, alquil (C₁-C₅)-C(O)-, aralilo (C₇-C₁₀) o alquilo (C₁-C₅); R₂ es alquilo (C₁-C₅), (cicloalquil)alquilo C₃-C₆, (cicloalquenil)alquilo C₅-C₇, aril (C₆-C₁₂)-aralquilo (C₇-C₁₂), trans-alquenilo (C₄-C₅), alilo o furan-2-ilalquilo; cada R₈ es independientemente H, alquil (C₁-C₅)-C(O), aralil (C₇-C₁₀)-C(O), aralilo (C₇-C₁₀) o alquilo (C₁-C₅); y R₉ es CH₂OH, CH₂O₂C-alquilo (C₁-C₅), CH₂O-aralilo (C₇-C₁₀), CO₂H, CO₂-alquilo (C₁-C₅) o CO₂-aralquilo (C₇-C₁₀).

En otra variación más, el compuesto tiene la siguiente fórmula Va o Vb:



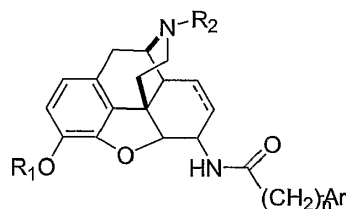
(Va)



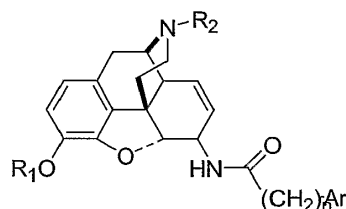
(Vb)

- 5 donde R_1 es H, alquil (C_1-C_5)-C(O)-, aralilo (C_7-C_{10}) o alquilo (C_1-C_5); R_2 es alquilo (C_1-C_5), (cicloalquil)alquilo C_3-C_6 , (cicloalquenil)alquilo C_5-C_7 , aril (C_6-C_{12})-aralquilo (C_7-C_{12}), trans-alquenilo (C_4-C_5), alilo o furan-2-ilalquilo; R_8 es independientemente H, alquil (C_1-C_5)-C(O), aralil (C_7-C_{10})-C(O), aralilo (C_7-C_{10}) o alquilo (C_1-C_5), R_9 es CH_2OH , CH_2O_2C -alquilo (C_1-C_5), CH_2O -aralilo (C_7-C_{10}), CO_2H , CO_2 -alquilo (C_1-C_5) o CO_2 -aralquilo (C_7-C_{10}); y el subíndice n es un número entero de 0 a 5.

En otras realizaciones más, el compuesto tiene la siguiente fórmula VIa o VIb:



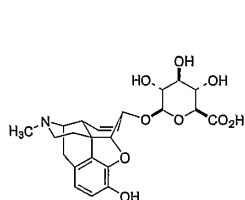
(VIa)



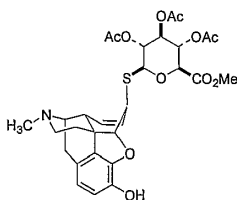
(VIb)

- 10 donde R_1 es H, alquil (C_1-C_5)-C(O)-, aralilo (C_7-C_{10}) o alquilo (C_1-C_5); R_2 es alquilo (C_1-C_5), (cicloalquil)alquilo C_3-C_6 , (cicloalquenil)alquilo C_5-C_7 , aril (C_6-C_{12})-aralquilo (C_7-C_{12}), trans-alquenilo (C_4-C_5), alilo o furan-2-ilalquilo; y el subíndice n es un número entero de 0 a 5.

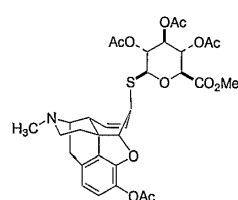
En realizaciones específicas, el compuesto de la presente divulgación tiene una cualquiera de las siguientes fórmulas VII a XXX:



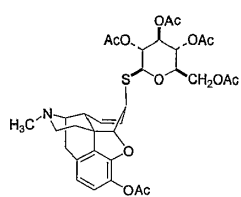
(VII)



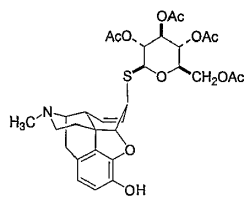
(VIII)



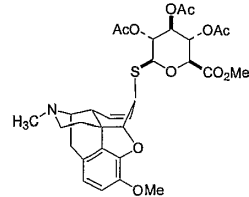
(IX)



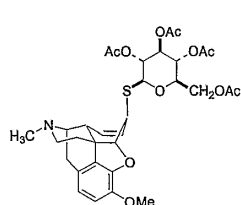
(X)



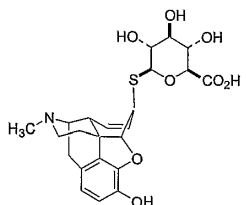
(XI)



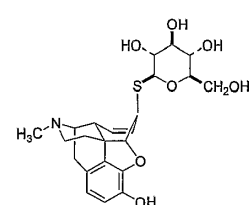
(XII)



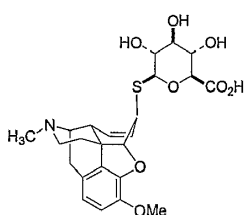
(XIII)



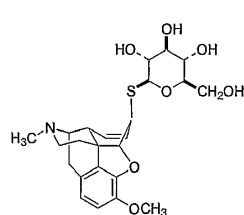
(XIV)



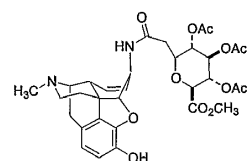
(XV)



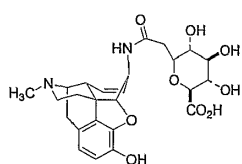
(XVI)



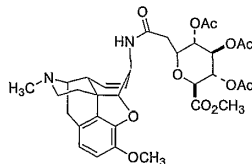
(XVII)



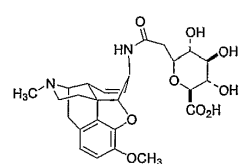
(XVIII)



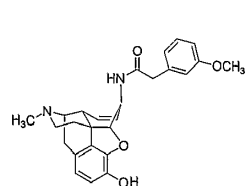
(XIX)



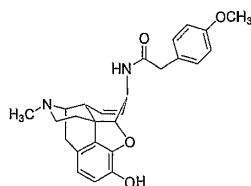
(XX)



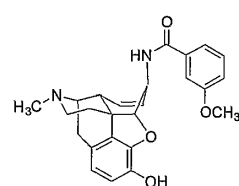
(XXI)



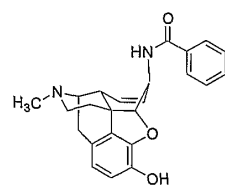
(XXII)



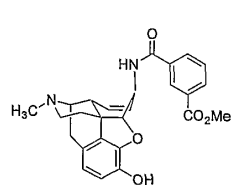
(XXIII)



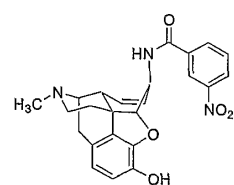
(XXIV)



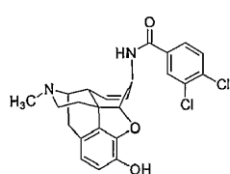
(XXV)



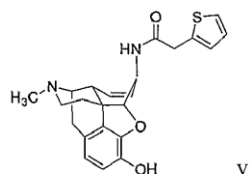
(XXVI)



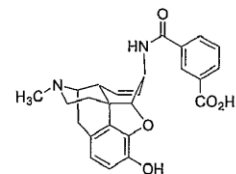
(XXVII)



(XXVIII)



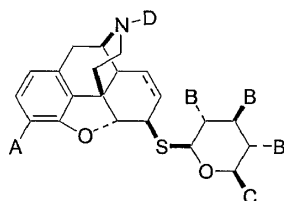
(XXIX)



(XXX)

Otras realizaciones

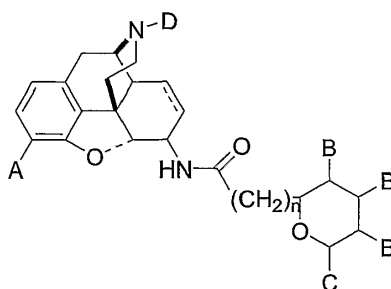
En ciertas realizaciones, los compuestos de la presente divulgación incluyen análogos de azufre de morfina, dihidromorfina-6-glucurónido, codeína y dihidrocodeína-6-glucurónido que tienen la siguiente fórmula IV:



(IV)

- 5 en la que A es OR, OH o OC(O)R; B es OC(O)R, OH o OR; C es CO₂R, CO₂H, CH₂OR o CH₂OH; D es alquilo, cicloalquilo, alquenilo, alquinilo, arilo opcionalmente sustituido o aralquilo opcionalmente sustituido; y R en los sustituyentes A, B, C, D es un grupo alquilo o arilo.

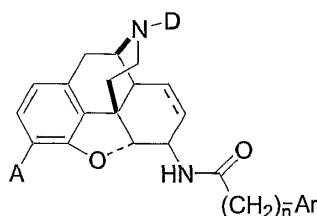
En otras realizaciones, los compuestos de la presente divulgación incluyen los análogos de codeína, dihidrocodeína, morfina y dihidromorfina que tienen la siguiente fórmula V:



(V)

10 donde A es RO, OH o OC(O)R; B es OC(O)R, OH o OR; C es CO₂R, CO₂H, CH₂OR o CH₂OH; D es alquilo, cicloalquilo, alquenilo, alquinilo, arilo opcionalmente sustituido o aralquilo opcionalmente sustituido; y R en los sustituyentes A, B, C, D es un grupo alquilo o arilo.

15 En todavía otras variaciones, los compuestos de la presente divulgación incluyen las amidas de morfina, dihidromorfina, codeína y dihidrocodeína de la siguiente fórmula VI:



(VI)

20 donde A es RO, OH o OC(O)R, donde n es un número entero de 0-5; arilo es fenilo, 3,4-diclorofenilo, 3-metoxifenilo, 4-metoxifenilo, 3-nitrofenilo, 3-carbometoxifenilo, 3-carboxifenilo o tiofen-2-ilo, o un derivado de arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido; D es alquilo, cicloalquilo, alquenilo, alquinilo, arilo opcionalmente sustituido o aralquilo opcionalmente sustituido; y R en los sustituyentes A y D es cada uno independientemente un grupo alquilo o arilo.

Los compuestos de fórmula IV pueden sintetizarse por la reacción S_N2 de los 6β-tosilatos de morfina, 3-O-acetilmorfina y codeína **1a-c** con las sales de sodio de los tiosacáridos **2a-b** en dimetilformamida (véase la Figura 1) dando **3a-f**. Para la preparación de los tosilotos de partida [véase L. H. Welsh, J. Org. Chem., 19:1409 (1954); G. Stork y F. Clarke, J. Am. Chem. Soc., 78:4619-4624 (1956)]. Los grupos protectores de éster se eliminan posteriormente agitando durante la noche en hidróxido sódico acuoso para proporcionar compuestos adicionales que son los S-β-D-glucurónidos o conjugados de S-β-D-glucosa de morfina, codeína y sus congéneres **4a-d**. Los tiosacáridos **2a-b** usados en estas preparaciones se prepararon mediante la reacción de los bromuros de glucosilo correspondientes con tioacetato de potasio, seguido de S-desacetilación selectiva con tiometóxido de sodio (véase la Figura 2). [Véase G. N. Bollenback et al., J. Org. Chem., 77:3310-3315 (1955)] para la preparación de los bromuros de glucosilo de partida [Véase Wallace et al., Tetrahedron Lett., 2693-2694 (1998)] para una S-desacetilación relacionada. Esta metodología sintética constituye una ruta de síntesis general para la unión de sacáridos a morfina,

codeína y sus derivados de *N*-17 en la posición C-6 mediante un átomo de azufre y es aplicable a la preparación de los derivados de dihidromorfina y dihidrocodeína de estos compuestos. Además, el utilizar los 6β-tosilatos de morfina, codeína y derivados permite la preparación de los derivados de C-6α de todos los compuestos anteriormente mencionados.

Los compuestos de fórmula V pueden sintetizarse a partir de las 6β-ftalimidas de morfina, dihidromorfina, codeína, dihidrocodeína y sus derivados de *N*-alquilo y cicloalquilo 6 (véase la Figura 3) [Véase S. Makleit et al., *Synthetic Commun.*, 21:407-412 (1991)]. Para los compuestos en la serie de la morfina, el grupo hidroxilo fenólico se protege como un silil éter mediante la reacción con cloruro de *terc*-butildimetilsililo o cloruro de triisopropilsililo e imidazol en dimetilformamida a temperatura ambiente. El grupo ftalimida se elimina calentando con hidrato de hidracina en EtOH dando las aminas 7. Las aminas 7 se hacen reaccionar con el cloruro de ácido de C-glucósidos 8 dando las amidas 9. Cuando R₁ en 9 es un silil éter, puede eliminarse mediante tratamiento con TBAF dando los fenoles 10. Los grupos protectores de azúcar en 9 o 10 se eliminan mediante tratamiento con NaOH acuoso o mediante hidrogenación dando los compuestos 11. Los C-glucósidos 8 usados en estas síntesis se prepararon por métodos conocidos [M. Lewis et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 104:4976-4978 (1982)]. Esta secuencia sintética proporciona una vía general para la unión de sacáridos a morfina y sus derivados de *N*-17 en la posición C-6 mediante un puente de amida y es aplicable a la preparación de los derivados de dihidromorfina y dihidrocodeína de estos compuestos.

Los compuestos de fórmula VI pueden sintetizarse a partir de la 6β-aminomorfina 7c (véase la Figura 4) usada en la preparación de compuestos de fórmula V. La amina 7c se trata con cloruros de ácido de arilo y heteroarilo dando las amidas 12a-h. El tratamiento de 12a-h con TBAF en THF acuoso proporciona las 6β-amidomorfinas 13a-h. El tratamiento del éster metílico 13e con hidróxido sódico acuoso proporciona los ácidos carboxílicos 14. Esta secuencia sintética proporciona una vía general para la unión de sustituyentes arilo y heteroarilo a morfina, codeína y sus derivados de alquilo de *N*-17 en la posición C-6 mediante un puente de amida y es aplicable a la preparación de los derivados de dihidromorfina y dihidrocodeína de estos compuestos. Esta metodología sintética también proporciona la preparación de los derivados de C-6a de todos los compuestos anteriores empezando con el epímero de C-6 de la amina 7c. La sustitución del sustituyente de *N*-metilo del N cabeza de puente para los compuestos descritos en el presente documento con sustituyentes ciclopropilmetilo o ciclobutilmetilo o similares normalmente proporcionará antagonistas de los receptores para la actividad descrita a continuación. Tales antagonistas son útiles para antagonizar la adicción a las drogas, adicción al juego, alcoholismo, u otras enfermedades del SNC. Además, la aplicación de la metodología sintética descrita en el presente documento (unión de sacáridos metabólicamente estables o sus homólogos químicos o equivalentes isostéricos) a otros analgésicos que incluyen naltrexona, fenilpiperidinas, piperidinoles, prodinas, piperidilpropionanilidas, isoprodinas, prodilidinas, benzomorfanos, morfanos, azabicyclanos, morfinaos, prodinas, difenilaminoetilpropionatos, metadonas, isometadonas, propoxifenos, dextrometorfanos, benzazocin-8-oles, y todos los estereoisómeros relacionados y derivados *N*-sustituidos (ciclopropilmetilo, ciclobutilmetilo, alilo, y similares), conducirá a agentes del SNC farmacológicamente activos útiles para reducir el dolor, además de para el tratamiento de adicción y otras enfermedades.

En aún otras variaciones, el agente relacionado con analgésico de la presente invención tiene una carga constante (es decir, está ionizado el 100 % o sustancialmente el 100 % del tiempo) a pH fisiológico. Tales variaciones pueden sintetizarse, por ejemplo, haciendo salir una amina cuaternaria o resto guanidino del grupo aromático o de sacárido. Tales modificaciones normalmente darán derivados que no entran en el cerebro y, por tanto, son útiles para las indicaciones periféricas (por ejemplo, como analgésicos periféricos para reducir el dolor en la periferia sin efecto significativo sobre los receptores del cerebro).

Composiciones farmacéuticas y métodos de administración

Los agentes relacionados con analgésicos de la presente invención y divulgación adicional son útiles en una variedad de aplicaciones referentes a la modulación de la señalización de receptores analgésicos dentro del sistema nervioso. Por ejemplo, los agentes de la presente invención son útiles como analgésicos para el tratamiento de dolor (por ejemplo, para aliviar el dolor asociado a procedimientos quirúrgicos o enfermedades terminales tales como cáncer). Los agentes también son útiles para el tratamiento de enfermedades o trastornos susceptibles a mejora mediante la modulación de la señalización de receptores analgésicos (por ejemplo, opioides), particularmente, por ejemplo, enfermedades o trastornos del SNC. Tales enfermedades o trastornos incluyen, por ejemplo, diversas adicciones. Adicciones susceptibles a tratamiento usando los agentes descritos en el presente documento incluyen, por ejemplo, adicciones a fármacos tales como narcóticos (por ejemplo, morfina, heroína y otros opiáceos), nicotina y alcohol, además de adicciones de conducta (por ejemplo, adicción al juego).

Por consiguiente, la presente divulgación proporciona además composiciones farmacéuticas y métodos para el tratamiento de dolor, además de para el tratamiento de adicciones y otros trastornos relacionados con el SNC. Los agentes relacionados con analgésicos de la presente divulgación pueden distribuirse o administrarse a un mamífero, por ejemplo, sujeto humano, solos, en forma de una sal farmacéuticamente aceptable o precursor hidrolizable de la misma, o en forma de una composición farmacéutica en la que el compuesto se mezcla con vehículos adecuados o excipiente(s) en una cantidad terapéuticamente eficaz. En una realización preferida, para tratar una adicción a las drogas en un sujeto y cuando se administra en una pauta terapéuticamente eficaz apropiada, está presente una cantidad suficiente del agente relacionado con analgésico para inhibir receptores analgésicos *in vivo* de manera que predispongan al sujeto a ingerir cantidades más bajas de un fármaco.

Los agentes relacionados con analgésicos que se usan en los métodos de la presente divulgación pueden administrarse como composiciones farmacéuticas que comprenden el agente junto con uno o varios de otros componentes farmacéuticamente aceptables. Las composiciones farmacéuticas pueden estar en forma de sólidos (tales como, por ejemplo, polvos, gránulos, comprimidos recubiertos de azúcar, comprimidos, o píldoras), semi-sólidos (tales como, por ejemplo, geles, suspensiones o pomadas), líquidos o gases (tales como, por ejemplo, aerosoles o inhalantes).

Formulaciones adecuadas para su uso en la presente divulgación se encuentran en, por ejemplo, [Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Philadelphia, PA, 17th ed. (1985) y Langer, Science, 249:1527-1533 (1990)]. Las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento pueden fabricarse de un modo convencional, por ejemplo, procesos de mezcla, disolución, granulación, preparación de comprimidos recubiertos de azúcar, trituración, emulsión, encapsulación, atrapamiento o liofilización.

En la preparación de las formulaciones de la presente divulgación, alternativamente pueden usarse equivalentes farmacéuticamente reconocidos de cada uno de los compuestos. Estos equivalentes farmacéuticamente reconocidos pueden ser ésteres, amidas o sales farmacéuticamente aceptables, o sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables.

Una sal farmacéuticamente aceptable es una sal de metal, metal alcalinotérreo o una de amonio no tóxica comúnmente usada en la industria farmacéutica que incluye, por ejemplo, una sal de sodio, potasio, litio, calcio, magnesio, bario, amonio y de protamina cinc, que se prepara por métodos muy conocidos en la técnica. El término también incluye una sal de adición de ácido no tóxica, que se prepara generalmente haciendo reaccionar los compuestos de la presente divulgación con un ácido orgánico o inorgánico adecuado. Sales representativas incluyen, por ejemplo, clorhidrato, bromhidrato, sulfato, bisulfato, acetato, oxalato, valerato, oleato, laurato, borato, benzoato, lactato, fosfato, tosilato, citrato, maleato, fumarato, succinato, tartrato y napsilato.

Una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable es una sal que retiene la eficacia biológica y propiedades de las bases libres y que no es biológicamente o de otro modo no deseable, formada con ácidos inorgánicos tales como, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, y similares, y ácidos orgánicos tales como, por ejemplo, ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido málico, ácido malónico, ácido succínico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido salicílico, y similares [véase, por ejemplo, Bundgaard ed., Design of Prodrugs, Elsevier Science Publishers, Amsterdam (1985)].

Los agentes relacionados con analgésicos pueden formularse con excipientes, diluyentes o vehículos comunes, y comprimirse en comprimidos, para formularse como elixires o disoluciones para la administración conveniente por vía oral. Los agentes también pueden formularse como formas de dosificación de liberación sostenida y similares.

Con el fin de ejercer los efectos terapéuticos deseados asociados a la unión de receptores analgésicos en el cerebro, los agentes relacionados con analgésicos de la presente divulgación deben llegar a las células del cerebro y tejido cerebral, requiriendo su pase de la sangre al cerebro cruzando la barrera hematoencefálica, que comprende las membranas de microcapilares del endotelio cerebrovascular. La presente divulgación proporciona métodos de administración de una pauta de dosificación terapéuticamente eficaz del agente relacionado con analgésico a un tejido periférico en un paciente (es decir, tejidos distintos de tejidos del sistema nervioso central). Esto puede lograrse de diversas formas, que incluyen administración oral, bucal, rectal, parenteral, intraperitoneal, intradérmica, transdérmica, subcutánea, intratraqueal e intramuscular. Además, los agentes pueden administrarse de una manera local en vez de sistémica, en una formulación de liberación prolongada o de liberación sostenida (por ejemplo, analgesia controlada por el paciente). Además, los agentes pueden administrarse en una vesícula, en particular un liposoma [véase, por ejemplo, Langer, arriba; Treat, In Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer, Lopez-Berestein and Fidler eds., Liss, New York, pp. 353-365 (1989)].

Para inyección, los agentes relacionados con analgésicos de la presente divulgación pueden formularse en preparaciones disolviendo, suspendiendo o emulsionándolos en un disolvente acuoso o no acuoso tal como, por ejemplo, aceites vegetales u otros similares, glicéridos de ácidos alifáticos sintéticos, ésteres de ácidos alifáticos superiores o propilenglicol; y, si se desea, con aditivos convencionales tales como, por ejemplo, solubilizantes, agentes isotónicos, agentes de suspensión, agentes emulsionantes, estabilizadores y conservantes. Preferentemente, para inyección, los compuestos de la presente divulgación pueden formularse en disoluciones acuosas, preferentemente en tampones fisiológicamente compatibles tales como disolución de Hank, disolución de Ringer, o tampón de solución salina fisiológica. Para administración transmucosa, en la formulación se usan penetrantes apropiados a la barrera que va a atravesarse. Tales penetrantes son generalmente conocidos en la técnica.

Para administración por vía oral, el agente relacionado con analgésico puede formularse fácilmente combinando con vehículos farmacéuticamente aceptables que son muy conocidos en la técnica. Tales vehículos permiten formular los compuestos como comprimidos, píldoras, comprimidos recubiertos de azúcar, cápsulas, emulsiones, suspensiones, lipófilas e hidrófilas, líquidos, geles, jarabes, lechadas, suspensiones, y similares, para ingestión oral por un sujeto

- que va a tratarse. Pueden obtenerse preparaciones farmacéuticas para uso oral mezclando los compuestos con un excipiente sólido, opcionalmente moliendo una mezcla resultante, y procesando la mezcla de gránulos, después de añadir auxiliares adecuados, si se desea, para obtener comprimidos o núcleos de comprimidos recubiertos de azúcar. Excipientes particularmente adecuados incluyen cargas tales como, por ejemplo, azúcares (por ejemplo, lactosa, sacarosa, manitol, o sorbitol), preparaciones de celulosa (por ejemplo, almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz, almidón de patata, gelatina, goma tragacanto, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio y/o polivinilpirrolidona (PVP). Si se desea, pueden añadirse agentes disgregantes, tales como la polivinilpirrolidona reticulada, agar, o ácido algínico o una sal del mismo tal como, por ejemplo, alginato de sodio.
- Se proporcionan núcleos de comprimidos recubiertos de azúcar con recubrimientos adecuados. Para este fin, pueden usarse disoluciones de azúcar concentradas, que opcionalmente pueden contener goma arábiga, talco, polivinilpirrolidona, gel carbopol, polietilenglicol, dióxido de titanio, disoluciones de laca y/o disolventes orgánicos adecuados o mezclas de disolventes. Pueden añadirse tintas o pigmentos a los comprimidos o recubrimientos de comprimido recubierto de azúcar para la identificación o para caracterizar diferentes combinaciones de dosis de compuesto activo.
- Preparaciones farmacéuticas que pueden usarse por vía oral incluyen, por ejemplo, cápsulas duras hechas de gelatina, además de cápsulas selladas blandas hechas de gelatina y un plastificante, tales como, por ejemplo, glicerol o sorbitol. Las cápsulas duras pueden contener los principios activos en mezcla con carga tales como, por ejemplo, lactosa, aglutinantes (por ejemplo, almidones) y/o lubricantes (por ejemplo, talco o estearato de magnesio) y, opcionalmente, estabilizadores. En cápsulas blandas, los compuestos activos pueden disolverse o suspenderse en líquidos adecuados, tales como, por ejemplo, aceites grasos, parafina líquida o polietilenglicol líquido.
- Para administración por vía oral, las composiciones pueden tomar la forma de comprimidos o pastillas para chupar formuladas de un modo convencional.
- Para administración por inhalación, los compuestos para su uso según la presente divulgación se administran convenientemente en forma de una preparación de espray de aerosol de envases presurizados o un nebulizador, con el uso de un propulsor apropiado, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado, o de inhaladores de polvo seco libres de propulsor. En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosificación puede determinarse, por ejemplo, proporcionando una válvula para administrar una cantidad dosificada. Pueden formularse cápsulas y cartuchos de, por ejemplo, gelatina para su uso en un inhalador o insuflador que contiene una mezcla en polvo del compuesto y una base de polvo adecuada tal como, por ejemplo, lactosa o almidón.
- Pueden formularse agentes relacionados con analgésicos de la presente divulgación para administración parenteral mediante inyección, por ejemplo, mediante inyección en bolo o infusión continua. Las formulaciones para inyección pueden presentarse en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, en ampollas o en recipientes multidosis, con un conservante añadido. Las composiciones pueden tomar formas tales como, por ejemplo, suspensiones, disoluciones, o emulsiones en vehículos basados en aceite o acuosos, y pueden contener agentes de formulación tales como, por ejemplo, agentes de suspensión, estabilizantes y/o dispersantes.
- Formulaciones farmacéuticas para administración parenteral incluyen disoluciones acuosas de los compuestos activos en forma soluble en agua. Alternativamente, las suspensiones de los compuestos activos pueden prepararse como suspensiones para inyección aceitosas apropiadas. Disolventes o vehículos lipófilos adecuados incluyen aceites grasos (por ejemplo, aceite de sésamo), ésteres de ácidos grasos sintéticos (por ejemplo, oleato de etilo o triglicéridos), o liposomas. Las suspensiones para inyección acuosa pueden contener sustancias que aumentan la viscosidad de la suspensión, tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa de sodio, sorbitol o dextrano. Opcionalmente, la suspensión también puede contener estabilizadores adecuados o agentes que aumentan la solubilidad de los compuestos para permitir la preparación de disoluciones altamente concentradas. Alternativamente, el principio activo puede estar en forma de polvo para constitución con un vehículo adecuado, por ejemplo, agua libre de pirógenos estéril, antes de uso.
- Los agentes relacionados con analgésicos también pueden formularse en composiciones rectales tales como supositorios o enemas de retención, por ejemplo, que contienen bases de supositorio convencionales tales como, por ejemplo, manteca de cacao, carboceras, polietilenglicoles, u otros glicéridos, todos los cuales funden a la temperatura corporal, pero están solidificados a temperatura ambiente.
- Además de las formulaciones descritas previamente, los compuestos también pueden formularse como una preparación de liberación prolongada. Tales formulaciones de acción prolongada pueden administrarse por implantación (por ejemplo, por vía subcutánea o por vía intramuscular) o mediante inyección intramuscular. Por consiguiente, por ejemplo, los compuestos pueden formularse con materiales poliméricos o hidrófobos adecuados (por ejemplo, como una emulsión en un aceite aceptable) o resinas de intercambio iónico, o como derivados moderadamente solubles (por ejemplo, una sal moderadamente soluble).

Alternativamente, pueden emplearse otros sistemas de administración para compuestos farmacéuticos hidrófobos. Los liposomas y emulsiones son ejemplos muy conocidos de vehículos de administración o vehículos para fármacos hidrófobos. En algunos métodos, pueden emplearse, por ejemplo, liposomas ocultos de circulación larga. Tales liposomas se describen generalmente en la patente de EE.UU. N.º 5.013.556 a Woodle et al.

- 5 Los compuestos de la presente divulgación también pueden administrarse por medios de liberación controlada y/o dispositivos de administración. En ciertas variaciones, se usa una bomba [véase, por ejemplo, Langer, arriba; Sefton, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng., 14:201 (1987); Buchwald et al., Surgery, 88:507 (1980); Saudek et al., N. Engl. J. Med., 321:574 (1989)]. En otras realizaciones, se usan materiales poliméricos [véase, por ejemplo, Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise eds., CRC Pres., Boca Raton, Florida (1974); Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance, Smolen and Bull eds., Wiley, New York (1984); Ranger and Peppas, J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem., 23:61 (1983); véase también Levy et al., Science, 228:190 (1985); During et al., Ann. Neurol., 25:351 (1989); Howard et al., J. Neurosurg., 71:105 (1989)]. También se describen medios de liberación controlada y dispositivos de administración en, por ejemplo, las patentes de EE.UU. N.º 3.845.770; 3.916.899; 3.536.809; 3.598.123; y 4.008.719.

- 15 También pueden emplearse ciertos disolventes orgánicos tales como, por ejemplo, sulfóxido de dimetilo (DMSO), aunque normalmente a costa de mayor toxicidad. Adicionalmente, los compuestos pueden administrarse usando un sistema de liberación sostenida tal como, por ejemplo, matrices semipermeables de polímeros hidrófobos sólidos que contienen el agente terapéutico. Se han establecido diversos tipos de materiales de liberación sostenida. Las cápsulas de liberación sostenida pueden, dependiendo de su naturaleza química, liberar los compuestos durante algunas horas hasta durante 100 días.

Las composiciones farmacéuticas también pueden comprender vehículos o excipientes de fase sólida o gel adecuados. Ejemplos de tales vehículos o excipientes incluyen, pero no se limitan a, carbonato cálcico, fosfato de calcio, diversos azúcares, almidones, derivados de celulosa, gelatina y polímeros tales como, por ejemplo, polietilenglicoles.

- 25 Para el tratamiento de la adicción a las drogas, los compuestos de la presente divulgación también pueden administrarse incorporando el agente en un producto que contiene fármaco (por ejemplo, en el caso de ingestión de nicotina, un producto de tabaco tal como, por ejemplo, un cigarrillo). Por ejemplo, en ciertas realizaciones, un compuesto de la presente divulgación se pulveriza o se aplica de otro modo sobre el producto que contiene fármaco antes de la ingestión.
- 30 Composiciones farmacéuticas adecuadas para su uso según la presente divulgación incluyen composiciones en las que los principios activos están contenidos en una cantidad terapéuticamente eficaz. Las cantidades terapéuticamente eficaces para los métodos de la presente divulgación pueden depender de una variedad de factores, que incluyen, por ejemplo, edad, peso corporal, salud general, sexo, dieta, tiempo y modo de administración, velocidad de eliminación, combinación de fármacos, el criterio del médico práctico y la gravedad de la afección particular que está tratándose. La cantidad de agente activo también dependerá de la actividad específica del agente relacionado con opiáceos y si ese agente se co-administra o no con cualquier otro componente terapéutico o profiláctico.

- 40 Normalmente, un sujeto tratado según los métodos proporcionados en el presente documento se ha identificado como que padece dolor; ha sido diagnosticado con una enfermedad o trastorno susceptible a tratamiento o profilaxis mediante la modulación de receptores analgésicos (por ejemplo, opioides); o se ha identificado de otro modo como un sujeto que obtendrá un beneficio fisiológico usando el compuesto. En ciertas variaciones, un sujeto, que padece dolor o diagnosticado con una enfermedad o trastorno susceptible a tratamiento o profilaxis mediante la modulación de receptores analgésicos (por ejemplo, adicción), no está padeciendo una segunda enfermedad o trastorno. Además, en algunas realizaciones, el sujeto se monitoriza durante el tratamiento para un efecto fisiológico y/o clínico. Por ejemplo, para el tratamiento de dolor, un sujeto puede monitorizarse para gravedad relativa de dolor durante el transcurso del tratamiento; o, para el tratamiento de una enfermedad o trastorno susceptible a mejora mediante la modulación de la señalización de receptores analgésicos, un sujeto puede monitorizarse para uno o más síntomas asociados a la enfermedad o trastorno.

EJEMPLOS

- 50 Los siguientes ejemplos se ofrecen para ilustrar, pero no para limitar, la invención reivindicada. Los números de referencia de los compuestos para los Ejemplos 1-32 se corresponden con aquellos usados anteriormente en este documento. Se usan diferentes denominaciones de referencias de compuestos en cada uno del Ejemplo 33 y, conjuntamente, los Ejemplos 34-45.

- 55 La siguiente información general se aplica con respecto a la síntesis y análisis de los compuestos expuestos en los Ejemplos 1-32: Todas las reacciones se realizaron bajo una presión de nitrógeno positiva con agitación magnética a temperatura ambiente usando material de vidrio secado en estufa, a menos que se indique lo contrario. Se transfirieron líquidos sensibles al aire y la humedad mediante jeringa a través de tabiques de goma. Se usó gel de sílice (230-400 de malla) para la cromatografía en columna. Se secó DMF por filtración a través de una columna de

alúmina neutra y se guardó sobre tamices moleculares de 4 Å activados bajo nitrógeno antes de uso. Todos los otros disolventes y reactivos se usaron como se recibieron. Se registraron espectros de RMN ^1H y RMN ^{13}C a 500 MHz y 125 MHz, respectivamente. Los puntos de fusión están sin corregir. Donde no se especifican análisis de combustión, se determinaron purezas analíticas por HPLC de fase directa usando un cromatógrafo de líquidos Hitachi L74 con un integrador D7500 y una columna de acero inoxidable Hamilton PRP-I (250 mm x 4,6 mm de d.i.). Fases móviles de HPLC: A = 55:45:0,01 de MeOH/isopropanol/ HClO_4 ; B = 45/55/0,01 de MeOH/isopropanol/ HClO_4 ; C = 70:30 de CH_3CN /MeOH; D = MeOH.

Además, "tipo I", "tipo II" y "tipo III", como se usan en el presente documento más adelante, se refieren generalmente a los compuestos de fórmulas IV, V y VI, respectivamente, descritos arriba.

10 **Ejemplo 1: 6 β -S-(Metil-2',3',4'-tri-O-acetil- β -D-glucopiranosiluronato)morfina 3a**

Se añadió una dispersión al 60 % de NaH (46 mg, 1,16 mmoles) a una disolución de DMF a 0 °C de **2a** (424 mg, 1,21 mmoles) y la mezcla roja resultante se agitó durante 10 min. A la mezcla de tiol así formada se añadió a 0 °C disolución de DMF (8 ml) de **1b** (183 mg, 0,416 mmoles) por jeringa durante 1 min. La disolución resultante se agitó durante 4 h mientras que se calentaba a ta. La reacción se vertió en 0,5 % de HC acuoso (20 ml) y el pH se aumentó a 9 por la adición cuidadosa de NaHCO_3 sólido. La mezcla se extrajo con CH_2Cl_2 (3 X 50 ml) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con H_2O (10 ml), salmuera (10 ml), se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y se concentraron dando un sólido gris que se purificó por cromatografía ultrarrápida (15 X 2,5 cm de SiO_2 , 60:1 a 20:1 de CH_2Cl_2 /EtOH) para proporcionar **3a** como un sólido blanquecino (144 mg, 56 %). Se obtuvo una muestra analítica de **3a** como un sólido blanco por recristalización en EtOH absoluto: R_f = 0,10 (20:1 de CH_2Cl_2 /MeOH); pf = 135 °C (descompuesto); RMN ^1H δ 6,63 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 6,50 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 5,81 (ddd, J = 9,1, 5,7, 3,0 Hz, 1H), 5,29-5,21 (m, 2H), 5,05 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 5,03 (s, 1H), 4,70 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 4,06 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 3,74 (s, 3H), 3,31 (m, 1H), 3,03-2,99 (m, 2H), 2,58 (dd, J = 11,7, 4,0 Hz, 1H), 2,43 (s, 3H), 2,38-2,28 (m, 2H), 2,15-2,09 (m, 2H), 2,05 (s, 3H), 2,02 (s, 3H), 1,76 (dd, J = 12,2, 1,8 Hz, 1H); RMN ^{13}C (CDCl_3) δ 170,3, 169,6, 169,5, 167,0, 144,7, 138,5, 131,8, 130,4, 128,5, 126,7, 119,7, 116,8, 93,7, 84,6, 76,3, 73,4, 70,0, 69,4, 59,2, 53,1, 47,2, 45,0, 44,5, 43,1, 39,8, 35,6, 20,9, 20,8, 20,7; HRMS calcd para $\text{C}_{30}\text{H}_{36}\text{NO}_{11}\text{S}$ [$M + H^+$] 618,2009, hallado 618,2011; se encontró que la pureza promedio de **3a** era ≥ 99 % por HPLC analítica dando t_R = 3,47 min (fase móvil A) y t_R = 3,98 min (fase móvil B).

Ejemplo 2: 3-O-Acetil-6 β -S-(metil-2',3',4'-tri-O-acetil- β -D-glucopiranosiluronato)morfina 3b

Según el procedimiento descrito para **3a**, NaH (53 mg, 1,33 mmoles), **1a** (484 mg, 1,38 mmoles) y **2a** (246 mg, 0,51 mmoles) proporcionaron **3b** como un polvo blanquecino (211 mg, 63 %): R_f = 0,33 (20:1 de CH_2Cl_2 /EtOH); pf 194 °C (descompuesto); RMN ^1H (CDCl_3) δ 6,74 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,58 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 5,83-5,80 (m, 1H), 5,53 (dd, J = 1,5, 10,2 Hz, 1H), 5,29-5,21 (m, 2H), 5,09 (s, 1H), 5,00 (t, 1H), 4,72 (d, J = 10,3 Hz, 1H), 4,06 (d, J = 9,3 Hz, 1H), 3,76-3,73 (4H), 3,33 (m, 1H), 3,07-3,03 (2H), 2,60-2,58 (m, 1H), 2,44 (s, 3H), 2,37-2,20 (s, 3H sobre m, 2H), 2,15 (dt, J = 3,7, 11,8 Hz, 1H), 2,04 (s, 3H), 2,03 (s, 3H), 2,02 (s, 3H), 1,80 (d, J = 11,6 Hz, 1H); RMN ^{13}C (CDCl_3) δ 170,3, 169,5, 169,4, 168,8, 167,0, 149,0, 133,0, 132,6, 132,0, 131,8, 128,0, 121,8, 119,5, 94,5, 85,1, 76,2, 73,3, 70,3, 69,4, 59,0, 53,0, 46,9, 45,6, 44,5, 43,2, 40,0, 35,7, 20,93, 20,90, 20,8, 20,7; EM (ESI) m/z = 660 [$M + H^+$]; Anal. ($\text{C}_{32}\text{H}_{37}\text{NO}_{12}\text{S}$) calcd: C 58,26; H 5,65; N 2,12; S 4,86. Hallado C 57,94; H 5,75; N 2,07; S 4,97.

Ejemplo 3: 3-O-Acetil-6 β -S-(2',3',4',5'-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosil)-6 β -tiomorfina 3c

Según el método descrito para **3a**, tiol **2b** (500 mg, 1,37 mmoles), NaH (53 mg, 1,32 mmoles) y tosilato **1b** (246 mg, 0,51 mmoles) dieron **3c** como una espuma blanquecina (255 mg, 74 %): R_f = 0,20 (20:1 de CH_2Cl_2 /MeOH); pf = 151,9 °C; RMN ^1H (CDCl_3) δ 6,73 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,58 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 5,83-5,79 (m, 1H), 5,50 (dd, J = 1,8, 9,7 Hz, 1H), 5,24-5,17 (m, 2H), 5,04 (t, J = 9,9 Hz, 1H), 4,96 (t, J = 9,9 Hz, 1H), 4,69 (d, J = 10,2 Hz, 1H), 4,19 (d, J = 4,2 Hz, 2H), 3,79-3,75 (m, 1H), 3,71 (d, J = 6,0 Hz, 1H), 3,30 (dd, J = 3,3, 5,6 Hz, 1H), 3,04 (d, J = 18,8 Hz, 1H), 2,57 (dd, J = 4,0, 12,2 Hz, 1H), 2,42 (s, 3H), 2,34-2,29 (m, 2H), 2,14-2,11 (m, 1H), 2,07 (s, 6H), 2,05 (s, 6H), 2,00 (s, 6H), 1,80-1,77 (m, 1H); RMN ^{13}C (CDCl_3) δ 170,8, 170,1, 169,5, 169,3, 169,5, 148,8, 132,8, 132,1, 131,7, 131,6, 127,9, 121,6, 119,3, 94,4, 85,1, 75,9, 73,8, 70,3, 68,5, 62,4, 58,8, 46,7, 45,8, 44,3, 43,0, 39,7, 35,6, 20,7, 20,6, 20,5; MS m/z = 674 [$M + H^+$]; HRMS m/z calcd para 674,2271, hallado 674,2238; se encontró que la pureza promedio de **3c** era del 97,3 % por HPLC analítica dando t_R = 4,86 min (fase móvil A) y t_R = 5,66 min (fase móvil B).

Ejemplo 4: 6 β -S-(2',3',4',5'-Tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosil)-6 β -tiomorfina 3d

Este compuesto se aisló como un producto secundario en la preparación de **3c** (47 mg, 14,6 %): R_f = 0,08 (20:1 de CH_2Cl_2 /MeOH); pf 165,4 °C; RMN ^1H δ 6,63 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,51 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 5,79 (ddd, J = 3,6, 5,8, 9,6 Hz, 1H), 5,50 (dd, J = 1,7, 9,6 Hz, 1H), 5,22 (t, J = 9,3 Hz, 1H), 5,09-4,99 (m, 3H), 4,69 (d, J = 10,2 Hz, 1H), 4,27-4,19 (m, 2H), 3,78-3,74 (m, 1H), 3,67 (d, J = 5,8 Hz, 1H), 3,32 (m, 1H), 3,01 (d, J = 18,9 Hz, 1H) sobre bs (1H), 2,61-2,58 (m, 1H), 2,44 (s, 3H), 2,39-2,27 (m, 2H), 2,16-2,11 (m, 2H), 2,08 (s, 3H), 2,06 (s, 3H), 2,05 (s, 3H), 2,03 (s, 3H), 1,78-1,75 (m, 1H); RMN ^{13}C δ 171,1, 170,4, 169,69, 169,66, 144,6, 130,3, 131,8, 130,6, 128,3, 126,9, 119,7, 116,7, 94,2, 84,9, 76,1, 74,0, 70,4, 68,7, 62,5, 59,2, 47,2, 45,8, 44,5, 43,2, 39,8, 35,8, 21,0, 20,83, 20,80, 20,6; MS m/z = 632 [$M + H^+$]; HRMS m/z calcd para $\text{C}_{31}\text{H}_{38}\text{NO}_{11}\text{S}$ 632,2166, hallado 632,2136; se encontró que la pureza promedio de **3d** era ≥ 98 % por HPLC analítica dando t_R = 3,98 min (fase móvil A) y t_R = 4,40 min (fase móvil B).

Ejemplo 5: 6β-S-(Metil-2',3',4'-tri-O-acetil-β-D-glucopiranosiluronato)codeína 3e**(Ejemplo de referencia)**

Según el procedimiento general descrito para **3a**, **1c** (231 mg, 0,51 mmoles), **2a** (483 mg, 1,38 mmoles) y NaH (1,33 mmoles) dieron **3e** como un sólido blanquecino (249 mg, 77 %): $R_f = 0,30$, 20:1 de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOH}$; $p_f = 172^\circ\text{C}$; RMN ^1H (CDCl_3) δ 6,64 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 6,54 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 5,82 (ddd, $J = 3,0, 6,0, 9,2$ Hz, 1H), 5,53 (dd, $J = 1,8, 9,4$ Hz, 1H), 5,27-5,22 (m, 2H), 5,14 (s, 1H), 4,99 (t, $J = 2,1$ Hz, 1H), 4,71 (d, $J = 10,3$ Hz, 1H), 4,02 (d, $J = 7,3$ Hz, 1H), 3,83 (s, 3H), 3,79 (d, $J = 6,0$ Hz, 1H), 3,73 (s, 3H), 3,29 (dd, $J = 3,3, 5,8$ Hz, 1H), 3,05-3,00 (d, $J = 19,0$ Hz, 1H sobre m, 1H), 2,55 (dd, $J = 4,3, 12,2$ Hz, 1H), 2,42 (s, 3H), 2,35 (td, $J = 3,4, 12,4$ Hz, 1H), 2,29 (dd, $J = 6,0, 19,0$ Hz, 1H), 2,15 (td, $J = 5,0, 12,4$ Hz, 1H), 2,02 (s, 3H), 2,016 (s, 3H), 2,00 (s, 3H), 1,77 (dd, $J = 1,5, 12,3$ Hz, 1H); RMN ^{13}C δ 170,2, 169,5, 169,4, 166,9, 146,3, 142,2, 133,1, 130,7, 127,9, 127,7, 119,1, 112,8, 93,6, 85,2, 76,1, 73,4, 70,3, 69,3, 59,1, 56,4, 53,0, 47,0, 45,5, 44,7, 43,3, 40,0, 36,2, 20,9, 20,8, 20,7, 20,6; EM (ESI) 632 $[\text{M} + \text{H}]^+$; Anal. ($\text{C}_{31}\text{H}_{37}\text{NO}_{11}\text{S}$) C, H, N, S.

Ejemplo 6: 6-S-(2',3',4',5'-Tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil)6β-tiocodeína, 3f**(Ejemplo de referencia)**

Según el procedimiento descrito para **3a**, el tiol **2b** (440 mg, 1,21 mmoles), NaH (47 mg, 1,16 mmoles) y **1c** (203 mg, 0,448 mmoles) proporcionaron **3f** como una espuma blanquecina (237 mg, 82 %). Se obtuvo una muestra analítica por recristalización en hexanos hirviendo: $R_f = 0,26$ (20:1 de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOH}$); $p_f = 142,5^\circ\text{C}$; RMN ^1H (CDCl_3) δ 6,65 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 6,55 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 5,85-5,81 (m, 1H), 5,52 (dd, $J = 1,9, 9,6$ Hz, 1H), 5,22-5,19 (m, 2H), 5,06 (t, $J = 9,8$ Hz, 1H), 4,97 (dd, $J = 9,5, 10,1$ Hz, 1H), 4,69 (d, $J = 10,1$ Hz, 1H), 4,23-4,16 (m, 2H), 3,83 (s, 3H), 3,76 (d, $J = 6,0$ Hz, 1H), 3,76-3,71 (m, 1), 3,29 (dd, $J = 3,3, 5,8$ Hz, 1H), 3,06-3,01 (m, 2H), 2,56 (dd, $J = 4,0, 12,2$ Hz, 1H), 2,42 (s, 3H), 2,38-2,30 (m, 2H), 2,18-2,15 (m, 1H), 2,12 (s, 3H), 2,09 (s, 6H), 2,00 (s, 3H), 1,99-1,80 (m, 1H); RMN ^{13}C (CDCl_3) δ 171,0, 170,4, 169,6, 169,5, 146,3, 142,2, 132,9, 130,7, 127,9, 127,6, 119,1, 27 112,7, 93,8, 85,5, 76,1, 74,0, 70,5, 68,5, 62,5, 59,1, 56,4, 47,0, 46,1, 43,3, 40,0, 20,93, 20,92, 20,8, 20,5; MS $m/z = 646$ $[\text{M} + \text{H}]^+$; HRMS calcd para $\text{C}_{32}\text{H}_{40}\text{NO}_{11}\text{S}$ 646,2322, hallado 646,2304; se encontró que la pureza promedio de **3f** era $\geq 99\%$ por HPLC analítica dando $t_R = 5,00$ min (fase móvil A) y $t_R = 5,71$ min (fase móvil B).

Ejemplo 7: Morfina-6β-S-D-glucurónido 4a

A una disolución de **3b** (50,0 mg, 0,076 mmoles) en 1,6 ml de MeOH se añadió 5 % de NaOH acuoso (0,12 ml). La disolución dorada resultante se agitó a t_a durante 18,5 h, se acidificó a un pH de 5 con diez gotas de AcOH glacial y se concentró. El sólido amorfo blanco resultante se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (16 x 1 cm, 5:1 a 1:1 de $\text{CH}_3\text{CN}/\text{MeOH}$), seguido de secado durante 4 h a 100°C (0,33 mbar (0,25 mm Hg)) proporcionando un polvo blanco (19,4 mg, 54 %): $R_f = 0,26$ (1:1 de $\text{CH}_3\text{CN}/\text{MeOH}$ con 0,2 % de AcOH); $p_f = >300^\circ\text{C}$ (descompuesto); RMN ^1H (D_2O) δ 6,65 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 6,61 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 5,92 (m, 1H), 5,61 (d, $J = 9,6$ Hz, 1H), 5,19 (s, 1H), 4,69 (d, $J = 9,9$ Hz, 1H), 3,87 (d, $J = 5,9$ Hz, 1H), 3,77 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 3,64 (m, 1H), 3,57-3,51 (m, 2H), 3,38 (t, $J = 9,2$ Hz, 1H), 3,13-3,09 (m, 2H), 2,83 (dd, $J = 3,7, 12,3$ Hz, 1H), 2,59-2,54 (s, 3H sobre m, 2H), 2,19 (dt, $J = 8,5, 13,2$ Hz, 1H), 1,87 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H); RMN ^{13}C (D_2O) δ 174,6, 144,3, 139,6, 129,8, 128,8, 127,7, 123,3, 119,0, 116,9, 91,7, 85,0, 79,3, 76,1, 71,3, 70,7, 58,0, 45,6, 43,3, 42,6, 40,3, 37,2, 33,0, 19,7; EM (ESI) $m/z = 478$ $[\text{M} + \text{H}]^+$; Anal. ($\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{NO}_8\text{S}$) calcd: C 57,85; H 5,70; N 2,93; S 6,71. Hallado C 57,75; H 5,95; N 2,73; S 6,58.

Ejemplo 8: 6β-Tiomorfina-6β-S-D-glucopiranosido, 4b

A una disolución ámbar de **3c** (50 mg, 0,0742 mmoles) en MeOH (6 ml) se añadió 5 % de NaOH acuoso (0,4 ml). Se formó un precipitado blanco en el plazo de 5 min. La mezcla se agitó durante 18 h y entonces el pH se redujo a 7 mediante la adición de AcOH 1,5 N (15 gotas). La disolución se agitó 5 min y entonces el pH se redujo a 8,5 mediante la adición de NaHCO_3 saturado (15 gotas). La mezcla se concentró y el residuo se disolvió en 0,5 ml de agua con 3 gotas de 13 % de NH_4OH y se purificó por CCF preparativa (SiO_2 , 200:40:5:0,05 de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}/13\%$ de NH_4OH). Se eliminó la única banda activa de UV del SiO_2 y el SiO_2 se lavó con 4:1 de $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (100 ml). El filtrado se concentró y el residuo se volvió a filtrar a través de un tapón de algodón usando 9:1 de $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (10 ml). El filtrado se concentró y el sólido resultante se secó durante 4 h a 100°C (0,33 mbar (0,25 mm Hg)) dando el compuesto del título como un polvo blanco (20 mg, 59 %): $R_f = 0,21$; $p_f = >300^\circ\text{C}$ (dec) RMN ^1H (CD_3OD) δ 6,55 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 6,46 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 5,90 (ddd, $J = 2,9, 5,8, 9,0$ Hz, 1H), 5,52 (dd, $J = 1,6, 9,7$ Hz, 1H), 5,22 (s, 1H), 4,54 (d, $J = 9,8$ Hz, 1H), 3,90 (d, $J = 11,2$ Hz, 1H), 3,77 (d, $J = 6,0$ Hz, 1H), 3,70 (dd, $J = 5,2, 11,9$ Hz, 1H), 3,42 (dd, $J = 3,2, 5,6$ Hz, 1H), 3,42-3,41 (m, 3H), 3,24 (dd, $J = 8,4, 9,6$ Hz, 1H), 3,07 (bs, 1H), 3,05 (d, $J = 18,7$ Hz, 1H), 2,68 (dd, $J = 4,0, 12,3$ Hz, 1H), 2,49 (s, 3H), 2,49-2,39 (m, 2H), 2,18 (dt, $J = 7,9, 12,8$ Hz, 1H), 1,81-1,79 (m, 1H); RMN ^{13}C δ 146,3, 140,4, 131,5, 131,4, 130,3, 126,7, 120,4, 117,9, 95,3, 88,4, 82,3, 79,9, 74,8, 71,6, 63,2, 60,7, 48,2, 46,3, 45,3, 43,0, 40,4, 36,7, 30,9, 24,2; MS $m/z = 464$ $[\text{M} + \text{H}]^+$; HRMS m/z calcd para $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{NO}_7\text{S}$ 464,1743, hallado 464,1727; se encontró que la pureza promedio de **4b** era del 97,0 % por HPLC analítica dando $t_R = 3,94$ min (fase móvil A) y $t_R = 4,42$ min (fase móvil B).

Ejemplo 9: 6β-S-glucurónido de codeína, 4c**(Ejemplo de referencia)**

Según el procedimiento descrito para la preparación de **4a**, **3e** (60,4 mg, 0,095 mmoles), MeOH (2 ml) y 5 % de NaOH acuoso (0,28 ml) proporcionaron **4c** (38 mg, 79 %) como un sólido blanco: $R_f = 0,08$ (1:1 de MeCN/MeOH con 0,2 % de AcOH); $pf = >300$ °C (descompuesto); RMN 1H (D_2O) δ 6,82 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 6,69 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 5,83 (ddd, $J = 2,8, 6,0, 9,5$ Hz, 1H), 5,22 (s, 1H), 4,66 (d, $J = 9,9$ Hz, 1H), 3,84 (d, $J = 6,0$ Hz, 1H), 3,81 (s, 3H), 3,76 (d, $J = 6,0$ Hz, 1H), 3,57-3,50 (m, 2H), 3,42 (dd, $J = 3,3, 5,7$ Hz, 1H), 3,40-3,34 (m, 1H), 3,08 (d, $J = 19,0$ Hz, 1H), 3,01 (m, 1H), 2,60 (dd, $J = 4,0, 12,4$ Hz, 1H), 2,43-2,37 (s, 3H sobre m, 1H), 2,30 (td, $J = 3,4, 12,6$ Hz, 1H), 2,12 (td, $J = 4,8$ Hz, 13,0, 1H), 1,75 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H); RMN ^{13}C (D_2O) δ 174,5, 144,4, 140,5, 131,0, 129,5, 127,3, 127,1, 119,0, 112,9, 92,8, 85,1, 79,3, 76,1, 71,3, 70,8, 57,1, 55,7, 45,1, 43,2, 43,0, 40,5, 37,7, 33,8, 19,3; HRMS calcd para $C_{24}H_{28}NO_8S$ [M - H] $^-$ 490,1536, hallado 490,1525; se encontró que la pureza promedio de **4c** era del 96 % por HPLC analítica dando $t_R = 1,62$ min (fase móvil C) y $t_R = 1,46$ min (fase móvil D).

Ejemplo 10: 6β-Tiocodeína-6β-S-D-glucosa, 4d**(Ejemplo de referencia)**

Se disolvió el éster **3f** (120 mg, 0,186 mmoles) en MeOH (4 ml) y se añadió 5 % de NaOH acuoso (0,6 ml). La mezcla se agitó a ta durante 18 h y entonces se trató con NH_4Cl acuoso saturado (1 ml). La mezcla se concentró y el residuo se purificó por CCF preparativa (SiO_2) usando CH_2Cl_2 /MeOH/agua/13 % de NH_4OH concentrado (200:40:5:0,050) como eluyente. Se eliminó una única banda activa de UV del SiO_2 con una hoja de afeitar y este SiO_2 se lavó con 4:1 de $CHCl_3$ /MeOH (100 ml). El filtrado se concentró y el residuo se volvió a filtrar a través de un tapón de algodón usando 9:1 de $CHCl_3$ /MeOH (10 ml) como eluyente. El filtrado se concentró y el sólido resultante se secó durante 4 h a 100 °C (0,33 mbar (0,25 mm Hg)) dando **4d** como un polvo blanco (23 mg, 26 %): $R_f = 0,17$; $pf = 201,6$ °C; RMN 1H (CD_3OD) δ 6,79 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H), 6,68 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H), 6,02 (ddd, $J = 3,0, 5,9, 9,1$ Hz, 1H), 5,55 (dd, $J = 1,8, 9,8$ Hz, 1H), 5,36 (s, 1H), 4,57 (d, $J = 9,8$ Hz, 1H), 4,10 (dd, $J = 3,0, 6,2$ Hz, 1H), 3,91 (dd, $J = 1,6, 12,1$ Hz, 1H), 3,83 (d, $J = 6,1$ Hz, 1H), 3,81 (s, 3H), 3,70 (dd, $J = 5,1, 12,0$ Hz, 1H), 3,39-3,23 (complejo m, 6H), 3,01-3,00 (m, 1H), 2,98 (s, 3H), 2,90 (dd, $J = 6,6, 19,8$ Hz, 1H), 2,41 (dt, $J = 4,8, 13,8$ Hz, 1H), 2,04 (dd, $J = 2,7, 14,0$ Hz, 1H); RMN ^{13}C (CD_3OD) δ 147,8, 144,5, 131,7, 130,1, 128,9, 125,3, 121,1, 116,2, 94,5, 88,3, 82,3, 79,9, 79,6, 74,8, 71,6, 63,1, 62,3, 57,3, 45,7, 44,3, 41,9, 38,8, 34,8, 23,0; MS $m/z = 478$ [M + H] $^+$; HRMS m/z calcd para $C_{24}H_{32}NO_7S$ 478,1899, hallado 478,1886; se encontró que la pureza promedio de **4d** era del 96,5 % por HPLC analítica dando $t_R = 4,79$ min (fase móvil A) y $t_R = 5,64$ min (fase móvil B).

Ejemplo 11: 6β-Metil-2',3',4'-tri-O-acetil-β-D-glucopiranosiluronato)acetamido-codeína 9b**(Ejemplo de referencia)**

Se añadió cloruro de tionilo (0,2 ml, 2,74 mmoles) a ácido carboxílico **8a** (20,0 mg, 0,053 mmoles) y la disolución incolora resultante se agitó durante 4 h bajo nitrógeno. Se añadió tolueno (1 ml) y la disolución se concentró mediante destilación bajo alto vacío con la ayuda de un baño de agua de 45 °C. El residuo resultante se enfrió en un baño de hielo a 0 °C. A 0 °C se añadió por jeringa disolución de CH_2Cl_2 (2 ml) de amina **9b** (32 mg, 0,106 mmoles) que contenía 3 gotas de NEt_3 . La disolución resultante se agitó 20 h sin reponer el baño de hielo, se diluyó con CH_2Cl_2 (15 ml), se lavó con $NaHCO_3$ acuoso saturado (2 X 2 ml) y salmuera (2 ml). La fase orgánica se secó, se filtró y se concentró dando un aceite amarillo denso. La purificación por cromatografía ultrarrápida (10 X 1 cm de SiO_2 , 10:1 de CH_2Cl_2 /MeOH) proporcionó el compuesto del título como un sólido blanco (10 mg, 29 %): $R_f = 0,17$ (10:1 de CH_2Cl_2 /MeOH); RMN 1H ($CDCl_3$) δ 7,06 (d, $J = 6,8$ Hz, 1H), 6,66 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 6,54 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 5,888 (ddd, $J = 3,0, 5,8, 9,4$ Hz, 1H), 5,60 (dd, $J = 1,5, 9,4$ Hz, 1H), 5,30 (s, 1H), 5,08 (t, $J = 3,0$ Hz, 1H), 4,78 (s, 1H), 4,68-4,66 (m, 2H), 4,57 (d, $J = 10,4$ Hz, 1H), 4,51 (t, $J = 6,2$ Hz, 1H), 3,86 (s, 3H), 3,82 (s, 3H), 3,30 (m, 1H), 3,03 (d, $J = 18,5$ Hz, 1H), 2,97 (m, 1H), 2,73 (dd, $J = 11,1, 17,0$ Hz, 1H), 2,55 (dd, $J = 3,9, 11,6$ Hz, 1H), 2,43 (s, 3H), 2,37-2,29 (m, 3H), 2,16 (s, 3H), 2,15 (s, 3H), 2,04 (s, 3H), 2,03-1,99 (m, 1H), 1,81-1,79 (m, 1H); EM (ESI) $m/z = 657$ [M + H] $^+$.

Ejemplo 12: 6α-(Metil-2',3',4'-tri-O-acetil-β-D-glucopiranosiluronato)acetamido-morfina, 10a

Según el procedimiento descrito para el compuesto **9b**, ácido carboxílico **8a** (38,5 mg, 0,102 mmoles), cloruro de tionilo (0,6 ml) y amina **7a** (30 mg, 0,075 mmoles) proporcionaron **10a** como un sólido blanco (29 mg, 51 %): $R_f = 0,11$ (20:1 de CH_2Cl_2 /MeOH); RMN 1H ($CDCl_3$) δ 7,01 (d, $J = 6,7$ Hz, 1H), 6,59 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H), 6,45 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H), 5,88-5,84 (m, 1H), 5,59 (dd, $J = 1,6, 9,6$ Hz, 1H), 5,08 (t, $J = 3,0$ Hz, 1H), 4,72-4,66 (m, 2H), 4,58 (d, $J = 16,4$ Hz, 1H), 4,49 (t, $J = 6,3$ Hz, 1H), 3,82 (s, 3H), 3,84-3,72 (m, 2H), 3,29 (m, 1H), 3,01 (d, $J = 18,5$ Hz, 1H), 2,94 (m, 1H), 2,75-2,69 (dd, $J = 11,0, 17,1$ Hz, 1H), 2,53 (m, 1H), 2,43 (s, 3H), 2,42-2,29 (m, 2H), 2,19-1,99 (m, 2H), 2,163 (s, 3H), 2,157 (s, 3H), 2,06 s, 3H), 1,78-1,75 (m, 1H), 0,98 (s, 9H), 0,194 (s, 3H), 0,174 (s, 3H); EM (ESI) 757 [100, (M+H) $^+$]. El silil éter intermedio (20 mg, 0,026 mmoles) se disolvió en THF (1 ml). Se añadieron TBAF (0,030 ml, 0,030 mmoles) y agua (0,020 ml) y la disolución púrpura se agitó a ta durante 50 min, se diluyó con CH_2Cl_2 (20 ml) y se lavó con NH_4Cl (4 ml), salmuera (2 ml) y agua (2 ml). La fase orgánica se secó (Na_2SO_4), se filtró y se concentró dando una espuma rosa (22 mg): $R_f = 0,22$ (10:1 de CH_2Cl_2 /MeOH); MS $m/z = 643$ [M + H] $^+$.

Ejemplo 13: 6β-(α-Glucuronosil)acetamidomorfina 11a

Se preparó mediante el procedimiento descrito por Ejemplo 7 a partir de **10a** (20 mg, 0,031 mmoles), 5 % de NaOH acuoso (0,4 ml) y MeOH (2 ml) dando **11a** como un sólido blanco (2,1 mg, 18 %): $R_f = 0,19$ (SiO₂/ MeOH con 0,2 % de AcOH); MS $m/z = 501$ [M-H]⁻.

5 **Ejemplo 14: 6β-(α-D-glucuronosil)acetamidocodeína 11b****(Ejemplo de referencia)**

El compuesto del título se obtuvo mediante el procedimiento descrito para el Ejemplo 7 como un sólido blanco (13,5 mg, 86 %): $R_f = 0,14$ (MeOH con 0,2 % de AcOH); RMN ¹H (D₂O) δ 6,97 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 6,84 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 5,89-5,85 (m, 1H), 5,71 (d, $J = 12,2$ Hz, 1H), 4,94 (s, 1H), 4,62-4,59 (m, 1H), 4,36 (d, $J = 5,7$ Hz, 1H), 4,22 (m, 1H), 10 4,03 (d, $J = 6,2$ Hz, 1H), 3,88 (s, 3H), 3,80-3,73 (m, 2H), 3,35-3,30 (m, 2H), 3,03-2,94 (s, 3H que se solapa con m, 1H), 2,77-2,71 (m, 1H), 2,59 (dd, $J = 3,6, 16,1$ Hz, 1H), 2,31 (td, $J = 4,7, 13,5$ Hz, 1H), 2,06 (m, 1H); MS $m/z = 515$ [M-H]⁻.

Ejemplo 15: 6β-(2',3',4',5'-Tetra-O-bencil-β-D-glucopiranosil)-3-O-triisopropilsilil-acetamidomorfina 9c**(Ejemplo de referencia)**

15 Referencia JMM-VI-113-2. Se añadió SOCl₂ (1,5 ml) al ácido carboxílico **8b** (115 mg, 0,20 mmoles) y la disolución se agitó a ta durante 16 h. El exceso SOCl₂ se eliminó mediante destilación y el aceite incoloro que resultó se disolvió en CH₂Cl₂ (2,5 ml) y se añadió a la amina **7c** (43,5 mg, 0,10 mmoles) y NEt₃ (0,035 ml, 0,25 mmoles) en CH₂Cl₂ (1 ml). La disolución se agitó a ta durante 1 h, se concentró y se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO₂, 30:1 a 10:1 de EtOAc/MeOH), proporcionando **9c** como un sólido blanco (70 mg, 70 %): $R_f = 0,46$ (10:1 de CH₂Cl₂/MeOH); 20 RMN ¹H (CDCl₃) δ 7,35-7,10 (20H), 6,59 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 6,40 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 6,22 (d, $J = 6,9$ Hz, 1H), 5,71 (ddd, $J = 3,0, 6,0, 9,5$ Hz, 1H), 5,41 (dd, $J = 1,9, 9,5$ Hz, 1H), 4,89-4,48 (9H), 4,36 (t, $J = 6,3$ Hz, 1H), 3,72-3,46 (5H), 3,29 (t, $J = 9,0$ Hz, 1H), 3,17 (dd, $J = 3,0, 5,2$ Hz, 1H), 2,96 (d, $J = 18,7$ Hz, 1H), 2,88 (bs, 1H), 2,72 (dd, 2,7,15,2 Hz, 1H), 2,50-1,72 (10H), 1,30-1,05(21H).

Ejemplo 16: 6β-(2',3',4',5'-Tetra-O-bencil-β-D-glucopiranosil)acetamidomorfina 10b

25 JMM-VI-114-2. Se disolvió el silil éter **9c** (60 mg, 59,7 mmoles) en THF (2 ml) y se añadió agua (0,050 ml) y entonces TBAF (0,090 ml, 0,090 mmoles, disolución 1,0 M en THF). Después de 2,5 h, se añadió 1 % de HCl concentrado (4 ml) y la mezcla se agitó durante 2 min, se diluyó con agua (10 ml) y se basificó con NaHCO₃ sólido. La mezcla se extrajo con CH₂Cl₂ (5 x 30 ml), se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró. La cromatografía ultrarrápida (24:1 a 12:1 de EtOAc/MeOH) proporcionó **10b** como un sólido blanco (42 mg, 83 %): $R_f = 0,15$ (12:1 de EtOAc/MeOH); RMN ¹H (CDCl₃) δ 7,34-7,10 (20H), 6,64 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 6,46 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 6,34 (d, $J = 6,3$ Hz, 1H), 5,68 (ddd, $J = 2,5, 5,8, 9,5$ Hz, 1H), 5,39 (d, $J = 9,5$ Hz, 1H), 4,89-4,46 (10H), 4,34 (t, $J = 6,3$ Hz, 1H), 3,72-3,46 (6H), 3,30 (t, $J = 9,1$ Hz, 1H), 3,18 (bs, 1H), 2,97 (d, $J = 18,1$ Hz, 1H), 2,94 (bs, 1H), 2,74 (dd, $J = 2,5, 15,7$ Hz, 1H), 2,55-2,16 (7H), 1,95 (dt, $J = 8,0, 12,6$ Hz, 1H), 1,76 (d, $J = 11,3$ Hz, 1H). 30

Ejemplo 17: 6β-(β-D-Glucopiranosil)acetamidodihidromorfina 11c35 **(Ejemplo de referencia)**

JMM-VI-116-2. Se disolvió el derivado de tetrabencilo **10b** (16 mg, 0,018 mmoles) en MeOH (2 ml) y se añadieron HCl concentrado (3 gotas) y luego 10 % de Pd-C (16 mg). La mezcla se agitó bajo una atmósfera de hidrógeno durante 24 h y luego se filtró a través de Celite, lavando el Celite con MeOH (10 ml). El filtrado se concentró y el residuo se purificó por CCF preparativa (SiO₂, 5:4:0,5:0,5 de CHCl₃/MeOH/H₂O/NH₄OH concentrado), 40 proporcionando **11c** como una película blanca (2,3 mg, 26 %): $R_f = 0,40$; MS $m/z = 491$ (MH⁺).

Ejemplo 18: 6β-(3-Metoxifenil)acetamidomorfina, 13a**(Ejemplo de referencia)**

Se disolvió **7c** (80 mg, 0,182 mmoles) en CH₂Cl₂ (4 ml) y se añadieron por jeringa NEt₃ (72 ul, 0,517 mmoles) y cloruro de 3-metoxifenilacetilo (80 ul, 0,513 mmoles). La disolución amarilla pálida resultante se agitó a ta bajo una 45 atmósfera de nitrógeno seco en un vial cerrado. Después de 2 h, la disolución se concentró y el residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (20:1 de CHCl₃/MeOH) proporcionando **12a** como una espuma blanca (78 mg, 73 %): $R_f = 0,18$ (20:1 de CH₂Cl₂/MeOH); MS $m/z = 589$ (M + H)⁺. Se disolvió **12a** (64 mg, 0,109 mmoles) en 5 % de THF acuoso (2,2 ml). Se añadió por jeringa TBAF (0,18 ml, disolución 1,0 M en THF) y la disolución amarilla pálida se agitó a ta bajo una atmósfera de nitrógeno seco durante 2 h. La disolución se concentró y se añadió 1 % de HCl (2 50 ml). La mezcla se agitó durante 2 min y entonces se transfirió a un embudo de decantación con la ayuda de agua (20 ml). La mezcla se alcalinizó (pH 8,5) con NaHCO₃ sólido y se extrajo con CHCl₃ (5 x 10 ml). El extracto de CHCl₃ combinado se lavó con salmuera (4 ml), se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró. La cromatografía ultrarrápida (20:1 de CHCl₃/MeOH) proporcionó **13a** como un sólido blanco (38 mg, 81 %): pf 144°C; $R_f = 0,14$ (20:1 de CHCl₃/MeOH); RMN ¹H δ 7,24 ($J = 7,9$ Hz, 1H), 6,82-6,79 (m, 3H), 6,64 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 6,49 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H),

5,67 (ddd, $J=3,6, 6,1, 9,1$ Hz, 1H), 5,58-5,53 (m, 2H), 4,65 (s, 1H), 4,37 (t, $J=6,4$ Hz, 1H), 3,79 (s, 3H), 3,54 (s, 2H), 3,34 (m, 1H), 3,00 (d, $J=18,6$ Hz, 1H), 2,89 (s, 1H), 2,61 (dd, $J=4,0, 12,2$ Hz, 1H), 2,43 (s, 3H), 2,38-2,29 (m, 2H), 1,99 (dt, $J=9,6, 12,2$ Hz, 1H), 1,76 (dd, 1,9, 12,6 Hz, 1H); RMN ^{13}C δ 171,1, 160,2, 144,5, 138,9, 136,2, 132,8, 130,3, 129,9, 128,6, 125,8, 121,7, 119,6, 117,1, 115,1, 113,1, 93,0, 59,3, 55,4, 50,5, 47,3, 44,1, 43,9, 43,0, 39,8, 35,5, 20,5; MS $m/z = 433$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 455 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; HRMS m/z 433,2115 $[\text{M} + \text{H}]^+$; se encontró que la pureza promedio de **15a** era $\geq 99\%$ por HPLC analítica dando $t_R = 4,38$ min (fase móvil A) y $t_R = 5,09$ min (fase móvil B).

Ejemplo 19: 6 β -(4-Metoxifenil)acetamidomorfina 13b

(Ejemplo de referencia)

Según el procedimiento general descrito para **12a**, **7c** (78,4 mg, 0,178 mmoles), NEt_3 (72 μl , 0,517 mmoles) y cloruro de 4-metoxifenilacetilo (80 μl , 0,523 mmoles) dieron **12b** como una espuma blanca (70 mg, 67 %): $R_f = 0,11$ (20:1 de $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$); MS m/z : 589 $(\text{M} + \text{H})^+$, 611 $(\text{M} + \text{Na})^+$. Referencia V-99. Según el procedimiento descrito para **13a**, **12b** (65 mg, 0,110 mmoles) y TBAF (0,18 ml, 0,18 mmoles) dieron **13b** (29 mg, 61 %) como un sólido blanco: pf 247 (dec); $R_f = 0,14$ (20:1 de $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$); RMN ^1H δ 7,15 (d, $J=8,6$ Hz, 2H), 6,86 (d, $J=8,6$ Hz, 2H), 6,64 (d, $J=8,1$ Hz, 1H), 6,48 (d, $J=8,1$ Hz, 1H), 5,67 (ddd, $J=3,0, 5,6, 9,5$ Hz, 1H), 5,56 (dd, $J=1,5, 9,5$ Hz, 1H), 5,45 (d, $J=6,4$ Hz, 1H), 4,65 (s, 1H), 4,36 (t, $J=6,3$ Hz, 1H), 3,79 (s, 3H), 3,50 (s, 2H), 3,34 (m, 1H), 3,00 (d, $J=18,6$ Hz, 1H), 2,87 (s, 1H), 2,61 (dd, $J=3,8, 11,9$ Hz, 1H), 2,44 (s, 3H), 2,38-2,28 (m, 2H), 1,98 (dt, 4,9, 12,5 Hz, 1H), 1,77 (d, $J=10,7$ Hz, 1H); ^{13}C δ 171,5, 158,8, 144,4, 138,7, 132,6, 130,4, 129,7, 128,3, 126,5, 125,6, 119,3, 117,0, 114,5, 92,8, 59,1, 55,3, 50,3, 47,0, 43,9, 42,9, 42,7, 39,6, 35,4, 20,2; MS $m/z = 433$ $(\text{M} + \text{H})^+$, 456 $(\text{M} + \text{Na})^+$; HRMS m/z 433,2136 $[\text{M} + \text{H}]^+$; se encontró que la pureza promedio de **13b** era $>99\%$ por HPLC analítica dando $t_R = 4,44$ min (fase móvil A) y $t_R = 5,24$ min (fase móvil B).

Ejemplo 20: 6 β -(3-Metoxi)benzamidomorfina 13c

(Ejemplo de referencia)

Según el procedimiento general descrito para **12a**, **7c** (82 mg, 0,185 mmoles), NEt_3 (76 μl , 0,545 mmoles) y cloruro de anisólo (71 μl , 0,521 mmoles) dieron **12c** como una espuma blanca (88 mg, 82 %): $R_f = 0,28$ (10:1 de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$); MS m/z : 575 $(\text{M} + \text{H})^+$. Según el procedimiento general descrito para **13a**, **12c** (73 mg, 0,174 mmoles) y TBAF (0,210 ml, 0,210 mmoles) dieron **13c** como un sólido blanco (42,5 mg, 58 %): $R_f = 0,15$ (15:1 de dcm/MeOH); pf = 212,9 $^\circ\text{C}$ (dec); RMN ^1H δ 7,34-7,33 (m, 1H), 7,27-7,23 (m, 2H), 7,02-7,00 (m, 1H), 6,68 (d, $J=8,1$ Hz, 1H), 6,51 (d, $J=8,1$ Hz, 1H), 6,27 (d, $J=6,8$ Hz, 1H), 5,84 (ddd, $J=3,0, 5,8, 9,2$ Hz, 1H), 5,68 (dd, $J=1,2$ Hz, 9,9 Hz, 1H), 4,85 (s, 1H), 4,59 (t, $J=6,4$ Hz, 1H), 3,81 (s, 3H), 3,47 (dd, $J=3,0, 5,0$ Hz, 1H), 3,19-3,16 (m, 1H), 3,04 (d, $J=18,5$ Hz, 1H), 2,68 (dd, $J=4,0, 12,0$ Hz, 1H), 2,49 (s, 3H), 2,43-2,38 (m, 1H), 2,11 (dt, $J=4,8, 12,6$ Hz, 1H), 1,80 (d, $J=10,9$ Hz, 1H); RMN ^{13}C δ 167,5, 160,0, 144,7, 139,1, 135,6, 132,7, 129,9, 129,8, 128,9, 125,5, 119,7, 119,0, 118,2, 117,4, 112,6, 93,0, 59,5, 55,7, 50,9, 47,4, 44,1, 43,0, 39,9, 35,4, 20,6; MS m/z 419 $(\text{M} + \text{H})^+$, 441 $(\text{M} + \text{Na})^+$; HRMS $m/z = 419,1984$ $[\text{M} + \text{H}]^+$; se encontró que la pureza promedio de **13c** era del 99 % por HPLC analítica dando $t_R = 4,41$ min (fase móvil A) y $t_R = 5,05$ min (fase móvil B).

Ejemplo 21: 6 β -Benzamidomorfina, 13d

(Ejemplo de referencia)

Según el procedimiento general descrito para **12a**, **7c** (82 mg, 0,232 mmoles), NEt_3 (76 μl , 0,55 mmoles) y cloruro de benzoilo (61 μl , 0,521 mmoles) dieron **12d** como una espuma blanca (79 mg, 78 %): $R_f = 0,23$ (20:1 de $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$); MS m/z : 545 $(\text{M} + \text{H})^+$. Según el procedimiento general descrito para **13a**, **12d** (65 mg, 0,110 mmoles) y TBAF (0,18 ml, 0,18 mmoles) dieron **13d** como un sólido blanco (29 mg, 61 %): $R_f = 0,15$ (15:1 de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$); pf = 184,4 $^\circ\text{C}$ (dec); RMN ^1H δ 7,78 (m, 2H), 7,53-7,50 (m, 1H), 7,42-7,41 (m, 1H), 6,72 (d, $J=8,1$ Hz, 1H), 6,55 (d, $J=8,1$ Hz, 1H), 6,18 (d, $J=6,2$ Hz, 1H), 5,89 (ddd, $J=3,0, 5,3, 9,5$ Hz, 1H), 5,69 (dd, $J=1,5, 9,5$ Hz, 1H), 4,86 (s, 1H), 4,64 (t, $J=6,3$ Hz, 1H), 3,54 (s, 1H), 3,31 (s, 1H), 3,06 (d, $J=18,7$ Hz, 1H), 2,77 (m, 1H), 2,57 (s, 3H), 2,50-2,48 (m, 3H), 2,23-2,19 (m, 1H), 1,86 (dd, $J=2,2, 12,9$ Hz, 1H); RMN ^{13}C δ 167,4, 144,5, 138,8, 133,9, 132,9, 131,7, 129,8, 128,6, 128,6, 127,0, 125,7, 119,4, 117,1, 92,8, 59,1, 50,6, 47,0, 44,0, 42,9, 39,9, 35,5, 20,5; MS $m/z = 389$ $[\text{M} + \text{H}]^+$, 411 $(\text{M} + \text{Na})^+$; HRMS $m/z = 389,1867$ $[\text{M} + \text{H}]^+$; se encontró que la pureza promedio de **13d** era del 99 % por HPLC analítica dando $t_R = 4,43$ min (fase móvil A) y $t_R = 5,16$ min (fase móvil B).

Ejemplo 22: 6 β -(3'-Carbometoxi)benzamidomorfina 13e

(Ejemplo de referencia)

Según el procedimiento general descrito para **12a**, **7c** (159 mg, 0,362 mmoles), NEt_3 (151 μl , 1,09 mmoles) y cloruro de monometiltaloilo (217 mg, 1,01 mmoles) dieron **12e** como una espuma blanca (122 mg, 56 %): $R_f = 0,22$ (20:1 de $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$); MS m/z : 603 $(\text{M} + \text{H})^+$. Según el procedimiento general descrito para **13a**, **12e** (102 mg, 0,170 mmoles) y TBAF (0,47 ml, 0,470 mmoles) dieron **13e** como un sólido blanco: $R_f = 0,14$ (30:1 de dcm/MeOH); pf = 166,0 $^\circ\text{C}$ (dec); RMN ^1H δ 8,32 (s, 1H), 8,14 (d, $J=7,8$ Hz, 1H), 8,00 (d, $J=7,8$ Hz, 1H), 7,49 (t, $J=7,8$ Hz, 1H), 6,68 (d, $J=8,1$ Hz, 1H), 6,52 (d, $J=8,1$ Hz, 1H), 6,33 (d, $J=7,0$ Hz, 1H), 5,85 (ddd, $J=9,4, 5,6, 3,1$ Hz, 1H), 5,73 (d, $J=9,9, 1\text{H}$), 4,85 (s, 1H), 4,62 (t, $J=6,2$ Hz, 1H), 3,93 (s, 3H), 3,42 (dd, $J=3,2, 5,2, 1\text{H}$), 3,10 (bs, 1H), 3,05 (d, $J=18,5$

Hz, 1H), 2,63 (dd, $J = 12,1, 4,2$ Hz, 1H), 2,46 (s, 3H), 2,40-2,34 (m, 2H), 2,08 (dt, $J = 12,5, 4,9$ Hz, 1H), 1,81 (d, $J = 10,8$ Hz, 1H); ^{13}C δ 166,4, 166,2, 144,3, 138,7, 134,2, 133,0, 132,7, 131,9, 130,5, 129,8, 128,9, 128,3, 127,6, 125,7, 119,5, 117,0, 92,9, 59,1, 52,4, 50,9, 47,1, 44,0, 42,9, 39,9, 35,4, 20,2; MS $m/z = 447$ $[\text{M} + \text{H}]^+$; HRMS $m/z = 447,1930$ $[\text{M} + \text{H}]^+$; se encontró que la pureza promedio de **13e** era $\geq 99\%$ por HPLC analítica dando $t_R = 4,39$ min (fase móvil A) y $t_R = 5,06$ min (fase móvil B).

Ejemplo 23: 6 β -(3'-Nitro)benzamidomorfina 13f

(Ejemplo de referencia)

Según el procedimiento general descrito para **12a, 7c** (80 mg, 0,182 mmoles), NEt_3 (76 μl , 0,55 mmoles) y cloruro de 3-nitrobenzoilo (95 mg, 0,51 mmoles) dieron **12f** como una espuma blanca (87 mg, 81 %); $R_f = 0,17$ (20:1 de $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$); MS $m/z = 590$ $[\text{M} + \text{H}]^+$. Según el procedimiento general descrito para **13a, 12f** (73 mg, 0,168 mmoles) y TBAF (0,200 ml, 0,200 mmoles) dieron **13f** como un sólido amarillo claro (36 mg, 49 %): $R_f = 0,11$ (20:1 de $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$); pf 208,3 °C (dec); RMN ^1H δ 8,54 (t, $J = 1,4$ Hz, 1H), 8,26 (dd, $J = 1,4, 8,2$ Hz, 1H), 8,11 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,55 (t, $J = 8,0$ Hz, 1H), 6,85 (d, $J = 6,4$ Hz, 1H), 6,65 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 6,51 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 5,84 (ddd, $J = 3,0, 5,5, 9,2$ Hz, 1H), 5,71 (d, $J = 10,3$ Hz, 1H), 4,88 (s, 1H), 4,63 (t, $J = 6,3$ Hz, 1H), 3,45 (t, $J = 3,2$ Hz, 1H), 3,18 (s, 1H), 3,04 (d, $J = 18,6$ Hz, 1H), 2,68 (dd, $J = 3,8, 11,8$ Hz, 1H), 2,47 (s, 3H), 2,41-2,34 (m, 2H), 2,15 (dt, $J = 7,6, 12,4$ Hz, 1H), 1,78 (d, $J = 11,5$ Hz, 1H); ^{13}C δ 165,2, 148,0, 144,4, 138,9, 135,5, 133,3, 132,7, 129,8, 129,7, 128,2, 126,1, 125,4, 122,0, 119,5, 117,3, 92,5, 59,2, 51,1, 47,1, 43,9, 42,8, 39,6, 35,1, 20,3; MS $m/z = 434$ $[\text{M} + \text{H}]^+$; HRMS $m/z = 434,1719$ $[\text{M} + \text{H}]^+$; se encontró que la pureza promedio de **13f** era $>99\%$ por HPLC analítica dando $t_R = 4,11$ min (fase móvil A) y $t_R = 4,78$ min (fase móvil B).

Ejemplo 24: 6 β -(3',4'-Dicloro)benzamidomorfina, 13g

(Ejemplo de referencia)

Según el procedimiento general descrito para **12a, 7c** (81 mg, 0,184 mmoles), NEt_3 (77 μl , 0,55 mmoles) y cloruro de 3,4-diclorobenzoilo (108 mg, 0,518 mmoles) dieron **12g** como una espuma blanca (96 mg, 85 %); $R_f = 0,20$ (20:1 de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$); MS $m/z = 614$ $[\text{M} + \text{H}]^+$, 616 $[\text{M} + 2 + \text{H}]^+$, 618 $[\text{M} + 4 + \text{H}]^+$. Según el procedimiento general descrito para **13a, 12g** (81 mg, 0,177 mmoles) y TBAF (0,22 ml, 0,22 mmoles) dieron **13g** como un sólido blanco (48 mg, 49 %): $R_f = 0,17$ (15:1 de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$); pf 228,5 °C (dec); RMN ^1H δ 7,82 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H), 7,54 (dd, $J = 2,1, 8,4$ Hz, 1H), 7,39 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 6,67 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 6,56 (d, $J = 6,2$ Hz, 1H), 6,52 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 5,82 (ddd, $J = 2,9, 5,3, 9,5$ Hz, 1H), 5,68 (dd, $J = 1,2, 9,5$ Hz, 1H), 4,83 (s, 1H), 4,58 (t, $J = 6,3$ Hz, 1H), 3,47 (dd, $J = 3,0, 5,3$ Hz, 1H), 3,19 (m, 1H), 3,05 (d, $J = 18,6$ Hz, 1H), 2,70 (dd, $J = 3,8, 11,9$ Hz, 1H), 2,50 (s, 3H), 2,43-2,37 (m, 2H), 1,77 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H); RMN ^{13}C δ 165,4, 144,4, 138,9, 136,1, 133,7, 133,0, 132,5, 130,5, 129,6, 129,3, 128,4, 126,3, 125,2, 119,5, 117,4, 92,5, 59,2, 52,4, 50,8, 47,2, 43,8, 42,7, 39,5, 35,1, 29,7, 25,8, 20,3, 20,5, 13,6; MS $m/z = 457$ $[\text{M} + \text{H}]^+$; HRMS $m/z = 457,1087$ $[\text{M} + \text{H}]^+$; se encontró que la pureza promedio de **13g** era $>99\%$ por HPLC analítica dando $t_R = 3,93$ min (fase móvil A) y $t_R = 4,43$ min (fase móvil B).

Ejemplo 25: 6 β -(Tiofen-2'-il)acetamidomorfina 13h

(Ejemplo de referencia)

Según el procedimiento general descrito para **12a, 7c** (86 mg, 0,196 mmoles), cloruro de 2-tiofeneacetilo (0,068 ml, 0,552 mmoles) y NEt_3 (0,082 ml, 0,588 mmoles) dieron **12h** como una espuma blanca (66 mg, 60 %); $R_f = 0,23$ (20:1 de $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$); MS $m/z = 565$ $[\text{M} + \text{H}]^+$. Según el procedimiento general descrito para **13a, 12h** (56 mg, 0,099 mmoles) y TBAF (0,120 ml, 0,120 mmoles) dieron **13h** como un sólido blanco (32 mg, 79 %): $R_f = 0,10$ (20:1 de $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$); pf 154,4 °C; RMN ^1H δ 7,18 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 6,94-6,91 (m, 2H), 6,64 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 5,82 (d, $J = 7,1$ Hz, 1H), 5,69 (ddd, $J = 3,5, 5,5, 9,4$ Hz, 1H), 5,59 (dd, $J = 1,2, 9,9$ Hz, 1H), 4,65 (s, 1H), 4,39 (t, $J = 6,4$ Hz, 1H), 3,77 (s, 2H), 3,37 (dd, $J = 3,3, 5,8$ Hz, 1H), 3,01 (d, $J = 18,5$ Hz, 1H), 2,93 (m, 1H), 2,64 (dd, $J = 4,1, 12,1$ Hz, 1H), 2,45 (s, 3H), 2,3 9-2,31 (m, 2H), 2,02 (dt, $J = 7,6, 12,6$ Hz, 1H), 1,77 (dd, $J = 10,8, 1,7$ Hz, 1H); RMN ^{13}C δ 170,2, 144,6, 139,0, 136,0, 132,9, 129,9, 128,4, 127,6, 125,9, 125,6, 119,6, 117,3, 92,9, 59,2, 50,4, 47,3, 44,1, 43,0, 39,7, 37,7, 35,5, 20,5; MS $m/z = 409$ $[\text{M} + \text{H}]^+$, 431 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; HRMS $m/z = 409,1572$ $[\text{M} + \text{H}]^+$; se encontró que la pureza promedio de **13h** era $>99\%$ por HPLC analítica dando $t_R = 4,31$ min (fase móvil A) y $t_R = 5,02$ min (fase móvil B).

Ejemplo 26: 6 β -(3'-Carboxi)benzamidomorfina 14

(Ejemplo de referencia)

Referencia V-110. Se disolvió **13e** (31 mg, 0,067 mmoles) en 4 ml de 1:1 de THF/agua y se añadió LiOH-H₂O (27 mg, 0,643 mmoles). La disolución incolora se agitó a ta durante 3,75 h, se añadió ácido acético glacial (15 gotas) y la disolución se concentró. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre SiO₂ (5:1 a 1:1 de $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$). Se concentraron las fracciones apropiadas y el residuo se agitó con 10 ml de 10:1 de $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ y se filtró a través de papel. El filtrado se concentró proporcionando el compuesto del título como un sólido blanco, 20 mg (69 %): $R_f = 0,17$ (1:1 de $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ con 0,2 % de AcOH), pf = 217,1 °C (dec); RMN ^1H δ 8,41-8,40 (m, 1H), 8,13-8,12 (m, 1H), 7,90-7,88 (m, 1H), 7,47 (t, $J = 7,7$ Hz, 1H), 6,62 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 6,55 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 5,81-5,78 (m, 1H), 5,69 (d, $J = 9,9$ Hz, 1H), 4,82 (s, 1H), 4,51-4,50 (m, 1H), 3,65 (dd, $J = 3,2, 5,4$ Hz, 1H), 3,27 (bs, 1H), 3,12 (d,

$J = 18,9$ Hz, 1H), 2,87 (dd, $J = 4,0$, 12,9 Hz, 1H), 2,64-2,57 (m, 2H), 2,20 (dt, $J = 4,8$, 12,9 Hz, 1H), 1,81 (dd, $J = 2,4$, 12,9 Hz, 1H); RMN ^{13}C δ 180,5, 170,2, 145,6, 141,2, 139,4, 135,5, 133,6, 131,0, 130,9, 130,5, 130,3, 129,5, 129,2, 125,6, 120,7, 118,5, 93,8, 61,3, 52,8, 42,6, 39,9, 35,1, 30,9, 22,1; MS m/z 431 ($\text{M}^+ - \text{H}^-$); HRMS m/z calcd para $\text{C}_{25}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_5$ 433,1758, hallado 433,1749; se encontró que la pureza promedio de **14** era del 99 % por HPLC analítica dando $t_R = 3,93$ min (fase móvil A) y $t_R = 4,43$ min (fase móvil B).

Ejemplo 27: Ensayos de unión *in vitro*

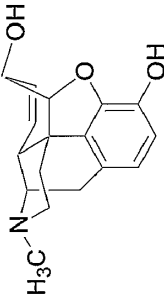
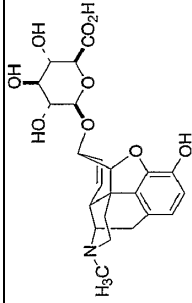
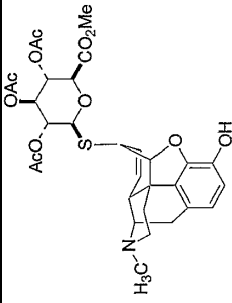
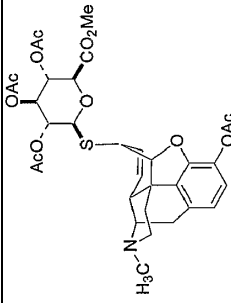
A. **Métodos.** Se realizó la unión a membranas celulares en un formato de 96 pocillos [Véase, N. Zaveri et al., Eur. J. Pharmacol., 428:29-36 (2001)]. Las células se eliminaron de las placas raspando con una varilla de policía de caucho, se homogeneizaron en tampón Tris usando un homogeneizador Polytron, luego se centrifugaron una vez y se lavaron por una centrifugación adicional a 27.000 x g durante 15 min. El sedimento se resuspendió en Tris 50 mM, pH 7,5, y la suspensión se incubó con [^3H]DAMGO, [^3H]DPDPE o [^3H]U69593, para unirse a los receptores de opioides μ , δ o κ , respectivamente. El volumen total de incubación fue 1,0 ml y las muestras se incubaron durante 60-120 min a 25 °C. La cantidad de proteína en la reacción de unión varió de aproximadamente 15 μg a 30 μg . La reacción se terminó por filtración usando un recolector Tomtec 96 (Orange, CT) con filtros de fibra de vidrio. Se contó la radiactividad unida en un contador de centelleo líquido de placa beta de Pharmacia Biotech (Piscataway, NJ) y se expresó en recuentos por minuto. Se determinaron valores de CI_{50} usando al menos seis concentraciones de compuesto de prueba, y se calcularon usando Graphpad/Prism (ISI, San Diego, CA). Se determinaron valores de K_i por el método de Cheng y Prusoff [Véase Y. Cheng, y W. H. Prusoff, Biochem. Pharmacol., 22:3099-3108 (1973)].

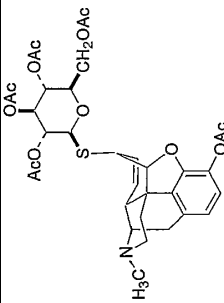
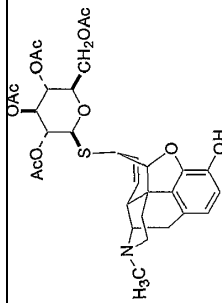
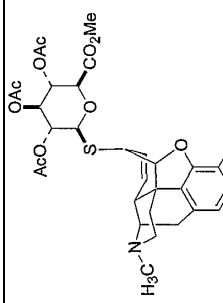
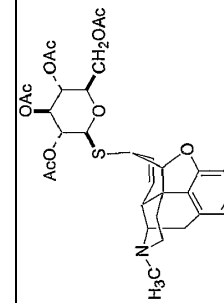
B. **Resultados.** Afinidad y selectividad de los ligandos. La Tabla 1 contiene los valores de K_i para los compuestos **5** y **6**. K_i es el parámetro que mide la inhibición de la unión de radioligando al receptor por el compuesto de prueba. Al igual que con M6G, cada ligando probado era selectivo para μ . Con respecto a los compuestos de tipo I, el orden de clasificación de la afinidad por los compuestos más activos fue **6b** = **5a**>**5d**>**6a**. Cada uno de estos compuestos poseyó un grupo hidroxilo fenólico libre. En comparación con M6G, sus afinidades aumentaron 1,5 a 2,4 veces en el receptor μ , 2,9 a 10,3 en delta y 1,4 a 369 veces en kappa. Los compuestos **5a** y **5b** que poseen cada uno un grupo carbometoxi en la posición C-5' mostraron una selectividad de 1,7 a 2,7 veces por el receptor kappa con respecto al receptor delta. Todos los otros ligandos mostraron selectividad por el receptor delta con respecto al receptor kappa. La sustitución del grupo carbometoxi en C-5' en el compuesto **5a** con un grupo acetoximetilo en el compuesto **5d** disminuyó la afinidad por el receptor kappa un factor de 270. La afinidad de los compuestos restantes por los receptores μ , delta y kappa que poseen tanto grupos 3-acetoxi como grupos 3-metil éter disminuyó significativamente cuando se comparó con M6G. En cada caso, la hidrólisis de los grupos funcionales éster en el resto de azúcar disminuyó enormemente la afinidad de los ligandos para el receptor kappa, mientras que tenía un efecto significativamente menos pronunciado sobre la afinidad de los ligandos por los receptores μ y delta.

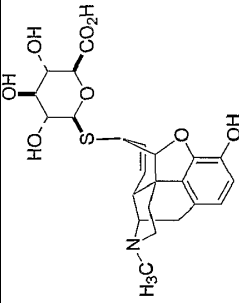
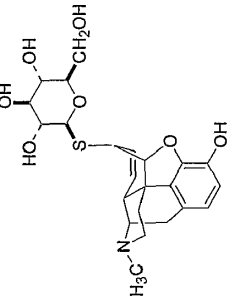
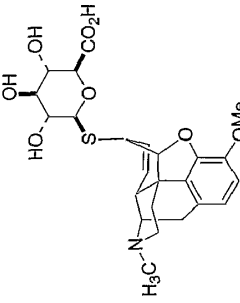
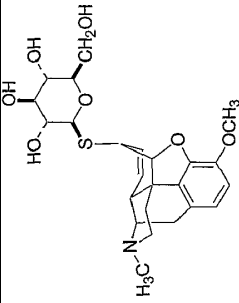
Con respecto a la afinidad de unión a μ de compuestos de tipo II, el análogo de morfina **10** (2,80 nM) que posee un grupo hidroxilo fenólico libre y un resto de ácido glucurónico completamente esterificado tuvieron la afinidad más alta. Esta observación está de acuerdo con aquellos resultados observados para el análogo de tipo I **3a**. De forma interesante, el derivado de codeína **9b** (7,43 nM) mostró afinidad significativamente más alta que cualquier compuesto de codeína de tipo I. El compuesto **11a** (14,6 nM) y **11b** (41,5 nM) mostraron afinidad reducida. En comparación con M6G, el compuesto **10** mostró una afinidad 4,5 veces más alta por el receptor μ y el compuesto **9b** mostró una afinidad 1,7 veces más alta. Los compuestos de tipo II fueron significativamente más selectivos que los compuestos de tipo I. La selectividad del compuesto **11b** por el receptor μ se aproximó a la de M6G, aunque poseyó una reducción de 3,2 veces en la afinidad de unión. Estos resultados sugieren que el puente de carbono entre el núcleo de morfina o codeína y el resto de azúcar puede ser crítico para la selectividad del receptor μ . Es concebible que la movilidad conformacional adicional conferida por este puente permita a estas moléculas interactuar con el receptor μ más similarmente a M6G, que posee un resto de azúcar C-6 alfa.

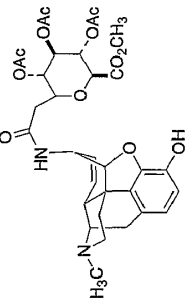
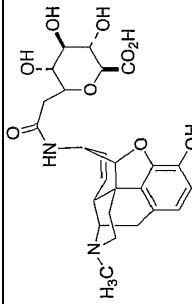
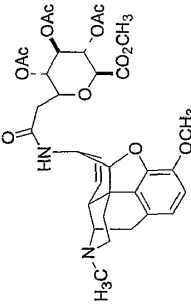
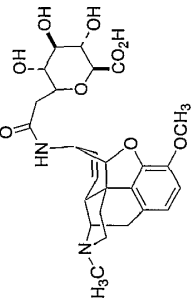
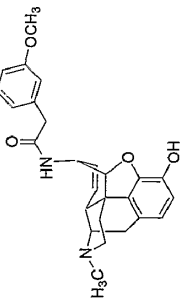
Con la excepción del compuesto **14** (19,92 nM), los valores de K_i para los compuestos de tipo III en el receptor μ estuvieron entre 0,21 y 0,59 nM. Estos compuestos tuvieron afinidad entre 20 veces y 64 veces más alta por el receptor μ que M6G. Los compuestos de tipo III tuvieron afinidad al menos 9 veces más alta que el compuesto de tipo I de afinidad más alta y afinidad al menos 4,7 veces más alta que el compuesto de tipo II de afinidad más alta. Estos resultados sugieren que el sustituyente C-6 en estos ligandos estaba interactuando con una región hidrófoba del sitio de unión de μ . Esta observación está adicionalmente soportada por la disminución en la afinidad observada en el compuesto **14** (19,92 nM). En la mayoría de los casos, los compuestos de tipo II mostraron un aumento de la selectividad por μ frente a delta y una reducida selectividad por μ frente a kappa. La sustitución del sustituyente N-metilo del N cabeza de puente con sustituyentes ciclopropilmetilo o ciclobutilmetilo o similares normalmente proporcionará antagonistas de los receptores para la actividad descrita a continuación.

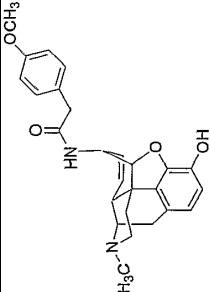
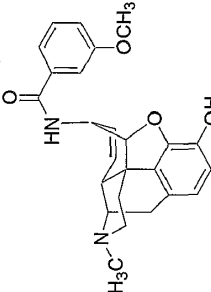
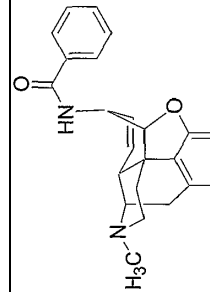
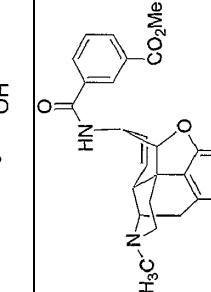
Tabla 1. Constantes de inhibición de ensayos de unión por competición de derivados de M6G en los receptores de opioides μ , δ y κ .

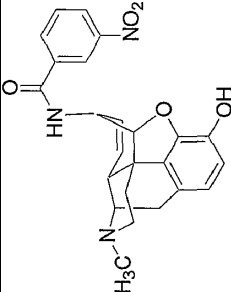
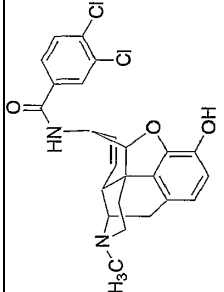
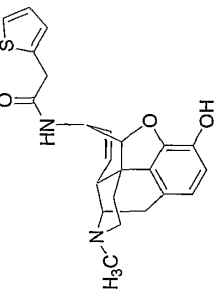
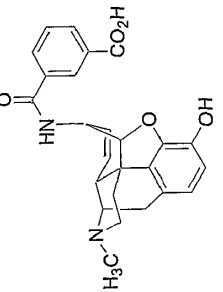
entrada	compuesto	Ki (nM)				δ/μ	κ/μ
		μ	δ	κ			
morfina		1,1 \pm 0,05	140 \pm 2	46,9 \pm 14		127	42
M6G		12,85 \pm 0,95	160,96 \pm 0,73	4058,75 \pm 230		13	317
3a		5,37 \pm 0,14	15,6 \pm 2,4	11,0 \pm 0,06		2,9	2,0
3b		100 \pm 1,9	528 \pm 47	189 \pm 14		5,3	1,9

entrada	compuesto	Ki (nM)				δ/μ	κ/μ
		μ	δ	κ			
3c		305,04 ± 66,04	762,07 ± 166,54	1385,66 ± 197,40	2,5	4,5	
3d		7,78 ± 0,48	19,49 ± 0,31	2973,60 ± 947,83	2,5	382	
3e		64 ± 1,1	438 ± 5	499 ± 6,6	6,8	7,8	
3f		164,61 ± 27,66	465,77 ± 118,71	2186 ± 878,08	2,8	13	

entrada	compuesto	Ki (nM)				δ/μ	κ/μ
		μ	δ	κ			
4a		8,73±0,85	31,4 ± 2,3	288 ± 12		3,6	33
4b		5,35 ± 0,78	56,23 ± 2,15	136,0 ± 16,93		10,4	25
4c		463 ± 57	2679 ± 205	>10.000		5,8	>21
4d		127,12 ± 22,72	1138,22 ± 353,73	2476,68 ± 536,30		9	19,5

entrada	compuesto	Ki (nM)				δ/μ	κ/μ
		μ	δ	κ			
10		2,80 ± 0,1	16,2 ± 1,2	26,2 ± 0,6		5,8	9,4
11a		14,6 ± 2,4	53,8 ± 3,1	325 ± 17		3,7	22
9b		7,43 ± ,55	176 ± 27	499 ± 49		24	67
11b		41,5 ± 5,3	984 ± 61	>10.000		24	241
13a		0,35 ± 0,08	9,5 ± 2,58	0,96 ± 0,2		27	2,7

entrada	compuesto	Ki (nM)				δ/μ	κ/μ
		μ	δ	κ			
13b		0,59 \pm 0,19	8,89 \pm 2,1	2,84 \pm 0,96		44	4,8
13c		0,21 \pm 0,07	8,96 \pm 1,95	2,65 \pm 1,25		42	12,8
13d		0,40 \pm 0,03	24,95 \pm 2,33	4,13 \pm 1,21		62,5	10,3
13e		0,23 \pm 0,05	3,39 \pm 0,03	1,53 \pm 0,2		15	6,7

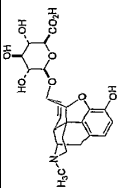
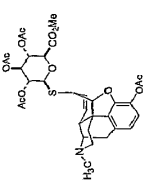
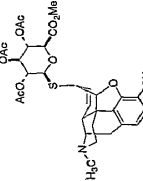
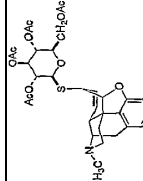
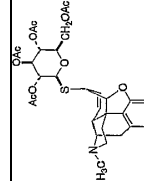
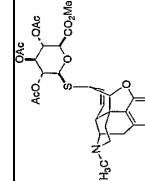
entrada	compuesto	Ki (nM)				δ/μ	κ/μ
		μ	δ	κ			
13f		0,20 ± 0,04	18,0 ± 5,63	2,63 ± 1,1		36	13
13g		0,20 ± 0,04	0,94 ± 0,02	0,75 ± 0,2		4,7	3,8
13h		0,33 ± 0,02	14,42 ± 1,26	0,58 ± 0,17		44	1,8
14		19,92 ± 4,29	50,78 ± 8,86	>10K		2,5	502

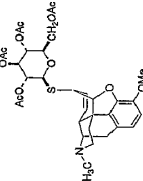
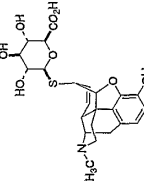
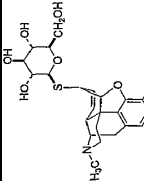
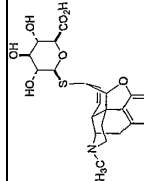
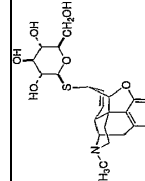
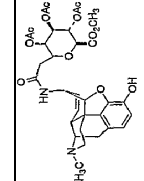
Ejemplo 28: Estudios de unión de [³⁵S]GTPγ-S para medir el acoplamiento a proteínas G

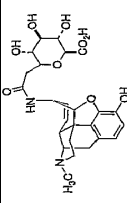
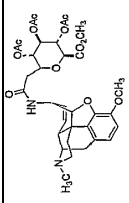
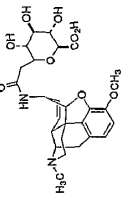
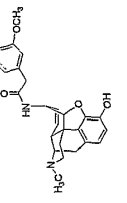
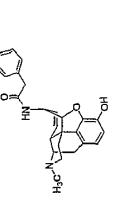
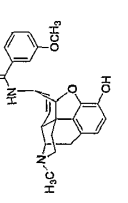
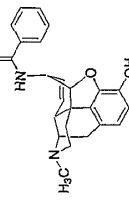
A. **Métodos.** Se realizó unión a S radiomarcado básicamente como se describe por [J. R. Traynor y S. R. Nahorski., Mol. Pharmacol., 47:848-854 (1995)]. Se rasparon células de placas de cultivo de tejido en HEPES 20 mM, EDTA 1 mM, luego se centrifugaron a 500 x g durante 10 min. Las células se resuspendieron en este tampón y se homogeneizaron usando un homogeneizador Polytron. El homogeneizado se centrifugó a 27.000 x g durante 15 min y el sedimento se resuspendió en tampón A, que contenía HEPES 20 mM, MgCl₂ 10 mM, NaCl 100 mM, pH 7,4. La suspensión se volvió a centrifugar a 27.000 x g y se suspendió una vez más en tampón A. Para el ensayo de unión, se incubaron membranas (8-15 µg de proteína) con [³⁵S]GTPγ-S (50 pM), GDP (10 µM), y el compuesto apropiado, en un volumen total de 1,0 ml, durante 60 min a 25 °C. Las muestras se filtraron sobre filtros de fibra de vidrio y se contaron como se describe para los ensayos de unión. El análisis estadístico se realizó usando el programa Prism.

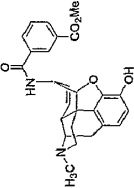
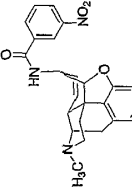
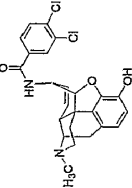
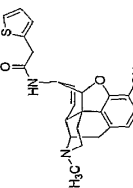
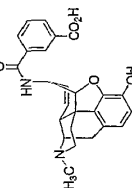
B. **Resultados.** Potencia y eficacia de ligandos. Con el fin de evaluar la activación mediada por receptores de opioides de su proteína G asociada, los compuestos se evaluaron usando ensayos de [³⁵S]GTPγS. Estos datos se resumen en la Tabla 2. En este ensayo, la potencia o afinidad del compuesto por el receptor se define por su CE₅₀ para estimular la unión de [³⁵S]GTPγS. La eficacia agonista se define como el grado al que el compuesto estimula como máximo la unión de [³⁵S]GTPγS con respecto al control. El valor de CE₅₀ representa la concentración de un compuesto que produjo el 50 % de estimulación máxima de la unión de [³⁵S]GTPγS por ese compuesto. Los agonistas completos estimulan la unión de [³⁵S]GTPγS a un grado máximo y los agonistas parciales producen un nivel reducido de unión. La Tabla 2 da los valores de E_{máx} y CE₅₀ para la estimulación de la unión de [³⁵S]GTPγS en los receptores opioides mu, delta y kappa humanos. Con la excepción del compuesto 6c, todos los compuestos estimularon la unión de [³⁵S]GTPγS en los receptores mu y delta. Los compuestos fueron mucho menos eficaces en el receptor kappa. Esta tendencia también se observó para M6G. Los compuestos más eficaces en el receptor mu fueron los compuestos **3b** (88,0 %), **3d** (76,0 %), **4b** (64,5 %) y **4a** (46,6 %) (véase la Tabla 2). Cada uno de estos compuestos poseyó un grupo hidroxilo fenólico libre. Estos compuestos fueron todos más eficaces que M6G. Se observó la misma tendencia general en el receptor delta con compuestos que poseían un hidroxilo fenólico libre que muestran eficacia elevada. Los compuestos más eficaces fueron **3b** (104,4 %), **4a** (78,70 %), **3e** (64,3 %) y **4b** (51,5 %). La protección del grupo hidroxilo fenólico con un grupo acetato o un grupo metilo disminuyó la eficacia y potencia en cada receptor. Los compuestos que efectuaron la estimulación máxima pueden considerarse agonistas en un receptor dado. Aquellos ligandos que provocaron unión inferior a la máxima pueden considerarse agonistas o antagonistas parciales si no se observó estimulación. El orden de clasificación global de los valores de CE₅₀ se correlacionó con los valores de K_i. Con respecto a los compuestos de tipo II, los ligandos **10** y **9b** produjeron la máxima estimulación de la unión de [³⁵S]GTPgammaS por el receptor mu y redujeron la estimulación de la unión de [³⁵S]GTPgammaS en los receptores delta y kappa. Con respecto a los compuestos de tipo III **13a-h** y **14**, cada uno de los compuestos estimuló la unión de [³⁵S]GTPγS en los receptores mu, delta y kappa. Los compuestos fueron generalmente más eficaces en los receptores mu y kappa a diferencia del receptor delta. Los compuestos que efectuaron la estimulación máxima pueden considerarse agonistas en un receptor dado. Aquellos ligandos que provocaron unión inferior a la máxima pueden considerarse agonistas o antagonistas parciales si no se observó estimulación. Los órdenes de clasificación globales de los valores de CE₅₀ se correlacionaron con los valores de K_i.

Tabla 2. Estimulación de la unión de ^{35}S -GTP- γ -S por derivados de M6G

entrada	compuesto	mu		delta		kappa	
		CE ₅₀	% de estimulación	CE ₅₀	% de estimulación	CE ₅₀	% de estimulación
M6G		72,3 ± 26,7	45,0 ± 5,0	190,35 ± 22,9	80,0 ± 0	>10K	
3a		1424 ± 239	37,8 ± 6,7	1323 ± 304	46,83 ± 1,98	plana	plana
3b		43,7 ± 16,48	88,3 ± 19,5	80,16 ± 0,16	104,4 ± 19,95	29,11 ± 8,23	23,52 ± 0,92
3c		4794 ± 1615	44,1 ± 4,9	3659 ± 1510	39,3 ± 0,8	1722 ± 634	36,9 ± 1,9
3d		33,7 ± 11,3	76,0 ± 3,0	63,8 ± 14,6	45,5 ± 1,5	52,0 ± 4,9	26,5 ± 2,5
3e		732,2 ± 47,1	19,3 ± 0,3	1009 ± 178	64,3 ± 8,3	2667 ± 64	24,34 ± 4,2

entrada	compuesto	mu		% de estimulación		delta		kappa	
		CE ₅₀	% de estimulación	CE ₅₀	% de estimulación	CE ₅₀	% de estimulación	CE ₅₀	% de estimulación
3f		993,7 ± 13,3	41,9 ± 2,1	871,5 ± 241,6	44,9 ± 1,2	>10K	plana		
4a		90,6 ± 22,94	46,6 ± 10,1	50,13 ± 36,7	78,70 ± 0,92	plana	plana		
4b		91,5 ± 23,4	64,5 ± 0,5	191,7 ± 14,8	51,5 ± 6,5	320,9 ± 93,1	42,5 ± 2,5		
4c		plana	plana	1331 ± 20,5	44,25 ± 5,4	plana	plana		
4d		1059 ± 22	42,0 ± 6,0	1740 ± 312	27,7 ± 3,3	4628 ± 1773	21,0 ± 0		
10		9,4 ± 3,2	104,3 ± 1,2	29,57 ± 3,7	62,35 ± 9,36	119 ± 59,6	45,2 ± 3,4		

entrada	compuesto	mu		delta		kappa	
		CE ₅₀	% de estimulación	CE ₅₀	% de estimulación	CE ₅₀	% de estimulación
11a		113,9 ± 5,55	44,5 ± 7,1	67,62 ± 0,9	69,81 ± 0,58	1213 ± 19	49,5 ± 1,3
9b		83,9 ± 4,3	96,8 ± 8,22	424,9 ± 100	76,49 ± 19,94	1844,5 ± 54,5	30,65 ± 3,86
11b		672,3 ± 6,4	27,1 ± 3,4	1031 ± 34,2	48,92 ± 5,5	plana	plana
13a		1,7 ± 0,17	99,0 ± 4,0	18,8 ± 2,21	51,0 ± 4,0	4,8 ± 0,1	89,0 ± 6,0
13b		4,8 ± 2,05	72,5 ± 14,5	25,2 ± 3,0	59,5 ± 3,5	5,0 ± 1,0	81,5 ± 1,5
13c		2,8 ± 0,24	87,5 ± 6,5	37,8 ± 1,9	65,5 ± 5,5	9,8 ± 0,02	86,0 ± 0,0
13d		5,5 ± 0,9	90,5 ± 9,5	62,7 ± 24,0	61,3 ± 2,3	5,3 ± 1,3	81,1 ± 8,9

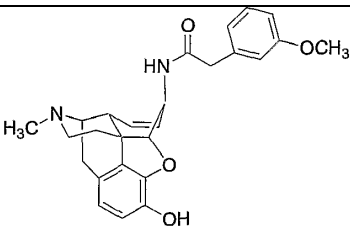
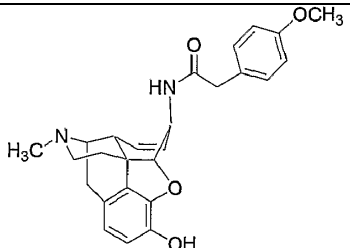
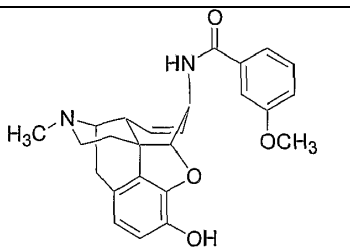
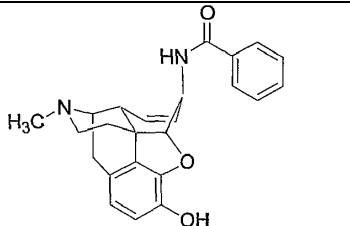
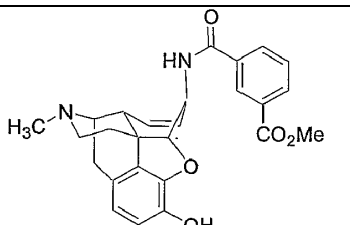
entrada	compuesto	mu		delta		kappa	
		CE ₅₀	% de estimulación	CE ₅₀	% de estimulación	CE ₅₀	% de estimulación
13e		2,4 ± 0,32	98,1 ± 7,9	6,20 ± 0,42	99,63 ± 2,19	11,29 ± 3,51	88,6 ± 8,6
13f		1,9 ± 0,16	95,5 ± 7,5	24,5 ± 3,0	94,1 ± 10,9	1,2 ± 0,1	90,3 ± 4,8
13g		0,1 ± 0,00	95,5 ± 10,5	1,3 ± 0,3	106,5 ± 11,5	0,03 ± 0,02	78,5 ± 1,5
13h		6,0 ± 2,1	95,8 ± 19,3	32,4 ± 2,1	57,3 ± 2,8	4,5 ± 0,2	98,0 ± 1,0
14		65,1 ± 21,8	71,0 ± 8,0	74,0 ± 12,7	69,5 ± 3,5	5096	71 ± 12

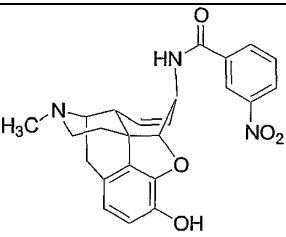
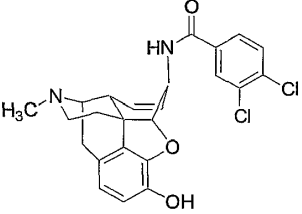
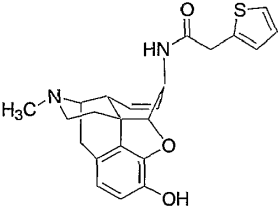
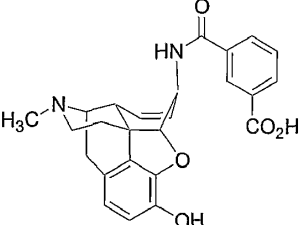
Ejemplo 29: Internalización de receptores mu

A. **Métodos.** Se evaluó la internalización de receptores mu según el método de [D. E. Keith et al., Mol. Pharm., 53:377-384 (1998)]. En términos generales, este fenómeno se estudió usando análisis de citometría de flujo en el que receptores de superficie pueden cuantificarse por tinción con FLAG M1 marcado con FITC y midiendo la fluorescencia. Los fármacos que fueron eficaces en provocar la internalización causaron tinción reducida con respecto al control.

B. **Resultados.** Los compuestos de tipo III se evaluaron para su capacidad para efectuar la internalización de receptores mu debido a la función que este proceso puede desempeñar en el desarrollo de tolerancia y dependencia (véase la Tabla 3). A partir de los datos, puede observarse que el compuesto de dicloro **13g** (47 %) y el compuesto de nitró **13f** (59 %) fueron ambos más eficaces que la etorfina (61 %) en causar la internalización de receptores mu. Las otras amidas fueron internalizadores de moderados a débiles del receptor mu. Debe señalarse que la morfina (93 %) no produce internalización de receptores mu a concentraciones plasmáticas normales (1-50 nM). La concentración de los compuestos usada en estos experimentos fue 1 μ M.

Tabla 3. Internalización de receptores mu para ligandos seleccionados

entrada	estructura	% de control
13a		76,14
13b		84,84
13c		74,53
13d		72,11
13e		81,83

entrada	estructura	% de control
13f		58,69
13g		47,11
13h		91,11
14		95,85

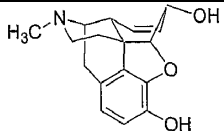
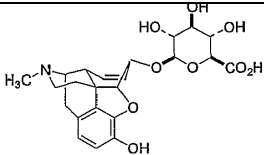
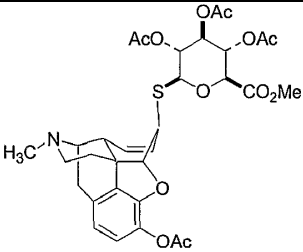
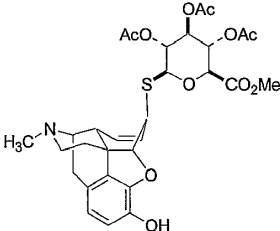
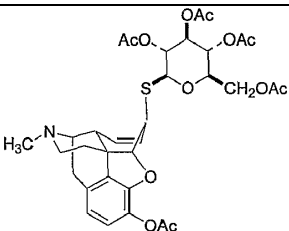
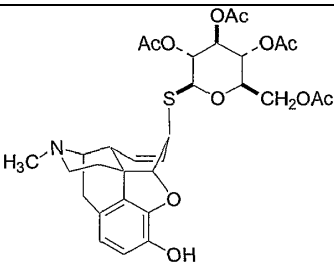
Ejemplo 30: Evaluación de la estabilidad química y metabólica

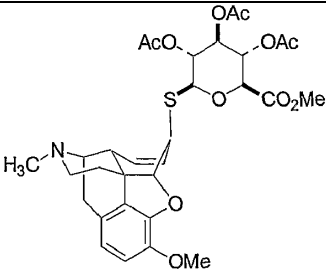
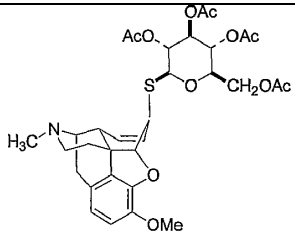
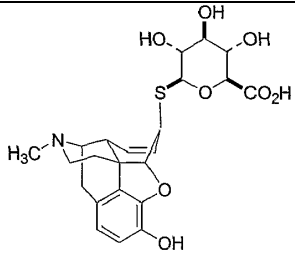
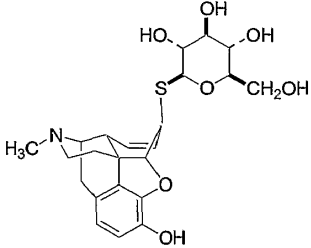
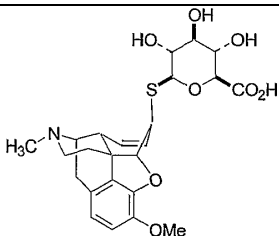
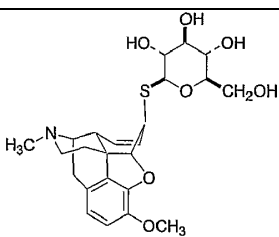
A. **Métodos.** Se examinó la estabilidad química de compuestos seleccionados a pH 7,4 y pH 2,0. Los compuestos (0,1 M) a tanto pH 7,4 como 2,0 en presencia de tampón fosfato de potasio 10 uM se concentraron después de 5 min, 1 h, 2 h, 3 h, 24 h, 48 h o 72 h. Entonces se usó HPLC para analizar la descomposición del material de partida. La estabilidad metabólica de los compuestos seleccionados se examinó en S9 y microsomas de hígado humano. Estabilidad de S9 reunidos de hígado humano (HLS9) y microsomas de hígado de ratón (MLM). El tampón de ensayo contiene 3,2 mg/ml de HLS9 o 1,2 mg/ml de MLM, tampón fosfato de potasio 0,1 M (pH 7,4), compuestos 0,1 mM, NADP⁺ 0,5 mM, glucosa-6-fosfato 0,5 mM, 5 U/ml de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, 1 mg/ml de DETAPAC, MgCl₂ 7 mM para un volumen de incubación final de 0,25 ml. Después de 0, 10, 25, 40 o 60 min las reacciones se detuvieron mediante la adición de 1 ml de CH₂Cl₂/IPA (3:1 v:v). Después de la centrifugación, el disolvente de extracción (fase orgánica) se separó por evaporación con una corriente de nitrógeno, se resolvió por 200 ul de metanol, se agitó con vórtex, se centrifugó, se transfirió a insertos para viales de HPLC. Se usó HPLC para analizar la descomposición del material de partida comparando el área bajo la curva con antes de la adición de microsomas al área bajo la curva en el intervalo de tiempo dado (0, 10, 25, 40 o 60 min).

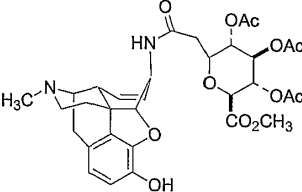
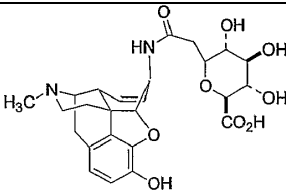
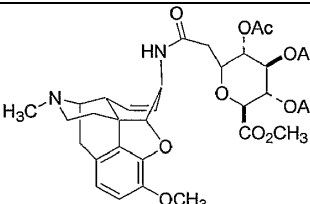
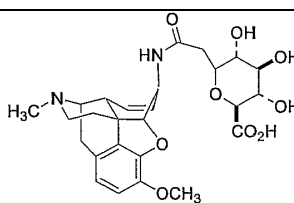
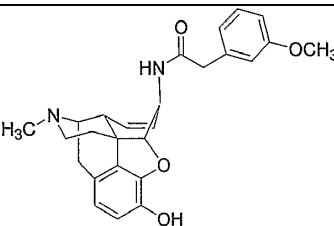
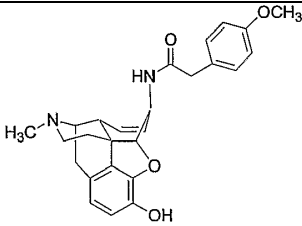
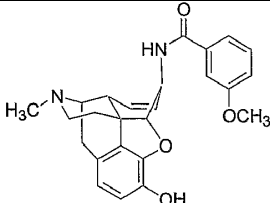
B. **Resultados.** Se evaluaron compuestos de tipo I y III seleccionados en presencia de microsomas de hígado de ratón (MLM), microsomas de hígado humano S-9 (HLS9) y a pH 2 y 7,4 (véase la Tabla 4). Una semivida más larga se correlaciona con mayor estabilidad bajo las condiciones dadas. En compuestos de tipo I, el análogo de azufre M6G **4a** mostró estabilidad igual a M6G en presencia de HLS9 y a pH 2 y 9. La presencia de grupos protectores éster redujo la estabilidad de moléculas de tipo I. La estabilidad del compuesto **3a** a HLS9 es mayor que la del compuesto **3b** (17,86 min), sugiriendo que el grupo acetato en la posición 3 es el grupo éster más lábil en moléculas de tipo I. Esta hipótesis se verificó por co-inyección de HPLC. No pudieron detectarse diferencias en las estabildades de los compuestos desprotegidos **4a-d**. Los compuestos de tipo III fueron significativamente más estables que los compuestos de tipo I bajo todas las condiciones probadas. La presencia del grupo éster metílico en el compuesto **13e** redujo la estabilidad de este compuesto a HLS9 y a pH 7,4 cuando se comparó con otros compuestos de tipo III. No pudieron obtenerse cantidades suficientes de compuestos de tipo II para la evaluación. La

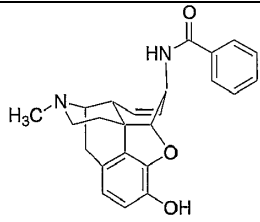
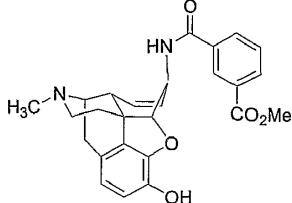
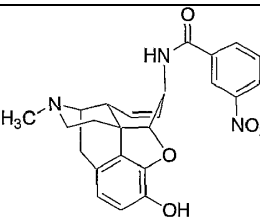
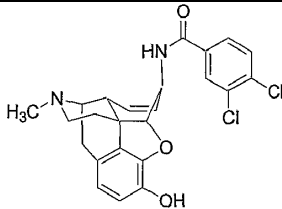
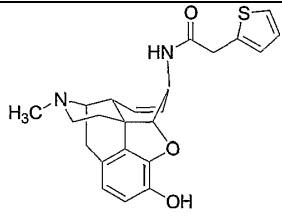
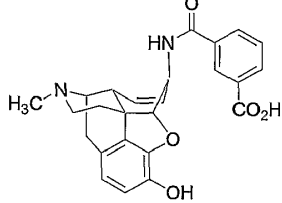
presencia de grupos protectores de éster en compuestos de tipo II debería convertirlos en menos estables que los compuestos de tipo III. Se espera que el enlace amida confiera estabilidad mejorada con respecto al enlace S-glucosídico.

Tabla 4. Análisis de estabilidad de ligandos seleccionados.

entrada	compuesto	MLM (min)	t1/2	HLS9 (min)	t1/2	pH2,0 (min)	t1/2	pH 7,4 (min)	t1/2
morfina		--		--		--		--	
M6G		estable		estable		estable		estable	
3a		16,74		17,86		835,6		estable	
3b		39,95		estable		estable		94,1 h	
3c		14,11		11,76		--		--	
3d		94,65		156,5		--		--	

entrada	compuesto	MLM (min)	t1/2	HLS9 (min)	t1/2	pH2,0 (min)	t1/2	pH 7,4 (min)	t1/2
3e		≤12,5		37,44		1042,0		51 h	
3f		491,8		628,8					
4a		estable		estable		estable		estable	
4b		estable		estable		--		--	
4c		estable		estable		--		--	
4d		estable		estable		--		--	

entrada	compuesto	MLM (min)	t1/2	HLS9 (min)	t1/2	pH2,0 (min)	t1/2	pH 7,4 (min)	t1/2
10		--		--		--		--	
11a		--		--		--		--	
9b		--		--		--		--	
11b		--		--		--		--	
13a		estable		estable		--		--	
13b		310,2		estable		--		--	
13c		estable		estable		--		--	

entrada	compuesto	MLM (min)	t1/2	HLS9 (min)	t1/2	pH2,0 (min)	t1/2	pH 7,4 (min)	t1/2
13d		estable		estable		--		--	
13e		estable		202,8		estable		828,1	
13f		1123,5		361,1		--		--	
13g		estable		231,4		--		--	
13h		670,2		estable		--		--	
14		estable		estable		--		--	

Ejemplo 31: Determinación de la actividad analgésica de los análogos de morfina 3a y 13e

A. Métodos.

5

1. Animales. Se usaron ratones ICR macho que pesaban 20-25 g al inicio del experimento. Los animales se alojaron en grupo bajo condiciones de laboratorio estándar y se mantuvieron en un ciclo de día-noche de 12:12 h (las luces se encienden a las 08:00). Los animales se manipularon durante 1-2 días antes de realizar los experimentos.

2. Fármacos. Se disolvieron morfina, **13e** y **3b** en agua. Los fármacos se inyectaron a un volumen de 0,1 ml.

3. Prueba de nocicepción. Se evaluó la nocicepción usando el ensayo de pinzamiento de la cola con un instrumento de analgesia (Stoelting) que usa calor radiante. Este instrumento está equipado con una cuantificación automática de la latencia del pinzamiento de la cola y un corte de 15 s para prevenir el daño a la cola del animal. Durante la prueba, el haz de luz enfocado se aplicó a la mitad inferior de la cola del animal, y se registró la latencia de pinzamiento de la cola. Se determinaron los valores de nivel inicial para la latencia de pinzamiento de la cola antes de la administración de fármaco en cada animal. La latencia de pinzamiento de la cola basal estuvo entre 3,2-8,0 s (promedio 5,86 ± 0,16 EEM). Inmediatamente después de la prueba, los animales se inyectaron por vía subcutánea con el compuesto de prueba o solución salina como control de vehículo. Tras las inyecciones, los animales se probaron para latencias de pinzamiento de la cola 30 y 60 min después de la inyección.

4. Análisis de datos. Se cuantificó la antinocicepción por la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de antinocicepción} = 100 * [(\text{latencia de prueba} - \text{latencia del nivel inicial}) / (15 - \text{latencia del nivel inicial})]$$

Si el animal no respondió antes del corte de 15 s, al animal se asignó una puntuación del 100 %. Se analizaron los resultados de conducta usando ANOVA con morfina, **13e** y **3b** como las variables entre grupos y el tiempo de tratamiento después del fármaco (30, 60 min) como la medida repetida seguida de las pruebas a posteriori de Student Newman-Keuls cuando correspondiera. El nivel de significancia se estableció a $p < 0,05$.

B. Resultados.

1. **Efectos de morfina sobre la latencia de pinzamiento de la cola.** Como se muestra en la Figura 5, la morfina produjo aumentos dependientes de la dosis en la latencia de pinzamiento de la cola. El ANOVA global indicó un efecto significativo de la dosis [$F(3,45)=25,52$, $P<0,0001$]. Así, independientemente del tiempo después de la inyección, la morfina produjo el mismo efecto sobre la latencia de pinzamiento de la cola. Promediada a través del tiempo después de la inyección, la dosis de 3-30 mg/kg de morfina produjo un aumento significativo en la latencia de pinzamiento de la cola con respecto a los controles (Student Newman-Keuls, $p<0,05$). Se observó un aumento de escala de la curva de respuesta a dosis para el % de MPE, donde la dosis de 3 mg/kg de morfina produjo efectos analgésicos a un menor grado con respecto a la dosis de 10 y 30 mg/kg (Student Newman-Keuls, $p<0,05$).

2. **Efectos de 13e sobre la latencia de pinzamiento de la cola.** La administración de **13e** produjo un aumento en la latencia de pinzamiento de la cola que fue evidente a los 30 min y continuó estando presente a los 60 min (véase la Figura 6). El ANOVA global indicó un efecto significativo de la dosis [$F(5,72)=14,86$, $P<0,0001$]. Promediada a través del tiempo después de la inyección, las dos dosis más altas de **13e** produjeron un aumento significativo en la latencia de pinzamiento de la cola con respecto a los controles (Student Newman-Keuls, $p<0,05$). Los efectos analgésicos de dosis de 30 mg/kg de **13e** fueron 2 veces superiores a los producidos por la dosis de 10 mg/kg (Student Newman-Keuls, $P<0,05$). El compuesto **13e** pareció tener una aparición de la acción más lenta que la morfina, con potencia significativamente aumentada a los 60 min durante 30 min. Considerando su afinidad muy alta ($K_i = 0,23$ nM en los receptores μ) y la potente actividad agonista completa con respecto a la estimulación de la unión de [35 S]GTPyS ($CE_{50} = 2,4$ nM en μ), este compuesto tuvo actividad antinociceptiva relativamente débil, con valores de DE_{50} de 30,2 mg/kg y 12,6 mg/kg a 30 y 60 min, respectivamente. Esta potencia a corto plazo probablemente menor con respecto a la morfina, que tiene una DE_{50} de aproximadamente 3 mg/kg.

3. **Efectos de 3a sobre la latencia de pinzamiento de la cola.** La administración de **3a** produjo un aumento dependiente de la dosis en la latencia de pinzamiento de la cola indicativo de los fuertes efectos analgésicos del compuesto (véase la Figura 7). El ANOVA global indicó un efecto significativo de la dosis [$F(5,64)=37,26$, $P<0,0001$]. Promediada a través del tiempo después de la inyección, la dosis de 3-30 mg/kg de **3a** produjo un aumento significativo en la latencia de pinzamiento de la cola con respecto a los controles (Student Newman-Keuls, $p<0,05$). Las dos dosis más altas (10 y 30 mg/kg) de **3a** produjeron una mayor cantidad de analgesia con respecto a la dosis de 3 mg/kg (Student Newman-Keuls, $p<0,05$). El compuesto **3a** fue significativamente más potente como analgésico que **13e**, con una DE_{50} de aproximadamente 2,5 mg/kg a tanto 30 como 60 min. Este valor también sugiere que **3a** es ligeramente más potente que la morfina (DE_{50} de 3 mg/kg). Aunque **3a** tiene afinidad de unión *in vitro* ligeramente más baja que la morfina, tiene potencia de [35 S]GTPyS y porcentaje de estimulación aproximadamente similares (véanse las Tablas 1 y 2), que indica que la biodisponibilidad de **3a** también es similar a la de o superior a la de la morfina. Debido a que este compuesto es algo no selectivo con respecto a cada uno de los receptores de opioides, no es cierto en este punto que el receptor medie en la actividad antinociceptiva. La aparición de la acción para **3a** es evidentemente más rápida que aquella para la morfina (la actividad es mayor para el momento de tiempo de 60 min en vez del momento de tiempo de 30 min).

Ejemplo 32: Dependencia y abstinencia de heroína

A. Métodos. Efectos de análogos de M6G sobre animales dependientes de heroína. Se hizo auto-administración de heroína usando una dosis de heroína que produjo medidas óptimas de la dependencia. Se estimaron 0,06 mg/kg/0,1 ml de infusión basándose en el trabajo previo. Después de establecerse la respuesta estable (aprox. 40 días a 23 hora/día de acceso), se examinaron los efectos de la baja dosis de naloxona (0,05 a 0,2 mg/kg) como control positivo y análogos de M6G (0, 0,01, 0,04, 0,1 mg/kg, s.c.) y otros análogos sobre diferentes medidas de conducta del consumo de heroína. Se probaron cuatro dosis para cada compuesto. Se hizo un intento por realizar estudios de efecto de la dosis intraindividuales para cada análogo de M6G, pero los estudios también emplearon funciones de dosis-efecto interindividuales según se necesitara. Para explorar los efectos de la naloxona y análogos de M6G durante un periodo de 12 h, también puede usarse una minibomba conectada a un dispositivo de regulación de encendido/apagado desarrollado en el laboratorio Koob. Una vez se logró el consumo estable de heroína, las ratas pueden implantarse con una minibomba osmótica (en una posición cerrada regulada) a 6 AM. Doce horas después, el dispositivo de regulación se cambia a la posición encendido y se deja que las ratas tengan acceso a la auto-administración de heroína durante las sesiones de 23 h usuales. Durante estas sesiones la minibomba estuvo en la posición encendida regulada durante una duración de 12 horas durante el periodo oscuro que es la fase activa (6 PM encendido 6 PM apagado). Después de 2 días, se retiró la minibomba y se sustituyó con otra minibomba que contenía una dosis diferente del compuesto de prueba (es decir, naloxona o análogo de M6G) en un diseño de cuadrados latinos. Este ciclo se repite de manera que se prueben 3 dosis y control de vehículo. El gran número de fármacos y las dosis requeridas pueden forzar a un diseño intraindividual de la dosis para naloxona y análogos de M6G. Las conductas particulares a examinar se determinaron a partir de los resultados de las pruebas de exposición a heroína a largo plazo mediante la auto-administración que pueden reflejar la transición de auto-administración en un patrón no dependiente a la auto-administración en un patrón dependiente. El sofisticado modelado estadístico se hizo usando un enfoque de modelado lineal jerárquico donde se ajustaron trayectorias de adquisición individuales con una función polinómica, mientras que representan variables intraindividuales e interindividuales.

B. Resultados. Los paradigmas de auto-administración de heroína están ahora bien establecidos en la rata [Véase Walker et al., Eur. J. Pharmacol., 383:115 (1999)]. Menos estudios han explorado el cambio en la conducta asociada al acceso ilimitado a la heroína y el desarrollo de auto-administración de heroína hasta el punto de la dependencia. Resultados preliminares han establecido que las ratas se auto-administrarán de forma fiable heroína i.v. con acceso ilimitado, en condiciones de no privación o restricción de alimentos. El patrón de auto-administración de acceso ilimitado cambia con el tiempo y produce animales que presentan medidas de dependencia. Se desarrolló un modelo animal del desarrollo de dependencia de la heroína en seres humanos. Los animales administrados con un amplio acceso (acceso de 23 horas a la auto-administración de heroína a la dosis de 0,06 mg/kg/0,1 ml de infusión) presentaron consumo sostenido de la heroína durante 50-60 días. Durante este periodo, el patrón de auto-infusión cambió de uno observado solo en la fase "activa/oscura" a un patrón donde la auto-administración se produjo aproximadamente cada 15-20 min. De las semanas 2-3 a la semana 7 se observó auto-administración esencialmente uniforme. Se registró cada auto-administración por día durante aproximadamente 50 días. Estos estudios han proporcionado información completa sobre las dosis de heroína, patrones de consumo y momento del día para el máximo consumo de fármaco. La dependencia de la heroína puede medirse como una manifestación de la retirada de la administración de heroína crónica [Véase Woolverton y Schuster (1983)]. La dependencia puede expresarse como signos de abstinencia abierta siguiendo la eliminación de heroína o tras la administración de un antagonista de heroína en ratas dependientes. Ambos producen signos somáticos y efectos de motivación [Véase Weeks y Collins (1964)]. La capacidad de los análogos de M6G para reducir la auto-administración de heroína se probó en el modelo de acceso extendido durante la auto-administración y después de la administración de análogos de M6G.

El efecto de los análogos de M6G **3a**, **13e**, **13g** y **13h** sobre la auto-administración de heroína se examinó en ratas dependientes que están de acuerdo con efectos en seres humanos dependientes de heroína. El objetivo de estos experimentos era identificar análogos de M6G que eran eficaces en disminuir la auto-administración de heroína. El examen de las Figuras 8-12 revela que los análogos de M6G **13e** (0,04 mg/kg), **13g** (0,2 mg/kg), M6G (0,04 mg/kg), **13h** (0,01, 0,04, 0,2 mg/kg) fueron eficaces en reducir la auto-administración de heroína. El compuesto más eficaz fue **13h**, que redujo el consumo de heroína 1000 ug/kg a una dosis de 0,01 mg/kg.

Ejemplo 33: Síntesis y evaluación biológica de un análogo de C-glucósido de M6G

La morfina-6-glucurónido (M6G) es un conjugado metabólico de fase II de morfina con aproximadamente 100 veces la potencia analgésica de la propia morfina cuando se inyecta por vía intracerebroventricular en ratas [Carrupt et al., J. Med. Chem. 34, 1272-1275 (1991)]. El M6G está actualmente en ensayos clínicos de fase tardía para el tratamiento de dolor posoperatorio [Gutman et al., patente de EE.UU. N.º 6.737.518 (2004)]. La biodisponibilidad oral de M6G es solo del 11 % [Penson et al., Br. J. Clin. Pharmacol., 53:347-354 (2002)] y la mejora de la estabilidad metabólica de M6G podría aumentar posiblemente su eficacia como una posible medicación para el dolor. Una estrategia general para mejorar la estabilidad metabólica *in vivo* de glucoconjugados implica la sustitución del átomo de oxígeno glucosídico con átomos de carbono, nitrógeno o azufre [Postema et al., Organic Lett., 5:1721-1723 (2003); Kiefel et al., J. Carbohydr. Chem., 18:937-959 (1999)]. Previamente se empleó esta estrategia en el diseño de una biblioteca de análogos de glucosilo y glucuronosilo de M6G, en los que el átomo de oxígeno glucosídico se

sustituyó con un átomo de azufre [MacDougall et al., J. Med. Chem. 47:5809-5815 (2004)]. Los análogos de azufre 6-β de M6G mostraron una modesta mejora en la afinidad y eficacia funcional de receptores de opioides μ, pero mostraron menos selectividad por receptores de opioides μ frente a δ y κ. En el presente documento se informa una extensión de este trabajo que detalla los resultados de una ruta de síntesis de 14 etapas y evaluación biológica de un novedoso análogo de glucósido de carbono unido a amida selectivo para μ de M6G.

Se preparó el cloruro de C-β-glucopiranosilacilo **9** por un procedimiento de cinco etapas a partir de 2,3,4,6-tetrabencilglucopiranososa **4** comercialmente disponible. El compuesto **4** se oxidó con DMSO/Ac₂O proporcionando la lactona **5** correspondiente (94 %) [Kuzuhara, H.; Fletcher, H.G., J. Org. Chem., 32:2531-2534 (1967)]. La adición de **5** a una disolución de THF a -78°C de acetato de litio y etilo [Rathke, M. W., J. Am. Chem. Soc., 92:3222-3223 (1970)], seguido de procesamiento acuoso ácido, proporcionó el hemiacetal **6**, que se formó por una reacción de aldol estereoselectiva (91 %) [Lewis et al., J. Am. Chem. Soc., 104:4976-4978 (1982)]. La reducción [Lewis et al., arriba; Tiedemann et al., J. Org. Chem., 64:4030-4041 (1999)] de **6** con trietilsilano en presencia de BF₃·OEt₂ en acetonitrilo a 0 °C dio el éster etílico **7** (86 %). La hidrólisis del grupo éster etílico de **7** con LiOH en 1:1 de THF/H₂O a reflujo y posterior procesamiento acuoso ácido dio el ácido carboxílico **8** (87 %). La conversión de **8** en el cloruro de acilo **9** correspondiente se llevó a cabo agitando en cloruro de tionilo puro durante 18 h. La adición de 1,5 equivalentes del cloruro de ácido **9** en bruto a 3-triisopropilsilil-6-β-aminomorfina [MacDougall et al., Bioorg. Med. Chem., 12:5983-5990 (2004)] en CH₂Cl₂ en presencia de 2,0 equivalentes de Et₃N dio el análogo de glucosa de morfina protegido **10** (93 %). El grupo protector de triisopropilsililo en **10** se eliminó mediante la adición de TBAF en THF dando el fenol **11** (90 %). La posterior hidrogenación catalítica de **11** con 10 % de Pd/C activo en metanol ácido dio el análogo de C-β-glucopiranosido unido a amida de M6G, el compuesto **3** (52 %). La hidrogenólisis de **11** con Pd/C en ausencia de HCl produjo la reducción del doble enlace de carbono del fenantreno y proporcionó **12** en rendimiento cuantitativo, pero no produjo la hidrogenólisis de los grupos bencil éter de glucosa. Bajo estas condiciones, el átomo de nitrógeno del morfinano básico en **11** probablemente inhibió la O-desbencilación [Czech, B. P.; Bartsch, R. A., J. Org. Chem. 49:4076-4078 (1984)]. Se sabe que tanto la saturación del doble enlace en 7,8 como la sustitución del resto de ácido glucurónico con un resto de glucosa proporcionan análogos de M6G con elevada potencia analgésica [Stachulski et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 13:1207-1214 (2003)]. Por consiguiente, el compuesto **3** se evaluó directamente en vez de desarrollar una vía alternativa al análogo deshidro correspondiente o el análogo de ácido glucurónico de **3**. Los datos espectrales para todos los compuestos sintéticos estuvieron totalmente de acuerdo con las estructuras asignadas [los nuevos compuestos **10**, **11**, **12** y **3** se caracterizaron por RMN ¹H, RMN ¹³C y MS. La pureza de los compuestos de prueba **3** y **11** se determinó por HPLC y se encontró que era ≥ 98 %].

Los valores de Cl₅₀ obtenidos de los ensayos de unión por competición con receptores de opioides μ, δ y κ para los compuestos **3** y **11** se convirtieron en valores de K_i como se describe en la sección experimental. Los valores de K_i para los compuestos de prueba y los materiales de referencia se enumeran en la Tabla 5. En los ensayos de unión se usaron los siguientes radioligandos: [³H]DAMGO (agonista de receptores de opioides μ); [³H]U69593 (agonista de receptores de opioides κ); [³H]DPDPE (agonista de receptores de opioides δ). Los valores de K_i se determinaron a partir de medir la inhibición de la unión de estos radioligandos al receptor por los compuestos de prueba **3** y **11** [Zaveri et al., Eur. J. Pharmacol., 428:29-36 (2001)]. El derivado de bencilo **11** y el congénere desprotegido **3** fueron ambos selectivos para el receptor μ. En comparación con M6G, el compuesto **11** poseyó potencia 27 veces más alta que M6G para el receptor de opioides μ. La selectividad del compuesto **11** por los receptores μ frente a δ y μ frente a κ fueron 10 veces y 34 veces, respectivamente. En comparación con M6G, el compuesto **3** mostró potencia 3,7 veces mayor por el receptor de opioides μ. La selectividad del compuesto **3** por los receptores μ frente a δ y μ frente a κ fue 77 y 166 veces, respectivamente. Es de notar que la selectividad por el receptor μ frente a δ pero no μ frente a κ del compuesto **3** mejoró considerablemente con respecto al valor para M6G (es decir, selectividad de 12,5 y 316 veces, respectivamente). El compuesto **3** mostró potencia ligeramente mayor hacia el receptor de μ en comparación con los tiosacáridos **2a** (2,5 veces) y **2b** (1,6 veces) y mejoró significativamente las relaciones de selectividad de los receptores δ/μ y κ/μ. Se evaluó la actividad funcional de los compuestos **3** y **11** usando el ensayo de [³⁵S]GTPγS [Traynor, J.R. y Nahorski S.R. Modulation, Mol. Pharmacol. 47:848-854 (1995)]. El ensayo de [³⁵S]GTPγS mide la capacidad del compuesto de prueba para activar la proteína G asociada a tanto el receptor de opioides μ, δ como κ. Basándose en los valores de E_{máx} para estimular la unión de [³⁵S]GTP-γ-S, se determinó que el compuesto **3** era un agonista completo en los receptores μ y δ y un agonista parcial en el receptor κ. Se terminó que el compuesto **11** era un agonista completo en el receptor δ y un agonista parcial en los receptores μ y κ. La eficacia (E_{máx}) del compuesto **3** en el receptor μ (75 %) fue sustancialmente superior a la de M6G (45 %) y los análogos de tiosacárido **2a** (46,6 %) y **2b** (36,0 %), respectivamente.

En conclusión, se preparó el C-glucósido **3** por una síntesis convergente de 14 etapas a partir de 2,3,4,6-tetra-O-bencil-D-glucosa **4** y sulfato de morfina. El compuesto **3** mostró una afinidad de 3,7 veces mayor por el receptor de opioides μ en comparación con M6G. Las relaciones de selectividad del compuesto **3** para los receptores δ frente a μ y κ frente a μ fueron 76,7 y 166, respectivamente. La selectividad de δ/μ para el compuesto **3** mejoró significativamente con respecto al valor para M6G, que fue 12,5. Trabajo adicional está actualmente en progreso para delinear completamente las propiedades biológicas *in vivo* de estos compuestos. El aumentar la estabilidad metabólica de M6G puede proporcionar una nueva clase de agonistas de opioides potentes de vida más larga.

Tabla 5. Inhibición competitiva de los receptores de opioides μ , δ y κ por los compuestos 2a, 2b, 3 y 11.

	K _i (nM) \pm EEM ^a				Selectividad del receptor
entrada	μ	δ	κ	δ/μ	κ/μ
M6G ^b	12,9 \pm 0,9	170 \pm 1	4060 \pm 230	12,5	316
2a ^b	8,7 \pm 0,9	31,4 \pm 2,3	288 \pm 12	3,6	33
2b ^b	5,4 \pm 0,8	56,2 \pm 2,2	136 \pm 17	10,4	25,4
3	3,47 \pm 0,37	266,33 \pm 47,27	574,9 \pm 7,8	76,7	166
11	0,47 \pm 0,15	7,18 \pm 1,2	15,82 \pm 0,44	10,3	33,7

^aEEM, error estándar de la media. Cada valor es la media de al menos tres determinaciones independientes \pm EEM.

^bDatos tomados de MacDougall et al., arriba.

Tabla 6. Estimulación de la unión de [³⁵S]-GTP- γ -S por los compuestos 2a, 2b, 3 y 11 mediada por los receptores de opioides μ , δ y κ

	μ		δ		κ	
entrada	CE ₅₀ ^a	E _{máx} ^b	CE ₅₀	E _{máx}	CE ₅₀	E _{máx}
M6G ^d	72,3 \pm 26,7	45,0 \pm 5,0	190 \pm 20	80,0 \pm 1,0	>10K	ND ^a
2a ^d	90,6 \pm 22,9	46,6 \pm 10,1	50,1 \pm 36,7	78,7 \pm 0,9	NA ^a	ND ^a
2b ^d	91,5 \pm 23,4	64,5 \pm 0,5	192 \pm 15	51,5 \pm 6,5	321 \pm 93	42,5 \pm 2,5
3	37,2 \pm 0,5	75,2 \pm 3,6	334,9 \pm 123,2	73,95 \pm 7,85	1717,5 \pm 24,5	38,5 \pm 5,5
11	622,6 \pm 9,2	36,0 \pm 11,2	2,17 \pm 1,14	65,35 \pm 1,85	1,81 \pm 0,62	44,5 \pm 16,3

^aCE₅₀: El valor de CE₅₀ representa la concentración de un compuesto que produjo el 50 % de estimulación de la unión de [³⁵S]GTP γ S.

^bE_{máx}: La eficacia agonista se define como el grado al que el compuesto estimula como máximo la unión de [³⁵S]GTP γ S con respecto al control.

^cND: Actividad no detectable.

^dDatos de la referencia 6.

5

Información general. Todas las reacciones se realizaron bajo una presión positiva de nitrógeno seco con agitación magnética a temperatura ambiente usando material de vidrio secado en estufa, a menos que se indique lo contrario. Los líquidos sensibles al aire y la humedad se transfirieron mediante jeringa a través de tabiques de caucho. El término salmuera se refiere a una disolución saturada de cloruro sódico. Se usó gel de sílice (230-400 de malla) para la cromatografía en columna. Se secó DMF a través de una columna de alúmina neutra y se guardó sobre tamices moleculares de 4 Å activados bajo nitrógeno antes de uso. CH₂Cl₂ y THF se destilaron a partir de CaH₂ inmediatamente antes de uso. Todos los otros disolventes y reactivos se usaron como se recibieron. Los espectros de RMN ¹H se registraron a 18 °C con un 300 MHz Varian NMR. Los desplazamientos químicos se informaron en ppm (δ) con respecto a CDCl₃ a 7,26 ppm, a menos que se indique lo contrario. Se hicieron espectros de masas de alta resolución en un espectrómetro VG 7070 con sistema de datos Opus V3.1 y DEC 3000 Alpha Station en la Universidad de California en Riverside. Se hizo espectroscopía de masas de baja resolución (LRMS) en un espectrómetro de masas Hitachi M-8000 3DQEM (trampa iónica) usando ESI. Los puntos de fusión se informaron sin corregir. Se determinó la pureza analítica por HPLC de fase directa usando un cromatógrafo de líquidos Hitachi L74 con un integrador D7500 y una columna de acero inoxidable Hamilton PRP-I (250 mm x 4,6 mm, d.i.). Para la determinación de las purezas analíticas se usó una fase móvil A = 60/40/0,02 de MeOH/2-propanol/HClO₄ (v:v) o fase móvil B = 55/45/0,018 de MeOH/2-propanol/HClO₄ (v:v).

20

3-O-Triisopropilsilil-6- β -(2,3,4,6-tetra-O-bencil- β -D-glucopiranosil)acetamidomorfina 10. Se añadió SOCl₂ (2,0 ml) al ácido carboxílico **8** (389 mg, 0,67 mmoles) y la disolución se agitó a ta durante 18 h. El exceso de SOCl₂ se

eliminó bajo alto vacío con la ayuda de un baño de agua (60 °C) y el aceite amarillo que resultó se disolvió en CH₂Cl₂ (5 ml) y se añadió a 3-O-triisopropilsilil-6-β-aminomorfina (196 mg, 0,445 mmoles) y Et₃N (0,12 ml, 0,89 mmoles) en CH₂Cl₂ (5 ml). La disolución se agitó a ta durante 1 h, se concentró y se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO₂, 30:1 a 10:1 de EtOAc/MeOH), proporcionando **10** como un sólido blanco (417 mg, 93 %): R_f = 0,46 (10:1 de CH₂Cl₂/MeOH); pf = 56,6 °C; RMN ¹H (CDCl₃) δ 7,35-7,10 (20H), 6,59 (d, J = 8,0 Hz, 1 H), 6,40 (d, J = 8,0 Hz, 1 H), 6,22 (d, J = 6,9 Hz, 1 H), 5,71 (ddd, J = 3,0, 6,0, 9,5 Hz, 1H), 5,41 (dd, J = 1,9, 9,5 Hz, 1H), 4,89-4,48 (9H), 4,36 (t, J = 6,3 Hz, 1H), 3,72-3,46 (5H), 3,29 (t, J = 9,0 Hz, 1H), 3,17 (dd, J = 3,0, 5,2 Hz, 1H), 2,96 (d, J = 18,7 Hz, 1H), 2,88 (bs, 1H), 2,72 (dd, J = 2,7, 15,2 Hz, 1H), 2,50-1,72 (10H), 1,30-1,05 (21H). RMN ¹³C (CDCl₃) δ 170,0, 147,9, 143,6, 138,2, 137,8, 137,6, 132,9, 130,4, 128,7, 128,4, 128,34, 128,32, 128,0, 127,8, 127,76, 127,6, 127,0, 120,8, 118,4, 92,0, 86,8, 80,9, 78,7, 78,1, 77,4, 76,1, 75,7, 75,2, 75,0, 73,3, 68,7, 59,0, 49,3, 46,8, 44,1, 43,1, 40,3, 39,0, 36,4, 20,3, 18,0, 17,99, 12,8, 11,3; EM (EI) m/z 1006 [M + H]⁺.

6-β-(2,2,4,6-Tetra-O-bencil-β-D-glucopiranosil)acetamidomorfina 11. Se disolvió el silil éter **10** (270 mg, 0,27 mmoles) en THF (4 ml). Se añadieron agua (0,05 ml) y TBAF (0,4 ml, 0,4 mmoles, disolución 1,0 M en THF). Después de 2,5 h, se añadió 1 % de HCl concentrado (4 ml) y la mezcla se agitó durante 2 min, se diluyó con agua (10 ml) y se basificó con NaHCO₃ sólido. La mezcla se extrajo con CH₂Cl₂ (5 x 30 ml), se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró. La cromatografía ultrarrápida (24:1 a 12:1 de EtOAc/MeOH) proporcionó **11** como un sólido blanco (205 mg, 90 %): R_f = 0,15 (12:1 de EtOAc/MeOH); pf = 103,8 °C; RMN ¹H δ 7,34-7,10 (20H), 6,64 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,46 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,34 (d, J = 6,3 Hz, 1H), 5,68 (ddd, J = 2,5, 5,8, 9,5 Hz, 1H), 5,39 (d, J = 9,5 Hz, 1H), 4,89-4,46 (10H), 4,34 (t, J = 6,3 Hz, 1H), 3,72-3,46 (6H), 3,30 (t, J = 9,1 Hz, 1H), 3,18 (bs, 1H), 2,97 (d, J = 18,1 Hz, 1H), 2,94 (bs, 1H), 2,74 (dd, J = 2,5, 15,7 Hz, 1H), 2,55-2,16 (7H), 1,95 (dt, J = 8,0, 12,6 Hz, 1H), 1,76 (d, J = 11,3 Hz, 1H); ¹³C δ 170,4, 144,2, 143,6, 138,1, 138,0, 137,8, 137,7, 137,6, 132,6, 129,8, 128,38, 128,37, 128,33, 128,3, 128,2, 128,0, 127,8, 127,7, 127,7, 127,65, 127,6, 125,9, 119,1, 116,3, 93,0, 86,8, 80,8, 78,7, 78,1, 77,4, 76,0, 75,7, 75,3, 75,0, 73,3, 68,7, 59,0, 50,0, 47,0, 44,0, 43,0, 39,9, 38,8, 35,9, 20,2; EM (EI) m/z 850 [M + H]⁺; HREM (ESI) calcd para C₅₃H₅₇N₂O₈ 849,4115, hallado 849,4099; se encontró que la pureza promedio de **11** era ≥ 99 % por HPLC analítica dando t_R = 3,24 min (fase móvil A) y t_R = 4,66 min (fase móvil B).

6-β-(2,3,4,6-Tetra-O-bencil-β-D-glucopiranosil)acetamido-7,8-dihidromorfina 12. Se disolvió el tetrabencil éter **12** (35,4 mg, 0,042 mmoles) en MeOH y se añadió 10 % de Pd-C (15 mg). La mezcla se agitó bajo una atmósfera de hidrógeno durante 24 h y entonces se filtró a través de Celite. El Celite se lavó con MeOH (10 ml) y CH₂Cl₂ (2 ml) y los filtrados se concentraron proporcionando **12** como un sólido blanco (35 mg, 100 %): R_f = 0,66 (200:80:5:0,05 CH₂Cl₂/MeOH/H₂O/13 % de NH₄OH); pf = 94,3 °C; RMN ¹H (CDCl₃) δ 7,33-7,10 (20H), 6,92 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,69 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,56 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 4,88-4,29 (9H), 3,73-3,32 (8H), 3,05 (bs, 1H), 2,96 (d, J = 18,4 Hz, 1H), 2,72 (dd, J = 2,7, 15,7 Hz, 1H), 2,49-0,95 (15H); EM (EI) m/z 852 [M + H]⁺.

Dihidromorfina-6-β-acetamidoglucosa, 3. Se disolvió el derivado de tetrabencilo **11** (41 mg, 0,05 mmoles) en MeOH (2 ml). Se añadió HCl concentrado (13 μl) y entonces 10 % de Pd-C (40 mg). La mezcla se agitó bajo una atmósfera de hidrógeno durante 24 h. La disolución se neutralizó con resina de lecho mezclada con Bio Rad RG 501-X8 (1 g) y la mezcla se filtró a través de Celite. Los sólidos se lavaron con MeOH (30 ml) y el filtrado se concentró. El residuo se trituró con éter etílico (3 x 2 ml) y se secó bajo alto vacío, proporcionando **3** como un polvo blanco (12 mg, 52 %): R_f = 0,4 (SiO₂, 5:4:0,5:0,5 de CHCl₃/MeOH/H₂O/NH₄OH concentrado); pf = 266,4 °C (descompuesto); RMN ¹H δ 6,62 (s, 2H), 4,47 (d, J = 7,8 Hz, 2H), 3,81-3,77 (m, 2H), 3,55-3,43 (m, 4H), 3,00 (t, J = 9,3 Hz, 1H), 2,90 (d, J = 5,4 Hz, 1H), 2,84 (s, 3H), 2,79-2,69 (m, 1H), 2,63 (dd, J = 12,9, 14,4 Hz, 1H), 2,45 (d, J = 11,7 Hz, 1H), 2,30-2,05 (m, 3H), 1,77-1,57 (m, 4H), 1,34-1,24 (2H), 1,00-0,92 (2H); RMN ¹³C (CD₃OD) δ 173,9, 143,9, 142,6, 128,5, 122,3, 121,1, 119,4, 92,7, 81,6, 79,5, 77,9, 75,1, 72,0, 63,1, 52,7, 43,1, 41,9, 41,7, 40,3, 34,6, 29,2, 24,6, 21,7; EM (EI) m/z 491 [M + H]⁺; HREM (ESI) calcd para C₂₅H₃₅N₂O₈ 491,2393, hallado 491,2375; se encontró que la pureza promedio de **3** era ≥ 98 % por HPLC analítica dando t_R = 3,41 min (fase móvil A) y t_R = 3,74 min (fase móvil B).

Unión de receptor. La unión a membranas de células transfectadas con receptor de opioides μ, δ y κ humano se hizo en un formato de 96 pocillos, como se ha descrito previamente (los compuestos nuevos **10**, **11**, **12** y **3** se caracterizaron por RMN ¹H, RMN ¹³C y MS. La pureza de los compuestos de prueba **3** y **11** se determinó por HPLC y se encontró que era > 98 %). Las células se eliminaron de las placas raspando con una varilla de policía de caucho, se homogeneizaron en tampón Tris usando un homogeneizador Polytron, luego se centrifugaron una vez y se lavaron por una centrifugación adicional a 27.000 x g durante 15 min. El sedimento se resuspendió en Tris 50 mM, pH 7,5, y la suspensión se incubó con [³H]DAMGO, [³H]DPDPE o [³H]U69593, para unirse a los receptores de opioides μ, δ o κ, respectivamente. El volumen total de incubación fue 1,0 ml y las muestras se incubaron durante 60-120 min a 25 °C. La cantidad de proteína en la reacción de unión varió de aproximadamente 15 μg a 30 μg. La reacción se terminó por filtración usando un recolector Tomtec 96 (Orange, CT) con filtros de fibra de vidrio. Se determinó la radiactividad unida contando con un contador de centelleo líquido de placa beta de Pharmacia Biotech (Piscataway, NJ) y los datos se expresaron en recuentos por minuto. Se determinaron valores de Cl₅₀ usando al menos seis concentraciones de compuesto de prueba, y se calcularon usando Graphpad/Prism (ISI, San Diego, CA). Se determinaron valores de K_i por el método de Cheng y Prusoff [Traynor, J. R. Mol. Pharmacol., 47:848-854 (1995)].

Unión de [³⁵S]GTPγ-S. Se hizo la unión de [³⁵S]GTPγ-S esencialmente como se describe por Traynor y Nahorski [Zaveri, N. et al., Eur. J. Pharmacol., 428:29-36 2001]. Células transfectadas con receptores de opiáceos μ, δ y κ se

rasparon de placas de cultivo de tejido en HEPES 20 mM, EDTA 1 mM, luego se centrifugaron a 500 x g durante 10 min. Las células se resuspendieron en este tampón y se homogeneizaron usando un homogeneizador Polytron. El homogeneizado se centrifugó a 27.000 x g durante 15 min y el sedimento se resuspendió en tampón A, que contenía HEPES 20 mM, MgCl₂ 10 mM, NaCl 100 mM, pH 7,4. La suspensión se volvió a centrifugar a 27.000 x g y se suspendió una vez más en tampón A. Para el ensayo de unión, se incubaron membranas (8-15 µg de proteína) con [³⁵S]GTPγ-S (50 pM), GDP (10 µM), y el compuesto de prueba, en un volumen total de 1,0 ml, durante 60 min a 25 °C. Las muestras se filtraron sobre filtros de fibra de vidrio y se contaron como se describe para los ensayos de unión. Se hizo análisis estadístico usando el programa GraphPad Prism. En este ensayo, la potencia o afinidad de un compuesto por el receptor se definió por su CE₅₀ para estimular la unión de [³⁵S]GTPγS. Se definió la eficacia de agonista como el grado al que el compuesto estimuló como máximo la unión de [³⁵S]GTPγS con respecto al control. El valor de CE₅₀ representa la concentración de un compuesto que produjo el 50 % de la máxima estimulación de la unión de [³⁵S]GTPγS.

Ejemplo 34: 6-Naltrexamidas para la adicción a alcohol y nicotina

En los Estados Unidos, el alcoholismo, la adicción a la nicotina y la adicción al juego son trastornos psiquiátricos graves con significativas consecuencias sociales y económicas. Estudios epidemiológicos muestran que el alcoholismo afectará a aproximadamente el 14 % de la población estadounidense en algún momento en sus vidas [Regier, et al., Arch. Gen. Psychiatry, 50:85-94 (1993)]. Una estimación de 100.000 ciudadanos estadounidenses morirán de alcoholismo cada año de causas directas e indirectas [McKinnis y Foege, JAMA, 270:2207-2212 (1993)] y los costes económicos, que incluyen costes sanitarios y sociales, son abrumadores a 166 billones de dólares al año (NIDA y NIAAA, 1998). El tabaquismo está directamente asociado al cáncer de pulmón y el dejar de fumar es el principal medio para prevenir el cáncer de pulmón. El uso de medicaciones para tratar la abstinencia del alcoholismo o nicotina y una función en la rehabilitación de pacientes alcohólicos o fumadores está limitado. Han sido probadas varias medicaciones para reducir o prevenir el consumo de alcohol en individuos adictos. Algunos de éstos incluyen disulfiram, litio, inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina y acamprosato. Se ha mostrado que el disulfiram tiene eficacia limitada [Garbutt et al., JAMA, 281:1318-1325 (1999)]. Hay varias formas en las que las medicaciones han sido usadas para tratar la abstinencia del alcoholismo. Se han desarrollado varios enfoques para determinar el tabaquismo, pero la tasa de recaída es grande. Para el alcoholismo, fármacos disuasorios tales como disulfiram hacen que la ingestión de alcohol sea desagradable. A diferencia, las medicaciones intentan reducir el consumo de alcohol reduciendo los efectos de refuerzo del alcohol o reduciendo el deseo o las ansias de ingerir alcohol. Los agentes farmacológicos parecen influir en varios sistemas neurotransmisores que sustentan efectos de estímulo de refuerzo o de discriminación del etanol o la nicotina que incluyen opioides endógenos, catecolaminas (especialmente dopamina, serotonina) y aminoácidos excitadores tales como glutamato [Kranzler, Am. J. Psychiat., 152:391-397 (1995)]. A pesar del hecho de que se ha mostrado que varias medicaciones son de valor en el tratamiento de la dependencia del alcohol o la nicotina, las farmacoterapias no han tenido un gran efecto. Hay alguna evidencia de que los subgrupos de alcohólicos y fumadores puedan responder bien a ciertas medicaciones, sugiriendo que la correspondencia del tratamiento puede aumentar la eficacia de medicaciones. Sin embargo, información básica considerable sobre enfoques estratégicos, dosificación y duración del tratamiento acaba de estar disponible y se necesita establecer mucha más información. Claramente se necesitan nuevos enfoques y nuevos desarrollos de medicaciones para tratar estas cuestiones importantes.

En 1994, la naltrexona fue autorizada por la FDA estadounidense para el tratamiento de alcoholismo. La naltrexona es un antagonista de receptores de opioides mu puro sin actividad de agonista y sin potencial de abuso. En un estudio de laboratorio de bebedores sin problemas, se encontró que la naltrexona redujo los efectos de refuerzo (es decir, estimulantes) y aumentó las propiedades desagradables (es decir, sedantes) del consumo de alcohol inicial [Swift et al., Am. J. Psychiat., 151:1463-1467 (1994)]. Estudios usando roedor y mono han mostrado que los antagonistas de opioides naloxona y naltrexona reducen el consumo voluntario y el aumento inducido por estrés en el consumo de alcohol, sugiriendo que estos agentes pueden prevenir los efectos de refuerzo del consumo de alcohol [O'Brian et al., Alcohol, 13:35-39 (1996)]. La naltrexona puede ser más beneficiosa entre los alcohólicos con niveles más altos de ansias y función cognitiva más pobre [Jaffe et al., J. Consult. Clin. Psychol., 64:1044-1053 (1996)]. Sin embargo, en un estudio, el 15 % de los pacientes que recibieron tratamiento terminaron el tratamiento pronto debido a efectos adversos que incluyeron náuseas intolerables [Croop et al., Arch. Gen. Psychiat., 54:1130-1135 (1997)]. La naltrexona también está asociada a efectos secundarios hepatotóxicos dependientes de la dosis que complican el uso y conllevan al tratamiento de pacientes alcohólicos con enfermedad hepática [Mason et al., Arch. Gen. Psychiat., 56:719-724 (1999)]. Limitaciones adicionales incluyen duración de la acción inferior a la deseable y biodisponibilidad relativamente baja [Wall et al., Drug Metab. Dispos., 9:369-375 (1981)] y posiblemente, una afinidad relativamente baja por receptores delta y kappa que se cree que están implicados en disminuir los efectos de refuerzo de beber alcohol. Efectos beneficiosos de la naltrexona disminuyen gradualmente con el tiempo. Además, el cumplimiento con el tratamiento con naltrexona fue variable y solo entre sujetos altamente cumplidores fue la medicación activa significativamente mejor que el placebo [Volpicelli et al., Arch. Gen. Psychiat., 54:737-742 (1997)]. En resumen, parece que la naltrexona produce un efecto modesto sobre la conducta de beber entre los alcohólicos. En algunos casos, los efectos de la naltrexona han sido bastante robustos, pero la evidencia de su eficacia ha sido menos coherente. Sin embargo, el nalmeveno, un antagonista de opioides con propiedades farmacéuticas superiores a la naltrexona, puede representar más promesa que una medicación para el tratamiento

del alcohol. Se ha informado que la naltrexona es útil para dejar de fumar [O'Malley et al., patente de EE.UU. N.º 6.541.478].

Antagonistas de receptores de opioides tienen aparentemente efectos directos sobre la conducta de búsqueda de alcohol. Por ejemplo, la perfusión directa de naloxona mediante microdiálisis en las neuronas del núcleo accumbens inhibió la liberación de dopamina mediada por el alcohol [Benjamin et al., Brain Res., 621:137-140 (1993)]. La disminución en el consumo de alcohol por el bloqueo de los receptores de opioides sugiere efectos directos de la naloxona en este sistema de refuerzo. Estudios en animales han proporcionado evidencia de que los receptores de opioides μ , δ y κ contribuyen al refuerzo inducido por el alcohol [Herz (1997); Ulm et al., J. Clin. Psychiat., 56:5-14 (1995)]. Se ha hecho un trabajo considerable relacionado con la norbinaltorfimina (norBNI, Figura 1) que es selectiva para el receptor de opioides κ [Portoghese et al., J. Med. Chem., 31:1344-1347 (1987)]. El SAR de norBNI ha sido ampliamente investigado y es un ligando bivalente que contiene dos farmacóforos derivados de naltrexona. Se cree que solo se requiere uno de los farmacóforos de norBNI para la actividad de antagonista kappa y el grupo básico (en N-17) en el segundo farmacóforo del ligando unido a receptor actúa de una "dirección" para conferir selectividad. En vista del evidente requisito de un armazón rígido para orientar la molécula hacia el receptor, se han desarrollado estructuras alternativas que incluyen naltrindol (NTI, véase la Figura 15). Esta estructura de indolomorfinano relacionada con NTI es más simple que norBNI y ha proporcionado evidencia considerable de que los antagonistas κ interaccionan con un subsitio de dirección Glu297 [Stevens et al., J. Med. Chem., 43:2759-2769 (2000)].

El requisito de una funcionalidad amino positivamente cargada en el grupo de dirección necesario para la actividad de antagonista de κ se probó adicionalmente en un informe reciente que describió un compuesto derivado no de opiáceo como antagonista de opioides κ potente y selectivo. El compuesto, JDTC (véase la Figura 16) ilustra la importancia de dos grupos amina básicos: cada uno en tanto el grupo de dirección como de mensaje. Trabajo adicional mostró la importancia de un grupo fenol en la selectividad de κ que no se observó para las series de norBNI [Thomas et al., J. Med. Chem., 47:1070-1073 (2004)]. Basándose en los receptores de opioides quiméricos kappa-mu, es evidente que un resto negativamente cargado (es decir, Glu 297) es importante en la unión selectiva a κ y actividad funcional. Antagonistas selectivos para el receptor selectivo para κ o no selectivo para κ altamente activos serían útiles para el tratamiento de adicciones, particularmente adicciones a sustancias tales como, por ejemplo, nicotina o alcohol.

Las estructuras químicas del nalmefeno **1** y naltrexona **2** se muestran en la Figura 17. Estos compuestos se usan para el tratamiento de sobredosis de opioides, adicción y alcoholismo. El objetivo de la química medicinal del presente estudio era desarrollar análogos metabólicamente estables de estos compuestos reemplazando los grupos 6-metileno o 6-ceto metabólicamente lábiles en **1** y **2**, respectivamente, con un resto amida. Se explotaron diversos patrones de sustitución en el anillo aromático del grupo amida con el fin de aumentar la selectividad y potencia de los receptores de opioides μ y kappa. Se desarrolló una novedosa síntesis de cuatro etapas de tanto 6- α - como 6- β -naltrexamidas con el fin de cumplir este objetivo. La condensación de naltrexona **2** con clorhidrato de hidroxilamina en presencia de NaOAc en etanol acuoso a reflujo proporcionó la oxima **3** correspondiente (véase la Figura 18). La posterior reducción del grupo funcional de oxima en **3** a la amina **4** correspondiente se llevó a cabo calentando con BH_3/THF durante 48 horas y el posterior procesamiento acuoso dando las aminas **4** como una mezcla 9:1 (β/α) de diaestereómeros. Las aminas diaestereoméricas se separaron por cromatografía sobre gel de sílice. Las aminas **4** se acoplaron con ácidos carboxílicos (RCOOH) en presencia de hexa-fluorofosfato de benzotriazol-1-il-oxi-tris-(dimetilamino)fosfonio (BOP) y diisopropiletilamina en CH_2Cl_2 . Alternativamente, las amidas podrían formarse mediante la reacción de un cloruro de ácido, trietilamina y **4** en CH_2Cl_2 . En ambos casos, el producto se trató con K_2CO_3 en metanol para desesterificar el producto secundario resultante de la esterificación del grupo hidroxilo de posición 3. Mientras que el procedimiento de acoplamiento de BOP produjo menos esterificación en la posición 3 que el método de cloruro de ácido, no pudo evitarse algo de esterificación en la posición 3. Así, se encontró que era más conveniente ejecutar la reacción con un exceso del derivado de ácido para ayudar en la purificación del éster de amida intermedio. Estos métodos permitieron a los presentes inventores preparar convenientemente las amidas **5** y **6a-h**. Los grupos bencilo en el compuesto **5** se eliminaron por hidrogenólisis en presencia de Pd-C y HCl dando el conjugado de glucosa **6a**.

Tabla 7. Valores de unión K_i , K_e y pA_2 de la unión de opioides μ , delta y kappa a membranas de CHO.

compuesto	K_i (nM)			K_e (μ)	K_e (otro)	pA_2 (μ)
	μ	delta	kappa			
morfina	1,1 \pm 0,1	140 \pm 2	46,9 \pm 14	NA		
naltrexona	0,2 \pm 0,03	11 \pm 1,1	0,3 \pm 0,03	NA		
5	2,5 \pm 0,6	140 \pm 13,9	39 \pm 6,3	0,16 \pm 0,02	10,35 \pm 2,01 (delta)	2,5 \pm 0,6
6a	1,8 \pm 0,5	91,3 \pm 3,8	10,4 \pm 2,8	0,37 \pm 0,03	13,39 \pm 1,51 (kappa)	9,33 \pm 0,05
6b	NA	NA	NA	NA	NA	NA

compuesto	Ki (nM)			Ke (mu)	Ke (otro)	pA2 (mu)
	mu	delta	kappa			
6c	2,9 ± 0,1	6,2 ± 0,6	7,1 ± 0,8	0,41 + 0,02	-	9,34 + 0,02
6d	0,6 ± 0,1	10,6 ± 1,2	0,6 ± 0,01	0,17 + ,009	-	9,78 + 0,04
6e	2,9 ± 0,1	6,2 ± 0,6	7,1 ± 0,8	0,41 + 0,02	-	9,34 + 0,02
6d	NA	NA	NA	NA	NA	NA
6e	NA	NA	NA	NA	NA	NA
6f	NA	NA	NA	NA	NA	NA
NA, No disponible.						

La potencia y selectividad observadas para los agonistas correspondientes [MacDougall et al., J. Med. Chem., 47:5809-5815 (2004); MacDougall et al., Bioorganic Med. Chem., 12:5983-5990 (2004); MacDougall et al., Bioorganic Med. Chem., 15:583-1586 (2005)] fue generalmente retenida en los antagonistas. Las amidas **6d**, **6e** y **6c** poseyeron todas alta afinidad por los receptores de opioides y agonismo parcial o completo o parcial en receptores delta y kappa (Tabla 8). Todos los compuestos fueron fuertes antagonistas en el receptor mu, basándose en la unión de GTPyS a membranas celulares. El compuesto **6a** tuvo alta afinidad por mu y afinidad moderada por receptores delta y kappa. **6a** es un fuerte antagonista en mu y kappa y un agonista parcial en receptores delta. En resumen, los datos muestra que están presentes potentes cabezas de serie con las consecuencias funcionales de antagonizar los receptores mu solos o mu y kappa.

Tabla 8. Estimulación de la unión de ³⁵S-GTP-gamma-S por compuestos de HBRI.

Entrada	mu		delta		kappa	
	CE ₅₀	% de estimulación	CE ₅₀	% de estimulación	CE ₅₀	% de estimulación
morfina	15,6 ± 0,5	93 ± 3	ND	ND	ND	ND
M6G	72,3 ± 26,7	45,0 ± 5,0	190,4 ± 22,9	80,0 ± 1,0	>10.000	-
5	9,7 ± 0,5	21,4 ± 0,5	106,8	20,5	10,8	45,5
6a	42,3 ± 5,4	15,8 ± 1,6	90,9	43,1	11,2	11,01
6b	NA	NA	NA	NA	NA	NA
6c	4,6 ± 0,9	19,3 ± 0,1	7,3	100	1,1	126,5
6d	1,2 ± 0,6	20,6 ± 1,5	11,1	98,7	1,7	109,1
6e	5,2 ± 1,6	16,1 ± 1,9	24,5	88,5	100,1	53,6,1

Para investigar la estabilidad metabólica, se desarrollaron ensayos de HPLC y LCMS para estudiar la estabilidad metabólica y química y encontraron que generalmente los compuestos en estas series fueron sorprendentemente estables al metabolismo y a la degradación. Los análogos se diseñaron para ser estables en preparaciones hepáticas debido al bloqueo de la posición C-6 y esto es lo que se observó. Resultados preliminares mostraron que **6d** y **6a** mantuvieron promesa como potentes antagonistas de opioides (Tablas 7 y 8). Debido a que el compuesto protegido de tetra-O-bencil-β-D-glucopiranosilo **5** había sido sintetizado, se investigaron su unión *in vitro* y propiedades funcionales. El compuesto **5** tuvo alta afinidad por receptores mu y afinidad moderada por kappa y baja afinidad por delta. Los estudios indican a los propios análogos de glucosa como prometedores candidatos para desarrollo.

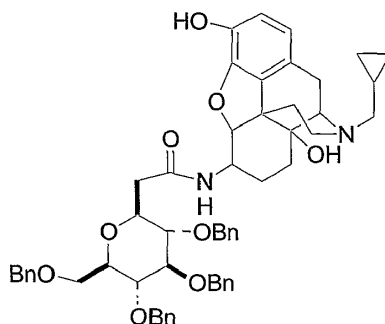
Los datos muestran la factibilidad de que antagonistas de opioides metabólicamente estables pueden sintetizarse y probarse *in vitro*. Antagonistas de opioides sustituidos en C-6 metabólicamente estables retendrán perfiles de efectos secundarios favorables. Los resultados *in vitro* muestran que pueden sintetizarse potentes antagonistas mu con tanto propiedades agonistas como antagonistas de kappa. Para examinar si el antagonismo o agonismo de kappa es más eficaz en disminuir el consumo de alcohol, se estudiaron cabezas de serie en un modelo animal de

alcoholismo y adicción a la nicotina. Antagonistas de receptores selectivos κ o no selectivos para κ altamente activos serían útiles para el tratamiento de adicciones, particularmente adicciones a sustancias tales como, por ejemplo, nicotina o alcohol.

En los siguientes ejemplos (Ejemplos 35-43), todas las reacciones se realizaron bajo una presión positiva de nitrógeno con agitación magnética a temperatura ambiente usando material de vidrio secado en estufa, a menos que se indique lo contrario. Se transfirieron líquidos sensibles al aire y a la humedad mediante jeringa a través de tabiques de caucho. Se usó gel de sílice (230-400 de malla) para la cromatografía en columna. Se secó DMF por filtración a través de una columna de alúmina neutra y se guardó sobre tamices moleculares de 4 Å activados bajo nitrógeno antes de uso. Todos los otros disolventes y reactivos se usaron como se recibieron. Se registraron espectros de RMN ^1H a 300 MHz usando un Varian NMR. Los desplazamientos químicos se informaron en ppm (δ) con respecto a CDCl_3 a 7,26 ppm. Se registraron espectros de RMN ^1H en CDCl_3 , a menos que se establezca de otro modo. Los puntos de fusión se informaron sin corregir. Se hicieron espectros de masas de alta resolución en un espectrómetro VG 7070 con un sistema de datos Opus V3.1 y DEC 3000 Alpha Station en la Universidad de California en Riverside. Donde no se especificaron análisis de combustión, se determinaron purezas analíticas por HPLC de fase directa usando un cromatógrafo de líquidos Hitachi L74 con un detector de UV L-7400, un integrador D7500 y una columna de acero inoxidable Hamilton PRP-I (250 mm x 4,6 mm, d.i.).

Se preparó **oxima de naltrexona 3** según el siguiente método. Se disolvieron naltrexona (6,2 g, 1,46 mmoles), $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (1,5 g) y NaOAc (2,9 g) en EtOH absoluto (80 ml) y agua (5 ml). La mezcla se calentó a reflujo durante 2,5 h y luego se concentró. Se añadió agua (20 ml) y la mezcla se basificó con K_2CO_3 y se extrajo con CHCl_3 . El extracto de CHCl_3 se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se concentró dando un sólido blanco (5,83 g, 90 %): $R_f = 0,65$ (5:1:0,2 de EtOAc/MeOH/ NH_4OH); EM (EI) $m/z = 357$ $[\text{MH}]^+$.

Se prepararon **6- β -naltrexamina y 6- α -naltrexamina 4b, 4a**, según el siguiente método. Se disolvió oxima de naltrexona (5,83 g, 16,3 mmoles) en THF (40 ml) y se transfirió por cánula a una disolución a 10 °C de $\text{BH}_3\cdot\text{THF}$ (300 ml, 300 mmoles, disolución 1 M en THF) durante 10 min. Se formó un precipitado blanco y entonces se disolvió lentamente a medida que la reacción se calentó a reflujo durante 2 d. La disolución se enfrió a ta y se añadieron lentamente agua (10 ml) y KOH 1 N (200 ml) con cuidado. La disolución se calentó a reflujo durante 2 h. El pH se redujo entonces a 2,5 con 10 % de HCl (225 ml). La disolución se calentó a reflujo durante 2 h, se concentró para eliminar el THF y entonces se basificó (pH 8-9) con K_2CO_3 . La mezcla se extrajo con CHCl_3 (4 X 150 ml) y el extracto se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se concentró. El aceite resultante se purificó por cromatografía sobre SiO_2 (26 x 60 cm, elución con $\text{CH}_3\text{CN}/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$, 25:5:1) proporcionando **4b** (2,14 g, 38 %) como sólido blanco-amarillo: $R_f = 0,20$; RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3 con 2 gotas de CD_3OD) δ 6,61 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 6,49 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 4,17 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 3,39-0,45 (20 H); MS $m/z = 343$ $[\text{MH}]^+$. Se aislaron 0,64 g (12 %) adicionales de material que consistieron en una mezcla de los α - y β -diaestereómeros. La cromatografía preparativa (SiO_2 , $\text{CH}_3\text{CN}/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$, 25:5:1) de las fracciones de cola de este material dieron una muestra analítica de **4a**: $R_f = 0,16$; RMN ^1H δ 6,65 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 6,46 (d, 8,1 Hz, 1H), 4,50 (d, J = 3,0 Hz, 1H), 3,34 (dt, J = 3,9, 12,6 Hz, 1H), 3,04 (t, J = 6,6 Hz, 1H), 2,95 (s, 1H), 2,63-0,29 (17H); MS m/z 343 $[\text{MH}]^+$.



Ejemplo 35: 6-Acetamido-2,3,4,6-tetra-O-bencil-D-glucopiranosil-14-hidroxi-17-(ciclopropilmetil)nordesmorfina, 5

(Ejemplo de referencia)

Se disolvieron 6-naltrexamina (100 mg, 0,292 mmoles), ácido carboxílico (RCOOH, Esquema 1) (187 mg, 0,321 mmoles) y BOP (142 mg, 0,321 mmoles) en CH_2Cl_2 (3 ml) y se añadió NPr_2Et (0,16 ml, 0,92 mmoles). La disolución incolora se agitó a ta durante 90 min y se concentró. El residuo se filtró a través de SiO_2 (20:1 de EtOAc/MeOH) proporcionando un sólido blanco. Este material (240 mg) se disolvió en MeOH (10 ml) y se añadió K_2CO_3 (36 mg, 0,26 mmoles). La mezcla se agitó durante 115 min y se añadió NH_4Cl saturado (10 gotas). La mezcla se concentró y se adsorbió sobre SiO_2 y se purificó por cromatografía de SiO_2 (20:1 de $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$) proporcionando **7** como un sólido blanco (200 mg, 75 % de 6-naltrexaminanaltrexamina, 2 etapas): $R_f = 0,11$ (20:1 de $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$); EM (EI) $m/z = 907$ $[\text{M}]^+$; RMN ^1H (CDCl_3 , resonancias clave) δ 7,31-7,06 (m); 6,76 (d), 6,71 (d); 6,55 (d); 6,54 (d) 4,94-4,38 (m); 3,86-3,79 (m); RMN ^{13}C (CDCl_3) δ 170,4, 143,6, 138,1, 137,6, 128,4, 128,4, 128,3, 128,1, 127,9, 127,8, 127,78, 127,7, 127,69, 127,64, 118,9, 93,8, 86,8, 81,0, 78,4, 75,8, 75,7, 75,2, 75,0, 73,2, 70,1, 59,2, 50,9, 30,2, 4,1, 3,9.

Ejemplo 36: 14-Hidroxi-17-(ciclopropilmetil)nordesmorfina-6-acetamidoglucosa, 6a**(Ejemplo de referencia)**

Se añadió MeOH anhidro (8 ml) al derivado bencilado **5** (180 mg, 0,198 mmoles) y 10 % de Pd-C activo (180 mg). Se añadió HCl concentrado (0,015 ml) por jeringa. El matraz se purgó con nitrógeno y entonces se agitó bajo una atmósfera de hidrógeno durante 21 h, se filtró a través de Celite (eluyendo con MeOH) y se concentró. El sólido blanco resultante se trituró con éter etílico (anhidro, 3 x 2 ml) proporcionando **6a** como un sólido blanco (92 mg, 85 %): R_f = (5:4:0,5:0,5 de $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}/\text{NH}_4\text{OH}$); RMN ^1H (CD_3OD , resonancias clave) δ 6,72 (s), 4,67 (d); 4,60-4,52 (m); 3,99 (d); 3,90-3,48 (m); MS m/z = 547 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Ejemplo 37: Procedimiento general para la amidación de 6-naltrexaminas con un cloruro de ácido. 6-(Piridin-3'-il)carboxamido-14-hidroxi-17-(ciclopropilmetil)nordesmorfina, 6b**(Ejemplo de referencia)**

Se disolvió 6-aminonaltrexamina (53 mg, 0,155 mmoles) en CH_2Cl_2 (2 ml) y se añadieron cloruro de nicotililo-HCl (40 mg, 0,226 mmoles) y NEt_3 (0,085 ml, 0,465 mmoles). La disolución se agitó durante 1,5 h y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía sobre SiO_2 (10:1 de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$) proporcionando el éster de amida como un sólido amarillo-blanco (63 mg, 74 %): R_f = 0,11 (10:1 de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$); MS m/z = 552. El éster de amida (53 mg, 0,096 mmoles) se disolvió en MeOH (2 ml) y se añadió K_2CO_3 (46 mg, 0,33 mmoles). La mezcla se agitó a ta durante 1 h y se añadieron NH_4Cl (sat. ac. 10 gotas) y SiO_2 (2 g). La mezcla se concentró y se purificó por cromatografía en SiO_2 (10:1 de $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$) proporcionando el compuesto del título como un sólido blanquecino (27 mg, 63 %): R_f = 0,31 (10:1 de $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$); MS m/z = 447.

Ejemplo 38: Procedimiento general para la amidación de 6-naltrexaminas con el reactivo BOP y un ácido carboxílico. 6-(3'-Dimetilamino)benzamido-14-hidroxi-17-(ciclopropilmetil)nordesmorfina, 6c**(Ejemplo de referencia)**

Se añadió CH_2Cl_2 (1,5 ml) a naltrexamina (50 mg, 0,146 mmoles), ácido 3-dimetilaminobenzoico (24 mg, 0,14 mmoles), reactivo BOP (64 mg, 0,14 mmoles) y Pr_2EtN (0,081 ml, 0,47 mmoles). La disolución amarilla se agitó a ta durante 80 min y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía sobre SiO_2 (10:1 de EtOAc/MeOH) proporcionando un sólido blanco (70 mg). Este material se disolvió en MeOH (4 ml) y se añadió K_2CO_3 (30 mg, 0,22 mmoles). Después de 90 min se concentró la mezcla. El residuo se purificó por cromatografía sobre SiO_2 (10:1 de $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$) proporcionando el compuesto del título como un sólido blanco (17,4 mg, 24 % a partir de naltrexamina): R_f = 0,16 (10:1 de $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$); MS m/z = 490 $[\text{MH}]^+$.

Ejemplo 39: 6-(3'-Metoxi)benzamido-14-hidroxi-17-(ciclopropilmetil)nordesmorfina, 6d**(Ejemplo de referencia)**

Referencia JMM-VIII-42. Empleando el procedimiento general descrito para el compuesto **6b**, 6-naltrexamina (90 mg, 0,263 mmoles), cloruro de 3-anisóilo (0,09 ml, 0,69 mmoles), NEt_3 (0,11 ml, 0,83 mmoles) y CH_2Cl_2 (2 ml) dieron el éster de amida intermedio como una espuma blanca (96 mg); MS m/z = 611. La hidrólisis de este material con K_2CO_3 (43 mg, 0,31 mmoles) en MeOH (3 ml), seguido de cromatografía en SiO_2 (10:1 de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$), dieron **6d** como un sólido blanco: 57 mg (78 %); MS m/z = 477.

Ejemplo 40: 6-(Tiofen-2'-il)acetamidomido-14-hidroxi-17-(ciclopropilmetil)nordesmorfina, 6e**(Ejemplo de referencia)**

Empleando el procedimiento general descrito para el compuesto **6b**, 6-naltrexamina (19 mg, 0,055 mmoles), acetilcloruro de 2-tiofeno (0,014 ml, 0,11 mmoles), NEt_3 (0,019 ml, 0,14 mmoles) y CH_2Cl_2 (2 ml) dieron el éster de amida intermedio como una espuma blanca (15 mg, 46 %); R_f = 0,12 (30:1 de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$); MS m/z = 591 $[\text{MH}]^+$. La hidrólisis de este material (13 mg, 0,022 mmoles) con K_2CO_3 (2,5 mg, 0,0018 mmoles) en MeOH (2 ml), seguido de cromatografía en SiO_2 (15:1 de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$), dieron **6e** como un sólido blanco (10 mg, 100 %): R_f = 0,17 (15:1 de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$); MS m/z = 467.

Ejemplo 41: 6-(3',5'-Dimetoxi)benzamido-14-hidroxi-17-(ciclopropilmetil)nordesmorfina, 6f**(Ejemplo de referencia)**

Según el procedimiento general descrito para el compuesto **6c**, **4** (90 mg, 0,263 mmoles), ácido 3,5-dimetoxibenzoico (72 mg, 0,395 mmoles), BOP (174 mg, 0,394 mmoles), NPr_2Et (0,15 ml, 0,84 mmoles) y CH_2Cl_2 (3 ml) proporcionaron el éster de amida intermedio como un sólido blanco-naranja (186 mg). El análisis de MS de este material indicó que consistió en una mezcla de éster de amida (m/z = 671) y la amida (m/z = 507). La desesterificación de este material con K_2CO_3 (150 mg, 1,1 mmoles) en MeOH (4 ml) y cromatografía en SiO_2 (20:1 de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$) proporcionaron **6f** como un sólido blanco: MS m/z = 507.

Ejemplo 42: 6-(4'-Cloro)benzamido-14-hidroxi-17-(ciclopropilmetil)nordesmorfina, 6g**(Ejemplo de referencia)**

Referencia VIII-58. Según el procedimiento general descrito para el compuesto **6c, 4** (90 mg, 0,26 mmoles), ácido 4-clorobenzoico (62 mg, 0,39 mmoles), BOP (174 mg, 0,394 mmoles) y NEtPr_2 (0,15 ml, 0,842 mmoles), seguido de cromatografía en SiO_2 (20:1 de EtOAc/MeOH), proporcionaron el éster de amida intermedio como un sólido blanco: $R_f = 0,5$ (20:1 de 1 EtOAc/MeOH); MS $m/z = 620$. La desesterificación de este material con K_2CO_3 (72 mg, 0,53 mmoles) en MeOH (4 ml), seguido de cromatografía en SiO_2 (20:1 de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$), proporcionaron **6g** como un sólido blanco (76 mg, 60 %): $R_f = 0,41$ (20:1 de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$); MS $m/z = 480$.

Ejemplo 43: 6-(3'-Hidroxi)benzamido-14-hidroxi-17-(ciclopropilmetil)nordesmorfina, 6h**(Ejemplo de referencia)**

Referencia JMM-VIII-59, VIII-64. Según el procedimiento general descrito para el compuesto **8b, 4** (90 mg, 0,26 mmoles), ácido 3-acetoxibenzoico (71 mg, 0,39 mmoles), NEtPr_2 (0,15 ml, 0,84 mmoles), BOP (174 mg, 0,39 mmoles) y CH_2Cl_2 (2 ml) y cromatografía en SiO_2 (20:1 de EtOAc/MeOH) dieron el éster de amida intermedio como una espuma blanca (180 mg): $R_f = 0,28$ (10:1 de $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$); MS $m/z = 667$. La desesterificación de este material con K_2CO_3 (72 mg, 0,53 mmoles) en MeOH (2 ml) y cromatografía en SiO_2 (20:1 de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$) dieron **8h** como un sólido blanco (76 mg, 60 %): $R_f = 0,41$ (20:1 de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$); MS $m/z = 480$.

Ejemplo 44: Estabilidad metabólica *in vitro*

La estabilidad metabólica de un compuesto en un estudio *in vitro* puede proporcionar información significativa sobre las posibilidades de estabilidad metabólica en un experimento *in vivo*. Debido a que una notoria vía de metabolismo en la clase de los opiáceos de compuesto es para el metabolismo en la posición C-6, se diseñó estabilidad metabólica en los compuestos para aumentar la semivida, para aumentar la biodisponibilidad y para mejorar el perfil farmacocinético y el perfil de efectos secundarios de los compuestos sintéticos. Venciendo las responsabilidades de ADMET en la etapa temprana del diseño y desarrollo de fármacos, se produjeron más compuestos similares a fármaco.

Se estudiaron estudios de estabilidad metabólica *in vitro* de compuestos seleccionados en presencia de S9 de hígado humano reunido, microsomas de hígado de rata y microsomas de hígado de ratón. Los estudios se hicieron para imitar la situación metabólica humana y los estudios de metabolismo hepático animal se hicieron como un estudio modelo de estudios *in vivo* en animales (véase más adelante). El tampón de ensayo contuvo 3,2 mg/ml de S9 reunidos de hígado humano o 1,2 mg/ml de microsomas de hígado de rata o ratón, tampón fosfato de potasio 0,1 M (pH 7,4), compuestos 0,1 mM, NADP⁺ 0,5 mM, glucosa-6-fosfato 0,5 mM, 5 U/ml de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, 1 mg/ml de DETAPAC, MgCl_2 7 mM para un volumen de incubación final de 0,25 ml. Después de 0, 10, 25, 45 o 60 min las reacciones se detuvieron mediante la adición de 1 ml de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{IPA}$ (3:1 v:v) y se mezclaron minuciosamente. Después de centrifugarse, la fase orgánica se evaporó a sequedad con una corriente de nitrógeno, se recogió en 200 μl de metanol, se agitó con vórtex y se centrifugó. Se usó HPLC para analizar el extracto orgánico con una columna de 5 micrómetros de sílice Axxi-Chrom comprada de Richard Scientific (Novato, Ca) en una HPLC de Hitachi. La fase móvil consistió en: 55/45/0,018 ($\text{MeOH}/\text{IPA}/\text{HClO}_4$) y un caudal de 1,5 ml/min con detección de UV a 254 nm. El tiempo de retención de naltrexona, nalmefeno y el compuesto **6d** fue 2,7 min, 2,1 min y 2,6 min, respectivamente.

Como se muestra en la Tabla 9, la naltrexona y el nalmefeno poseyeron inestabilidad metabólica considerable en presencia de las preparaciones de hígado examinadas. A diferencia, en presencia de S-9 de hígado humano y microsomas de hígado de ratón, el compuesto **6d** no se metabolizó detectablemente. En presencia de microsomas de hígado de rata, se observó una cantidad menor de metabolismo, pero fue 6 o 22 veces más estable que la naltrexona o nalmefeno, respectivamente. En resumen, se observó estabilidad metabólica considerable para el compuesto **6d** y la predicción es que la biodisponibilidad del compuesto **6d** y congéneres será considerable.

Tabla 9. Estabilidad metabólica de antagonistas de opiáceos sustituidos en C-6.

Compuesto	Semivida en diversas preparaciones de hígado (min)		
	S-9 de hígado humano ^a	Microsomas de hígado rata	Microsomas de hígado de ratón
Naltrexona	47	93,5	430
Nalmefeno	217,5	25	34
Compuesto 6d	ND	> 545	ND

^aS-9 de hígado humano es el sobrenadante post-mitocondria de la centrifugación a 9000 x g.

^b ND, Cambio no detectable

Ejemplo 45: Actividad *in vivo*

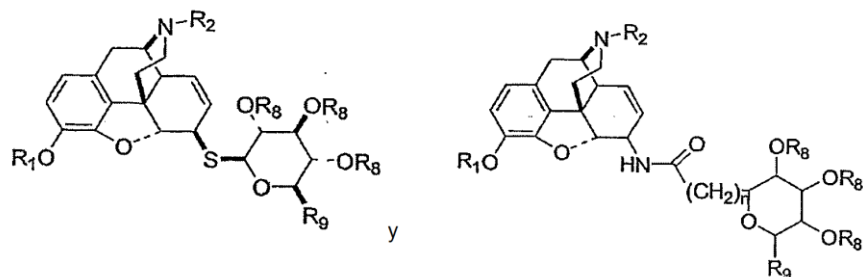
La observación de un estado de dependencia agudo como se define por la precipitación de antagonista de signos de abstinencia somática tras el pretratamiento agudo con opiáceos se ha informado en seres humanos, monos, perros, hámsteres, ratones y ratas. En tanto seres humanos como ratas, los opiáceos precipitan los signos de abstinencia de opiáceos después de una única exposición a morfina. El paradigma en ratas se pareció a la afección en seres humanos. Así, la naloxona (0,03-3,0 mg/kg) precipitó signos somáticos de abstinencia tras un único tratamiento con morfina (5,0 mg/kg) 4 h antes de la inyección de naloxona [Schulteis et al., *Psychopharmacology*, 129:56-65 (1997)]. El índice global de intensidad de abstinencia usó la escala ponderada de Gellert y Holtzman [J. Pharmacol. Exper. Ther., 205:536-546 (1978)]. La escala consiste en signos clasificados de pérdida de peso, número de intentos de escape, posturas erguidas, número de sacudidas de perro mojado, casos de constricciones abdominales y signos comprobados (presentes o ausentes) que incluyen diarrea, fasciculaciones faciales/rechinar de los dientes, movimientos al tragar, salivación profusa, cromodaciorrea, ptosis, postura anormal, acicalamiento genital/erección/eyaculación e irritabilidad al ser manipulados. Para los estudios de los presentes inventores, la clasificación de signos somáticos (SS) global incluyó todos los signos individuales anteriores basándose en la escala ponderada de Gellert y Holtzman (1978). Cuatro h después de una dosis única de morfina (5,0 mg/kg), se administró una dosis única de compuesto **6a** o **6d** a los grupos de ratas. Un min después de la inyección s.c, se observaron los signos somáticos de la abstinencia durante 10 min. Los resultados se resumen en las Figuras 19 y 20.

En resumen, los compuestos **6a** y **6d** administrados por vía subcutánea de administración precipitaron los signos somáticos de abstinencia en ratas macho adultas 4 h después de la administración de 5,0 mg/kg de morfina. El compuesto **6d** causó un aumento dependiente de la dosis en signos somáticos de abstinencia que tuvieron un máximo a 0,3 mg/kg. Se observó un valor de CE₅₀ aproximado inferior a 0,1 mg/kg. A dosis más alta, el efecto disminuyó. Para el compuesto **6a**, se observó una CE₅₀ aproximada de aproximadamente 1 mg/kg para la precipitación de signos somáticos de abstinencia. Para comparación, el nalmefeno causó un aumento dependiente de la dosis (no obstante ruidoso) en signos somáticos de abstinencia que dieron un valor de CE₅₀ aproximado de 0,6-1 mg/kg. Para un estándar de bibliografía, se calculó que la dosis eficaz mínima de naloxona para precipitar signos somáticos de abstinencia era 0,1-0,3 mg/kg [Schulteis et al., *Psychopharmacology*, 129:56-65 (1997)]. En conclusión, los datos soportan la eficacia *in vivo* de los compuestos **6a**, **6d** y congéneres como potentes antagonistas del receptor de opiáceos. Los compuestos entran en el sistema nervioso central relativamente rápidamente (en el plazo de 10 minutos) y ejercen un potente efecto sobre el receptor de opiáceos. Debido a que este sistema de receptor es notorio en controlar la susceptibilidad a la adicción al alcohol y nicotina, antagonistas de opiáceos tales como **6** deben ser eficaces en disminuir la adicción a la nicotina y alcohol.

Se entiende que los ejemplos y realizaciones en el presente documento se describen para fines ilustrativos solo. El alcance de la presente invención es como se define por las reivindicaciones adjuntas.

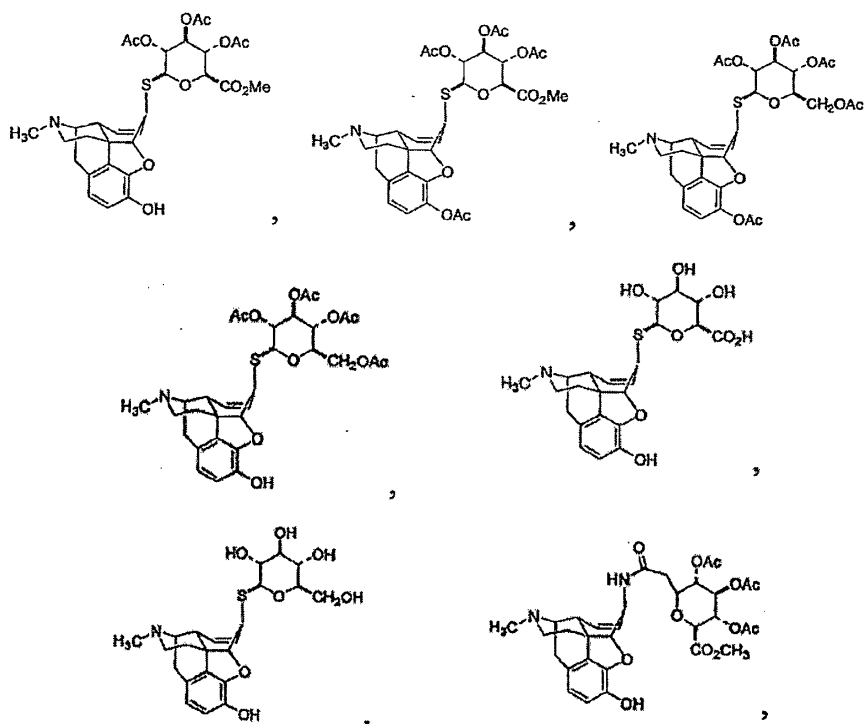
REIVINDICACIONES

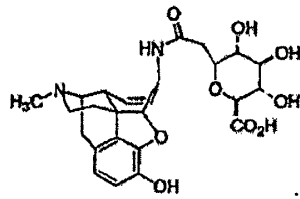
1. Un compuesto que tiene una fórmula seleccionada del grupo que consiste en:



en la que

- 5 R_1 está seleccionado del grupo que consiste en H y alquilo (C_1-C_5)-C(O);
- R_2 está seleccionado del grupo que consiste en alquilo (C_1-C_5), (cicloalquil)alquilo C_3-C_6 , (cicloalquenil)alquilo C_5-C_7 , arilo (C_6-C_{12}), aralquilo (C_7-C_{12}), trans-alquenilo (C_4-C_5), alilo y furan-2-ilalquilo;
- cada R_8 está seleccionado independientemente del grupo que consiste en H, alquil (C_1-C_5)-C(O), aralquil (C_7-C_{10})-C(O), aralquilo (C_7-C_{10}) y alquilo (C_1-C_5);
- 10 R_9 está seleccionado del grupo que consiste en CH_2OH , CH_2O_2C -alquilo (C_1-C_5), CH_2O -aralquilo (C_7-C_{10}), CO_2H , CO_2 -alquilo (C_1-C_5) y CO_2 -aralquilo (C_7-C_{10});
- n es un número entero de 0 a 5;
- y
- en la que alquilo es un grupo alifático saturado de cadena lineal o cadena ramificada.
- 15 2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R_2 está seleccionado del grupo que consiste en ciclopropilmetilo, ciclobutilmetilo y alilo.
3. El compuesto de la reivindicación 1 que tiene una fórmula seleccionada del grupo que consiste en:





4. Una composición farmacéutica que comprende:

un compuesto como en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3; y

un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

5. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para su uso en un método para el tratamiento de dolor.

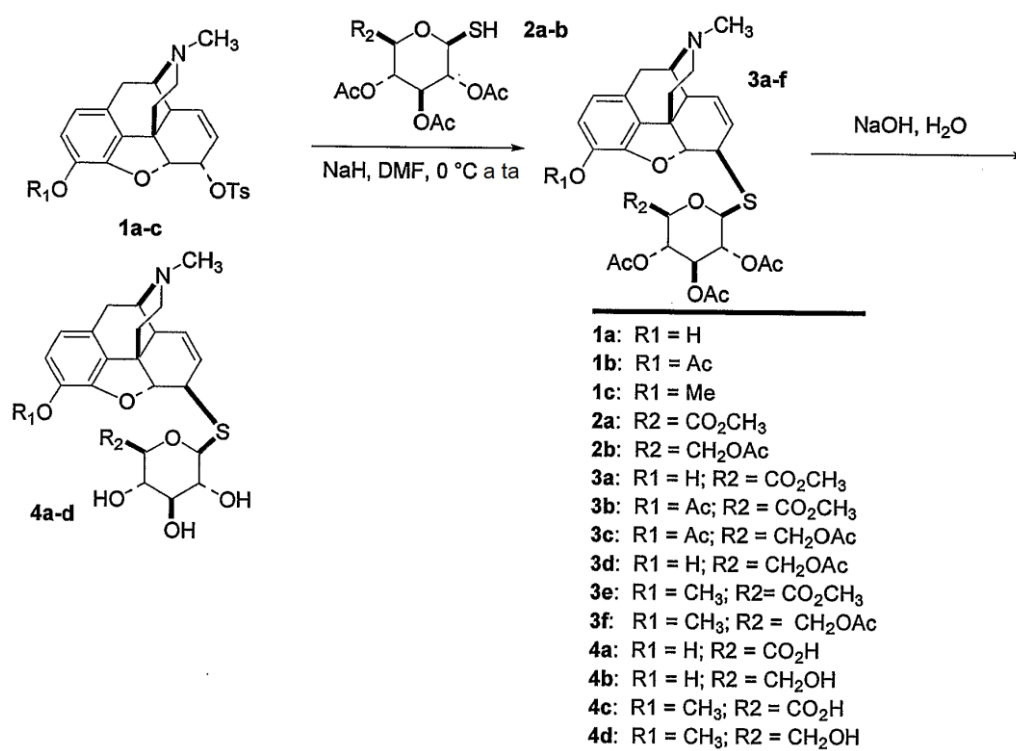


FIG. 1

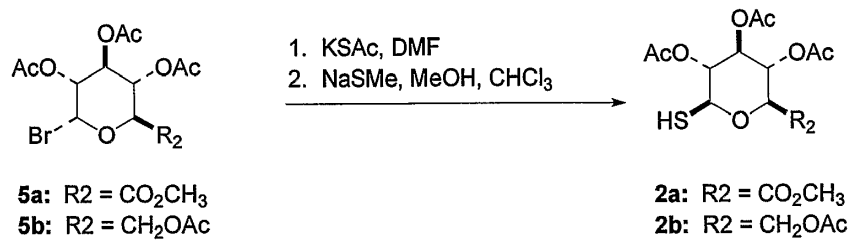


FIG. 2

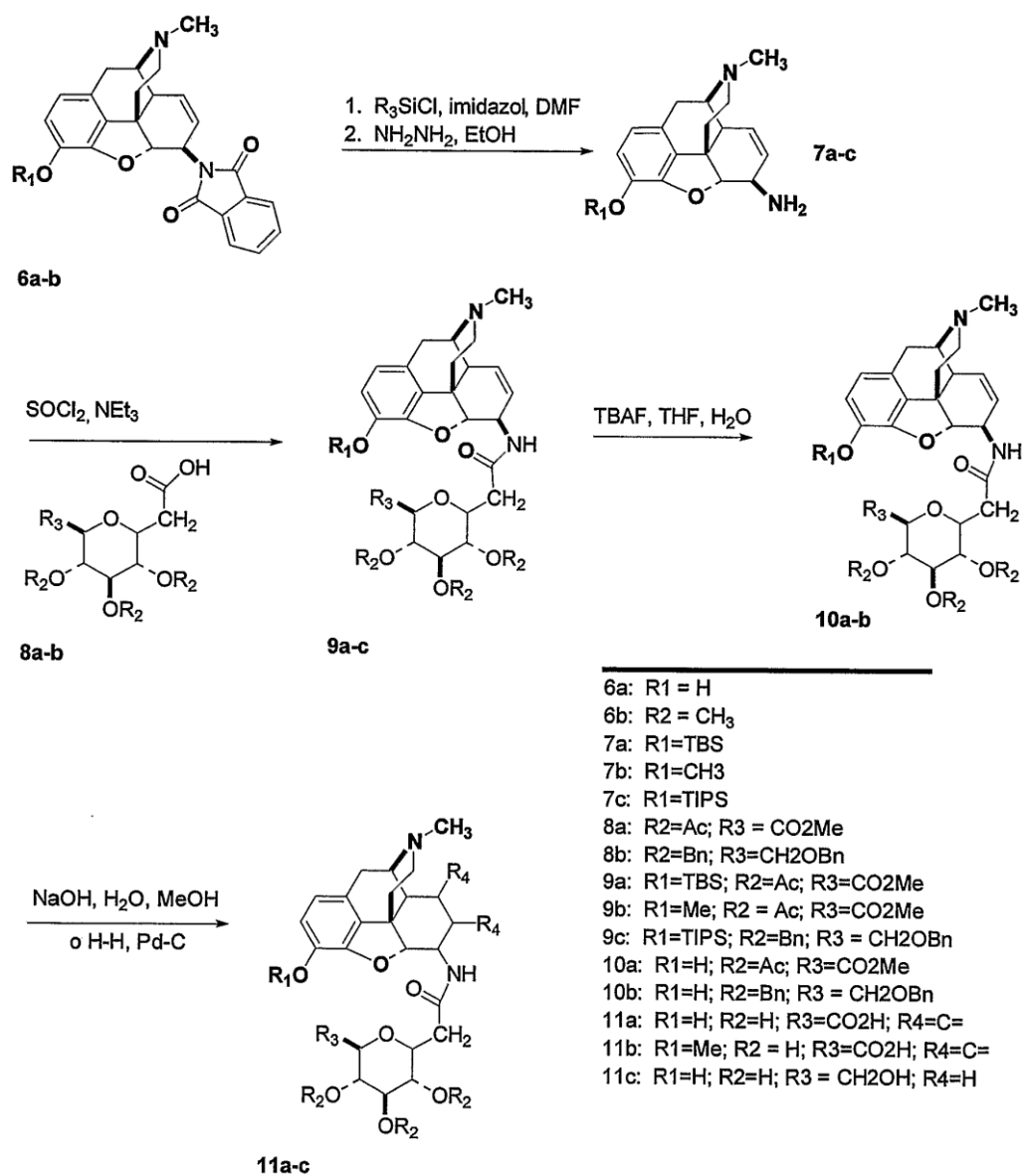
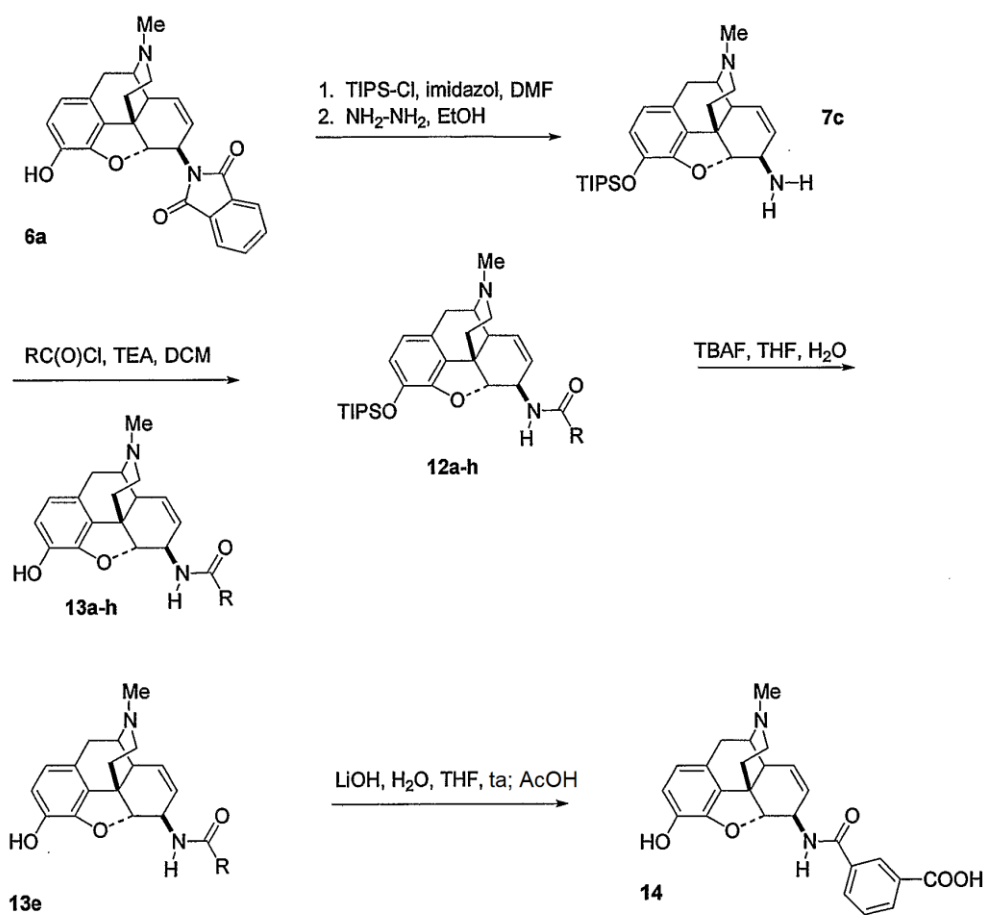


FIG. 3



- R
 a: $\text{CH}_2\text{-3-(MeO)Ph}$
 b: $\text{CH}_2\text{-4-(MeO)Ph}$
 c: 3-(MeO)Ph
 d: Ph
 e: $\text{3-(CO}_2\text{Me)Ph}$
 f: $\text{3-(NO}_2\text{)Ph}$
 g: 3,4-(dicloro)Ph
 h: $\text{CH}_2\text{-2-tiofeno}$

FIG. 4

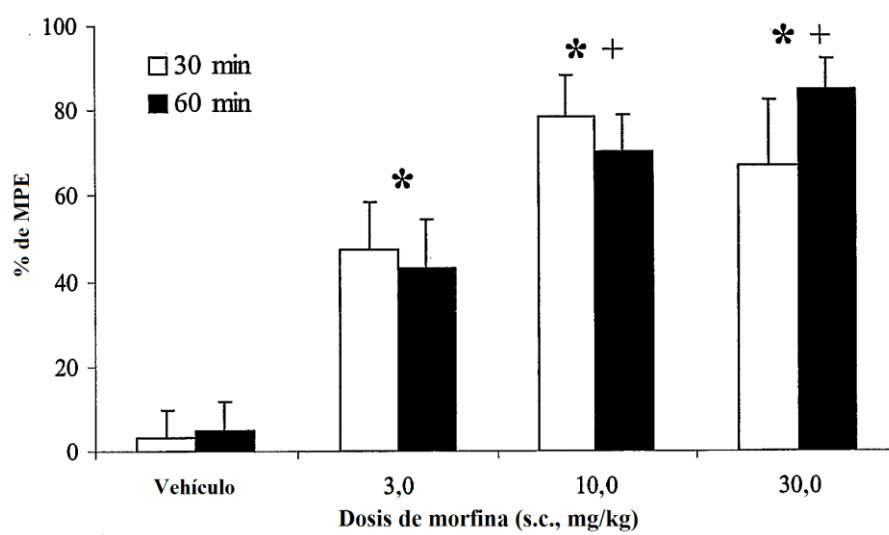
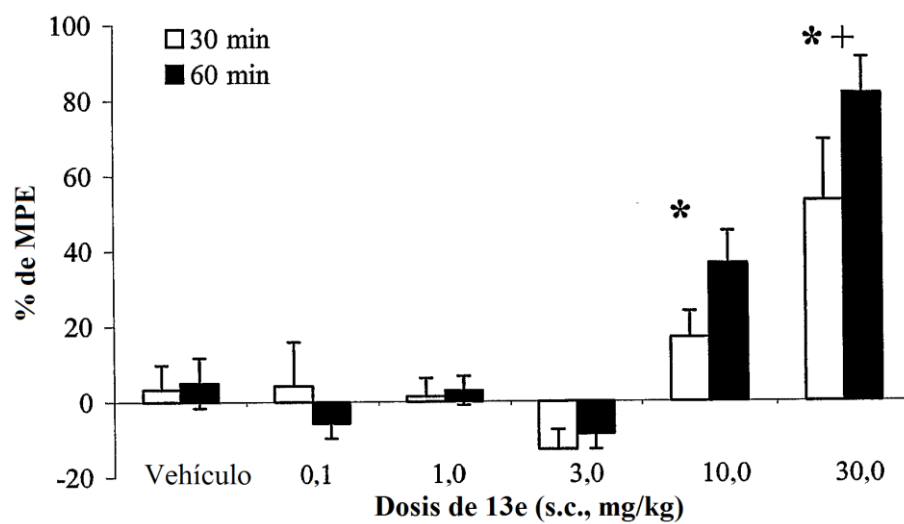
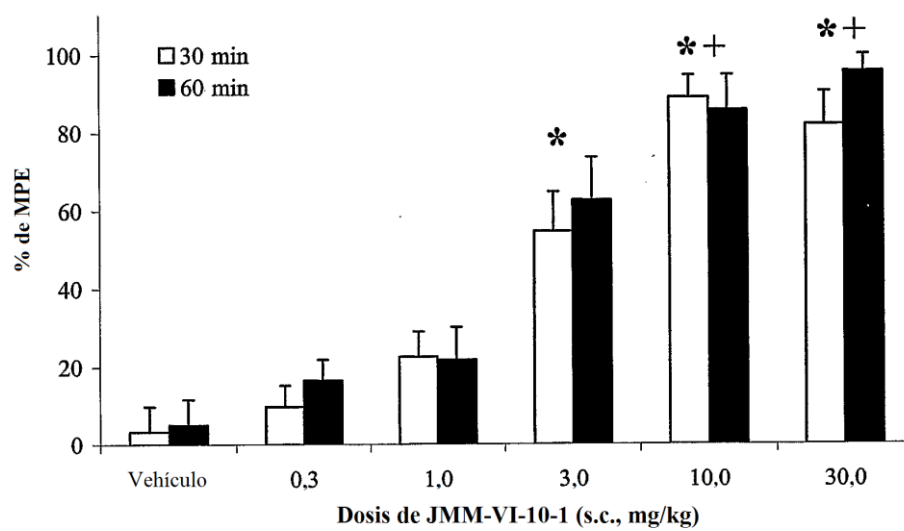


FIG. 5

**FIG. 6**

**FIG. 7**

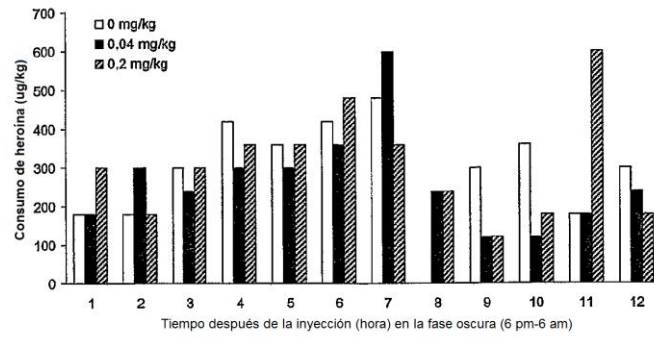


FIG. 8A

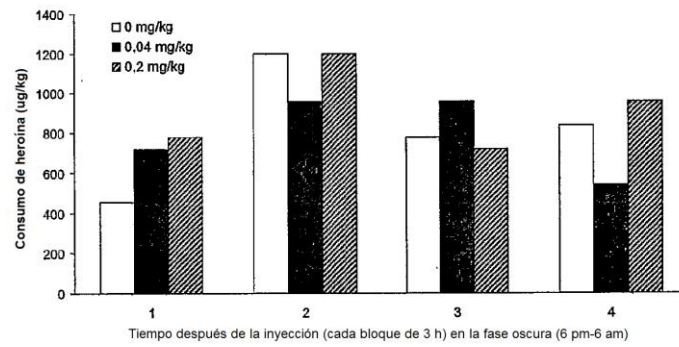


FIG. 8B

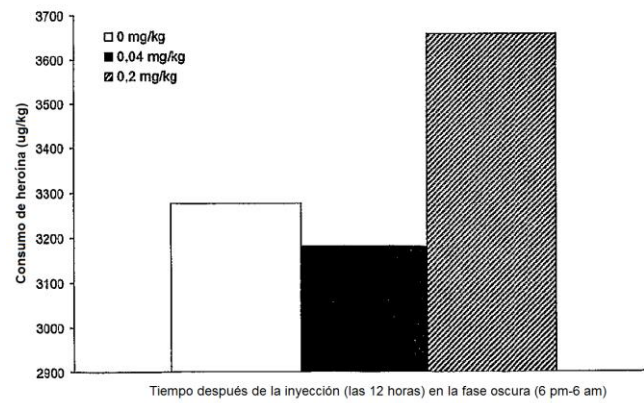


FIG. 8C

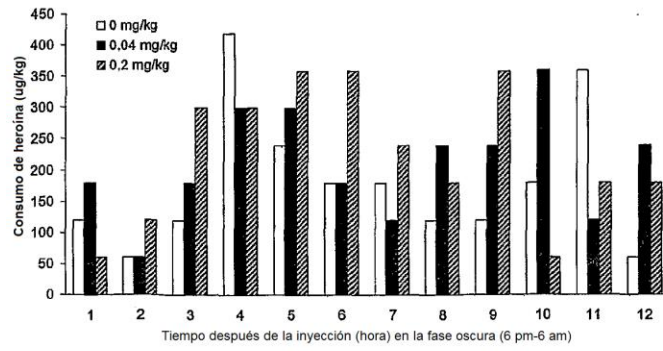


FIG. 9A

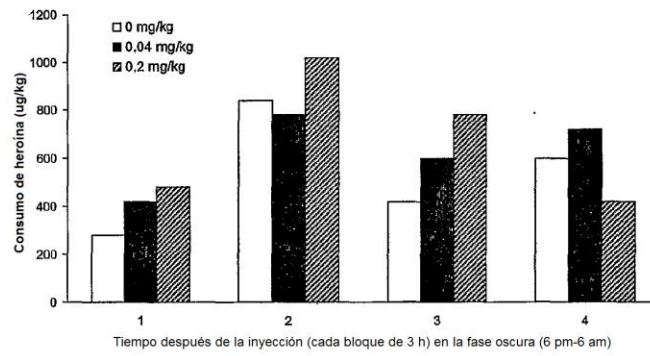


FIG. 9B

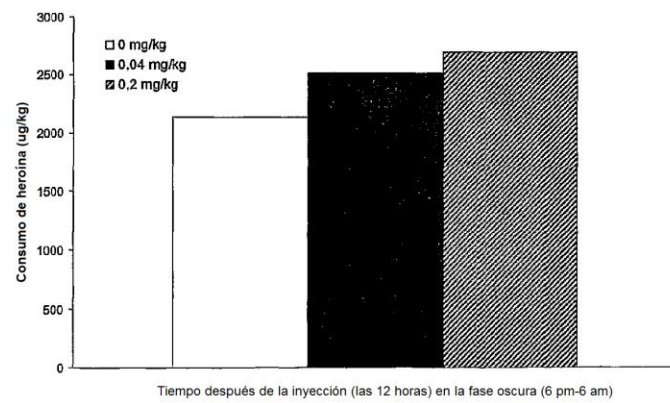


FIG. 9C

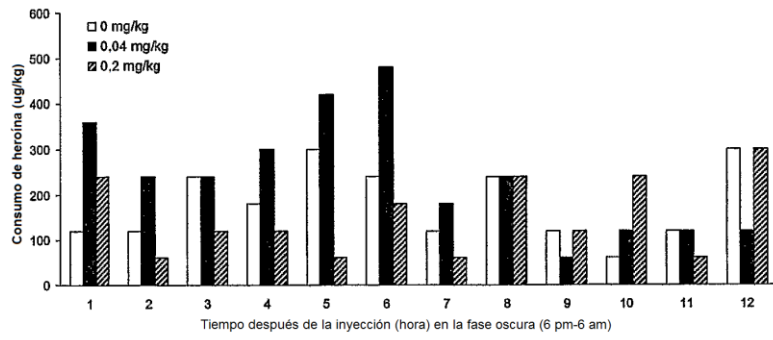


FIG. 10A

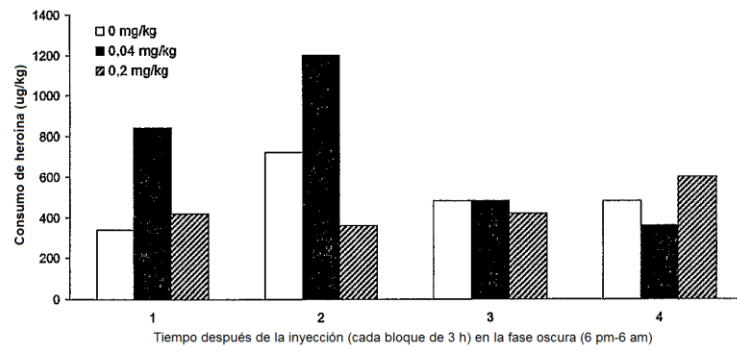


FIG. 10B

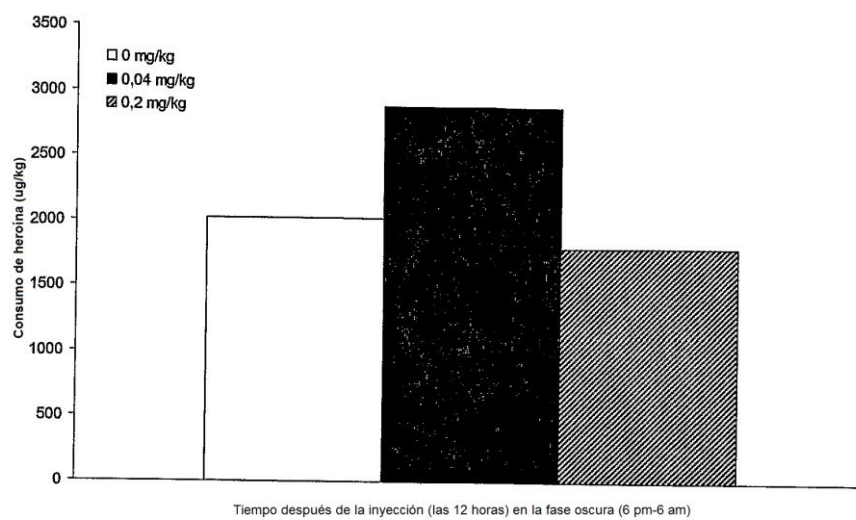


FIG. 10C

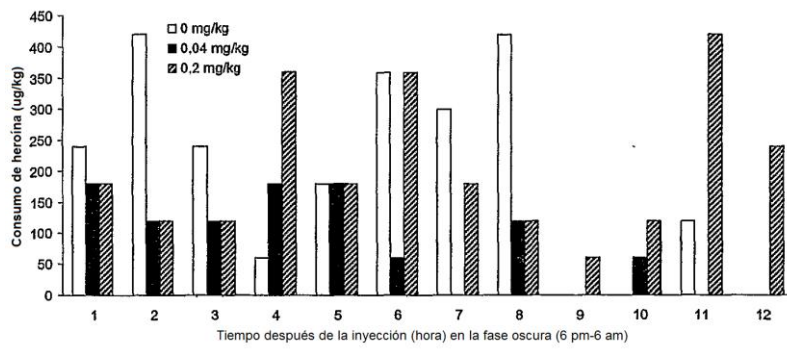


FIG. 11A

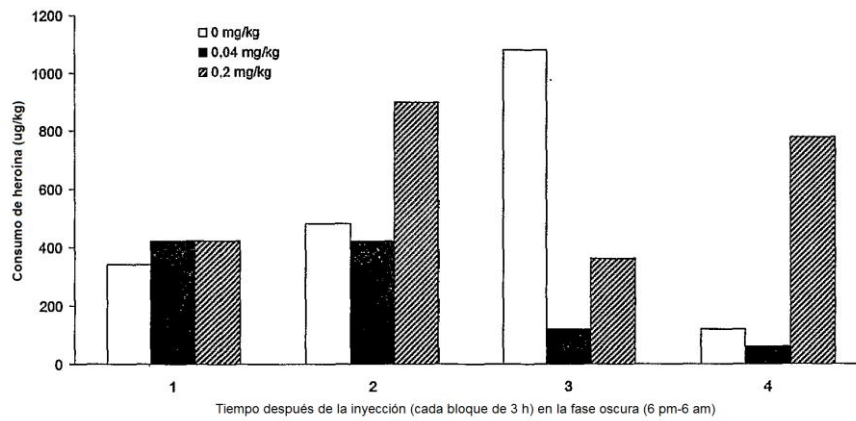


FIG. 11B

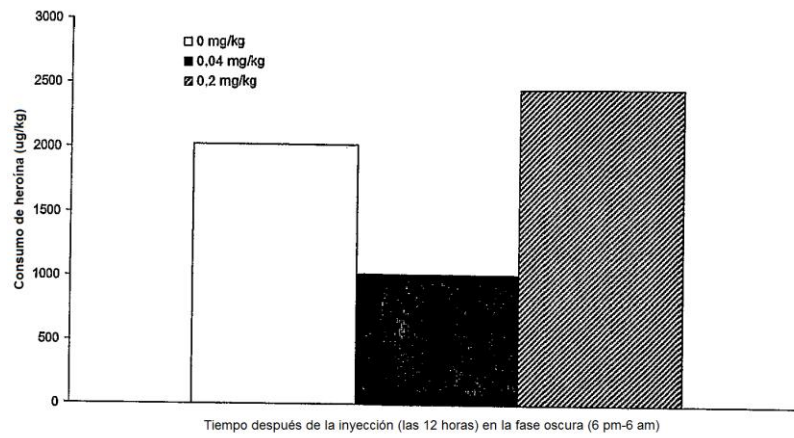


FIG. 11C

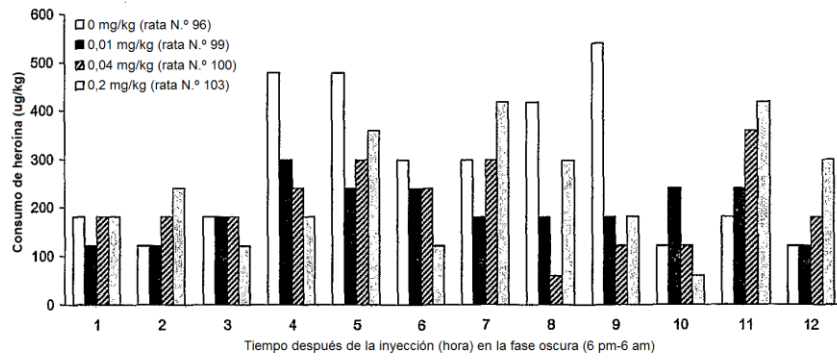


FIG. 12A

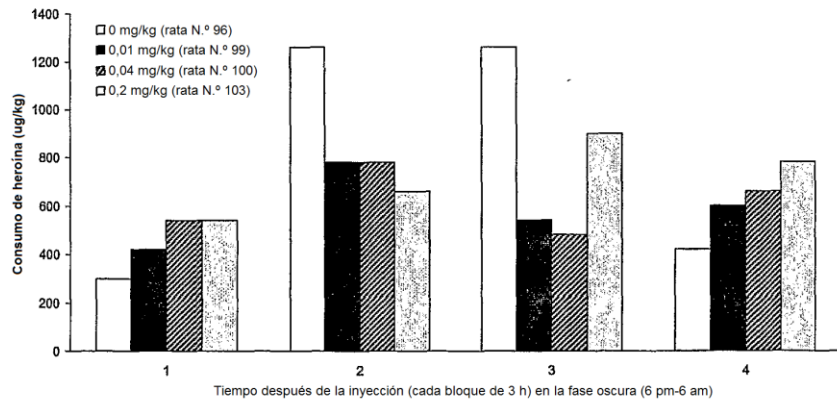


FIG. 12B

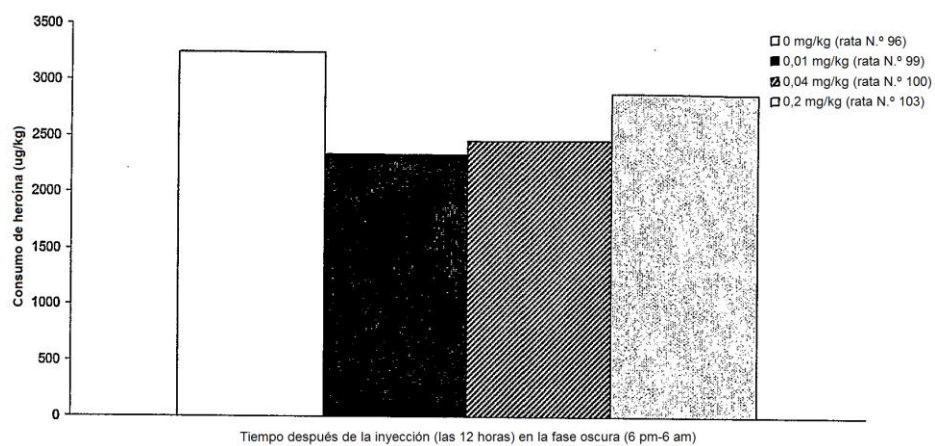


FIG. 12C

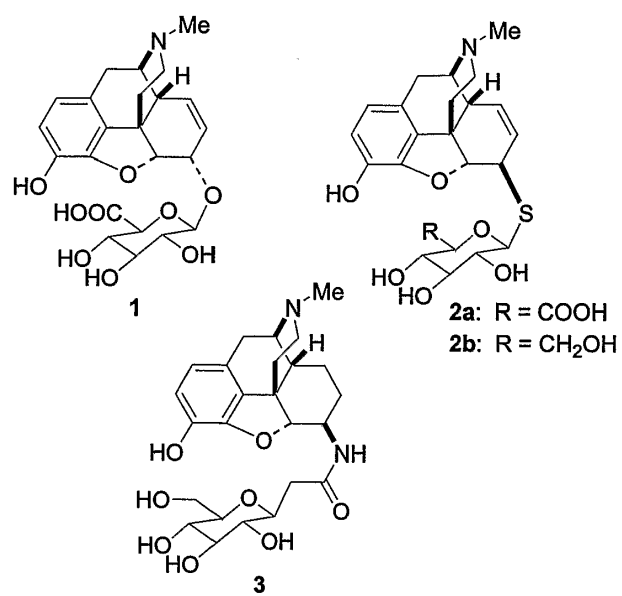


FIG. 13

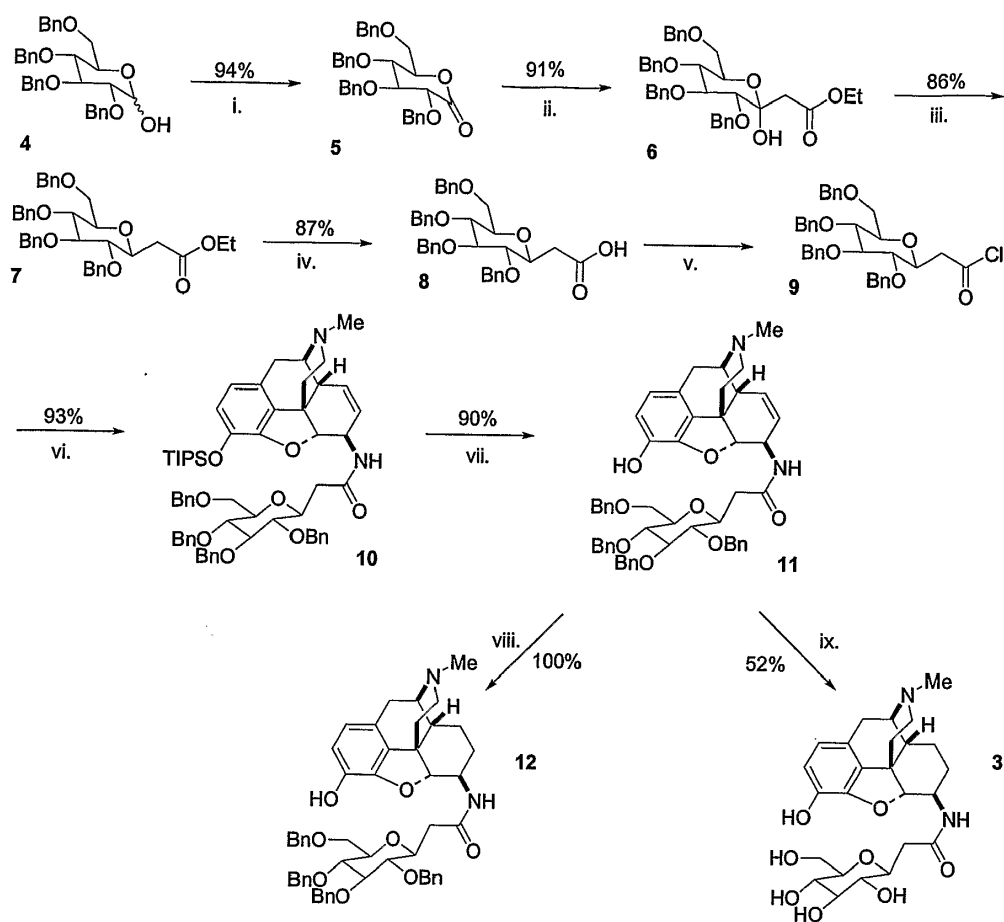
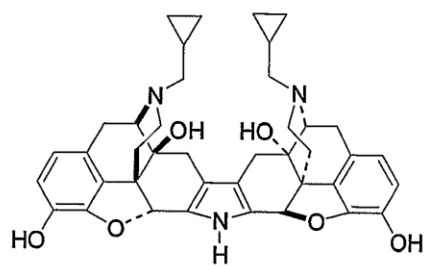
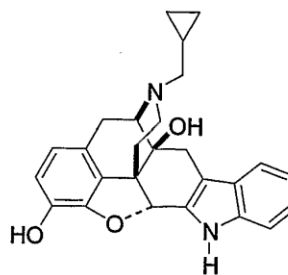


FIG. 14

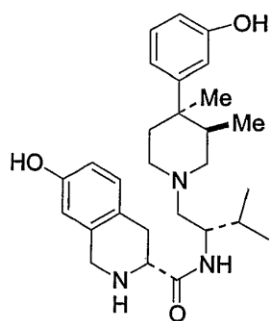


Norbinaltorfina (norBNI)

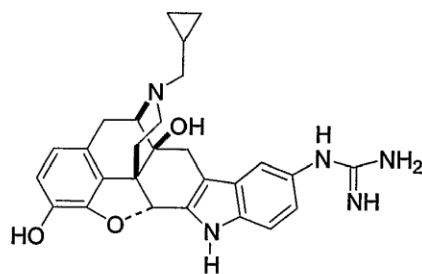


Naltrindol (NTI)

FIG. 15

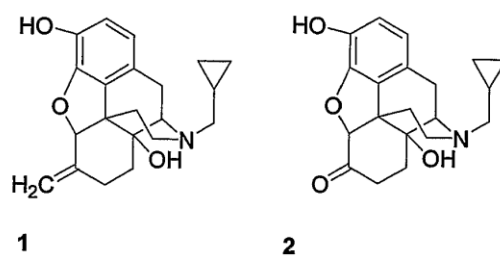
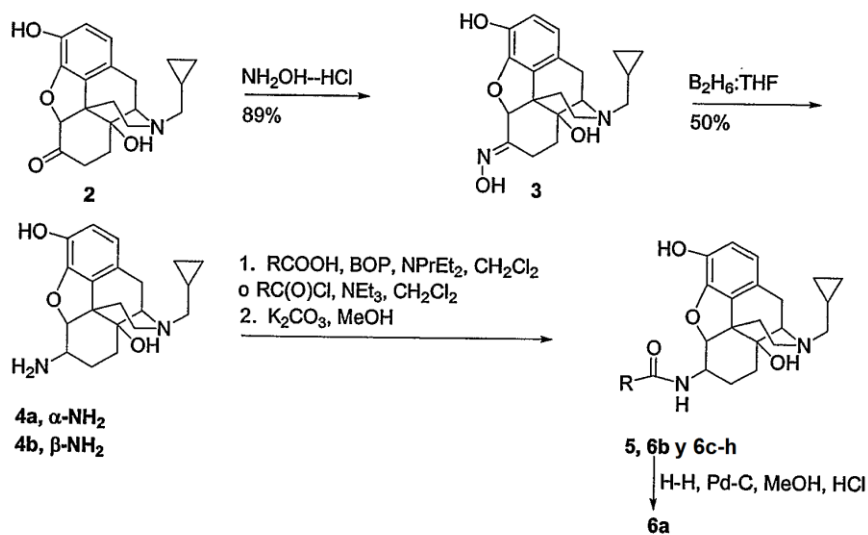


JDTic



GNTI

FIG. 16

**FIG. 17**

5: CH₂-2,3,4,6-tetra-O-bencil-D-glucosa
6a: CH₂-D-glucosa
6b: piridin-3-ilo
6c: 3-dimetilaminofenilo
6d: 3-metoxifenilo
6e: CH₂-tiofen-3-ilo
6f: 3,5-dimetoxifenilo
6g: 4-clorofenilo
6h: 3-hidroxifenilo

FIG. 18

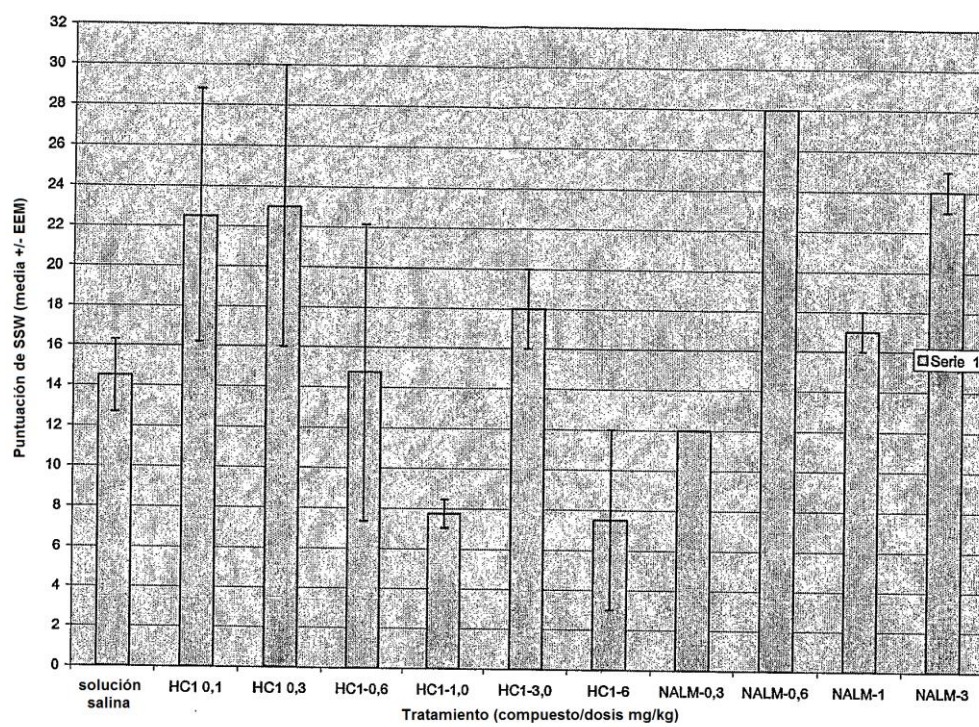


FIG. 19

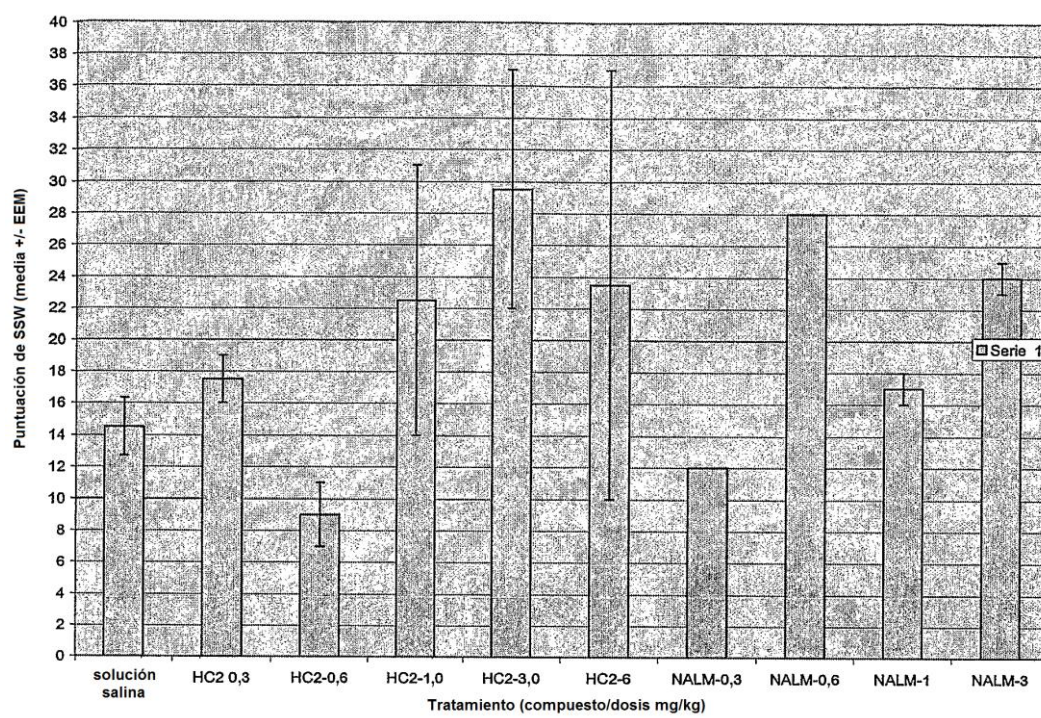


FIG. 20