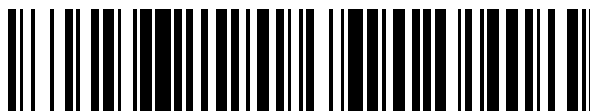


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 728 701**

51 Int. Cl.:

A61K 31/167	(2006.01) A61P 29/00	(2006.01)
A61K 31/472	(2006.01)	
A61K 31/485	(2006.01)	
C07D 217/20	(2006.01)	
C07D 221/28	(2006.01)	
C07D 489/00	(2006.01)	
C07D 489/02	(2006.01)	
C07D 489/08	(2006.01)	
C07D 489/10	(2006.01)	
A61P 25/00	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.12.2010 PCT/US2010/061699**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **19.01.2012 WO12008984**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.12.2010 E 10805351 (3)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.03.2019 EP 2593095**

54 Título: **(+)-Morfinanos como antagonistas del receptor 9 de tipo Toll y aplicaciones terapéuticas de los mismos**

30 Prioridad:

22.12.2010 US 975407
16.07.2010 US 837545

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
28.10.2019

73 Titular/es:

MALLINCKRODT LLC (100.0%)
675 McDonnell Boulevard
Hazelwood, MO 63042, US

72 Inventor/es:

TRAWICK, BOBBY, N.;
BERBERICH, DAVID, W. y
GROTE, CHRISTOPHER, W.

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 728 701 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

(+)-Morfina como antagonistas del receptor 9 de tipo Toll y aplicaciones terapéuticas de los mismos

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere en general a compuestos para su uso en el tratamiento del dolor, la inflamación y la toxicidad del acetamidofoeno. En particular, la invención se refiere a compuestos de (+)-morfina que comprenden actividad antagonista del receptor 9 tipo Toll (TLR9) para su uso en el tratamiento de estas afecciones.

10 **Antecedentes de la invención**

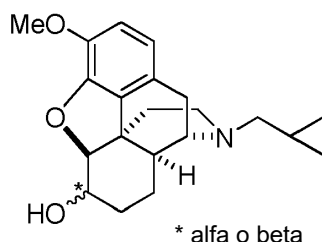
Las células gliales activadas contribuyen al desarrollo y mantenimiento de varias dolencias. De particular interés es el impacto negativo de las células gliales activadas en las áreas de dolor crónico y agudo, trastornos inflamatorios, trastornos autoinmunitarios, trastornos neurodegenerativos y cáncer. Se ha demostrado que las células gliales expresan numerosos receptores tipo Toll (TLR), que son una familia de proteínas transmembrana altamente conservadas de alta importancia funcional en el sistema inmunitario innato. Los TLR se activan mediante patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP), tales como el lipopolisacárido (LPS) de las paredes celulares bacterianas, el ADN de virus que contiene CpG no metilado y una amplia variedad de componentes microbianos adicionales. Se sabe que la activación de los TLR en el sistema nervioso central inicia cascadas de señalización proinflamatorias protectoras como parte de la primera línea de defensa contra patógenos invasores. Además, se ha informado de que la administración crónica de morfina u otros agonistas del receptor de opioides activa las células gliales, lo que provoca la liberación de factores proinflamatorios que contrarrestan los efectos de alivio del dolor del opioide. También se ha demostrado que las células gliales activadas desempeñan un papel en la conducción de estados de dolor crónico tales como el dolor neuropático. Dados estos roles recientemente identificados para las células gliales en el dolor, existe la necesidad de desarrollar agentes clínicamente útiles que se dirijan a la activación de las células gliales como un medio para controlar el dolor.

El documento WO-2009/059048 se refiere a 4,5-epoximorfina y derivados y su uso potencial como antagonistas de TLR. El documento US-5.919.826 se refiere al tratamiento de un mamífero que presenta un dolor distinto del dolor asociado con una afección con tos. Fialip *et al* han informado sobre un estudio del efecto antinociceptivo de los derivados de tetrahidropapaverolina en Life Science, 1996, vol. 59, núm. 11, páginas 133-139). Zhao *et al* han informado sobre un estudio de las actividades de eliminación de radicales libres y antinociceptivos de alcaloides aislados de *Lindra angustifolia* Chen (Journal of Ethnopharmacology, 2006, vol. 106, núm. 3, páginas 408-413). Hutchinson *et al* han informado sobre un estudio de la reversión no estereoselectiva del dolor neuropático por naloxona y naltrexona en European Journal of Neuroscience, 2008, vol. 28, núm. 1, páginas 20-29. Watkins *et al* han informado sobre un estudio de activación glial inducida por opioides en Trends in Pharmacological Sciences, 2009, vol. 30, núm. 11, páginas 581-591. Watkins *et al* han informado sobre un estudio para mejorar el control del dolor clínico y la utilidad clínica de los opioides en Brain, Behaviour and Immunity, 2007, vol. 21, núm. 2, páginas 131-146. El documento WO-2010/144641 se refiere a procedimientos para la síntesis estereoselectiva de morfina 6-alfa-amino-*N*-sustituidos. El documento WO-2010/096791 se refiere a compuestos de (+)-morfina que comprenden grupos 6-hidroxi o 6-amino sustituidos.

45 **Compendio de la invención**

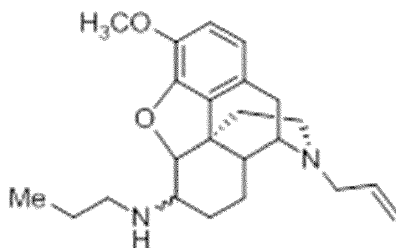
La presente invención se refiere en general a compuestos de (+)-morfina que inhiben la activación del receptor 9 tipo Toll (TLR9) y, por consiguiente, bloquean la activación de las células gliales, para su uso en el tratamiento del dolor, la inflamación y la toxicidad del acetamidofoeno, como se define en las reivindicaciones.

Un aspecto de la invención abarca el compuesto II-25 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables para su uso en el tratamiento de una afección dolorosa en un sujeto que lo necesite:



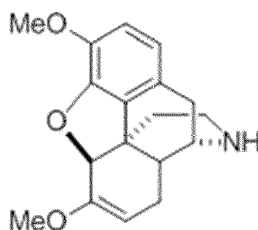
II-25.

Otro aspecto de la invención proporciona el compuesto II-93 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de una afección dolorosa en un sujeto que lo necesite:



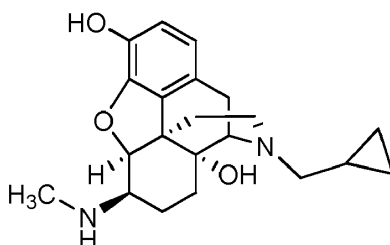
II-93.

Otro aspecto más de la invención proporciona el compuesto II-98 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables para su uso en el tratamiento de la inflamación en un sujeto que lo necesite:



II-98.

Un aspecto adicional de la presente invención abarca el compuesto II-78 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de la toxicidad del acetamidofero en un sujeto que lo necesite:



II-78.

Otros aspectos y características de la invención se detallan a continuación.

Descripción de las figuras

La FIG. 1 presenta exámenes de antagonistas del receptor tipo Toll (TLR). Cada panel presenta los resultados para un TLR particular. Se representa la actividad de un sistema informador de fosfatasa alcalina secretada en densidad óptica (DO) a 650 nm para cada condición de tratamiento, que se sometió a ensayo por duplicado. Todos los agentes se sometieron a ensayo a 10 μ M. (A) presenta un escrutinio con antagonistas de TLR2 en el que TLR2 se estimuló con HKLM a 10^8 células/ml. (B) presenta un escrutinio con antagonistas de TLR3 en el que TLR3 se estimuló con poli (I:C) a 1 μ g/ml. (C) presenta un escrutinio antagonista de TLR4 en el que TLR4 se estimuló con LPS a 100 ng/ml. (D) presenta un escrutinio con antagonistas de TLR5 en el que TLR5 se estimuló con Flagelina a 100 ng/ml. (E) presenta el escrutinio con antagonistas de TLR7 en el que TLR7 se estimuló con CL097 a 1 μ g/ml. (F) presenta un escrutinio con antagonistas de TLR8 en el que TLR8 se estimuló con CL075 a 1 μ g/ml. (G) presenta el escrutinio con antagonistas de TLR9 en el que TLR9 se estimuló con CpG ODN 2006 a 100 ng/ml.

La FIG. 2 ilustra los efectos analgésicos de (+)-naloxona sobre la alodinia mecánica en ratas. El nivel de alodinia es de 50% en tres puntos temporales para cada grupo de tratamiento el día 14. Las barras representan la media $\pm$ ETM. (A) presenta datos para la pata izquierda (afectada). (B) presenta datos para la

pata derecha (no afectada). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ frente a vehículo.

La FIG. 3 representa el desarrollo de la alodinia. Se traza la puntuación de von Frey los días 1, 4 y 14 para las patas ipsilaterales (A) y contralaterales (B) en cada grupo de tratamiento.

La FIG. 4 presenta respuestas de alodinia antes y 3 horas después del tratamiento con varias dosis de compuesto II-25. (A-D) presentan respuestas en patas ipsilaterales. (E-H) presentan respuestas en patas contralaterales.

La FIG. 5 presenta los datos del área bajo la curva (AUC) para cada grupo tratado con el compuesto II-25 en patas ipsilaterales (A) y contralaterales (B).

La FIG. 6 representa respuestas de alodinia antes y 3 horas después del tratamiento con varias dosis de compuesto II-93. (A-D) presentan respuestas en patas ipsilaterales. (E-H) presentan respuestas en patas contralaterales.

La FIG. 7 presenta datos de área bajo la curva (AUC) para cada grupo tratado con el compuesto II-93 en patas ipsilaterales (A) y contralaterales (B).

La FIG. 8 ilustra que la (+)-naloxona no afectó la hepatotoxicidad inducida por acetamidofeno. (A) Presenta puntuaciones de histología hepática y (B) presenta actividad de alanina transaminasa (ALT) en los grupos de control y tratados.

La FIG. 9 ilustra que el compuesto II-78 proporcionó protección para la hepatotoxicidad inducida por acetamidofeno. (A) Presenta puntuaciones de histología hepática y (B) presenta actividad de alanina transaminasa (ALT) en los grupos control y tratados.

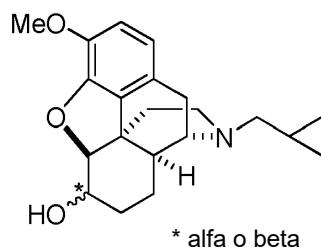
La FIG. 10 presenta un curso en el tiempo de las puntuaciones clínicas de la encefalomielitis autoinmunitaria experimental después del tratamiento con una variedad de (+)-morfinanos.

Descripción detallada de la invención

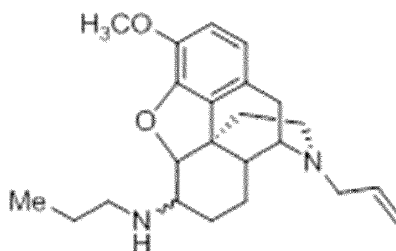
Se ha descubierto que ciertos (+)-morfinanos bloquean la activación de TLR9 y, en consecuencia, la activación de células gliales. Por lo tanto, los (+)-morfinanos que comprenden actividad antagonista de TLR9 se pueden utilizar para tratar el dolor, así como otras afecciones asociadas con el dolor y la inflamación. También se ha descubierto que la inhibición de la activación de TLR9 se puede usar como una herramienta de detección para identificar (+)-morfinanos que pueden ser terapéuticamente eficaces en el tratamiento de afecciones tales como dolor traumático, dolor neuropático, trastornos inflamatorios, toxicidad por acetamidofeno, trastornos autoinmunitarios, trastornos neurodegenerativos, y cáncer. Por consiguiente, la presente descripción proporciona (+)-morfinanos que comprenden actividad antagonista de TLR9, métodos para inhibir la activación de TLR9, métodos de escrutinio para identificar (+)-morfinanos terapéuticamente eficaces y métodos de uso de (+)-morfinanos que comprenden actividad antagonista de TLR9 para tratar afecciones tales como dolor traumático, dolor neuropático, trastornos inflamatorios, toxicidad por acetamidofeno, trastornos autoinmunitarios, trastornos neurodegenerativos y cáncer.

(I) (+)-Morfinanos que comprenden actividad antagonista de TLR9

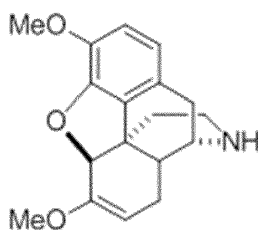
Como se explica en la sección del Compendio de la Invención anterior, las reivindicaciones se refieren al uso de ciertos compuestos. Estos compuestos son los siguientes:



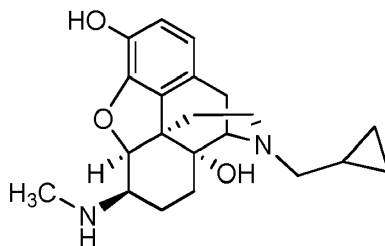
II-25.



II-93.



II-98.



II-78.

5 Cualquiera de los compuestos detallados anteriormente se puede proporcionar en forma de una sal farmacéuticamente aceptable. El término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sal utilizada comúnmente para formar una sal de metal alcalino o una sal de adición de un ácido libre o de una base libre. La naturaleza de la sal puede variar, siempre que sea farmacéuticamente aceptable. Las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables adecuadas de los compuestos de la presente invención se pueden preparar a partir de un ácido inorgánico o a partir de un ácido orgánico. Los ejemplos de tales ácidos inorgánicos son ácido clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, nítrico, carbónico, sulfúrico y fosfórico. Los ácidos orgánicos apropiados se pueden seleccionar a partir de clases de ácidos orgánicos alifáticos, cicloalifáticos, aromáticos, aralifáticos, heterocíclicos, carboxílicos y sulfónicos, cuyos ejemplos son ácido fórmico, acético, propiónico, succínico, glicólico, glucónico, láctico, málico, tartárico, cítrico, ascórbico, glucurónico, maleico, fumárico, pirúvico, aspártico, glutámico, benzoico, antranílico, mesílico, 4-hidroxibenzoico, fenilacético, mandélico, embónico (pamoico), metanosulfónico, etanosulfónico, bencenosulfónico, pantoténico, 2-hidroxietanosulfónico, toluenosulfónico, sulfanílico, ciclohexilaminosulfónico, esteárico, algénico, hidroxibutírico, salicílico, galactarico y galacturónico. Las sales de adición de base farmacéuticamente aceptables adecuadas de los compuestos de la presente invención incluyen sales metálicas preparadas a partir de aluminio, calcio, litio, magnesio, potasio, sodio y zinc o sales orgánicas preparadas a partir de N,N'-dibenciletilendiamina, cloroprocaína, colina, dietanoiamina, etilendiamina, meglumina (es decir, N-metilglucamina) y procaína. Todas estas sales se pueden preparar por medios convencionales a partir del compuesto correspondiente haciendo reaccionar, por ejemplo, el ácido o base apropiados con cualquiera de los compuestos de la invención.

25 Cada uno de los compuestos detallados tiene una orientación (+) con respecto a la rotación de la luz polarizada. Más específicamente, cada carbono quiral tiene una configuración *R* o *S*. Como apreciará un experto en la técnica, la configuración *R* o *S* de un carbono dado puede cambiar dependiendo de la estructura concreta del compuesto y del patrón de sustitución del compuesto.

30 **(II) Métodos para tratar afecciones utilizando (+)-morfinanos que comprenden actividad antagonista de TLR9 ya sea solos o combinados con otro agente terapéutico**

Otro aspecto de la presente invención abarca los compuestos definidos en el apartado (I) anterior para su uso en métodos para tratar una afección en un sujeto que lo necesite. En general, el método comprende administrar al sujeto al menos un (+)-morfinano que comprende actividad antagonista de TLR9 solo o combinado con al menos un agente terapéutico adicional. Se puede tratar una variedad de trastornos o dolencias con los compuestos de la invención. Los trastornos y enfermedades adecuados que se pueden tratar incluyen afecciones dolorosas, trastornos inflamatorios, toxicidad por acetamidofeno, trastornos autoinmunitarios, trastornos neurodegenerativos y cáncer.

40 El sujeto que se vaya a tratar puede ser cualquier sujeto al que se le haya diagnosticado una de las afecciones indicadas. Además, el sujeto que se vaya a tratar puede necesitar tratamiento por una de las afecciones. Es decir, se ha diagnosticado la afección en el sujeto o está en riesgo de desarrollarla y, en consecuencia, necesita tratamiento para la afección. La afección puede ser diagnosticada en el sujeto utilizando pruebas de diagnóstico o clínicas que son bien conocidas. Además, los expertos en la técnica aprecian que se utilizan diferentes pruebas de diagnóstico o clínicas para diagnosticar las diferentes afecciones o trastornos. Las herramientas de diagnóstico

incluyen, exploración física, historial del paciente, pruebas de detección, pruebas de laboratorio, pruebas moleculares, pruebas genómicas, herramientas de imágenes, pruebas físicas, pruebas mentales y similares. Debido a que la percepción del dolor puede ser bastante subjetiva, se pueden utilizar herramientas tales como el Cuestionario de Dolor de McGill para evaluar la calidad del dolor (p. ej., agudo, punzante, opresivo, etc.), y la intensidad del dolor se puede cuantificar utilizando un método numérico. escala que varía de 0 a 10. Los diagnosticadores expertos están familiarizados con otros indicadores de dolor.

En general, el sujeto será un humano. Sin apartarse del alcance de la invención, sin embargo, pueden usarse otros sujetos mamíferos. Los sujetos mamíferos adecuados incluyen; animales de compañía, tales como gatos y perros; ganado, tal como vacas, cerdos, caballos, ovejas y cabras; animales de zoológico; y animales de investigación, tales como primates no humanos y roedores.

(a) afecciones

(i) Afección dolorosa

En una realización, el (+)-morfinano que tiene actividad antagónica de TLR9 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se pueden utilizar solos o combinados con al menos un agente terapéutico adicional para el tratamiento de una afección dolorosa en un sujeto. En general, al sujeto que se vaya a tratar se le ha diagnosticado una afección dolorosa. Como se emplea en la presente memoria, el término "dolor" se refiere a la experiencia sensorial y emocional desagradable asociada con el daño tisular real o percibido por un estímulo nocivo. El dolor puede ser agudo o crónico. Por ejemplo, el dolor puede ser un dolor traumático o inflamatorio, que resulta de una lesión en el tejido no neural. Los ejemplos no limitantes de dolor traumático o inflamatorio incluyen aracnoiditis, artritis, dolor de espalda, dolor por quemadura, síndrome de dolor central, dolor por cáncer, cefaleas (incluidas migrañas, cefaleas en racimo y cefaleas por tensión); dolor de cabeza y facial, dolor muscular (incluyendo fibromialgia), síndromes de dolor miofascial; síndrome de distrofia simpática refleja, lesiones por esfuerzo repetitivo, ciática, herpes y otros trastornos de la piel, lesiones deportivas, estenosis espinal, dolor quirúrgico, trastornos temporomandibulares, trauma, y/o enfermedades o lesiones vasculares.

Alternativamente, el dolor puede ser dolor neuropático, que resulta de una lesión o inflamación del sistema nervioso central o periférico. El dolor neuropático puede aparecer en cualquier parte del cuerpo y con frecuencia se describe como una sensación de ardor y calor, que puede ser devastadora para el individuo afectado. El dolor neuropático puede ser agudo o crónico; puede deberse a enfermedades que afectan a los nervios (tal como la diabetes), traumatismos, procedimientos quirúrgicos, artritis, SIDA, lesiones por quemaduras, enfermedad de la columna lumbar o cerebral, fibromialgia, dolor post-isquémico, tumores, neuralgias virales o debido a fármacos de quimioterapia. Puede afectar los nervios, puede ser una consecuencia del tratamiento del cáncer. Entre las muchas afecciones dolorosas neuropáticas se encuentran la neuropatía diabética (que resulta de un daño nervioso secundario a problemas vasculares que se producen con la diabetes); síndrome de distrofia simpática refleja, que puede seguir a una lesión; dolor por miembro fantasma y posterior a la amputación, que puede resultar de la extirpación quirúrgica de un miembro; neuralgia postherpética, que se puede producir después de un brote de herpes; y síndrome de dolor regional complejo o síndrome de dolor central, que puede resultar de un traumatismo en el cerebro o la médula espinal.

Los síntomas característicos del dolor neuropático incluyen hiperestesia (es decir, aumento de sensibilidad a un estímulo natural); alodinia (es decir, sensibilidad generalizada o hipersensibilidad a los estímulos táctiles); hiperalgesia (es decir, sensibilidad anormal al dolor); dolor ardiente espontáneo; y/o dolor fantasma (es decir, la percepción del dolor que no existe). La hiperestesia implica un aumento o alteración de la sensibilidad a los estímulos sensoriales, incluidos, por ejemplo, acústicos, cerebrales, gustativos, musculares, olfativos, oníricos, ópticos o táctiles. Como ejemplo, una sensación dolorosa de un estímulo táctil normalmente sin dolor. La alodinia implica una percepción intensiva, desagradable y dolorosa de los estímulos activados por el calor o por el contacto, que se basa en una reducción del umbral del dolor para estos estímulos, incluido, por ejemplo, un estímulo no nocivo para la piel normal. La hiperalgesia implica la percepción excesiva de una variedad de estímulos, nuevamente basada en una reducción del umbral del dolor y, por lo tanto, un aumento anormal del sentido del dolor, incluidos, por ejemplo, estímulos auditivos o musculares. El dolor fantasma implica una percepción de dolor en una extremidad que no existe, tal como el dolor percibido en una extremidad que ha sido amputada, es decir, el síndrome de la extremidad fantasma.

(ii) trastornos inflamatorios

En otra realización, el (+)-morfinano que tiene actividad antagónica de TLR9 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se pueden utilizar solos o combinados con al menos un agente terapéutico adicional para el tratamiento de la inflamación en un sujeto. Por ejemplo, el trastorno inflamatorio puede ser artritis que incluye, entre otros, artritis reumatoide, espondiloartropatías, artritis gotosa, osteoartritis, lupus eritematoso sistémico o artritis juvenil. En algunas realizaciones, la inflamación puede estar asociada con asma, rinitis alérgica, enfermedades de los senos

paranasales, bronquitis, tuberculosis, pancreatitis aguda, sepsis, enfermedades infecciosas, cólicos menstruales, parto prematuro, tendinitis, bursitis, afecciones relacionadas con la piel, tales como psoriasis, eczema, dermatitis atópica, urticaria, dermatitis por contacto y quemaduras, o por inflamación postoperatoria, incluida la cirugía oftálmica, tal como la cirugía de cataratas y la cirugía refractiva. En una realización adicional, el trastorno inflamatorio puede ser una afección gastrointestinal tal como enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad de Crohn, gastritis, síndrome del intestino irritable, colecistitis crónica o colitis ulcerosa. En otra realización más, la inflamación puede estar asociada con enfermedades tales como enfermedades vasculares, migrañas, periarteritis nodosa, tiroiditis, anemia aplásica, enfermedad de Hodgkin, esclerodoma, fiebre reumática, diabetes tipo I, enfermedad de la unión neuromuscular que incluye miastenia gravis, enfermedad de la sustancia blanca que incluye esclerosis múltiple, sarcoidosis, síndrome nefrótico, síndrome de Behcet, polimiositis, gingivitis, nefritis, hipersensibilidad, hinchazón después de una lesión, isquemia miocárdica, rinitis alérgica, síndrome de dificultad respiratoria, síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS), inflamación asociada al cáncer, reducción de angiogénesis asociada a tumores, síndrome de choque de endotoxinas, aterosclerosis y similares. En una realización alternativa, el trastorno inflamatorio puede estar asociado con una enfermedad oftálmica, tal como retinitis, retinopatías, uveítis, fotofobia ocular o lesión aguda en el tejido del ojo. En otra realización más, la inflamación puede ser una inflamación pulmonar, tal como la asociada con infecciones virales o fibrosis quística, enfermedad pulmonar obstructiva crónica o síndrome de dificultad respiratoria aguda. El trastorno inflamatorio también puede estar asociado con el rechazo de tejidos, enfermedades de injerto contra anfitrión, hipersensibilidad de tipo retardado, así como con elementos inmunitarios e inflamatorios de enfermedades del SNC tales como Alzheimer, Parkinson, esclerosis múltiple y similares.

(iii) toxicidad del acetamidofeno

En otra realización más, el (+)-morfinano que tiene actividad antagonista de TLR9 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables también puede estar solo o combinado con al menos otro agente terapéutico para tratar la toxicidad del acetamidofeno (también conocida como toxicidad por paracetamol). Los niveles altos de acetamidofeno pueden causar daño al hígado (es decir, hepatotoxicidad inducida por acetamidofeno) o al riñón (es decir, nefrotoxicidad inducida por acetamidofeno). La toxicidad por acetamidofeno puede resultar de una sobredosis aguda de acetamidofeno o de una sobredosis crónica de acetamidofeno. La cantidad de acetaminofeno ingerido a la que se produce la toxicidad puede reducirse con el uso crónico de etanol, desnutrición o disminución del estado nutricional, ayuno o enfermedad viral con deshidratación, o el uso de ciertos agentes farmacéuticos que interactúan con los sistemas enzimáticos que metabolizan el acetamidofeno.

La hepatotoxicidad inducida por acetamidofeno se puede manifestar mediante daño oxidativo celular, disfunción mitocondrial y una respuesta inflamatoria posterior. El daño celular se puede controlar mediante niveles elevados de alanina transaminasa (ALT) sérica o aspartato transaminasa (AST) sérica, y la respuesta inflamatoria se puede controlar mediante niveles elevados de niveles de transcrito pro-interleucina(IL)-1 beta. La hepatotoxicidad inducida por el acetamidofeno también puede conducir a lesiones hepatocelulares, muerte y necrosis hepática centrilobular (zona III). Reacciones enzimáticas similares ocurren en el riñón y pueden contribuir a cierto grado de disfunción de los órganos extrahepáticos.

(b) formulaciones de tratamiento

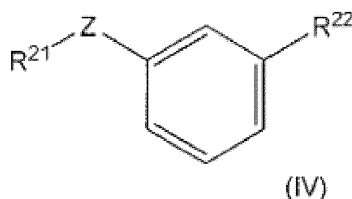
(i) formulaciones que comprenden al menos un (+)-morfinano con actividad antagonista de TLR9

En algunas realizaciones, el uso de la invención comprende administrar al sujeto al menos un compuesto de (+)-morfinano que tiene actividad antagonista de TLR9 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define en las reivindicaciones.

(ii) formulaciones combinadas

En otras realizaciones, el uso en el tratamiento comprende administrar al sujeto una formulación combinada que comprende al menos un (+)-morfinano antagonista de TLR9, como se define en las reivindicaciones, y al menos otro agente terapéutico. Se prevé que cuando la formulación combinada comprenda más de un agente terapéutico adicional, los diferentes agentes se puedan extraer de una de las clases enumeradas a continuación, o los diferentes agentes se puedan extraer de las diferentes clases enumeradas a continuación.

En una realización, la formulación combinada puede comprender un (+)-morfinano o una de sus sales farmacéuticamente aceptables y un compuesto que comprende la Fórmula (IV) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables:



en donde:

R^{21} se elige entre hidrógeno, hidrocarbilo e hidrocarbilo sustituido;
 R^{22} se elige entre hidrocarbilamina e hidrocarbilamina sustituida; y
 Z se elige entre el oxígeno y el azufre.

En realizaciones preferidas, R^{21} se elige entre hidrógeno, alquilo y alquilo sustituido; R^{22} se elige entre dialquilaminoalquilo y dialquilaminoalquilo sustituido; y Z es oxígeno. En una realización preferida, R^{21} se elige entre hidrógeno y metilo; y R^{22} se elige entre dimetilamino-etil-metilpropilo y dimetilamino ciclohexanol. En una realización preferida, R^{21} es hidrógeno, R^{22} es dimetilamino-etil-metilpropilo, y Z es oxígeno (es decir, el compuesto es tapentadol). En otra realización preferida, R^{21} es metilo, R^{22} es dimetilamino ciclohexanol, y Z es oxígeno (es decir, el compuesto es tramadol).

El compuesto que comprende la Fórmula (IV) se puede proporcionar como una sal farmacéuticamente aceptable. La sal farmacéuticamente aceptable puede ser una sal de adición de ácido o una sal de adición de base. Los ácidos comúnmente empleados para formar sales de adición de ácido incluyen ácidos inorgánicos, tales como por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido yodhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico y similares, y ácidos orgánicos tales como p-toluenosulfónico, ácido metanosulfónico, ácido oxálico, ácido p-bromofenilsulfónico, ácido carbónico, ácido succínico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido acético y similares. Los ejemplos de tales sales farmacéuticamente aceptables son sulfato, piro-sulfato, bisulfato, sulfito, bisulfito, fosfato, monohidrogenofosfato, dihidrogenofosfato, metafosfato, pirofosfato, cloruro, bromuro, yoduro, acetato, propionato, decanoato, caprilato, acrilato, formiato, heptanoato, propiolato, oxalato, malonato, succinato, suberato, sebacato, fumarato, maleato, butino-1,4-dioato, hexino-1,6-dioato, benzoato, clorobenzoato, metilbenzoato, dinitrobenzoato, hidroxibenzoato, metoxibenzoato, ftalato, sulfonato, xilenosulfonato, fenilacetato, fenilpropionato, fenilbutilato, citrato, lactato, g-hidroxibutilato, glicolato, tartrato, metanosulfonato, propanosulfonato, naftaleno-1-sulfonato, naftaleno-2-sulfonato, mandelato y similares. Las sales de adición de bases incluyen aquellas derivadas de bases inorgánicas, tales como, por ejemplo, hidróxidos carbonatos, bicarbonatos de amonio, o de metales alcalinos o alcalinotérreos y similares. Tales bases incluyen hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, hidróxido de amonio, carbonato de potasio, carbonato de sodio, bicarbonato de sodio, bicarbonato de potasio, hidróxido de calcio y carbonato de calcio.

El compuesto que comprende la Fórmula (IV) puede ser un enantiómero (+), un enantiómero (-), o una combinación de los mismos. Así, cada carbono quiral puede tener una configuración R o S.

En otra realización, la formulación combinada que se va a utilizar puede comprender un (+)-morfinano o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define en las reivindicaciones, y un agente analgésico. El analgésico puede ser un analgésico (-)-opioide. Alternativamente, el analgésico puede ser un analgésico no opioide. Los ejemplos no limitantes de analgésicos opioides adecuados incluyen buprenorfina, butorfanol, codeína, dihidrocodeína, dihidromorfina, etorfina, fentanilo, hidrocodona, hidromorfona, levofanol, meperidina, metadona, morfina, nalbufina, norcodeína, normorfina, oxicodona, oximorfona, pentazocina, y propoxifeno. En algunas combinaciones que comprenden un analgésico opioide, la concentración o la dosis del analgésico opioide en la formulación combinada puede ser subanagésica. Los ejemplos de analgésicos no opioides adecuados incluyen ácido acetilsalicílico, acetamidofeno (paracetamol), ibuprofeno, ketoprofeno, indometacina, diflunisil, naproxeno, ketorolaco, diclofenaco, tolmetina, sulindaco, fenacetina, piroxicam y ácido mefemánico. En realizaciones adicionales, el analgésico puede comprender una combinación de un analgésico opioide y un analgésico no opioide. Por ejemplo, el acetamidofeno se puede combinar con codeína, hidrocodona, oxicodona, propoxifeno u otro analgésico opioide. En una realización ilustrativa, la combinación puede comprender un (+)-morfinano como se ha descrito anteriormente y acetaminofeno. La concentración de acetamidofeno en una combinación de este tipo puede ser menor que en las formulaciones combinadas de acetamidofeno actualmente disponibles.

En una realización adicional, la formulación combinada puede comprender un (+)-morfinano o una de sus sales farmacéuticamente aceptables y un agente antiinflamatorio. El agente antiinflamatorio puede ser un esteroide glucocorticoide tal como la hidrocortisona (cortisol) de origen natural o glucocorticoides sintéticos tales como prednisona, prednisolona, metilprednisolona, dexametasona, betametasona, triamcinolona, beclometasona, fludrocortisonas, desoxicorticosterona, alclometasona, flucinonida, aldosterona, y derivados de los mismos. Alternativamente, el agente antiinflamatorio puede ser un agente antiinflamatorio no esteroideo (AINE). Los ejemplos no limitantes de AINE adecuados incluyen ácido acetilsalicílico (aspirina), celecoxib, salicilato de colina y magnesio, inhibidores de Cox-2, diclofenaco, diflunisil, etodolaco, fenoprofeno, flufenisal, flurbiprofeno, ibuprofeno,

indometacina, ketoprofeno, ketorolaco, meclofenamato, mefenamato, nabumetona, naproxeno, oxaprozina, fenilbutazona, piroxicam, salsalato, sulindaco, tolmetina, valdecoxib y zomepirac.

En otra realización más, la formulación combinada puede comprender un (+)-morfinano o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un agente antibiótico. Los ejemplos no limitantes de agentes antibióticos adecuados incluyen aminoglucósidos tales como, p. ej., amikacina, gentamicina, kanamicina, neomicina, netilmicina, estreptomicina y tobramicina; un carbacefemo tal como loracarbef; carbapenemos tales como, p. ej., certapenemo, imipenemo y meropenemo; cefalosporinas, tales como, p. ej., cefadroxilo, cefazolina, cefalexina, cefaclor, cefamandol, cefalexina, cefprozilo, cefuroxima, cefixima, cefdinir, cefditoreno, cefoperazona, cefotaxima, cefpodoxima, ceftazidima, ceftibuteno, ceftizoxima, y ceftriaxona; macrólidos tales como, p. ej., azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina y troleandomicina; monobactamas; penicilinas tales como, p. ej., amoxicilina, ampicitina, carbenicilina, cioxacilina, dicloxacilina, nafcilina, oxacilina, penicilina G, penicilina V, piperacilina y ticarcilina; polipéptidos tales como, p. ej., bacitracina, colistina y polimixina B; quinolonas tales como, p. ej., ciprofloxacina, enoxacina, gatifloxacina, levofloxacina, lomefloxacina, moxifloxacina, norfloxacina, ofloxacina y trovafloxacina; sulfonamidas tales como, p. ej., mafenida, sulfacetamida, sulfametizol, sulfasalazina, sulfisoxazol y trimetoprim-sulfametoxazol; tetraciclinas tales como, p. ej., demeclociclina, doxiciclina, minociclina y oxitetraciclina; y un agente antimicrobiano tal como, por ejemplo, ketoconazol, amoxicilina, cefalexina, miconazol, econazol, aciclovir y nelfinavir.

En otra realización alternativa, la formulación combinada puede comprender un (+)-morfinano o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un agente utilizado para tratar la toxicidad del acetamidofeno. Los agentes adecuados incluyen acetilcisteína (también denominada N-acetilcisteína), glutatión y carbón activado.

En otra realización más, la formulación combinada puede comprender un (+)-morfinano o una de sus sales farmacéuticamente aceptables y un agente terapéutico autoinmunitario. Los ejemplos no limitantes de agentes terapéuticos autoinmunitarios adecuados incluyen inmunosupresores tales como azatioprina, clorambucilo, ciclofosfamida, ciclosporina, micofenolato o metotrexato; corticosteroides tales como prednisona; el agente de tratamiento de la psoriasis alefacept; bloqueadores del TNF tales como etanercept, infliximab o adalimumab; bloqueadores de glóbulos blancos, tales como abatacept o ritaximab; el fármaco contra la lepra clofazimina; y agentes quimioterapéuticos tales como vorinostat.

En una realización adicional, la formulación combinada puede comprender un (+)-morfinano o una de sus sales farmacéuticamente aceptables y un agente terapéutico para el trastorno neurodegenerativo. Normalmente, el agente terapéutico del trastorno neurodegenerativo se adapta al trastorno neurodegenerativo específico que se vaya a tratar. Los agentes terapéuticos adecuados para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson incluyen, levodopa (es decir, L-DOPA); un inhibidor de la descarboxilasa tal como carbidopa; un agonista de dopamina de acción directa tal como bromocriptina, perogolida, ropinirol o pramipexol; un inhibidor de la captación de dopamina, tal como la amantadina; un anticolinérgico tal como trihexifenidilo o mesilato de bengtropina; un inhibidor de monoaminooxidasa B tal como L-deprenilo; un inhibidor de catecol-O-metiltransferasa, tal como tolcapona; esferamina; y combinaciones de los mismos. Los ejemplos no limitantes de agentes terapéuticos adecuados para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer incluyen inhibidores de colinesterasa tales como donepezilo, rivastigmina, galantamina y similares; antagonistas del receptor de NMDA tales como memantina; y agentes específicos para el Alzheimer, tales como tramiprosato, tarenflubilo, fenserina y similares. Los agentes terapéuticos dirigidos utilizados para tratar la enfermedad de Huntington incluyen tetrabenazina, xenazina, etc. Los ejemplos no limitantes de agentes terapéuticos dirigidos al tratamiento de la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) incluyen riluzol, rinfabato de mecasermina y similares.

En una realización alternativa, la formulación combinada puede comprender un (+)-morfinano o una de sus sales farmacéuticamente aceptables y un agente quimioterapéutico. El agente quimioterapéutico puede ser un agente citotóxico que afecta a las células que se dividen rápidamente en general, o puede ser un agente terapéutico dirigido que afecta a las proteínas desreguladas de las células cancerosas. Por ejemplo, el agente quimioterapéutico puede ser un agente alquilante, un antimetabolito, un antibiótico antitumoral, un agente anti-citoesqueleto, un inhibidor de topoisomerasa, un agente anti-hormonal, un agente terapéutico dirigido, o una combinación de los mismos. Los ejemplos no limitantes de agentes alquilantes incluyen altretamina, benzodopa, busulfán, carboplatino, carboquona, carmustina, clorambucilo, clornafacina, colofosfamida, clorozotocina, cisplatino, ciclofosfamida, dacarbazina (DTIC), estramustina, fotemustina, ifosfamida, improsulfán, lomustina, mecloretamina, hidrocloreto de óxido de mecloretamina, melfalán, meturedopa, nimustina, novembicina, fenesterina, piro-sulfán, prednimustina, ranimustina; temozolomida, tiotepa, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilentiofosforamida, trimetilolomelamina, trofosfamida, mostaza de uracilo y uredopa. Los antimetabolitos adecuados incluyen, pero no se limitan a, aminopterina, ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, capecitabina, carmofur, citarabina o arabinósido de citosina (Ara-C), didesoxiuridina, denopterina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina, fludarabina, 5-fluorouracilo (5-FU), gemcitabina, leucovorina (ácido folínico), 6-mercaptopurina, metotrexato, pemetrexed, pteropterina, tiamiprina, trimetrexato y tioguanina. Entre los ejemplos no limitantes de antibióticos antitumorales adecuados se incluyen aclacinomicina, actinomicina, adriamicina, autramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina, caliqueamicina, carabicina, caminomina, carcinofilina, cromomicinas, dactinomicina, daunorrubicina, detorrubicina, 6-diazo-5-oxo-L-

norleucina, doxorubicina, epirubicina, esorubicina, idarrubicina, marcelomicina, mitomicinas, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, porfiromicina, puromicina, quelamicina, rodorrubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina y zorrubicina. Los ejemplos no limitantes de agentes anticitoesqueléticos adecuados incluyen colchicinas, docetaxel, macromicina, paclitaxel (taxol), vinblastina, vincristina, vindesina y vinorelbina. Los inhibidores de topoisomerasa adecuados incluyen, pero no se limitan a, amsacrina, etopósido (VP-16), irinotecán, RFS 2000, tenipósido y topotecán. Los ejemplos no limitantes de agentes antihormonales adecuados, tales como aminoglutetimida, 4(5)-imidazoles que inhiben aromatasa, bicalutamida, finasterida, flutamida, goserelina, 4-hidroxitamoxifenina, queoxifeno, leuprolida, LY117018, mitotano, nilutamida, onapristona, raloxifeno, tamoxifeno, toremifeno, y trilostano. Los ejemplos no limitantes de agentes terapéuticos dirigidos incluyen un anticuerpo monoclonal tal como alemtuzumab, bevacizumab, capecitabina, cetuximab, gentuzumab, heregulina, rituximab, trastuzumab; un inhibidor de tirosina quinasa, tal como mesilato de imatinib; y un polipéptido inhibidor del crecimiento tal como eritropoyetina, interleucinas (por ejemplo, IL-1, IL-2, IL-3, IL-6), factor inhibidor de la leucemia, interferones, trombopoyetina, TNF- α , ligando CD30, ligando 4-1 BB, y ligando Apo-1.

Los expertos en la técnica aprecian que las sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los agentes enumerados anteriormente se pueden incluir en las formulaciones combinadas.

(c) formas de dosificación

Las formulaciones detalladas anteriormente en la sección (II)(b) se pueden administrar por varios medios diferentes que suministrarán una dosis terapéuticamente eficaz. Por ejemplo, las formulaciones se pueden administrar por vía oral, parenteral, mediante pulverización para inhalación, por vía rectal, intradérmica, intratecal, transdérmica o tópica en formulaciones de unidades de dosificación que contienen portadores, coadyuvantes y vehículos farmacéuticamente aceptables no tóxicos convencionales, según se desee. La administración tópica también puede implicar el uso de administración transdérmica, tal como parches transdérmicos o dispositivos de iontoforesis. La formulación de agentes terapéuticos la comentan, por ejemplo, en Gennaro, A. R., en Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pa. (18ª ed., 1995), y Liberman, H. A. y Lachman, L, Eds., Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Dekker Inc, New York, N.Y. (1980).

Las preparaciones para administración oral generalmente contienen excipientes farmacéuticamente aceptables inertes además del ingrediente farmacéutico activo. Las preparaciones orales pueden incluirse en cápsulas de gelatina o comprimirse en tabletas. Los excipientes comunes utilizados en tales preparaciones incluyen cargas/diluyentes farmacéuticamente compatibles, tales como celulosa microcristalina, hidroxipropil metilcelulosa, almidón, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol, sorbitol, fosfato de calcio dibásico o carbonato de calcio; agentes aglutinantes tales como ácido algínico, carboximetilcelulosa, celulosa microcristalina, gelatina, goma de tragacanto o polivinilpirrolidona; agentes disgregantes tales como ácido algínico, celulosa, almidón o polivinilpirrolidona; lubricantes tales como estearato de calcio, estearato de magnesio, talco, sílice o estearil fumarato de sodio; deslizantes tales como dióxido de silicio coloidal; agentes edulcorantes tales como sacarosa o sacarina; agentes aromatizantes tales como menta, salicilato de metilo o saborizante de cítricos; agentes colorantes; y conservantes tales como antioxidantes (por ejemplo, vitamina A, vitamina C, vitamina E o palmitato de retinilo), ácido cítrico o citrato de sodio. Las preparaciones orales también se pueden administrar en forma de suspensiones acuosas, elixires o jarabes. Para estos, el ingrediente activo se puede combinar con diversos agentes edulcorantes o saborizantes, agentes colorantes y, si se desea, agentes emulsionantes y/o suspensores, así como diluyentes tales como agua, etanol, glicerina y combinaciones de los mismos.

Para la administración parenteral (incluyendo subcutánea, intradérmica, intravenosa, intramuscular e intraperitoneal), la preparación puede ser una solución acuosa o una con una base oleosa. Las soluciones acuosas pueden incluir un diluyente estéril, tal como agua, solución salina, un poliol farmacéuticamente aceptable, tal como glicerol, propilenglicol u otros disolventes sintéticos; un agente antibacteriano y/o antifúngico tal como alcohol bencílico, metilparabeno, clorobutanol, fenol, timerosal y similares; un antioxidante tal como ácido ascórbico o bisulfito de sodio; un agente quelante tal como ácido etilendiaminotetraacético; un tampón tal como acetato, citrato o fosfato; y/o un agente para el ajuste de la tonicidad tal como cloruro de sodio, dextrosa o un polialcohol tal como manitol o sorbitol. El pH de la solución acuosa se puede ajustar con ácidos o bases tales como ácido clorhídrico o hidróxido de sodio. Las soluciones o suspensiones con una base oleosa pueden comprender adicionalmente sésamo, cacahuete, aceite de oliva o aceite mineral.

Para la administración tópica (p. ej., transdérmica o transmucosa), generalmente se incluyen en la preparación penetrantes apropiados para la barrera que se deba penetrar. La administración transmucosa se puede lograr mediante el uso de pulverizaciones nasales, pulverizaciones en aerosol, comprimidos o supositorios, y la administración transdérmica se puede realizar a través de pomadas, ungüentos, geles, parches o cremas como se conoce generalmente en la técnica.

La cantidad de agente que se administra al sujeto puede variar y variará dependiendo del tipo de agente, el sujeto, la afección que se esté tratando y el modo particular de administración. Los expertos en la técnica apreciarán que las

dosis también se pueden determinar con la orientación de Goodman & Goldman, *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, Décima edición (2001), Apéndice II, páginas 475-493, y *The Physicians' Desk Reference*.

(d) Usos ilustrativos de los compuestos.

En realizaciones ilustrativas, la afección que se vaya a tratar puede ser una afección dolorosa. La afección dolorosa puede ser dolor agudo, dolor traumático, dolor crónico, dolor neuropático o combinaciones de los mismos. En general, se diagnostica al sujeto que se vaya a tratar una afección dolorosa y es necesario un tratamiento para la afección dolorosa. En una iteración de esta realización, el método comprende administrar al sujeto que lo necesite una formulación que comprende al menos un (+)-morfinano como se detalla anteriormente en la sección (II)(b)(i). En otra iteración de esta realización, el método comprende administrar al sujeto que lo necesite una formulación que comprende un (+)-morfinano y un compuesto que comprende la Fórmula (IV).

Definiciones

Los compuestos descritos en la presente invención tienen centros asimétricos. Los compuestos de la presente invención que contienen un átomo asimétricamente sustituido se pueden aislar en forma ópticamente activa o racémica. Se desean todas las formas quirales, diastereoméricas, racémicas y todas las formas isoméricas geométricas de una estructura, a menos que se indiquen específicamente la estereoquímica o la forma isomérica específicas.

El término "acilo", como se emplea en la presente memoria solo o como parte de otro grupo, denota el radical formado por la eliminación del grupo hidroxilo del grupo COOH de un ácido carboxílico orgánico, por ejemplo, RC(O)-, en donde R es R¹, R¹O-, R¹R²N-, o R¹S-, R¹ es hidrocarbilo, hidrocarbilo heterosustituido o heterociclo y R² es hidrógeno, hidrocarbilo o hidrocarbilo sustituido.

El término "aciloxi", como se emplea en la presente memoria solo o como parte de otro grupo, denota un grupo acilo como se ha descrito anteriormente unido a través de un enlace de oxígeno (O), p. ej., RC(O)O- en donde R se ha definido en relación con el término "acilo".

El término "alquilo", como se emplea en la presente memoria, describe grupos que son preferiblemente alquilo inferior que contiene de uno a ocho átomos de carbono en la cadena principal y hasta 20 átomos de carbono. Pueden ser de cadena lineal o ramificada o cíclica e incluyen metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, hexilo y similares. A "alquilo C2-C6" se refiere a un grupo alquilo que contiene de dos a seis átomos de carbono en la cadena principal.

El término "alqueno", como se emplea en la presente memoria, describe grupos que son preferiblemente alqueno inferior que contiene de dos a ocho átomos de carbono en la cadena principal y hasta 20 átomos de carbono. Pueden ser de cadena lineal o ramificada o cíclica e incluyen etenilo, propenilo, isopropenilo, butenilo, isobutenilo, hexenilo y similares. Un grupo metileno no es un grupo alqueno.

Como se emplea en la presente memoria, el término "alcoxi" se refiere a un grupo alquilo singular unido a oxígeno, es decir, R-O. Los grupos alquilo incluyen metoxi, etoxi, propoxi, butoxi, etc. El término "alcoxi C2-C6" describe grupos alcoxi que tienen de dos a seis carbonos en la cadena principal (es decir, etoxi, propoxi, butoxi y similares).

El término "alquino", como se emplea en la presente memoria, describe grupos que son preferiblemente alquino inferior que contienen de dos a ocho átomos de carbono en la cadena principal y hasta 20 átomos de carbono. Pueden ser de cadena lineal o ramificada e incluyen etinilo, propinilo, butinilo, isobutinilo, hexinilo y similares.

El término "aromático" como se emplea en la presente memoria solo o como parte de otro grupo denota un anillo planar o sistema anular conjugado homo- o heterocíclico opcionalmente sustituido que comprende electrones deslocalizados. Estos grupos aromáticos son preferiblemente grupos monocíclicos (p. ej., furano o benceno), bicíclicos o tricíclicos que contienen de 5 a 14 átomos en la porción anular. El término "aromático" abarca los grupos "arilo" definidos a continuación.

Los términos "arilo" o "Ar" como se emplean en la presente memoria solos o como parte de otro grupo denotan grupos aromáticos homocíclicos opcionalmente sustituidos, preferiblemente grupos monocíclicos o bicíclicos que contienen de 6 a 10 carbonos en la porción anular, tales como fenilo, bifenilo, naftilo, fenilo sustituido, bifenilo sustituido o naftilo sustituido.

Los términos "carbociclo" o "carbocíclico", como se emplean en la presente memoria solos o como parte de otro grupo, indican un anillo o sistema anular homocíclico, aromático o no aromático, opcionalmente sustituido, en el que todos los átomos del anillo son carbono, con preferiblemente 5 o 6 átomos de carbono en cada anillo. Los sustituyentes ilustrativos incluyen uno o más de los siguientes grupos: hidrocarbilo, hidrocarbilo sustituido, alquilo,

alcoxi, acilo, aciloxi, alqueno, alqueno, arilo, ariloxi, amino, amida, acetilo, carbamilo, carbociclo, ciano, éster, halógeno, heterociclo, hidroxilo, ceto, cetil, fosfo, nitró y tio.

Los términos "halógeno" o "halo", como se emplean en la presente memoria solos o como parte de otro grupo, se refieren a cloro, bromo, flúor y yodo.

El término "heteroátomo" se refiere a átomos distintos de carbono e hidrógeno.

El término "heteroaromático" como se emplea en la presente memoria solo o como parte de otro grupo denota grupos aromáticos opcionalmente sustituidos que tienen al menos un heteroátomo en al menos un anillo, y preferiblemente 5 o 6 átomos en cada anillo. El grupo heteroaromático tiene preferiblemente 1 o 2 átomos de oxígeno y/o 1 a 4 átomos de nitrógeno en el anillo, y está unido al resto de la molécula a través de un carbono. Los grupos ilustrativos incluyen: furilo, benzofurilo, oxazolilo, isoxazolilo, oxadiazolilo, benzoxazolilo, benzoxadiazolilo, pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, triazolilo, tetrazolilo, piridilo, pirimidilo, pirazinilo, piridazinilo, indolilo, isoindolilo, indolizino, benzimidazolilo, indazolilo, benzotriazolilo, tetrazolopiridazinilo, carbazolilo, purinilo, quinolinilo, isoquinolinilo, imidazopiridilo y similares. Los sustituyentes ilustrativos incluyen uno o más de los siguientes grupos: hidrocarbilo, hidrocarbilo sustituido, alquilo, alcoxi, acilo, aciloxi, alqueno, alqueno, arilo, ariloxi, amino, amida, acetal, carbamilo, carbociclo, ciano, éster, éter, halógeno, heterociclo, hidroxilo, ceto, cetil, fosfo, nitró y tio.

Los términos "heterociclo" o "heterocíclico" como se emplean en la presente memoria solos o como parte de otro grupo denotan grupos opcionalmente sustituidos, totalmente saturados o insaturados, monocíclicos o bicíclicos, aromáticos o no aromáticos que tienen al menos un heteroátomo en al menos un anillo, y preferiblemente 5 o 6 átomos en cada anillo. El grupo heterociclo tiene preferiblemente 1 o 2 átomos de oxígeno y/o 1 a 4 átomos de nitrógeno en el anillo, y está unido al resto de la molécula a través de un carbono o heteroátomo. Los grupos heterociclo ilustrativos incluyen grupos heteroaromáticos como se ha descrito anteriormente. Los sustituyentes ilustrativos incluyen uno o más de los siguientes grupos: hidrocarbilo, hidrocarbilo sustituido, alquilo, alcoxi, acilo, aciloxi, alqueno, alqueno, arilo, ariloxi, amino, amida, acetal, carbamilo, carbociclo, ciano, éster, éter, halógeno, heterociclo, hidroxilo, ceto, cetil, fosfo, nitró y tio.

Los términos "hidrocarburo" e "hidrocarbilo", como se emplean en la presente memoria, describen compuestos orgánicos o radicales que consisten exclusivamente en los elementos carbono e hidrógeno. Estos radicales incluyen radicales alquilo, alqueno, alquino y arilo. Estos radicales también incluyen radicales alquilo, alqueno, alquino y arilo sustituidos con otros grupos hidrocarbonados alifáticos o cíclicos, tales como alcarilo, alqueno y alquino. A menos que se indique lo contrario, estos radicales comprenden preferiblemente de 1 a 20 átomos de carbono.

El término "grupo protector" como se emplea en la presente memoria denota un grupo capaz de proteger un átomo de oxígeno (y por lo tanto, formar un hidroxilo protegido), en donde el grupo protector se puede eliminar, subsiguientemente a la reacción para la cual se emplea la protección, sin alterar el resto de la molécula. Los grupos protectores ilustrativos incluyen éteres (p. ej., alilo, trifenilmetilo (trilito o Tr), p-metoxibencilo (PMB), p-metoxifenilo (PMP)), acetales (p. ej., metoximetilo (MOM), 3-metoxietoximetilo (MEM), tetrahidropirano (THP), etoxi etilo (EE), metiltiommetilo (MTM), 2-metoxi-2-propilo (MOP), 2-trimetilsililetioximetilo (ETM)), ésteres (p. ej., benzoato (Bz), carbonato de alilo, carbonato de 2,2,2-tricloroetilo (Troc), carbonato de 2-metilsililetilo, éteres de sililo (p. ej., trimetilsililo (TMS), trietilsililo (TES), triisopropilsililo (TIPS), trifenilsililo (TPS), t-butildimetilsililo (TBDMS), t-butildifenilsililo (TBDPS) y similares. Una variedad de grupos protectores y la síntesis de los mismos se pueden encontrar en "Grupos protectores en síntesis orgánica" "Protective Groups in Organic Synthesis" de T.W. Greene and P.G.M. Wuts, John Wiley & Sons, 1999.

Los radicales "hidrocarbilo sustituido" descritos en la presente invención son radicales hidrocarbilo que están sustituidos con al menos un átomo distinto del carbono, incluidos los radicales en los que un átomo de la cadena carbonada es sustituido por un heteroátomo tal como nitrógeno, oxígeno, silicio, fósforo, boro o átomo de halógeno, y radicales en los que la cadena carbonada comprende sustituyentes adicionales. Estos sustituyentes incluyen alquilo, alcoxi, acilo, aciloxi, alqueno, alqueno, arilo, ariloxi, amino, amida, acetal, carbamilo, carbociclo, ciano, éster, éter, halógeno, heterociclo, hidroxilo, ceto, cetil, fósforo, nitró y tio.

El término "tratar", como se emplea en la presente memoria, se refiere a inhibir o aliviar los síntomas de la enfermedad o trastorno; revertir, inhibir o ralentizar la progresión de la enfermedad o trastorno; y/o prevenir o retrasar la aparición de la enfermedad o trastorno. El término "tratamiento", como se emplea en la presente memoria, a menos que se indique lo contrario, se refiere al acto de tratar como "tratar" se define inmediatamente antes.

Cuando se introducen elementos de la presente invención o sus realizaciones preferidas, se pretende que los artículos "un", "uno", "una", "el", "la" y "dicho" signifiquen que hay uno o más de los elementos. Se pretende que los términos "que comprende", "que incluye" y "que tiene" sean inclusivos y signifiquen que puede haber elementos adicionales distintos a los elementos enumerados.

Habiendo descrito la invención en detalle, será evidente que son posibles modificaciones y variaciones sin apartarse del alcance de la invención definida en las reivindicaciones adjuntas.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos ilustran diversas realizaciones de la invención.

(Referencia) Ejemplo 1: Escrutinio de receptores tipo Toll

La estimulación de los TLR 2, 3, 4, 5, 7, 8 y 9 se determinó evaluando la activación del factor de transcripción NF-κB en células HEK293 que se modificaron genéticamente para expresar los receptores correspondientes. La evaluación de la estimulación de los TLR se basó en el uso de un sistema informador de fosfatasa alcalina secretada inducible por NF-κB (SEAP) en el que el informador de SEAP estaba bajo el control de un promotor inducible por NF-κB. Por lo tanto, el grado de activación de los TLR puede cuantificarse indirectamente espectrofotométricamente midiendo la cantidad de informador SEAP que se produce.

Procedimiento general. Las células apropiadas que expresan TLR se sembraron en medio de crecimiento en una placa de 96 pocillos (25.000-50.000 células/pocillo). Las células se estimularon con el ligando de control positivo apropiado o no se añadió ligando (control negativo). Los ligandos de control positivo fueron: HKLM se utilizó para estimular TLR2; poli(I:C) se utilizó para estimular TLR3; LPS se utilizó para estimular TLR4; flagellina se utilizó para estimular TLR5; CL097 se utilizó para estimular TLR7; CL075 se utilizó para estimular TLR8; oligodesoxinucleótido CpG (ODN) 2006 se utilizó para estimular TLR9. Para someter a ensayo si los (+)-morfinanos podrían bloquear esa activación de TLR, las células se pretrataron con un antagonista durante 30 minutos antes de la adición del ligando de control positivo. Para esto, se añadieron 20 µL de la solución del compuesto de ensayo original (100 µM en H₂O) para proporcionar un volumen total de 200 µL. Los antagonistas sometidos a ensayo fueron (+)-naloxona, (+)-naltrexona, sinomenina y dihidrosinomenina; la concentración final de cada uno fue de 10 µM. Después de un período de incubación de 16-20 horas a 37°C en una incubadora con CO₂, se añadieron 20 µL del sobrenadante de cultivo celular a 80 µL de Medio GUANTI-Blue™ (InvivoGen, San Diego, CA), y las soluciones resultantes se incubaron a 37°C durante 1 -3 horas adicionales de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las DO de las muestras se leyeron a 650 nm en un Detector de Absorbancia Beckman Coulter AD 340C.

Resultados. Los resultados de los experimentos de selección de antagonistas se presentan en la Tabla 1 y la FIG. 1. Cada antagonista inhibió la actividad de los TLR. La mayor inhibición, sin embargo, se observó con TLR9 (véase la Figura 1G). Estos datos indican que TLR9 es la diana principal de los (+)-morfinanos.

TABLA 1. Escrutinio de Antagonista							
	Promedio% de inhibición en los receptores tipo Toll						
Compuesto	TLR2	TLR3	TLR4	TLR5	TLR7	TLR8	TLR9
(+)-Naloxona	24	27	25	17	18	24	45
(+)-Naltrexona	21	22	24	22	16	19	51
Sinomenina	30	28	24	19	20	20	55
Dihidrosinomenina	27	40	23	16	11	21	42

Ejemplo 2: Escrutinio con TLR9 de una biblioteca de (+)-morfinano

El indicador de fosfatasa alcalina secretada está bajo el control de un promotor inducible por el factor de transcripción NF-κB. Se examinó una biblioteca de más de 100 compuestos de (+)-morfinano para determinar la actividad antagónica de TLR9 mediante la evaluación de la activación de NF-κB en las células HEK293 que expresan TLR9. Este gen informador permite el seguimiento de la señalización a través del TLR, basándose en la activación de NF-κB.

En una placa de 96 pocillos (200 µL de volumen total) que contenía 50.000 células/pocillo, se añadieron 20 µL de cada compuesto de muestra a los pocillos, por triplicado, seguido de una incubación de 30 minutos a 37°C y 5% de CO₂. Después de los 30 minutos de incubación, se añadieron 20 µL del activador DON2006 a cada pocillo. El medio añadido a los pocillos se diseñó para la detección de la expresión de SEAP inducida por NF-κB. Después de un período de incubación de 16-20 horas, se leyó la DO a 650 nm en un detector de absorbancia Beckman Coulter AD 340C. Los resultados de los experimentos se muestran en la Tabla 2. Todos los compuestos se sometieron a ensayo a concentraciones de 10 µM y 100 nM.

TABLA 2. Inhibición de TLR9

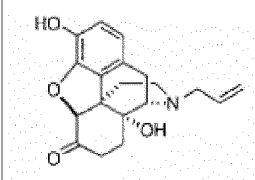
ID compuesto	Estructura química	DO 650 nm (media $\pm$ dt)	% De inhibición * (media)	DO 650 nm (media $\pm$ dt)	% De inhibición * (media)
		10 μ M		100 nM	
II-64		0,98 $\pm$ 0,01	31	1,31. $\pm$ 0,14	8

TABLA 2. Inhibición de TLR9

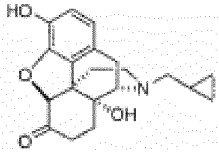
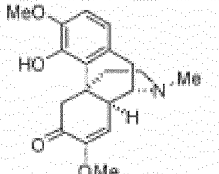
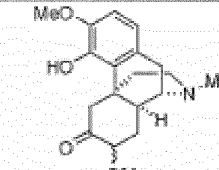
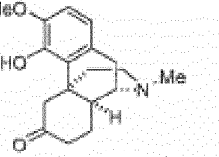
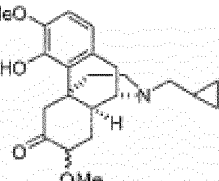
ID Compuesto	Estructura Química	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media
		10 µM		100 nM	
II-73		0.96 ± 0.08	32	1.35 ± 0.13	5
I-30		0.94 ± 0.05	33	1.25 ± 0.11	12
I-9		1.03 ± 0.01	28	1.50 ± 0.10	-6
I-25		0.52 ± 0.07	63	1.08 ± 0.05	24
I-18		1.01 ± 0.06	29	1.40 ± 0.14	1

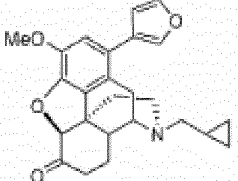
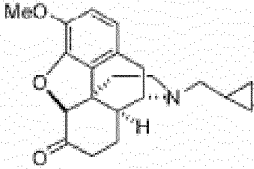
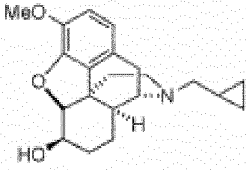
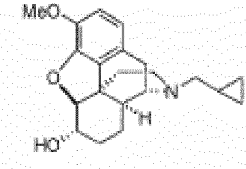
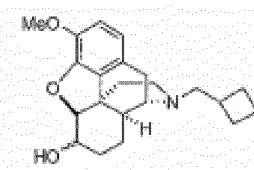
TABLA 2. Inhibición de TLR9					
ID Compuesto	Estructura Química	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media
		10 μ M		100 nM	
II-26		0.12 ± 0.00	92	1.08 ± 0.06	24
II-24		0.09 ± 0.01	94	0.65 ± 0.04	54
II-25		0.21 ± 0.06	85	1.33 ± 0.07	6
II-17		0.39 ± 0.01	72	1.13 ± 0.10	21
II-28		0.87 ± 0.03	39	1.32 ± 0.08	7

TABLA 2. Inhibición de TLR9

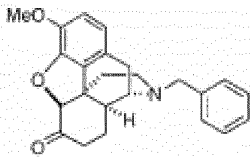
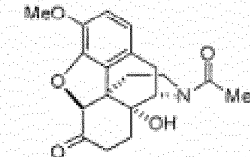
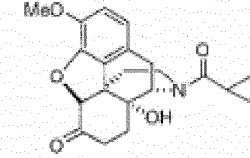
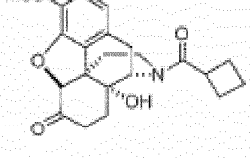
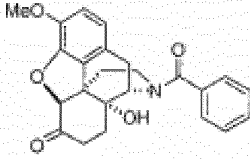
ID Compuesto	Estructura Química	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media
		10 µM		100 nM	
II-29		0.33 ± 0.03	77	1.36 ± 0.17	4
II-31		1.37 ± 0.11	3	1.40 ± 0.04	2
II-57		1.15 ± 0.03	19	0.84 ± 0.02	41
II-59		1.41 ± 0.13	1	1.19 ± 0.07	17
II-60		0.17 ± 0.03	88	1.24 ± 0.04	13

TABLA 2. Inhibición de TLR9

ID Compuesto	Estructura Química	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media
		10 µM		100 nM	
II-83		1.11 ± 0.09	22	1.40 ± 0.13	1
II-84		1.51 ± 0.08	-6	1.44 ± 0.06	-1
II-85		1.45 ± 0.04	-2	1.45 ± 0.04	-2
II-30		1.13 ± 0.06	20	1.34 ± 0.11	5
II-33		1.37 ± 0.03	3	1.35 ± 0.15	5

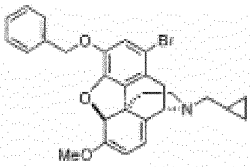
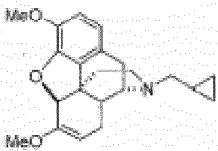
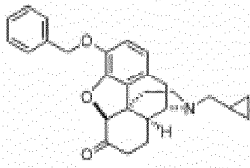
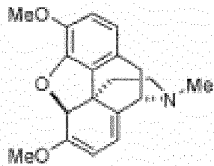
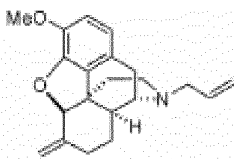
TABLA 2. Inhibición de TLR9					
ID Compuesto	Estructura Química	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media
		10 µM		100 nM	
II-86		0.13 ± 0.03	91	1.15 ± 0.11	19
II-87		0.45 ± 0.01	69	1.28 ± 0.06	10
II-88		0.13 ± 0.01	91	1.12 ± 0.15	21
II-34		0.94 ± 0.08	34	1.39 ± 0.05	2
II-22		0.75 ± 0.06	47	1.31 ± 0.19	8

TABLA 2. Inhibición de TLR9

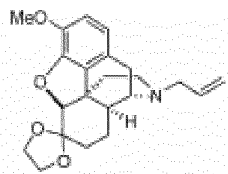
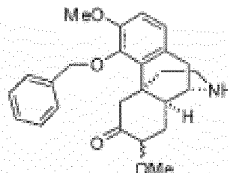
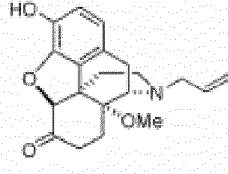
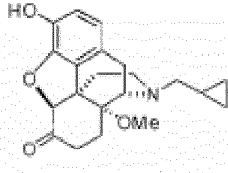
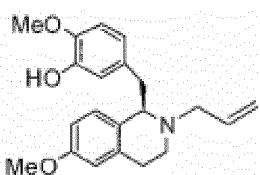
ID Compuesto	Estructura Química	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media
		10 μ M		100 nM	
II-89		1.08 $\pm$ 0.02	24	1.53 $\pm$ 0.10	-8
I-26		0.19 $\pm$ 0.02	87	1.15 $\pm$ 0.03	19
II-70		0.79 $\pm$ 0.03	45	1.12 $\pm$ 0.04	21
II-79		1.06 $\pm$ 0.11	25	1.07 $\pm$ 0.03	25
III-2		0.42 $\pm$ 0.04	71	1.13 $\pm$ 0.02	21

TABLA 2. Inhibición de TLR9

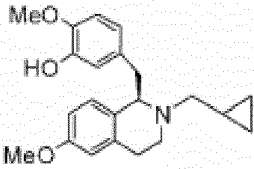
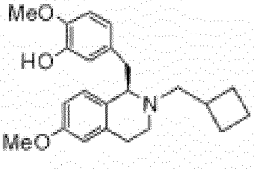
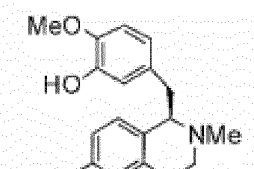
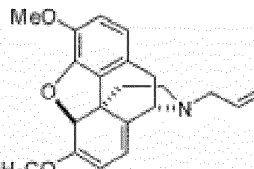
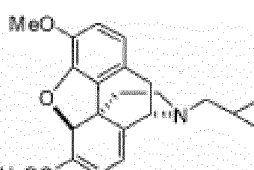
ID Compuesto	Estructura Química	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media
		10 µM		100 nM	
III-3		0.13 ± 0.01	91	1.03 ± 0.03	27
III-4		0.11 ± 0.01	92	1.04 ± 0.04	27
III-5		0.29 ± 0.01	80	1.11 ± 0.02	22
II-35		0.34 ± 0.03	76	1.04 ± 0.08	27
II-36		0.14 ± 0.01	90	1.14 ± 0.02	20

TABLA 2. Inhibición de TLR9

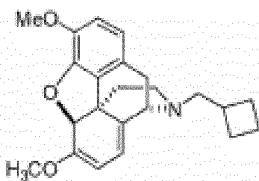
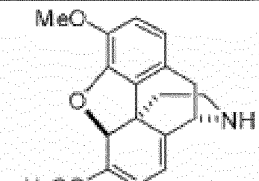
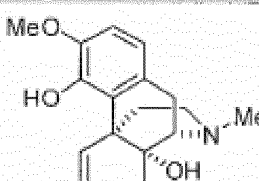
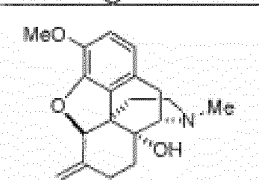
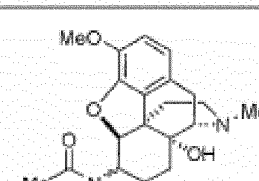
ID Compuesto	Estructura Química	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media
		10 µM		100 nM	
II-37		0.18 ± 0.06	87	1.13 ± 0.07	20
II-38		0.12 ± 0.01	92	0.86 ± 0.01	40
I-22		0.10 ± 0.01	93	0.93 ± 0.15	34
II-41		1.02 ± 0.09	28	1.27 ± 0.03	11
II-42		0.14 ± 0.02	90	1.00 ± 0.03	29

TABLA 2. Inhibición de TLR9

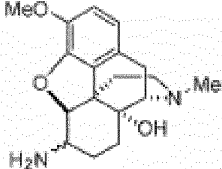
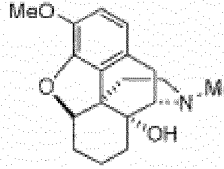
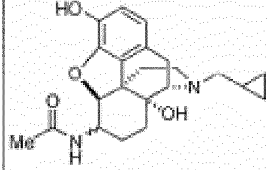
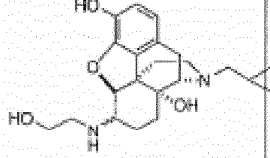
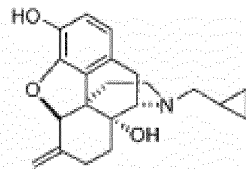
ID Compuesto	Estructura Química	DO 650 nm (media $\pm$ dt)	% Inhibición * media	DO 650 nm (media $\pm$ dt)	% Inhibición * media
		10 μ M		100 nM	
II-43		0.09 $\pm$ 0.00	94	0.10 $\pm$ 0.01	93
II-44		1.03 $\pm$ 0.12	27	1.18 $\pm$ 0.02	17
II-75		0.91 $\pm$ 0.11	36	1.08 $\pm$ 0.02	24
II-76		0.10 $\pm$ 0.01	93	0.16 $\pm$ 0.01	89
II-77		0.98 $\pm$ 0.02	37	1.24 $\pm$ 0.04	13

TABLA 2. Inhibición de TLR9

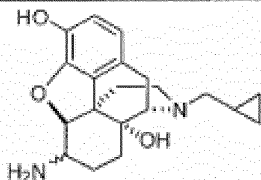
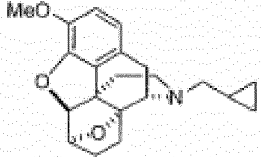
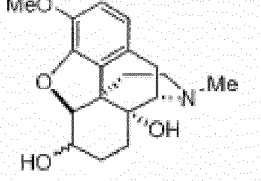
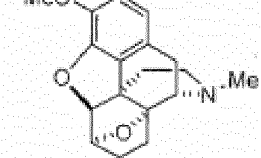
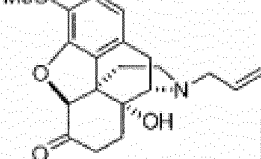
ID Compuesto	Estructura Química	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media
		10 µM		100 nM	
II-71		0.10 ± 0.00	93	0.19 ± 0.01	87
II-72		0.49 ± 0.01	65	1.10 ± 0.02	22
II-40		1.37 ± 0.07	4	1.41 ± 0.13	0
II-46		1.30 ± 0.02	8	1.24 ± 0.02	13
II-47		0.78 ± 0.07	45	1.18 ± 0.13	17

TABLA 2. Inhibición de TLR9

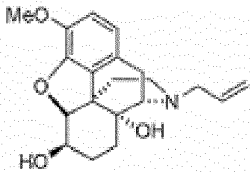
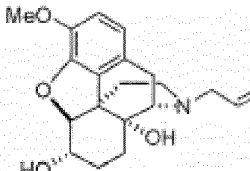
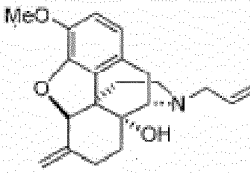
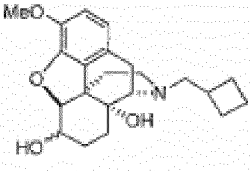
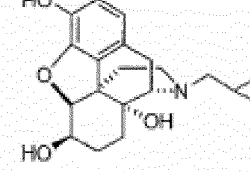
ID Compuesto	Estructura Química	DO 650 nm (media $\pm$ dt)	% Inhibición * media	DO 650 nm (media $\pm$ dt)	% Inhibición * media
		10 μ M		100 nM	
II-48		1.23 $\pm$ 0.02	13	1.43 $\pm$ 0.05	0
II-48		1.06 $\pm$ 0.02	25	1.21 $\pm$ 0.02	15
II-51		0.84 $\pm$ 0.05	41	1.20 $\pm$ 0.04	16
II-55		1.17 $\pm$ 0.08	18	1.46 $\pm$ 0.08	-3
II-74		0.12 $\pm$ 0.00	92	0.61 $\pm$ 0.03	57

TABLA 2. Inhibición de TLR9

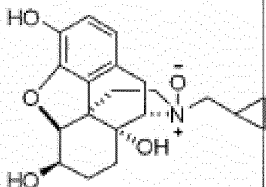
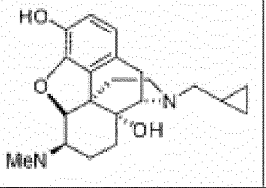
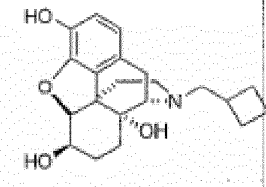
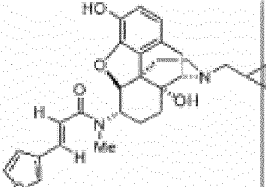
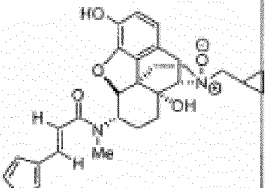
ID Compuesto	Estructura Química	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media
		10 μ M		100 nM	
II-90		0.17 ± 0.05	88	1.39 ± 0.03	2
II-78		0.11 ± 0.01	92	0.14 ± 0.02	90
II-82		0.49 ± 0.03	65	1.37 ± 0.02	4
II-62		0.18 ± 0.01	87	1.34 ± 0.05	6
II-63		0.13 ± 0.01	91	0.23 ± 0.07	84

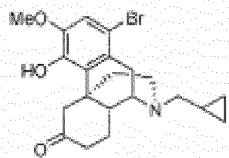
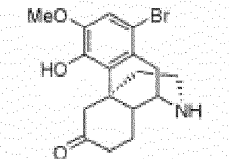
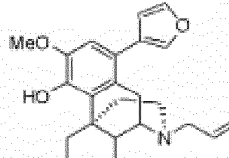
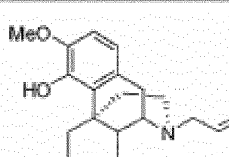
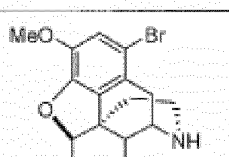
TABLA 2. Inhibición de TLR9					
ID Compuesto	Estructura Química	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media
		10 µM		100 nM	
I-2		0.14 ± 0.02	90	1.10 ± 0.06	22
I-1		0.21 ± 0.01	85	1.18 ± 0.10	17
I-3		0.11 ± 0.00	92	1.12 ± 0.01	21
I-7		0.16 ± 0.01	89	1.14 ± 0.03	20
II-1		0.19 ± 0.02	86	0.97 ± 0.04	32

TABLA 2. Inhibición de TLR9

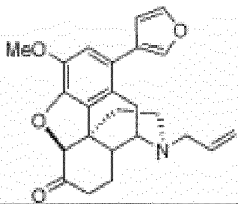
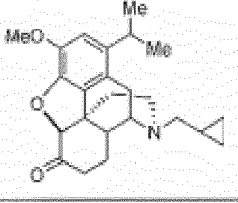
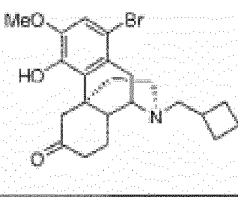
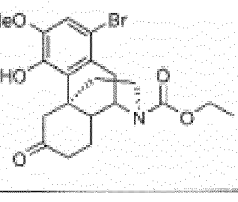
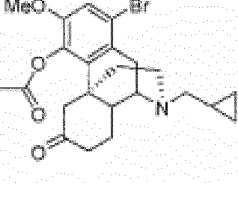
ID Compuesto	Estructura Química	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media
		10 µM		100 nM	
II-2		0.12 ± 0.01	92	1.23 ± 0.05	13
II-4		0.11 ± 0.01	92	1.18 ± 0.06	17
I-8		0.11 ± 0.01	92	1.13 ± 0.07	20
I-11		1.98 ± 0.09	-39	1.49 ± 0.04	-5
I-12		0.13 ± 0.01	91	1.19 ± 0.07	16

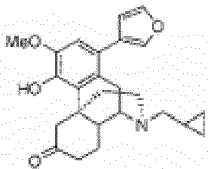
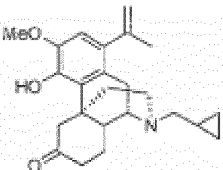
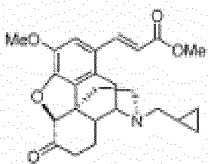
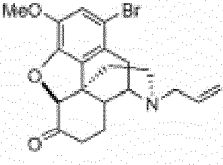
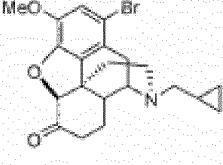
TABLA 2. Inhibición de TLR9					
ID Compuesto	Estructura Química	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media
		10 μ M		100 nM	
I-13		0.13 ± 0.01	91	1.34 ± 0.12	6
I-27		0.10 ± 0.00	93	1.13 ± 0.04	20
II-15		0.23 ± 0.03	84	1.22 ± 0.06	14
II-16		1.24 ± 0.11	13	1.43 ± 0.01	-1
II-23		0.53 ± 0.05	63	1.16 ± 0.01	18

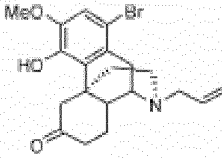
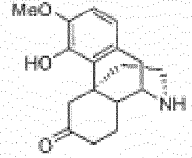
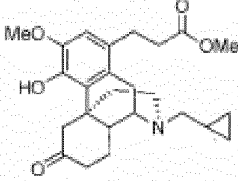
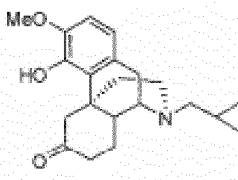
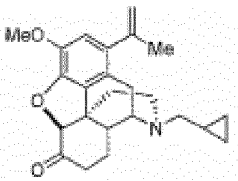
TABLA 2. Inhibición de TLR9					
ID Compuesto	Estructura Química	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media
		10 µM		100 nM	
II-21		0.23 ± 0.01	84	1.40 ± 0.02	2
I-5		0.87 ± 0.04	38	1.31 ± 0.09	8
I-4		0.46 ± 0.05	68	1.17 ± 0.06	18
I-6		0.12 ± 0.02	91	1.29 ± 0.07	9
I-5		0.14 ± 0.00	90	1.11 ± 0.03	22

TABLA 2. Inhibición de TLR9

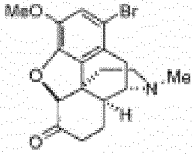
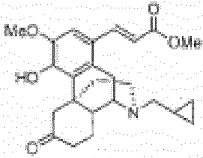
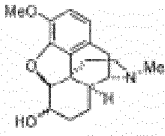
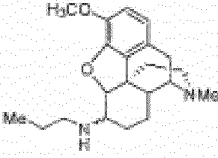
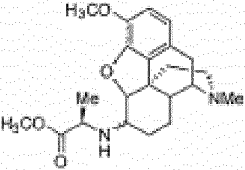
ID Compuesto	Estructura Química	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media
		10 µM		100 nM	
II-11		0.44 ± 0.05	69	1.22 ± 0.10	14
II-14		0.13 ± 0.00	91	1.18 ± 0.05	17
II-7		0.13 ± 0.02	91	1.32 ± 0.08	7
II-91		0.09 ± 0.01	93	0.12 ± 0.01	92
II-92		0.73 ± 0.06	48	1.09 ± 0.03	23

TABLA 2. Inhibición de TLR9

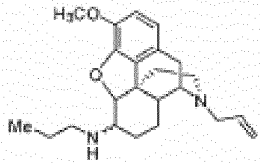
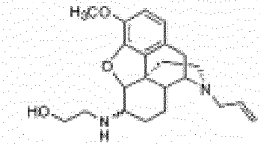
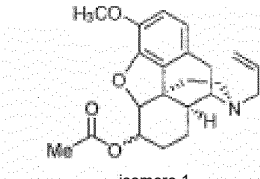
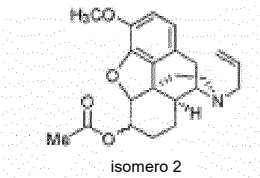
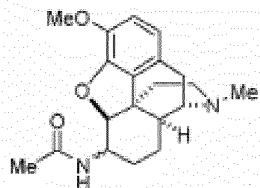
ID Compuesto	Estructura Química	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media
		10 μ M		100 nM	
II-93		0.11 $\pm$ 0.01	92	0.12 $\pm$ 0.00	91
II-21		0.09 $\pm$ 0.01	93	0.19 $\pm$ 0.02	87
II-94a	 isomero 1	1.16 $\pm$ 0.08	18	1.13 $\pm$ 0.04	20
II-94b	 isomero 2	1.30 $\pm$ 0.05	8	1.17 $\pm$ 0.03	17
II-9		1.00 $\pm$ 0.02	29	1.25 $\pm$ 0.09	12

TABLA 2. Inhibición de TLR9

ID Compuesto	Estructura Química	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media
		10 μ M		100 nM	
II-20		1.07 $\pm$ 0.04	25	1.29 $\pm$ 0.02	9
II-19		0.15 $\pm$ 0.01	90	1.19 $\pm$ 0.03	16
II-8		1.33 $\pm$ 0.06	7	1.15 $\pm$ 0.07	19
II-53a		1.32 $\pm$ 0.13	7	1.22 $\pm$ 0.05	14
II-53b		1.00 $\pm$ 0.03	29	1.41 $\pm$ 0.09	1

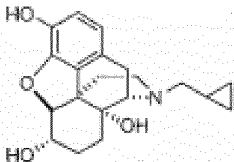
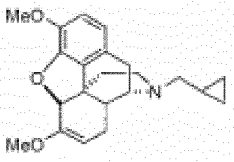
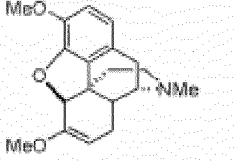
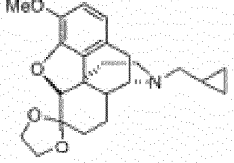
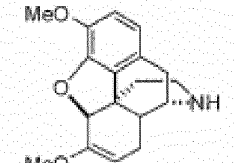
TABLA 2. Inhibición de TLR9					
ID Compuesto	Estructura Química	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media
		10 μ M		100 nM	
II-74		1.26 ± 0.06	11	1.19 ± 0.06	16
II-95		0.37 ± 0.03	74	1.11 ± 0.04	22
II-96		0.42 ± 0.02	71	1.15 ± 0.06	19
II-97		1.42 ± 0.07	0	1.22 ± 0.02	14
II-98		0.56 ± 0.03	60	1.02 ± 0.02	28

TABLA 2. Inhibición de TLR9

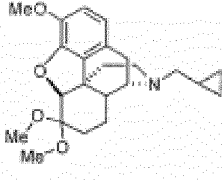
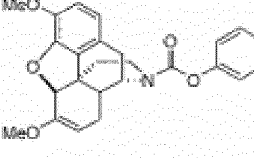
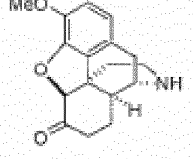
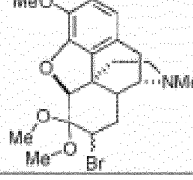
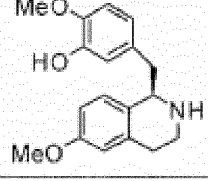
ID Compuesto	Estructura Química	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media
		10 µM		100 nM	
II-99		0.14 ± 0.01	90	1.32 ± 0.00	7
II-100		1.45 ± 0.11	-2	1.16 ± 0.02	18
II-12		0.81 ± 0.03	43	1.12 ± 0.08	21
II-101		0.94 ± 0.02	34	1.35 ± 0.06	5
III-1		0.67 ± 0.01	53	1.34 ± 0.06	6

TABLA 2. Inhibición de TLR9

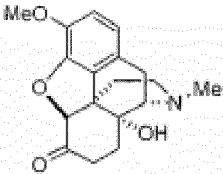
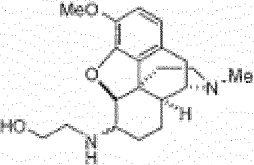
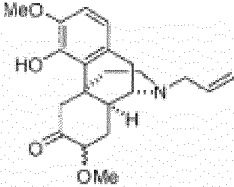
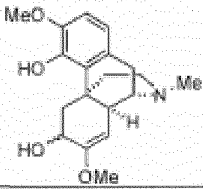
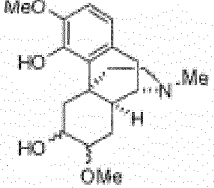
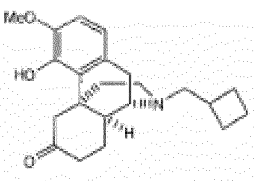
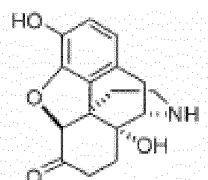
ID Compuesto	Estructura Química	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media
		10 µM		100 nM	
II-39		1.06 ± 0.06	25	1.23 ± 0.03	14
II-10		0.10 ± 0.01	93	0.24 ± 0.02	83
I-16		0.91 ± 0.04	36	1.50 ± 0.01	-5
I-28		0.12 ± 0.01	91	1.24 ± 0.02	13
I-10		1.04 ± 0.08	27	1.32 ± 0.04	7

TABLA 2. Inhibición de TLR9					
ID Compuesto	Estructura Química	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media	DO 650 nm (media±dt)	% Inhibición * media
		10 μ M		100 nM	
I-29		0.11 ± 0.00	92	1.06 ± 0.03	25
II-61		1.22 ± 0.07	14	1.23 ± 0.02	13

* Control (sin activador) = 0,14 DO 650 nm ($n = 12$); Activador (ODN 2006) 0 1,42 DO 650 nm ($N = 12$)

Este experimento de escrutinio identificó aquellos compuestos de (+)-morfinano que comprenden la mayor actividad antagónica de TLR9. Incluso a una concentración tan baja como 100 nM, algunos compuestos inhibieron el TLR9 en exceso de 90%.

Ejemplo 4: Evaluación de (+)-morfinanos en un modelo animal de dolor neuropático

El siguiente ejemplo fue diseñado para evaluar la eficacia de varios (+)-morfinanos específicos para revertir la alodinia, según lo evaluado por las pruebas de von Frey, en ratas sometidas a lesión por constricción crónica (CCI).

Se indujo alodinia en un grupo de ratas (macho, Sprague-Dawley) de acuerdo con uno de los modelos animales más utilizados para el dolor neuropático, que imita comparablemente el dolor sufrido por los pacientes. En este modelo, denominado lesión por constricción crónica (CCI) o modelo de Bennett, cuatro ligaduras estrechamente separadas amarradas alrededor del nervio ciático de una rata causan desmielinización del nervio, lo que da como resultado dolor espontáneo, tal como elevación prolongada de la pata y el lamido de pata ligada. El dolor inducido en la extremidad con lesión nerviosa puede medirse utilizando los filamentos de Von Frey, aplicados a la superficie plantar de la pata para evaluar las respuestas a la estimulación táctil no nociva. El inicio de este aumento de la alodinia mecánica es bastante rápido y persiste durante 2 o 3 meses.

Antes de la cirugía, los animales se analizaron para establecer sus puntuaciones iniciales de von Frey. Se excluyó del estudio a cualquier animal con una puntuación de de von Frey absoluta Log inferior a 4,65 en cada pata. La cirugía CCI se realizó en el nervio ciático izquierdo como se detalla más arriba. Los días 4 y 14 después de la cirugía, los animales se sometieron a ensayo utilizando la prueba de von Frey de alodinia mecánica para asegurar que se estableciera la alodinia.

Comenzando aproximadamente el día 14 después de la cirugía, se administró la dosificación a los animales una vez al día durante 4 días. Los compuestos II-25, II-93, II-62 y III-2 se sometieron a ensayo. La Tabla 5 presenta los grupos de tratamiento. Todos los fármacos se administraron por vía intraperitoneal (i.p.). La alodinia se sometió a ensayo antes y una vez más 3 horas después de la administración de cada dosis. La administración de fármacos y las pruebas se realizaron a ciegas. Después del 4º día de la administración de la dosificación, los animales se sacrificaron, se realizó una perfusión cardíaca y se extrajeron las médulas espinales y se almacenaron para un análisis adicional.

TABLA 5. Grupos de tratamiento.		
Condiciones	Dosis	Núm./grupo
Control - solución salina	0	46
Gabapentina	100 mg/kg	24
(+)-naloxona - ultra baja	0,071 mg/kg	16
(+)-naloxona baja	0,71 mg/kg	8
(+)-naloxona - media	7,1 mg/kg	8
(+)-naloxona - alta	71 mg/kg	8
Comp. II-25 - ultra baja	0,073 mg/kg	8
Comp. II-25 - baja	0,73 mg/kg	8
Comp. II-25 - media	7,3 mg/kg	9
Comp. II-25 - alta	73 mg/kg	10
Comp. II-93 - ultra baja	0,079 mg/kg	8
Comp. II-93 - baja	0,79 mg/kg	8
Comp. II-93 - media	7,9 mg/kg	8
Comp. II-93 - alta	79 mg/kg	8
Comp. II-62 - ultra baja	0,1 mg/kg	8
Comp. II-62 - baja	1,0 mg/kg	8
Comp. II-62 - media	10,1 mg/kg	8
Comp. II-62 - alta	101 mg/kg	7
Comp. III-2 - ultra baja	0,073 mg/kg	8
Comp. III-2 - baja	0,73 mg/kg	8
Comp. III-2 - mediana	7,3 mg/kg	8
Comp. III-2 - alta	73 mg/kg	8

Todos los datos se analizaron utilizando ANOVA de 2 vías con la prueba post hoc de Bonferroni en comparación con la solución salina, a menos que se indique lo contrario. El área bajo la curva (AUC) se calculó utilizando Graphpad Prism y las comparaciones se realizaron utilizando ANOVA de 1 vía con la prueba post hoc de Dunnet.

Resultados. Todos los grupos de ratas desarrollaron alodinia. La FIG. 3 presenta una gráfica representativa del desarrollo de la alodinia en la que se trazan las puntuaciones de von Frey el día 0 (antes de la cirugía) y los días 4 y 14 después de la cirugía en varios grupos de tratamiento. Ninguna de las ratas tratadas con (+)-naloxona mostró una reversión de la alodinia a ninguna dosis (datos no mostrados). Parece, por lo tanto, que la (+)-naloxona no es eficaz para revertir la alodinia 3 horas después de la dosis utilizando el protocolo actual.

El compuesto II-25 mostró un efecto global significativo en la reversión de la alodinia bilateralmente en comparación con la solución salina después de la dosis media ($P < 0,05$) o alta ($P < 0,05$). La FIG. 4 presenta cursos de tiempo de las respuestas de alodinia (es decir, pre-dosis y post-dosis) en las patas ipsilaterales (A-D) y contralaterales (E-H) para cada uno de los cuatro días de dosificación con las diferentes dosis de Compuesto II-25. El efecto fue más prominente el día 1 de la dosificación en ratas tratadas con la dosis alta (3 horas $P < 0,05$) y el día 3 de la dosificación en ratas tratadas con la dosis media (51 horas $P < 0,05$). El análisis del área bajo la curva se presenta en la FIG. 5. A partir de este gráfico, resulta evidente que las dosis de 7,3 mg/kg y 73 mg/kg revirtieron significativamente la alodinia. Se observó que 5-6 de los animales (más tarde se reveló que habían sido tratados con la dosis alta del Compuesto II-25) parecían más adormecidos que las otras ratas en al menos una ocasión posterior a la dosis.

El compuesto II-93 revirtió significativamente la alodinia en la pata ipsilateral solo después de la dosis alta ($P < 0,01$).

El efecto fue más prominente los días 2 y 3 de la dosificación (27 h P <0,01; 51 h P <0,01) (véase la Figura 6A-D). El análisis del área bajo la curva se representa en la FIG. 7, en la que se detectó la reversión significativa de la alodinia en la pata ipsilateral (véase Fig. 7A) después del tratamiento con la dosis alta (es decir, 79 mg/kg) del Compuesto II-93. A lo largo del ensayo, se observó que muchas de las ratas estaban adormecidas o sedadas, y algunas ratas tenían algo de hinchazón de la pata ipsilateral. Después del desenmascaramiento, se reveló que 7 de los animales tratados con la dosis alta del compuesto II-93 presentaron sedación en al menos una ocasión posterior a la dosis y tenían hinchazón de la pata ipsilateral; y que dos ratas tratadas con la dosis media y una rata tratada con la dosis baja mostraron cierta sedación.

El compuesto II-62 no revirtió significativamente la alodinia a ninguna dosis (datos no mostrados). El análisis del área bajo la curva demostró que no hubo un efecto general de ninguna dosis del compuesto II-62 en comparación con la solución salina, pero el análisis del curso del tiempo reveló que hubo una leve reversión de la alodinia en la pata ipsilateral el Día 4 de la dosificación, sin embargo. Después del desenmascaramiento, se reveló que una rata tratada con la dosis baja, una tratada con la dosis media y dos ratas tratadas con la dosis alta del compuesto II-62 parecían más adormecidas que las otras ratas en al menos una ocasión posterior a la dosificación. También se observó que la inyección de la dosis alta del compuesto II-62 parecía irritar a las ratas cuando se inyectaba. Algunas de las ratas a las que se les administró esta dosis mostraron hinchazón alrededor del sitio de la inyección al día siguiente.

El compuesto III-2 no tuvo efecto sobre la alodinia a ninguna dosis (datos no mostrados). No hubo efectos significativos de este compuesto en comparación con la solución salina en ninguna de las pruebas estadísticas realizadas. Dos ratas, según se reveló más tarde que habían sido tratadas con la dosis baja del compuesto III-2, tuvieron un aumento de los niveles de adormecimiento durante una de las sesiones de prueba posteriores a la dosificación.

En resumen, este estudio reveló que dos de los (+)-morfinanos sometidos a ensayo, es decir, los compuestos II-25 y II-93, fueron eficaces para revertir la alodinia mecánica.

Ejemplo 5: Evaluación de (+)-morfinanos para inhibir/reducir la hepatotoxicidad inducida por acetaminofeno

El daño hepático inducido por acetamidofeno es la causa más común de muerte debida a una insuficiencia hepática aguda. El tratamiento con un (+)-morfinano puede reducir o prevenir la lesión hepática aguda inducida por acetamidofeno (APAP). La eficacia de algunos de los compuestos de (+)-morfinano descritos en la presente memoria para reducir la lesión hepática después de la exposición a una dosis tóxica de APAP se sometió a ensayo en un modelo de ratón de toxicidad inducida por APAP.

Para esto, se indujo la toxicidad hepática inducida por APAP en ratones macho C57BL/6 entre 8 y 10 semanas mediante una única inyección intraperitoneal (ip) de APAP en PBS a una dosis de 500 mg/kg (Imaeda et al. (2009) J. Clin. Invest. 119(2):305-314). La capacidad de (+)-morfinanos para reducir la toxicidad hepática se sometió a ensayo en los siguientes grupos:

- 1) Sin APAP ni PBS
- 2) APAP y PBS
- 3) Sin APAP ni (+)-morfinano
- 4) APAP y (+)-morfinano

El (+)-morfinano (o PBS) se administró como una única inyección subcutánea (sc) o ip concurrente con la inyección de APAP o una hora antes de la inyección de APAP. La Tabla 6 presenta los (+)-morfinanos sometidos a ensayo.

TABLA 6. Ensayos de compuestos y dosis.

Agente de prueba	Dosis	Sincronización
(+)-naloxona	60 mg/kg, ip (PBS)	Concurrente
Comp. II-78	30 mg/kg, sc (PBS)	Una hora antes
Comp. 11-24	60 mg/kg, sc (PBS)	Una hora antes
Comp. II-93	60 mg/kg, sc (PBS)	Una hora antes
Comp. III-2	30 mg/kg, sc (EtOH/NS al 50%)	Una hora antes

Los ratones se sacrificaron 12 horas después del tratamiento con APAP. Las muestras de hígado se tiñeron con H y E y se analizaron en busca de signos de necrosis y hemorragia. Las puntuaciones de histología se asignaron utilizando la escala de calificación convencional. Los niveles de alanina transaminasa sérica (ALT) también se midieron en cada animal mediante un ensayo convencional.

Los animales a los que se administró APAP solo, presentaron una lesión hepática significativa, como lo demuestran las puntuaciones histológicas elevadas y los niveles elevados de ALT. La (+)-naloxona administrada al mismo tiempo que la dosis tóxica de APAP no proporcionó esencialmente protección. Como se muestra en la FIG. 8, la (+)-naloxona redujo los niveles de ALT, pero no mejoró las puntuaciones de histología para necrosis y hemorragia.

El compuesto II-78 proporcionó protección contra la toxicidad inducida por APAP. El compuesto II-78 protegió el hígado de la necrosis y la hemorragia ($P < 0,05$); las puntuaciones histológicas se redujeron a aproximadamente la mitad en los tratados solo con APAP (véase la FIG. 9A). De manera similar, los niveles de ALT se redujeron significativamente ($P < 0,05$) mediante pretratamiento con el compuesto II-78 (véase la FIG. 9B).

Ninguno de los compuestos II-24, II-93 o III-2 proporcionó ninguna protección contra la toxicidad inducida por APAP (datos no mostrados). Para cada compuesto, las puntuaciones de histología fueron aproximadamente las mismas que las expuestas solo para APAP, y los niveles de ALT fueron similares entre los dos grupos.

Ejemplo 6: Evaluación de (+)-morfina para inhibir/reducir la inflamación utilizando el modelo EAE

La eficacia de los (+)-morfina para reducir la inflamación se sometió a ensayo utilizando el modelo de rata de Lewis de EAE (encefalomielitis autoinmunitaria experimental). Para esto, se utilizaron seis grupos de 10 ratas/grupo de ratas Lewis (7 semanas de edad; - 200 g) en el estudio. Los grupos incluyeron un vehículo (2-hidroxipropilo al 20%, β -ciclodextrina, HBC), un control positivo (prednisolona) y cuatro (+)-morfina de ensayo. Los grupos se presentan a continuación:

1. Vehículo: 2,5 ml/kg de HBC al 20%; PBS al 80%
2. Prednisolona: 4,5 mg/kg (HBC al 20%; PBS al 80%), ip
3. Comp. II-24 20 mg/kg (estéril, dd H₂O), sc
4. Comp. II-38 20 mg/kg (estéril, dd H₂O), sc
5. Comp. II-78 20 mg/kg (estéril, dd H₂O), sc
6. Comp. II-98 5 mg/kg (estéril, dd H₂O), sc

A cada rata se le inyectaron 0,05 ml de una emulsión de *Mycobacterium tuberculosis* H37 y la médula espinal de la cobaya en cada almohadilla principal de las patas traseras usando restricción consciente. Los compuestos (o vehículo) se administraron dos veces al día (bid). La primera dosis se administró antes de la inducción de EAE. La dosificación continuó durante 20 días.

El peso corporal, el grosor de la pata y los signos clínicos de EAE se midieron para cada rata 2 veces por semana a partir de la segunda semana de tratamiento y continuaron hasta el final del estudio. La puntuación clínica se realizó de acuerdo con la siguiente tabla. A las ratas en las que las puntuaciones no fueron claras se les proporcionaron puntuaciones medias, tal como 3,5. Se realizaron estadísticas sobre las puntuaciones clínicas para el período en el que se observó el inicio de la enfermedad hasta la recuperación. Se realizó un ANOVA de Una Vía para Medidas Repetidas seguido de una prueba posthoc de Newman-Keuls si eran significativas (Graphpad Prism 5, La Jolla, CA). Los datos presentados como media $\pm$ ETM.

Puntuación EAE	Síntomas
0	Normal
1	Cola flácida
2	Parálisis incompleta de una o ambas extremidades posteriores (debilidad, cojera, temblor)
3	La parálisis completa de una extremidad posterior o ambas extremidades posteriores, puede moverse, pero no ayuda en el movimiento del cuerpo
4	Parálisis completa de ambas extremidades posteriores (la mitad posterior o la rata se arrastra alrededor de la jaula)
5	Parálisis completa de las extremidades posteriores y debilidad de uno o ambos miembros anteriores o moribunda, o muerta

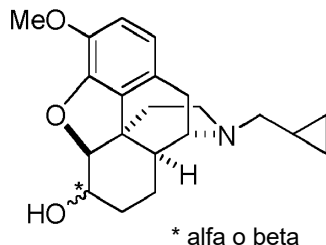
Las puntuaciones clínicas de EAE para cada grupo de ratas se presentan en la FIG. 10. La prednisolona (control positivo) y Comp. II-98 (5 mg/kg bid subcutáneo) redujeron significativamente las puntuaciones clínicas de la EAE en comparación con el control de vehículo ($p < 0,05$). Inicialmente, se administró Comp. II-98 a 20 mg/kg bid, sin embargo, se observó toxicidad aguda. A partir del segundo día de la dosificación, se administró el Comp. II-98 a 5 mg/kg bid por vía subcutánea.

5 Los compuestos Comp. II-24, Comp. II-38 y Comp. II-78 se administraron por vía subcutánea a 20 mg/kg bid y no mejoraron la EAE en comparación con el control de vehículo. Sin embargo, el Comp. H-38 no se disolvió en una solución y se administró a lo largo del estudio en forma de una suspensión. No se sabe si la suspensión se disolvió adecuadamente en el organismo para proporcionar una concentración plasmática suficiente para determinar la eficacia.

En resumen, el Comp. II-98 tuvo efectos antiinflamatorios en el modelo de rata EAE Lewis.

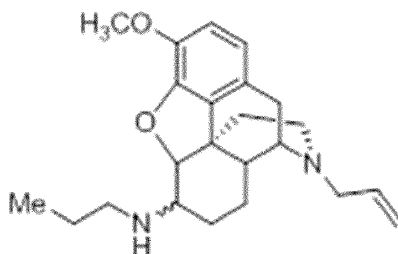
REIVINDICACIONES

1. El Compuesto II-25 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables para su uso en el tratamiento de una afección dolorosa en un sujeto que lo necesite:



II-25.

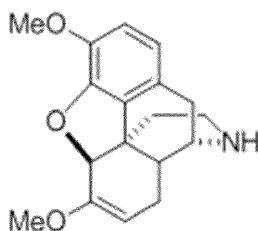
2. El Compuesto II-93 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables para su uso en el tratamiento de una afección dolorosa en un sujeto que lo necesite:



II-93.

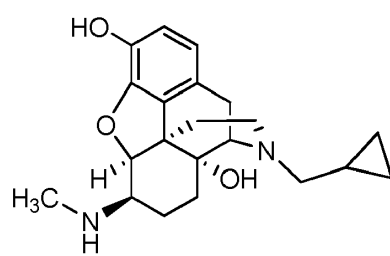
3. El compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que la afección dolorosa se elige entre dolor agudo, dolor traumático, dolor crónico y dolor neuropático.

4. El compuesto II-98 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables para su uso en el tratamiento de la inflamación en un sujeto que lo necesite:

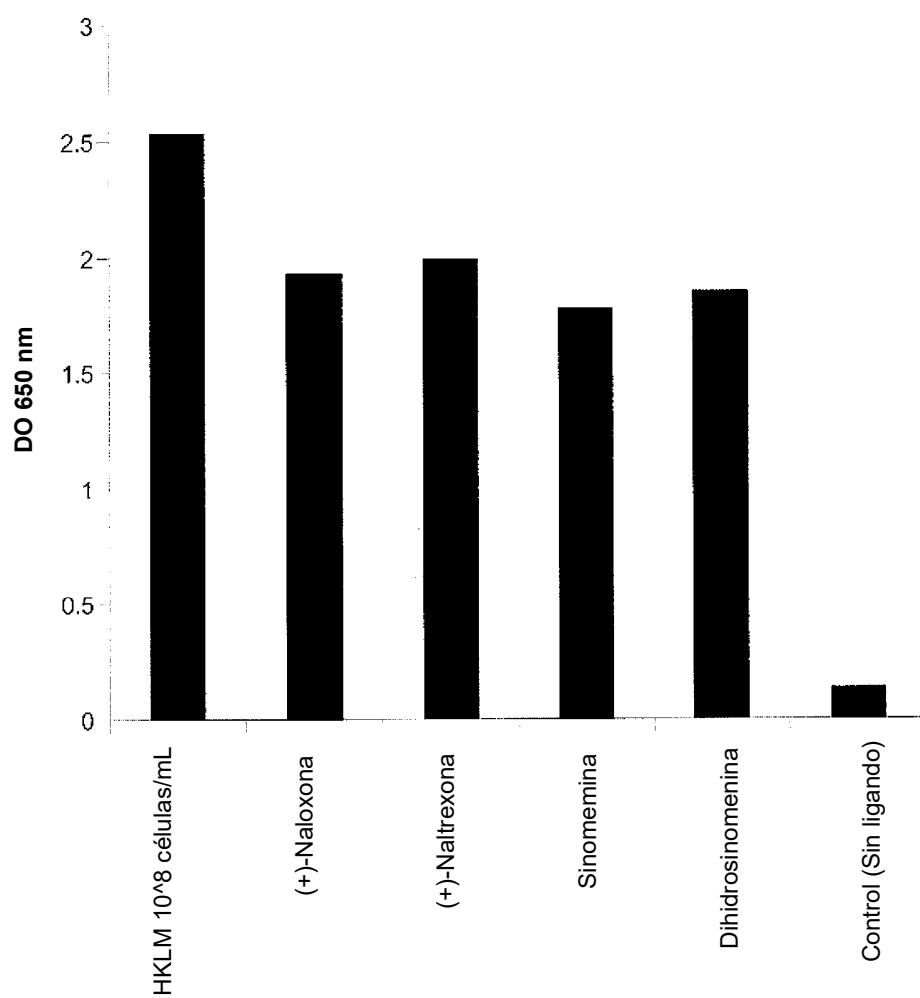


II-98.

5. El Compuesto II-78 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de la toxicidad del acetamidofeno en un sujeto que lo necesite:



II-78.

**FIG. 1A**

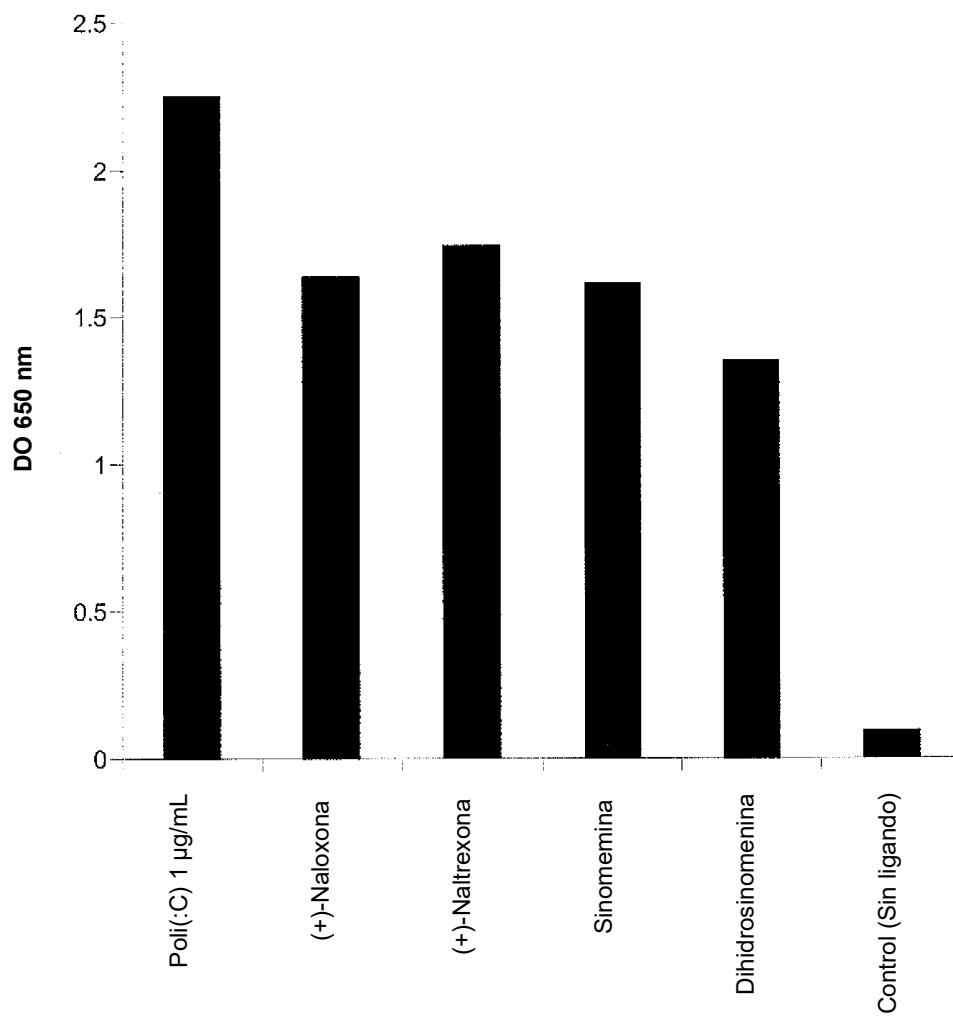
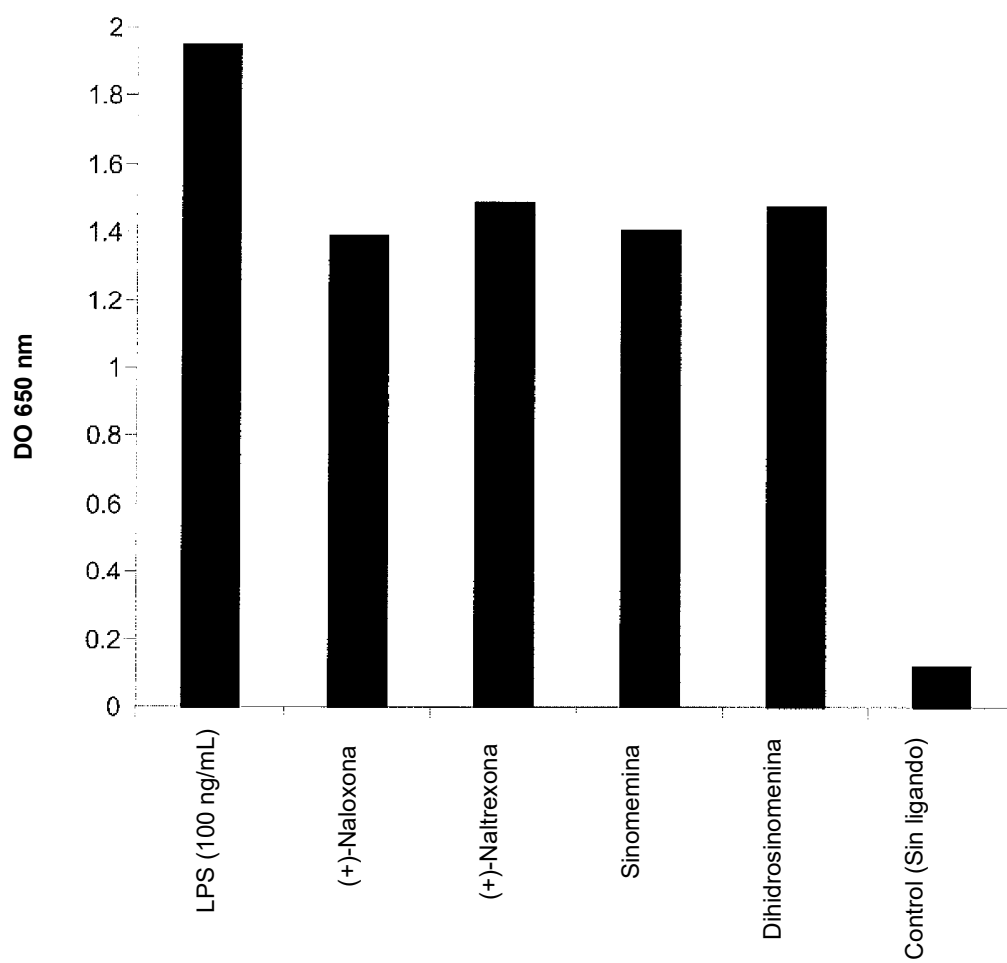


FIG. 1B

**FIG. 1C**

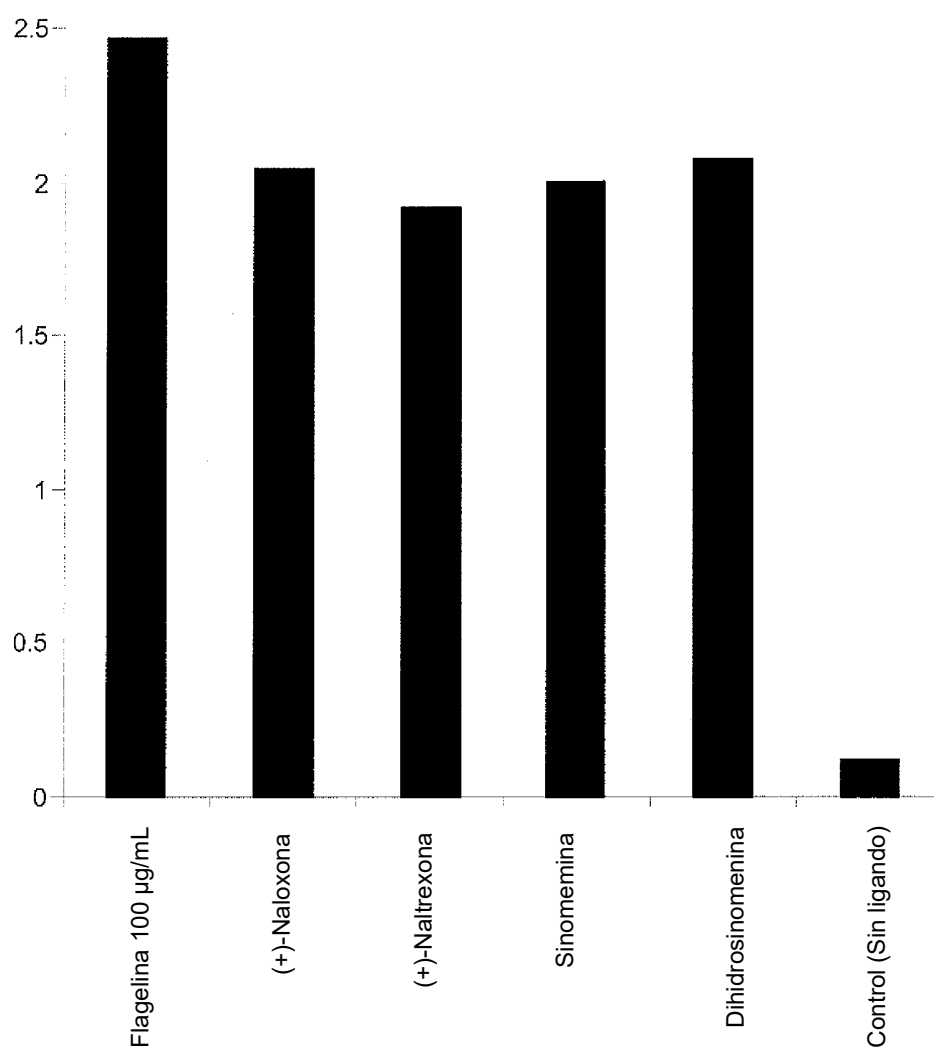
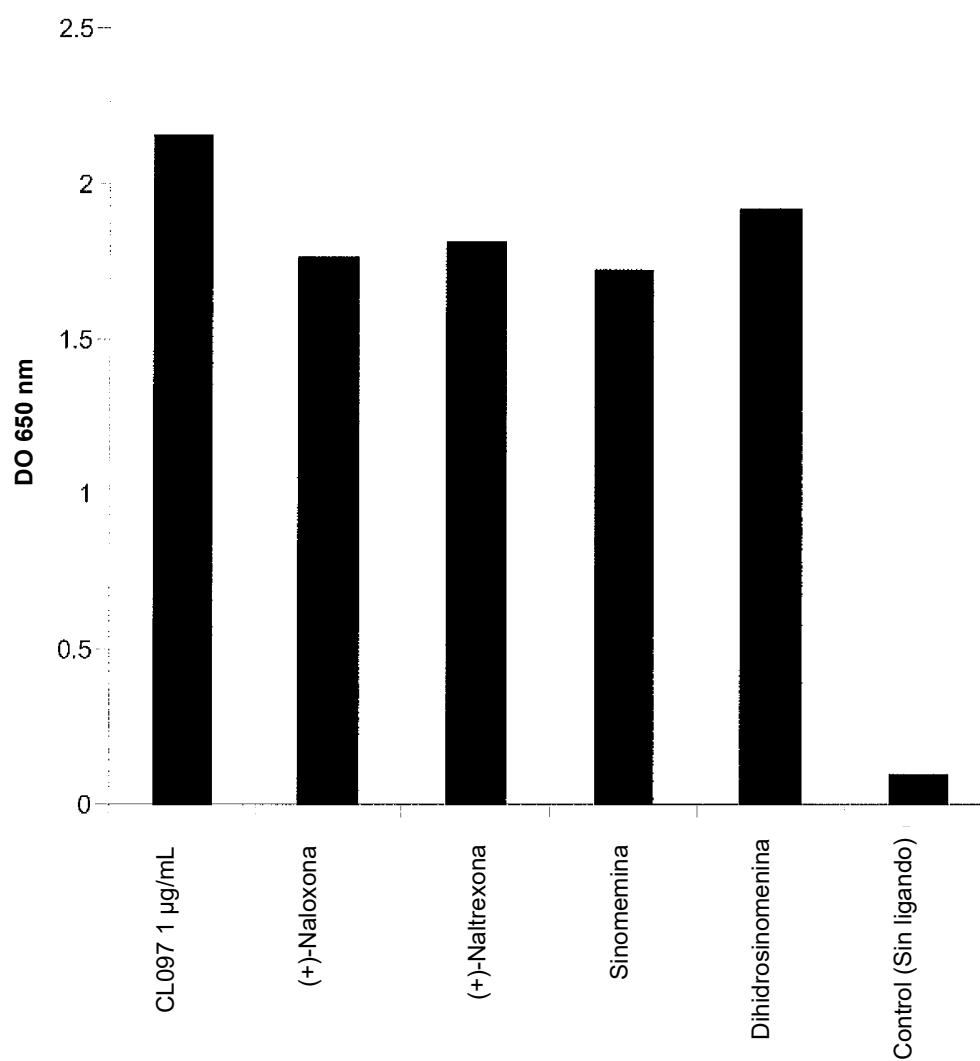
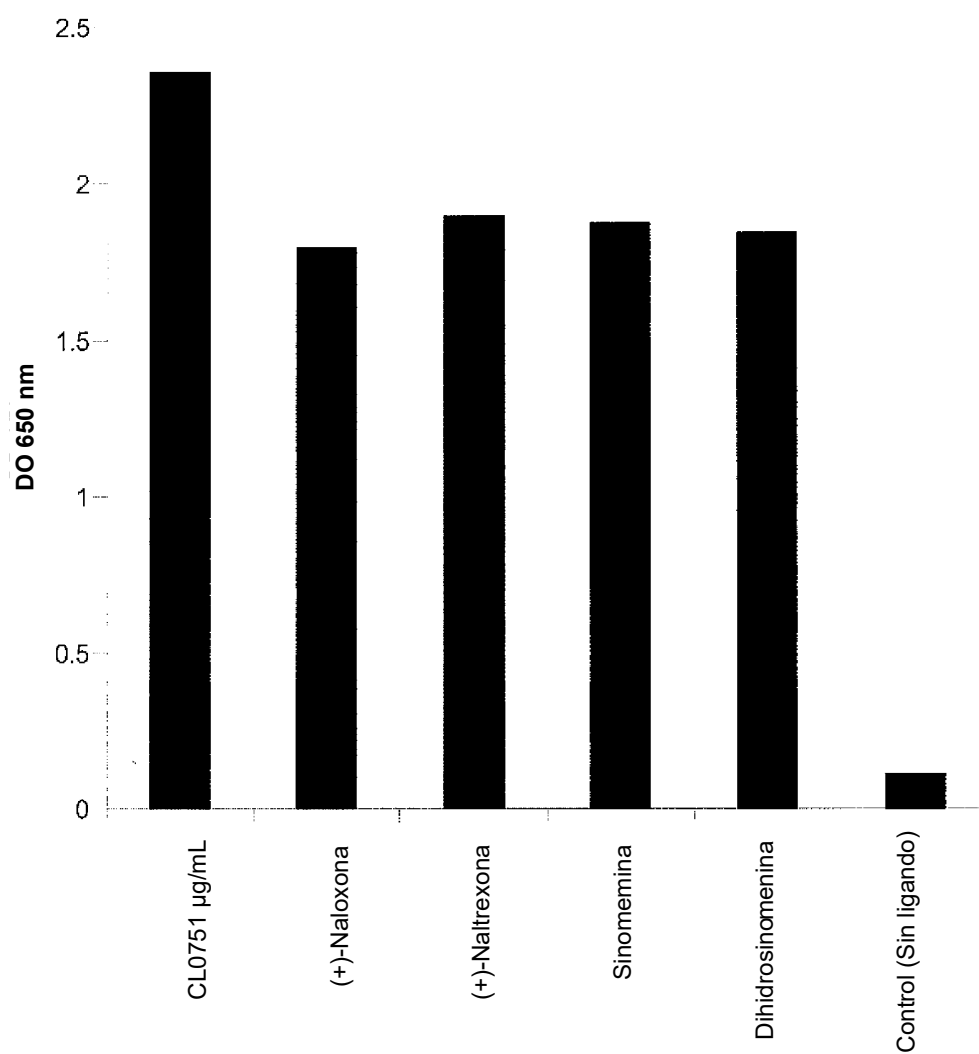
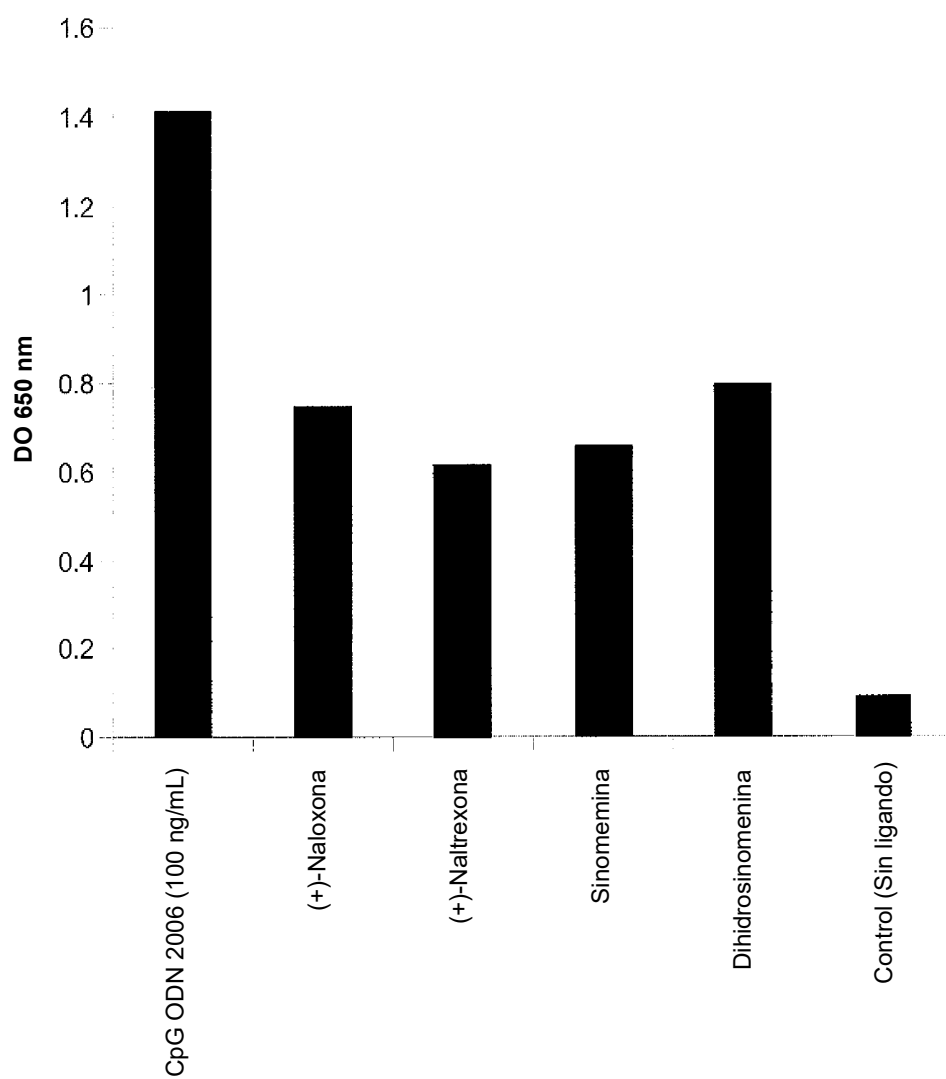


FIG. 1D

**FIG. 1E**

**FIG. 1F**

**FIG. 1G**

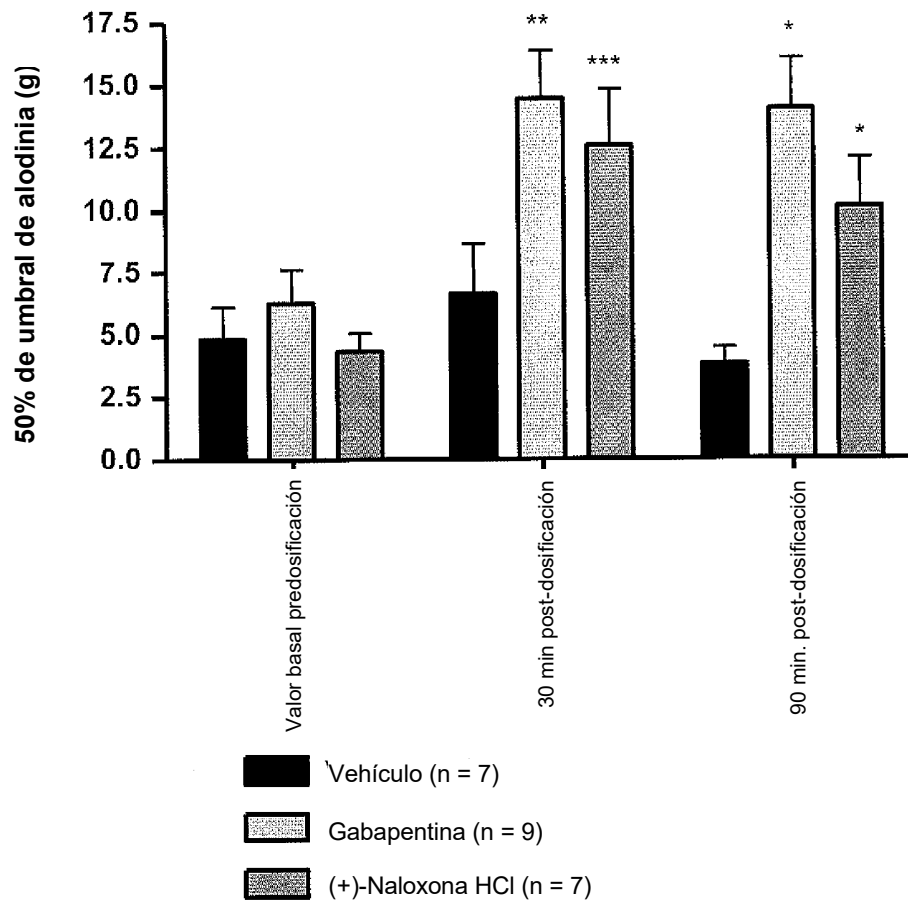
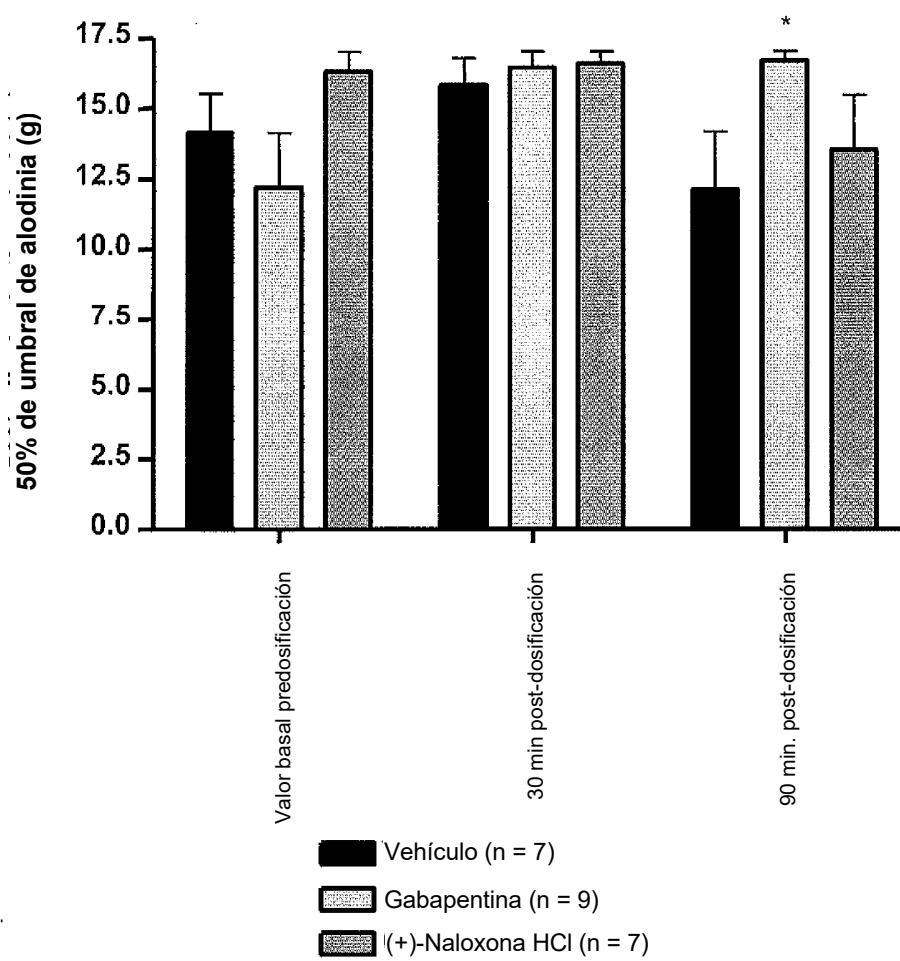


FIG. 2A

**FIG. 2B**

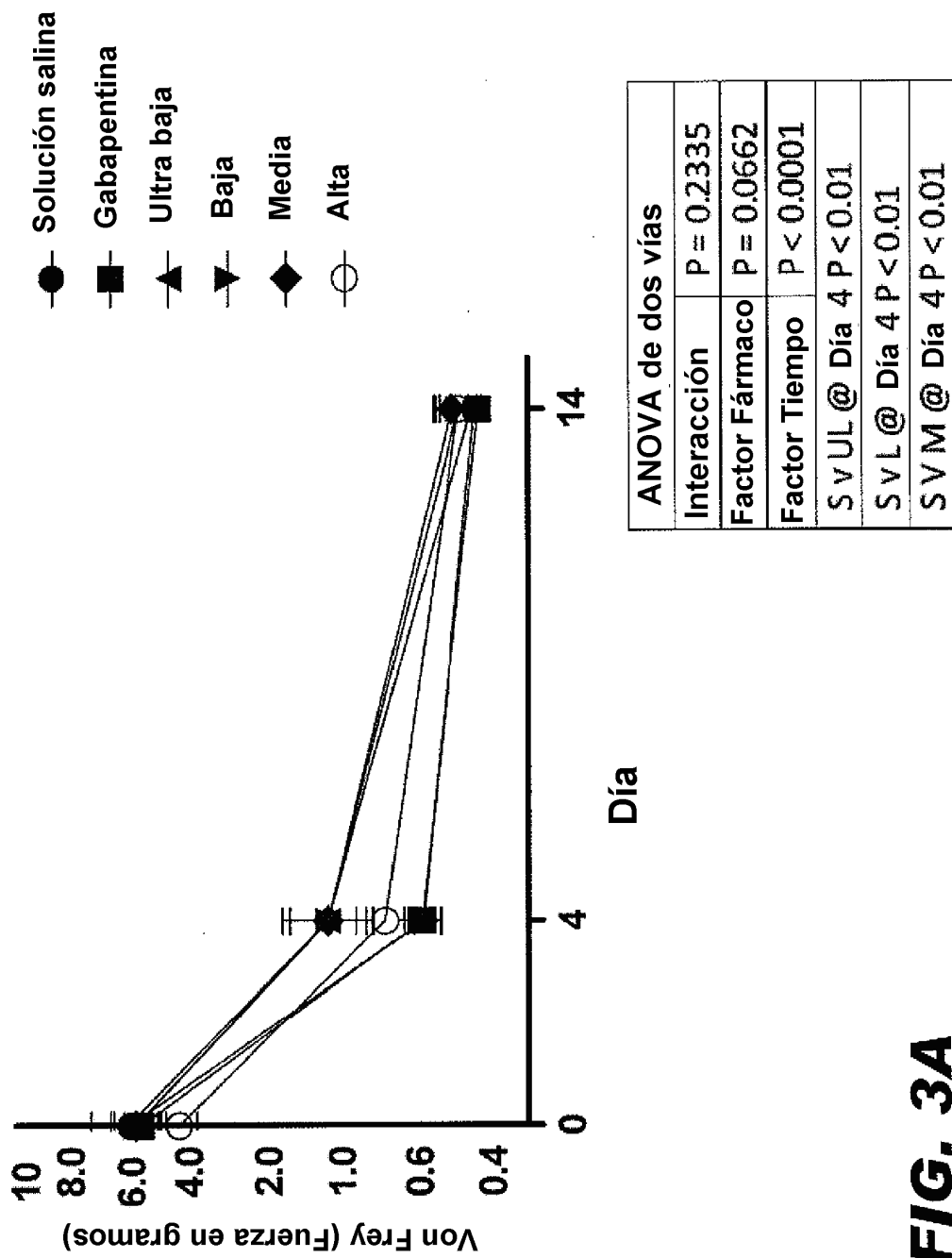


FIG. 3A

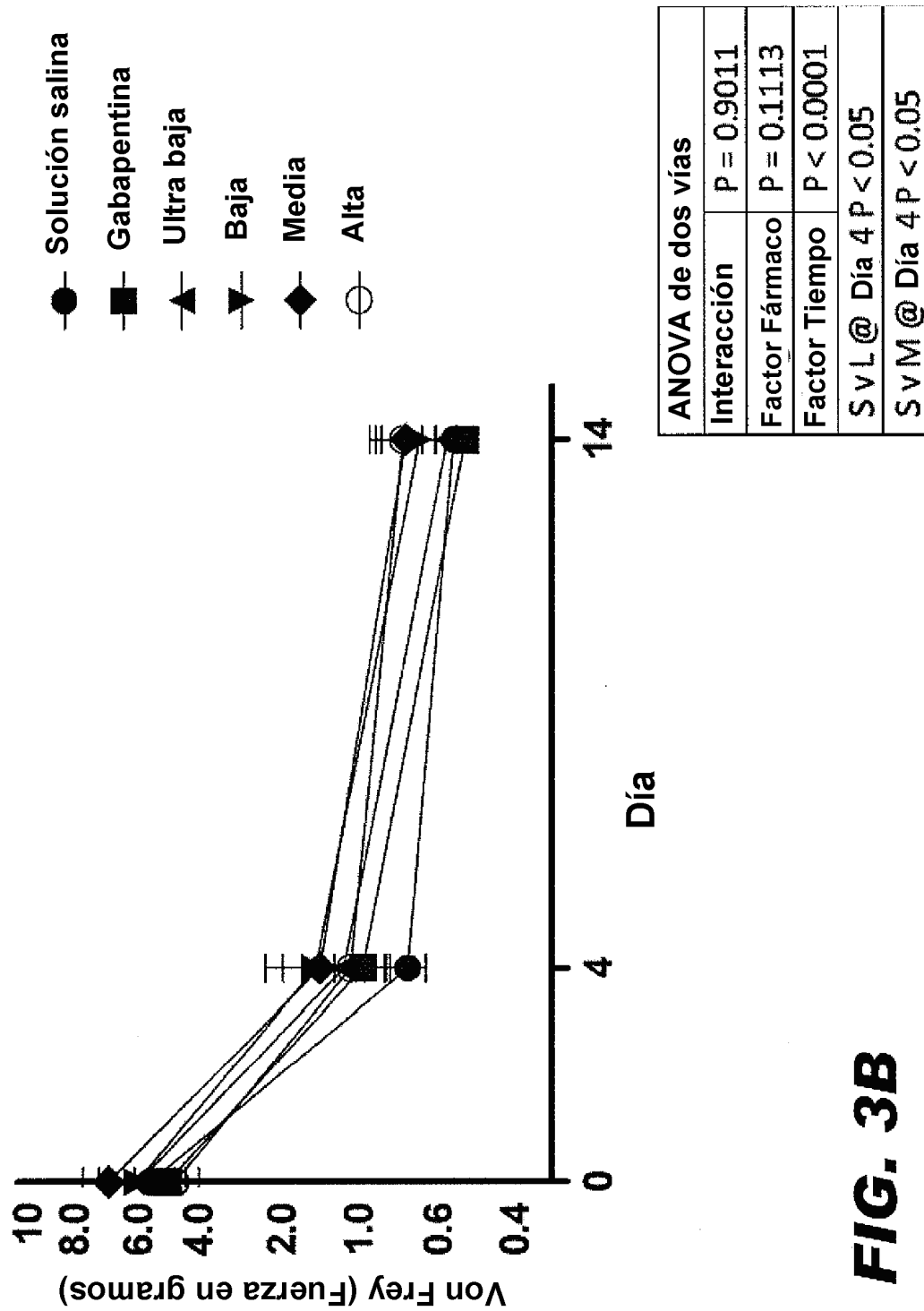
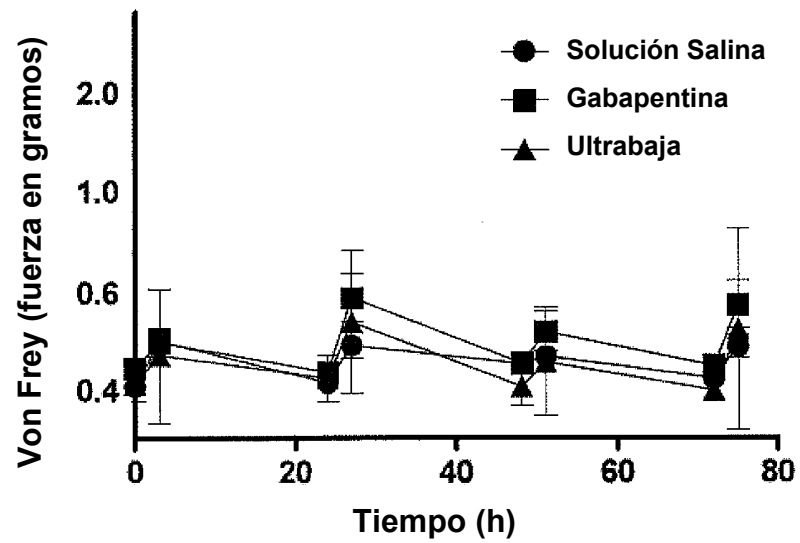


FIG. 3B

A



B

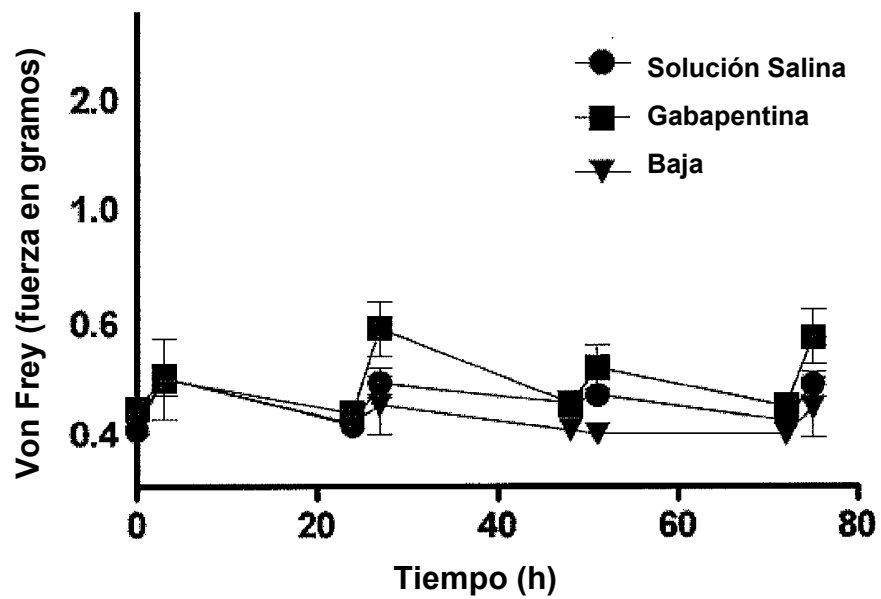
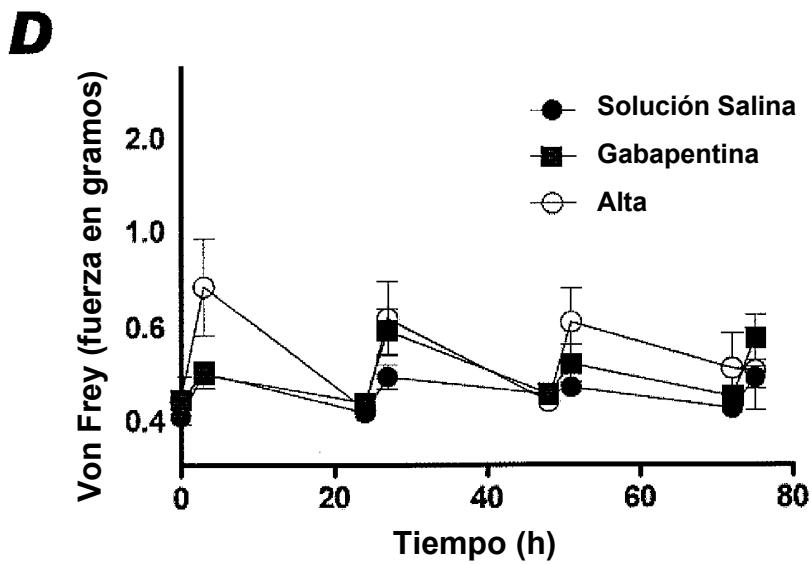
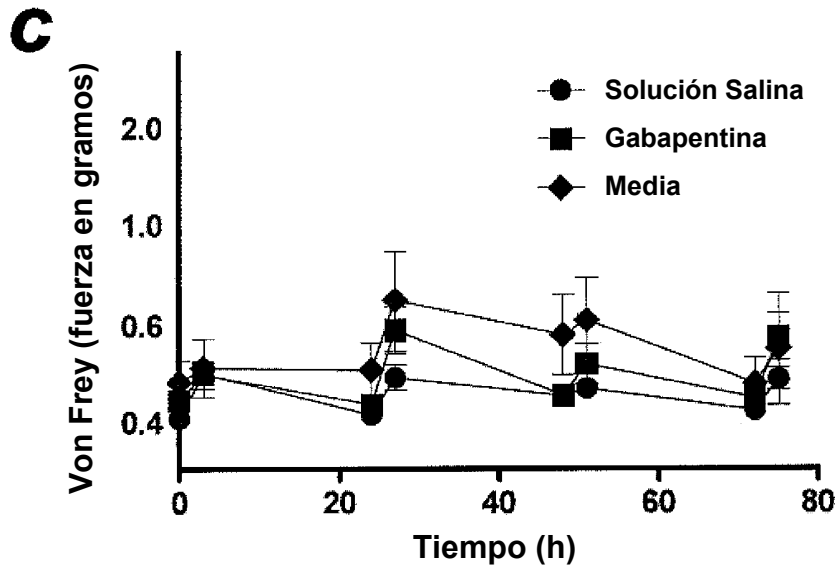


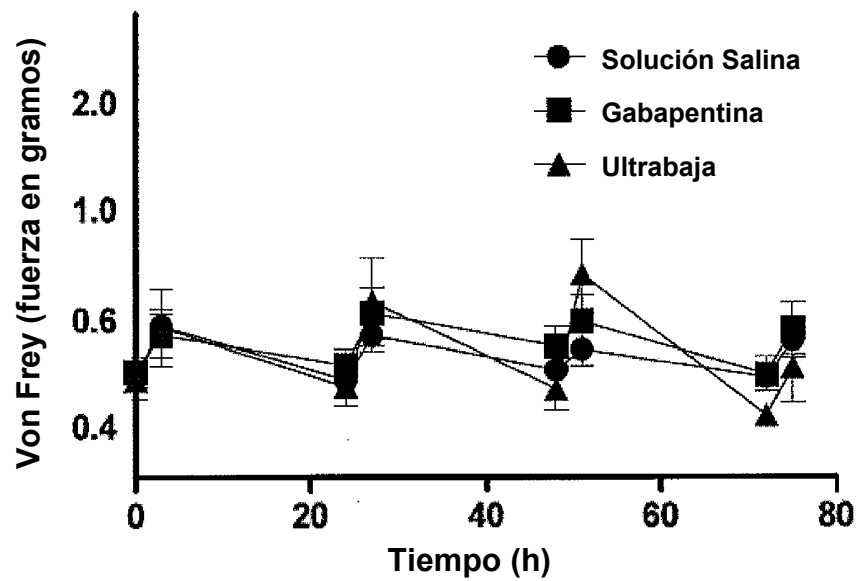
FIG. 4



ANOVA de dos vías	
Interacción	P = 0.9137
Factor Fármaco	P < 0.0001
Factor Tiempo	P < 0.0001
S v H @ 3hrs P < 0.05	

FIG. 4

E



F

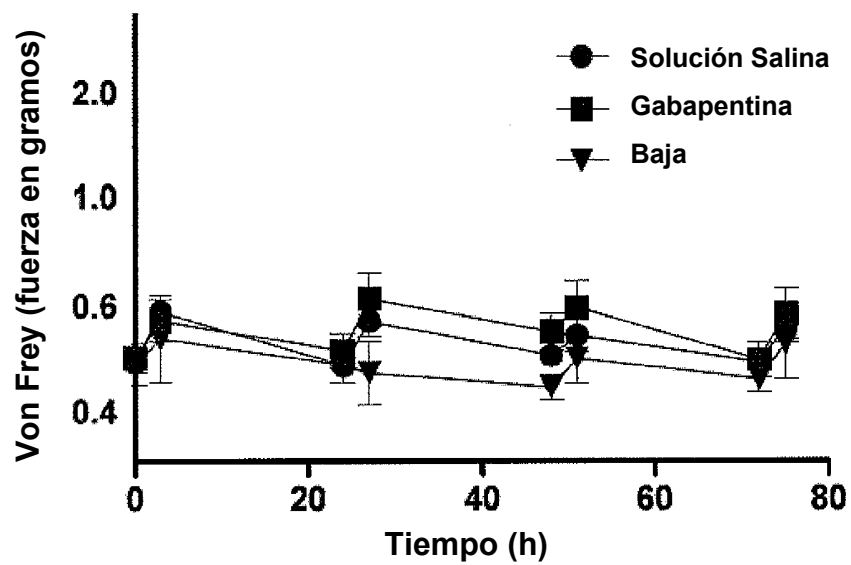
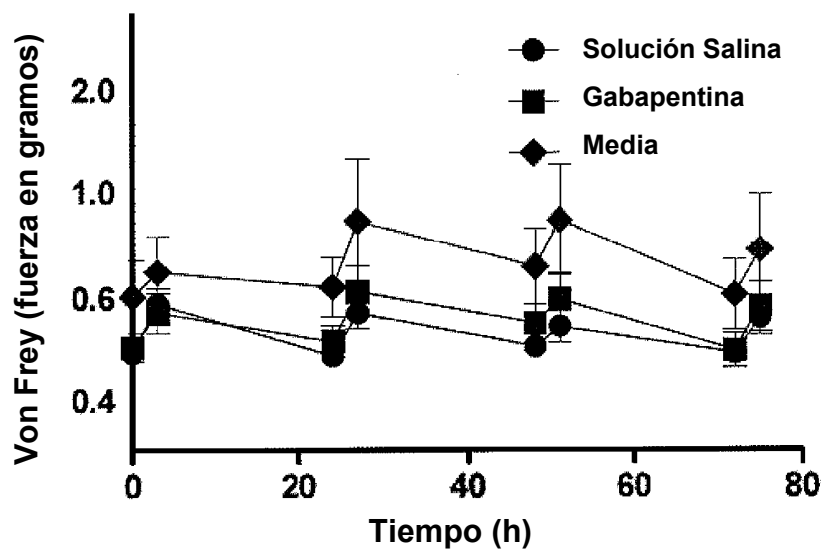


FIG. 4

G



H

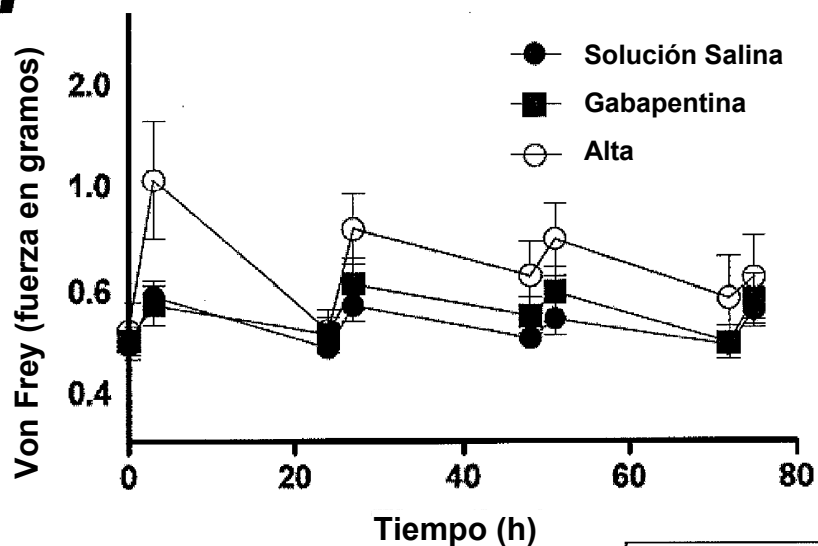
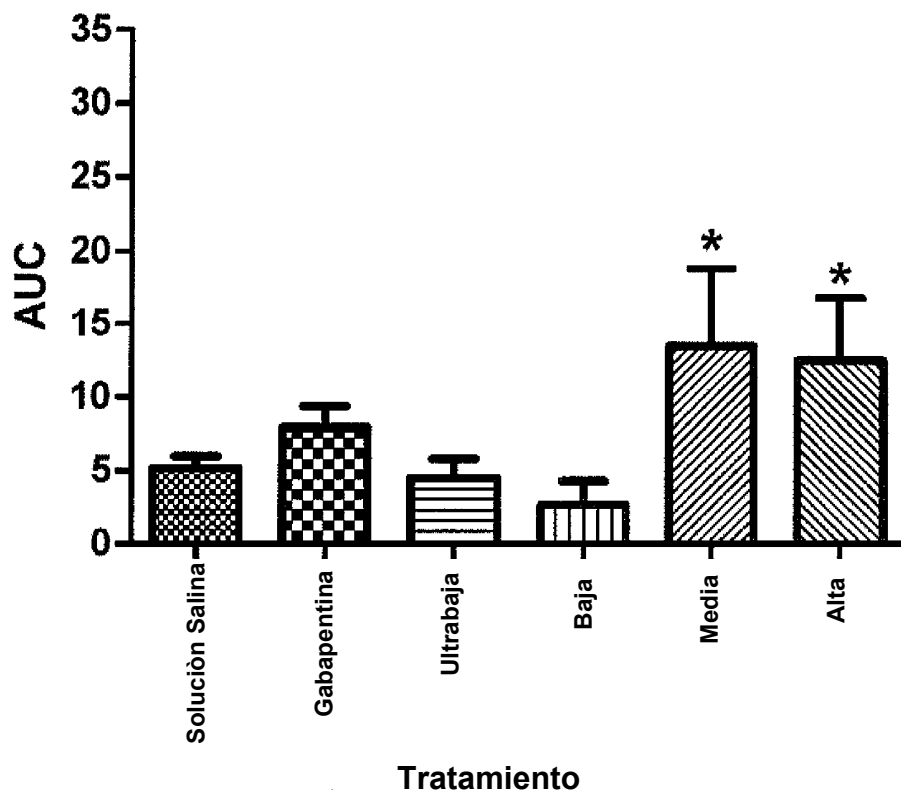


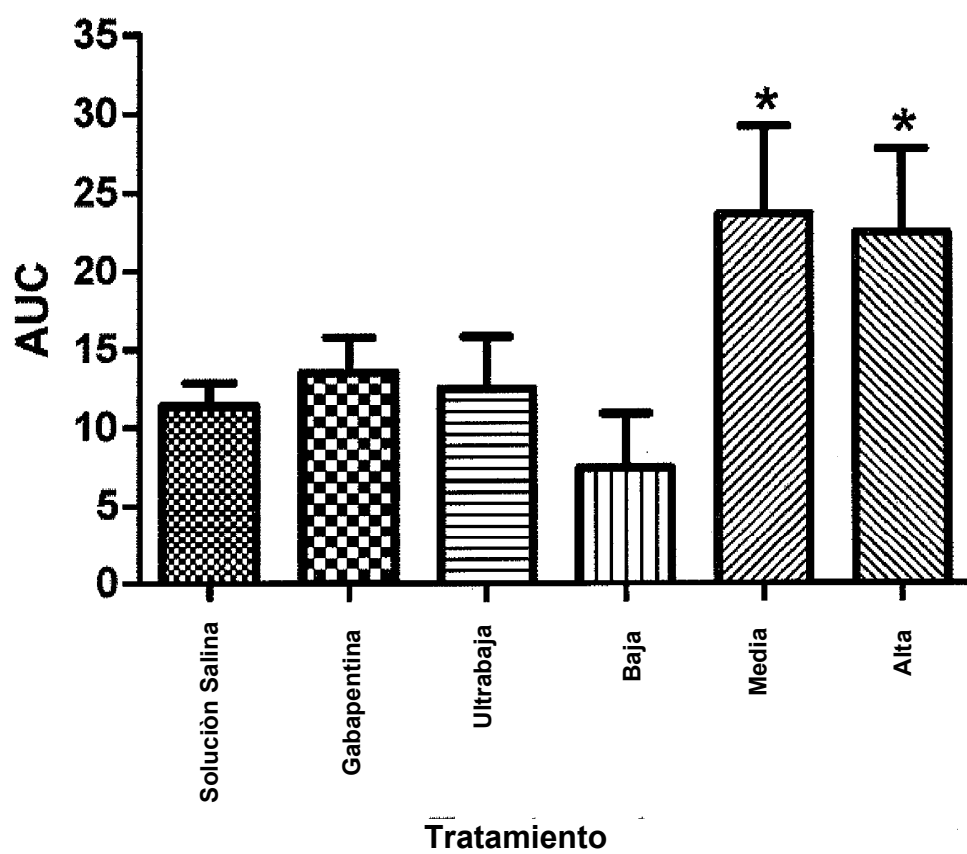
FIG. 4

ANOVA de dos vías	
Interacción	P = 0.9642
Factor Fármaco	P < 0.0001
Factor Tiempo	P < 0.0001
S v M @ 51hrs	P < 0.05
S v H @ 3hrs	P < 0.01



ANOVA de una vía
P = 0.0103
S v M P < 0.05
S v H P < 0.05

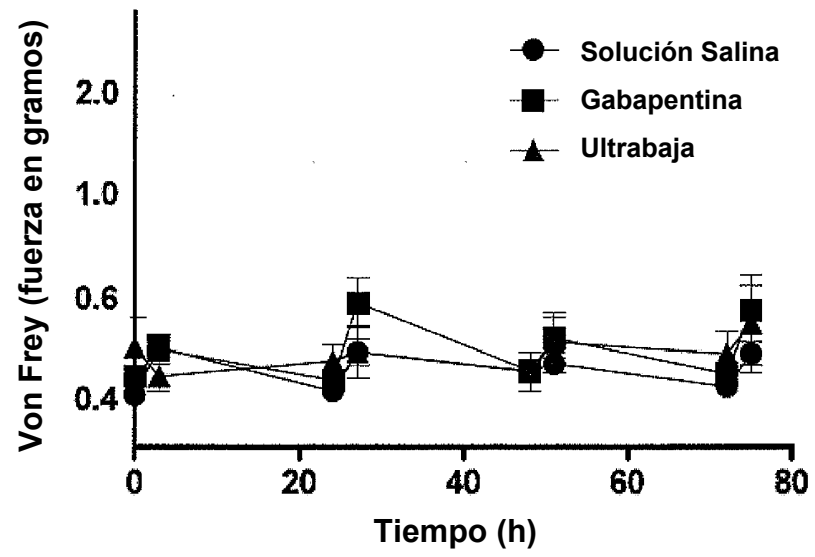
FIG. 5A



ANOVA de una vía
P = 0.0083
S v M P < 0.05
S v H P < 0.05

FIG. 5B

A



B

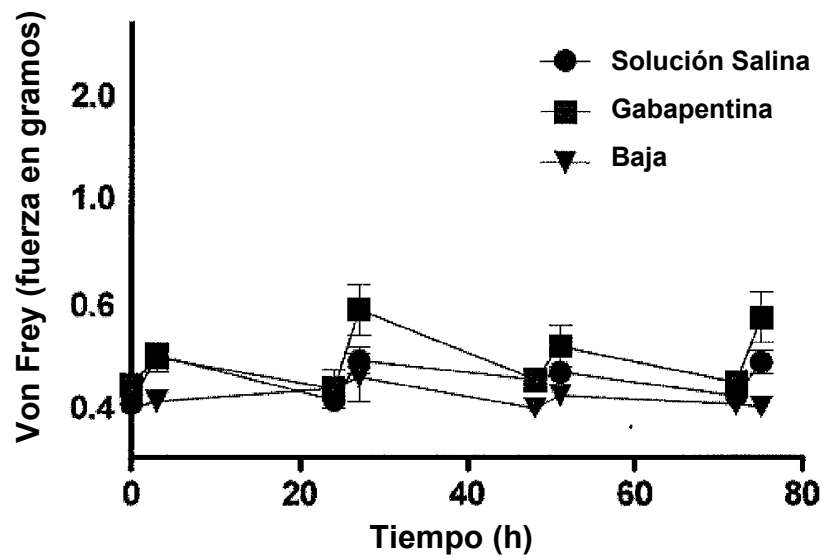
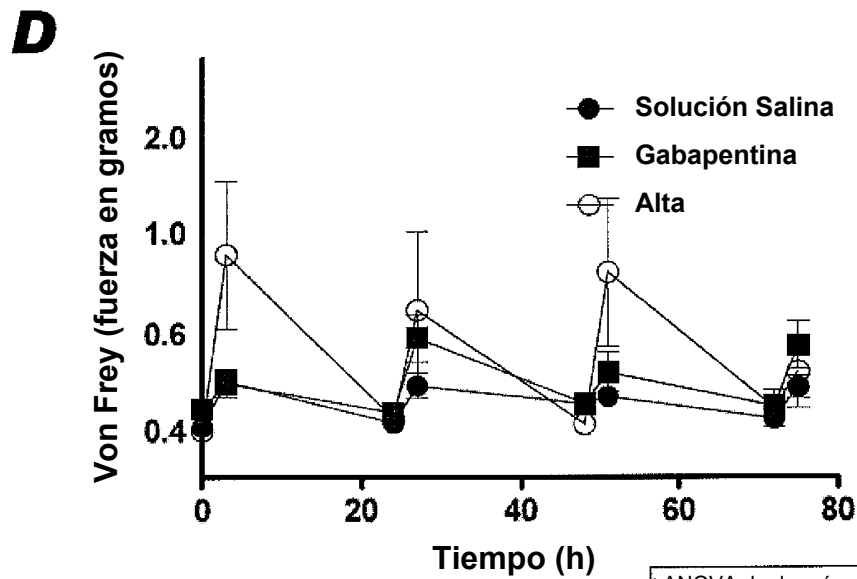
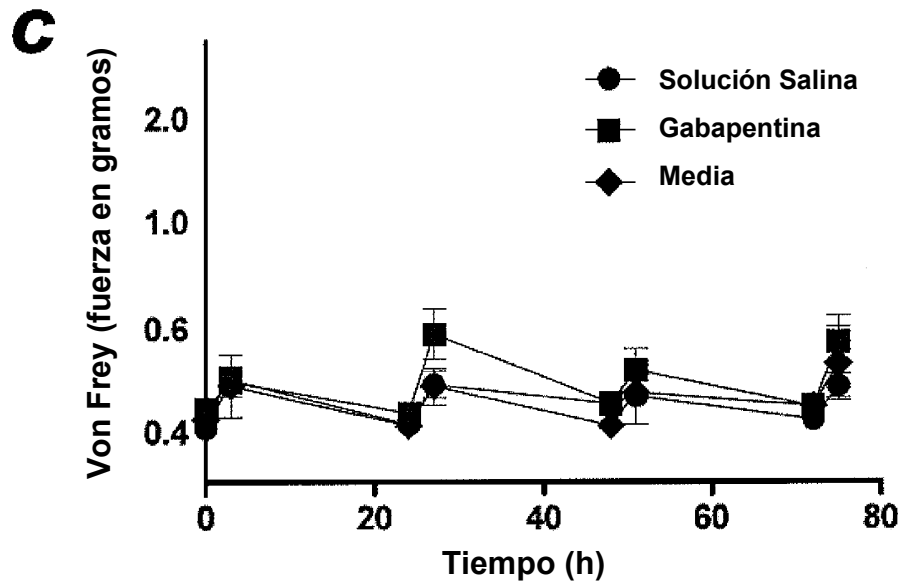


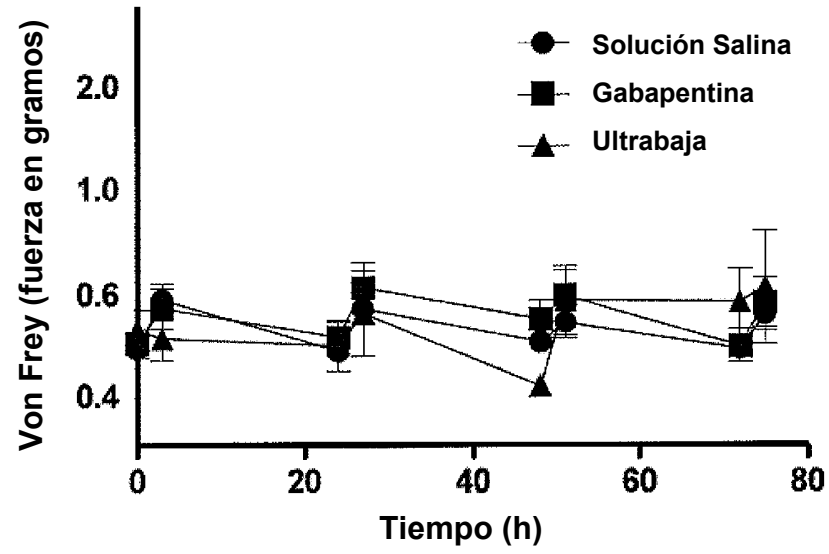
FIG. 6



ANOVA de dos vías	
Interacción	P = 0.0087
Factor Fármaco	P < 0.0001
Factor Tiempo	P < 0.0001
S v H @ 3hrs	P < 0.001
S v H @ 51hrs	P < 0.001

FIG. 6

E



F

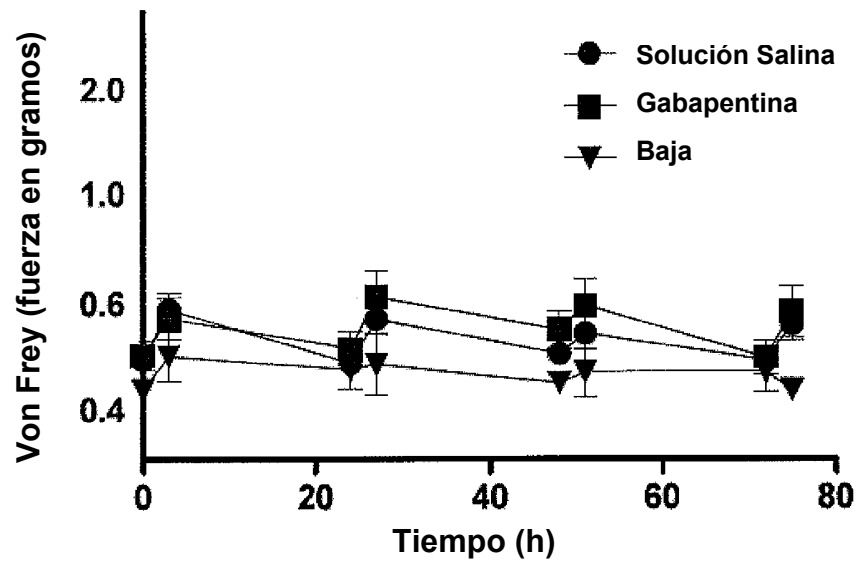


FIG. 6

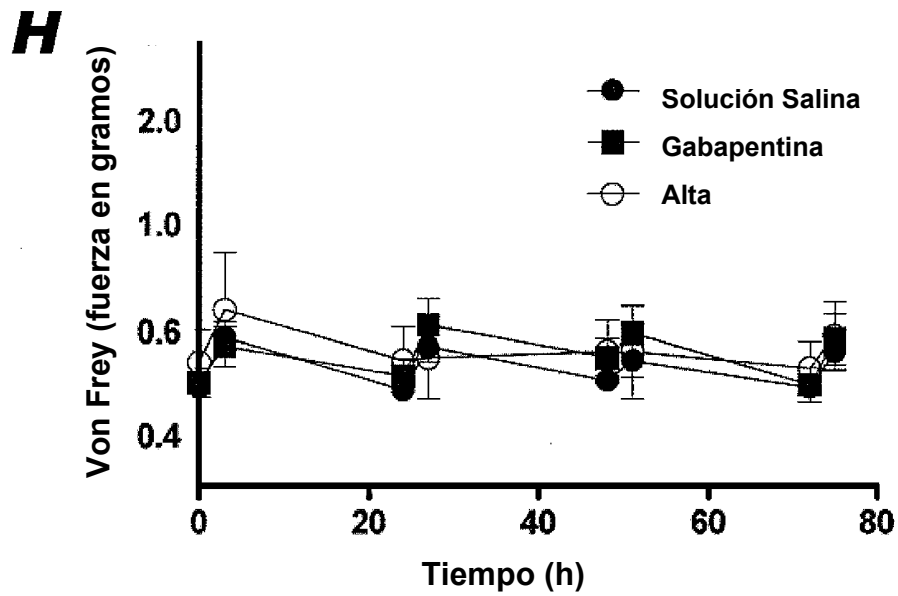
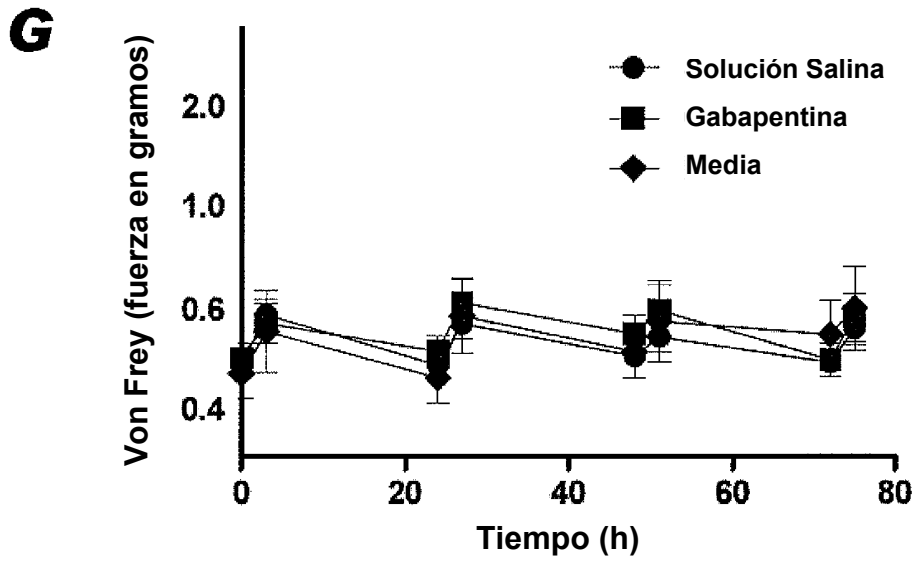
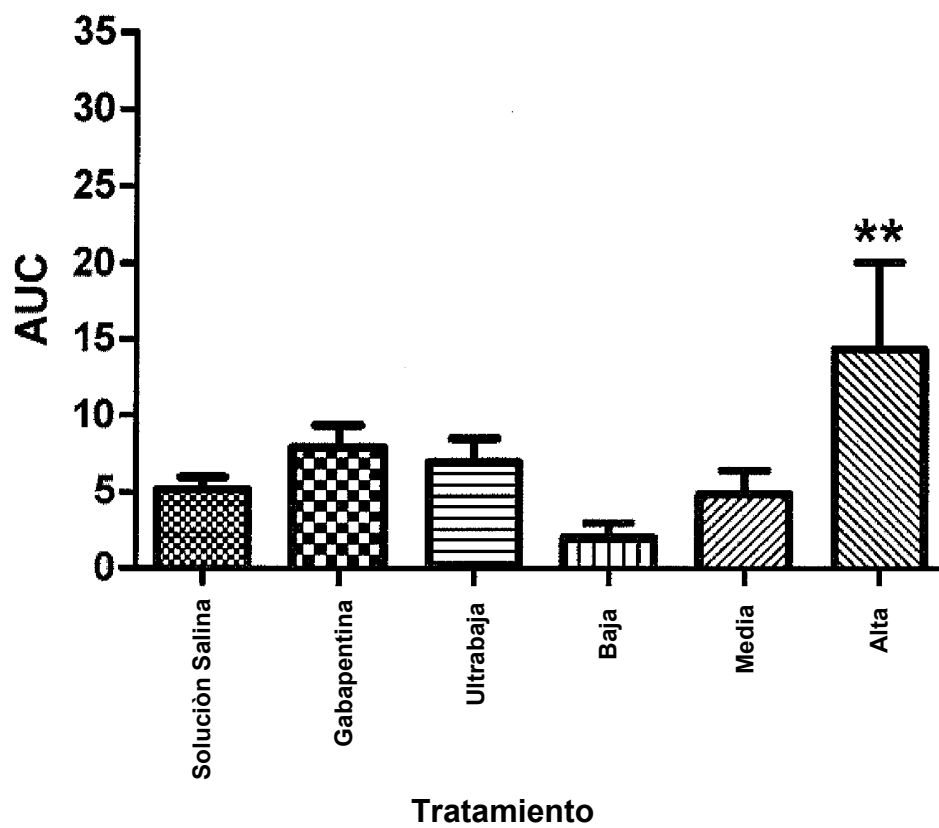


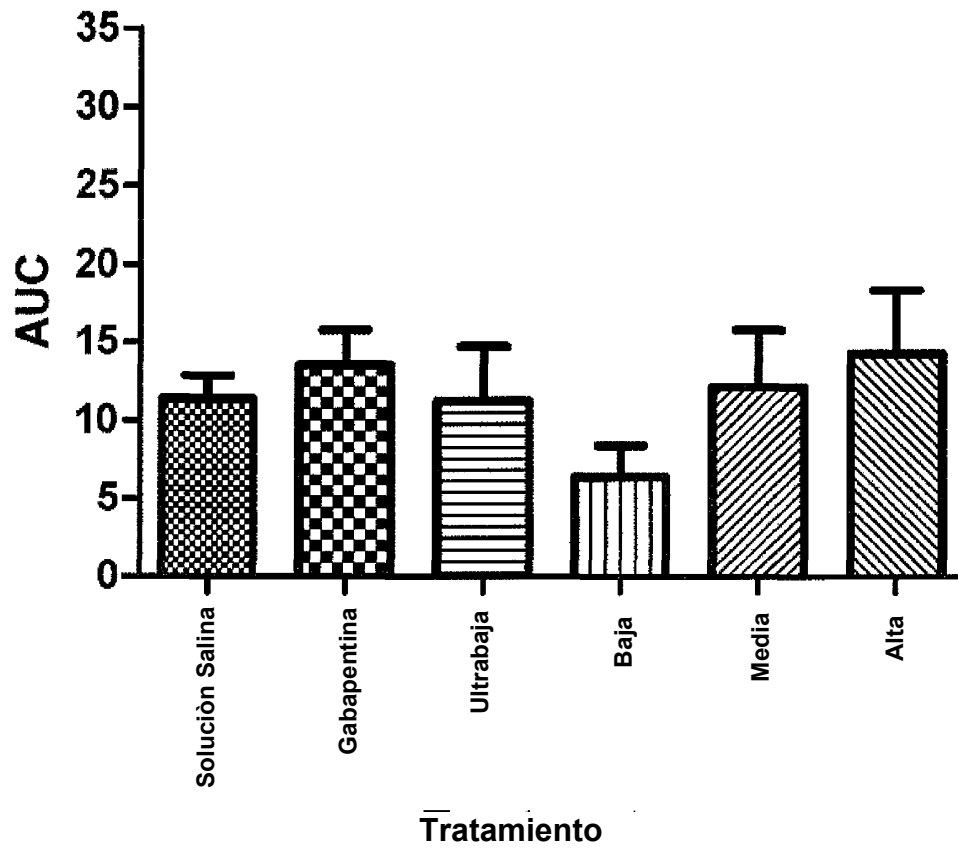
FIG. 6

ANOVA de dos vías	
Interacción	P = 0.9996
Factor Fármaco	P = 0.0086
Factor Tiempo	P = 0.0614
Sin significación post hoc	



ANOVA de una vía
P = 0.0093
S v H P < 0.01

FIG. 7A



ANOVA de una vía
P = 0.6184
Sin significación post hoc

FIG. 7B

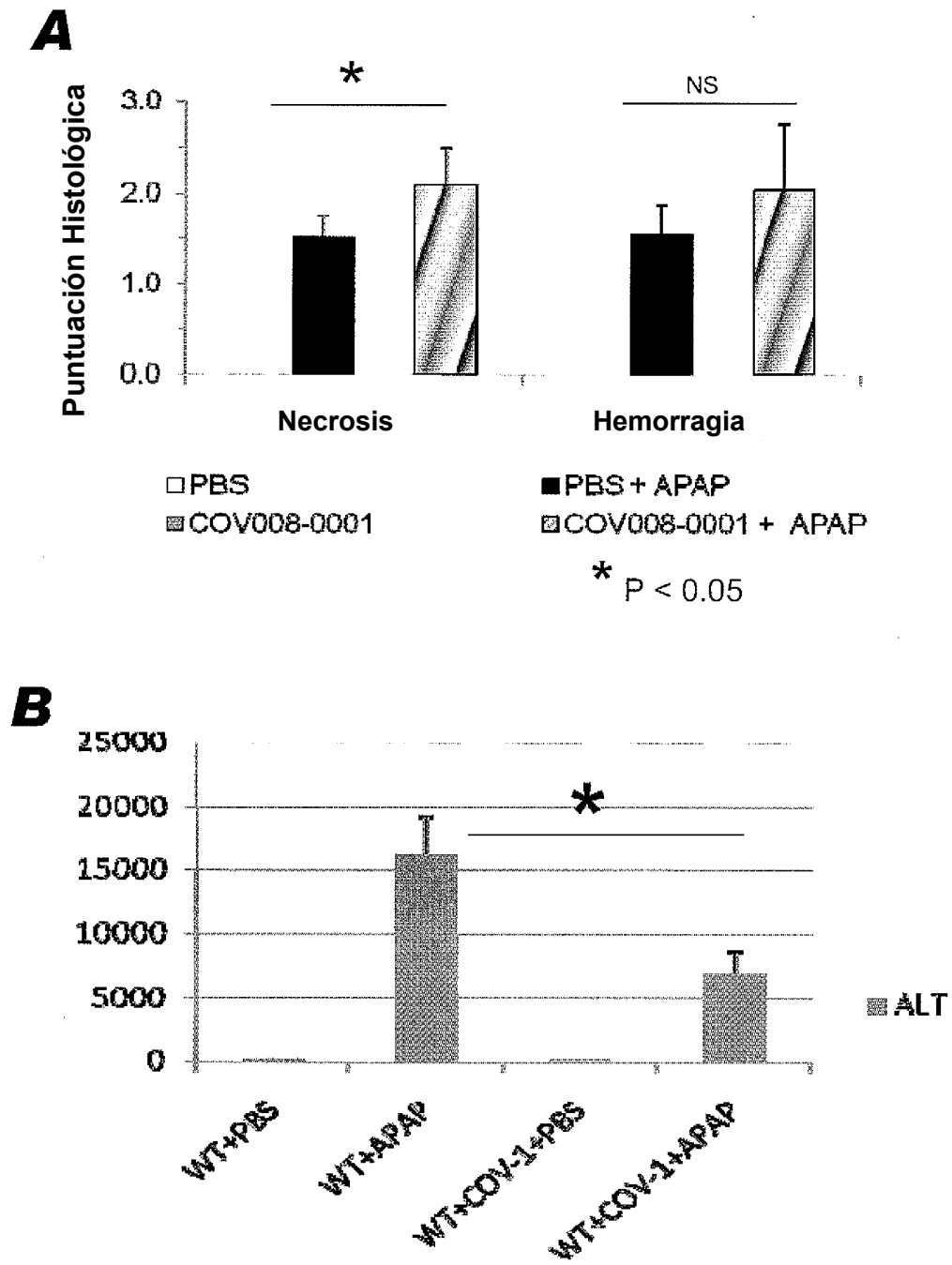


FIG. 8

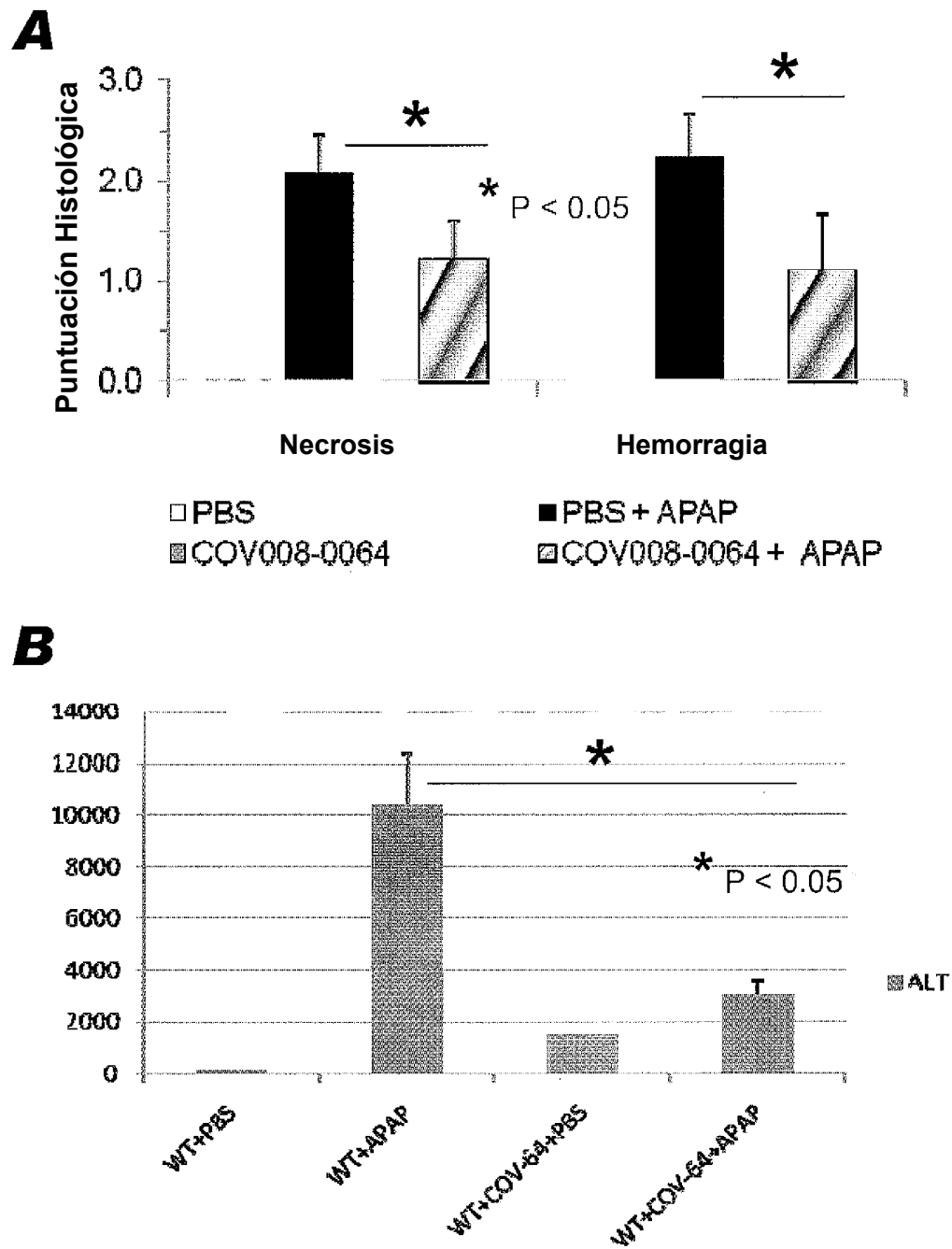


FIG. 9

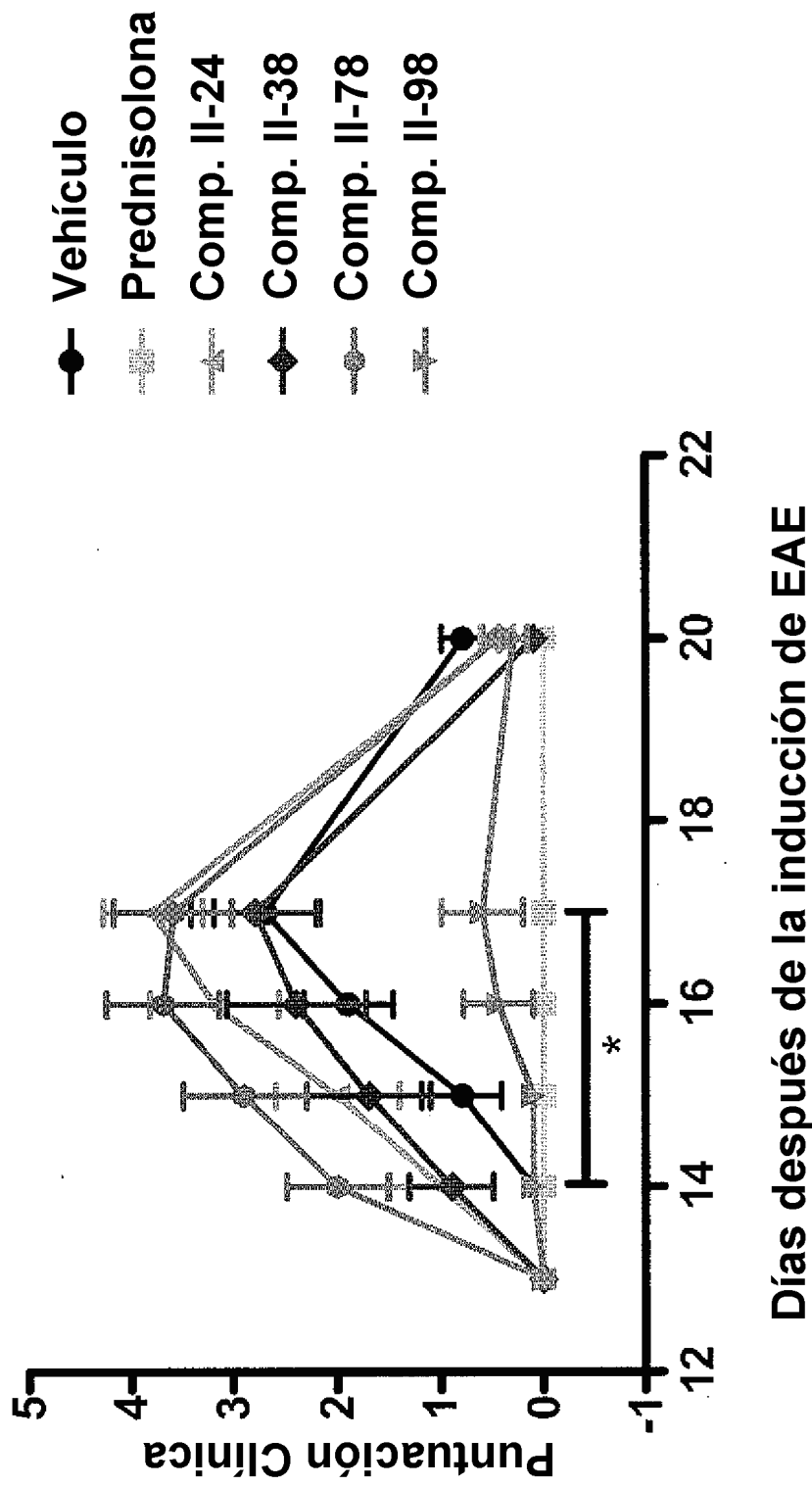


FIG. 10