

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 674 018**

51 Int. Cl.:

A61K 31/472	(2006.01)	C07D 489/10	(2006.01)
A61K 31/485	(2006.01)		
A61K 45/06	(2006.01)		
A61P 25/00	(2006.01)		
A61P 29/00	(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)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.07.2010 PCT/US2010/042210**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **20.01.2011 WO11009015**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.07.2010 E 10736929 (0)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.05.2018 EP 2453895**

54 Título: (+) - **Morfinanos como antagonistas del receptor de tipo toll 9 y usos terapéuticos de los mismos**

30 Prioridad:

16.07.2009 US 226015 P
16.12.2009 US 286877 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
26.06.2018

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

TRAWICK, BOBBY, N. y
BERBERICH, DAVID, W.

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 674 018 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

(+) - Morfinanos como antagonistas del receptor de tipo toll 9 y usos terapéuticos de los mismos

5 **Campo de la invención**

La presente divulgación se refiere generalmente a compuestos y métodos de tratamiento de inflamación, dolor y otros trastornos. En particular, la divulgación se refiere a compuestos (+)-morfinanos que comprenden actividad antagonista del receptor de tipo Toll 9 (TLR9) y métodos de uso de los compuestos para tratar afecciones asociadas con dolor e inflamación.

10 **Antecedentes de la invención**

Las células gliales activadas contribuyen al desarrollo y mantenimiento de varios estados de enfermedad. Resulta de particular interés el impacto negativo de células gliales activadas en las áreas de dolor crónico y agudo, trastornos inflamatorios, trastornos autoinmunes, trastornos neurodegenerativos y cáncer. Las células gliales han demostrado expresar numerosos receptores de tipo Toll (TLR), que son una familia de proteínas de transmembrana altamente conservadas de elevada importancia funcional en el sistema inmune innato. Los TLR se activan mediante patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) tales como liposacáridos (LPS) a partir de paredes celulares bacterianas, ADN que contiene CpG no metilado de virus y una amplia variedad de componentes microbianos adicionales. La activación de los TLR en el sistema nervioso central es conocido porque inicia cascadas de señalización proinflamatorias protectoras como parte de la primera línea de defensa frente a patógenos invasores. Además, se ha informado que una administración crónica de morfina u otros antagonistas de receptores de opioides activa las células gliales, causando la liberación de factores proinflamatorios que contrarrestan los efectos calmantes de dolor del opioide. Las células gliales activadas también han demostrado tener un papel en el control de estados de dolor crónico tales como dolor neuropático. Dados estos nuevos papeles identificados de las células gliales en el dolor, existe una necesidad de desarrollo de agentes clínicamente útiles que tengan como objetivo la activación de las células gliales como medio para controlar el dolor. El documento WO2009/059048 describe 4,5-epoximorfinanos y derivados de los mismos. Mahmood y col., Gastroenterology, Elsevier, vol. 134, n.º. 4, 1 de abril de 2008, páginas A-752 se dirige al uso de antagonistas de TLR9 en la reducción de hepatotoxicidad inducida por acetaminofeno. El documento WO 2007/127624 está dirigido a métodos y composiciones para la reducción de la invasividad de células cancerígenas que expresan un miembro de la subfamilia de TLR9. El documento WO2009/023819 se refiere a compuestos antagonistas de TLR9 y su uso terapéutico o profiláctico.

35 **Sumario de la invención**

La presente invención proporciona compuestos (+)-morfinanos que inhiben la activación del receptor tipo Toll 9 (TLR9) y, por consiguiente, bloquean la activación de las células gliales. Los compuestos de la invención, por lo tanto, pueden usarse para tratar afecciones tales como dolor traumático, dolor neuropático, trastornos inflamatorios, toxicidad por acetaminofeno, trastornos autoinmunes, trastornos neurodegenerativos y cáncer.

Un aspecto de la invención comprende un compuesto a una sal farmacéuticamente aceptable del mismo seleccionado entre el grupo que consiste en I-2, I-3, I-4, I-6, I-7, I-8, I-12, I-13, I-14, I-21, I-22, I-26, I-27, I-29, II-1, II-2, II-4, II-5, II-8, II-9, II-10, II-11, II-15, II-16, II-19, II-20, II-21, II-22, II-23, II-25, II-26, II-28, II-29, II-30, II-31, II-33, II-35, II-36, II-37, II-41, II-42, II-43, II-44, II-46, II-48, II-51, II-53, II-55, II-57, II-59, II-60, II-70, II-72, II-75, II-79, II-83, II-89, II-90, II-91, II-92, II-93, II-94, II-97, II-99, II-100, III-2, III-3, III-4 y III-5.

Otro aspecto de la invención proporciona un método para inhibir la activación de TLR9. El método comprende poner en contacto una célula in-vitro que expresa TLR9 con un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo seleccionado entre el grupo que consiste en I-1, I-2, I-3, I-4, I-6, I-7, I-8, I-12, I-13, I-14, I-21, I-22, I-25, I-26, I-27, I-28, I-29, II-1, II-2, II-4, II-5, II-7, II-10, II-11, II-15, II-19, II-21, II-23, II-25, II-26, II-29, II-35, II-36, II-37, II-38, II-42, II-43, II-60, II-62, II-63, II-71, II-72, II-74, II-76, II-78, II-82, II-86, II-88, II-90, II-91, II-92, II-93, II-95, II-96, II-98, II-99, III-1, III-2, III-3, III-4 y III-5.

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

Descripción de las figuras

La **FIG. 1** presenta detecciones de antagonista del receptor tipo Toll (TLR). Cada panel presenta los resultados para un TLR particular. Mediante un gráfico se representa la actividad de un sistema de reporte de fosfatasa alcalina secretado en densidad óptica (DO) a 650 nm para cada afección en tratamiento, que se sometió a ensayo en duplicado. Todos los agentes se sometieron a ensayo a 10 µM. **(A)** presenta la detección de antagonista de TLR2 en la que TLR2 se estimuló con HKLM a 10⁸ célula/ml. **(B)** presenta la detección de antagonista de TLR3 en la que TLR3 se estimuló con poli(I:C) a 1 µg/ml. **(C)** presenta la detección de antagonista de TLR4 en la que TLR4 se estimuló con LPS a 100 ng/ml. **(D)** presenta la detección de antagonista de TLR5 en la que TLR5 se estimuló con

Flagelina a 100 ng/ml. **(E)** presenta la detección de antagonista de TLR7 en la que TLR7 se estimuló con CL097 a 1 µg/ml. **(F)** presenta la detección de antagonista de TLR8 en la que TLR8 se estimuló con CL075 a 1 µg/ml. **(G)** presenta la detección de antagonista de TLR9 en la que TLR9 se estimuló con CpG ODN 2006 a 100 ng/ml.

5 La **FIG. 2** ilustra los efectos analgésicos de (+)-naloxona en alodinia mecánica en ratas. Se representa mediante un gráfico el umbral de alodinia del 50 % en tres puntos de tiempo para cada grupo de tratamiento el día 14. Las barras representan la media +/- SEM. **(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.

10 **Descripción detallada de la invención**

Se ha descubierto que determinados (+)-morfínicos bloquean la activación de TLR9 y, por consiguiente, la activación de células gliales. Por lo tanto, los (+)-morfínicos que comprenden actividad antagonista de TLR9 pueden usarse para tratar el dolor, así como otras afecciones asociadas con dolor e inflamación. También se ha descubierto que la inhibición de la activación de TLR9 puede usarse como herramienta de detección para identificar (+)-morfínicos que pueden ser terapéuticamente eficaces en el tratamiento de afecciones tales como dolor traumático, dolor neuropático, trastornos inflamatorios, toxicidad por acetaminofeno, trastornos autoinmunes, trastornos neurodegenerativos y cáncer. Por consiguiente, la presente invención proporciona (+)-morfínicos que comprenden actividad antagonista de TLR9 y métodos para inhibir la activación de TLR9.

20 **(I) (+)-Morfínicos que comprenden actividad antagonista de TLR9**

(a) compuestos que comprenden la Fórmula (I)

25 Un aspecto de la presente invención es la disposición de (+)-morfínicos que comprenden actividad antagonista de TLR9. El (+)-morfínico es un compuesto representado por las fórmulas (I), (II) o (III).

La Fórmula (I) es un compuesto que tiene una de las siguientes estructuras:

30

Tabla A. Compuestos de Fórmula (I)

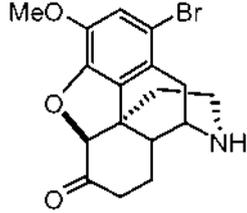
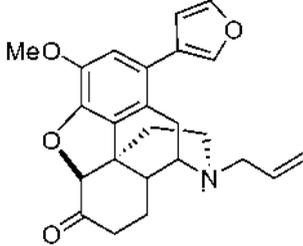
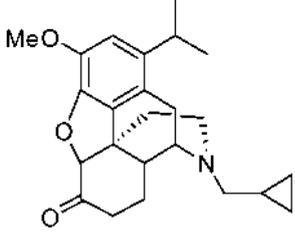
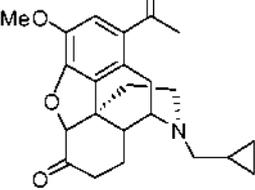
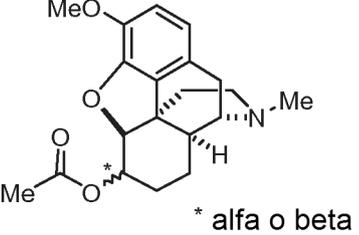
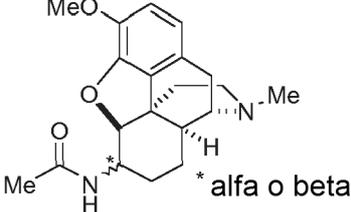
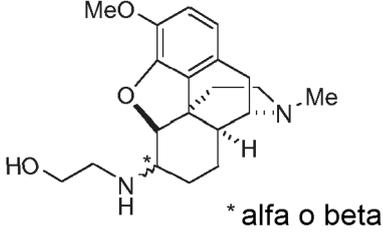
Nombre	Estructura	Nombre	Estructura
		I-2	
I-3		I-4	
		I-6	

Nombre	Estructura	Nombre	Estructura
I-7		I-8	
		I-12	
I-13		I-14	
I-21		I-22	
		I-26	
I-27			
I-29			

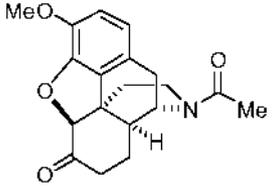
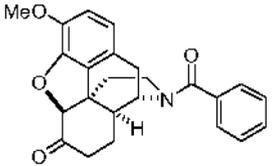
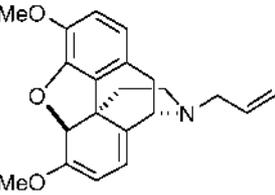
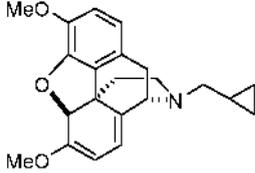
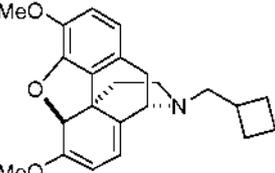
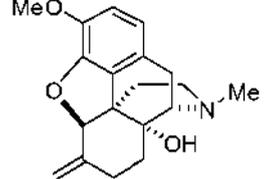
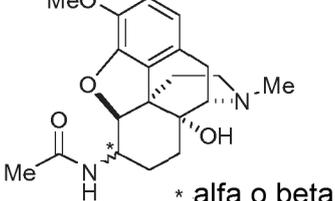
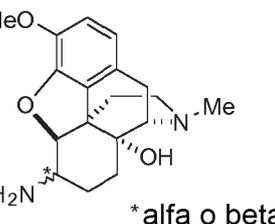
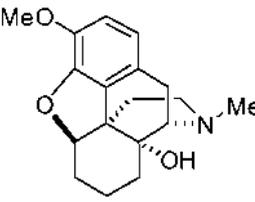
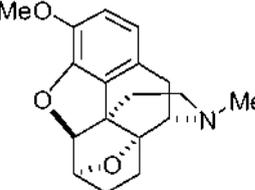
(b) compuestos de Fórmula (II)

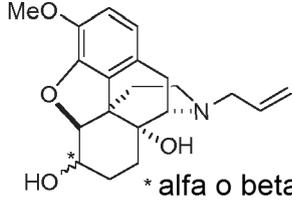
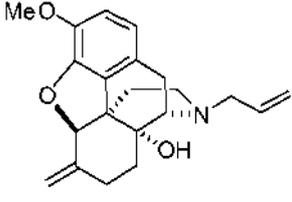
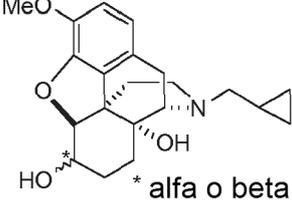
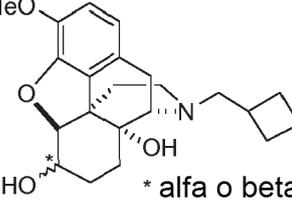
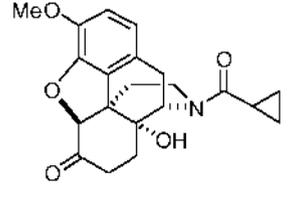
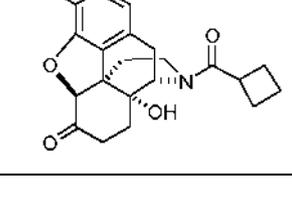
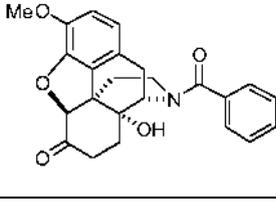
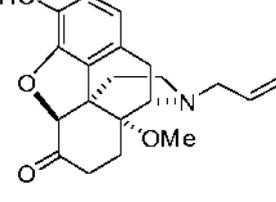
Los compuestos (+)-morfinanos de Fórmula (II) o sal farmacéuticamente aceptable de los mismos tienen las siguientes estructuras:

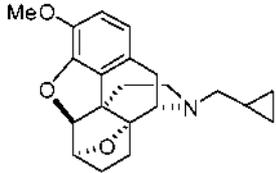
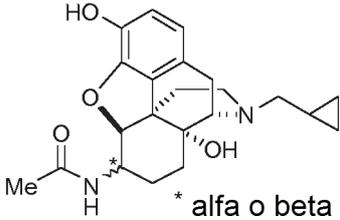
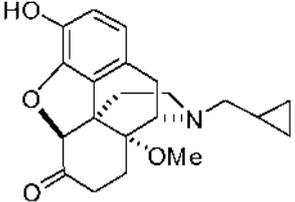
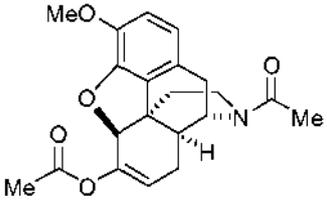
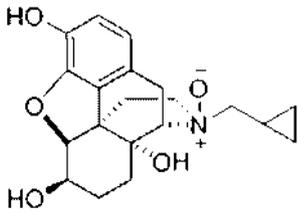
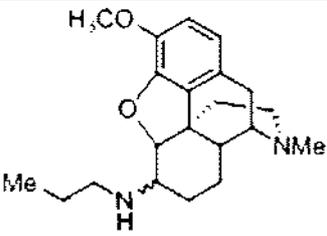
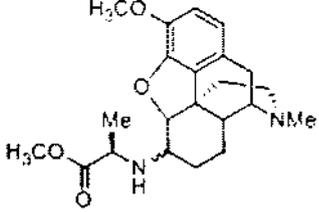
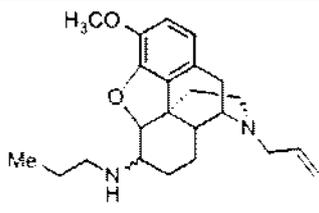
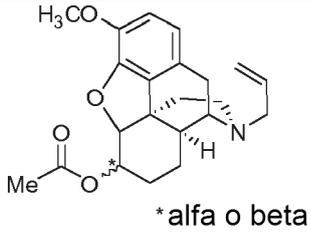
Tabla B. Compuestos de Fórmula (II)

Nombre	Estructura	Nombre	Estructura
II-1		II-2	
		II-4	
II-5			
		II-8	 * alfa o beta
II-9	 * alfa o beta	II-10	 * alfa o beta
II-11			

Nombre	Estructura	Nombre	Estructura
II-15		II-16	
II-19		II-20	
II-21		II-22	
II-23			
II-25		II-26	
		II-28	
II-29		II-30	

Nombre	Estructura	Nombre	Estructura
II-31			
II-33			
II-35		II-36	
II-37			
II-41		II-42	
II-43		II-44	
		II-46	

Nombre	Estructura	Nombre	Estructura
		II-48	
II-51			
II-53			
II-55			
II-57			
II-59		II-60	
		II-70	

Nombre	Estructura	Nombre	Estructura
		II-72	
II-75			
II-79			
II-83			
		II-90	
II-91		II-92	
II-93		II-94	

Nombre	Estructura	Nombre	Estructura
II-97			
II-99		II-100	

(c) compuestos de Fórmula (II)

5 El compuesto que tiene actividad antagonista de TLR9 representado por la Fórmula (III) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se selecciona entre las siguientes fórmulas:

Tabla C. Compuestos de Fórmula (III)

Nombre	Estructura	Nombre	Estructura
		III-2	
III-3		III-4	
III-5			

(d) sales farmacéuticamente aceptables

10 Los compuestos de las fórmulas (I), (II) o (III) pueden proporcionarse como sales farmacéuticamente aceptables. El término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sal comúnmente usada para formar una sal de metal alcalino o una sal de adición de un ácido libre o una base libre. La naturaleza de la sal puede variar, siempre y
 15 cuando sea farmacéuticamente aceptable. Las sales de adición ácidas farmacéuticamente aceptables de compuestos de la presente invención pueden prepararse a partir de un ácido inorgánico o a partir de un ácido orgánico. Ejemplos de tales ácidos inorgánicos son el ácido clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, nítrico, carbónico, sulfúrico y fosfórico. Los ácidos orgánicos apropiados pueden seleccionarse a partir de ácidos alifáticos, cicloalifáticos, aromáticos, aralifáticos, heterocíclicos, carboxílicos y clases sulfónicas de ácidos orgánicos, ejemplos
 20 de los cuales son el 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-hidroxi-etanosulfónico, toluenosulfónico, sulfanílico, ciclohexilaminosulfónico, esteárico, algénico, hidroxibutírico, salicílico, galactárico y galacturónico. Las sales de adición de bases farmacéuticamente aceptables de compuestos de la presente invención incluyen sales de metales elaboradas a partir de aluminio, calcio, litio, magnesio, potasio, sodio y zinc o sales orgánicas elaboradas a partir de N, N'-dibencietilendiamina, cloroprocaína, colina, dietanolamina, etilendiamina, meglumina-(N-metilglucamina) y procaína. Todas estas sales pueden prepararse mediante medios convencionales a partir del compuesto correspondiente haciendo reaccionar, por ejemplo, el ácido o base apropiada con cualquiera de los compuestos de la invención.

(e) estereoquímica

Cada uno de los compuestos de fórmulas (I), (II) o (III) tiene una (+) orientación con respecto a la rotación de luz polarizada. Más específicamente, cada carbono quiral tiene una configuración R o S. Como se apreciará por un experto en la técnica, la configuración R o S para un compuesto dado cambiará dependiendo de la Fórmula particular, es decir, (I), (II) o (III) y el patrón de sustitución del compuesto.

(II) Usos terapéuticos de antagonistas de TLR9

También se describe un método para el tratamiento de una afección en un sujeto. En general, el método comprende la administración al sujeto de al menos un (+)-morfinano que comprende actividad antagonista de TLR9 bien solo o en combinación con al menos un agente terapéutico adicional. En general, el compuesto se selecciona entre las Fórmulas (I), (II), (III) o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas. Puede tratarse una variedad de trastornos o estados de trastornos con los compuestos de la invención. Los trastornos y enfermedades adecuadas que puede tratarse incluyen afecciones de dolor, trastornos inflamatorios, toxicidad por acetaminofeno, trastornos autoinmunes, trastornos neurodegenerativos y cáncer.

El sujeto a tratar puede ser cualquier sujeto que tenga una de las afecciones indicadas. Como alternativa, el sujeto a tratar puede tener la necesidad de tratamiento de la afección. Es decir, el sujeto ha sido diagnosticado con la afección o tiene riesgo de desarrollar la afección. El sujeto puede estar diagnosticado con la afección usando ensayos diagnósticos y clínicos que son bien conocidos. Además, los expertos en la técnica apreciarán que se usan distintos ensayos diagnósticos o clínicos para diagnosticar las distintas enfermedades o afecciones. Las herramientas de diagnóstico incluyen, sin limitación, la examinación física, antecedentes del paciente, ensayos de detección, ensayos de laboratorio, ensayos moleculares, ensayos genómicos, herramientas de formación de imágenes, ensayos físicos y ensayos mentales. Puesto que la percepción de dolor puede ser algo subjetiva, pueden usarse herramientas tales como el Cuestionario de dolor de McGill para evaluar la calidad de dolor (por ejemplo, agudo, punzante, opresivo, etc.) y la intensidad de dolor puede cuantificarse usando una escala numérica que varía de 0 a 10. Los especialistas expertos están familiarizados con otros indicadores de dolor.

En general, el sujeto será un humano. Sin embargo, pueden usarse otros sujetos mamíferos. Entre los sujetos mamíferos adecuados se incluyen; animales de compañía, tales como gatos o perros; animales de ganadería, tales como vacas, cerdos, caballos, ovejas y cabras; animales de zoo; y animales de estudio, tales como primates no humanos y roedores.

(a) afecciones

(i) afecciones de dolor

El compuesto que comprende Fórmulas (I), (II), (III) o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas puede usarse solo o en combinación con al menos un agente terapéutico adicional para el tratamiento de dolor. Tal como se usa en el presente documento, el término "dolor" se refiere a la experiencia sensorial y emocional desagradable asociada con daño tisular real o percibido por un estímulo nocivo. El dolor puede ser agudo o crónico. Por ejemplo, el dolor puede ser dolor traumático o inflamatorio, que resulta a partir de una lesión a un tejido no nervioso. Entre los ejemplos no limitantes de dolor traumático o inflamatorio se incluye aracnoiditis, artritis, dolor de espalda, dolor de quemadura, síndrome de dolor central, dolor de cáncer, cefaleas (entre las que se incluyen migrañas, cefaleas en racimos y cefaleas tensionales); dolor de cabeza y facial, dolor muscular (entre las que se incluye fibromialgia), síndromes de dolor miofascial; síndrome de distrofia simpática refleja, lesiones por estrés repetitivo, ciática, herpes y otros trastornos cutáneos, lesiones deportivas, estenosis espinal, dolor postoperatorio, trastornos temporomandibulares, traumatismo y/o enfermedad o lesión vascular.

Como alternativa, el dolor puede ser dolor neuropático, que resulta a partir la lesión a o la inflamación del sistema nervioso central o periférico. El dolor neuropático puede producirse en cualquier parte del cuerpo y se describe frecuentemente como una sensación caliente, de quemazón, que puede ser devastadora para el individuo afectado. El dolor neuropático puede ser agudo o crónico; puede resultar de enfermedades que afectan a los nervios (tales como diabetes), de traumatismos, procedimientos quirúrgicos, artritis, SIDA, lesiones de quemaduras, enfermedad cerebral o de la columna lumbar, fibromialgia, dolor post-isquémico, tumores, neuralgias virales o, debido a fármacos quimioterapéuticos que pueden afectar a los nervios, puede ser una consecuencia del tratamiento

contra el cáncer. Entre las muchas afecciones de dolor neuropático está la neuropatía diabética (que resulta del daño neurológico derivado de problemas vasculares que se producen con la diabetes); síndrome de distrofia simpática refleja, que puede seguirle lesión; miembro fantasma y dolor post-amputación, que puede resultar extirpación quirúrgica de un miembro; neuralgia post-herpética, que puede producirse después de una aparición de herpes; y síndrome de dolor regional complejo o síndrome de dolor central, que puede resultar de un traumatismo al cerebro o a la médula espinal.

Entre los síntomas características del dolor neuropático se incluye hiperestesia (es decir, sensibilidad aumentada a un estímulo natural); alodinia (es decir, sensibilidad generalizada o hipersensibilidad a estímulos táctiles); hiperalgesia (es decir, sensibilidad anormal al dolor); dolor de quemazón espontáneo; y/o dolor fantasma (es decir, percepción de dolor que no existe). La hiperestesia implica una sensibilidad aumentada o alterada inusual a estímulos sensoriales, incluyendo, por ejemplo, acústico, cerebral, gustativo, muscular, olfativo, onérrico, óptico o táctil. Como ejemplo, una sensación dolorosa a partir de un estímulo al tacto normalmente indoloro. La alodinia implica una percepción intensificada, desagradable y dolorosa de estímulos desencadenados por el calor o por contacto, que se basa en una disminución del umbral de dolor para estos estímulos, incluyendo, por ejemplo, un estímulo no nocivo para la piel normal. La hiperalgesia implica la percepción excesiva de una variedad de estímulos, de nuevo basándose en una disminución del umbral de dolor y, por lo tanto, una sensación de dolor aumentada, incluyendo, por ejemplo, estímulos auditivos o musculares. El dolor fantasma implica una percepción de dolor en un miembro que no existe, tal como dolor percibido en un miembro que ha sido amputado, es decir, síndrome de miembro fantasma.

(II) trastornos inflamatorios

El compuesto de las Fórmulas (I), (II), (III) o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas puede usarse solo o en combinación con al menos un agente terapéutico adicional para el tratamiento de inflamación en un sujeto. Por ejemplo, el trastorno inflamatorio puede ser artritis que incluye, aunque no de forma limitativa, artritis reumatoide, espondiloartropatías, artritis gotosa, osteoartritis, lupus eritematoso sistémico o artritis juvenil. En algunas realizaciones, la inflamación puede asociarse con asma, rinitis alérgica, enfermedades sinusales, bronquitis, tuberculosis, pancreatitis aguda, sepsis, enfermedades infecciosas, dolores menstruales, parto prematuro, tendinitis, bursitis, afecciones relacionadas con la piel tales como psoriasis, eccema, dermatitis atópica, urticaria, dermatitis, dermatitis de contacto y quemaduras o de inflamación post-operatoria incluyendo de cirugía oftálmica tal como cirugía de cataratas y cirugía refractiva. El trastorno inflamatorio puede ser una afección gastrointestinal tal como enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Crohn, gastritis, síndrome del intestino irritable, colecistitis crónica o colitis ulcerosa. La inflamación puede estar asociada con enfermedades tales como enfermedades vasculares, dolores de cabeza de tipo migraña, periarteritis nodosa, tiroiditis, anemia aplásica, enfermedad de Hodgkin, esclerodoma, fiebre reumática, diabetes de tipo I, enfermedad de la junta neuromuscular incluyendo miastenia grave, enfermedad de la materia blanca incluyendo esclerosis múltiple, sarcoidosis, síndrome nefrítico, síndrome de Behcet, polimiositis, gingivitis, nefritis, hipersensibilidad, hinchazón que ocurre después de una lesión, isquemia miocárdica, rinitis alérgica, síndrome de dificultad respiratoria, síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS), inflamación asociada al cáncer, reducción de angiogénesis asociada a tumor, síndrome de shock de endotoxina y aterosclerosis. EL trastorno inflamatorio puede estar asociado con una enfermedad oftálmica, tal como retinitis, retinopatías, uveítis, fotofobia ocular o de lesión aguda al tejido ocular. la inflamación puede ser una inflamación pulmonar, tal como la asociada con infecciones virales y fibrosis quística, enfermedad pulmonar obstructiva crónica o síndrome de dificultad respiratoria agudo. El trastorno inflamatorio puede también estar asociado con el rechazo tisular, enfermedad de injerto frente a huésped, hipersensibilidad retardada, así como elementos mediados por mecanismos inmunitarios e inflamatorios de enfermedades del SNC tales como Alzheimer, Parkinson y esclerosis múltiple.

(iii) toxicidad por acetaminofeno

El compuesto de las Fórmulas (I), (II), (III) o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas también puede estar solo o en combinación con al menos un otro agente terapéutico para el tratamiento de toxicidad por acetaminofeno, (también conocido como toxicidad por paracetamol). Los altos niveles de acetaminofeno pueden llevar al daño del hígado (es decir, hepatotoxicidad inducida por acetaminofeno) o del riñón (es decir, nefrotoxicidad inducida por acetaminofeno). La toxicidad por acetaminofeno puede resultar de una sobredosis aguda de acetaminofeno o una sobredosis crónica de acetaminofeno. La cantidad de acetaminofeno ingerida en la que se produce la toxicidad puede reducirse con el uso de etanol crónico, la desnutrición o el estado nutricional debilitado, ayunas o enfermedad vírica con deshidratación o el uso de determinantes agentes farmacéuticos que interactúan con los sistemas enzimáticos que metabolizan el acetaminofeno.

La hepatotoxicidad inducida por acetaminofeno puede manifestarse mediante daño oxidativo celular, disfunción mitocondrial y una posterior respuesta inflamatoria. El daño celular puede controlarse mediante niveles elevados de alanina transaminasa (ALT) en suero o aspartato transaminasa (AST) en suero, y la respuesta inflamatoria puede controlarse mediante niveles aumentados de niveles de transcripción de pro-interleucina(IL)-1beta. La hepatotoxicidad inducida por acetaminofeno también puede llevar a una lesión hepatocelular, muerte y necrosis de hígado

centrilobular (zona III). Se producen reacciones enzimáticas similares en el riñón y pueden contribuir a algún grado de la disfunción de órganos extrahepáticos.

(iv) trastornos autoinmunes

5 El compuesto de las Fórmulas (I), (II), (III) o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas también puede estar solo o en combinación con al menos un otro agente terapéutico para el tratamiento de una enfermedad o trastorno autoinmune. El trastorno autoinmune puede ser sistémico, tal como Lupus, en el que muchos tejidos u
 10 órganos se ven afectado o dañados. Como alternativa, el trastorno autoinmune puede ser localizado, tal como diabetes mellitus de tipo I, donde un único órgano o tejido está dañado o afectado. Ejemplos no limitantes de trastornos autoinmunes incluyen encefalomiелitis diseminada aguda (ADEM), enfermedad de Addison, alopecia areata, síndrome de anticuerpos antifosfolípidicos (SAF), anemia hemolítica autoinmunitaria, hepatitis autoinmune, enfermedad de oído interno autoinmune, penfigoide bulloso, enfermedad celíaca, enfermedad de Chagas, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedad de Crohn, dermatomiositis, diabetes mellitus tipo 1,
 15 endometriosis, síndrome de Goodpasture, enfermedad de Graves, síndrome de Guillain-Barre (SGB), tiroiditis de Hashimoto, hidradenitis supurativa, enfermedad de Kawasaki, nefropatía de IgA, púrpura trombocitopénica idiopática, cistitis intersticial, lupus eritematoso (Lupus), enfermedad mixta del tejido conectivo, morfea, esclerosis múltiple, miastenia grave, narcolepsia, neuromiotonía, pénfigo vulgar, anemia perniciosa, psoriasis, artritis psoriática, polimialgia reumática, polimiositis, cirrosis biliar primaria, artritis reumatoide y artritis reumatoide juvenil, esquizofrenia, escleroderma, colangitis esclerosante, síndrome de Sjogren, síndrome de la persona rígida, arteritis temporal/arteritis de células gigantes, colitis ulcerativa, vasculitis, vitiligo y granulomatosis de Wegener.

(v) trastornos neurodegenerativos

25 El compuesto de las Fórmulas (I), (II), (III) o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas también puede usarse solo o en combinación con al menos un otro agente terapéutico para el tratamiento de un trastorno neurodegenerativo. Ejemplos no limitantes de trastornos neurodegenerativos incluyen leucodistrofia adrenal, trastornos relacionados con la edad y demencias, alcoholismo, enfermedad de Alexander, enfermedad de Alper, enfermedad de Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica (enfermedad de Lou Gehrig), ataxia telangiectasia, enfermedad de Batten (también conocida como enfermedad de Spielmeyer-Vogt-Sjögren-Batten), encefalopatía espongiiforme bovina (EEB), enfermedad de Canavan, parálisis cerebral, síndrome de Cockayne, degeneración corticobasal (DCB), enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, insomnio familiar letal, degeneración lobular frontotemporal, demencia frontotemporal (DFT), enfermedad de Huntington, demencia asociada con el HIV, enfermedad de Kennedy, enfermedad de Krabbe, enfermedad con cuerpos de Lewy, neuroborreliosis, enfermedad de Machado-Joseph (ataxia espinocerebelar de tipo 3), atrofia multisistémica, esclerosis múltiple, narcolepsia, enfermedad de Niemann Pick, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Pelizaeus-Merzbacher, enfermedad de Pick, esclerosis lateral primaria, parálisis supranuclear progresiva (PSP), trastornos psicóticos, enfermedad de Refsum, enfermedad de Sandhoff, enfermedad de Schilder, trastorno esquizoafectivo, esquizofrenia, accidente cerebrovascular, degeneración combinada subaguda de médula espinal causada por anemia perniciosa, ataxia espinocerebelar,
 30 atrofia muscular espinal, enfermedad de SteeleRichardson-Olszewski, Tabes dorsalis y encefalopatía tóxica.

(vi) cánceres

45 El compuesto de las Fórmulas (I), (II), (III) o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas puede usarse en combinación con un agente quimioterapéutico para el tratamiento de un neoplasma o un cáncer. El neoplasma puede ser maligno o benigno, el cáncer puede ser primario o metastásico; el neoplasma o cáncer puede encontrarse en una fase temprana o una fase tardía. Ejemplos no limitantes de neoplasmas o cáncer que pueden tratarse incluyen leucemia linfoblástica aguda, leucemia mieloide aguda, carcinoma adrenocortical, cánceres relacionados con SIDA, linfoma relacionado con SIDA, cáncer anal, cáncer de apéndice, astrocitomas (cerebeloso o cerebral infantil), carcinoma de células basales, cáncer del conducto biliar, cáncer de vejiga, cáncer óseo, glioma del tronco encefálico, tumores cerebrales (astrocitoma cerebeloso, astrocitoma cerebral/glioma maligno, ependimoma, meduloblastoma, tumores neuroectodérmicos primitivos supratentoriales, gliomas de la vía visual e hipotalámica, cáncer de mama, adenomas/tumores carcinoides bronquiales, linfoma de Burkitt, tumor carcinoide (infancia, gastrointestinal), carcinoma de primario desconocido, linfoma del sistema nervioso central (primario), astrocitoma cerebelar, astrocitoma cerebral/glioma maligno, cáncer de cuello de útero, cánceres infantiles, leucemia linfocítica crónica, leucemia mielógena crónica, trastornos mieloproliferativos crónicos, cáncer de colon, linfoma cutáneo de linfocitos T, tumor desmoplásico de células redondas pequeñas, cáncer de endometrio, ependimoma, cáncer de esófago, sarcoma de Ewing en la familia de tumores de Ewing, tumor de células germinales extracraneales (infancia), tumor de células germinales extragonadal, cáncer del conducto biliar extrahepático, cánceres de ojo (melanoma intraocular, retinoblastoma), cáncer de vesícula biliar, cáncer gástrico (estómago), tumor carcinoide gastrointestinal, tumor estromal gastrointestinal, tumores de células germinales (infancia extracraneal, extragonadal y de ovario), tumor trofoblástico gestacional, gliomas (adulto, del tronco encefálico infantil, de astrocitoma cerebral infantil, de la vía visual e hipotalámica infantil), carcinoide gástrico, tricoleucemia, cáncer de cabeza y cuello, cáncer hepatocelular (hígado), linfoma de Hodgkin, cáncer hipofaríngeo, glioma del hipotálamo y de las vías ópticas
 60 (infancia), melanoma intraocular, carcinoma de las células de los islotes, sarcoma de Kaposi, cáncer de riñón

(cáncer de células renales), cáncer de laringe, leucemias (linfoblástica aguda, mieloide aguda, linfocítica crónica, mielógena crónica y tricoleucemia), cáncer de labio y de la cavidad oral, cáncer de hígado (primario), cánceres de pulmón (no microcítico, microcítico), linfomas (relacionado con el SIDA, de Burkitt, cutáneo de linfocitos T, de Hodgkin, de no Hodgkin, linfoma primario del sistema nervioso central), macroglobulinemia (Waldenström),
 5 histiocitoma fibroso maligno del hueso/osteosarcoma, meduloblastoma (infancia), melanoma, melanoma intraocular, carcinoma de células de Merkel, mesoteliomas (maligno del adulto, infancia), cáncer de cuello escamoso metastásico primario oculto, cáncer de boca, síndrome neoplásico endocrino múltiple (infancia), mieloma múltiple/neoplasia de células plasmáticas, micosis fungoide, síndromes mielodisplásicos, enfermedades mielodisplásicas/mieloproliferativas, leucemia mielógena (crónica), leucemias mieloide (aguda del adulto, aguda de la infancia), mieloma múltiple, trastornos mieloproliferativos (crónicos), cáncer de la cavidad nasal y del seno paranasal, carcinoma nasofaríngeo, neuroblastoma, linfoma no Hodgkin, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer oral, cáncer orofaríngeo, osteosarcoma/histiocitoma fibroso maligno del hueso, cáncer de ovario, cáncer epitelial ovárico (tumor estromal-epitelial de la superficie), tumor de células germinales ováricas, tumor de ovario de bajo potencial maligno, cáncer de páncreas, cáncer de páncreas (células de los islotes), cáncer del seno paranasal y cáncer de la cavidad nasal, cáncer paratiroideo, cáncer de pene, cáncer de faringe, feocromocitoma, astrocitoma pineal, germinoma pineal, pineoblastoma y tumores neuroectodérmicos primitivos supratentoriales (infancia), adenoma pituitario, neoplasia de células plasmáticas, blastoma pleuropulmonar, linfoma del sistema nervioso central primario, cáncer de próstata, cáncer rectal, carcinoma de las células renales (cáncer de riñón), cáncer de células transicionales, de pelvis renal y uréter, retinoblastoma, rhabdomyosarcoma (infancia), cáncer de las glándulas salivales, sarcoma (tumores de la familia de Ewing, Kaposi, tejido blando, uterino), síndrome de Sezary, cáncer de piel (no melanoma, melanoma), cáncer de piel (células de Merkel), cáncer de pulmón microcítico, cáncer de intestino delgado, sarcoma de tejidos blandos, carcinoma de células escamosas, cáncer de cuello escamoso con primario oculto (metastásico), cáncer de estómago, tumor neuroectodérmico primitivo supratentorial (infancia), linfoma de linfocitos T (cutáneo), cáncer de testículos, cáncer de garganta, timoma (infancia), timoma y carcinoma tímico,
 10 15 20 25 30

(b) formulaciones de tratamiento

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

35 El método de tratamiento puede comprender la administración al sujeto de al menos un (+)-morfinano que comprende actividad antagonista de TLR9. En general, el antagonista de TLR9 es un compuesto de Fórmulas (I), (II), (III) o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas. Se detallan sales adecuadas farmacéuticamente aceptables anteriormente en la sección (I)(d).

40 Los compuestos de la presente invención pueden formularse en composiciones farmacéuticas y administrarse mediante una cantidad de distintos medios que suministrarán una dosis terapéuticamente eficaz. Tales composiciones pueden administrarse por vía oral, parenteral, mediante pulverización para inhalación, rectal, intradérmica, intratecal, transdérmica o tópica en formulaciones unitarias de dosificación que contienen excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos convencionales, adyuvantes y vehículos como se desee. La administración
 45 tópica también puede implicar el uso de administración transdérmica tal como parches transdérmicos o dispositivos de iontoforesis. La formulación de agentes terapéuticos se describe en, por ejemplo, Gennaro, A. R., Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pa. (18ª ed, 1995), y Liberman, H. A. and Lachman, L., Eds., Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Dekker Inc., Nueva York, N.Y. (1980).

50 Las preparaciones para la administración oral generalmente contienen excipientes inertes además del principio farmacéutico activo. Las preparaciones orales pueden estar encapsuladas en cápsulas de gelatina o comprimidas en comprimidos. Los excipientes comunes usados en tales preparaciones incluyen cargas/diluyentes farmacéuticamente compatibles tales como celulosa microcristalina, hidroxipropilmetilcelulosa, almidón, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol, sorbitol, fosfato de calcio dibásico o carbonato cálcico; agentes aglutinantes tales como ácido alginico, carboximetilcelulosa, celulosa microcristalina, gelatina, goma tragacanto o polivinilpirrolidona; agentes desintegrantes tales como ácido alginico, 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 silicona coloidal; agentes edulcorantes tales como sacarosa o sacarina; agentes potenciadores del sabor tales como menta, salicilato de metilo o sabor cítrico; agentes colorantes; y conservantes tales como antioxidantes (por ejemplo, vitamina A, vitamina C, vitamina E o palmitato de retinol), ácido cítrico o citrato sódico. Las preparaciones orales
 60 también pueden administrarse como suspensiones acuosas, elixires o jarabes. Para estos, el principio activo puede estar combinado con diversos agentes edulcorantes o potenciadores del sabor, agentes colorantes y, si así se desea, agentes emulsionantes y/o de suspensión, así como diluyentes tales como agua, etanol, glicerina y combinaciones de los mismos.

65

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

Para la administración tópica (por ejemplo, transdérmica o transmucosa), los penetrantes apropiados para que la barrera sea permeada se incluyen generalmente en la preparación. La administración transmucosa puede conseguirse mediante el uso de pulverizaciones nasales, pulverizaciones de aerosol, comprimidos o supositorios y la administración transdérmica puede ser a través de ungüentos, pomadas, geles, parches o cremas tal como se conoce generalmente en la técnica.

La cantidad de agente que se administra a un sujeto puede variar y variará dependiendo del tipo de agente, el sujeto y el modo particular de administración. Los expertos en la técnica apreciarán que las dosificaciones también pueden determinarse con la guía de Goodman & Goldman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, décima edición (2001), Apéndice II, págs. 475-493, y Physicians' Desk Reference.

(ii) formulaciones de combinación

El método de tratamiento puede comprender la administración al sujeto de una formulación de combinación que comprende al menos un (+)-morfinano antagonista de TLR9 y al menos otro agente terapéutico. En general, el antagonista de TLR9 es un compuesto de Fórmulas (I), (II), (III) o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas. Está previsto que cuando la formulación de combinación comprende más de un agente terapéutico adicional, los agentes terapéuticos puedan extraerse a partir de una de las clases enumeradas a continuación o los agentes terapéuticos pueden extraerse a partir de distintas clases enumeradas a continuación.

El compuesto de las Fórmulas (I), (II), (III) o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas puede administrarse en combinación con un agente analgésico. El agente analgésico puede ser un analgésico (-)-opioide. Como alternativa, el analgésico puede ser un analgésico no opioide. 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 dosis de analgésico opioide en la formulación de combinación puede ser subanalgésica. Ejemplos de analgésicos no opioides adecuados incluyen sin limitación ácido acetilsalicílico, acetaminofeno (paracetamol), ibuprofeno, cetoprofeno, indometacina, diflunisol, naproxeno, ceterolac, diclofenaco, tolmetina, sulindaco, fenacetina, piroxicam y ácido mefamánico. El analgésico puede comprender una combinación de un analgésico opioide y un analgésico no opioide. Por ejemplo, el acetaminofeno puede combinarse con codeína, hidrocodona, oxicodona, propoxifeno y otros analgésicos opioides. La combinación puede comprender un compuesto de Fórmulas (I), (II) o (III) y acetaminofeno. La concentración de acetaminofeno en tal combinación puede ser inferior que en formulaciones de combinación de acetaminofeno actualmente disponibles.

El compuesto de las Fórmulas (I), (II), (III) o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas puede administrarse en combinación con un agente antiinflamatorio. El agente antiinflamatorio puede ser un esteroide glucocorticoide tal como la hidrocortisona de origen natural (cortisol) o glucocorticoides sintéticos tales como prednisona, prednisolona, metilprednisolona, dexametasona, betametasona, triamcinolona, beclometasona, fludrocortisonas, deoxicorticosterona, alclometasona, fluciconida, aldosterona y derivados de los mismos. Como alternativa, el agente antiinflamatorio puede ser un agente antiinflamatorio no esteroideo (AINE). Ejemplos no limitantes de AINE adecuados incluyen ácido acetilsalicílico (aspirina), celecoxib, salicilato de magnesio colino, inhibidores de Cox-2, diclofenac, diflunisal, etodolac, fenoprofeno, flufenisal, flurbiprofeno, ibuprofeno, indometacina, cetoprofeno, ceterolac, meclofenamato, mefenamato, nabumetona, naproxeno, oxaprozina, fenilbutazona, piroxicam, salsalato, sulindaco, tolmetina, valdecoxib y zomepirac.

El compuesto de las Fórmulas (I), (II), (III) o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas puede administrarse en combinación con un agente antibiótico. Ejemplos no limitantes de agentes antibióticos incluyen aminoglucósidos tales como, por ejemplo, amikacina, gentamicina, kanamicina, neomicina, netilmicina, estreptomycin y trobamicina; un carbacefem tal como laracarbef; carbapenemos tales como, por ejemplo, certapenem, imipenem y meropenem; cefalosporinas tales como, por ejemplo, cefazolina de cefradoxilo, cefalexina, cefaclor, cefamandol, cefalexina, cefoxitina, cefprozil, cefuroxima, cefixima, cefdinir, cefditoren, cefoperazona, cefotaxima, cefpodoxima, ceftazidima, ceftibuten, ceftizoxima y ceftriaxona; macrólidos tales como, por ejemplo, azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina y troleandomicina; monobactamo; penicilinas tales como, por

ejemplo, amoxicilina, ampicilina, carbenicilina, cloxacilina, dicloxacilina, nafcilina, oxacilina, penicilina G, penicilina V, piperacilina y ticarcilina; polipéptidos tales como, por ejemplo, bacitracina, colistina y polimixina B; quinolonas tales como, por ejemplo, ciprofloxacina, enoxacina, gatifloxacina, levofloxacina, lomefloxacina, moxifloxacina, norfloxacina, ofloxacina y trovafloxacina; sulfonamidas tales como, por ejemplo, mafenida, sulfacetamida, sulfamethizola, sulfasalazina, sulfisoxazola y trimetoprim sulfametoxazol; tetraciclinas tales como, por ejemplo, demeclociclina, doxiciclina, minociclina y oxitetraciclina); y un agente antimicrobiano tal como, por ejemplo, ketoconazol, amoxicilina, cefalexina, miconazol, econazol, aciclovir y nelfinavir.

El compuesto de las Fórmulas (I), (II), (III) o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas puede administrarse en combinación con un agente que se usa para tratar la toxicidad por acetaminofeno. Entre los agentes adecuados se incluye acetilcisteína (también denominada N-acetilcisteína), glucationa y carbón activado.

El compuesto de las Fórmulas (I), (II), (III) o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas puede administrarse en combinación con un agente terapéutico autoinmune. Ejemplos no limitantes de agentes autoinmunes adecuados incluyen inmunosupresores tales como azatioprina, clorambucil, ciclofosfamida, ciclosporina, micofenolato o metotrexato; corticosteroides tales como prednisona; el agente de tratamiento de psoriasis alefacept; bloqueadores del FNT tales como etanercept, infliximab o adalimumab; los bloqueadores de glóbulos blancos tales como abatacept o ritaximab; el fármaco de lepra clofazimina; y agentes quimioterapéuticos tales como vorinostat.

El compuesto de las Fórmulas (I), (II), (III) o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas puede administrarse en combinación con un agente terapéutico de trastorno neurodegenerativo. Típicamente, el agente terapéutico de trastorno neurodegenerativo está adaptado al trastorno neurodegenerativo específico a tratar. Entre los agentes terapéuticos para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson se incluye, sin limitación, levodopa (es decir, L-DOPA); un inhibidor de descarboxilasa tal como carbidopa; un antagonista de dopamina de acción directa tal como bromocriptina, pergolida, ropinirol o pramipexol; un inhibidor de la absorción de dopamina tal como amantadina; un anticolinérgico tal como mesilato de trihexifenidilo o mesilato de bengtropina; un inhibidor de la monoamino oxidasa B tal como L-deprenilo; un inhibidor de la catecol-O-metiltransferasa tal como tolcapona; esferamina; y combinaciones de los mismos. Ejemplos no limitantes de agentes terapéuticos adecuados para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer incluyen inhibidores de la colinesterasa tales como donepezil, rivastigmina y galantamina; antagonistas del receptor NMDA tales como memantina; y agentes específicos del Alzheimer tales como tramiprosato, tarenflubil y fenserina. Los agentes terapéuticos dirigidos usados para tratar la enfermedad de Huntington incluyen, sin limitación, tetrabenazina y xenazina. Ejemplos no limitantes de agentes terapéuticos dirigidos para tratar esclerosis lateral amiotrófica (ELA) incluyen riluzol y mecasermina rinfabato.

El compuesto de las Fórmulas (I), (II), (III) o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas puede administrarse en combinación con un agente quimioterapéutico. El agente terapéutico puede ser un agente citotóxico que afecta rápidamente dividiendo las células o puede ser un agente terapéutico dirigido que afecta las proteínas desreguladas de células cancerígenas. Por ejemplo, el agente quimioterapéutico puede ser un agente alquilante, un antimetabolito, un antibiótico antitumoral, un agente anticitoesquelético, un inhibidor de la topoisomerasa, un agente antihormonal, un agente terapéutico dirigido o una combinación de los mismos. Ejemplos no limitantes de agentes alquilantes incluyen alretamina, benzodopa, busulfán, carboplatino, carboquona, carmustina, clorambucil, clornafazina, colofosfamida, clorozotocina, cisplatino, ciclofosfamida, dacarbacina (DTIC), estramustina, fotemustina, ifosfamida, improsulfano, lomustina, mecloretamina, clorhidrato de óxido de mecloretamina, melfalán, meturedopa, nimustina, novembichina, fenesterina, piposulfano, prednimustino, ranimustina; temolozomida, tiotepa, trietilenomelamina, trietilenofosforamida, trietilenotiofosforamida, trimetilolomelamina, trofosamida, mostaza de uracilo y uredopa. Antimetabolitos adecuados incluyen, aunque no de forma limitativa aminopterina, ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, capecitabina, carmofur, citarabina o citosina arabinosida (Ara-C), dideoxiuridina, denopterina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina, fludarabina, 5-fluorouracilo (5-FU), gemcetabina, leucovorin (ácido folínico), 6-mercaptapurina, metotrexato, pemetrexed, pteropterina, tiamiprina, trimetrexato y tioguanina. Ejemplos no limitantes de antibióticos antitumorales adecuados incluyen aclacinomisina, actinomicina, adriamicina, autramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina, caliqueamicina, carabicina, carminomicina, carzinofilina, cromomicinas, dactinomicina, daunorrubicina, detorrubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, doxorrubicina, epirubicina, esorrubicina, idarrubicina, marcelomicina, mitomicinas, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, potfiromicina, puromicina, quelamicina, rodorrubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina y zorubicina. Ejemplos no limitantes de agentes anti-citoesqueléticos adecuados incluyen colchicinas, docetaxel, macromicina, pclitaxel (taxol), vinblastina, vincristina, vindesina y vinorelbina. Inhibidores de la topoisomerasa adecuados incluyen, aunque no de forma limitativa, amsacrina, etoposida (VP-16), irinotecan, RFS 2000, teniposida y topotecan. Ejemplos no limitantes de agentes antihormonales adecuados tales como aminoglutetimida, 4(5)-imidazoles inhibidores de aromataza, bicalutamida, finasterida, flutamida, goserelin, 4-hidroxitamoxifeno, keoxifeno, leuprolida, LY117018, mitotano, nilutamida, onapristona, aloxifeno, tamoxifeno, toremifeno y trilostano. Ejemplos no limitantes de agentes terapéuticos dirigidos incluyen un anticuerpo monoclonal tal como alemtuzumab, bevacizumab, capecitabina, cetuximab, gemtuzumab, heregulina, rituximab, trastuzumab; un inhibidor de tirosina quinasa tal como mesilato de imatinib; y polipéptido inhibitorio del crecimiento tal como eritropoyetina, interleucinas (por ejemplo, IL-1, IL-2, IL-3, IL-6), factor inhibitorio de la leucemia, interferón, trombopoyetina, FNT- α , ligando CD30, ligando 4-1BB y ligando

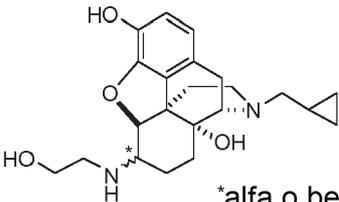
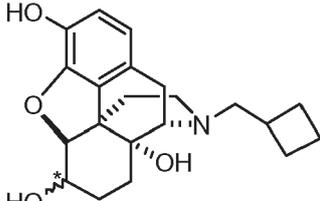
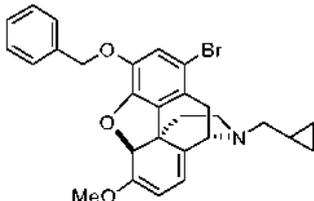
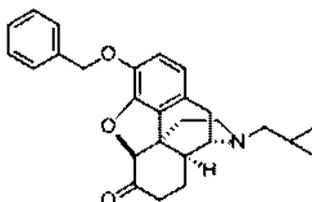
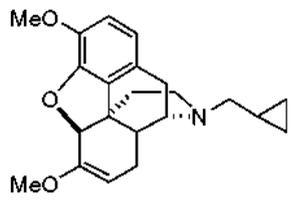
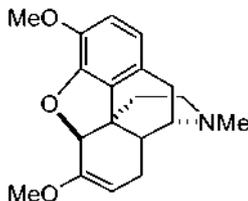
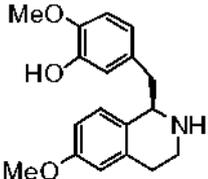
Apo-1.

Los expertos en la técnica apreciarán que sales farmacéuticamente aceptables, ácidos o derivados de cualquiera de los agentes anteriormente mencionados pueden incluirse en la formulación de combinación. El modo de administración de la formulación de combinación puede variar y variará dependiendo de los agentes y la afección a tratar. Los modos adecuados de administración se detallan anteriormente en la sección (II)(b)(i).

(III) Métodos para inhibir la activación de TLR9

10 Un aspecto adicional de la presente invención proporciona métodos para inhibir la activación de TLR9. En general, el método comprende poner en contacto *in vitro* una célula que expresa TLR9 con un compuesto de Fórmulas (I), (II), (III) o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas. El método comprende poner en contacto *in vitro* una célula con un compuesto seleccionado entre el grupo que consiste en I-1, I-2, I-3, I-4, I-6, I-7, I-8, I-12, I-13, I-14, I-21, I-22, I-25, I-26, I-27, I-28, I-29, II-1, II-2, II-4, II-5, II-7, II-10, II-11, II-15, II-19, II-21, II-23, II-25, II-26, II-29, II-35, II-36, II-37, II-38, II-42, II-43, II-60, II-62, II-63, II-71, II-72, II-74, II-76, II-78, II-82, II-86, II-88, II-90, II-91, II-92, II-93, II-95, II-96, II-98, II-99, III-1, III-2, III-3, III-4 y III-5.

Nombre	Estructura	Nombre	Estructura
I-1		I-25	
I-28		II-7	
II-38		II-62	
		II-71	
II-63		II-74	

Nombre	Estructura	Nombre	Estructura
II-76	 <p>* alfa o beta</p>	II-78	
II-82	 <p>* alfa o beta</p>	II-86	
II-88		II-95	
II-96		II-98	
III-1			

El método de inhibición de la activación de TLR9 se lleva a cabo *in vitro*. Por consiguiente, la células que expresa TLR9 puede disponerse en un sujeto tal como se detalla anteriormente. En realizaciones preferidas, la célula puede ser una célula glial, una célula microglial o un astrocito. En una realización ilustrativa, la célula puede ser una célula glial en el sistema nervioso central.

También se describe un método para identificar un compuesto de Fórmulas (I), (II) o (III) que puede ser terapéuticamente eficaz para el tratamiento de afecciones asociadas con dolor e inflamación. Afecciones adecuadas incluyen dolor traumático o neuropático, un trastorno inflamatorio, toxicidad por acetaminofeno, un trastorno autoinmune, un trastorno neurodegenerativo y cáncer. El método comprende determinar si el compuesto inhibe la activación de TLR9. Para determinar si el compuesto de fórmulas (I), (II), (III) o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas inhibe la activación de TLR9, el método comprende poner en contacto una célula que expresa TLR9 con un ligando de activación y el compuesto de interés, donde la activación de TLR9 se reduce en presencia del compuesto en comparación con la afección de control en la que la célula se pone en contacto solo con el ligando de activación. Típicamente, la célula que expresa TLR9 que se pone en contacto con el compuesto de interés es *in vitro*.

Típicamente, la célula que expresa TLR9 será a partir de una línea celular estable. Ejemplos no limitantes de células parenterales adecuadas incluyen células HEK293, CHO, BHK, NSO, HDMEC, NHEK y NHDF. La línea celular puede ser HEK293. Las células pueden estar diseñadas por ingeniería para expresar TLR9 usando procedimientos

estándar bien conocidos para los expertos en la técnica. El TLR9 puede ser de origen mamífero, preferentemente de origen humano.

5 El ligando de activación usado para activar TLR9 puede ser ADN metilado, ADN no metilado, un oligodeoxinucleótido CpG o un oligodeoxinucleótido. El ligando de activación puede ser un oligodeoxinucleótido CpG (ODN) 2006.

10 La activación de TLR9 en la célula del ensayo *in vitro* puede controlarse midiendo la actividad de un indicador, en el que la actividad del indicador se acopla a la activación de una proteína adaptadora o quinasa que media la señalización de TLR9 produciendo moléculas de señalización intracelulares o inductores tales como NF- κ B o IRF3. Ejemplos no limitantes de indicadores adecuados incluyen luciferasa, fosfatasa alcalina y GFP u otras proteínas fluorescentes. La activación del indicador puede controlarse mediante luminiscencia, fluorescencia, absorbancia o densidad óptica. El indicador es fosfatasa alcalina secretada (SEAP) que está inducida mediante NF- κ B y la activación de SEAP se controla espectrofotométricamente.

15 En general, el (+)-morfinano que comprende actividad antagonista de TLR9 puede reducir la activación de TLR9 por al menos aproximadamente el 10 %. El (+)-morfinano puede reducir la activación de TLR0 desde aproximadamente el 10 % a aproximadamente el 15 %, desde aproximadamente el 15 % a aproximadamente el 20 %, desde aproximadamente el 20 % a aproximadamente el 25 %, desde aproximadamente el 25 % a aproximadamente el 30 %
20 %, desde aproximadamente el 30 % a aproximadamente el 35 %, desde aproximadamente el 35 % a aproximadamente el 40 %, desde aproximadamente el 40 % a aproximadamente el 45 %, desde aproximadamente el 45 % a aproximadamente el 50 %, desde aproximadamente el 50 % a aproximadamente el 55 %, desde aproximadamente el 55 % a aproximadamente el 60 %, desde aproximadamente el 60 % a aproximadamente el 70 %
25 %, desde aproximadamente el 70 % a aproximadamente el 80 %, desde aproximadamente el 80 % a aproximadamente el 90 % o desde aproximadamente el 90 % a aproximadamente el 99 %.

30 El ensayo de reconocimiento *in vitro* también puede usarse para determinar la concentración inhibitoria óptima (o CI_{50}) de un (+)-morfinano que comprende actividad antagonista de TLR9. Es decir, puede generarse una curva de respuesta a la dosis en la cual la concentración del (+)-morfinano que comprende actividad antagonista de TLR9 se varía de modo que puede determinarse la concentración inhibitoria óptima.

DEFINICIONES

35 Los compuestos descritos en el presente documento tienen centros asimétricos. Los compuestos de la presente invención que contienen un átomo sustituido asimétricamente pueden aislarse en forma opcionalmente activa o racémica. Están previstas todas las formas quirales, diaestereoméricas, racémicas y todas las formas isoméricas geométricas de una estructura, a menos que se indique específicamente la estereoquímica específica o forma isómerica.

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

45 El término "aciloxi", tal como se usa en el presente documento solo o como parte de otro grupo, denota un grupo acilo tal como se ha descrito anteriormente unido a través de un enlace de oxígeno (O), por ejemplo, RC(O)O- donde R es como se define en conexión con el término "acilo".

50 El término "alquilo" tal como se usa en el presente documento describe grupos que contienen preferentemente alquilo inferior de uno a ocho átomos de carbono en la cadena principal hasta 20 átomos de carbono. Estos pueden ser cadenas lineales o ramificadas o cíclicas e incluyen metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo y hexilo.

55 El término "alquenilo" tal como se usa en el presente documento describe grupos que contienen preferentemente alquilo inferior de dos a ocho átomos de carbono en la cadena principal hasta 20 átomos de carbono. Estos pueden ser cadenas lineales o ramificadas o cíclicas e incluyen etenilo, propenilo, isopropenilo, butenilo, isobutenilo y hexenilo.

60 El término "alquinilo" tal como se usa en el presente documento describe grupos que contienen preferentemente alquinilo inferior de dos a ocho átomos de carbono en la cadena principal hasta 20 átomos de carbono. Estos pueden ser cadenas lineales o ramificadas e incluyen etinilo, propinilo, butinilo, isobutinilo y hexinilo.

65 El término "aromático" tal como se usa en el presente documento solo o como parte de otro grupo denota opcionalmente un sistema de anillo o anillo plano conjugado homo- o hetero-cíclico sustituido que comprende electrones deslocalizados. Estos grupos aromáticos son preferentemente grupos monocíclicos (por ejemplo, furano o benceno), bicíclicos o tricíclicos que contienen de 5 a 14 átomos en la parte de anillo. El término "aromático" abarca

grupos "arilo" que se definen a continuación.

Los términos "arilo" o "Ar" tal como se usa en el presente documento solo o como parte de otro grupo denotan grupos aromático homocíclicos opcionalmente sustituidos, preferentemente grupos monocíclicos o bicíclicos que contienen de 6 a 10 carbonos en la parte de anillo, tal como fenilo, bifenilo, naftilo, fenilo sustituido, bifenilo sustituido o naftilo sustituido.

Los términos "carbociclo" o "carbocíclico" tal como se usa en el presente documento solo o como parte de otro grupo denotan un anillo o sistema de anillo homocíclico, aromático o no aromático, opcionalmente sustituido en el cual todos los átomos en el anillo son carbono, preferentemente 5 o 6 átomos de carbono en cada anillo. Sustituyentes ilustrativos incluyen uno o más de los siguientes grupos: hidrocarbilo, hidrocarbilo sustituido, alquilo, alcoxi, acilo, aciloxi, alquenilo, alquenoxi, arilo, ariloxi, amino, amido, acetalo, carbamilo, carbociclo, ciano, éster, éter, halógeno, heterociclo, grupos hidroxilo, ceto, cetal, fosfo, nitro y tío.

Los términos "halógeno" o "alo" tal como se usa en el presente documento solo o como parte de otro grupo se refieren a clorina, bromo, flúor e yodo.

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

El término "heteroaromático" tal como se usa en el presente documento solo o como parte de otro grupo denota grupos aromático sustituidos que tienen al menos un heteroátomo en al menos un anillo y, preferentemente 5 o 6 átomos en cada anillo. El grupo heteroaromático preferentemente tiene 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 mediante un carbono. Los grupos ejemplares incluyen furilo, benzofurilo, oxazolilo, isoxazolilo, oxadiazolilo, benzoxazolilo, benzoxadiazolilo, pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, triazolilo, tetrazolilo, piridilo, pirimidilo, pirazinilo, piridazinilo, indolilo, isoindolilo, indolizínilo, benzoimidazolilo, indazolilo, benzotriazolilo, tetrazolopiridazinilo, carbazolilo, purínilo, quinolinilo, isoquinolinilo e imidazopiridilo. Sustituyentes ilustrativos incluyen uno o más de los siguientes grupos: hidrocarbilo, hidrocarbilo sustituido, alquilo, alcoxi, acilo, aciloxi, alquenilo, alquenoxi, arilo, ariloxi, amino, amido, acetalo, carbamilo, carbociclo, ciano, éster, éter, halógeno, heterociclo, grupos hidroxilo, ceto, cetal, fosfo, nitro y tío.

Los términos "heterociclo" o "heterocíclico" tal como se usa en el presente documento solo o como parte de otro grupo denotan grupos aromático o no aromáticos, completamente saturados o insaturados, monocíclicos o bicíclicos, opcionalmente sustituidos que tienen al menos un heteroátomo en al menos un anillo y, preferentemente 5 o 6 átomos en cada anillo. El grupo heterociclo tiene 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 mediante un carbono o heteroátomos. Grupos heterociclo ilustrativos incluyen heteroaromáticos como se han descrito anteriormente. Sustituyentes ilustrativos incluyen uno o más de los siguientes grupos: hidrocarbilo, hidrocarbilo sustituido, alquilo, alcoxi, acilo, aciloxi, alquenilo, alquenoxi, arilo, ariloxi, amino, amido, acetalo, carbamilo, carbociclo, ciano, éster, éter, halógeno, heterociclo, grupos hidroxilo, ceto, cetal, fosfo, nitro y tío.

Los términos "hidrocarburo" e "hidrocarbilo" tal se usa en el presente documento describe compuestos orgánicos o radicales que consisten exclusivamente en los elementos carbono e hidrógeno. Estos restos incluyen alquilo, alquenilo, alquinilo y restos arilo. Estos restos también incluyen alquilo, alquenilo, alquinilo y restos arilo sustituidos con otros grupos de hidrocarburo alifáticos o cíclicos, tal como alcarilo, alquenarilo e alquinarilo. Salvo que se indique lo contrario, estos restos comprenden preferentemente de 1 a 20 átomos de carbono.

Los restos de "hidrocarbilo sustituido" descritos en el presente documentos son restos de hidrocarbilo que están sustituidos con al menos un átomo distinto de carbono, que incluye resto en los que una cadena de carbón está sustituida con un heteroátomo tal como un átomo de nitrógeno, oxígeno, silicio, fósforo, boro o halógeno y restos en los que la cadena de carbono comprende sustituyentes adicionales. Estos sustituyentes incluyen alquilo, alcoxi, acilo, aciloxi, alquenilo, alquenoxi, arilo, ariloxi, amino, amido, acetalo, carbamilo, carbociclo, ciano, éster, éter, halógeno, heterociclo, grupos hidroxilo, ceto, cetal, fosfo, nitro y tío.

El término "tratar", como se usa en el presente documento, se refiere a inhibir o aliviar los síntomas de la enfermedad o el trastorno; revertir, inhibir o ralentizar el progreso de la enfermedad o el trastorno; y/o evitar o retrasar la aparición de la enfermedad o el trastorno. El término "tratamiento", como se usa en el presente documento, salvo que se indique lo contrario, se refiere al acto de tratar como se define "tratar" justo anteriormente.

Cuando se introducen elementos de la presente invención o la(s) realización/realizaciones preferente(s) de la misma, los artículos "un", "uno", "el" y "dicho" se entienden que significan que hay uno o más de los elementos. Los términos "que comprende", "que incluye" y "que tiene" están previstos para ser inclusivos y significa que puede haber elementos adicionales a los elementos relacionados.

Ejemplos

Los ejemplos siguientes ilustran las diversas realizaciones de la invención.

Ejemplo 1: Detección de receptor tipo Toll

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

15 Procedimiento general. Las células que expresan TLR adecuadas se incubaron 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: Se usó HKLM para estimular TLR2; se usó poli(I:C) para estimular TLR3; se usó LPS para estimular TLR4; se usó flagelina para estimular TLR5; se usó CL097 para estimular TLR7; se usó CL075 para estimular TLR8; se usó CpG oligodeoxinucleótido (ODN) 2006 para estimular TLR9. Para evaluar si los (+)-morfinaos podrían bloquear la activación de TLR, las células se trataron previamente con un antagonista durante 30 minutos antes de la adición del ligando de control positivo. Para esto, se añadieron 20 μ l de la solución de compuesto de ensayo de reserva (100 μ M en H₂O) para proporcionar un volumen total de 200 μ l. Los antagonistas sometidos a ensayo fueron (+)-naloxona, (+)-naltrexona, sinomenina y dihidrosinomenina; la concentración final de cada uno fue 10 μ M. Después de 16-20 h. de período de incubación a 37 °C en un incubador de CO₂, se añadieron 20 μ l del sobrenadante del cultivo celular a 180 μ l de medio de QUANTI-Blue™ (InvivoGen, San Diego, CA), y las soluciones resultantes se incubaron a 37 °C durante 1-3 horas adicionales según las instrucciones del fabricante. La DO de las muestras se leyó a 650 nm sobre un Detector de Absorbancia AD 340C de Beckman Coulter.

25 Resultados. Los resultados de los experimentos de detección de antagonistas se presentan en la Tabla 1 y la FIG 1. Cada antagonista inhibió la actividad de los TLR. La mejor inhibición, sin embargo, se observó con el TLR9 (véase FIG. 1G). Estos datos indican que el TLR9 es el objetivo principal de los (+)-morfinaos.

30

Tabla 1. Detección de antagonistas

Compuesto	% promedio de inhibición en receptores tipo Toll						
	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: Detección de TLR9 de biblioteca de (+)-morfinaos

35

El indicador de fosfatasa alcalina secretada está bajo control de un promotor inducible por el factor de transcripción NF- κ B. Una librería de más de 100 compuestos de (+)-morfinaos se sometió a detección para la actividad antagonista de TLR9 evaluando la activación NF- κ B en las células HEK293 que expresaban TLR9. Este gen indicador permite el control de la señalización a través del TLR, basándose en la activación de NF- κ B.

40

En una placa de 96 pocillos (200 μ l de volumen total) que contenía 50.000 células/pocillo, se añadieron 20 μ l de cada compuesto de muestra a los pocillos, en triplicado, seguido por una incubación de 30 minutos a 37 °C y 5 % de CO₂. Después de 30 minutos de incubación, se añadieron 20 μ l del activador ODN2006 a cada pocillo. El medio añadido a los pocillos se diseñó para la detección de expresión de SEAP inducido por NF- κ B. Después de un período de incubación de 16-20 horas, la DO a 650 nm se leyó sobre un Detector de Absorbancia AD 340C de Beckman Coulter. Los resultados de los experimentos se muestran en la Tabla 2. Todos los compuestos se sometieron a ensayo a concentraciones de 10 μ M y 100 nM.

45

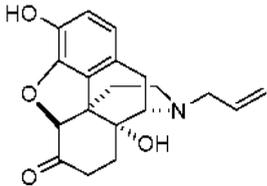
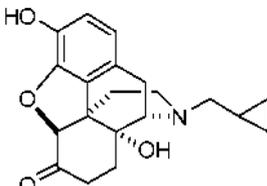
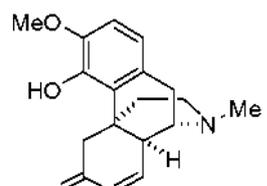
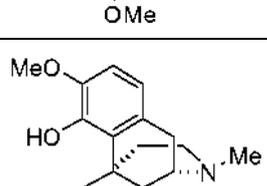
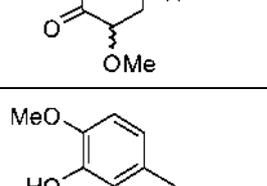
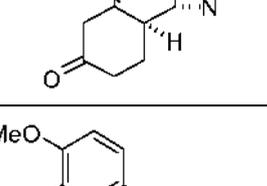
Tabla 2. Inhibición de TLR9					
Compuesto ID	Estructura química	DO 650 nm (media ± sd)	% de inhibición* (media)	DO 650 nm (media ± sd)	% de inhibición* (media)
		10 µm		100 nM	
II-64 (Referencia)		0,98 ± 0,01	31	1,31. ± 0,14	8
II-73 (Referencia)		0,96 ± 0,08	32	1,35 ± 0,13	5
I-30 (Referencia)		0,94 ± 0,05	33	1,25 ± 0,11	12
I-9 (Referencia)		1,03 ± 0,01	28	1,50 ± 0,10	-6
I-25		0,52 ± 0,07	63	1,08 ± 0,05	24
I-18 (Referencia)		1,01 ± 0,06	29	1,40 ± 0,14	1

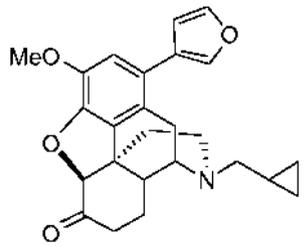
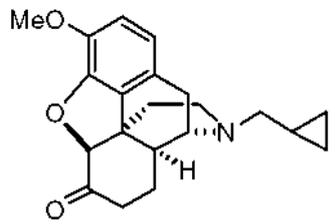
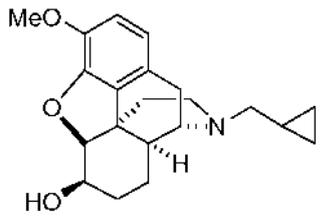
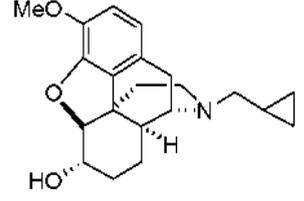
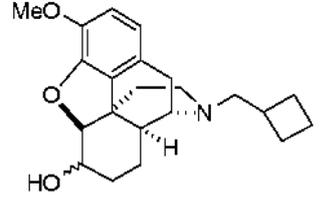
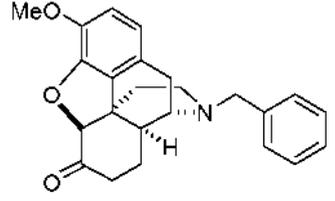
Tabla 2. Inhibición de TLR9					
Compuesto ID	Estructura química	DO 650 nm (media ± sd)	% de inhibición* (media)	DO 650 nm (media ± sd)	% de inhibición* (media)
		10 µm		100 nM	
II-26		0,12 ± 0,00	92	1,08 ± 0,06	24
II-24 (Referencia)		0,09 ± 0,01	94	0,65 ± 0,04	54
II-25		0,21 ± 0,06	85	1,33 ± 0,07	6
II-25		0,39 ± 0,01	72	1,13 ± 0,10	21
II-28		0,87 ± 0,03	39	1,32 ± 0,08	7
II-29		0,33 ± 0,03	77	1,36 ± 0,17	4

Tabla 2. Inhibición de TLR9

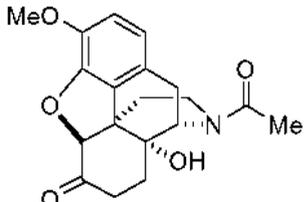
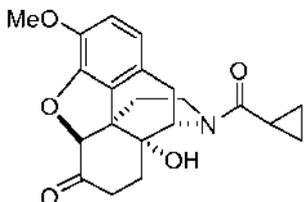
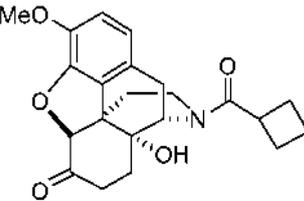
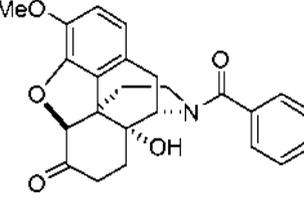
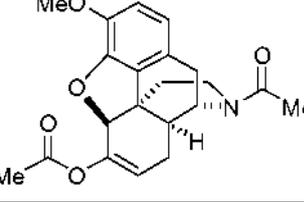
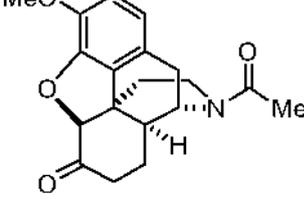
Compuesto ID	Estructura química	DO 650 nm (media ± sd)	% de inhibición* (media)	DO 650 nm (media ± sd)	% de inhibición* (media)
		10 µm		100 nM	
II-31		1,37 ± 0,11	3	1,40 ± 0,04	2
II-57		1,15 ± 0,03	19	0,84 ± 0,02	41
II-59		1,41 ± 0,13	1	1,19 ± 0,07	17
II-60		0,17 ± 0,03	88	1,24 ± 0,04	13
II-83		1,11 ± 0,09	22	1,40 ± 0,13	1
II-84 (Referencia)		1,51 ± 0,08	-6	1,44 ± 0,06	-1

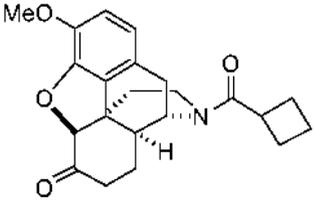
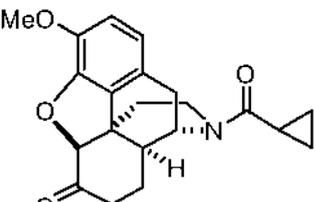
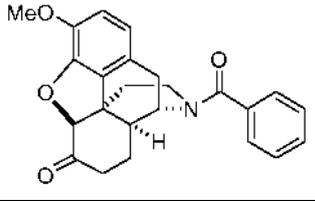
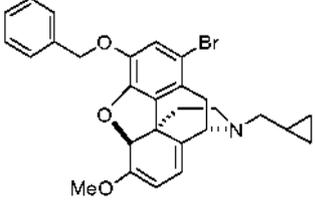
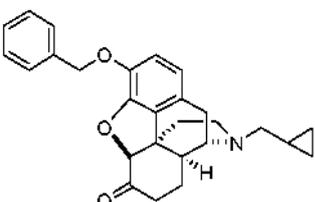
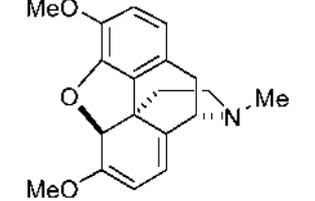
Tabla 2. Inhibición de TLR9					
Compuesto ID	Estructura química	DO 650 nm (media ± sd)	% de inhibición* (media)	DO 650 nm (media ± sd)	% de inhibición* (media)
		10 µm		100 nM	
II-85 (Referencia)		1,45 ± 0,04	-2	1,45 ± 0,04	-2
II-30		1,13 ± 0,06	20	1,34 ± 0,11	5
II-33		1,37 ± 0,03	3	1,35 ± 0,15	5
II-86		0,13 ± 0,03	91	1,15 ± 0,11	19
II-88		0,13 ± 0,01	91	1,12 ± 0,15	21
II-34 (Referencia)		0,94 ± 0,08	34	1,39 ± 0,05	2

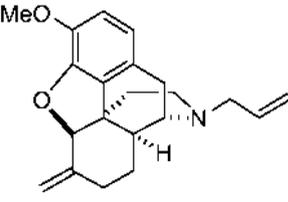
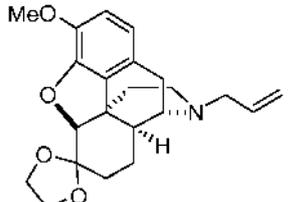
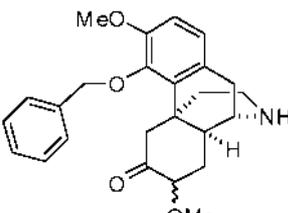
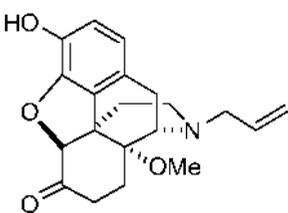
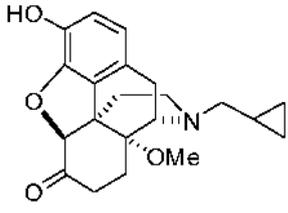
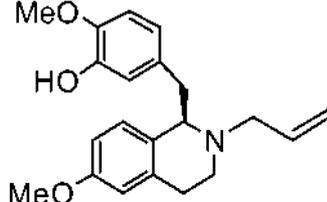
Tabla 2. Inhibición de TLR9					
Compuesto ID	Estructura química	DO 650 nm (media \pm sd)	% de inhibición* (media)	DO 650 nm (media \pm sd)	% de inhibición* (media)
		10 μ m		100 nM	
II-22		0,75 \pm 0,06	47	1,31 \pm 0,19	8
II-89		1,08 \pm 0,02	24	1,53 \pm 0,10	-8
I-26		0,19 \pm 0,02	87	1,15 \pm 0,03	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

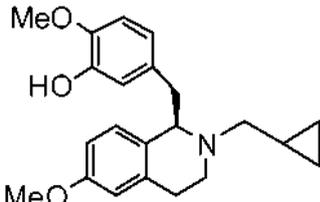
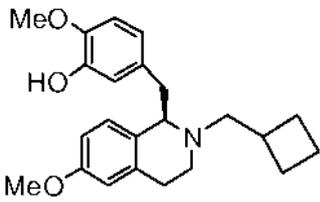
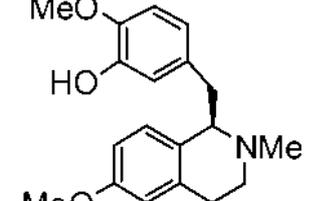
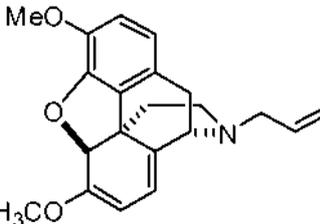
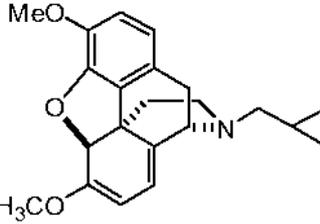
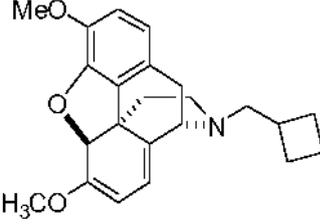
Tabla 2. Inhibición de TLR9					
Compuesto ID	Estructura química	DO 650 nm (media ± sd)	% de inhibición* (media)	DO 650 nm (media ± sd)	% de inhibición* (media)
		10 µm		100 nM	
III-3		0,13 ± 0,01	91	1,03 ± 0,03	27
III-4		0,11 ± 0,01	92	1,04 ± 0,04	27
III-5		0,29 ± 0,01	80	1,11 ± 0,02	22
II-35		0,34 ± 0,03	76	1,04 ± 0,08	27
II-36		0,14 ± 0,01	90	1,14 ± 0,02	20
II-37		0,18 ± 0,06	87	1,13 ± 0,07	20

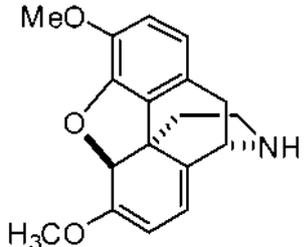
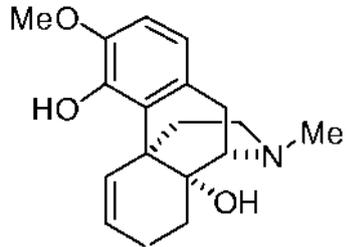
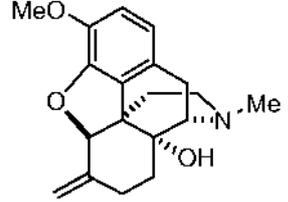
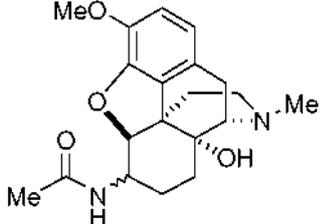
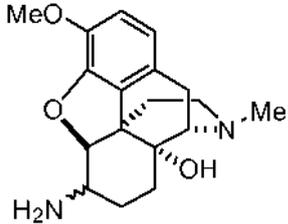
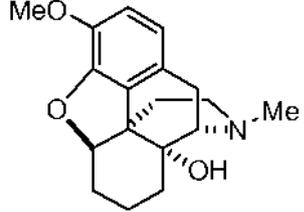
Tabla 2. Inhibición de TLR9					
Compuesto ID	Estructura química	DO 650 nm (media ± sd)	% de inhibición* (media)	DO 650 nm (media ± sd)	% de inhibición* (media)
		10 µm		100 nM	
II-38		0,12 ± 0,01	92	0,86 ± 0,01	40
I-22		0,10 ± 0,01	93	0,93 ± 0,15	34
II-41		1,02 ± 0,09	28	1,27 ± 0,03	11
II-42		0,14 ± 0,02	90	1,00 ± 0,03	29
II-43		0,09 ± 0,00	94	0,10 ± 0,01	93
II-44		1,03 ± 0,12	27	1,18 ± 0,02	17

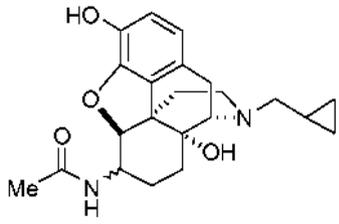
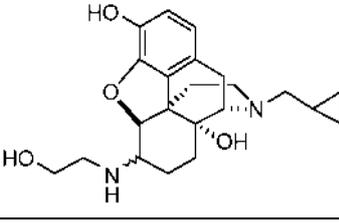
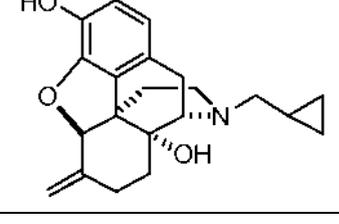
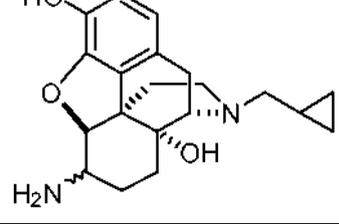
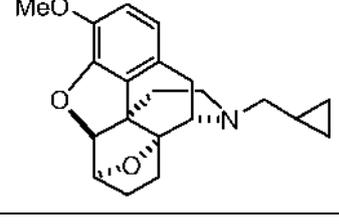
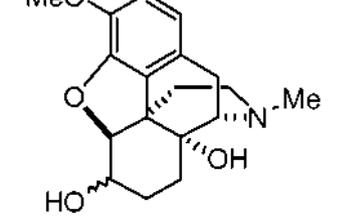
Tabla 2. Inhibición de TLR9					
Compuesto ID	Estructura química	DO 650 nm (media ± sd)	% de inhibición* (media)	DO 650 nm (media ± sd)	% de inhibición* (media)
		10 µm		100 nM	
II-75		0,91 ± 0,11	36	1,08 ± 0,02	24
II-76		0,10 ± 0,01	93	0,16 ± 0,01	89
II-77 (Referencia)		0,98 ± 0,02	37	1,24 ± 0,04	13
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 (Referencia)		1,37 ± 0,07	4	1,41 ± 0,13	0

Tabla 2. Inhibición de TLR9

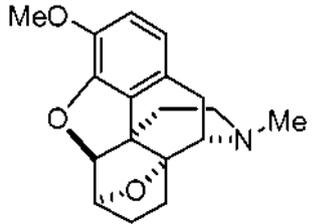
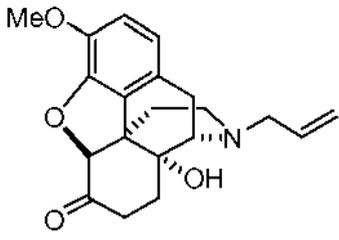
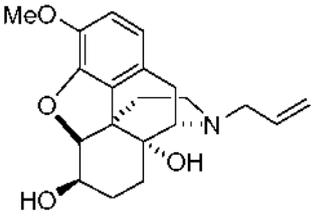
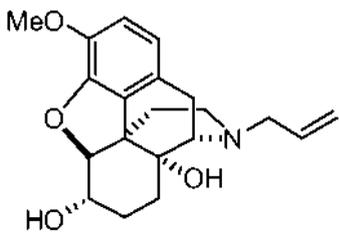
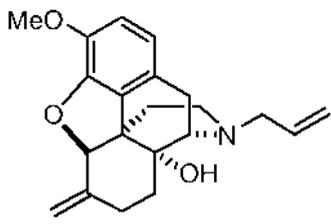
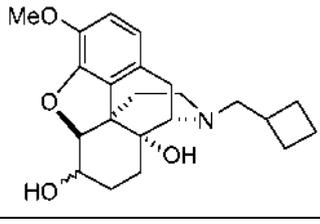
Compuesto ID	Estructura química	DO 650 nm (media ± sd)	% de inhibición* (media)	DO 650 nm (media ± sd)	% de inhibición* (media)
		10 µm		100 nM	
II-46		1,30 ± 0,02	8	1,24 ± 0,02	13
II-47 (Referencia)		0,78 ± 0,07	45	1,18 ± 0,13	17
II-48		1,23 ± 0,02	13	1,43 ± 0,05	0
II-48		1,06 ± 0,02	25	1,21 ± 0,02	15
II-51		0,84 ± 0,05	41	1,20 ± 0,04	16
II-55		1,17 ± 0,08	18	1,46 ± 0,08	-3

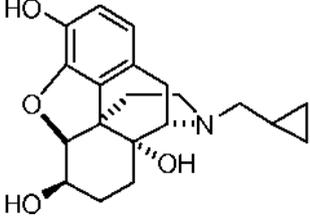
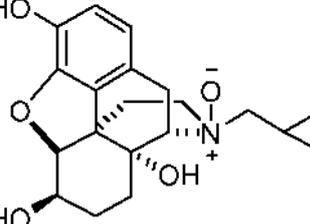
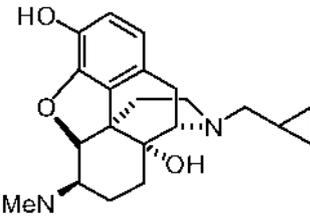
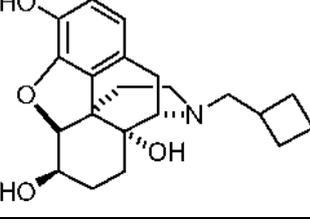
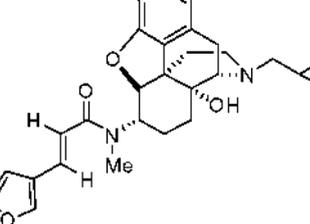
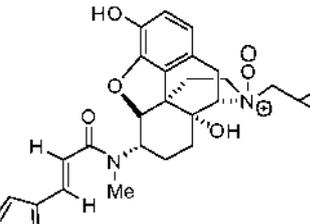
Tabla 2. Inhibición de TLR9					
Compuesto ID	Estructura química	DO 650 nm (media ± sd)	% de inhibición* (media)	DO 650 nm (media ± sd)	% de inhibición* (media)
		10 µm		100 nM	
II-74		0,12 ± 0,00	92	0,61 ± 0,03	57
II-90		0,17 ± 0,05	88	1,39 ± 0,03	2
II-78		0,11 ± 0,01	92	0,14 ± 0,02	90
II-82		0,49 ± 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

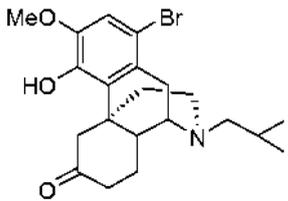
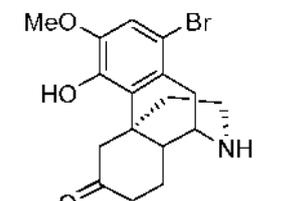
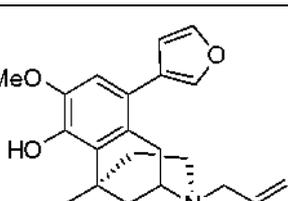
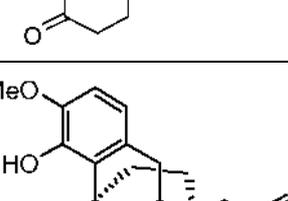
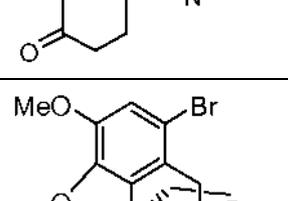
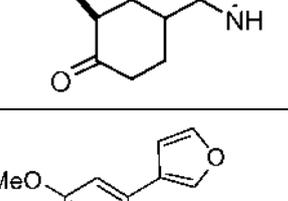
Tabla 2. Inhibición de TLR9					
Compuesto ID	Estructura química	DO 650 nm (media ± sd)	% de inhibición* (media)	DO 650 nm (media ± sd)	% de inhibición* (media)
		10 µm		100 nM	
I-2		0,14 ± 0,02	90	1,10 ± 0,06	22
I-1		0,21 ± 0,01	85	1,18 ± 0,10	17
I-3		0,11 ± 0,00	92	1,12 ± 0,01	21
I-7		0,16 ± 0,01	89	1,14 ± 0,03	20
II-1		0,19 ± 0,02	86	0,97 ± 0,04	32
II-2		0,12 ± 0,01	92	1,23 ± 0,05	13

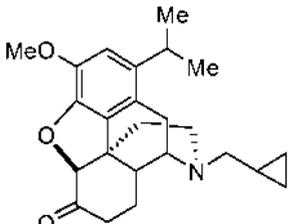
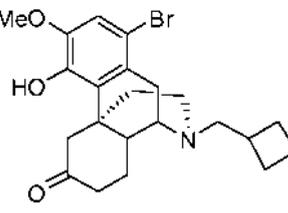
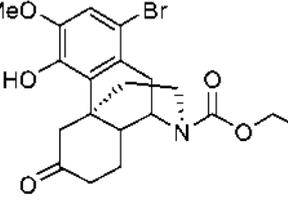
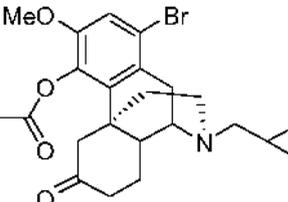
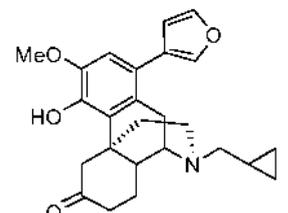
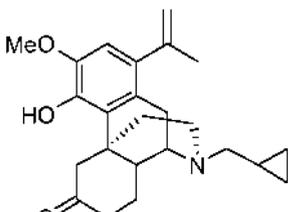
Tabla 2. Inhibición de TLR9					
Compuesto ID	Estructura química	DO 650 nm (media ± sd)	% de inhibición* (media)	DO 650 nm (media ± sd)	% de inhibición* (media)
		10 µm		100 nM	
II-4		0,11 ± 0,01	92	1,18 ± 0,06	17
I-8		0,11 ± 0,01	92	1,13 ± 0,07	20
I-11 (Referencia)		1,98 ± 0,09	-39	1,49 ± 0,04	-5
I-12		0,13 ± 0,01	91	1,19 ± 0,07	16
I-13		0,13 ± 0,01	91	1,34 ± 0,12	6
I-27		0,10 ± 0,00	93	1,13 ± 0,04	20

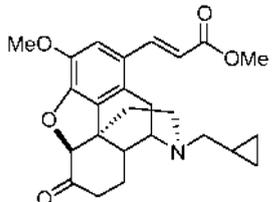
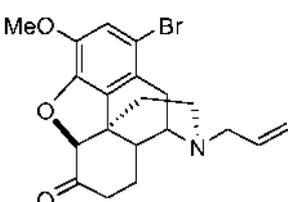
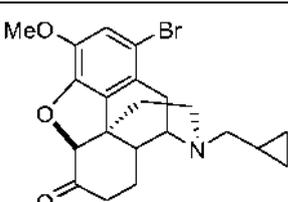
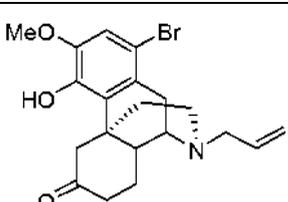
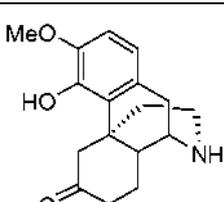
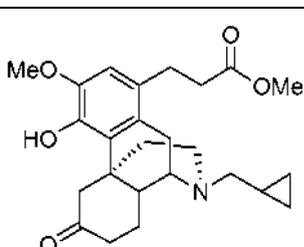
Tabla 2. Inhibición de TLR9					
Compuesto ID	Estructura química	DO 650 nm (media ± sd)	% de inhibición* (media)	DO 650 nm (media ± sd)	% de inhibición* (media)
		10 µm		100 nM	
II-15		0,23 ± 0,03	84	1,22 ± 0,06	14
II-16		1,24 ± 0,11	13	1,43 ± 0,01	-1
II-23		0,53 ± 0,05	63	1,16 ± 0,01	18
I-21		0,23 ± 0,01	84	1,40 ± 0,02	2
I-5 (Referencia)		0,87 ± 0,04	38	1,31 ± 0,09	8
I-4		0,46 ± 0,05	68	1,17 ± 0,06	18

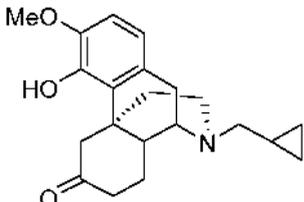
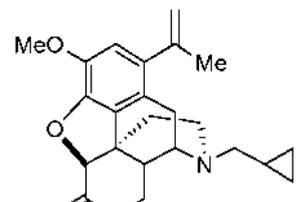
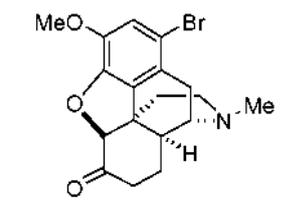
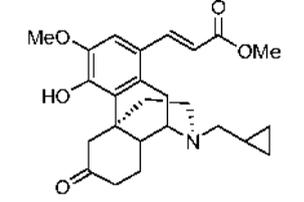
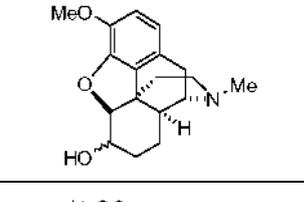
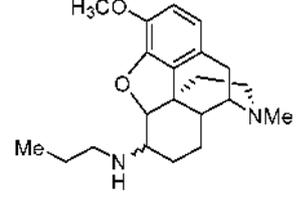
Tabla 2. Inhibición de TLR9					
Compuesto ID	Estructura química	DO 650 nm (media ± sd)	% de inhibición* (media)	DO 650 nm (media ± sd)	% de inhibición* (media)
		10 µm		100 nM	
I-6		0,12 ± 0,02	91	1,29 ± 0,07	9
II-5		0,14 ± 0,00	90	1,11 ± 0,03	22
II-11		0,44 ± 0,05	69	1,22 ± 0,10	14
I-14		0,13 ± 0,00	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

Tabla 2. Inhibición de TLR9

Compuesto ID	Estructura química	DO 650 nm (media \pm sd)	% de inhibición* (media)	DO 650 nm (media \pm sd)	% de inhibición* (media)
		10 μ m		100 nM	
II-92		0,73 \pm 0,06	48	1,09 \pm 0,03	23
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-94		1,16 \pm 0,08	18	1,13 \pm 0,04	20
II-94		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

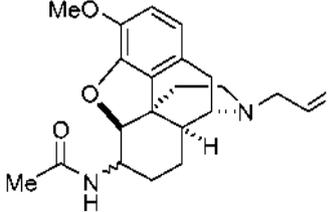
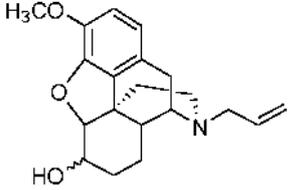
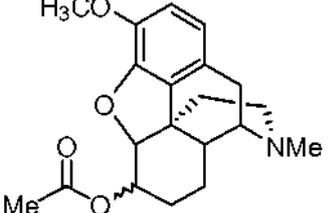
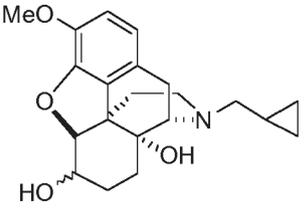
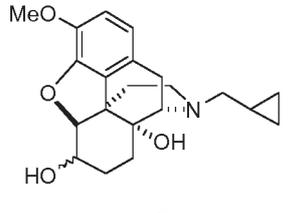
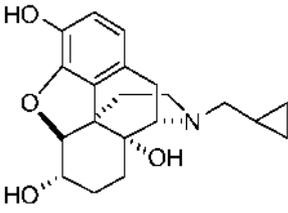
Tabla 2. Inhibición de TLR9					
Compuesto ID	Estructura química	DO 650 nm (media ± sd)	% de inhibición* (media)	DO 650 nm (media ± sd)	% de inhibición* (media)
		10 µm		100 nM	
II-20		1,07 ± 0,04	25	1,29 ± 0,02	9
II-19		0,15 ± 0,01	90	1,19 ± 0,03	16
II-8		1,33 ± 0,06	7	1,15 ± 0,07	19
II-53	 Isómero 1	1,32 ± 0,13	7	1,22 ± 0,05	14
II-53	 Isómero 2	1,00 ± 0,03	29	1,41 ± 0,09	1
II-74		1,26 ± 0,06	11	1,19 ± 0,06	16

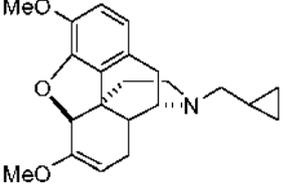
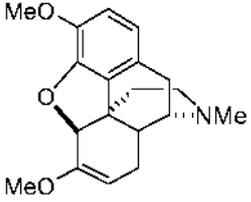
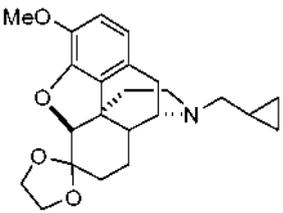
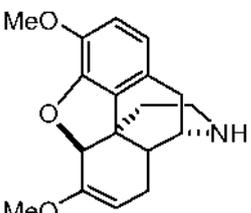
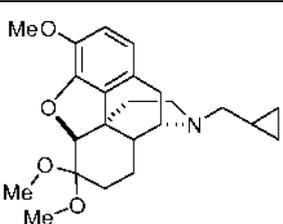
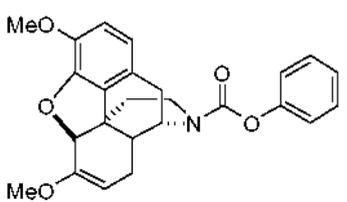
Tabla 2. Inhibición de TLR9					
Compuesto ID	Estructura química	DO 650 nm (media \pm sd)	% de inhibición* (media)	DO 650 nm (media \pm sd)	% de inhibición* (media)
		10 μ m		100 nM	
II-95		0,37 \pm 0,03	74	1,11 \pm 0,04	22
II-96		0,42 \pm 0,02	71	1,15 \pm 0,06	19
II-97		1,42 \pm 0,07	0	1,22 \pm 0,02	14
II-98		0,56 \pm 0,03	60	1,02 \pm 0,02	28
II-99		0,14 \pm 0,01	90	1,32 \pm 0,00	7
II-100		1,45 \pm 0,11	-2	1,16 \pm 0,02	18

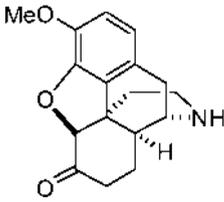
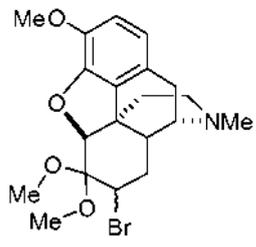
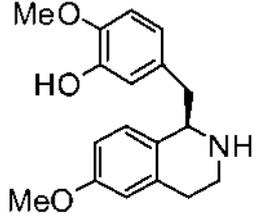
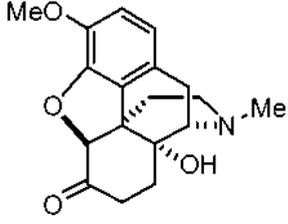
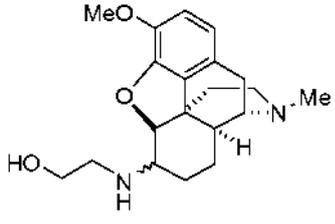
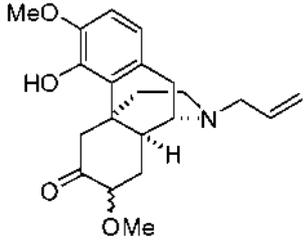
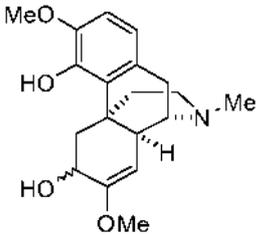
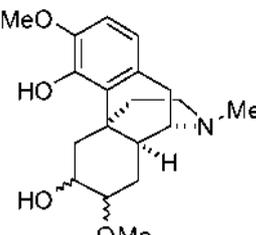
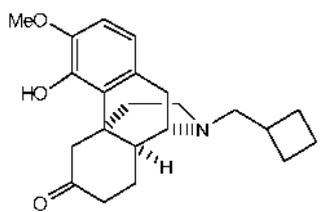
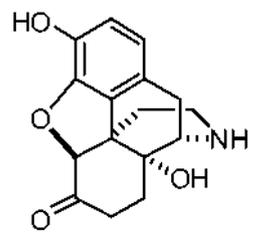
Tabla 2. Inhibición de TLR9					
Compuesto ID	Estructura química	DO 650 nm (media ± sd)	% de inhibición* (media)	DO 650 nm (media ± sd)	% de inhibición* (media)
		10 µm		100 nM	
II-12 (Referencia)		0,81 ± 0,03	43	1,12 ± 0,08	21
II-101 (Referencia)		0,94 ± 0,02	34	1,35 ± 0,06	5
III-1		0,67 ± 0,01	53	1,34 ± 0,06	6
II-39 (Referencia)		1,06 ± 0,06	25	1,23 ± 0,03	14
II-10		0,10 ± 0,01	93	0,24 ± 0,02	83
I-16 (Referencia)		0,91 ± 0,04	36	1,50 ± 0,01	-5

Tabla 2. Inhibición de TLR9

Compuesto ID	Estructura química	DO 650 nm (media ± sd)	% de inhibición* (media)	DO 650 nm (media ± sd)	% de inhibición* (media)
		10 µm		100 nM	
I-28		0,12 ± 0,01	91	1,24 ± 0,02	13
I-10 (Referencia)		1,04 ± 0,08	27	1,32 ± 0,04	7
I-29		0,11 ± 0,00	92	1,06 ± 0,03	25
II-61 (Referencia)		1,22 ± 0,07	14	1,23 ± 0,02	13

* Control (sin activador) = 0,14 DO 650 nm (n = 12); Activador (ODN2006) = 1,42 DO 650 nm (n = 12)

Este experimento de detección identificó aquellos compuestos (+)-morfinaos que comprendían la mayor actividad antagonista de TLR9. Incluso a una concentración tan baja como 100 nM, algunos compuestos inhibieron TLR9 superior al 90 %.

5

Ejemplo 3: Evaluación analgésica de (+)-Naloxona en alodinia mecánica

El dolor neuropático afecta aproximadamente a 1 % de la población de los EE.UU. y resulta extremadamente complicada de sobrellevar. Normalmente el dolor es crónico, grave y suele no responder a los fármacos analgésicos tradicionales. Por suerte, uno de los modelos animales más ampliamente usados para el dolor neuropático imita muy estrechamente el dolor soportado por los pacientes. En este modelo, denominado la lesión de constricción crónica (LCC) o modelo de Bennett, cuatro ligaduras estrechamente separadas atadas sueltamente alrededor del nervio ciático de una rata causan la desmielinización del nervio, dando como resultado dolor espontáneo, tal como elevación de pata prolongada y lamido de la pata ligada. El dolor inducido en el miembro con lesión en el nervio puede medirse usando los filamentos de Von Frey, aplicado a la superficie plantar de la pata para evaluar la respuesta a la estimulación táctil no nociva. La aparición de esta alodinia mecánica intensificada es bastante rápida y persiste durante 2-3 meses.

15

En este ejemplo, La ligadura de LCC se llevó a cabo en el nervio ciático izquierdo en tres grupos de ratas. El ensayo

de Von Frey de alodinia mecánica se llevó a cabo sobre ambas patas el día 14 para determinar la eficacia analgésica del agente de prueba. El ensayo se realizó previo a la dosis y 30 y 90 minutos posterior a la dosis.

5 Animales. Se pidió un total de treinta y cuatro (34) ratas macho de Sprague-Dawley de Harlan Sprague-Dawley. Los animales estaban libres de patógenos específicos y pesaban aproximadamente 175 - 200 gramos cuando llegaron. Se realizó una inspección de saludo visual sobre cada animal para incluir la evaluación del pelaje, extremidades y signos anormales en la postura o movimiento. Los animales se identificaron individualmente con una única etiqueta en la oreja asignada en la recepción. Los animales se alojaron individualmente en jaulas de plástico de policarbonato y recibieron enriquecimiento a modo de lecho de Enrich-o-cobs. Se fijaron cartas de jaula a sus jaulas que
10 identificaban el número de estudio, número de animal, designación de tratamiento, especie/cepa y género. Los animales se aclimataron durante 5 días antes del inicio de los procedimientos experimentales. El número de habitación en la que se alojaron los animales durante todo el estudio se detalló en los informes de estudio. La temperatura se mantuvo a 18-26 °C (64-79 °F) con una humedad relativa del 30-70 %. La temperatura y humedad se controlaron y se registraron los mínimos y los máximos.

15 Grupos de tratamiento. Los animales fueron asignados a grupos de tratamiento basándose en sus datos de Von Frey de valor basal, medidos antes de la cirugía. Las puntuaciones de alodinia mecánica para cada grupo se revisaron para asegurar que los valores de media y desviación estándar satisfacía la hipótesis de homogeneidad. La Tabla 3 presenta los grupos de tratamiento. Se usaron treinta y un (31) animales en el estudio. Se asignaron
20 inicialmente treinta (30) animales a grupos de tratamiento y los cuatro (4) animales restantes se mantuvieron como repuestos. A continuación, se usó un repuesto para reemplazar un animal que murió durante la cirugía. Se tomaron los pesos corporales un día antes de la llegada, antes de la cirugía y semanalmente a continuación. El día 14, después del ensayo de comportamiento final, los animales fueron sometidos a eutanasia mediante asfixia de dióxido de carbono. No se realizó necropsia ni se recogieron tejidos.

25

Tabla 3. Grupos de tratamiento

Grupo	Descripción	Artículo de ensayo	Vía/frecuencia	Dosis mg/kg	N.º/Grupo
1	Cirugía de Bennett	Vehículo	Inyección S.C.	0	10
2	Cirugía de Bennett	Gabapentina	Inyección I.P.	100 mg/kg	10
3	Cirugía de Bennett	(+)-Naloxona HCl	Inyección S.C.	66,7 mg/kg	10

30 Cirugía. Todas las cirugías se realizaron en condiciones asépticas. Antes de la cirugía, las ratas se sedaron usando anestesia de isoflurano inhalado. La pata izquierda se afeitó y preparó. El nervio ciático común se expuso y se liberó del tejido adherido a medio muslo separando el músculo (biceps femoris) mediante disección roma. Próximo a la trifurcación del nervio ciático; aproximadamente 7 mm del nervio se liberó del tejido adherido. Cuatro ligaduras, aproximadamente 1 mm de distancia, se ataron flojamente alrededor del nervio usando catgut crómico 6.0. Cada una de las estructuras se ligó flojamente con un nudo llano alrededor del nervio ciático. Una breve contracción en el músculo que rodea la exposición era un indicador del grado deseado de constricción. El sitio se cerró a continuación
35 usando el material de sutura adecuado. Se llevaron a cabo cuidados y observaciones post operatorias hasta que el animal recuperó la consciencia. Los animales fueron observados por arrastre (de daño quirúrgico inadvertido) los días 1 y 3 post operatorio y diariamente por signos de enfermedad de su salud y bienestar general.

40 Ensayo de comportamiento. Los animales fueron sometidos a una serie de ensayos de comportamiento para la evaluación de dolor neuropático. Se llevó a cabo un ensayo de Von Frey de alodinia mecánica en ambas patas traseras antes de la cirugía para conseguir una medición de valor basal para la asignación al azar y a continuación seguido por la cirugía el día 14 (eficacia de artículo de prueba) según la Tabla 4.

Tabla 4. Pautas de ensayo de comportamiento

Día	Punto de tiempo
0	Valor basar (para asignación al azar)
14	Pre-dosis
14	30 minutos post-dosis
14	90 minutos post-dosis

45

Alodinia mecánica. Dos veces antes de la cirugía, los animales se aclimataron al aparato de alodinia. Esto habitó a las ratas a los dispositivos de ensayo para familiarizarlos con el aparato de modo que estuvieran calmados en el momento del ensayo. El ensayo para alodinia mecánica se usó para evaluar las propiedades anti-nociceptivas de los

compuestos analgésicos. En primer lugar, los animales fueron habituados a la cámara de ensayo de modo que estuvieran lo suficientemente calmados para que se evaluara su umbral de dolor. Una persiana mecánica aplicaba una ligera presión a los grupos de tratamiento en ambas patas traseras de la rata usando una serie de filamentos de nailon calibrados (filamentos Von Frey) de diámetro en aumento. Los filamentos se presionaron perpendicularmente contra la superficie ventral de la pata hasta que se doblara y la rata respondiera retirando su pata cuando consideraba que era doloroso. El umbral de alodinia se determinó usando el método arriba-abajo de Chaplan que proporcionó la fuerza precisa para la retirada de cada rata usando una escala psicofísica de ensayo. Tanto la pata izquierda como la derecha se evaluó en cada punto de tiempo. El orden de ensayo fue la extremidad ipsilateral (afectada) seguida por la extremidad contralateral. Hubo aproximadamente 20 minutos entre el ensayo de las dos extremidades.

Dosificación. El día 14, los animales en los grupos 1 y 3 recibieron una inyección S.C. de cualquier vehículo o (+)-naloxona HCl según la Tabla 3. Fueron dosificados a 1 ml/kg. El día 14, los animales en el grupo 2 recibieron una inyección I.P. de Gabapentina según la Tabla 3. También fueron dosificados a 1 ml/kg.

Estadísticas. Los datos de alodinia se compararon entre grupos y entre patas y puntos de tiempo con un 3 x 2 ANOVA. Cuando los datos fueron significativos ($p < 0,05$), se aplicó un ensayo post-hoc Bonferroni para determinar las diferencias de grupo individuales.

Resultados. El ensayo de alodinia mecánica se realizó antes de la cirugía (valor basal) y en el día 14 después de la cirugía y antes de la dosis y 30 y 90 minutos después de la dosis. Los datos de valor basal no se incluyen en las figuras, pero todos los animales lograron la puntuación máxima de 17 g, indicando ninguna sensibilidad a la máxima fuerza de filamento usada en este ensayo. En el ensayo pre-dosis el día 14, hubo algunos animales que continuaron respondiendo con una puntuación de 17 g. Esto indicó que la cirugía no fue eficaz al causar dolor neuropático en este subconjunto de animales y, por lo tanto, se retiraron del conjunto de datos y se excluyeron de los análisis estadísticos. Los tamaños de muestra final y los datos de alodinia se presentan en la FIG. 2A para la pata izquierda (afectada) y la FIG. 2B (no afectada) para la pata derecha.

Los datos en la FIG. 2A demuestran una alodinia significativa en la pata izquierda para todos los tres grupos en relación con los datos de valor basal previos a la cirugía ($p < 0,01$ para tratamiento, $p < 0,001$ para tiempo). Después de la dosificación, tanto la Gabapentina y la (+)-naloxona fueron eficaces en reducir significativamente la alodinia a los 30 y 90 minutos. Los datos de la pata derecha se muestran en la FIG. 2B y estos datos revelan que no existió alodinia en la pata derecha como se esperaba en este modelo. No hubo diferencias de grupo significativas o diferencias durante todo el tiempo exceptuando en el grupo de Gabapentina, que demostró un umbral superior para el ensayo de alodinia mecánica en el punto de tiempo de 90 minutos que el que se observó en el grupo de vehículo. Esto no resulta sorprendente, ya que la Gabapentina se administró periféricamente y tiene un robusto efecto analgésico bilateralmente.

Conclusiones. Este estudio examinó la eficacia del agente de ensayo, (+)-naloxona, para reducir la alodinia en la pata izquierda de animales que consiguieron un dolor neuropático cuando se sometieron a ensayo el día 14 después de la cirugía. Los resultados mostraron que se consiguió una analgesia significativa por la (+)-naloxona en ambos puntos de tiempo sometidos a ensayo, lo que fue similar a los resultados del control positivo, Gabapentina. Por lo tanto, la (+)-naloxona HCl fue un analgésico eficaz para revertir el dolor neuropático durante un transcurso de tiempo de 30 y 90 minutos post-dosis el día 14 usando una dosis de 66,7 mg/kg.

Ejemplo 4: Evaluación de (+)-Morfínicos para inhibir/reducir hepatotoxicidad inducida por acetaminofeno

Las lesiones hepáticas inducidas por acetaminofeno son la causa más común de muerte debido a la insuficiencia hepática aguda. El tratamiento con un (+)-morfínico puede reducir o evitar la lesión hepática aguda inducida por acetaminofeno (APAP). La eficacia de los compuestos (+)-morfínicos que se desvelan en el presente documento para reducir la lesión hepática después de la exposición a una dosis tóxica de APAP puede probarse en modelo de ratón de toxicidad inducida por APAP.

Para esto, la toxicidad hepática inducida por APAP puede inducirse en ratones C57BL/6 macho con una edad de entre 8-10 semanas con una inyección intraperitoneal (ip) de APAP en PBS en una dosis de 500 mg/Kg (Imaeda y col. (2009) J. Clin. Invest. 119(2):305-314). El (+)-morfínico puede administrarse a 10 - 60 mg/Kg como una única inyección (subcutáneamente (sc) o ip) al mismo tiempo que la inyección de APAP. Con este modelo experimental, la capacidad de los (+)-morfínicos en reducir la toxicidad hepática puede someterse a ensayo en los siguientes grupos;

- 1) Sin APAP y PBS (n= 5)
- 2) Sin APAP y (+)-morfínico (n= 5)
- 3) APAP y PBS (n= 25)
- 4) APAP y (+)-morfínico (n= 25)

A las 12 horas después de la inyección, se sacrificaron todos los ratones y se recogieron los siguientes datos a)

histología hepática con tinción H&E, b) suero de ALT (alanina transaminasa y/o c) niveles de ARNm completo del hígado para Pro-IL-1 β (pro-interleucina 1 beta).

5 Se predice que el grupo 3 mostrará una lesión hepática significativa. El grupo 4, sin embargo, puede tener una lesión hepática inferior, indicando que los (+)-morfinanos protegen el hígado de daño inducido por una dosis tóxica de APAP.

Ejemplo 5: La evaluación de los (+)-morfinanos para inhibir/reducir la inflamación usando Modelo de AIA

10 Los efectos antiinflamatorios de (+)-morfinanos puede someterse a ensayo en sistemas de modelo animal. Por ejemplo, La artritis inducida por adyuvante (AIA) del modelo de rata Lewis es un buen modelo animal para la artritis reumatoide, una enfermedad caracterizada por un linfocito T y un infiltrado celular de macrófagos.

15 Las ratas de Lewis macho (7 semanas de edad; ~ 200 g) pueden ser inyectadas con 0,1 ml de *Mycobacterium butyricum* en Adyuvante de Freund incompleto subcutáneo en la base de la cola. Las ratas pueden dividirse en grupos de control y de tratamiento (~10 ratas/grupo) como se indica a continuación. Los animales pueden tratarse dos veces diariamente empezando el día de la inyección de la micobacteria y continuando durante 4 semanas.

- 20 1) Vehículo: 2,5 ml/kg de 20 % de HBC (2-Hidroxiopropil, β -ciclodextrina)
 2) Prednisolona (Control Positivo) 4,5 mg/kg, ip, BID
 3) (+)-morfinano 5-20 mg/kg, sc, BID

25 Las ratas pueden pesarse dos veces durante el transcurso del ensayo. Empezando la segunda semana, las ratas pueden observarse dos-tres veces a la semana por signos clínicos de AIA. Para esto, pueden examinarse todas las cuatro patas y puntuarse usando la siguiente escala por un máximo de 16 puntos.

- 30 0 = sin signos de inflamación
 1 = rojez moderada, primera indicación de hinchazón, articulación aún flexible
 2 = rojez moderada, hinchazón moderada, articulación aún flexible
 3 = rojez, hinchazón significativa y distorsión de la pata, articulación empezando a fusionarse; tentativa en usa o poner peso sobre la pata
 4 = rojez, gran hinchazón y distorsión de la pata, articulación completamente fusionada; no se desea usar o poner peso sobre la pata

35 Al final de la cuarta semana de ensayo, los animales pueden someterse a eutanasia, pueden recogerse muestras de sangre/suero para el perfil de citoquina y las patas con articulaciones de tobillo de pueden preservarse para la histología.

Ejemplo 6: Evaluación de los (+)-morfinanos para inhibir/reducir la inflamación usando Modelo de EAE

40 La eficacia de los (+)-morfinanos para reducir la inflamación también puede someterse a ensayo en el modelo de rata Lewis EAE (Encefalomiелitis Autoinmune Experimental). Para esto, ratas de Lewis hembra (7 semanas de edad; ~ 200 g) pueden ser inyectadas con 0,05 ml de *Mycobacterium tuberculosis* en emulsión de médula espinal de cobaya en cada almohadilla de pata principal de las patas delanteras. Las ratas pueden dividirse en grupos de control y de tratamiento (~10 ratas/grupo) como se indica a continuación. Los animales pueden tratarse dos veces diariamente empezando el día de la inyección de la micobacteria.

- 50 1) Vehículo: 2,5 ml/kg de 20 % de HBC
 2) Prednisolona (Control Positivo) 4,5 mg/kg, ip, BID
 3) (+)-morfinano 5-20 mg/kg, sc, BID

55 Las ratas pueden pesarse dos veces a la semana y, empezando la segunda semana, pueden observarse dos-tres veces a la semana para signos clínicos de EAE usando el sistema de puntuación que se detalla a continuación. Las ratas que se sitúan en puntuaciones al límite pueden proporcionarse una mitad de puntuación, tal como 3,5. Las ratas moribundas se someterán a eutanasia.

Puntuación de EAE	Síntomas
0	Normal
1	Cola flácida
2	Parálisis incompleta de una o ambas patas traseras (debilidad, flojera, temblor)
3	Parálisis completa de una pata trasera o ambas patas traseras pueden moverse pero no ayudan en el movimiento corporal

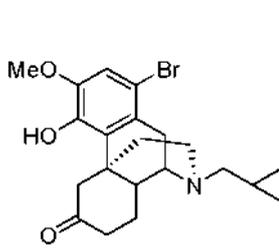
4	Parálisis completa de ambas patas traseras (la mitad de la rata se arrastra alrededor de la jaula)
5	Parálisis completa de las patas traseras y debilidad de una o ambas patas delanteras o moribunda, o muerta

Ejemplo 7: Evaluación de (+)-morfina en combinación con agente quimioterapéutico para tratar tumor de injerto heterólogo

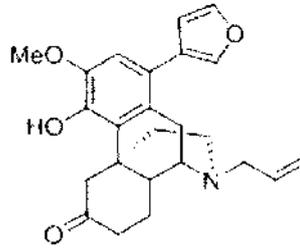
- 5 Para determinar si los (+)-morfina aumentan la eficacia de los agentes quimioterapéuticos, se puede realizar el siguiente ensayo. Ratonas lampiños hembra (Hsd:Atómico Lampiño-Foxn1 nu/nu; 5-6 semanas de edad) pueden ser inyectados sc en la región del hombro derecho con células tumorales humanas que expresan EGFR. Las ratonas pueden dividirse en los siguientes grupos de tratamiento (~10 ratas/grupo):
- 10
- 1) Vehículo: salino
 - 2) Cisplatino 6 mg/kg, iv, 3 veces diariamente
 - 3) Cisplatino 6 mg/kg iv y (+)-morfina 20 mg/kg, sc, 3 veces diariamente
 - 4) Inhibidor de EGFR, iv, 3 veces diariamente
 - 5) inhibidor de EGFR iv y (+)-morfina 20 mg/kg, sc, 3 veces diariamente
- 15 Las palpaciones de tumores pueden empezar 7 días después de la implantación. Los tumores pueden observarse y medirse 3 veces a la semana. Las mediciones de calibre - en mm de anchura (medición pequeña) x longitud (medición grande). Puede registrarse el peso corporal el día 1 del ensayo (día de implantación celular) y una vez a la semana hasta la necropsia. Se seguirán las directrices de eutanasia NIH para tumores de roedores (por ejemplo, si el diámetro tumoral excede los 20 mm, si el tumor es un tumor ulcerado, si el tumor restringe gravemente la capacidad del animal en comer, beber, eliminar desechos, respirar o deambular o si el animal se está volviendo escuálido y/o pierde más del 20 % del peso anterior al estudio).
- 20

REIVINDICACIONES

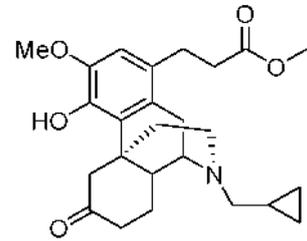
1. Un compuesto elegido entre las siguientes fórmulas:



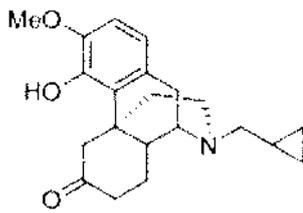
I-2,



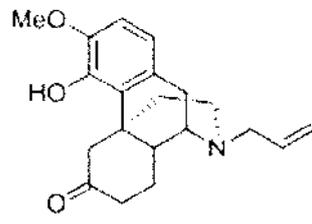
I-3,



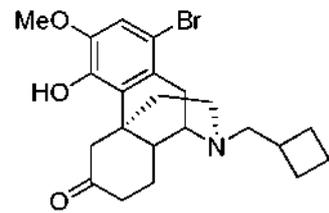
I-4,



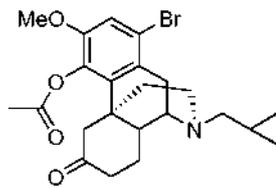
I-6,



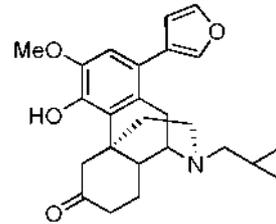
I-7,



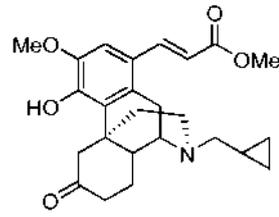
I-8,



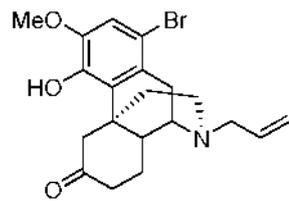
I-12,



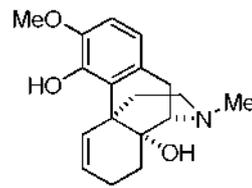
I-13,



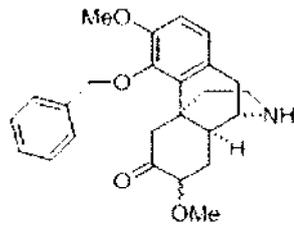
I-14,



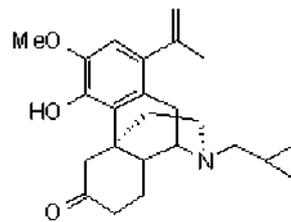
I-21,



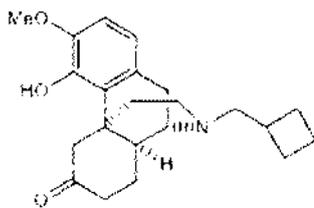
I-22,



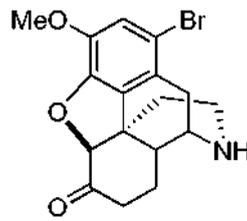
I-26,



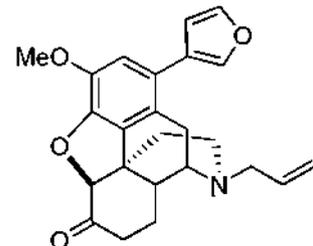
I-27,



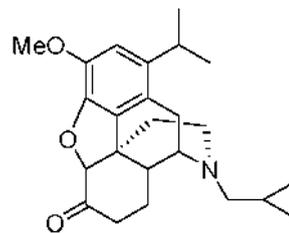
I-29,



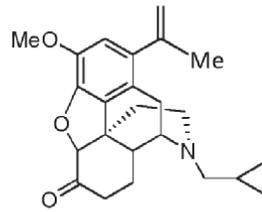
II-1,



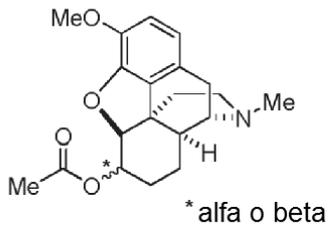
II-2,



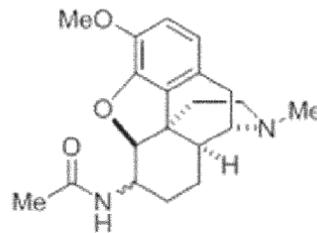
II-4,



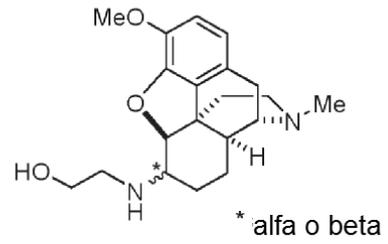
II-5,



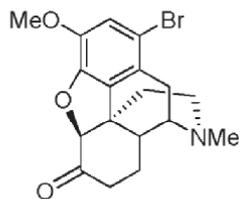
II-8,



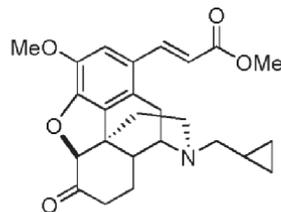
II-9,



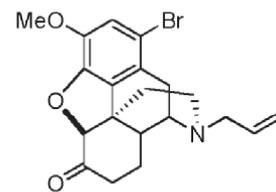
II-10,



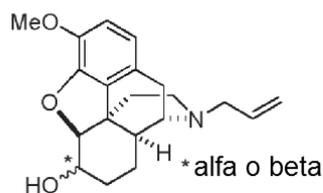
II-11,



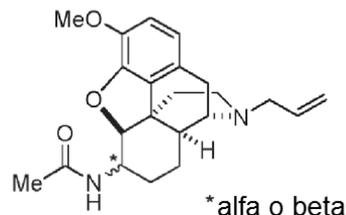
II-15,



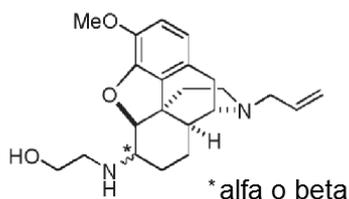
II-16,



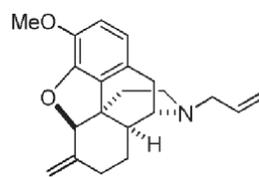
II-19,



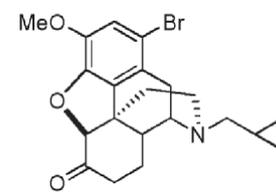
II-20,



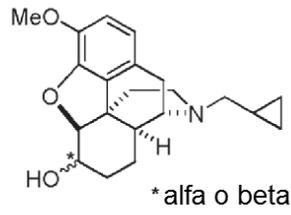
II-21,



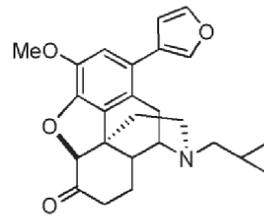
II-22,



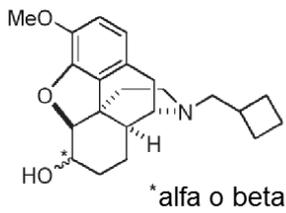
II-23,



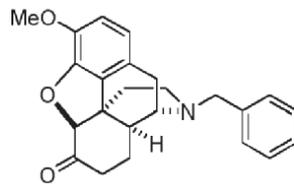
II-25,



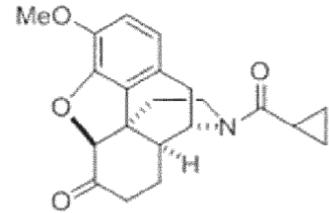
II-26,



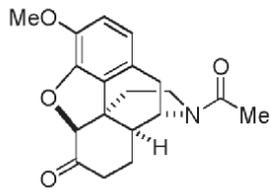
II-28,



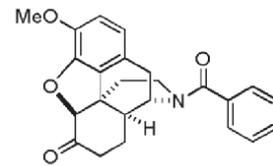
II-29,



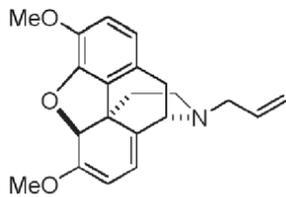
II-30,



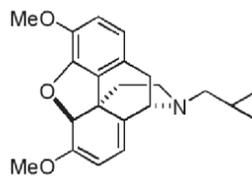
II-31,



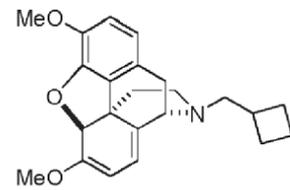
II-33,



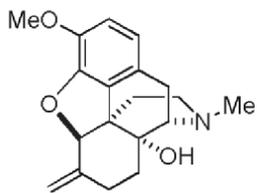
II-35,



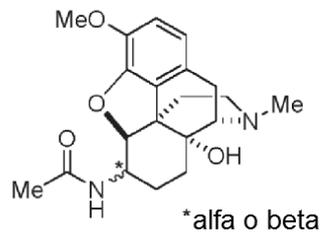
II-36,



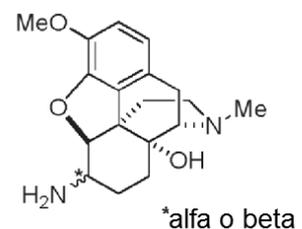
II-37,



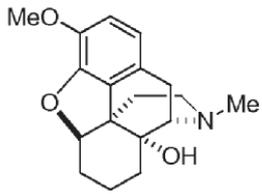
II-41,



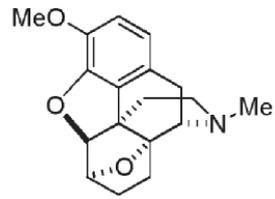
II-42,



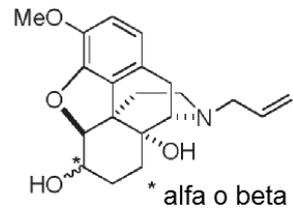
II-43,



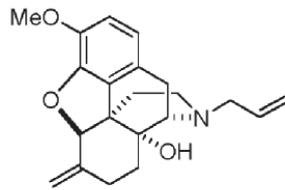
II-44,



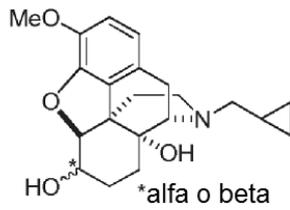
II-46,



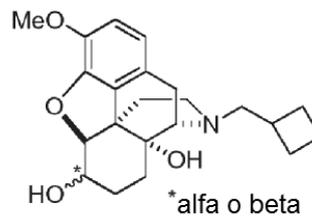
II-48,



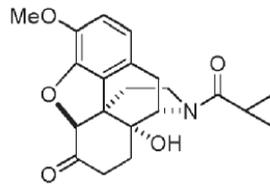
II-51,



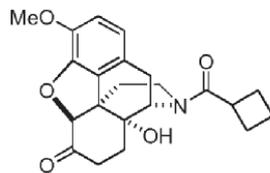
II-53,



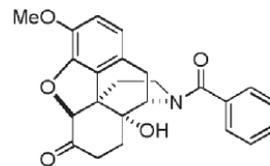
II-55,



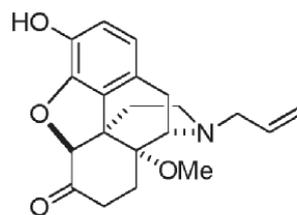
II-57,



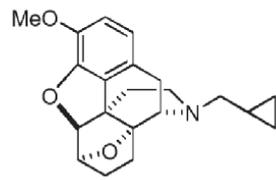
II-59,



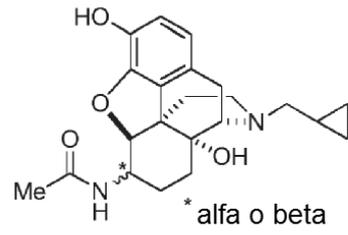
II-60,



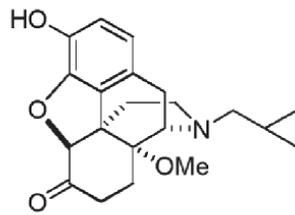
II-70,



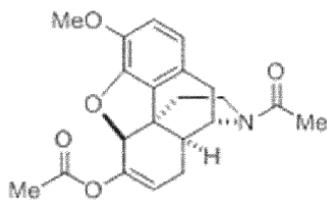
II-72,



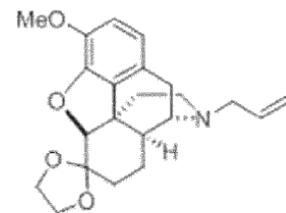
II-75,



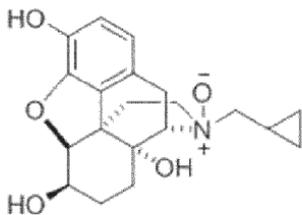
II-79,



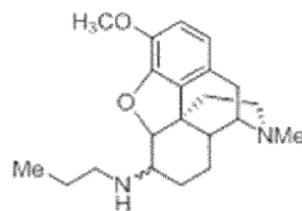
II-83,



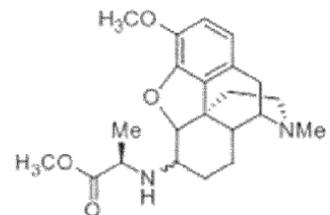
II-89,



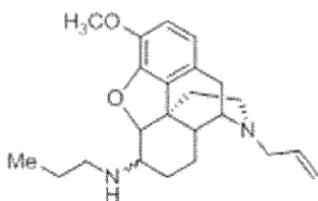
II-90,



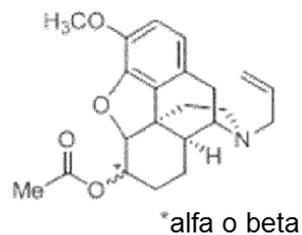
II-91,



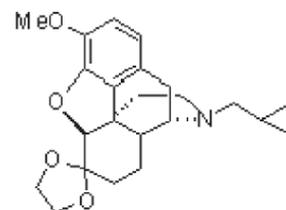
II-92,



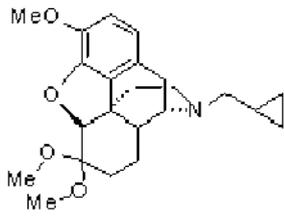
II-93,



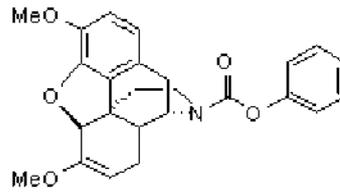
II-94,



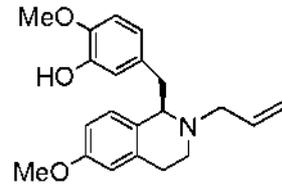
II-97,



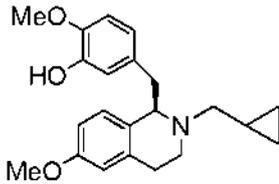
II-99,



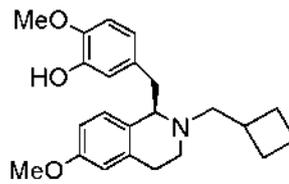
II-100,



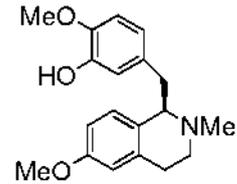
III-2,



III-3,



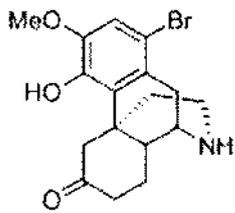
III-4, and



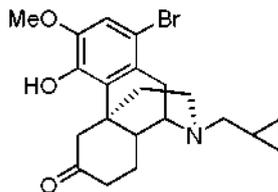
III-5,

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

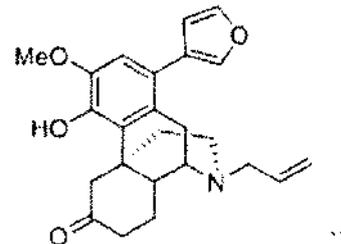
- 5 2. Un método para inhibir la activación de TLR9, comprendiendo el método poner en contacto *in vitro* una célula que expresa TLR9 con un compuesto escogido entre las siguientes fórmulas:



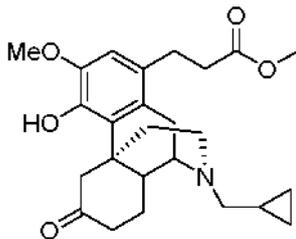
I-1,



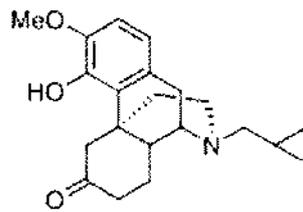
I-2,



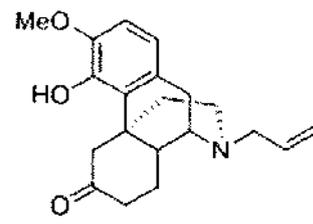
I-3,



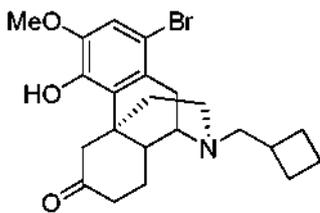
I-4,



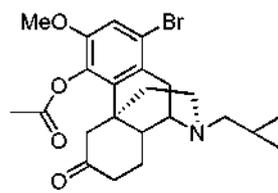
I-6,



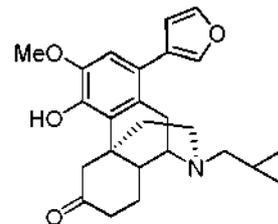
I-7,



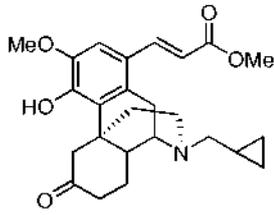
I-8,



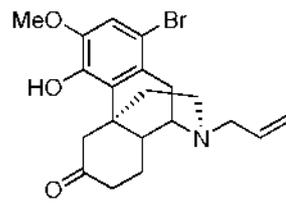
I-12,



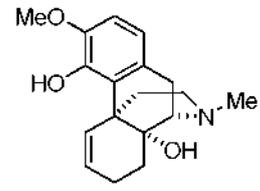
I-13,



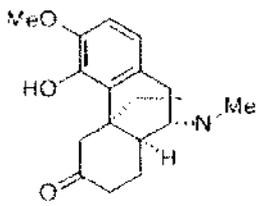
I-14,



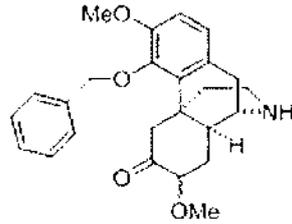
I-21,



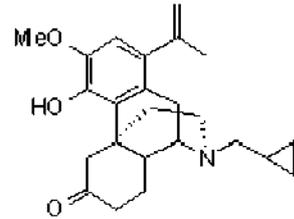
I-22,



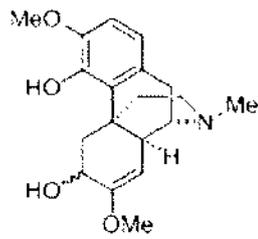
I-25,



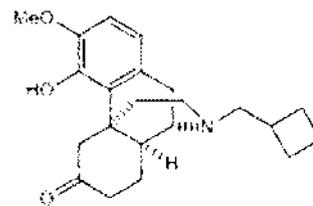
I-26,



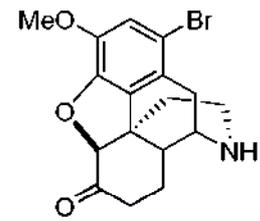
I-27,



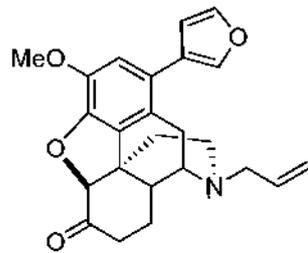
I-28,



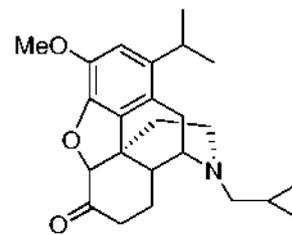
I-29,



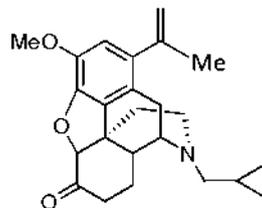
II-1,



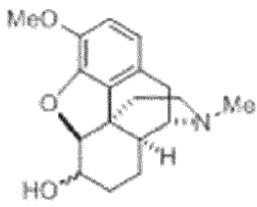
II-2,



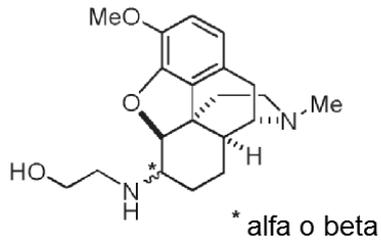
II-4,



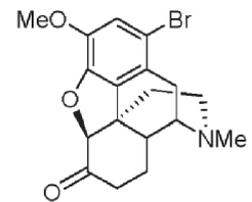
II-5,



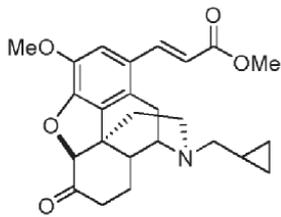
II-7,



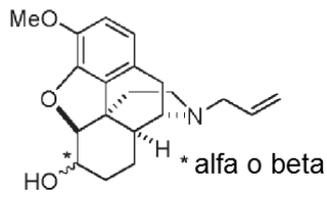
II-10,



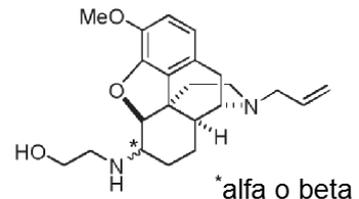
II-11,



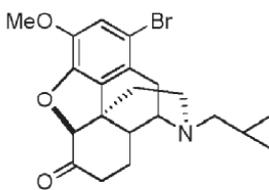
II-15,



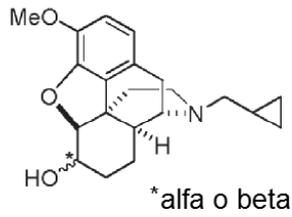
II-19,



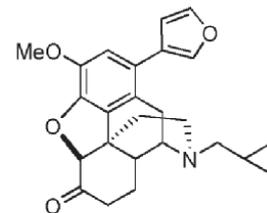
II-21,



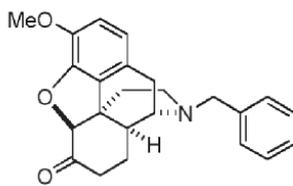
II-23,



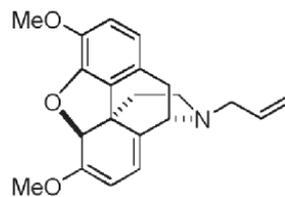
II-25,



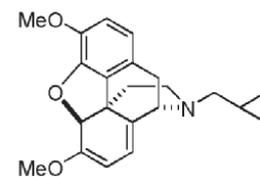
II-26,



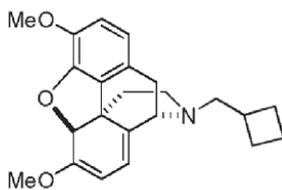
II-29,



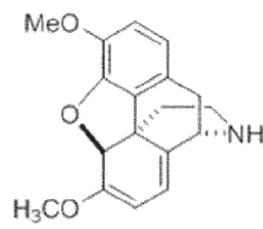
II-35,



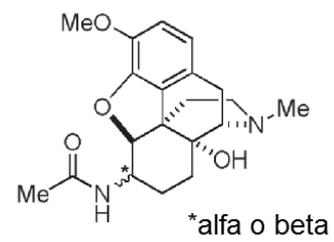
II-36,



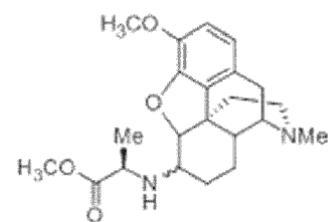
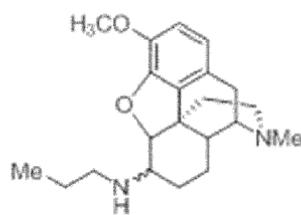
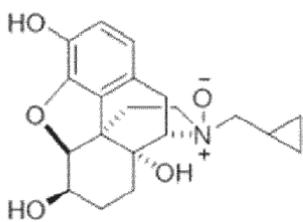
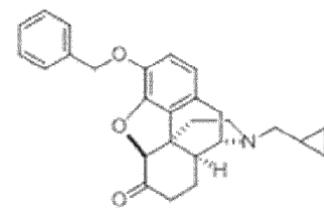
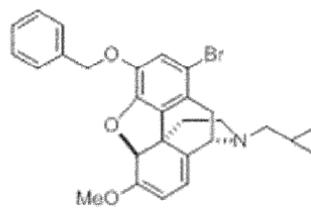
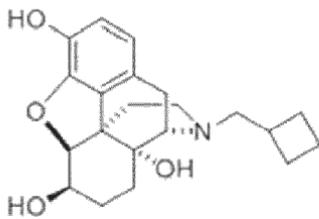
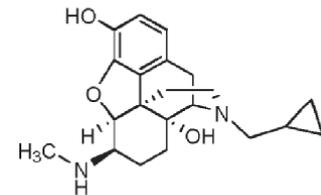
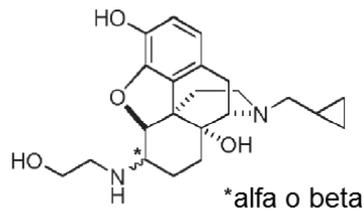
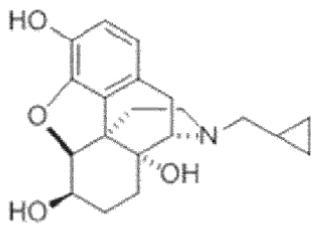
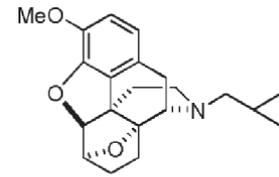
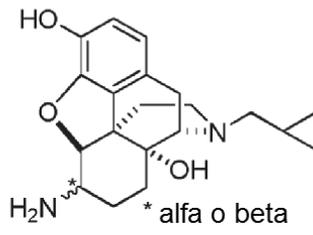
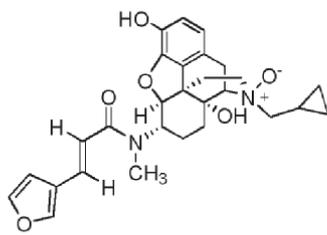
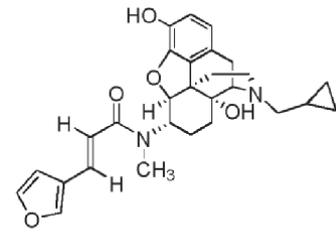
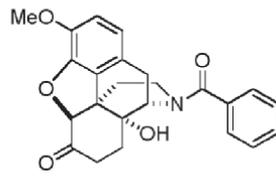
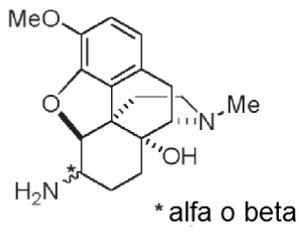
II-37,

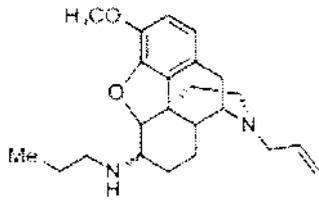


II-38,

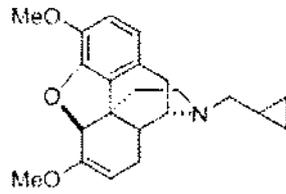


II-42,

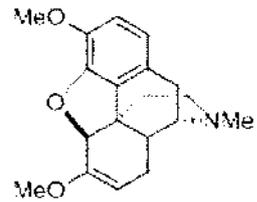




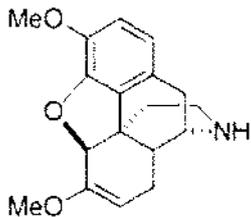
II-93,



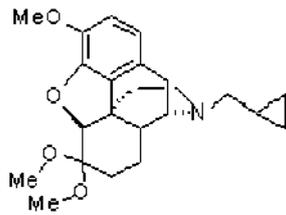
II-95,



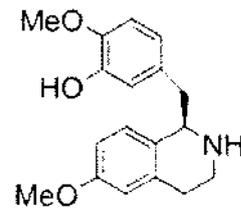
II-96,



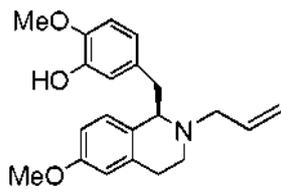
II-98,



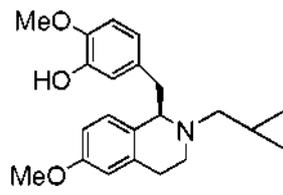
II-99,



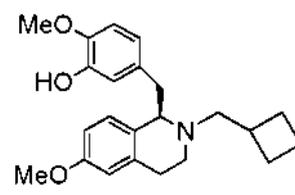
III-1,



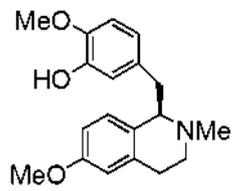
III-2,



III-3,



III-4, and



III-5,

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

- 5 3. El método de la reivindicación 2, en el que la célula se escoge a partir de una célula glial, una célula microglial y un astrocito.

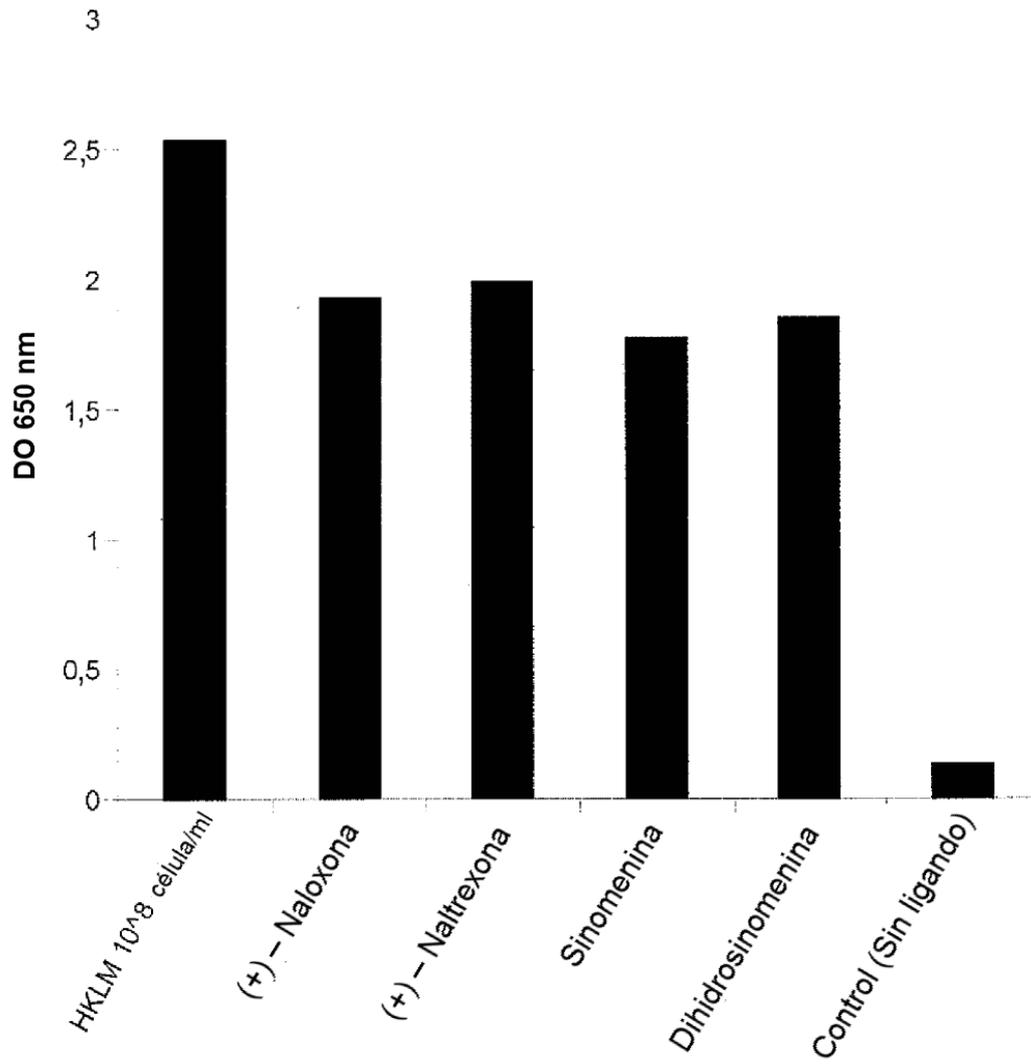


FIG. 1A

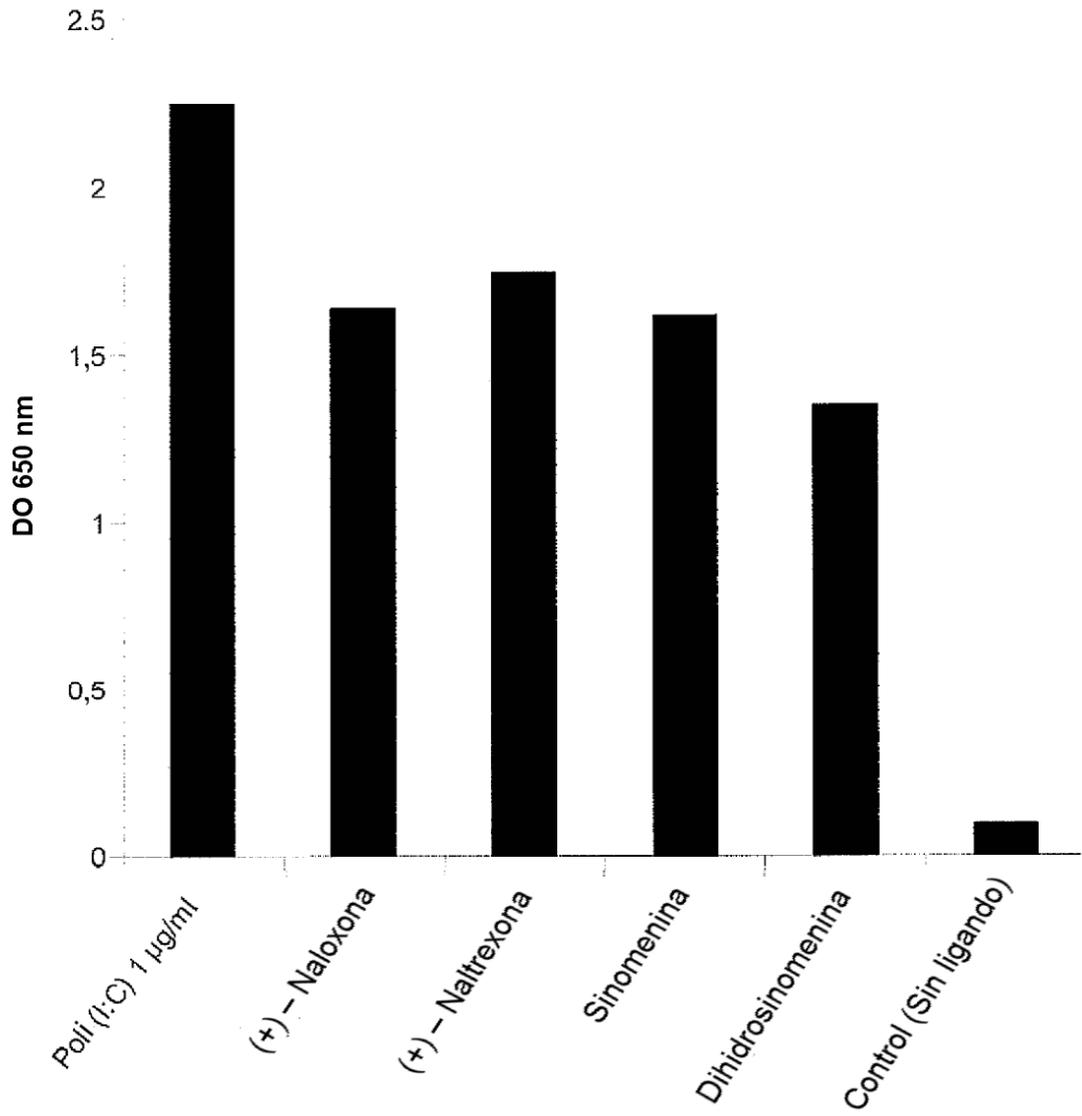


FIG. 1B

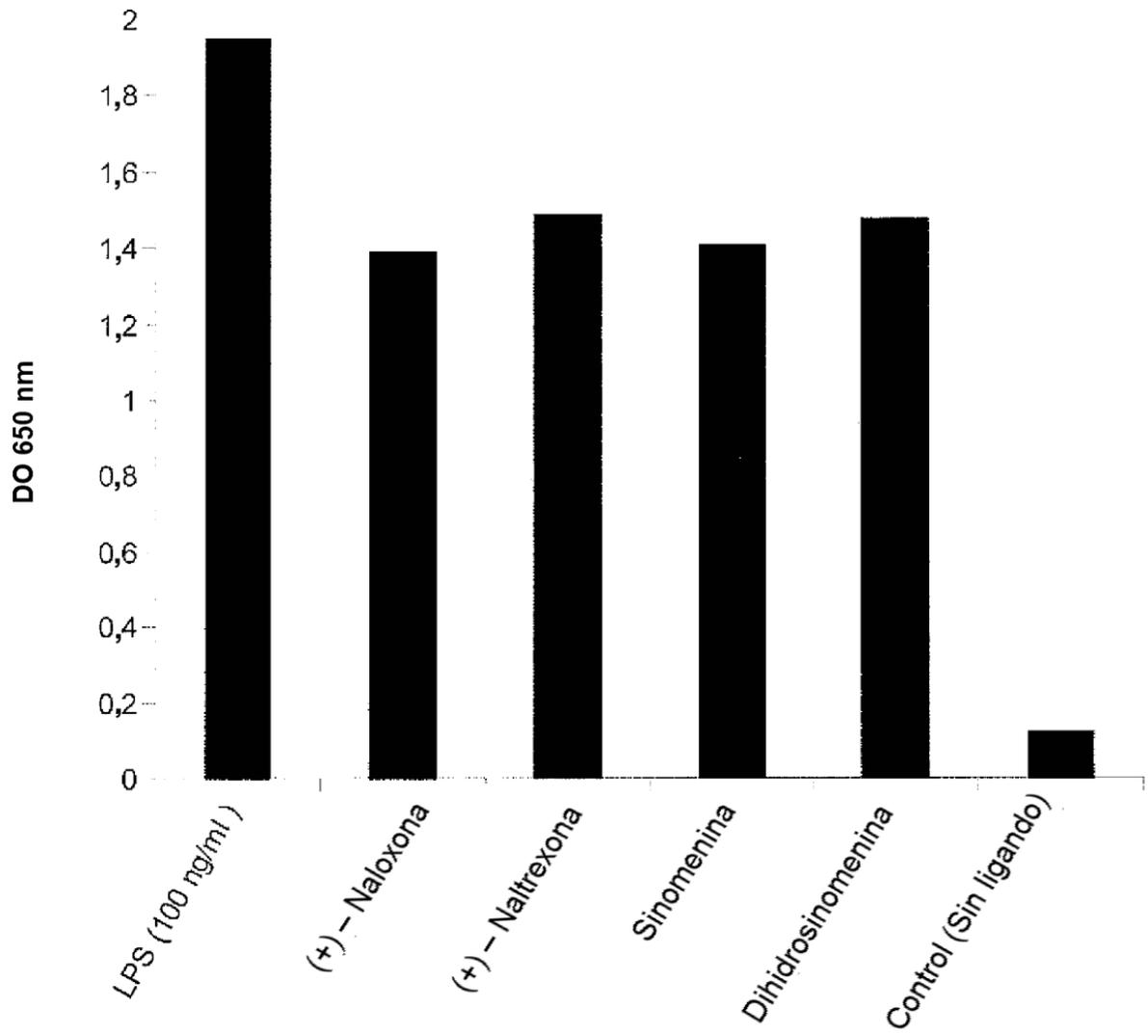


FIG. 1C

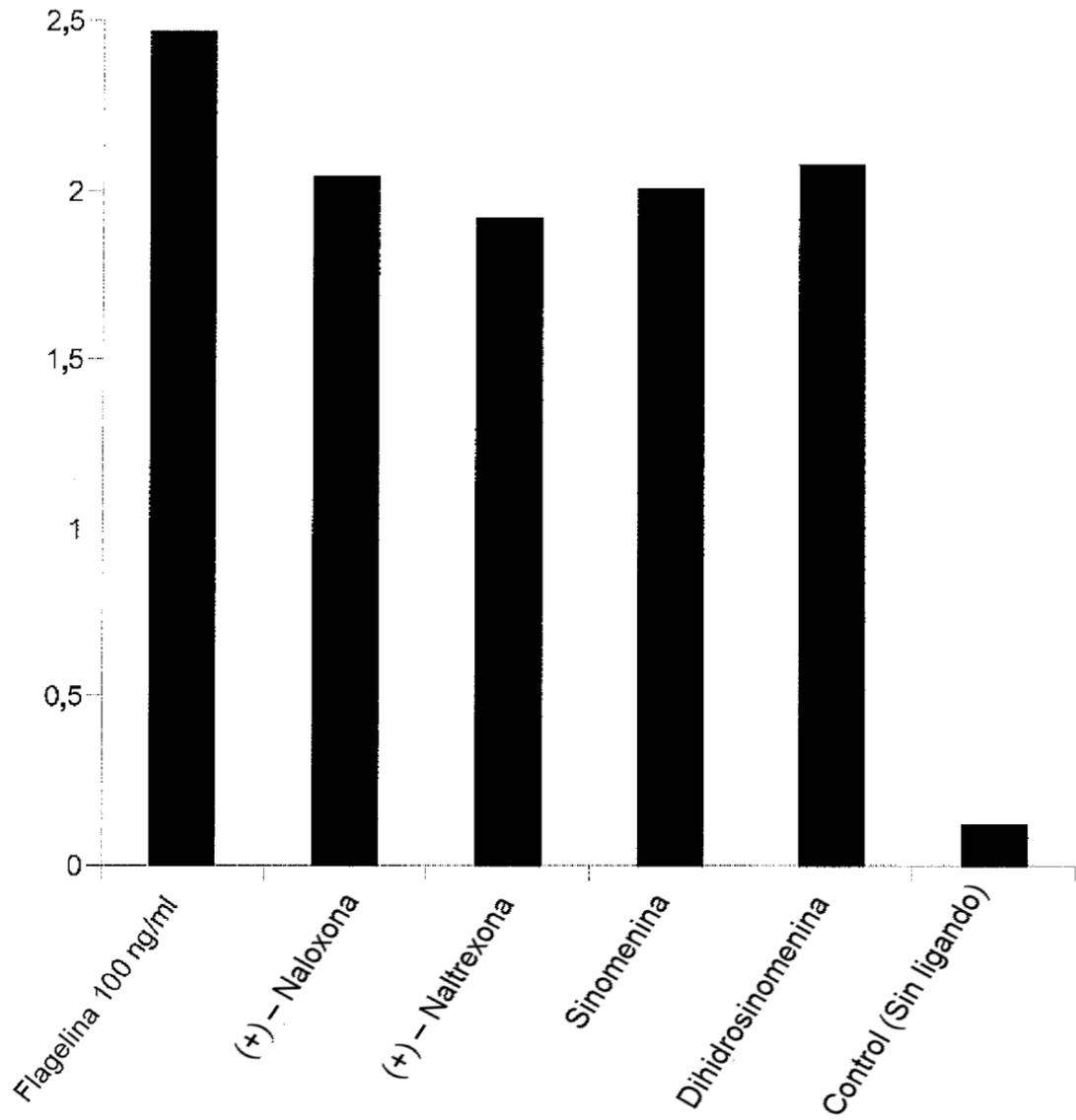


FIG. 1D

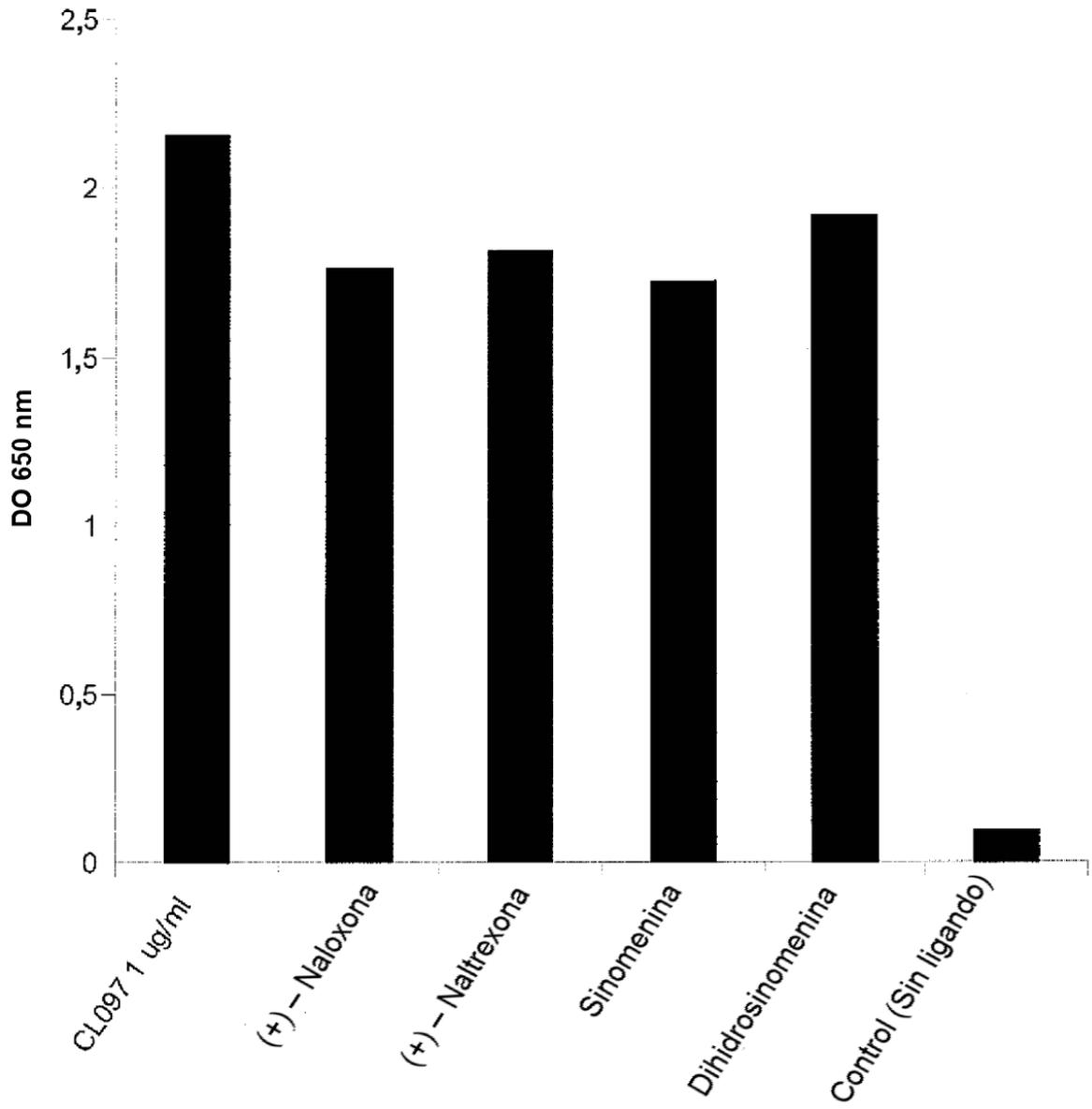


FIG. 1E

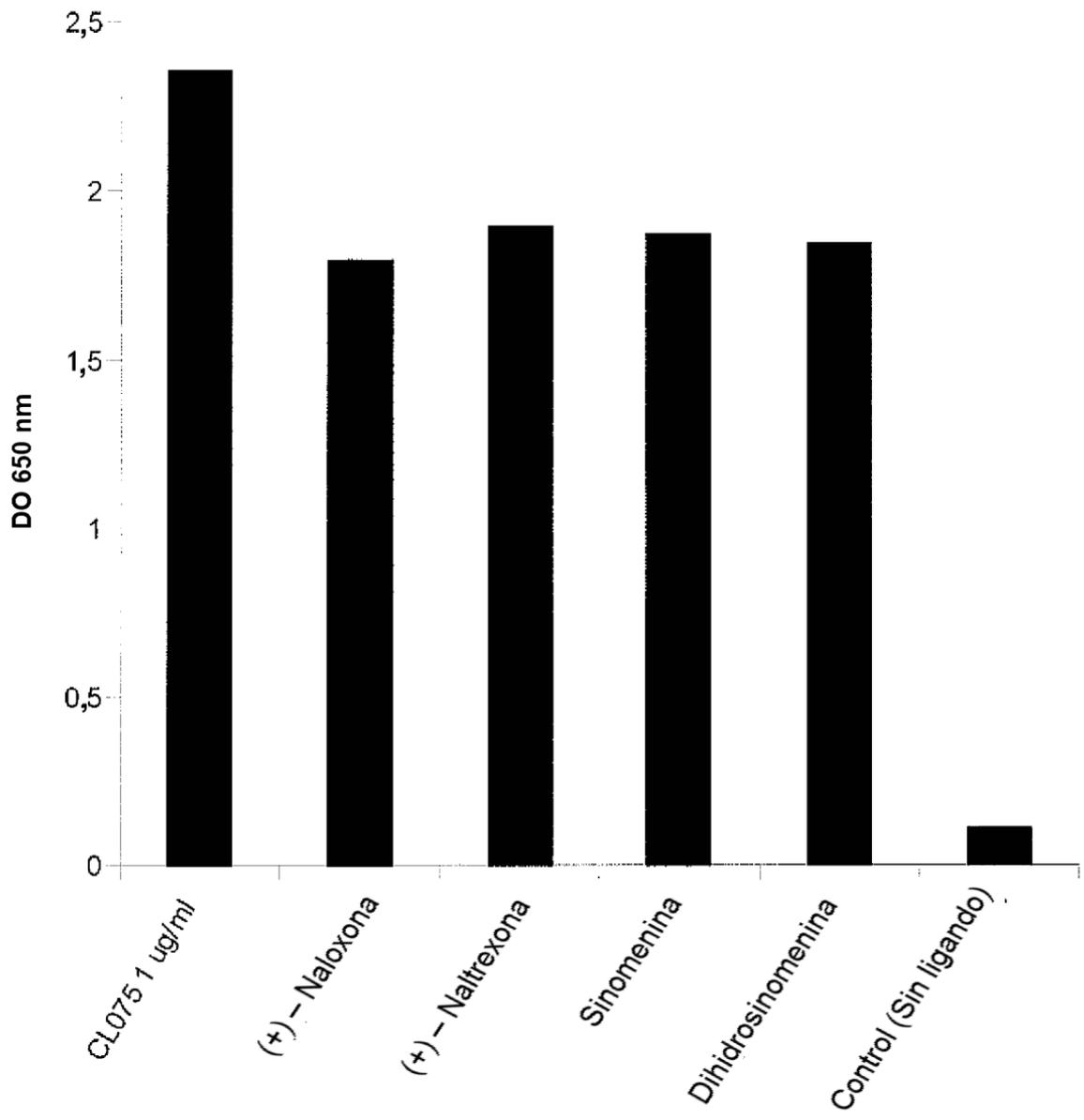


FIG. 1F

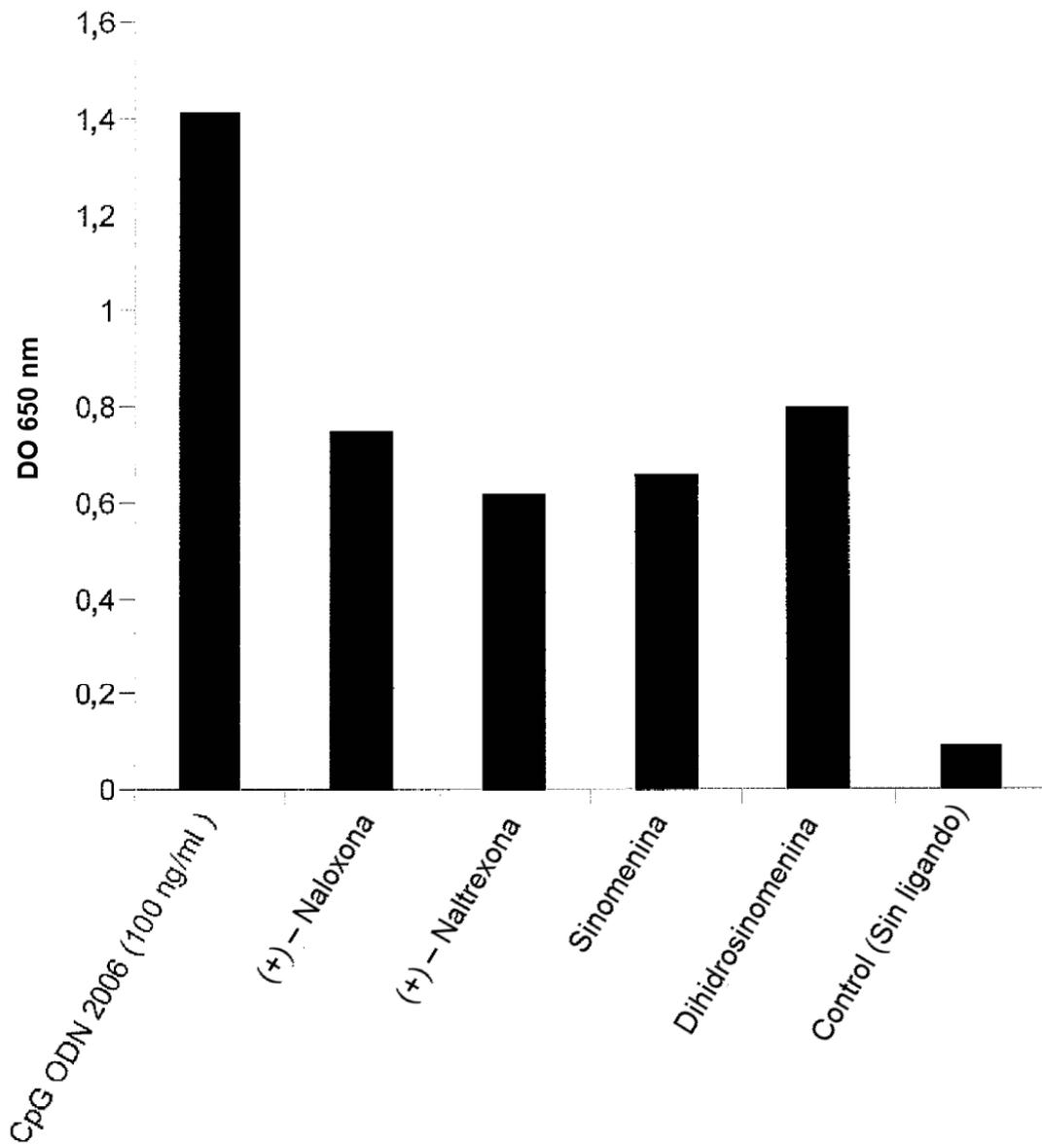


FIG. 1G

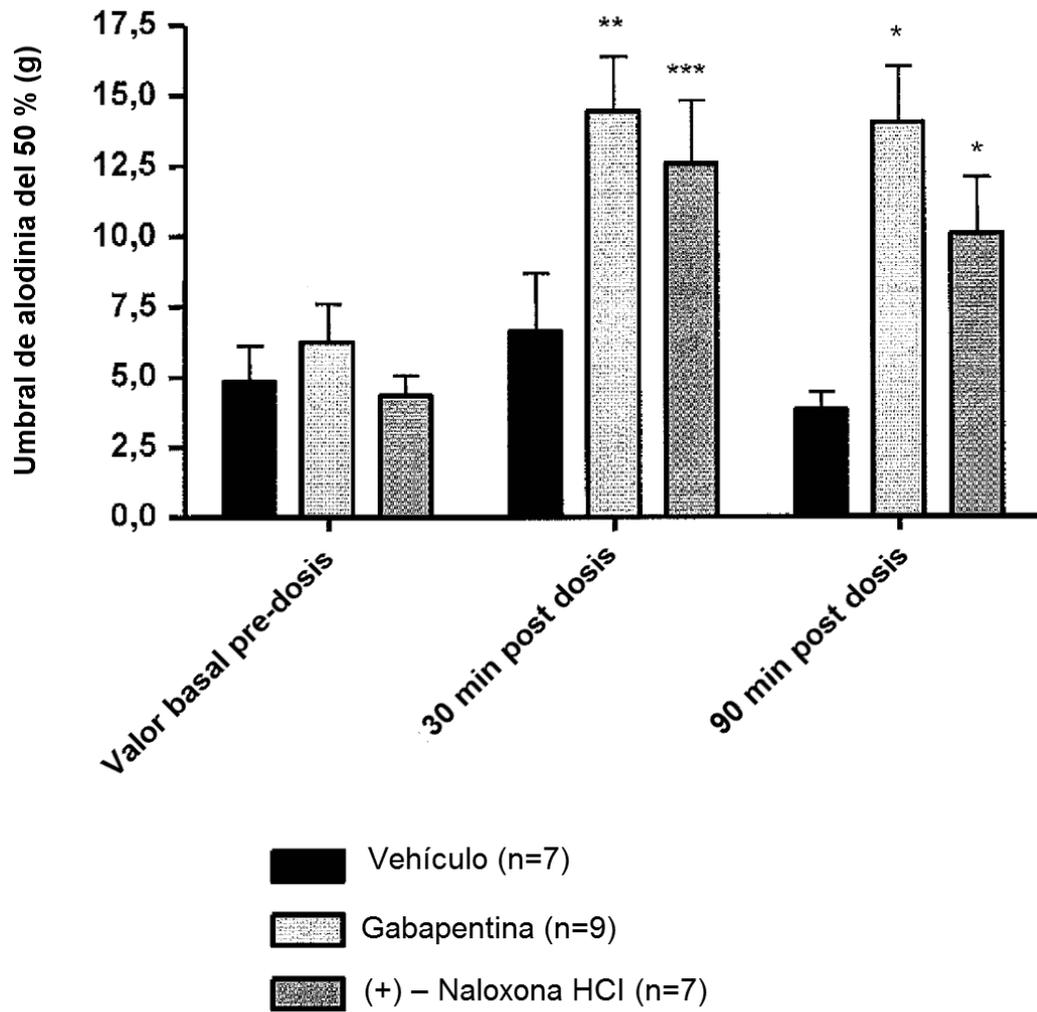


FIG. 2A

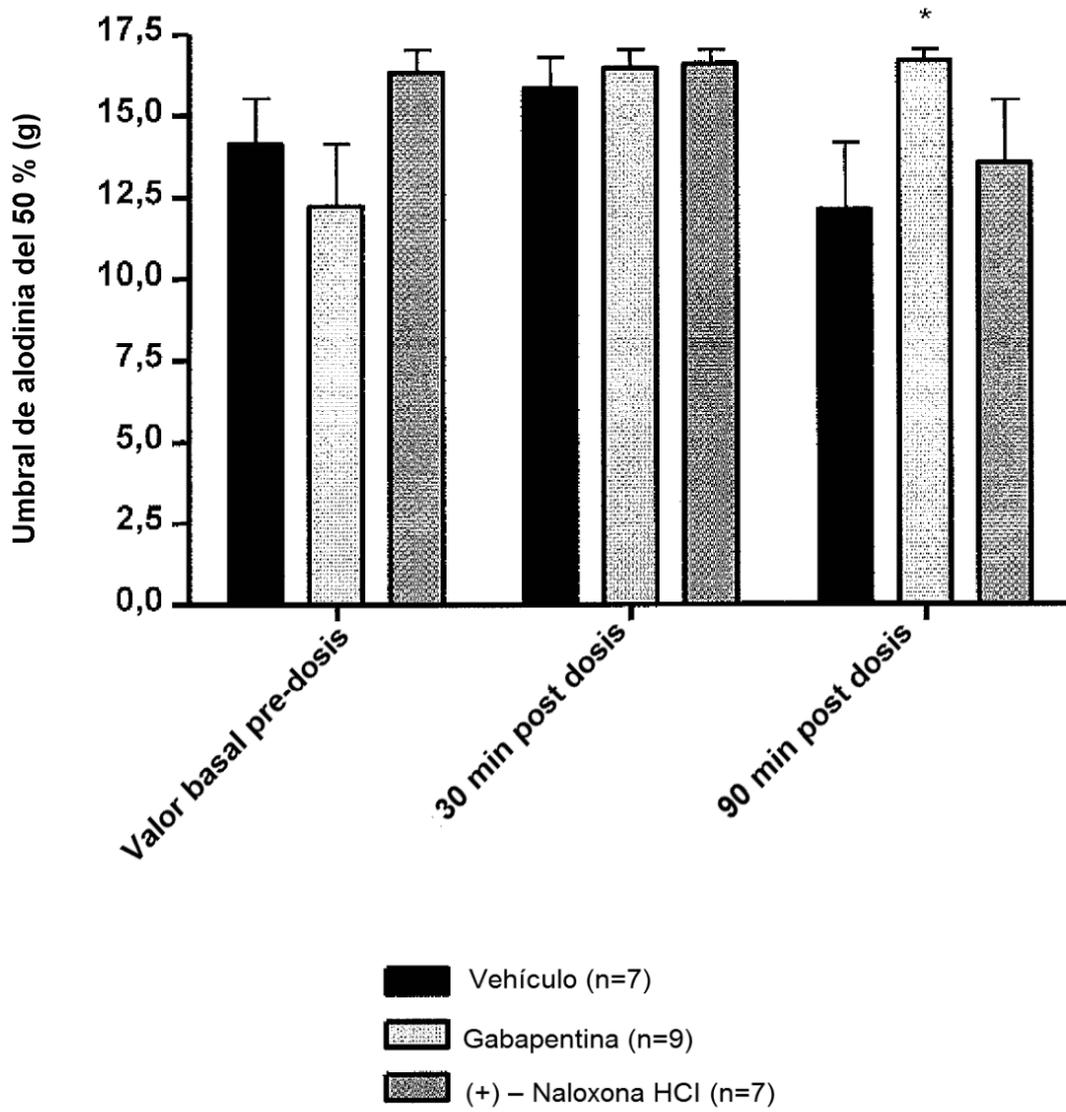


FIG. 2B