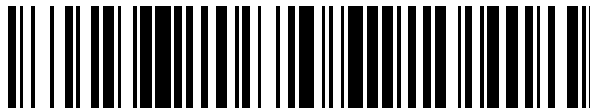


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 568 878**

51 Int. Cl.:

**C07D 245/00** (2006.01)

**C07D 487/22** (2006.01)

**A61K 31/787** (2006.01)

**A61K 47/22** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.10.2011 E 11833403 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.01.2016 EP 2627641**

54 Título: **Inversión del bloqueo neuromuscular inducido por fármacos usando contenedores moleculares de cucurbit[n]urilo novedosos**

30 Prioridad:

**13.10.2010 US 392729 P**

**13.10.2010 US 392722 P**

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

**05.05.2016**

73 Titular/es:

**UNIVERSITY OF MARYLAND, COLLEGE PARK (50.0%)**

**Office of Technology Commercialization, 2130 Mitchell Building, 7999 Regents Drive**

**College Park, MD 20742, US y**

**THE GENERAL HOSPITAL CORPORATION (50.0%)**

72 Inventor/es:

**ISAACS, LYLE DAVID;**

**MA, DA y**

**EIKERMANN, MATTHIAS**

74 Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

Observaciones :

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

**ES 2 568 878 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

Inversión del bloqueo neuromuscular inducido por fármacos usando contenedores moleculares de cucurbit[n]urilo novedosos.

5

### DECLARACIÓN EN RELACIÓN CON LA INVESTIGACIÓN PATROCINADA POR EL GOBIERNO FEDERAL

Esta invención se hizo con el apoyo del gobierno con el N° de concesión CHE0615049 otorgada por la National Science Foundation. El gobierno tiene ciertos derechos en la invención.

10

### CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere generalmente a una composición para su uso en la inversión de los efectos de agentes usados para inmovilizar y anestesiar pacientes durante intervenciones médicas. Más particularmente, la invención se refiere a una composición para su uso en la inversión de tanto un bloqueo neuromuscular inducido por fármacos, como una anestesia, mediante la administración de compuestos contenedor de tipo CB[n] acíclicos novedosos a individuos que lo necesiten.

15

### ANTECEDENTES DE LA INVENCION

20

La anestesia general es un condición reversible e inducida por fármacos que comprende cinco estados conductuales: hipnosis (pérdida del conocimiento), amnesia, analgesia e inmovilidad (ningún movimiento en respuesta a estímulos de color), y estabilidad hemodinámica con control de la respuesta al estrés. Se usan anestésicos, tales como ketamina para proporcionar todos los estados conductuales anteriores. Se usan agentes de bloqueo neuromuscular (NMBA) para proporcionar inmovilidad (relajación muscular) en pacientes anestesiados, como parte de procedimientos médicos convencionales donde se requiere la administración de anestesia. Por ejemplo, se usan NMBA para permitir una intubación endotraqueal segura para la administración de la anestesia. También se usan para facilitar el acceso de los cirujanos a las cavidades corporales sin riesgo de movimientos musculares voluntarios o reflejos que, si no se controlan, pueden comprometer la precisión requerida para dichas intervenciones. También pueden usarse NMBA en el cuidado de pacientes para los que es necesaria ventilación mecánica, pero en los que la sedación y la analgesia en solitario son inadecuadas, para hacer al paciente susceptible a una inserción y/u operación en curso de un aparato de ventilación adecuado.

25

30

35

La inversión farmacológica de los efectos de los NMBA se usa típicamente al final de la cirugía. Actualmente en Estados Unidos, todos los agentes de inversión aprobados son inhibidores de la acetilcolinesterasa que inhiben el metabolismo de la acetilcolina. Sin embargo, estos inhibidores tienen muchos efectos secundarios, tales como bradicardia, hipersalivación, hipotensión y broncoespasmo. Aunque algunos de los efectos no deseados pueden aliviarse por la administración concomitante de agonistas del receptor de la acetilcolina muscarinérgico, tal como atropina, los propios agentes co-administrados también pueden desencadenar efectos no deseados, tales como visión borrosa, boca seca y taquicardia. Además, los inhibidores de la acetilcolinesterasa únicamente pueden usarse cuando la actividad neuromuscular ya ha recuperado el 10 % de la actividad normal, pero los bloqueos musculares más intensos no pueden invertirse por inhibidores de la acetilcolinesterasa. Aunque se ha usado en algunos países sugammadex, una molécula de ciclodextrina que encapsula e inactiva NMBA estereoisómeros, para la inversión del bloqueo neuromuscular inducido por rocuronio y vecuronio, el uso de este agente en Estados Unidos se restringió por la Food and Drug Administration debido a reacciones alérgicas graves y anomalías de coagulación inducidas por éste. Además, los compuestos de NMBA de tipo bencilisoquinolina, que representan aproximadamente un 30 % del volumen de mercado actual de NMBA, no pueden invertirse por sugammadex. Además, no es posible con ningún fármaco disponible invertir el NMBA de tipo bencilisoquinolina (por ejemplo, atracurio o cisatracurio). Además, aunque las acciones de muchos fármacos usados en anestesiología se invierten farmacológicamente cuando ya no se desean (por ejemplo, NMBA, opiáceos, benzodiazepinas), no es el caso para la pérdida del conocimiento inducida por anestesia general. Por lo tanto, existe la necesidad constante e insatisfecha de mejoras en la inversión del bloqueo neuromuscular inducido por fármacos.

40

45

50

55

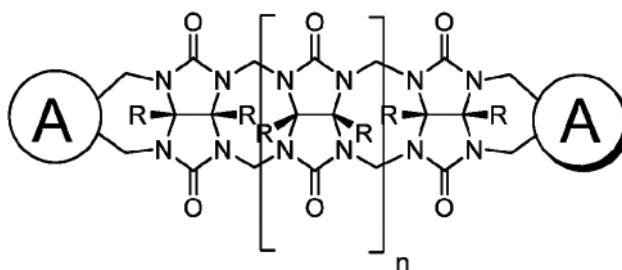
Kimoon Kim y col: "Functionalized cucurbiturils and their applications", Chemical Society Reviews, vol. 36, N° 2, 1 de enero de 2007, página 267 desvela un método para funcionalizar directamente cucurbit[n]urilo (n es 5 -10), mejorando de este modo su solubilidad.

Gaya Hettiarachchi y col: "Toxicology And Drug Delivery By Cucurbit[N]Uril Type Molecular Containers", PloS ONE, vol. 5, N° 5, 1 de enero de 2010, página e10514-1 desvela la toxicología, captación y bioactividad de dos

cucurbit[n]urilos y tres contenedores de tipo CB[n]. Da Ma y col: "Acyclic Cucurbit[n]uril Congeners Are High Affinity Hosts", The Journal Of Organic Chemistry, vol. 75, N° 14, 16 de julio de 2010, páginas 4786-4795 desvela el diseño, la síntesis a través de componentes básicos de tetrámero de glicolurilo puentado con metileno, y la caracterización de congéneres acíclicos de cucurbit[n] que funcionan como huéspedes para una gran diversidad de iones amonio en agua.

#### BREVE RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención proporciona una composición para su uso en la inversión de los efectos de agentes usados para la inmovilización muscular y/o la pérdida del conocimiento y/o la pérdida de percepción del dolor. Aunque no forma parte de la invención reivindicada, el uso comprende administrar una composición que comprende un compuesto de la invención a un individuo que necesita la inversión de los efectos de los NMBA y/o una anestesia de tal forma que los efectos del agente o agentes se reduzcan parcial o totalmente. Las composiciones usadas en la presente invención contienen un compuesto o compuestos que tienen la siguiente estructura:



donde cada R es independientemente hidrógeno, grupo alquilo de C<sub>1</sub> a C<sub>20</sub>, grupo carbocíclico de C<sub>3</sub> a C<sub>20</sub>, grupo heterocíclico de C<sub>1</sub> a C<sub>20</sub>, grupo ácido carboxílico, grupo éster, grupo amida, hidroxilo o grupo éter. Opcionalmente, los grupos R adyacentes forman un anillo carbocíclico de C<sub>3</sub> a C<sub>20</sub> o un anillo heterocíclico. Cada



es independientemente un sistema anular carbocíclico de C<sub>5</sub> a C<sub>20</sub> o un sistema anular heterocíclico de C<sub>2</sub> a C<sub>20</sub>, donde el sistema anular comprende uno o más anillos. Al menos uno de los sistemas anulares tiene al menos un grupo solubilizante seleccionado entre ácido sulfónico, sal sulfonato, ácido fosfónico, sal fosfonato y polietilenglicol. Opcionalmente, el sistema anular tiene un grupo diana. El valor de n es de 1 a 5.

#### BREVE DESCRIPCION DE LAS FIGURAS

- Figura 1. Ejemplo de una Síntesis de Motor1  
 Figura 2. Ejemplo de una Síntesis de Motor2  
 Figura 3. Ejemplo de una Síntesis de Huésped de Propargilo  
 Figura 4. Ejemplo de una Síntesis de Pared de Etanosulfonato  
 Figura 5. Ejemplo de una Síntesis de Pared de Butanosulfonato  
 Figura 6. Ejemplo de una Síntesis de Pared de 2,7-Naftalensulfonato  
 Figura 7. Ejemplo de una Síntesis de Huésped de Etanosulfonato y Huésped de Butanosulfonato  
 Figura 8. Ejemplo de una Síntesis de Huésped de Naftalen Propanosulfonato  
 Figura 9. Ejemplo de una Síntesis de Huésped de Tetrabromo  
 Figura 10. Ejemplo de una Síntesis de Huésped de Tetratiofenilo  
 Figura 11. Ejemplo de una Síntesis de Huésped de Tetraoctanotioéter  
 Figura 12. Ejemplo de una Síntesis de Huéspedes de PEG350, PEG750, PEG1900, PEG5000  
 Figura 13. Ejemplo de una Síntesis de Huésped de Dibromo Dipropanosulfonato  
 Figura 14. Ejemplo de una Síntesis de Huésped de Tetraéster  
 Figura 15. Ejemplo de una Síntesis de Huésped de Tetrahidroxi  
 Figura 16. Ejemplo de una Síntesis de Huésped de Tetratioacetato

- Figura 17. Ejemplo de una Síntesis de Huésped de Tetratriazol
- Figura 18. Un ejemplo de una Gráfica de trabajo de Motor1 y Bromuro de rocuroonio (concentración total 10 mM, tampón  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  20 mM, pH 7,4): (A) Gráfica de apilamiento de espectros de  $^1\text{H}$  RMN; (B) Gráfica de trabajo de Bromuro de rocuroonio (construida usando el desplazamiento químico del singlete de acetato).
- 5 Figura 19. Un ejemplo de una Gráfica de trabajo de Motor1 y Bromuro de vecuronio (concentración total 5 mM, tampón  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  20 mM, pH 7,4): (A) Gráfica de apilamiento de espectros de  $^1\text{H}$  RMN; (B) Gráfica de trabajo de Motor1 (construida usando el desplazamiento químico del singlete campo abajo).
- Figura 20. Un ejemplo de una Gráfica de trabajo de Motor1 y Bromuro de pancuronio (concentración total 5 mM, tampón  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  20 mM, pH 7,4): (A) Gráfica de apilamiento de espectros de  $^1\text{H}$  RMN; (B) Gráfica de trabajo de
- 10 Motor1 (construida usando el desplazamiento químico del protón aromático en Motor1).
- Figura 21. Un ejemplo de espectros de  $^1\text{H}$  RMN registrados para Motor1 a diversa concentración (400 MHz,  $\text{NaD}_2\text{PO}_4$  20 mM, pD = 7,4) para estudio de autoasociación.
- Figura 22. Un ejemplo de una gráfica de desplazamiento químico de Motor1 frente a  $[\text{Motor1}]$ . La línea continua representa el mejor ajuste no lineal de los datos a un modelo de autoasociación dual con  $K_a = 47 \text{ M}^{-1}$ .
- 15 Figura 23. Un ejemplo de espectros de  $^1\text{H}$  RMN registrados para Motor2 a diversa concentración (400 MHz,  $\text{NaD}_2\text{PO}_4$  20 mM, pD = 7,4) para estudio de autoasociación.
- Figura 24. Un ejemplo de una gráfica de desplazamiento químico de Motor2 frente a  $[\text{Motor2}]$ . La línea continua representa el mejor ajuste no lineal de los datos a un modelo de autoasociación dual con  $K_a = 624 \text{ M}^{-1}$ .
- Figura 25. Un ejemplo de una Gráfica de trabajo de Motor1 y Galamina (concentración total 5 mM, tampón  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$
- 20 mM, pH 7,4): (A) Gráfica de apilamiento de espectros de  $^1\text{H}$  RMN; (B) Gráfica de trabajo de Motor1 (construida usando el desplazamiento químico del pico de protón aromático en Motor1).
- Figura 26. Un ejemplo de una gráfica de ajuste no lineal de absorbancia frente a concentración para la valoración de desplazamiento de Motor1 complejoado para Rodamina 6G mediante la adición de Ketamina con Scientist™ (Condiciones: Rodamina 6G = 0,010 mM, Motor1 = 0,009 mM, tampón fosfato 20 mM, pH 7,4). Se evaluó  $K_a$  para el
- 25 complejo entre Motor1 y Ketamina como  $39020 \text{ M}^{-1}$
- Figura 27. Toxicología de Motor1 usando la línea celular de riñón humano HEK293. Resultados del (A) ensayo de MTS (B) ensayo de AK. Población no tratada (UT), Agua destilada (D), Eritromicina (E), Estolato de Eritromicina (EE).
- Figura 28. Toxicología de Motor1 usando la línea celular de hígado humano HepG2. Resultados del (A) ensayo de
- 30 MTS (B) ensayo de AK. Población no tratada (UT), Agua destilada (D), Eritromicina (E), Estolato de Eritromicina (EE).
- Figura 29. Porcentaje de hemólisis en 3 h causada por el aumento de las concentraciones del compuesto Motor1, Solución Salina Tamponada con Fosfato (PBS), Agua destilada (D).
- Figura 30. Motor1 se tolera bien en ratones. Se inyectaron cantidades indicadas de Motor1 en la vena de la cola de
- 35 ratones Swiss Webster no consanguíneos el día 0, 4 y 8. El peso de cada ratón se controló en el tiempo y hubo 5 ratones por grupo experimental.
- Figura 31. Un ejemplo de una gráfica de concentración (mM) de Motor1 en una gráfica de plasma frente al tiempo (min) para la Rata 17.
- Figura 32. Un ejemplo de una gráfica de concentración (mM) de Motor1 en una gráfica de plasma frente al tiempo
- 40 (min) para la Rata 10.
- Figura 33. Un ejemplo de una gráfica de concentración (mM) de Motor1 en una gráfica de plasma frente al tiempo (min) para la Rata 11.
- Figura 34. Un ejemplo de una gráfica de concentración (mM) de Motor1 en una gráfica de plasma frente al tiempo (min) para la Rata 21.
- 45 Figura 35. Concentraciones variables de Motor2 incubadas con células THP-1 (A) y HEK 293 (B) durante un periodo de 48 h dieron como resultado una alta supervivencia celular de hasta 5 mM. Se usaron dos ensayos complementarios para analizar la toxicología: un ensayo de MTS y un ensayo de liberación de AK para las células THP-1. El ensayo de liberación de AK se realizó usando 20  $\mu\text{l}$  de sobrenadante de cada muestra estudiada usando el ensayo de MTS. Se usó el ensayo Vialight para evaluar la viabilidad celular en las células HEK 293. (UT = Sin tratar, Stx = Estaurosporina, Triton = Triton-X-100). Se usó una prueba t para datos independientes con \*P = 0,01-0,05; \*\*P = 0,001-0,01; \*\*\*P = 0,001 para el análisis estadístico de todas las cifras presentadas.
- 50 Figura 36. Tiempo para completar la recuperación de la fuerza muscular tras la inyección de Motor1. Relación dosis-respuesta de Motor1 para invertir rocuroonio. A: Tiempo hasta la recuperación de la fuerza muscular con respecto al inicio en función de la dosis de Motor1. B: Dosis transformada de Probit, línea: regresión lineal. Los datos muestran
- 55 una relación dosis-respuesta predecible.
- Figura 37. Tiempo de recuperación de la altura del twitch (A) y relación tren de cuatro (B) tras un bloqueo neuromuscular completo inducido por rocuroonio. Se muestra el perfil de recuperación en respuesta a diferentes dosis de Motor1 y placebo. El tiempo medio de recuperación de la altura del twitch al 90 % tras Motor2 (90 mg) frente a placebo asciende a 2,5 frente a 19 minutos.

Figura 38. Tiempo de recuperación de la respiración espontánea tras un bloqueo neuromuscular completo inducido por rocuronio. El tiempo de recuperación se da en respuesta a diferentes dosis de Motor1 y placebo. La recuperación media de la respiración espontánea asciende a 10 segundos después de Motor1 frente a 723 segundos tras 90 mg de Motor1.

5 Figura 39. Parámetros de gases en sangre arterial antes y después de la aplicación de Motor1: Seguridad de Motor1 dada durante la anestesia de isoflurano en estado estable (que no puede invertirse por Motor1) - respiratorio: pH, pCO<sub>2</sub> y pO<sub>2</sub> no cambiaron tras la inyección de Motor1

Figura 40. Presión arterial y frecuencia cardiaca durante y después de la aplicación de Motor1: Seguridad de Motor1 durante la anestesia de isoflurano en estado estable - cardiovascular: La frecuencia cardiaca y la presión arterial

10 media no cambiaron.

Figura 41. Eliminación de Motor1: Motor1 se elimina por la orina. Dos horas después de la inyección de Motor1, la concentración de Motor1 en la orina equivale a la concentración en el plasma.

Figura 42. Tiempo de recuperación de la altura del twitch tras un bloqueo neuromuscular completo inducido por cisatracurio. Se muestra el perfil de recuperación en respuesta a diferentes dosis de Motor1 y Motor2. Ha de

15 apreciarse que Motor2 a bajas dosis invierte el bencilisoquinolinio cisatracurio más rápido que 1 a altas dosis.

Figura 43. Efectos de la ketamina y su inversión en la función respiratoria y cardiovascular.

Figura 44. Electroencefalograma (EEG) durante anestesia con ketamina.

Figura 45. EEG tras inversión con Motor2 de anestesia con ketamina.

## 20 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere a composiciones que se describen adicionalmente en el presente documento para su uso en la inversión de los efectos de agentes usados para la inmovilización muscular y/o pérdida del conocimiento y/o pérdida de la percepción del dolor. La presente invención se basa, al menos en parte, en la

25 sorprendente solubilidad acuosa de los compuestos de tipo CB[n] acíclicos descritos en el presente documento. Por ejemplo, los compuestos pueden mostrar una solubilidad mayor de o igual a 100 mM en disolventes acuosos (por ejemplo, agua), que es una mejora inesperada sobre los compuestos disponibles previamente.

En diversas realizaciones, la invención es apta para su uso en la inversión del bloqueo neuromuscular inducido por fármacos, o para la inversión de la anestesia, o para combinaciones de las mismas. La invención proporciona una

30 inversión parcial o completa de los efectos de los agentes. El grado de inversión del efecto de cualquier agente particular puede determinarse, por ejemplo, para cualquier dosificación o momento temporal particular usando técnicas conocidas por los expertos.

35 En general, los NMBA, cuyos efectos pueden invertirse por la invención, pueden dividirse en dos categorías que se refieren a su mecanismo de acción sobre ciertos receptores celulares. Estas categorías son NMBA despolarizantes y NMBA no despolarizantes.

Sin desear quedar ligado a teoría particular alguna, se considera que los NMBA despolarizantes actúan uniendo

40 receptores nicotínicos de la acetilcolina (nAChR) a la unión neuromuscular, que da como resultado una apertura inicial del canal iónico asociado al nAChR particular. Por lo tanto, los NMBA despolarizantes imitan la actividad de la acetilcolina, que es un neurotransmisor producido de forma endógena. Sin embargo, los NMBA despolarizantes se metabolizan relativamente de forma lenta por enzimas de colinesterasa, que contrasta con la rápida hidrólisis de la acetilcolina endógena por las acetilcolinesterasas. Por consiguiente, los NMBA despolarizantes se unen a los nAChR

45 durante un periodo de tiempo mucho mayor que la acetilcolina. En consecuencia, realizan una despolarización persistente de la membrana plasmática de la fibra muscular esquelética, que hace a la fibra muscular resistente a una estimulación adicional por acetilcolina que, a su vez, da como resultado un bloqueo neuromuscular.

A diferencia de los NMBA despolarizantes, los NMBA no despolarizantes son inhibidores competitivos de los nAChR

50 que no activan el canal iónico al unirse al nAChR. En su lugar, bloquean la activación del canal por acetilcolina y, por lo tanto, impiden la despolarización de la membrana celular. Esto da como resultado un tejido muscular flácido.

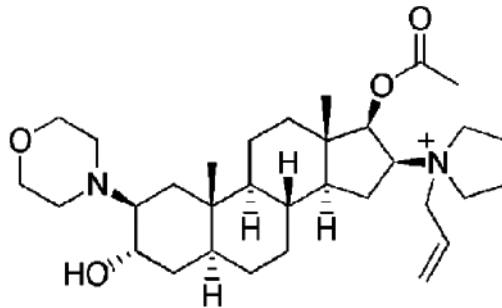
En diversas realizaciones, la invención facilita la inversión de un bloqueo neuromuscular inducido por un NMBA que es un inhibidor competitivo de los nAChR (que impide que el agonista fisiológico, acetilcolina, despolarice los

55 músculos esqueléticos). En consecuencia, la invención restaurará la función del músculo esquelético en diversas realizaciones en pocos segundos.

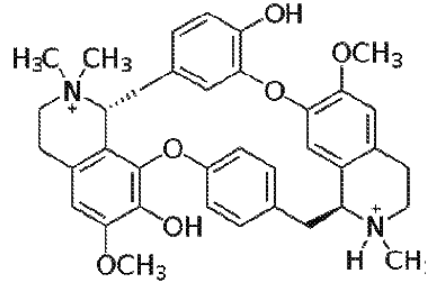
La mayor parte de los NMBA usados clínicamente pertenecen a la categoría de no despolarizantes. Estos incluyen, pero no se limitan necesariamente a, agentes de bloqueo neuromuscular esteroideos y del tipo bencilisoquinolina.

Los expertos en la técnica reconocerán fácilmente las estructuras de los NMBA no despolarizantes disponibles en el mercado, los efectos de cualquiera de los cuales pueden invertirse realizando el método de la invención. Dichos NMBA incluyen, pero no se limitan necesariamente a, aquellos agentes que se denominan generalmente en la técnica como rocuronio, tubocurarina, atracurio, besilato de atracurio, cisatracurio, mivacurio, galamina, pancuronio, 5 vecuronio, doxacurio, metocurina y rapacuronio. Por lo tanto, la invención es apta para invertir los efectos de cada uno de los compuestos individualmente, o los efectos de combinaciones de estos compuestos. Las estructuras ilustrativas de cada uno de estos compuestos son como se indican a continuación:

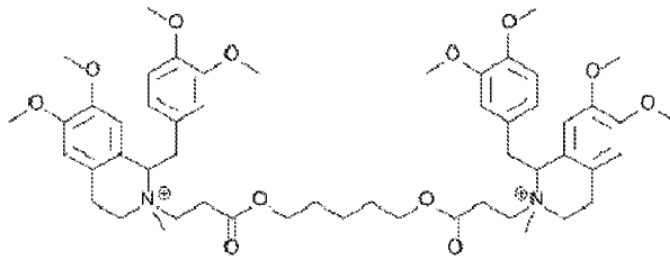
**rocuronio**



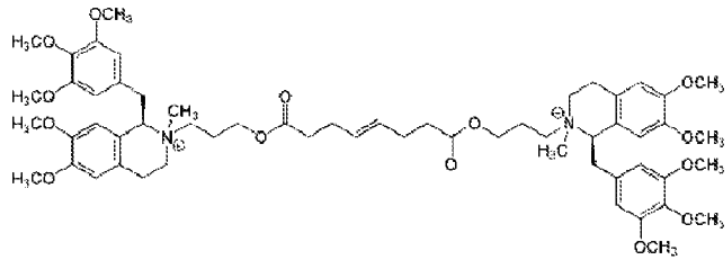
tubocurarina



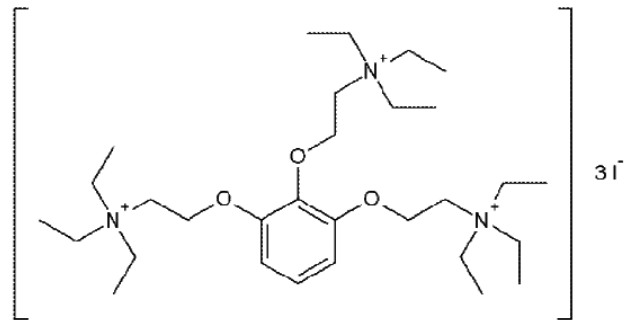
atracurio



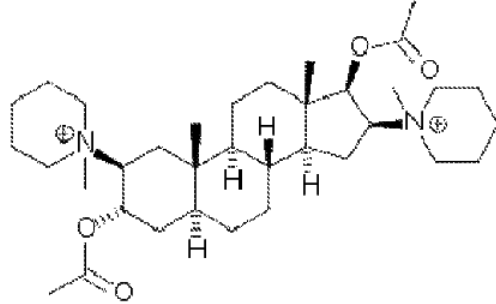
mivacurio



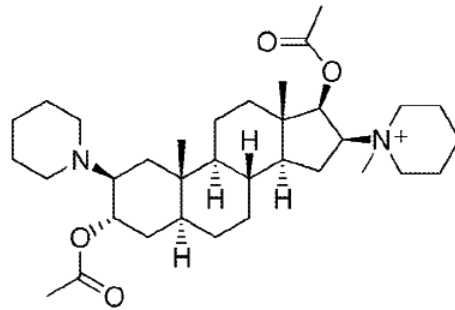
galamina



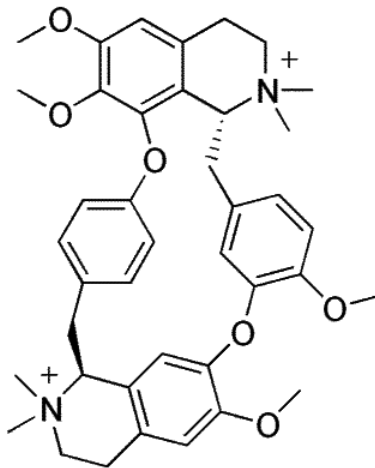
pancuronio



vecuronio

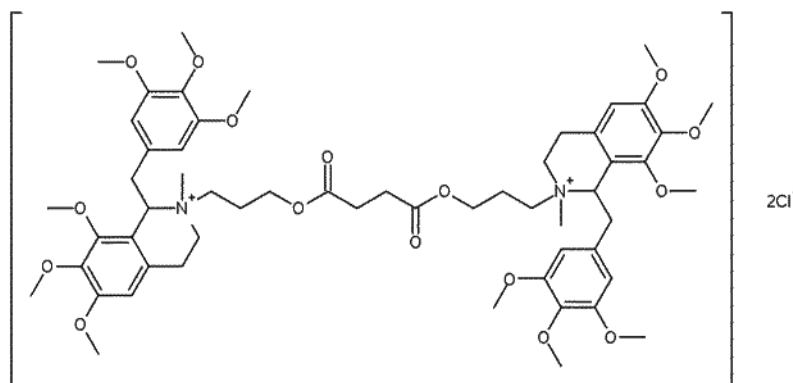


metocurina

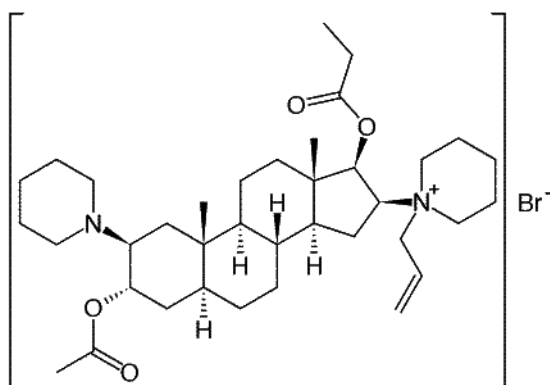




## doxacurio



## rapacuronio



En diversas realizaciones, el compuesto para el cual los efectos se invierten de acuerdo con la invención se proporciona en una forma de acuerdo con las estructuras anteriores, e incluye sales, sales parciales, hidratos, 5 polimorfos, estereoisómeros o mezclas de los mismos. Cada compuesto puede proporcionarse como una mezcla racémica, un enantiómero individual, un diastereómero individual, una mezcla de enantiómeros, o una mezcla de diastereómeros.

Dado que los NMBA se usan durante una cirugía y/o para la relajación muscular durante los cuidados intensivos, y 10 en Medicina de Urgencias, al final o caso al final de estas modalidades de tratamiento, es deseable invertir los efectos del NMBA de manera que el paciente pueda recuperar el control voluntario sobre las contracciones musculares. Por lo tanto, en una realización, la presente invención comprende administrar una composición que comprende un compuesto de la invención a un individuo que necesita una inversión de un bloque muscular inducido químicamente. Por consiguiente, en diversas realizaciones, los compuestos de la invención pueden considerarse 15 como agentes inversos de NMBA, o secuestrantes de NMBA.

La presente invención también incluye una composición para su uso en la inversión de la actividad de ciertos agentes anestésicos. A este respecto, en Estados Unidos, casi 60.000 pacientes al día reciben anestesia general para cirugía. Las lesiones más graves en los pacientes relacionadas con la anestesia son la muerte o daño cerebral 20 permanente, que con frecuencia son resultado de los efectos adversos de los anestésicos en la respiración. Además, los anestésicos disminuyen la actividad respiratoria y ponen la vía respiratoria superior en riesgo de colapso. Típicamente, los anestesiólogos experimentados pueden ventilar artificialmente al paciente en una situación en la que el paciente no es capaz de respirar debido a los efectos adversos de los anestésicos y los agentes de bloqueo neuromuscular. Sin embargo, en algunos pacientes, la respiración artificial es difícil o imposible porque el 25 paciente tiene una anatomía de las vías respiratorias que no permite la inflación pulmonar. El segundo efecto secundario mortal más común de la anestesia se refiere a la depresión de la función cardiovascular, que puede

asociarse a un suministro de oxígeno insuficiente al corazón, que conduce a infarto de miocardio y/o parada cardiaca. En dichas situaciones de emergencia, será deseable invertir los efectos de la anestesia y los NMBA, pero esto típicamente requiere esperar hasta la emergencia (el tiempo de recuperación del conocimiento y la transmisión neuromuscular a partir de los efectos del fármaco), de tal forma que se restauren la respiración y una adecuada circulación de la sangre. Una emergencia a partir de la anestesia general se ha tratado como un proceso pasivo por el que los fármacos anestésicos se interrumpen meramente al final de la cirugía y no se administra ningún fármaco para invertir activamente sus efectos sobre el cerebro y el sistema nervioso central. El tiempo de emergencia puede ser impredecible ya que muchos factores, incluyendo el tipo de cirugía y la edad, la condición física del paciente, afectan a la farmacocinética y farmacodinámica de la anestesia general. Aunque las acciones de muchos fármacos usados en anestesiología se invierten farmacológicamente cuando ya no se desean (por ejemplo, algunos relajantes musculares, u opiáceos tal como la morfina), este no es el caso para la pérdida del conocimiento inducida por anestesia general. Hasta la invención anterior, no había ningún agente disponible para inducir activamente una emergencia de la anestesia general. Sin embargo, ahora se demuestra la viabilidad de la presente invención para su uso en la inversión de la actividad de los anestésicos.

En particular, se muestra que los efectos de un cierto grupo de anestésicos, antagonistas del receptor de N-metil D-aspartato (NMDA), tal como ketamina, pueden invertirse usando el presente método. Ketamina se usa principalmente para la inducción y mantenimiento de la anestesia general. También se usa para cuidados anestésicos monitorizados, también conocidos como sedación consciente, y como un analgésico, tanto en seres humanos como en medicina veterinaria. En el presente caso, se administró mediante infusión continua ketamina a ratas para inducir una anestesia profunda en estado estable, dando como resultado una depresión de la función respiratoria y cardiovascular. Los efectos de la inversión inducida por Motor2 de la anestesia con ketamina son notables: La rata despertó en 2 minutos tras la inyección de Motor2 (200 mg). La frecuencia respiratoria y la presión arterial aumentaron, un electroencefalograma (EEG) mostró una actividad eléctrica tipo vigilia. Por lo tanto, dado que la ketamina se usa con frecuencia para la anestesia en seres humanos y animales no humanos, en diversas realizaciones de la invención, el individual en el que se desea una inversión de los efectos de una NMBA o un agente anestésico puede ser un ser humano o un animal no humano, e incluye, pero no se limita necesariamente a, cualquier mamífero. En ciertas realizaciones, el animal que necesita una composición de la invención es un ser humano, un animal felino, canino, equino o bovino. Por lo tanto, la invención tiene una amplia aplicabilidad en una diversidad de intervenciones médicas y en diversas especies.

En ciertas realizaciones, la invención es también útil para invertir los efectos de los anestésicos de corta actuación, tal como etomidato. El etomidato, similar a la ketamina, es un agente anestésico de corta actuación que se administra típicamente por vía intravenosa para la inducción de anestesia general para procedimientos médicos que pueden realizarse en plazos de tiempo relativamente cortos, tal como para la corrección de articulaciones dislocadas.

También se contempla la aplicación extracorpórea de las composiciones de la invención. Por ejemplo, pueden usarse compuestos de la invención mezclando las composiciones con un fluido biológico de un individuo, tal como durante diálisis o durante plasmaféresis. Por lo tanto, en diversas realizaciones, la invención proporciona una composición extracorpórea que comprende un compuesto de la invención. La composición extracorpórea, en cuanto a que contiene un fluido biológico que se ha separado transitoriamente del cuerpo, puede considerarse una composición aislada de acuerdo con la invención. La composición extracorpórea, en diversas realizaciones, puede comprender o consistir en sangre, orina o plasma (además de un compuesto proporcionado por la invención).

En una realización, la invención proporciona la formación de un complejo huésped-anfitrión que comprende un complejo asociado no covalentemente de un compuesto de la invención y un NMBA. Por lo tanto, el complejo anfitrión-huésped puede considerarse como una entidad química organizada resultante de la asociación de dos o más componentes del NMBA y el huésped mantenidos juntos por fuerzas intermoleculares no covalentes. Sin desear quedar ligado a la teoría, se cree que se ha demostrado en un modelo animal que la unión de este complejo anfitrión-huésped es muy estable, de tal forma que la inversión de los efectos de los fármacos es estable y el complejo anfitrión-huésped se elimina por la orina en 2-3 horas. Esta constelación farmacocinética-farmacodinámica única tiene importantes implicaciones en la anestesia clínica, medicina de cuidados intensivos y medicina de urgencias donde los efectos secundarios respiratorios de la anestesia y los agentes de bloqueo neuromuscular han de invertirse a su debido tiempo para restaurar la función respiratoria y cardiovascular.

Para su uso en la invención, las composiciones descritas en el presente documento pueden proporcionarse en una diversidad de soluciones de diversas composiciones, y pueden combinarse con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables convencionales. Pueden encontrarse algunos ejemplos de vehículos

farmacéuticamente aceptables en: Remington: The Science and Practice of Pharmacy (2005) 21ª Edición, Filadelfia, PA. Lippincott Williams & Wilkins.

5 Pueden usarse diversos métodos conocidos por los expertos en la técnica para introducir las composiciones de la invención en un individuo. Estos métodos incluyen, pero sin limitación, ruta intravenosa, intramuscular, intracraneal, intratecal, intradérmica, subcutánea y oral. En una realización, La composición se administra por vía intravenosa. La composición puede proporcionarse como un líquido, una solución o un sólido, y puede proporcionarse junto con cualquier forma de administración o vehículo adecuados, cuyos ejemplos incluyen, pero sin limitarse a, comprimidos encapsulados, cápsulas, comprimidos, un inhalador o aerosol, etc.

10 La dosis de la composición a usar dependerá necesariamente de las necesidades del individual al que se va a administrar la composición de la invención. Estos factores incluyen, pero no se limitan necesariamente a, el peso, la edad, el sexo, historia clínica, composición muscular del individuo, y el grado de actividad muscular y/o nivel de consciencia a restaurar. A este respecto, los datos muestran una alta afinidad de unión *in vitro* de los compuestos de la invención a NMBA y anestésicos que se traduce en una mayor velocidad de inversión para estos fármacos.

Los compuestos para su uso de acuerdo con la invención con compuestos acíclicos de tipo CB[n].

20 En la realización de la presente invención, se demuestra la formación de complejos de compuestos de la invención y NMBA y ciertos agentes anestésicos y se proporciona una caracterización de cierta cinética de reacción asociada a la misma como se describe más completamente a continuación. Además, se demuestra que los compuestos de la invención no son tóxicos para las células humanas. Aún adicionalmente, se ensaya una realización de la invención mediante administración del NMBA usado comúnmente, 3,5 mg/kg de rocuronio y 0,5 mg/kg de cisatracurio a 10 ratas con respiración mecánica, anestesiadas y traqueostomizadas, que indujeron una completa atonía de todos los

25 músculos esqueléticos, dando como resultado una apnea duradera. Más específicamente, para los procedimientos quirúrgicos descritos en los Ejemplos presentados en el presente documento, se anestesiaron ratas (inducción de isoflurano al 5 %, mantenimiento al 1,5 %, en N<sub>2</sub>O al 70 %/O<sub>2</sub> al 30 %) y se traqueotomizaron. Se mantuvo una respiración espontánea durante la cirugía y si fue posible de acuerdo con un protocolo normal. Las ratas se colocan en la posición supina con la cabeza apoyada en una posición neutra en la línea media sobre un pedazo blando de

30 tejido. La vena femoral izquierda y la arteria se canularon para la infusión de fármacos y el muestreo sanguíneo. Se midieron los gases en sangre arterial y el pH cada 10 o 30 minutos (Coming 178; Coming, NY, Estados Unidos) y se realizó una medición continua de la presión arterial (PowerLab; ADInstruments, Colorado Springs, MO) y la frecuencia cardíaca. Si era necesaria respiración mecánica, los animales se ventilaron a través de una traqueotomía (SAR-830; CWE, Ardmore, PA, Estados Unidos). La temperatura rectal se mantuvo a 37,0 ± 0,1 °C usando una

35 almohadilla de calor termostática (FHC, Bowdoinham, ME). El nivel de anestesia se mantuvo a lo largo de todo el experimento para eliminar la respuesta cardiovascular para el pinchazo en la cola. En todos los grupos de tratamiento, los parámetros fisiológicos sistémicos se mantuvieron bien dentro del intervalo normal. La pata derecha se rasuró y el nervio femoral se estimuló supramaximalmente con electrodos de aguja subcutáneos, y la repuesta provocada del músculo cuádriceps femoral se midió por acelerometría, con el monitor TOF-Watch SX (Organon Irely

40 Ltd, una parte de Schering-Plough Corporation, Dublín, Irlanda), como se ha descrito previamente (Fassbender y col., Anesthesiology 2007). El transductor se fijó a la piel ventromedialmente en el extremo proximal del muslo, cerca de la tuberosidad tibial (punto de inserción del ligamento rotuliano).

Después de la determinación de la corriente de estimulación supramaximal y la calibración del TOF-Watch (cal modo

45 1), se estimuló continuamente el nervio femoral a 1 Hz (10 mA ± 2 mA) durante al menos 10 minutos hasta que la altura del twitch alcanzó un nivel estable. Después, se calibró de nuevo el monitor TOF-Watch SX, se tomó un tren de cuatro (TOF) inicial a 2 Hz, y se continuó la estimulación del nervio femoral a 1 Hz con el modo de twitch único hasta que se infundieron los fármacos.

50 Para obtener un cálculo de la eficacia de rocuronio en el músculo cuádriceps femoral de las ratas y su reversibilidad por Motor1, todas las ratas se anestesiaron con isoflurano al 2-5 % en vol. durante la inducción y la cirugía (gas inspiratorio: O<sub>2</sub> al 30 % y N<sub>2</sub>O al 70 %), y 1,5 % en vol. durante la medición.

Después de la estimulación previa, las ratas se paralizaron con 3,5 mg kg<sup>-1</sup> de rocuronio (dos veces la ED90) como

55 se indicó antes (BJA 2008) y se ventilaron mecánicamente para conseguir una normocapnia confirmada por un análisis de gases en sangre arterial. 30 s después del inicio del bloqueo neuromuscular completo, se inyectó Motor1 (30 mg kg<sup>-1</sup>, n = 5, 60 mg kg<sup>-1</sup>, n = 5 o 90 mg kg<sup>-1</sup>, n = 5) o placebo (0,5 ml de solución salina, n = 5). En diez ratas más, tras la administración de 0,5 mg/g de cisatracurio, se administraron 15 mg, 30 mg y 60 mg de Motor1. Finalmente, en cuatro ratas más, se administró Motor2 tras un bloqueo neuromuscular completo inducido por

rocuronio y atracurio.

- Los criterios de valoración incluían el tiempo de recuperación de la respiración espontánea, la altura del twitch, así como la relación TOF. La presión arterial y la frecuencia cardiaca se midieron continuamente, y el gas en sangre arterial se midió directamente antes de la aplicación de Motor1 y 30 minutos más tarde. Se recogieron muestras de sangre arterial en el inicio, en 2, 5, 10, 15, 20 y 60 minutos y se procesaron posteriormente para las muestras de plasma que se almacenaron a -80 °C hasta que se analizaron. 60 min después de la inyección de Motor1, se recogió orina y se almacenó a -80 °C hasta el análisis.
- 10 Para las muestras de orina, se tomó 0,1 ml de cada muestra de orina y se secaron a alto vacío. Después, se disolvieron en 0,5 ml de D<sub>2</sub>O, y se añadieron 0,1 ml de solución de referencia 60 mM (1,3,5-tricarboxilato benceno). Los espectros de RMN se tomaron y la concentración de Motor1 en orina se calculó a partir de la relación entre la integración del pico de diagnóstico para la referencia (8,3 ppm, 3H) y Motor1 (1,9-1,5 ppm, 12H).
- 15 Se determinó que Motor1 invirtió el rocuronio eficazmente, de manera dependiendo de la dosis. La respiración normal se recuperó después de 720 ± s [placebo, es decir, 1 cc de solución salina normal], 120 ± 15 s, 15 ± 5 s, y 8 ± 3 segundos después de administrar 10 mg, 20 mg y 30 mg de Motor1, respectivamente. La altura del twitch del cuádriceps femoral se normalizó después de 960 ± s [placebo], 240 ± s, 120 ± s, y 60 ± s, respectivamente, después de administrar 10 mg, 20 mg y 30 mg de Motor1, respectivamente. Motor1 no tuvo ningún efecto secundario sobre el análisis de los gases en sangre arterial, EKG, la presión arterial o la frecuencia cardiaca. Además, se han analizado muestras de sangre y orina de todas las ratas y se observó que Motor1 se elimina a través de la orina. No se observó ninguna evidencia de acciones alérgicas y/o efectos adversos sobre la coagulación.

- Tras el cisatracurio, la respiración normal se recuperó después de 750(17) s (+/s mostrado entre paréntesis)
- 25 [placebo, solución salina normal], 28 (6)s, y 11(4) segundos (media (SD) después de 30 mg y 60 mg de Motor1, respectivamente. La altura del twitch del cuádriceps femoral se normalizó después de 1002 (122) s [placebo, solución salina normal], 266 (17)s, 130 (14) s y 68 (10)s , respectivamente. Motor1 y 2 no tuvieron ningún efecto secundario sobre: el análisis de los gases en sangre arterial, EKG, la presión arterial y la frecuencia cardiaca. Se tomaron muestras de sangre y orina de todas las ratas y se observó que Motor1 se elimina a través de la orina. No se observó ninguna evidencia de acciones alérgicas y/o efectos adversos sobre la coagulación.
- 30

- Para evaluar la eficacia para invertir la ketamina, la anestesia se indujo con isoflurano al 3 %, y se mantuvo por la instrumentación quirúrgica con isoflurano al 1,5 %. Se canuló la vena femoral (2 veces) para la posterior infusión de ketamina y la inyección del agente de inversión), se canuló la arteria para la medición de la presión arterial invasiva, se seccionó la tráquea y se canuló con un tubo PE240 a través del cual la rata respiraba espontáneamente. Las ratas se colocan en la posición supina con la cabeza apoyada en una posición neutra en la línea media sobre un pedazo blando de tejido. Se insertó una sonda de temperatura en el recto y la temperatura central se reguló a 37 +/- 1 grados Celsius usando una almohadilla térmica. Se insertaron dos electrodos de dos tornillos (Plastics One Inc., Roanoke, VA) en unos orificios perforados en el cráneo, uno aproximadamente 1,0 mm anterior y uno aproximadamente 3 mm posterior al bregma y aproximadamente 1 mm lateral a la línea media. Los extremos libres de los cables se conectaron a un amplificador y la actividad EEG se filtró mediante un filtro de paso bajo (100 Hz). También se midió el EKG, y se grabó en video la rata para evaluar la tasa respiratoria y los movimientos. En dos ratas, no se realizó la traqueotomía para poder evaluar el ruido que indica la recuperación de la anestesia.
- 45 Después de la cirugía, se interrumpió el isoflurano y se inició una infusión de ketamina (1500 µg/kg/min). Se administraron 200 mg de Motor2 60 minutos después de la interrupción del isoflurano en anestesia con ketamina en estado estable mientras que la infusión con ketamina aún se administraba a una velocidad constante. Se observó que Motor2 invierte la anestesia con ketamina: Aumento de la frecuencia cardiaca, la presión arterial y la frecuencia respiratoria con respecto a los valores previos a la anestesia, movimientos, micción espontánea y llamadas de socorro.
- 50

- A continuación se proporciona una caracterización de los compuestos usados para invertir los efectos de los NMBA y los anestésicos de acuerdo con el método de la invención. Los términos Motor1 y Motor 1 como se usan en el presente documento son intercambiables. Los términos Motor2 y Motor 2 como se usan en el presente documento, también son intercambiables.
- 55

Como se usa en el presente documento, "grupo alquilo" se refiere a hidrocarburos ramificados o no ramificados. Los ejemplos de dichos grupos alquilo incluyen grupos metilo, grupos etilo, grupos butilo, grupos nonilo, grupos neopentilo, y similares. Por ejemplo, el grupo alquilo puede ser un grupo alquilo de C<sub>1</sub> a C<sub>20</sub>, incluyendo todos los

números enteros de carbonos e intervalos de números de carbonos entre los mismos.

Como se usa en el presente documento, "grupo carbocíclico" se refiere a un compuesto cíclico que tiene un anillo o múltiples anillos en los que cada uno de los átomos que forman el anillo o los anillos son átomos de carbono. Los 5 anillos del grupo carbocíclico pueden ser aromáticos o no aromáticos, e incluyen compuestos que están saturados y parcialmente insaturados, y completamente insaturados. Los ejemplos de tales grupos incluyen benceno, naftaleno, 1,2-dihidronaftaleno, ciclohexano, ciclopenteno, y similares. Por ejemplo, el grupo carbocíclico puede ser un grupo carbocíclico de C<sub>3</sub> a C<sub>20</sub>, incluyendo todos los números enteros de carbonos e intervalos de números de carbonos entre los mismos.

10

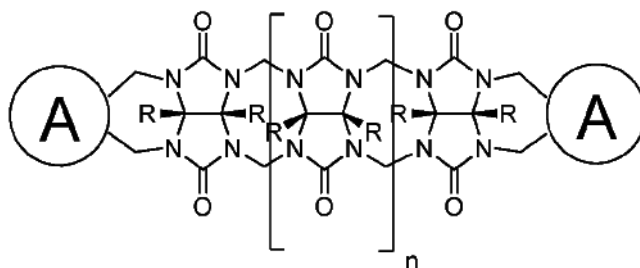
Como se usa en el presente documento, "grupo heterocíclico" se refiere a un compuesto cíclico que tiene un anillo o múltiples anillos en los que al menos uno de los átomos que forman el anillo o los anillos es un heteroátomo (por ejemplo, oxígeno, nitrógeno, azufre, etc.). Los anillos del grupo heterocíclico pueden ser aromáticos o no aromáticos, e incluyen compuestos que están saturados, parcialmente insaturados y completamente insaturados. Los ejemplos 15 de tales grupos incluyen imidazolidin-2-ona, piridina, quinolina, decahidroquinolina, tetrahidrofurano, pirrolidina, pirrolidona, y similares. Por ejemplo, el grupo heterocíclico puede ser un grupo heterocíclico de C<sub>1</sub> a C<sub>20</sub>, incluyendo todos los números enteros de carbonos e intervalos de números de carbonos entre los mismos.

Como se usa en el presente documento, "sistema anular carbocíclico" se refiere a un compuesto cíclico que tiene un 20 anillo o múltiples anillos en los que cada uno de los átomos que forman el anillo o los anillos son átomos de carbono. Los ejemplos de tales grupos incluyen benceno, naftaleno, 1,2-dihidronaftaleno, ciclohexano, ciclopenteno, y similares. Los anillos del sistema anular carbocíclico o el sistema anular heterocíclico pueden ser aromáticos o no aromáticos, e incluyen compuestos que están saturados, parcialmente insaturados y completamente insaturados. Por ejemplo, el sistema anular carbocíclico puede ser un grupo carbocíclico de C<sub>3</sub> a C<sub>20</sub>, incluyendo todos los 25 números enteros de carbonos e intervalos de números de carbonos entre los mismos. En otro ejemplo, el sistema anular carbocíclico puede ser un grupo fenilo o un grupo naftilo. El grupo fenilo o el grupo naftilo se une al compuesto a través de carbonos adyacentes del grupo fenilo o el grupo naftilo.

Como se usa en el presente documento, "sistema anular heterocíclico" se refiere a un compuesto cíclico que tiene 30 un anillo o múltiples anillos en los que al menos uno de los átomos que forman el anillo o los anillos es un heteroátomo (por ejemplo, oxígeno, nitrógeno, azufre, etc.). Los anillos del sistema anular carbocíclico o el sistema anular heterocíclico pueden ser aromáticos o no aromáticos, e incluyen compuestos que están saturados y completamente insaturados. Los ejemplos del sistema anular heterocíclico incluyen imidazolidin-2-ona, piridina, quinolina, decahidroquinolina, tetrahidrofurano, pirrolidina, pirrolidona, y similares. Por ejemplo, el sistema anular 35 heterocíclico puede ser un grupo heterocíclico de C<sub>1</sub> a C<sub>20</sub>, incluyendo todos los números enteros de carbonos e intervalos de números de carbonos entre los mismos.

Cualquiera de estos grupos y/o anillos pueden estar sustituidos cada uno con grupos alquilo y otros sustituyentes, tales como, por ejemplo, grupos nitro, ciano, ceto, carboxi, alcoxi, hidroxilo, amina, amida, haluro (por ejemplo, 40 bromuro, cloruro, fluoruro y yoduro), y alcoxi. Por ejemplo, los grupos alquilo o grupos arilo pueden estar sustituidos adicionalmente. Por ejemplo, el grupo alquilo puede ser haluro sustituido (por ejemplo, un grupo 2-cloroetil). Como otro ejemplo, un grupo carbocíclico puede ser ciano sustituido (por ejemplo, 3-ciano naftaleno).

En un aspecto, la presente invención proporciona compuestos acíclicos del tipo CB[n] que tienen la siguiente 45 estructura:



Cada R es independientemente hidrógeno, grupo alquilo de C<sub>1</sub> a C<sub>20</sub>, grupo carbocíclico de C<sub>3</sub> a C<sub>20</sub>, grupo

heterocíclico de  $C_1$  a  $C_{20}$ , grupo ácido carboxílico, grupo éster, grupo amida, hidroxilo o grupo éter. Los grupos ácido carboxílico, éster, amida y éteres pueden tener de 1 a 20 carbonos, incluyendo todos los valores enteros e intervalos entre los mismos. Opcionalmente, los grupos R adyacentes forman un anillo carbocíclico de  $C_3$  a  $C_{20}$  o un anillo heterocíclico, donde el anillo carbocíclico es un anillo en el que cada uno de los átomos que forman el anillo o los 5 anillos son átomos de carbono y el anillo heterocíclico es un anillo en el que al menos uno de los átomos que forman el anillo o los anillos es un heteroátomo (por ejemplo, oxígeno, nitrógeno, azufre, etc.). Estos anillos pueden estar sustituidos cada uno con grupos alquilo y otros sustituyentes, tales como, por ejemplo, grupos nitro, ciano, ceto, carboxi, alcoxi, hidroxilo, amina, amida, haluro (por ejemplo, bromuro, cloruro, fluoruro y yoduro), y alcoxi.

10 Cada



es independientemente un sistema anular carbocíclico de  $C_5$  a  $C_{20}$  o un sistema anular heterocíclico de  $C_2$  a  $C_{20}$ . Al 15 menos un



del compuesto tiene al menos un grupo solubilizante. En una realización, ambos 20



del compuesto tienen al menos un grupo solubilizante. En una realización, un



25

del compuesto tiene al menos un grupo solubilizante. En diversas realizaciones, el sistema anular tiene 1, 2, 3, 4, 5 o 6 grupos solubilizantes. Opcionalmente, el sistema anular tiene un grupo diana. El valor de n es de 1 a 5, incluyendo todos los valores enteros entre los mismos. En una realización, los grupos

30



son iguales.

35 En diversas realizaciones, el compuesto es una sal, una sal parcial, un hidrato, un polimorfo, un estereoisómero o una mezcla de los mismos. Los compuestos pueden tener estereoisómeros. Por ejemplo, el compuesto puede estar presente como una mezcla racémica, un enantiómero individual, un diastereómero individual, una mezcla de enantiómeros, o una mezcla de diastereómeros.

40 Sin desear quedar ligado a teoría alguna particular, se considera que el grupo solubilizante (o grupos) aumenta (o imparte) la solubilidad de los compuestos en agua o sistemas de disolventes acuosos. El grupo solubilizante puede ser un grupo funcional que puede desprotonarse en un intervalo amplio de pH. El grupo solubilizante puede tener un

grupo catiónico (por ejemplo, grupos amonio y sulfonio), aniónico (por ejemplo, grupos sulfato, sulfonato, fosfato y fosfonato) o neutro (por ejemplo, ácidos sulfónico, ácidos fosfónicos, éteres de polietilenglicol (PEG) (incluyendo oligómeros de éter PEG), éteres corona y grupos ciclam). Otro ejemplo de un grupo solubilizante neutro es un grupo zwitteriónico (por ejemplo, un grupo tanto con un grupo amonio como un grupo sulfonato), donde ambos grupos iónicos están unidos covalentemente al compuesto. Es deseable que los grupos solubilizantes catiónicos no interactúen con la cavidad del compuesto. El compuesto puede tener mezclas de grupos solubilizantes. En una realización, el grupo solubilizante se seleccionan entre ácido sulfónico, sal sulfonato, ácido fosfónico, sal fosfonato y polietilenglicol. El grupo solubilizante puede conectarse al grupo de unión a través de un heteroátomo, tal como oxígeno o azufre. Por ejemplo, el grupo PEG puede conectarse al compuesto a través de un átomo de azufre que forma un resto tioéter. Por ejemplo, el grupo polietilenglicol puede tener un peso molecular de 107 a 100.000, incluyendo todos los valores enteros e intervalos entre los mismos.

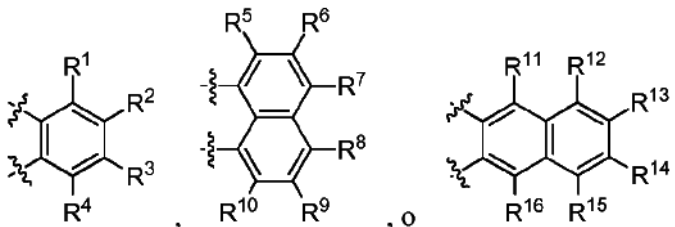
Al menos uno de los grupos solubilizantes no es un ácido carboxílico o una sal de ácido carboxílico.

15 El grupo diana es un resto que interactúa con, por ejemplo, una célula. Un grupo diana (TG) es un resto que se dirige, por ejemplo, a las células tumorales por direccionamiento pasivo o activo mediante métodos conocidos en la técnica. Los ejemplos de grupos diana incluyen dendrones, dendrímeros, grupos PEG, péptidos, polipéptidos, folatos, amidinas, anticuerpos, proteínas, esteroides, mono u oligosacáridos, y similares.

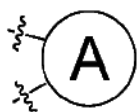
20 En una realización, cada



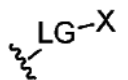
del compuesto es independientemente un sistema anular carbocíclico de C<sub>5</sub> a C<sub>20</sub> que tiene una de las siguientes estructuras:



En cada aparición de




R<sup>1</sup> a R<sup>16</sup> es independientemente hidrógeno, grupo alquilo de C<sub>1</sub> a C<sub>20</sub>, grupo halo, grupo hidroxilo, grupo nitro, grupo ácido carboxílico, grupo éster, grupo amida, grupo éter, grupo carbocíclico de C<sub>3</sub> a C<sub>20</sub>, o grupo heterocíclico de C<sub>1</sub> a C<sub>20</sub>. Por ejemplo, el grupo ácido carboxílico, grupo éster, grupo amida y grupos éter pueden tener de 1 a 20 carbonos, incluyendo todos los valores enteros e intervalos entre los mismos. Al menos uno de R<sup>1</sup> a R<sup>16</sup> en el compuesto tiene la siguiente estructura:

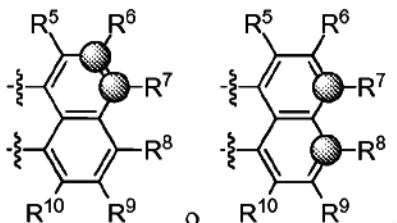


40 LG es un grupo de unión y X es el grupo solubilizante. Opcionalmente, uno o más grupos R<sup>1</sup> a R<sup>16</sup> adyacentes se

conectan formando un anillo carbocíclico o heterocíclico, y el anillo puede estar sustituido o sin sustituir.

Como se usa en el presente documento, "adyacente" se refiere a grupos unidos a través de 2 o 3 carbonos como se representa mediante, por ejemplo,  en las estructuras:

5



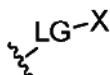
Se contempla que los grupos pueden estar unidos a través de cualesquiera dos carbonos adyacentes.

10 Un grupo de unión (LG) es un grupo que conecta



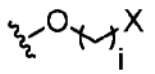
15 con un grupo solubilizante (X) o un grupo diana (TG). El grupo de unión puede ser, por ejemplo, un resto alcoxi o un resto alquilo. El grupo de unión puede tener independientemente en cada caso, una unión tioéter, unión éter, unión amino, unión amida, unión éster, unión de anillo triazol, o una combinación de los mismos. Por ejemplo, estas uniones pueden unirse al grupo de unión y el grupo solubilizante o el grupo. En una realización, el grupo de unión, LG, es un triazol 1-sustituido.

20 En una realización,



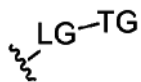
tiene la siguiente estructura:

25



El valor de cada i es independientemente de 1 a 20, incluyendo todos los valores enteros entre los mismos.

30 En una realización, al menos uno de los grupos R<sup>1</sup> a R<sup>16</sup> en el compuesto tiene la siguiente estructura:

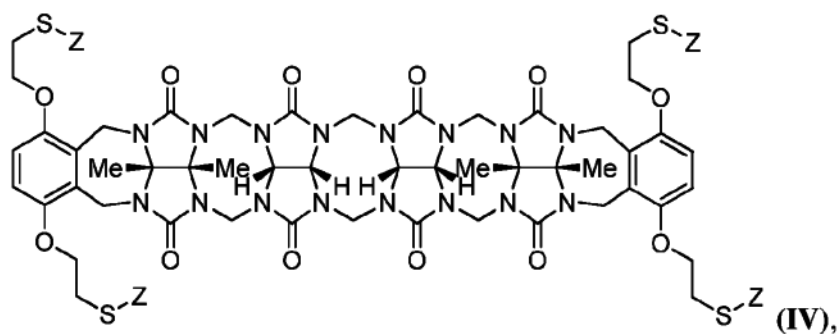
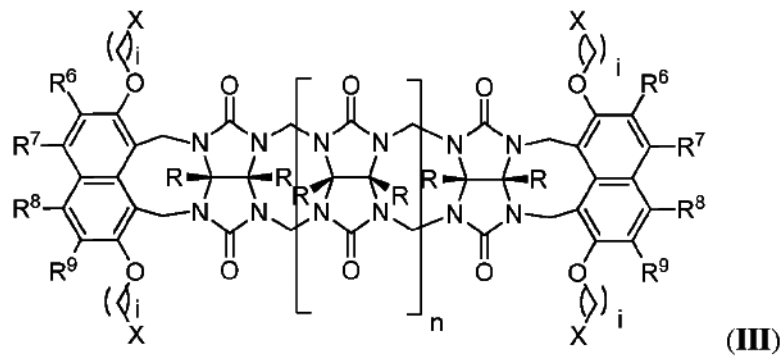
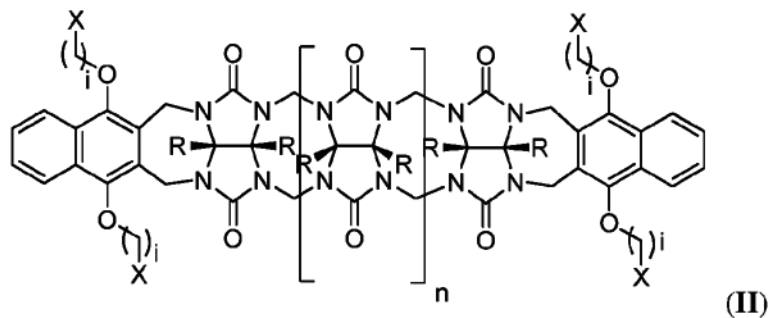
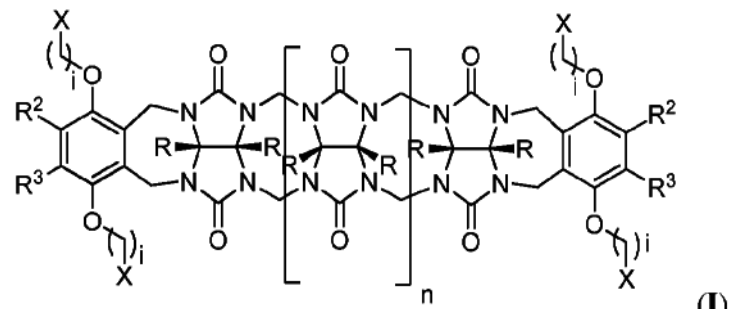


LG es un grupo de unión y TG es un grupo diana.

35

En una realización, el compuesto tiene una de las siguientes estructuras:



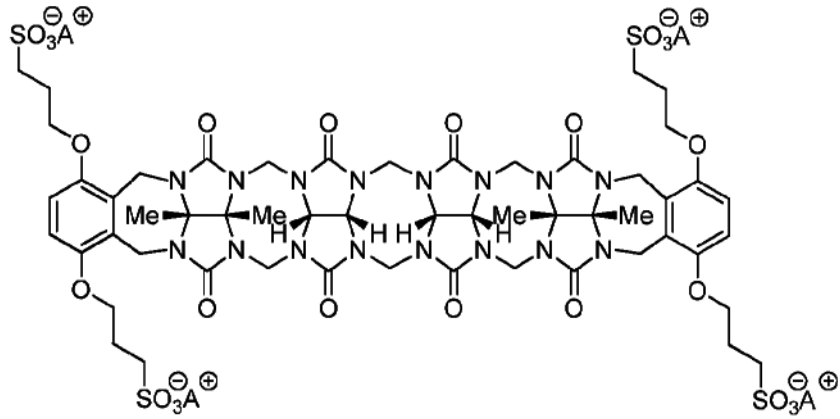


en las que Z es un grupo PEG. En una realización, el grupo PEG tiene un peso molecular de 200 a 10.000, 5 incluyendo todos los números enteros e intervalos entre los mismos. En una realización, el grupo PEG tiene un peso molecular de 350 (PEG350), 750 (PEG750), 1900 (PEG1900) o 5000 (PEG5000).

Los compuestos que tienen las estructuras de las fórmulas I-IV pueden prepararse, por ejemplo, mediante la metodología sintética descrita en el Ejemplo 1-2. En esta realización, R, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup>, R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> son como se definen

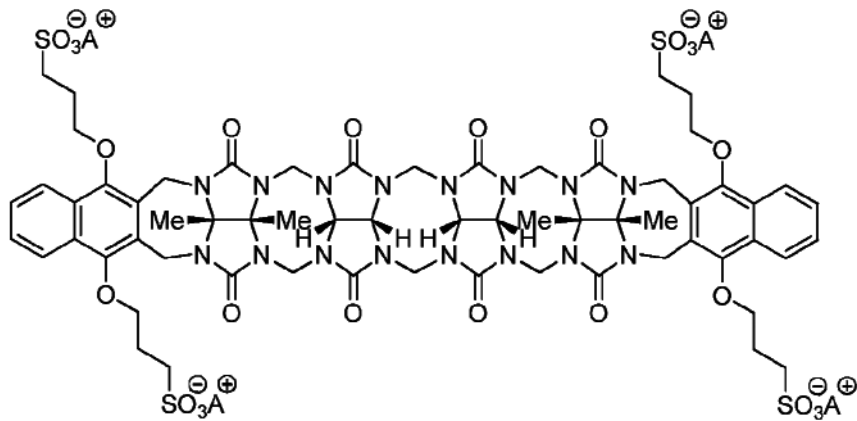
en el presente documento.

En diversas realizaciones, los compuestos tienen las siguientes estructuras:



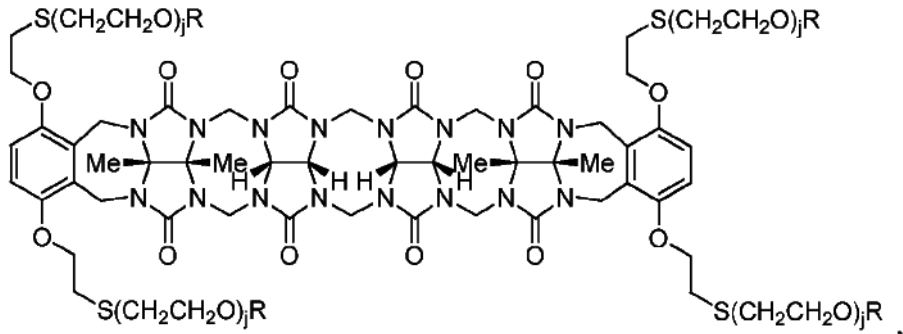
5

(denominada en el presente documento como **Motor1**),

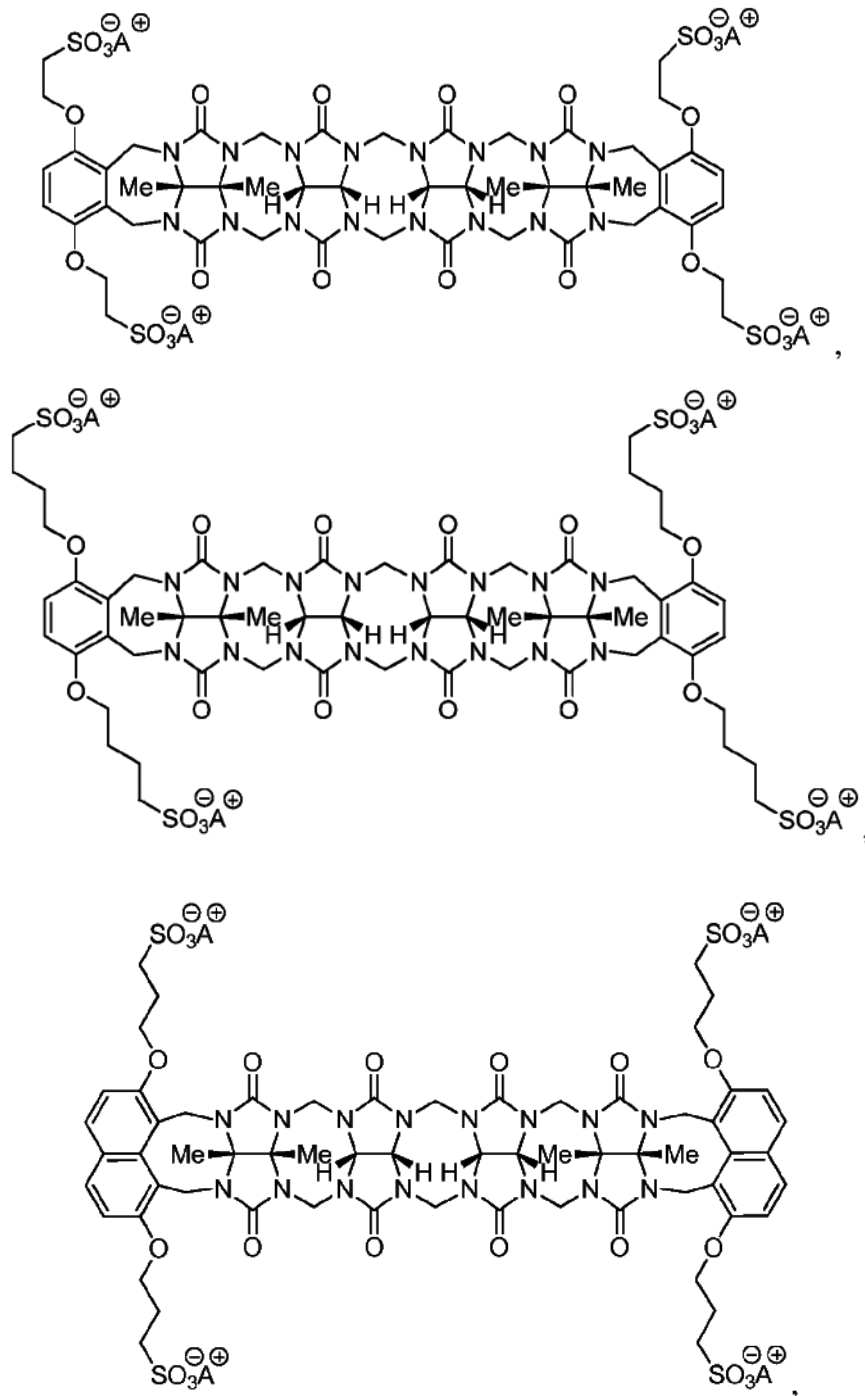


10

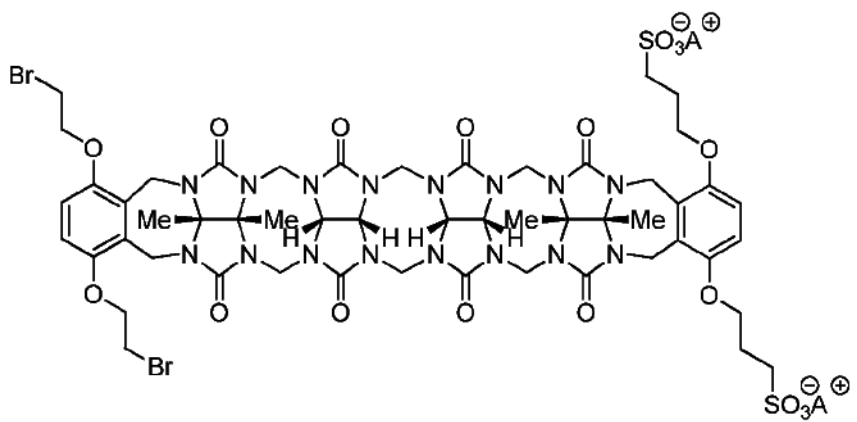
(denominada en el presente documento como **Motor2**),



15 donde j es, por ejemplo, de 1 a 2250, incluyendo todos los valores enteros e intervalos entre los mismos, y R en este ejemplo es hidrógeno o un grupo alquilo,



y



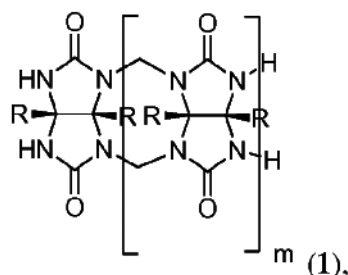
donde A<sup>+</sup> puede ser H<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, H<sub>4</sub>N<sup>+</sup>, Et<sub>3</sub>NH<sup>+</sup>, Me<sub>4</sub>N<sup>+</sup>, (HOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH<sup>+</sup>, o una forma catiónica de etilendiamina, piperazina y trishidroximetil aminometano (TRIS).

5

A continuación, se proporciona un ejemplo de un método general para la preparación de los compuestos de la presente invención. El método comprende las siguientes etapas:

1) Proporcionar un compuesto (1) de la siguiente estructura:

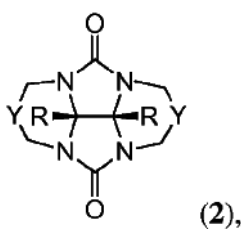
10



donde m es de 0 a 4,

2) formar una mezcla de reacción que comprende el compuesto (1), un ácido (por ejemplo, MeSO<sub>3</sub>H, HCl, CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> o TsOH) y un compuesto (2) que tiene la siguiente estructura:

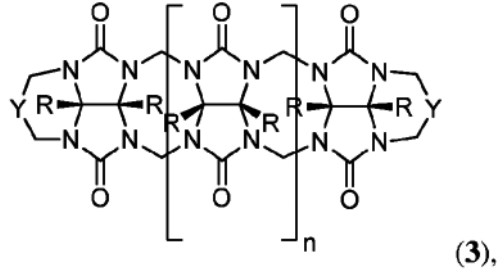
15



donde cada R es independientemente hidrógeno, grupo alquilo de C<sub>1</sub> a C<sub>20</sub>, grupo carbocíclico de C<sub>3</sub> a C<sub>20</sub>, grupo heterocíclico de C<sub>1</sub> a C<sub>20</sub>, grupo ácido carboxílico, grupo éster, grupo amida, grupo hidroxilo o grupo éter. Opcionalmente, los grupos R adyacentes forman un anillo carbocíclico de C<sub>3</sub> a C<sub>20</sub> o un anillo heterocíclico, donde el anillo carbocíclico es un anillo en el que cada uno de los átomos que forman el anillo o los anillos son átomos de carbono y el anillo heterocíclico es un anillo en el que al menos uno de los átomos que forman el anillo o los anillos es un heteroátomo (por ejemplo, oxígeno, nitrógeno, azufre, etc.). Estos anillos pueden estar sustituidos cada uno con grupos alquilo y otros sustituyentes, tales como, por ejemplo, grupos nitro, ciano, ceto, carboxi, alcoxi, hidroxilo, amina, amida, haluro (por ejemplo, bromuro, cloruro, fluoruro y yoduro), y alcoxi. Y es oxígeno o nitrógeno sustituido con un grupo alquilo de C<sub>1</sub> a C<sub>20</sub>. (2) se añade a la mezcla de reacción de tal forma que se forma un compuesto (3),

25

de la siguiente estructura:



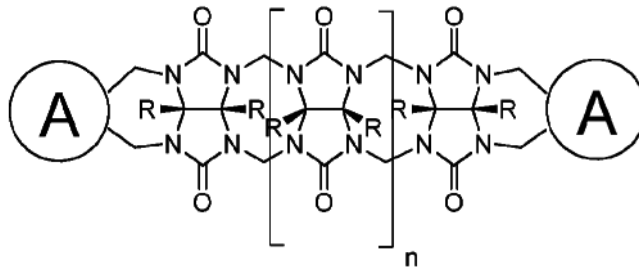
5 3) poner en contacto dicho compuesto (3) con TFA y



que puede ser un sistema anular carbocíclico de C<sub>5</sub> a C<sub>20</sub> o un sistema anular heterocíclico de C<sub>2</sub> a C<sub>20</sub>, donde el sistema anular comprende uno o más anillos. El sistema anular, opcionalmente, tiene al menos un grupo solubilizante. Opcionalmente, el sistema anular tiene un grupo diana. El compuesto (3), un disolvente y



15 se combinan de tal manera que se forma la siguiente estructura:



En una realización,

20

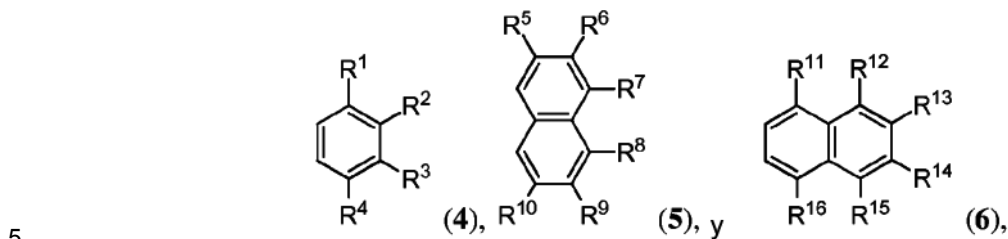


25 puede derivarse con el grupo solubilizante y/o el grupo diana después de la etapa 3). Por ejemplo, uno de los compuestos de componentes básicos puede derivarse para formar un compuesto de la presente invención. Por ejemplo, un componente de bromuro de alquilo de uno de los compuestos de componentes básicos puede hacerse reaccionar con un tiol PEGilado para hacer un compuesto con un grupo solubilizante de PEG.

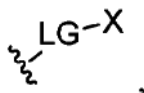
Los ejemplos de

A

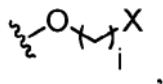
incluyen, pero sin limitación:



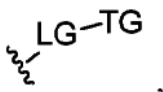
donde cada R<sup>1</sup> a R<sup>16</sup> es independientemente hidrógeno, grupo alquilo de C<sub>1</sub> a C<sub>20</sub>, grupo halo, grupo hidroxilo, grupo nitro, grupo ácido carboxílico, grupo éster, grupo amida, grupo éter, grupo carbocíclico de C<sub>3</sub> a C<sub>20</sub>, o grupo heterocíclico de C<sub>1</sub> a C<sub>20</sub>. Por ejemplo, el grupo ácido carboxílico, grupo éster, grupo amida y grupos éter pueden tener de 1 a 20 carbonos, incluyendo todos los valores enteros e intervalos entre los mismos. Al menos uno de los grupos R<sup>1</sup> a R<sup>16</sup> en la estructura tiene la siguiente estructura:



15 donde LG es el grupo de unión, y en la que X es el grupo solubilizante. En una realización, LG puede tener la fórmula:



20 donde cada uno de i es de 1 a 20. Opcionalmente, uno o más grupos R<sup>1</sup> a R<sup>16</sup> adyacentes se conectan formando un anillo carbocíclico o heterocíclico, y el anillo puede estar sustituido o sin sustituir. En una realización, al menos uno de los grupos R<sup>1</sup> a R<sup>16</sup> en la estructura tiene la siguiente estructura:



25 donde LG es un grupo de unión y en la que TG es el grupo diana.

Es deseable para el grupo

A

30

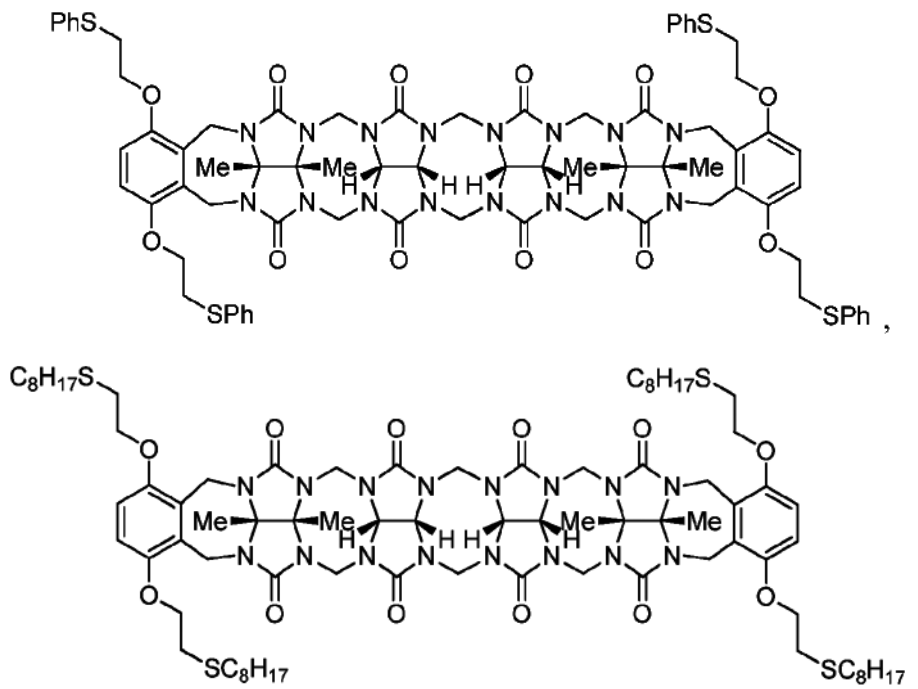
que sea reactivo en reacciones de sustitución aromática electrófila. Por lo tanto, en una realización, el grupo

A

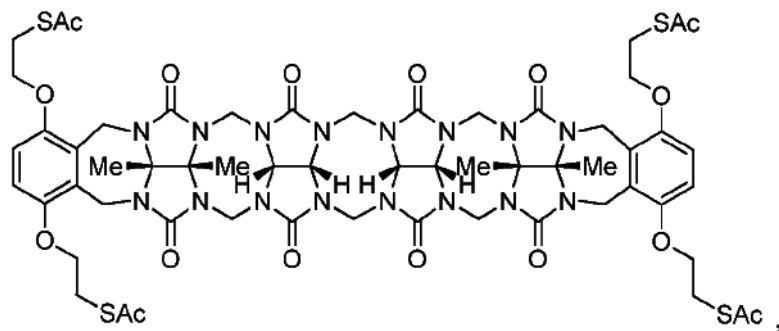
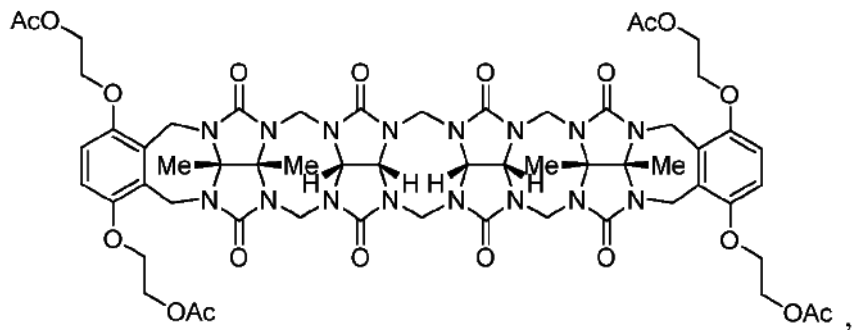
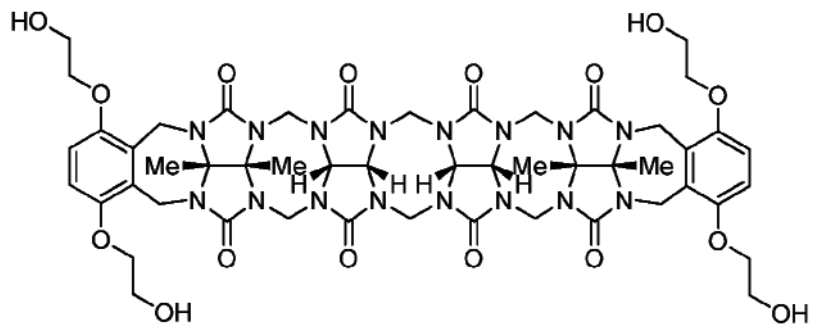
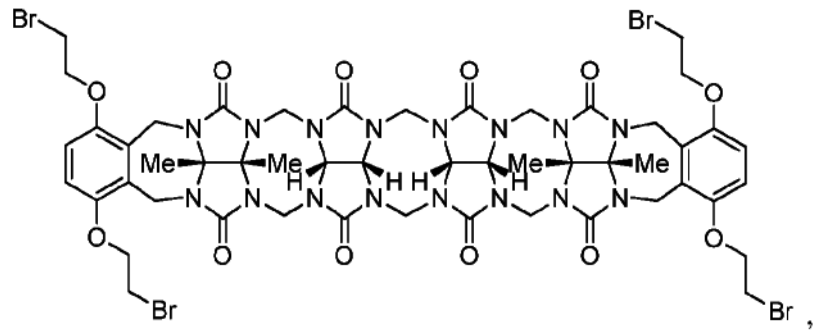
es un anillo aromático que tiene al menos un resto éter alquílico.

- 5 La determinación de las condiciones de reacción adecuadas (por ejemplo, disolvente, tiempo de reacción y temperatura de la reacción) está dentro del ámbito de un experto en la técnica. Puede usarse un amplio intervalo de disolvente. Los ejemplos de disolventes adecuados incluyen TFA, HCl, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, TsOH, HBr, MeSO<sub>3</sub>H, y mezclas de los mismos. Por ejemplo, puede ser deseable añadir anhídrido acético como co-disolvente. El tiempo de reacción puede variar. Generalmente, un tiempo de reacción de 3 horas es suficiente para proporcionar una extensión deseada de la reacción. Puede usarse un amplio intervalo de temperaturas de reacción. Por ejemplo, pueden usarse temperaturas de reacción de 25 °C a 100 °C.

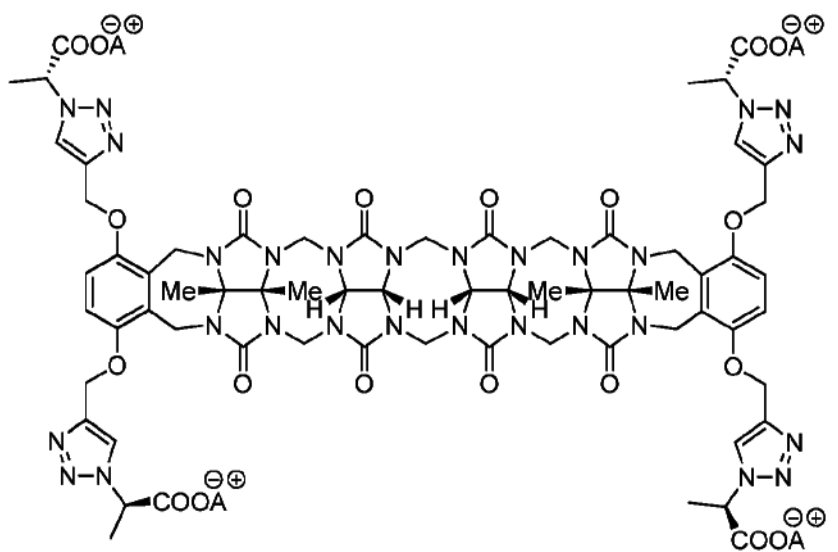
- En una realización, los compuestos pueden hacerse a partir de compuestos de componentes básicos (es decir, intermedios). Los compuestos de componentes básicos tienen grupos funcionales (por ejemplo, grupos halógeno (por ejemplo, flúor, cloro, bromo o yodo), hidroxilo, ácido carboxílico, alqueno, alquino, nitro, ciano, ceto, amino, amido, tioéter, tioato y triazol) que pueden hacerse reaccionar para formar grupos solubilizantes o grupos diana. Los ejemplos de compuestos de componentes básicos incluyen:



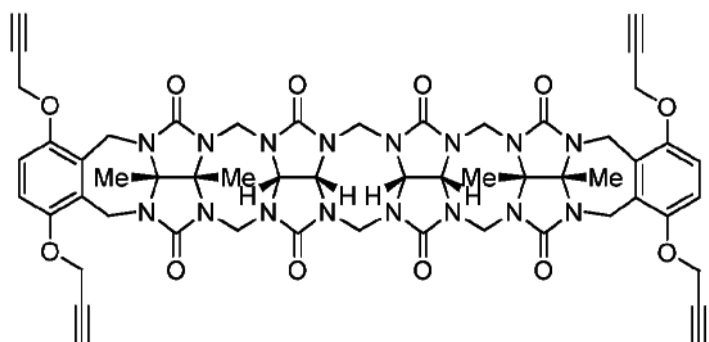
20







y



5 Por ejemplo, el compuesto de tetra propargilo puede hacerse reaccionar con azidas para formar, por ejemplo, un compuesto triazol.

Los siguientes ejemplos se presentan para ilustrar la presente invención. No pretenden ser limitantes de ningún modo.

10

#### EJEMPLO 1

**Experimento General.** Los materiales de partida se adquirieron en proveedores comerciales y se usaron sin purificación adicional o se prepararon mediante procedimientos bibliográficos. Los puntos de fusión se midieron en un aparato Meltemp en tubos capilares abiertos y estaban sin corregir. Los espectros de IR se registraron en un espectrómetro JASCO FT/IR 4100 y se indicaron en cm<sup>-1</sup>. Los espectros de RMN se midieron en un instrumento Bruker DRX-400 que funciona a 400 MHz para <sup>1</sup>H y 100 MHz para <sup>13</sup>C. La espectrometría de masas se realizó usando un instrumento de electronebulización (ESI) JEOL AccuTOF. La absorbancia UV-Vis se midió en un espectrofotómetro Varian Cary 100 UV.

20

**Procedimientos Sintéticos y Caracterización. Dímero de Glicolurilo.** Una mezcla de glicolurilo (500 g, 3,51 mol) y paraformaldehído (105 g, 3,51 mol) en HCl (8 M, 70 ml) se calentó a 50 °C durante 48 h. La mezcla de reacción se enfrió y se filtró. El sólido se lavó con agua (500 ml) y después se recristalizó con TFA (1,5 l) para producir el Dímero de Glicolurilo en forma de un sólido de color blanco (334 g, 62 %).

25

**Dimetil glicolurilo.** A una solución de urea (1140 g, 19,0 mol) en HCl (0,3 M, 2,8 l) se le añadió 2,3-butanodiona (500 g, 5,8 mol). La solución se agitó a TA durante 12 h. La mezcla de reacción se filtró y el sólido se lavó con agua (2,0 l x 2) y después etanol (2,0 l) para producir Dimetil glicolurilo en forma de un sólido de color blanco (749 g,

76 %).

**Dimetil glicolurilo bis(éter cíclico).** Una mezcla de Dimetil glicolurilo (749 g, 4,4 mol) y paraformaldehído (650 g, 21,7 mol) en HCl (9 M, 3,8 l) se agitó durante 24 h. Se añadió agua (14,0 l) y la mezcla se agitó durante 12 h más. Después, la mezcla se filtró y se lavó con agua (2 l) y etanol (2 l) para producir Dimetil glicolurilo bis(éter cíclico) en forma de un sólido de color blanco (719 g, 65 %).

**Tetrámero de Metilo. (Figura 1)** A una solución de Dímero de Glicolurilo (84 g, 0,27 mol) en MeSO<sub>3</sub>H anhidro (600 ml) se le añadió Dimetil glicolurilo bis(éter cíclico) (304 g, 1,20 mol). La mezcla se agitó y se calentó a 50 °C durante 3 h. La mezcla de reacción se vertió en agua (6,0 l). Después de la filtración, el sólido en bruto se secó a alto vacío. El sólido en bruto se recristalizó en TFA (350 ml) y agua (1,4 l) para producir tetrámero de metilo en forma de un sólido de color blanco (76 g, 36 %).

**Pared de propanosulfonato.** A una solución de hidroquinona (100 g, 0,91 mol) en una solución acuosa de NaOH (2,5 M, 1,4 l) se le añadió una solución de propanosulfona (275 g, 2,25 mol) en 1, 4-dioxano (1,8 l). La mezcla se agitó a TA durante 12 h. La mezcla se filtró. El sólido se lavó con acetona (2 l x 2) para producir 3,3'-(1,4-fenilenobis(oxi))bis(ácido propano-1-sulfónico) en forma de un sólido de color blanco (294 g, 81 %).

**Motor1. (Figura 1)** A una solución de tetrámero de metilo (76 g, 97 mmol) en TFA (700 ml) se le añadió pared de propanosulfonato (154 g, 387 mmol). La mezcla se agitó y se calentó a 70 °C durante 3 h. El disolvente se retiró por evaporación rotatoria y el sólido se secó a alto vacío. El sólido se lavó con la mezcla de agua y acetona (1:2, v/v, 1,5 l x 2). El sólido se disolvió en agua (500 ml) y se ajustó a pH = 7 añadiendo NaOH acuoso 1 M. El disolvente se retiró con evaporación rotatoria y después el sólido se secó adicionalmente a alto vacío para producir Motor1 en forma de un sólido de color blanco (60 g, 40 %). P.f. > 320 °C (descompuesto). IR (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3000w, 1711s, 1456s, 1313m, 1225s, 1178s, 1076s, 972m, 920m, 822m, 797s, 756m, 665m. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, D<sub>2</sub>O): 6,72 (s, 4H), 5,50 (d, J = 15,2, 2H), 5,38 (d, J = 15,7, 4H), 5,31 (d, J = 9,0, 2H), 5,25 (d, J = 8,9, 2H), 5,19 (d, J = 16,2, 4H), 4,10 (d, J = 11,1, 4H), 4,06 (d, J = 11,7, 4H), 3,97 (d, J = 15,4, 2H), 3,91 (m, 4H), 3,79 (m, 4H), 2,98 (m, 8H), 2,06 (m, 8H), 1,64 (m, 6H), 1,61 (s, 6H). <sup>13</sup>C RMN (100 MHz, D<sub>2</sub>O, 1, 4-dioxano como referencia interna): δ 157,5, 157,3, 150,8, 128,3, 115,3, 79,7, 78,6, 72,3, 72,1, 69,2, 53,8, 49,4, 49,0, 35,9, 25,5, 17,1, 16,0, MS (ESI): m/z 1473,3232 ([M - H]<sup>-</sup>), calculado 1473,3216.

**Pared de 1,4-naftalenpropanosulfonato (figura 2).** A una solución de 1,4-dihidroxinaftaleno (2,0 g, 12,5 mmol) en NaOH (10 % en peso, 16 ml) se le añadió una solución de propanosulfona (3,8 g, 31,2 mmol) en 1,4-dioxano (24 ml). Esta solución se agitó a TA durante 12 h. Después de la filtración, el sólido se disolvió en H<sub>2</sub>O (10 ml) y después se precipitó con MeCN (60 ml) para producir un sólido de color azul (1,5 g, 3,3 mmol, 27 %). P.f. > 227 °C (desc.). IR (ATR, cm<sup>-1</sup>): 2988w, 2902w, 1597w, 1462w, 1377w, 1273m, 1240m, 1222m, 1183s, 1155m, 1100m, 946s, 800w, 765m, 613m. <sup>1</sup>H RMN (600 MHz, D<sub>2</sub>O): 8,01 (m, 2H), 7,43 (m, 2H), 6,63 (s, 2H), 4,02 (t, 4H), 3,02 (t, 4H), 2,16 (m, 4H). <sup>13</sup>C RMN (125 MHz, D<sub>2</sub>O, 1,4-dioxano como referencia interna): δ 148,0, 126,4, 125,9, 121,4, 106,3, 67,5, 48,1, 24,2, MS alta res. (ESI): m/z 427,0528 ([M + Na]<sup>+</sup>), calculado 427,0497.

**Motor2 (figura 2).** A una solución de tetrámero de metilo (2,67 g, 3,42 mmol) en TFA (25 ml) se le añadió pared de 1,4-naftalen propanosulfonato (6,13 g, 13,7 mmol). Esta solución se agitó y se calentó a 70 °C durante 3 h. El disolvente se retiró con evaporación rotatoria y el sólido se secó a alto vacío. La mezcla en bruto se calentó a reflujo en EtOH (60 ml) durante una noche y después se filtró. El sólido se disolvió en agua caliente (20 ml). La solución se ajustó a pH = 7 con NaOH 1 M. La solución se enfrió a TA y se filtró para producir Motor2 en forma de un sólido de color blanco (1,7 g, 30 %). P.f. > 196 °C (descompuesto). IR (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3433w, 1717s, 1471s, 1425m, 1383m, 1349m, 1317m, 1179s, 1082s, 1036s, 922w, 881w, 827m, 801s, 757m, 728m, 676m. <sup>1</sup>H RMN (600 MHz, D<sub>2</sub>O): 7,72 (m, 4H), 7,27 (m, 4H), 5,48 (d, J = 15,3, 2H), 5,42 (d, J = 15,7, 4H), 5,31 (d, J = 8,9, 2H), 5,25 (d, J = 8,9, 2H), 5,12 (d, J = 16,0, 4H), 4,30 (d, J = 16,0, 4H), 4,12 (d, J = 15,7, 4H), 4,00 (m, 4H), 3,96 (d, J = 15,3, 2H), 3,74 (m, 4H), 3,08 (m, 8H), 2,13 (m, 8H), 1,66 (s, 6H), 1,61 (s, 6H). <sup>13</sup>C RMN (125 MHz, D<sub>2</sub>O, 1, 4-dioxano como referencia interna): δ 156,7, 156,3, 148,2, 127,7, 127,0, 126,1, 122,3, 78,6, 77,6, 74,1, 71,5, 71,2, 52,9, 48,5, 36,5, 25,1, 16,4, 15,2, MS alta res. (ESI): m/z 777,1986 ([M + 2H]<sup>2+</sup>), calculado 777,1972.

## EJEMPLO 2

**Huésped de propargilo (figura 3).** Se añadió tetrámero de metilo (1,70 g, 2,18 mol) en TFA (5 ml), 1,4-bis(prop-2-in-1-ilo)benzeno (1,62 g, 8,71 mmol). La solución se calentó a 50 °C durante 4 h. El disolvente se retiró con evaporación rotatoria. El producto en bruto se secó adicionalmente a alto vacío y después se lavó con agua (50 ml). El sólido se lavó con acetona (50 ml x 2) y se filtró. Después, este sólido se disolvió en HCl concentrado (50 ml) y

después se precipitó añadiendo agua (100 ml) para producir un sólido de color blanco (1,1 g, 1,0 mmol, 45 %). P.F. > 260 °C (descompuesto). IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 2939w, 1721m, 1463m, 1380m, 1314w, 1231m, 1211m, 1186m, 1090m, 941s, 848w, 796m, 758m, 616m.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ): 6,92 (s, 4H), 5,54 (d,  $J = 14,9$ , 2H), 5,45 (d,  $J = 15,0$ , 4H), 5,34 (d,  $J = 9,0$ , 2H), 5,23 (d,  $J = 9,0$ , 2H), 5,15 (d,  $J = 15,8$ , 4H), 4,79 (d,  $J = 15,0$ , 4H), 4,72 (d,  $J = 15,0$ , 4H), 4,10 (d,  $J = 15,8$ , 4H), 4,03 (d,  $J = 15,0$ , 4H), 4,03 (d,  $J = 14,9$ , 2H), 3,52 (s, 4H), 1,65 (s, 6H), 1,61 (s, 6H).  $^{13}\text{C}$  RMN (125 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  156,6, 155,2, 150,7, 129,6, 115,6, 81,3, 79,1, 78,5, 77,5, 71,9, 71,5, 59,0, 54,2, 49,4, 35,6, 18,0, 16,9. HR-MS (ESI):  $m/z$  1117,4007 ( $[\text{M} + \text{H}]^+$ ), calculado 1117,4029.

**Pared de etanosulfonato (figura 4).** Se mezclaron 1,4-bis(2-bromoetoxi)benzeno (2,00 g, 6,13 mmol) y sulfito sódico (3,10 g, 24,5 mmol) y se disolvieron en DMF (20 ml). La mezcla se agitó a 100 °C en una atmósfera de  $\text{N}_2$  durante 12 h y después se añadió agua (20 ml). La mezcla se dejó enfriar a TA y el producto se precipitó en forma de cristales de color blanco. El sólido se recogió por filtración y después se purificó por recristalización en agua. El secado a alto vacío dio 2,2'-(1,4-fenilenobis(oxi))dietanosulfonato sódico en forma de un sólido de color blanco (2,01 g, 88 %).  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ): 7,03 (s, 4H), 4,39 (t,  $J = 6,2$ , 4H), 3,36 (t,  $J = 6,2$ , 4H).  $^{13}\text{C}$  RMN (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , 1,4-dioxano como referencia interna):  $\delta$  151,5, 115,5, 63,3, 49,3.

**Pared de butanosulfonato (figura 5).** Se añadió una solución de butanosulfonato (24,5 g, 200 mmol) en 1,4-dioxano (160 ml) a una solución de hidroquinona (8,80 g, 80,0 mmol) en una solución acuosa de NaOH (10 % en peso, 120 ml). La mezcla se agitó a TA durante 12 h y después se filtró para recoger el sólido en bruto. El sólido se agitó con acetona (200 ml) y después se secó a alto vacío para producir 4,4'-(1,4-fenilenobis(oxi))dibutano-1-sulfonato sódico en forma de un sólido de color blanco (25,1 g, 80%70).  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ): 7,02 (s, 4H), 4,09 (t,  $J = 5,7$ , 4H), 2,99 (t,  $J = 7,4$ , 4H), 1,85-2,00 (m, 8H).  $^{13}\text{C}$  RMN (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , 1,4-dioxano como referencia interna):  $\delta$  152,1, 115,8, 68,3, 50,2, 26,8, 20,4.

**Pared de 2,7-naftalenosulfonato (figura 6).** Se añadió una solución de propanosulfonato (38,0 g, 300 mmol) en 1,4-dioxano (240 ml) a una solución de naftaleno-2,7-diol (20,0 g, 124 mmol) en NaOH (10 % en peso, 160 ml). Esta solución se agitó a TA durante 12 h. Después de la filtración, el sólido se recogió, después se disolvió en  $\text{H}_2\text{O}$  (100 ml) y después se precipitó mediante la adición de  $\text{CH}_3\text{CN}$  (600 ml). El sólido se recogió por filtración y después se secó a alto vacío para producir un sólido de color verde pálido (23,2 g, 41 %).  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ): 7,77 (d,  $J = 8,9$ , 2H), 7,23 (m, 2H), 7,07 (dd,  $J = 8,9$ , 2,4, 2H), 4,24 (t,  $J = 6,4$ , 4H), 3,05-3,15 (m, 4H), 2,15-2,30 (m, 4H).  $^{13}\text{C}$  RMN (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , 1,4-dioxano como referencia interna):  $\delta$  156,2, 135,0, 128,9, 123,9, 115,8, 106,3, 66,0, 47,4, 23,7.

**Huésped de etanosulfonato a (figura 7).** Se añadió 2,2'-(1,4-fenilenobis(oxi))dietanosulfonato sódico (1,81 g, 0,23 mmol) a una solución de tetrámero de metilo (0,64 g, 0,77 mmol) en TFA (2 ml). La mezcla se agitó y se calentó a 70 °C durante 4 h. El disolvente se retiró a presión reducida y el sólido se secó adicionalmente a alto vacío. El sólido se lavó dos veces con la mezcla de agua y acetona (1:2, v/v, 30 ml), después se disolvió en agua y se ajustó a pH = 7 añadiendo NaOH acuoso 1 M. El disolvente se retiró a presión reducida y después el sólido se secó adicionalmente a alto vacío para producir el producto **a** en forma de un sólido de color blanco (0,72 g, 61 %).  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ): 6,94 (s, 4H), 5,67 (d,  $J = 15,5$ , 2H), 5,56 (d,  $J = 16,0$ , 4H), 5,44 (d,  $J = 7,6$ , 2H), 5,38 (d,  $J = 7,6$ , 2H), 5,35 (d,  $J = 16,3$ , 4H), 4,45 - 4,25 (m, 8H), 4,24 (d,  $J = 16,0$ , 4H), 4,21 (d,  $J = 16,3$ , 4H), 4,10 (d,  $J = 15,5$ , 2H), 3,55-3,40 (m, 4H), 3,35-3,20 (m, 4H), 1,79 (s, 6H), 1,75 (s, 6H).  $^{13}\text{C}$  RMN (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , 1,4-dioxano como referencia interna):  $\delta$  156,4, 155,9, 149,6, 127,8, 114,4, 78,4, 77,1, 70,9, 70,8, 65,2, 52,2, 50,1, 48,0, 34,8, 15,6, 14,6.

**Huésped de butanosulfonato b (figura 7).** Se añadió 4,4'-(1,4-fenilenobis(oxi))bis(butano-1-sulfonato) sódico (6,50 g, 15,4 mmol) a una solución de tetrámero de metilo (3,00 g, 3,84 mmol) en TFA (30 ml). La mezcla se agitó y se calentó a 70 °C durante 4 h. El disolvente se retiró a presión reducida y el sólido se secó adicionalmente a alto vacío. El sólido se lavó dos veces con la mezcla de agua y acetona (1:2, v/v, 300 ml), después se disolvió en agua y se ajustó a pH = 7 añadiendo NaOH acuoso 1 M. El disolvente se retiró a presión reducida y después el sólido se secó adicionalmente a alto vacío para producir el producto **b** en forma de un sólido de color blanco (2,33 g, 40 %).  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ): 7,01 (s, 4H), 5,62 (d,  $J = 15,2$ , 2H), 5,51 (d,  $J = 16,0$ , 4H), 5,45 (d,  $J = 8,9$ , 2H), 5,35 (d,  $J = 8,9$ , 2H), 5,24 (d,  $J = 16,0$ , 4H), 4,30 (d,  $J = 16,0$ , 4H), 4,25 (d,  $J = 16,0$ , 4H), 4,04 (d,  $J = 15,2$ , 2H), 3,90-3,75 (m, 8H), 2,90-2,75 (m, 4H), 2,70-2,55 (m, 4H), 1,79 (s, 12H), 1,79-1,30 (m, 16H).

**Huésped de naftalen propanosulfonato (figura 8).** Se añadió 3,3'-(naftaleno-2,7-diilbis(oxi))dipropano-1-sulfonato sódico (229 mg, 0,152 mmol) a una solución de tetrámero de metilo (100 mg, 0,128 mmol) en una mezcla de TFA/ $\text{Ac}_2\text{O}$  (1:1, 2 ml). La mezcla se agitó y se calentó a 70 °C durante 3 h y después se vertió en acetona (30 ml). El sólido se recogió con filtración. El sólido en bruto se disolvió en  $\text{H}_2\text{O}$  (10 ml), y después se precipitó mediante la

adición de acetona (30 ml). Después, el producto se recogió por filtración y después se recrystalizó en agua y acetona (1:1, v/v, 5 ml). El producto purificado se obtuvo en forma de un sólido de color beige pálido después del secado a alto vacío (112 mg, 53 %). <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, D<sub>2</sub>O): 6,95 (d, *J* = 8,9, 4H), 6,48 (d, *J* = 8,9, 4H), 5,60 (d, *J* = 16,3, 4H), 5,58 (d, *J* = 15,4, 6H), 5,30 (d, *J* = 9,0, 2H), 5,20 (d, *J* = 9,0, 2H), 4,72 (d, *J* = 16,3, 4H), 4,16 (d, *J* = 15,4, 4H), 4,00-3,85 (m, 8H), 3,30-3,05 (m, 8H), 2,35-2,10 (m, 8H), 1,76 (s, 12H). <sup>13</sup>C RMN (125 MHz, D<sub>2</sub>O, 1,4-dioxano como referencia interna): δ 156,4, 156,1, 155,0, 131,6, 127,3, 116,3, 112,6, 76,8, 75,4, 70,8, 68,1, 52,2, 48,0, 47,9, 33,1, 29,7, 24,4, 16,6, 15,2 (únicamente se observaron 19 de las 20 resonancias esperadas).

10 **Huésped de tetrabromo (figura 9).** Se mezclaron 1,4-bis(2-bromoetoxi)benceno (1,70 g, 5,21 mmol) y tetrámero de metilo (1,20 g, 1,53 mmol) en un matraz de fondo redondo. Se añadió TFA (12 ml), y la mezcla se agitó a 70 °C durante 3 h. La mezcla de reacción se vertió en MeOH (100 ml), y el sólido se recogió por filtración. El producto en bruto se agitó con agua (150 ml) y después acetona (150 ml) a TA y el sólido se aisló por filtración. El secado a alto vacío dio el producto en forma de un polvo de color blanco (1,71 g, 79 %). P.f. 283-285 °C. IR (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3000a, 1704m, 1456m, 1311m, 1225s, 1177s, 1080s, 966m, 922m, 818m, 794s, 754m, 666m. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO): 15 6,91 (s, 4H), 5,59 (d, *J* = 14,4, 2H), 5,51 (d, *J* = 15,2, 4H), 5,38 (d, *J* = 9,0, 2H), 5,30-5,25 (m, 6H), 4,50-4,40 (m, 4H), 4,25-4,20 (m, 10H), 4,06 (d, *J* = 15,2, 4H), 3,90-3,80 (m, 8H), 1,69 (s, 6H), 1,66 (s, 6H). <sup>13</sup>C RMN (125 MHz, DMSO, 1,4-dioxano como referencia interna): δ 156,0, 154,6, 151,0, 129,5, 116,7, 78,0, 76,8, 71,5, 71,4, 71,0, 53,6, 48,9, 35,2, 33,5, 17,2, 16,3.

20 **Huésped de tetratiofenilo (figura 10).** Se disolvió benconotiolato sódico (48 mg, 0,36 mmol) en EtOH (2 ml). Se añadió huésped de tetrabromo (100 mg, 0,072 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a TA durante 12 h. La mezcla de reacción se centrifugó para recoger el producto en bruto. El sólido se lavó con EtOH (10 ml) y después H<sub>2</sub>O (10 ml). Se obtuvo un sólido de color amarillo pálido después del secado a alto vacío (63 mg, 58 %). <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO): 7,45-7,05 (m, 20H), 6,68 (s, 4H), 5,62 (d, *J* = 15,3, 2H), 5,51 (d, *J* = 14,8, 4H), 5,39 (d, *J* = 8,0, 2H), 5,27 (d, *J* = 8,0, 2H), 5,24 (d, *J* = 15,7, 4H), 4,25-4,10 (m, 4H), 4,10-3,85 (m, 14H), 3,45-3,30 (m, 8H), 1,69 (s, 6H), 1,63 (s, 6H).

30 **Huésped de tetra octanotioéter (figura 11).** Se disolvió octano-1-tiol (53 mg, 0,36 mmol) en EtOH (2 ml). Se añadió huésped de tetrabromo (100 mg, 0,072 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a TA durante 3 h. La mezcla de reacción se centrifugó para recoger el sólido en bruto. El sólido se lavó con EtOH (10 ml) y después H<sub>2</sub>O (10 ml). Se obtuvo un sólido de color blanco después del secado a alto vacío (103 mg, 72 %). <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO): 6,82 (s, 4H), 5,59 (d, *J* = 12,2, 2H), 5,48 (d, *J* = 14,8, 4H), 5,35 (d, *J* = 8,6, 2H), 5,24 (d, *J* = 8,6, 2H), 5,24 (d, *J* = 16,4, 4H), 4,25-4,20 (m, 4H), 4,08 (d, *J* = 16,4, 4H), 4,04 (d, *J* = 14,8, 4H), 4,10-4,00 (m, 4H), 3,99 (d, *J* = 12,2, 2H), 2,88 (t, *J* = 5,6, 8H), 2,63 (t, *J* = 7,2, 8H), 1,66 (s, 6H), 1,62 (s, 6H), 1,56 (m, 8H), 1,40-1,15 (m, 40H), 0,83 (t, *J* = 7,2, 35 12H).

40 **Huésped de PEG 350 (figura 12).** Se disolvieron PEG 350 (176 mg, 0,43 mmol) y NaOEt (29 mg, 0,43 mmol) en etilenglicol (2 ml). Se añadió huésped de tetrabromo (100 mg, 0,072 mmol) y la mezcla de reacción se agitó y se calentó a 50 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se centrifugó para retirar el material insoluble y la solución transparente se concentró y se vertió en éter dietílico (10 ml). El precipitado de color blanco se recogió por centrifugación. Se obtuvo un gel de color amarillo oscuro después del secado a alto vacío (150 mg, 82 %). <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, D<sub>2</sub>O): 6,64 (s, 4H), 5,64 (d, *J* = 16,0, 4H), 5,60-5,35 (m, 8H), 5,34 (d, *J* = 8,4, 2H), 4,35 (d, *J* = 16,0, 4H), 4,20-4,10 (m, 12H), 4,05, (d, *J* = 12,3, 2H), 3,95-3,55 (m, 160H), 3,38 (s, 12H), 3,11 (t, *J* = 6,0, 8H), 2,96 (t, *J* = 6,0, 8H), 1,89 (s, 6H), 1,86 (s, 6H).

45 **Huésped de PEG 750 (figura 12).** Se disolvieron PEG 750 (349 mg, 0,43 mmol) y NaOEt (29 mg, 0,43 mmol) en etilenglicol (2 ml). Se añadió el huésped de tetrabromo (100 mg, 0,072 mmol) y la mezcla de reacción se agitó y se calentó a 70 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se centrifugó para retirar el material insoluble y al sobrenadante se le añadió una mezcla de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y MeOH (5 ml, 4:1). Se añadió éter dietílico (10 ml) y después la mezcla se 50 centrifugó para aislar un precipitado de color blanco. Se obtuvo un sólido de color amarillo pálido después del secado a alto vacío (172 mg, 58 %). <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, D<sub>2</sub>O): 7,03 (s, 4H), 5,68 (d, *J* = 16,2, 2H), 5,56 (d, *J* = 15,6, 4H), 5,45-5,25 (m, 8H), 4,30-4,00 (m, 18H), 3,95-3,55 (m, 320H), 3,32 (s, 12H), 3,00-2,75 (m, 8H), 2,65 (t, *J* = 6,0, 8H), 1,76 (s, 6H), 1,72 (s, 6H).

55 **Huésped de PEG 1900 (figura 12).** Se disolvieron PEG 1900 (823 mg, 0,43 mmol) y NaOEt (29 mg, 0,43 mmol) en etilenglicol (2 ml). Se añadió huésped de tetrabromo (100 mg, 0,072 mmol) y la mezcla de reacción se agitó y se calentó a 70 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se centrifugó para retirar el material insoluble y al sobrenadante se le añadió una mezcla de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y MeOH (5 ml, 4:1). Se añadió éter dietílico (10 ml) y después la mezcla se 50 centrifugó para aislar un precipitado de color blanco. El producto se purificó adicionalmente por GPC usando

Sephadex-G25. Se obtuvo un sólido de color amarillo pálido después del secado a alto vacío (213 mg, 34 %).  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ): 6,49 (s, 4H), 5,46 (d,  $J = 16,4$ , 4H), 5,40-5,20 (m, 8H), 5,19 (d,  $J = 8,4$ , 2H), 4,15 (d,  $J = 16,0$ , 4H), 4,10-3,85 (m, 16H), 3,95-3,55 (m, 800H), 3,22 (s, 12H), 2,96 (t,  $J = 6,2$ , 8H), 2,81 (t,  $J = 6,2$ , 8H), 1,73 (s, 6H), 1,71 (s, 6H).

5

**Huésped de PEG 5000 (figura 12).** Se disolvieron PEG 5000 (2,16 g, 0,43 mmol) y NaOEt (29 mg, 0,43 mmol) en etilenglicol (4 ml). Se añadió huésped de tetrabromo (100 mg, 0,072 mmol) y la mezcla de reacción se agitó y se calentó a 70 °C durante 12 h. La mezcla de reacción se centrifugó para retirar el material insoluble y al sobrenadante se le añadió una mezcla de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y MeOH (5 ml, 4:1). Se añadió éter dietílico (10 ml) y después la mezcla se centrifugó para aislar un precipitado de color blanco. El producto se purificó adicionalmente por GPC usando Sephadex-G25. Se obtuvo un sólido de color amarillo pálido después del secado a alto vacío (351 mg, 23 %).  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ): 7,05 (s, 4H), 5,71 (d,  $J = 15,5$ , 2H), 5,62 (d,  $J = 15,6$ , 4H), 5,60-5,25 (m, 8H), 4,30-4,00 (m, 18H), 3,95-3,55 (m, 1840H), 3,32 (s, 12H), 3,00-2,75 (m, 8H), 2,66 (t,  $J = 6,0$ , 8H), 1,76 (s, 6H), 1,74 (s, 6H).

10

**Huésped de dibromo dipropanosulfonato (figura 13).** Se añadieron 1,4-bis(2-bromoetoxi)benzoceno (250 mg, 0,768 mmol) y 3,3'-(1,4-fenilenobis(oxi))bis(propano-1-sulfonato) sódico (102 mg, 0,256 mmol) a una solución de tetrámero de metilo (200 mg, 0,256 mmol) en TFA (2,5 ml). La mezcla se agitó, se calentó a 70 °C durante 3 h y después se vertió en acetona (150 ml). El sólido se recogió por filtración. El sólido en bruto se agitó con agua (30 ml x 3) a TA durante 4 h. El filtrado se recogió y el disolvente se retiró a presión reducida. El producto se purificó por recristalización en  $\text{H}_2\text{O}$  y MeOH (1:1, 15 ml). El producto se obtuvo en forma de un sólido de color blanco después del secado a alto vacío (112 mg, 53 %).  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ): 6,97 (s, 2H), 6,72 (s, 2H), 5,62 (d,  $J = 15,9$ , 2H), 5,60 (d,  $J = 15,9$ , 2H), 5,53 (d,  $J = 16,4$ , 2H), 5,45 (d,  $J = 5,8$ , 2H), 5,43 (d,  $J = 15,9$ , 2H), 5,40 (d,  $J = 5,0$ , 2H), 5,21 (d,  $J = 10,8$ , 2H), 4,27 (d,  $J = 16,4$ , 2H), 4,25-4,20 (m, 8H), 4,15-4,05 (m, 8H), 3,95-3,75 (m, 4H), 3,45-3,35 (m, 2H), 3,25-3,20 (m, 2H), 3,14 (t,  $J = 7,7$ , 4H), 2,35-2,15 (m, 4H), 1,87 (s, 3H), 1,81 (s, 3H), 1,67 (s, 3H), 1,66 (s, 3H).

20

**Huésped de tetraéster (figura 14).** Se mezclaron 2,2'-(1,4-fenilenobis(oxi))dietanol (1,02 g, 5,12 mmol) y tetrámero de metilo (1,00 g, 1,28 mmol) en forma de sólido y después se disolvieron en una mezcla de TFA y  $\text{Ac}_2\text{O}$  (1:1, 10 ml). La mezcla se agitó a 70 °C durante 3,5 h y después se vertió en MeOH (150 ml). El sólido se recogió por filtración y se lavó con acetona (100 ml) y agua (100 ml). Después del secado a alto vacío, el producto se obtuvo en forma de un polvo de color blanco (1,51 g, 90 %). P.f. > 300 °C. IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3000w, 1711s, 1456s, 1313m, 1225s, 1178s, 1076s.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz, DMSO): 6,85 (s, 4H), 5,58 (d,  $J = 16,3$ , 2H), 5,48 (d,  $J = 15,6$ , 4H), 5,37 (d,  $J = 9,0$ , 2H), 5,27 (d,  $J = 9,0$ , 2H), 5,23 (d,  $J = 16,0$ , 4H), 4,45-4,30 (m, 4H), 4,30-4,05 (m, 14H), 3,50-3,45 (m, 8H), 2,06 (s, 12H), 1,76 (s, 12H).

25

**Huésped de tetrahidroxi (figura 15).** Se añadió huésped de tetraéter (0,400 g, 0,305 mmol) a una solución acuosa de LiOH (2,5 M, 7,5 ml). La mezcla se agitó a 50 °C durante 0,5 h y después el sólido se recogió por filtración. El sólido se lavó con HCl 0,1 M a neutro y después se agitó con EtOH (30 ml) y agua (30 ml). Después del secado a alto vacío, se obtuvo un sólido de color blanco (0,234 g, 67 %).  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ): 6,95 (s, 4H), 5,62 (d,  $J = 15,3$ , 2H), 5,52 (d,  $J = 15,7$ , 4H), 5,43 (d,  $J = 8,0$ , 2H), 5,20 (d,  $J = 8,0$ , 2H), 4,72 (d,  $J = 16,2$ , 4H), 4,28 (d,  $J = 15,7$ , 4H), 4,23 (d,  $J = 16,2$ , 4H), 4,19 (d,  $J = 15,3$ , 2H), 3,85-3,50 (m, 8H), 3,45-2,85 (m, 8H), 1,76 (s, 12H).

35

**Huésped de tetratioacetato (figura 16).** Se añadieron  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (99 mg, 0,43 mmol) y ácido tiolacético (55 mg, 0,43 mmol) en DMF (2 ml) y se agitó a TA durante 15 min en una atmósfera de  $\text{N}_2$ . Se añadió huésped de tetrabromo (100 mg, 0,072 mmol) en forma de un sólido. La mezcla se agitó a 50 °C durante 12 h y después se vertió en  $\text{H}_2\text{O}$  (6 ml). El sólido se recogió por filtración y después se lavó con  $\text{H}_2\text{O}$  (5 ml) y acetona (5 ml). Se obtuvo un sólido de color beige después del secado a alto vacío (73 mg, 74 %).  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz, DMSO): 6,85 (s, 4H), 5,58 (d,  $J = 16,3$ , 2H), 5,48 (d,  $J = 15,6$ , 4H), 5,38 (d,  $J = 9,0$ , 2H), 5,27 (d,  $J = 9,0$ , 2H), 5,22 (d,  $J = 16,0$ , 4H), 4,25-4,10 (m, 4H), 4,15-3,90 (m, 14H), 3,35-3,25 (m, 8H), 2,37 (s, 12H), 1,68 (s, 6H), 1,64 (s, 6H).

45

**Huésped de tetratriazol (figura 17).** Se mezclaron ácido ascórbico (7 mg, 0,04 mmol), NaOH (2 mg, 0,04 mmol) y  $\text{CuSO}_4$  (2 mg, 0,01 mmol) y después se disolvió en una mezcla de  $\text{H}_2\text{O}$  y EtOH (1 ml, 1:1). Se añadieron huésped de alquino (26 mg, 0,024 mmol) y ácido (R)-2-azidopropanoico (22 mg, 0,19 mmol) en forma de un sólido. La mezcla se calentó con microondas a 80 °C durante 30 min, y después el disolvente se retiró a presión reducida. El sólido en bruto se lavó con MeOH (2 ml). Se obtuvo un sólido de color amarillento después del secado a alto vacío (15 mg, 40 %).  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz, DMSO): 8,44 (s, 2H), 8,34 (s, 2H), 6,97 (m, 4H), 5,65-5,45 (m, 12H), 5,39 (d,  $J = 8,4$ , 2H), 5,25-5,05 (m, 18H), 4,25-4,00 (m, 4H), 1,72 (m, 12H), 1,69 (s, 6H), 1,64 (s, 6H).

50

### EJEMPLO 3

**Tabla 1.** Constantes de unión de **Motor1** hacia los huéspedes:

Huésped	$K_a$
vecuronio	$5,8 \pm 0,9 \times 10^6$
pancuronio	$4,5 \pm 0,1 \times 10^5$
atracurio	$1,4 \pm 0,1 \times 10^6$
tubocurarina	$47,1 \pm 0,2 \times 10^5$
galamina	$6,2 \pm 0,5 \times 10^5$
acetilcolina	$2,4 \pm 0,1 \times 10^4$

**Tabla 2.** Compuestos usados y sus afinidades de unión hacia **Motor2**.

Nombre del Compuesto	$K_a$ ( $M^{-1}$ ) con Motor2
Rodamina 6G	$2,3 \pm 0,2 \times 10^6$
Ciclohexanodiamina	$2,1 \pm 0,2 \times 10^6$
Proflavina	$7,8 \pm 0,8 \times 10^8$
Rocuronio	$3,4 \pm 0,6 \times 10^9$
Vecuronio	$1,6 \pm 0,2 \times 10^9$
Pancuronio	$5,3 \pm 0,5 \times 10^8$
Besilato de atracurio	$1,0 \pm 0,1 \times 10^7$
Galamina	$3,2 \pm 0,4 \times 10^8$
Turbocurio	$2,2 \pm 0,3 \times 10^5$
Acetilcolina	$1,8 \pm 0,2 \times 10^5$

**5 EJEMPLO 4**

Ensayo de las capacidades de unión de Motor1 y Motor2 con Ketamina, y Etomidato respectivamente.

Para la unión de Motor1 y Ketamina, se usó Rodamina 6G como un indicador para realizar un experimento de competencia para determinar la constante de unión. Una solución de Rodamina 6G (0,010 mM), Motor1(0,009 mM, 2,4 ml) se valoró mediante una solución madre de Rodamina 6G (0,010 mM) y Motor1(0,009 mM) y Ketamina (2,10 mM) en tampón fosfato (20 mM, pH = 7,4). Las absorbancias de la solución en 550 nm se controlaron por espectroscopía UV-VIS, y después se usaron para calcular la constante de unión.

15 **Tabla 3.** Constantes de unión restantes para **Motor1** y **Motor2** con Ketamina y Etomidato.

	Ketamina	Etomidato
Motor1	$39020 M^{-1}$	$35318 M^{-1}$
Motor2	$193490 M^{-1}$	$36812 M^{-1}$

Para las muestras de orina (Tabla 4), se tomaron 0,1 ml de cada muestra de orina y se secaron a alto vacío. Después, se disolvieron en 0,5 ml de  $D_2O$ , y se añadieron 0,1 ml de una solución de referencia 60 mM (1,3,5-tricarboxilato benceno). Los espectros de RMN se tomaron y la concentración de Motor1 en orina se calculó a partir de la relación entre la integración del pico de diagnóstico para la referencia (8,3 ppm, 3H) y Motor1 (1,9-1,5 ppm, 12H).

25

**Tabla 4.**

Muestra N°	Volumen de orina ( $\mu$ l)	Integral*	[Motor1] (mM)	[Motor1] (mg/ml)	Masa (Motor1) (mg)	Notas
R1U	930	3,34	6,958	10,723	9,972	
R2U	530	0,06	0,125	0,193	0,102	Sangre en orina
R3U	580	10,25	21,354	32,907	19,086	
R4U	240	8,88	18,500	28,509	6,842	Precipitado en orina
R5U	1350	0,00	0,000	0,000	0,000	
R6U	415	0,00	0,000	0,000	0,000	
R7U	725	5,72	11,917	18,364	13,314	
R8U	610	13,78	28,708	44,240	26,986	

R9U	950	4,21	8,771	13,516	12,840	
R10U	315	8,70	18,125	27,931	8,798	
R11U	560	1,03	2,146	3,307	1,852	
R12U						N/A
R13U	815	0,00	0,000	0,000	0,000	
R14U	355	10,62	22,125	34,095	12,104	
R15U	305	6,88	14,333	22,088	6,737	Sangre en orina
R16U	455	12,28	25,583	39,424	17,938	
R17U	255	10,74	22,375	34,480	8,792	
R18U	610	0,00	0,000	0,000	0,000	
R19U	615	1,27	2,646	4,077	2,507	Precipitado en orina
R20U	190	5,39	11,229	17,304	3,288	Precipitado en orina
R21U	585	2,40	5,000	7,705	4,507	
R22U	390	0,00	0,000	0,000	0,000	Precipitado en orina

\*Pico de 1,65-1,9 ppm, con pico de referencia integral para ácido benceno-1,3,5-tricarboxílico (5 mM) en 8,3 ppm ajustado a 3

### EJEMPLO 5

**Estudios de Toxicidad:** Para medir la toxicidad celular de **Motor1** se usan dos ensayos complementarios: Un ensayo de MTS (CellTiter 96 AQueous Kit®) que mide el metabolismo celular, y un ensayo de citotoxicidad (Toxilight®BioAssay Kit) que mide la muerte celular a través de la liberación de la enzima citosólica adenilato cinasa en el sobrenadante. Se usaron ambos ensayos con dos líneas celulares diferentes usadas comúnmente en estudios de toxicidad de los fármacos, las líneas celulares HEK293 y HepG2. Se usa HEK293, una línea celular de riñón humano, para evaluar el efecto del fármaco candidato sobre el sistema renal, y se usa HepG2, una línea celular de hepatocitos humanos, para evaluar la respuesta de las células hepáticas donde se metabolizan los fármacos. Ambos ensayos incluían el uso de una población no tratada, y células tratadas con agua destilada, eritromicina y estolato de eritromicina. La eritromicina es un fármaco disponible en el mercado usado ampliamente para tratar infecciones bacterianas. Sin embargo, el estolato de eritromicina es un derivado con alta toxicidad. La eritromicina, con un valor de EC50 de 594 ( $\pm 194$ )  $\mu\text{M}$  es significativamente menos tóxica en comparación con el estolato de eritromicina, que tiene una EC50 de 109 ( $\pm 7$ )  $\mu\text{M}$ . Estos dos fármacos se seleccionaron específicamente para servir como un punto de comparación para los niveles de toxicidad resultantes de Motor1.

Ambas líneas celulares se incubaron con los contenedores (0,01, 0,1, 1 y 10 mM) durante 2 días antes del análisis con los dos ensayos. Los datos de absorbancia relativa y de luminiscencia se normalizaron con respecto a un porcentaje de viabilidad celular (MTS) y muerte celular (AK). Para el ensayo de MTS, las células no tratadas se fijaron a una viabilidad celular del 100 %, mientras que la población celular tratada con agua destilada se fijó a una muerte celular del 100 % para el ensayo de AK.

El ensayo de MTS realizado en la línea celular HEK293 (figura 27A) mostró una alta supervivencia celular en todas las concentraciones de Motor1 a una viabilidad celular del 92, 96, 89 y el 79 %. Sin embargo, las poblaciones celulares tratadas con agua destilada (0,2 %), 1 mM de eritromicina (47 %) y estolato de eritromicina (11 %) mostraron un descenso significativo de la viabilidad celular. El ensayo de AK (figura 27B) realizado en esta línea celular reflejó estos resultados. El porcentaje de muerte celular observado en las células tratadas con eritromicina 1 mM y estolato de eritromicina fue del 25 y el 49 % respectivamente. Sin embargo, la muerte celular en la población no tratada y todas las concentraciones de Motor1 estaba por debajo del 5 %.

Se observaron resultados similares en la línea celular HepG2 (figura 28). Las células HepG2 tratadas con concentraciones en aumento de Motor1 mostraron una alta viabilidad celular al 104, 100, 102 y 82 % respectivamente en el ensayo de MTS (figura 28A). Estos resultados eran comparables a la viabilidad celular observada en la población no tratada. Sin embargo, las células HepG2 tratadas con agua destilada (1 %), eritromicina 1 mM (36 %) y estolato de eritromicina (10 %) mostraron descensos significativos de la viabilidad celular. Estos resultados se confirmaron en el ensayo de AK (figura 28B) realizado usando la línea celular HepG2. Se observó un alto porcentaje de muerte celular con muestras tratadas con estolato de eritromicina a 1 mM (muerte celular al 100 %). Las células HepG2 mostraron altos niveles de base en este ensayo como se indica por la muerte celular del 60 % en la población no tratada. Todas las muestras celulares tratadas con concentraciones en aumento de Motor1 muestran una baja citotoxicidad (muerte celular del 55, 56, 50 y el 17 %) en comparación con las muestras no tratadas.

Se descubrió que Motor1 en general no era tóxico ni en células de riñón ni hepáticas humanas hasta una concentración de 10 mM.

Se realizó un ensayo de hemólisis (figura 29) para evaluar cualquier efecto tóxico de Motor1 sobre eritrocitos humanos. Estos ensayos usaron sangre acumulada de dos donantes sanos de los cuales se aislaron glóbulos rojos a través de centrifugación. Los eritrocitos se expusieron a una solución salina tamponada con fosfato (PBS), agua destilada, y concentraciones en aumento de Motor1 (1) (0,01, 0,1, 1 y 10 mM). Los eritrocitos se incubaron agitando a 37 °C durante 3 h tras el tratamiento. La liberación de hemoglobina de los glóbulos rojos dañados se cuantificó midiendo la absorbancia relativa de las muestras a 405 nm. Los datos recogidos se convirtieron en porcentaje de hemólisis fijando la población celular tratada con agua destilada en una hemólisis del 100 %.

Este ensayo mostró que mientras que los eritrocitos tratados con agua destilada dieron como resultado un alto porcentaje de hemólisis, las muestras incubadas con PBS, y concentraciones en aumento de Motor1 no dieron como resultado una hemólisis por encima del 20 %. El ensayo de hemólisis presentó datos hacia la conclusión de que el Motor1 no es tóxico para los eritrocitos humanos hasta una concentración de 10 mM.

La figura 30 muestra que Motor1 se tolera bien en ratones. Se inyectaron cantidades indicadas de Motor1 en la vena de la cola de ratones Swiss Webster no consanguíneos el día 0, 4 y 8. El peso de cada ratón se controló en el tiempo y hubo 5 ratones por grupo experimental.

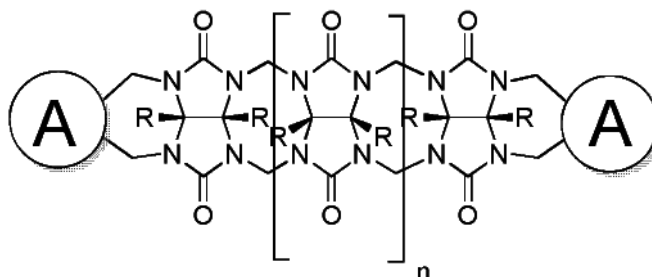
Para las muestras de plasma, se han ensayado cuatro ratas en total: Rata 10, Rata 17, Rata 11, Rata 21. Para cada muestra de plasma, se tomaron 10 µl de plasma y se secó a alto vacío. Se añadió una cantidad en exceso de solución de sonda (495 µl de p-xilenodiamina 38 µM) para disolver el residuo y después se añadió la referencia (5 µl de ácido benceno-1,3,5-tricarboxílico 600 µM). Los espectros de RMN se toman con supresión de agua y la concentración de Motor1 se calculó a partir de la relación entre las integraciones de los picos para la referencia (8,2 ppm, 3H) y Motor1 (6,5 ppm, 4H). Para la Rata 17, no se usó ácido benceno-1,3,5-tricarboxílico, sino que se usó p-xilenodiamina como la referencia (figuras 31-34).

La figura 35 muestra la toxicología usando Motor2. Se incubaron concentraciones variables de Motor2 con células THP-1 (A) y HEK 293 (B) durante un periodo de 48 h que dio como resultado una elevada supervivencia celular de hasta 5 mM. Se usaron dos ensayos complementarios para analizar la toxicología: un ensayo de MTS y un ensayo de liberación de AK para las células THP-1. El ensayo de liberación de AK se realizó usando 20 µl de sobrenadante de cada muestra estudiada usando el ensayo de MTS. El ensayo Vialight se usó para evaluar la viabilidad celular en las células HEK 293. (UT = Sin tratar, Stx = Estaurosporina, Triton = Triton-X-100). Se usó una prueba t para datos independientes con \*P = 0,01-0,05; \*\*P = 0,001-0,01; \*\*\*P = 0,001 para el análisis estadístico de todas las cifras presentadas.



**REIVINDICACIONES**

1. Una composición que comprende un compuesto que tiene la siguiente estructura:



5

en la que cada R es independientemente hidrógeno, grupo alquilo de C<sub>1</sub> a C<sub>20</sub>, grupo carbocíclico de C<sub>3</sub> a C<sub>20</sub>, grupo heterocíclico de C<sub>1</sub> a C<sub>20</sub>, grupo ácido carboxílico, grupo éster, grupo amida, grupo hidroxilo o grupo éter;  
 en la que, opcionalmente, los grupos R adyacentes forman un anillo carbocíclico de C<sub>3</sub> a C<sub>20</sub> o un anillo heterocíclico;  
 en la que cada

10



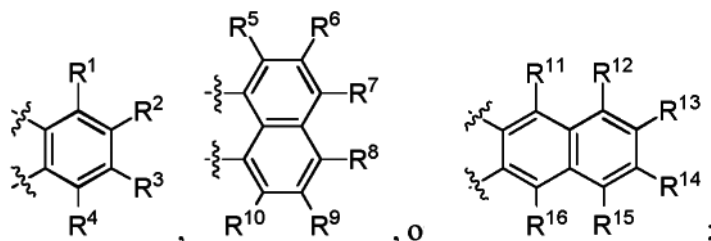
15 es independientemente un sistema anular carbocíclico de C<sub>5</sub> a C<sub>20</sub> o un sistema anular heterocíclico de C<sub>2</sub> a C<sub>20</sub>, en la que el sistema anular comprende uno o más anillos;  
 en la que al menos un sistema anular tiene al menos un grupo solubilizante seleccionado entre grupo ácido sulfónico, grupo de sal sulfonato, grupo ácido fosfónico, grupo de sal fosfonato, y grupo polietilenglicol;  
 en la que, opcionalmente, el sistema anular tiene un grupo diana; y  
 20 en la que n es de 1 a 5  
 para su uso en la inversión de un bloqueo neuromuscular inducido por fármacos y/o la anestesia en un individuo que necesita la inversión de un bloqueo neuromuscular y/o una anestesia.

2. La composición para el uso de la reivindicación 1, en la que cada

25

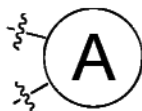


es independientemente un anillo carbocíclico de C<sub>5</sub> a C<sub>20</sub> que tiene una de las siguientes estructuras:

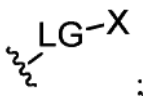


30

en las que cada aparición de



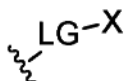
- 5 R<sup>1</sup> a R<sup>16</sup> es independientemente hidrógeno, grupo alquilo de C<sub>1</sub> a C<sub>20</sub>, grupo halo, grupo hidroxilo, grupo nitro, grupo ácido carboxílico, grupo éster, grupo amida, grupo éter, grupo carbocíclico de C<sub>3</sub> a C<sub>20</sub>, o grupo heterocíclico de C<sub>1</sub> a C<sub>20</sub>, con la condición de que al menos uno de R<sup>1</sup> a R<sup>16</sup> en el compuesto tenga la siguiente estructura:



10

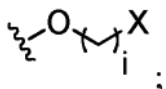
en la que LG es un grupo de unión y X es el grupo solubilizante; y en la que opcionalmente, uno o más grupos R<sup>1</sup> a R<sup>16</sup> adyacentes se conectan formando un anillo carbocíclico o heterocíclico.

- 15 3. La composición para el uso de la reivindicación 2, en la que



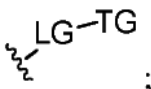
tiene la siguiente estructura:

20



en la que cada uno de i es de 1 a 20.

- 25 4. La composición para el uso de la reivindicación 2, en la que al menos uno de los grupos R<sup>1</sup> a R<sup>16</sup> en la estructura tiene la siguiente estructura:



- 30 y en la que LG es un grupo de unión, y en la que TG es un grupo diana seleccionado entre dendrones, dendrímeros, péptidos, polipéptidos, folatos, amidinas, anticuerpos, proteínas, esteroides y mono u oligosacáridos.

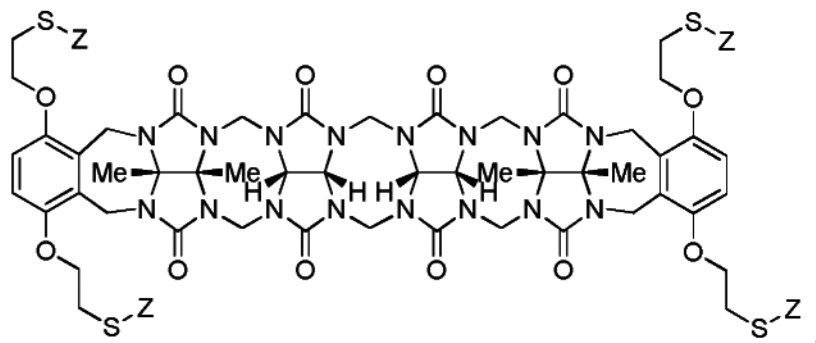
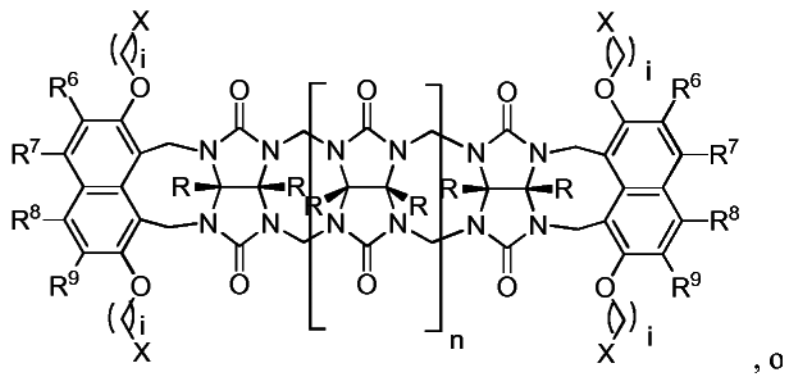
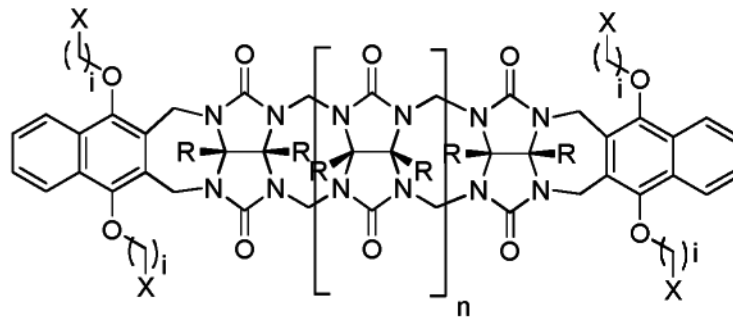
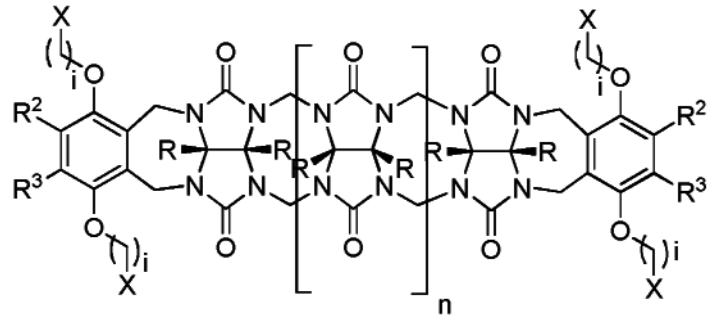
5. La composición para el uso de la reivindicación 2, en la que los grupos



35

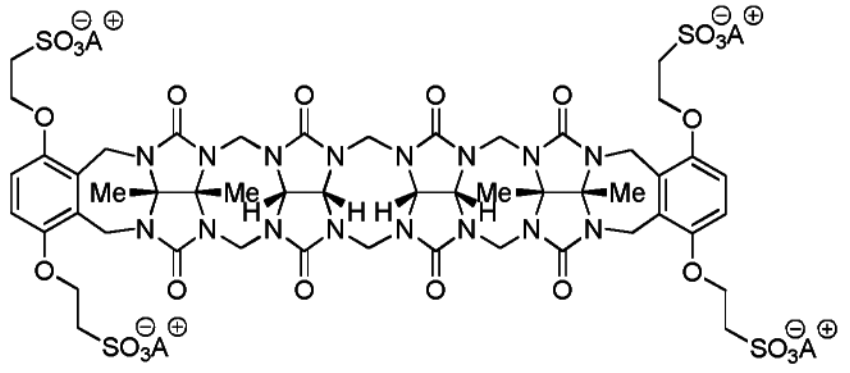
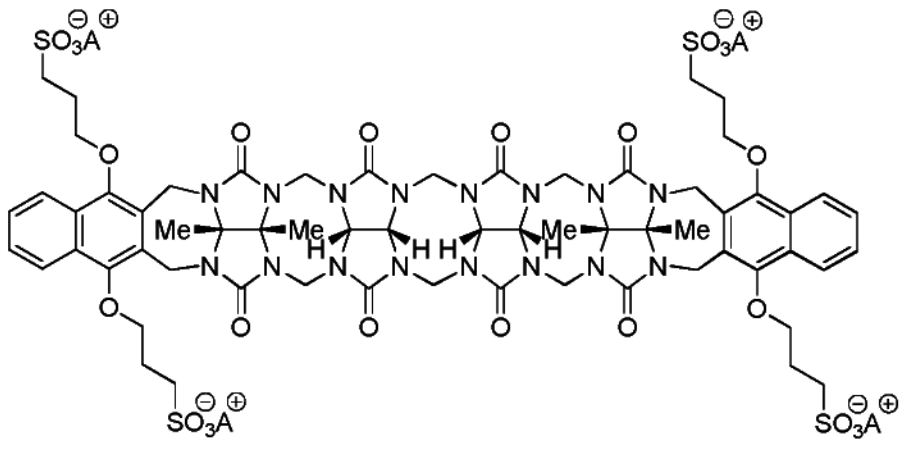
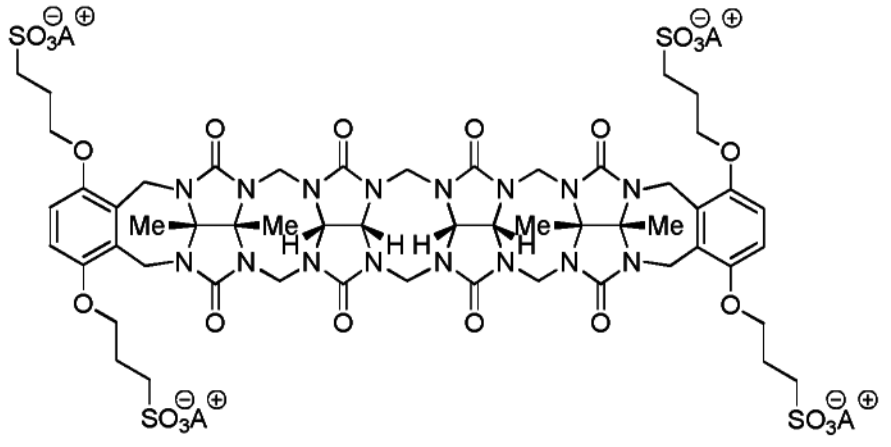
son iguales.

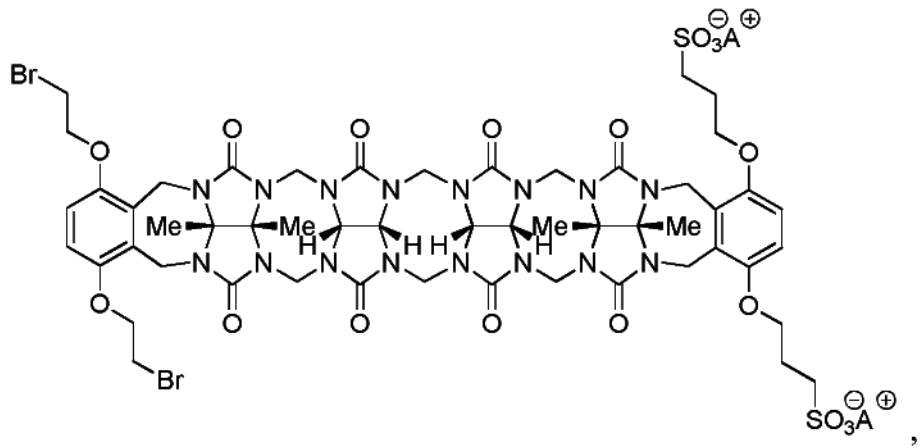
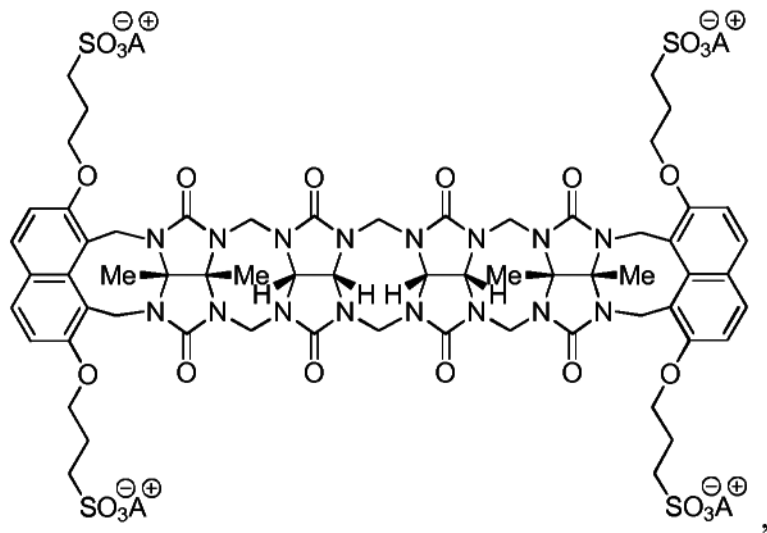
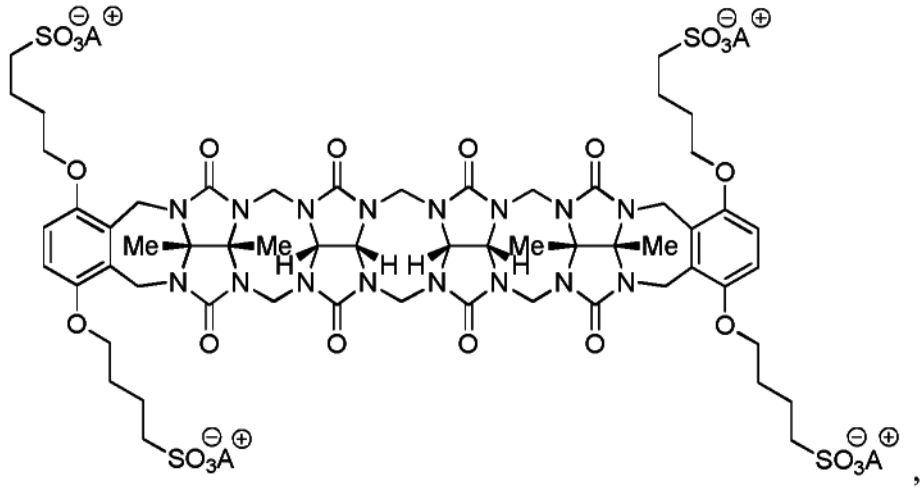
6. La composición para el uso de la reivindicación 2, en la que el compuesto tiene una de las siguientes estructuras:



en las que Z es un grupo PEG que tiene un peso molecular de 200 a 10.000.

7. La composición para el uso de la reivindicación 1, en la que el compuesto tiene una de las siguientes 5 estructuras:





en las que A<sup>+</sup> es H<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, H<sub>4</sub>N<sup>+</sup>, Et<sub>3</sub>NH<sup>+</sup>, Me<sub>4</sub>N<sup>+</sup>, (HOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH<sup>+</sup>, o una forma catiónica de etilendiamina, piperazina y trishidroximetil aminometano (TRIS).

- 5 8. La composición para el uso de la reivindicación 1, en la que el compuesto es una sal, una sal parcial, un hidrato, un polimorfo o una mezcla de los mismos, y un estereoisómero y todas las mezclas de los mismos.
9. La composición para el uso de la reivindicación 1, en la que el individuo se encuentra en necesidad de la inversión del bloqueo neuromuscular inducido por fármacos.
- 10 10. La composición para el uso de la reivindicación 1, en la que el individuo está en necesidad de una inversión de la anestesia.
11. La composición para el uso de la reivindicación 1, en la que el individuo está en necesidad de una  
15 inversión del bloqueo neuromuscular inducido por fármacos y una anestesia.
12. La composición para el uso de la reivindicación 1, en la que el individuo en necesidad es un ser humano.
- 20 13. La composición para el uso de la reivindicación 1, en la que el individuo en necesidad es un mamífero no humano.

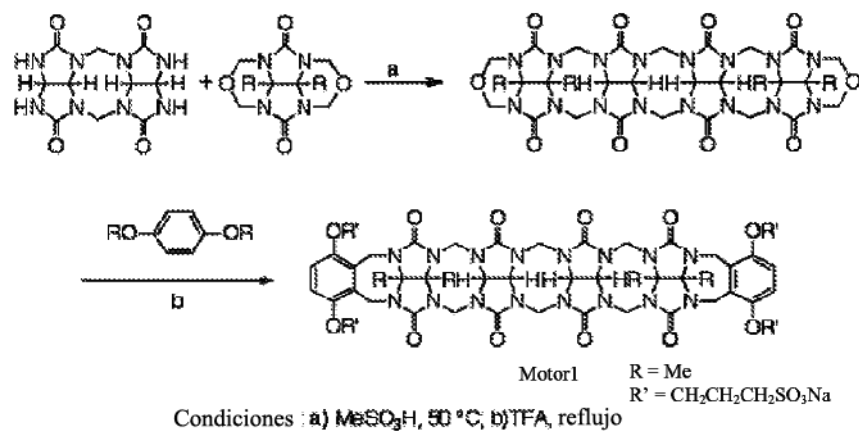


Figura 1

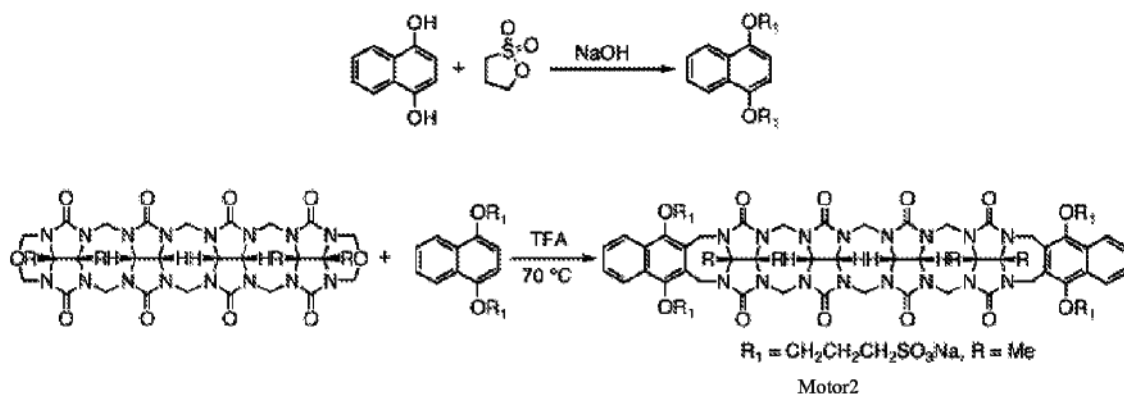


Figura 2

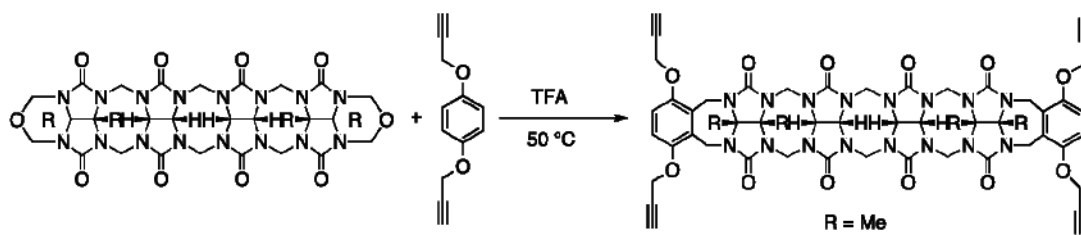


Figura 3

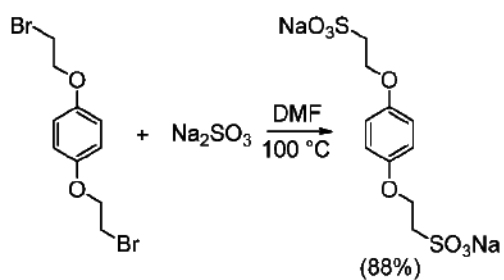


Figura 4

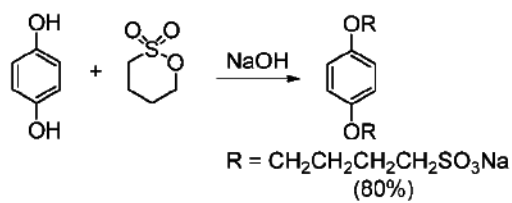


Figura 5

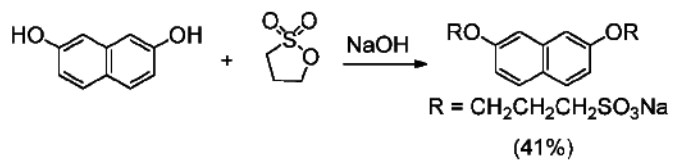


Figura 6



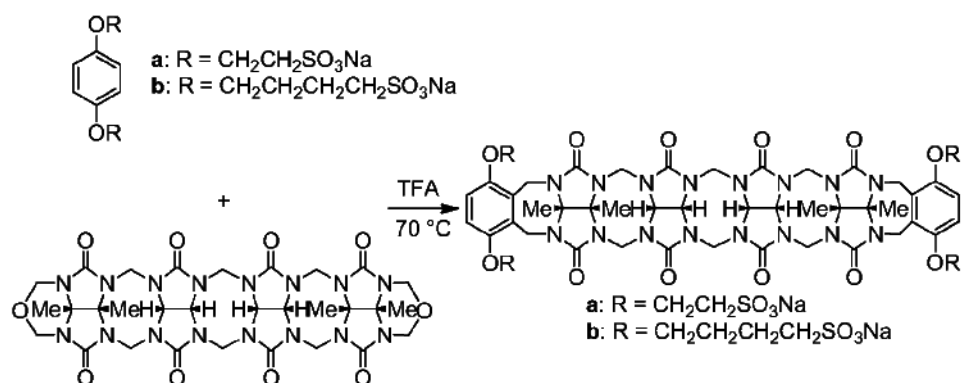


Figura 7

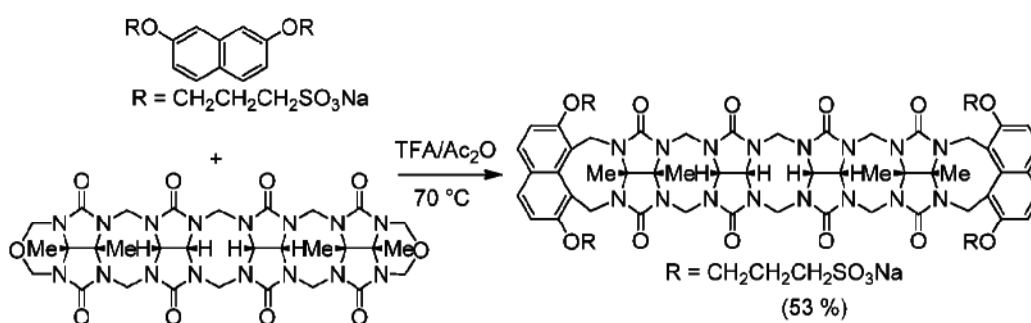


Figura 8

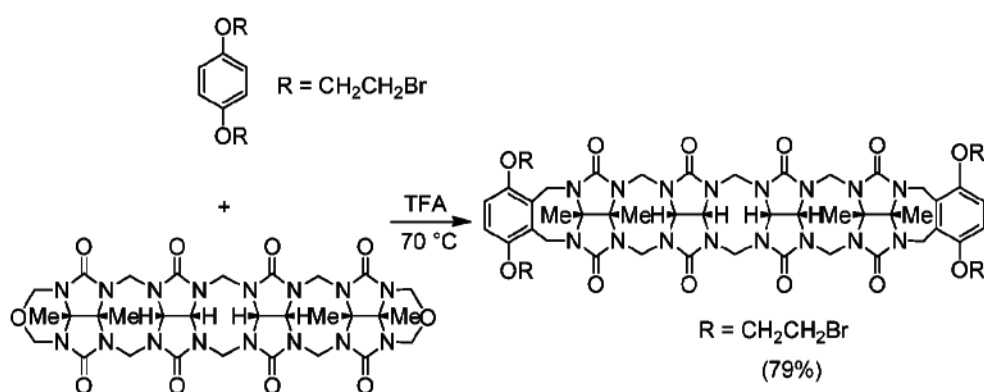


Figura 9

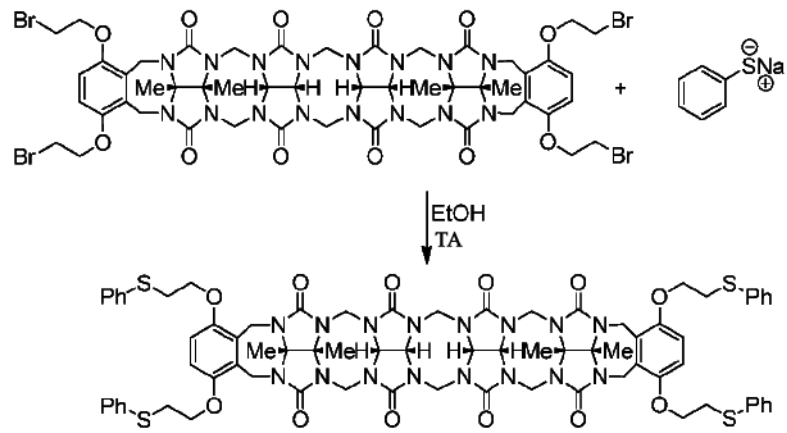


Figura 10

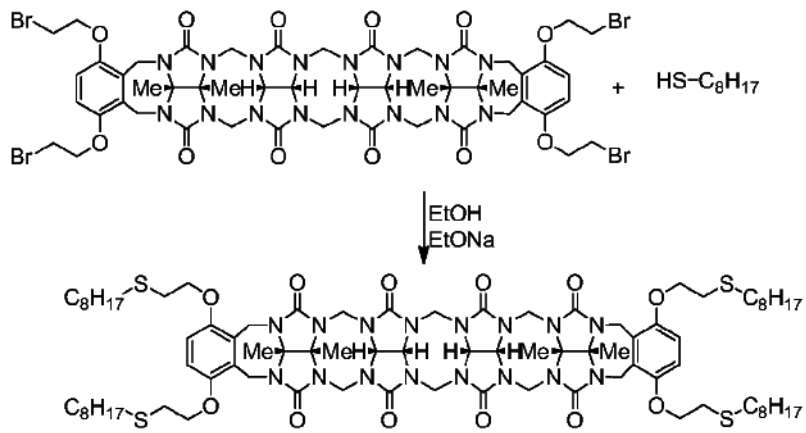


Figura 11

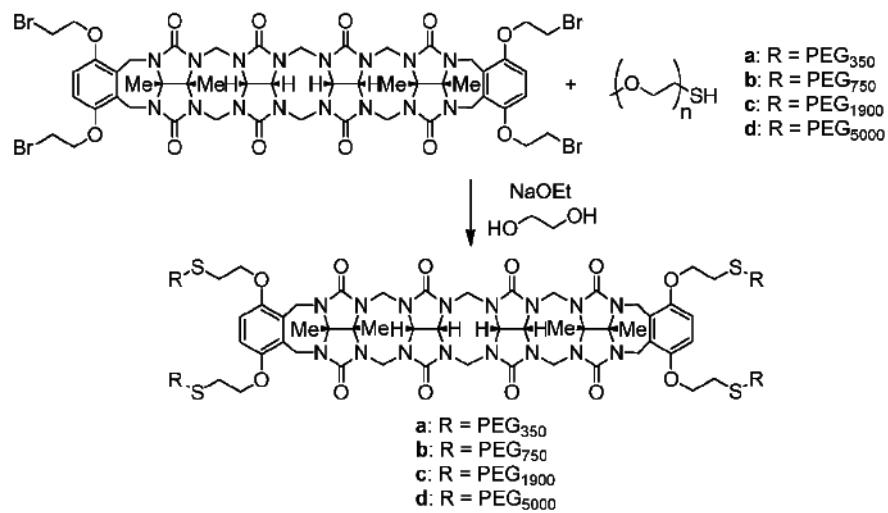


Figura 12

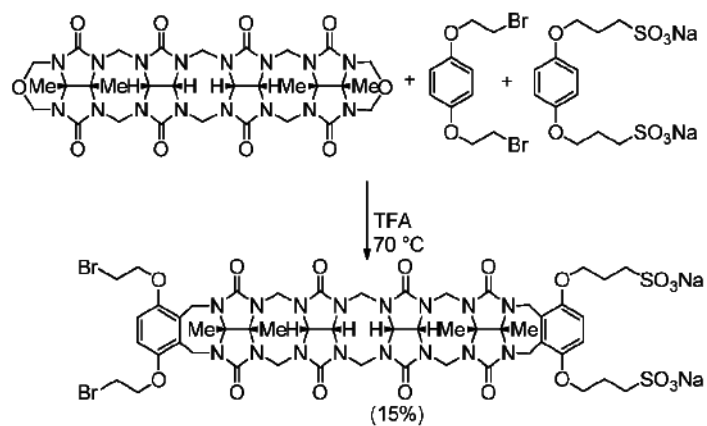


Figura 13

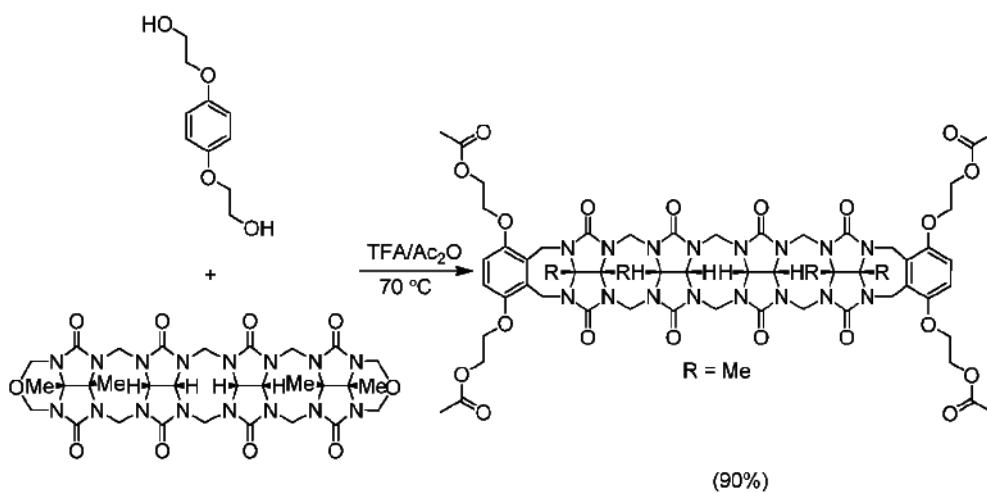


Figura 14

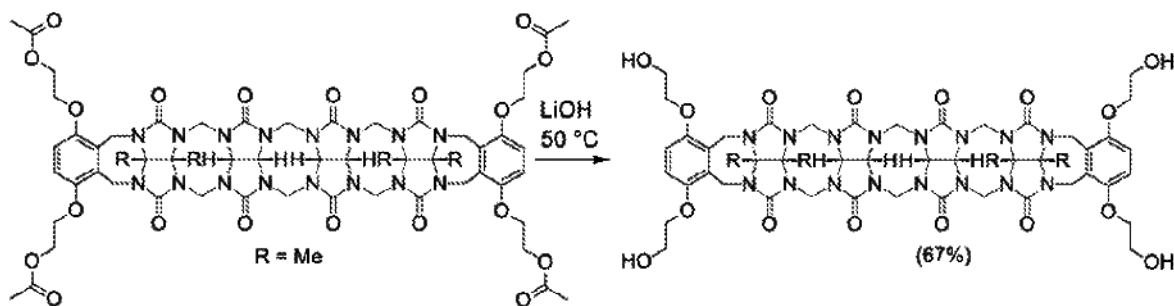


Figura 15

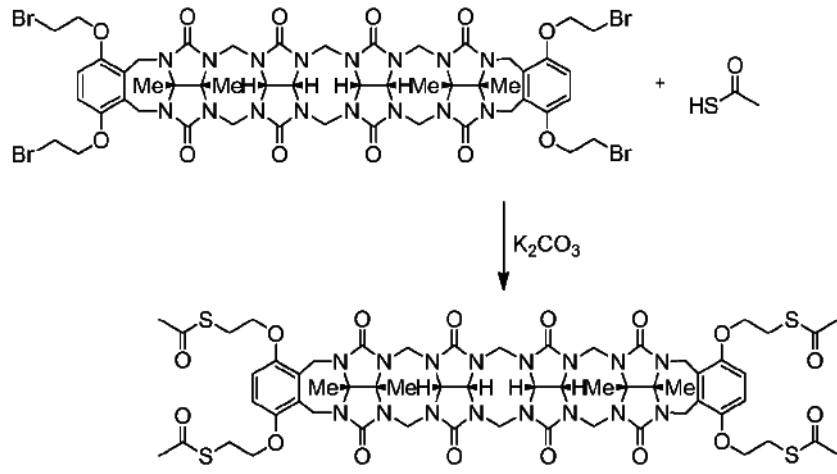


Figura 16

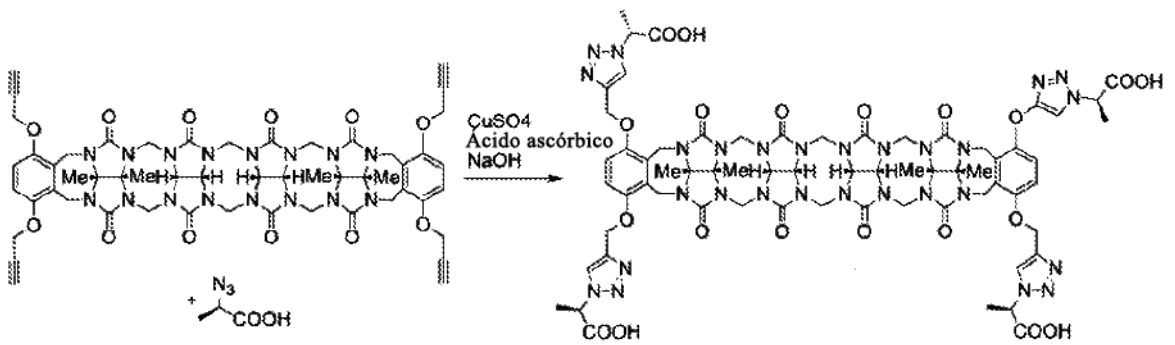
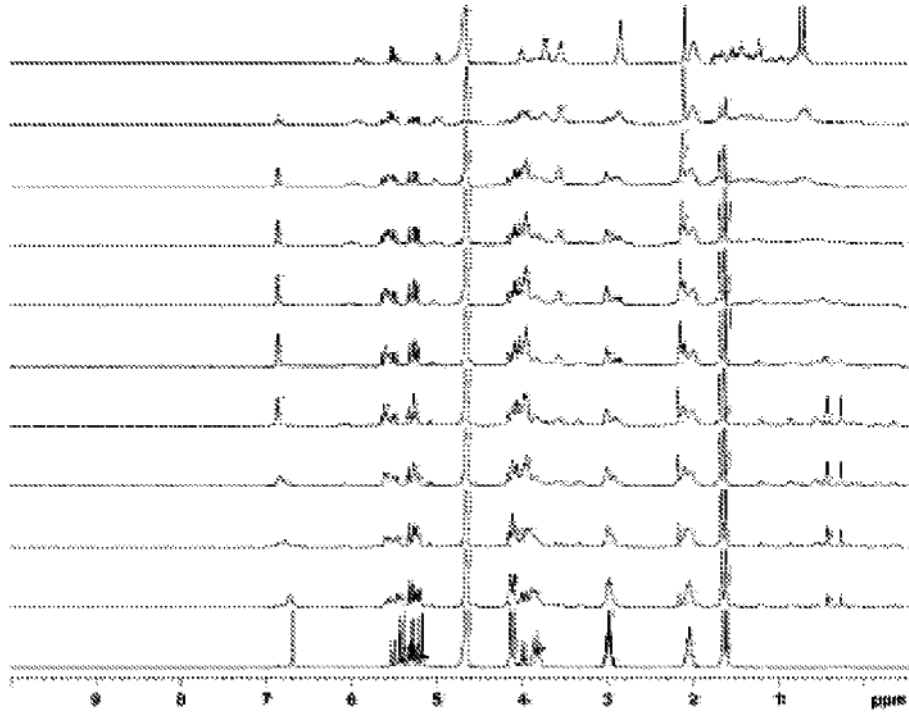


Figura 17

(A)



(B)

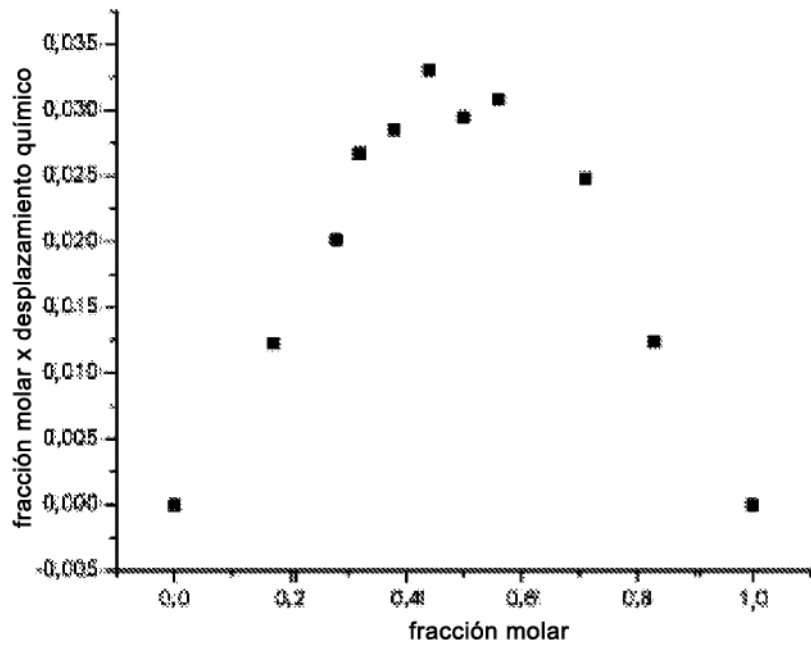


Figura 18

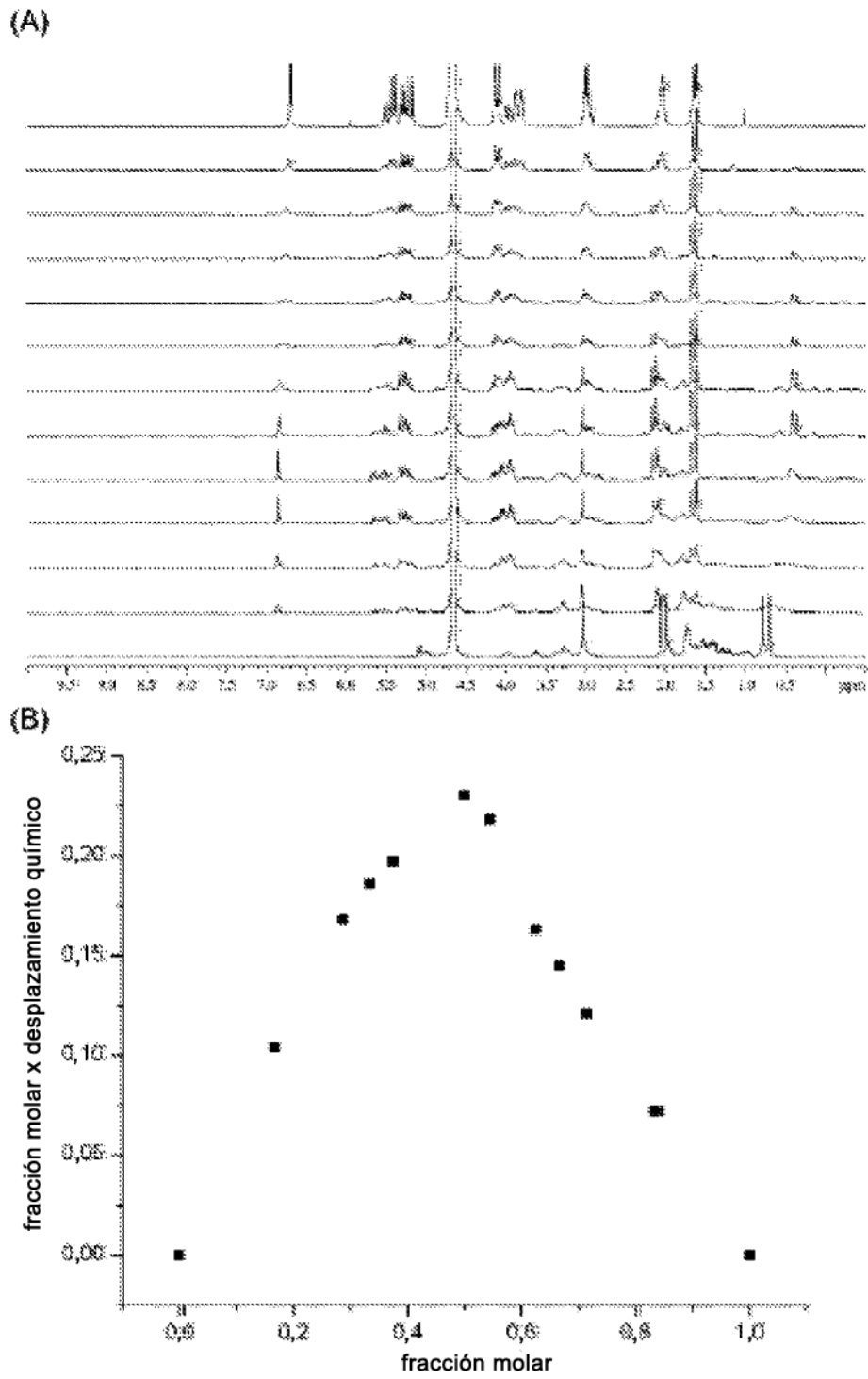


Figura 19

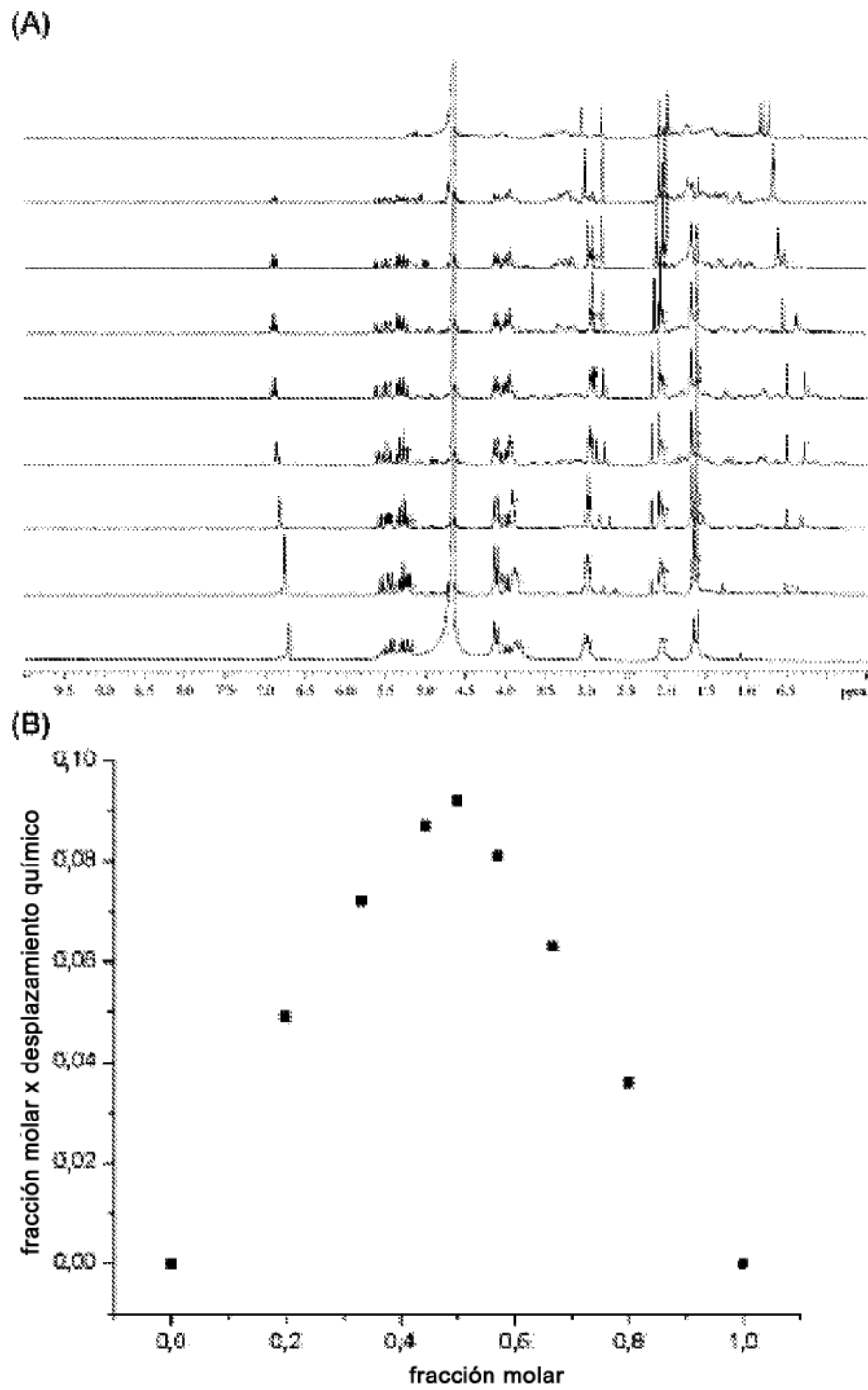


Figura 20



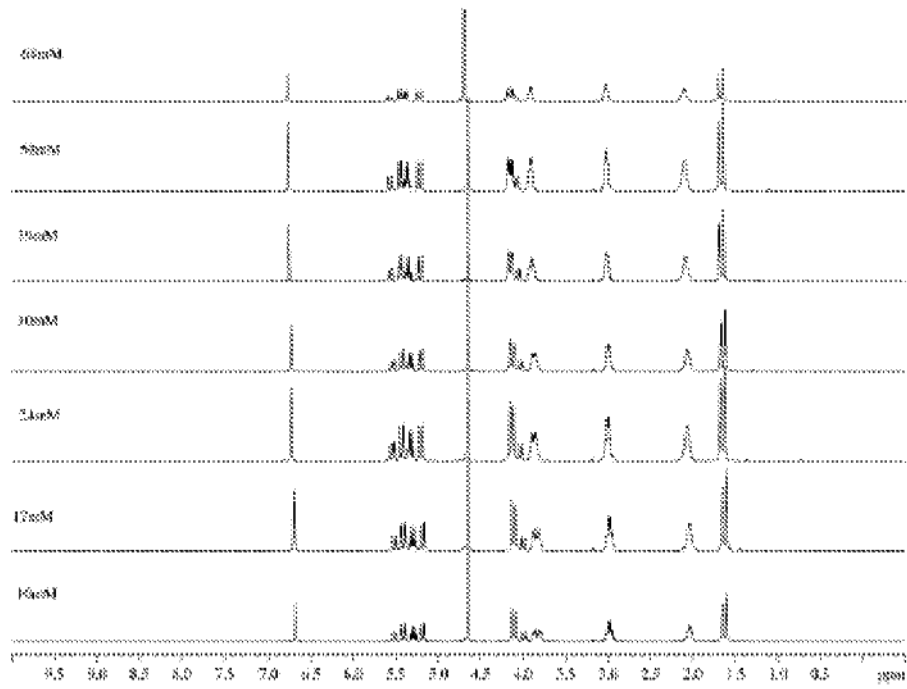


Figura 21

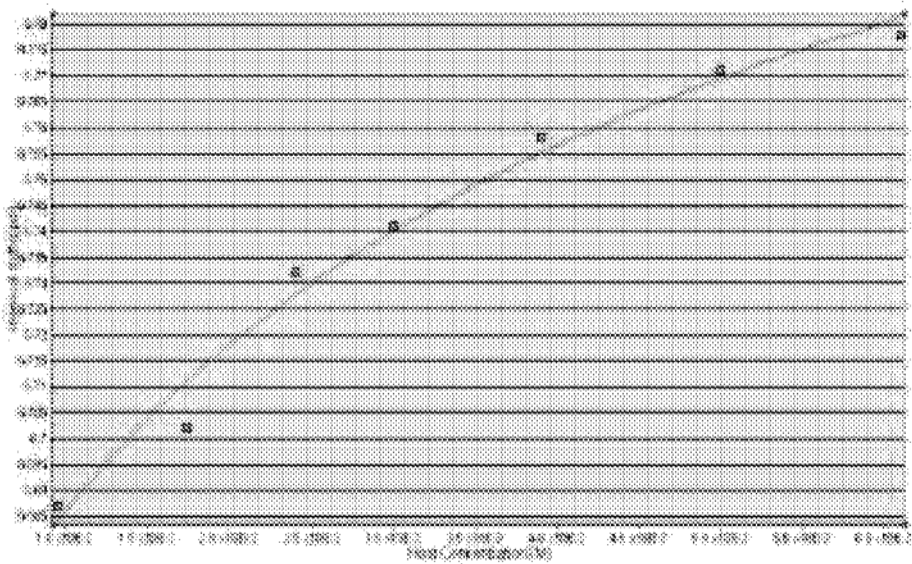


Figura 22

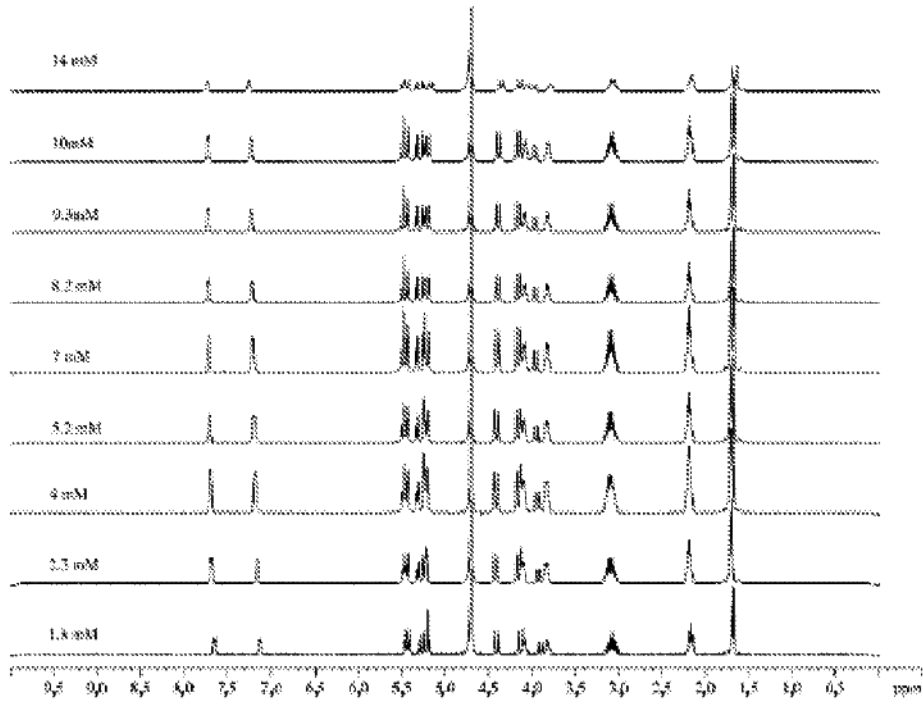


Figura 23

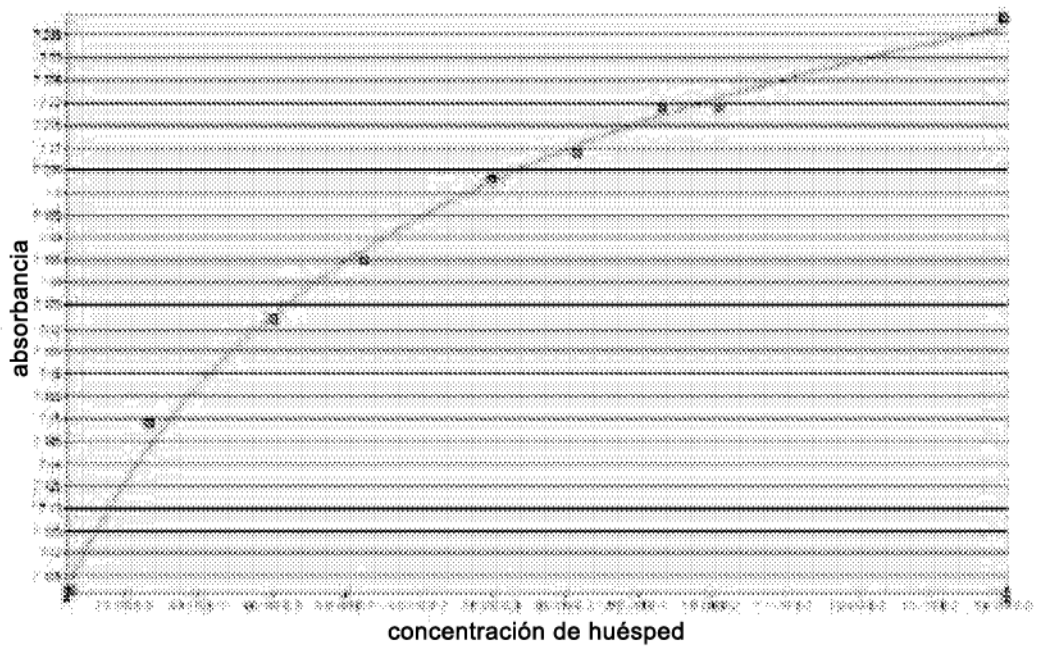


Figura 24

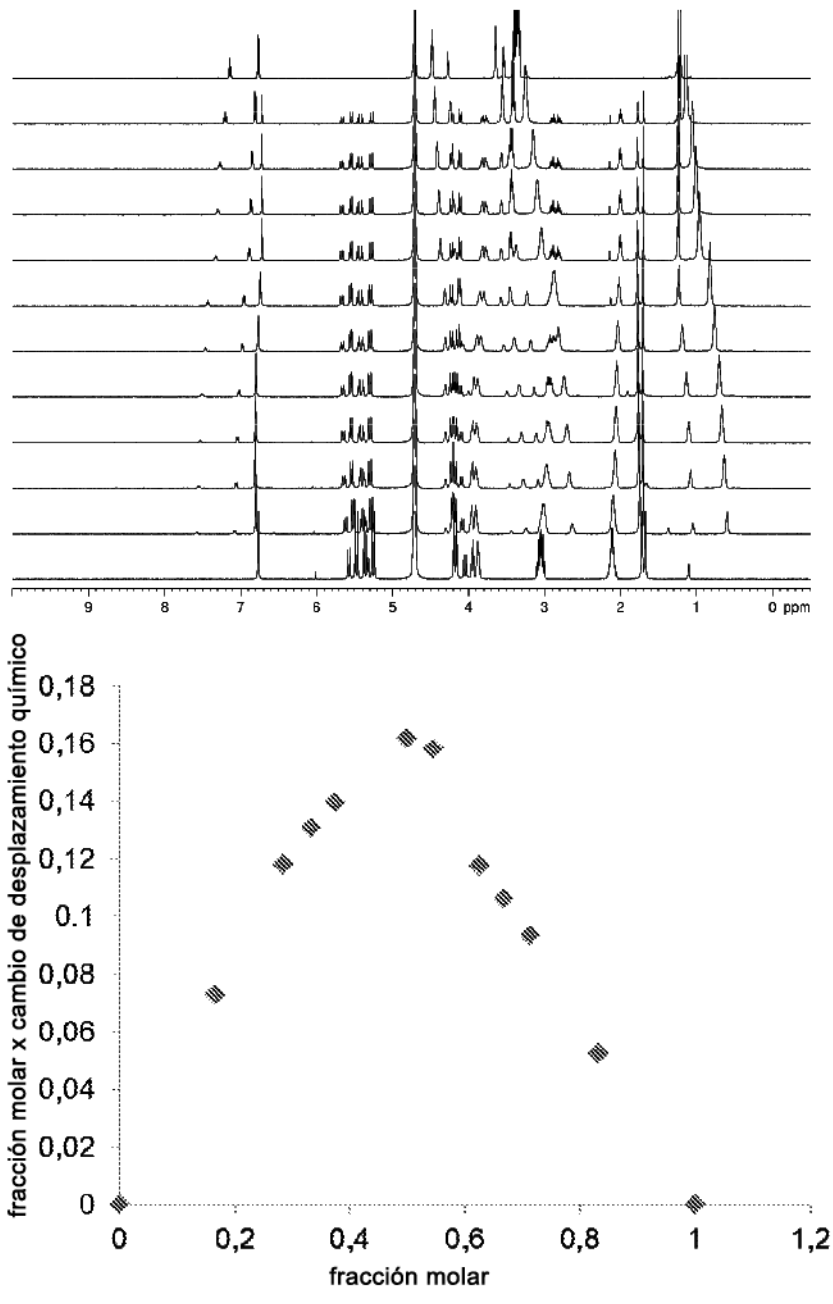


Figura 25

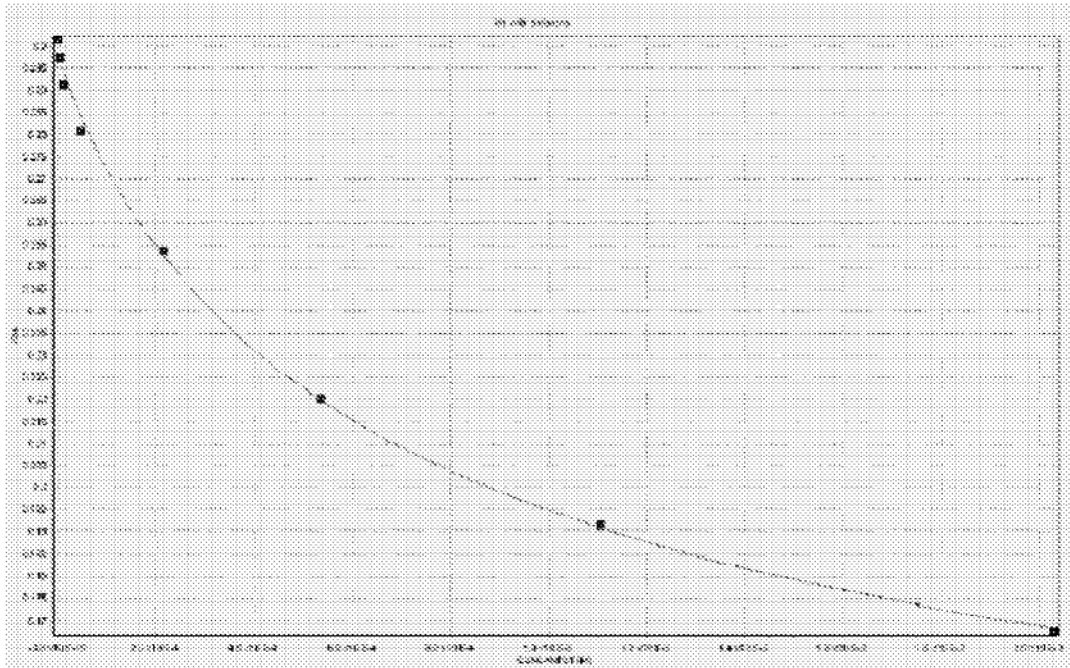


Figura 26

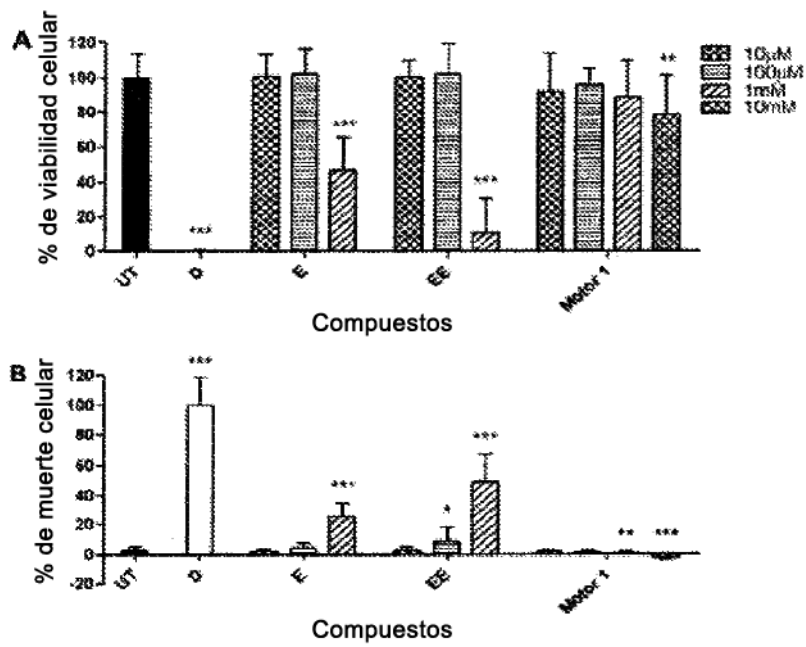


Figura 27

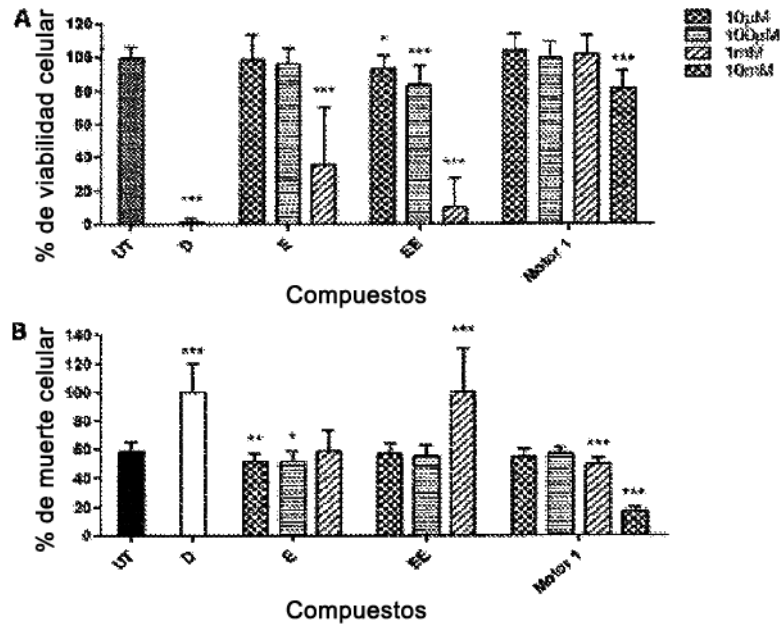


Figura 28

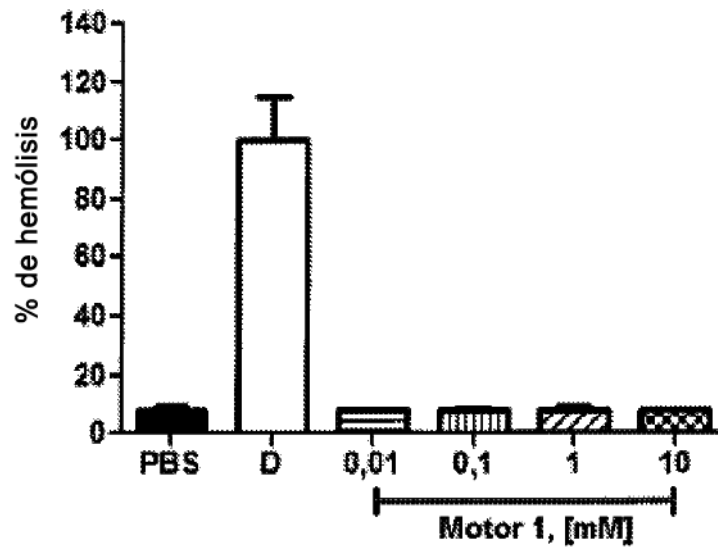


Figura 29

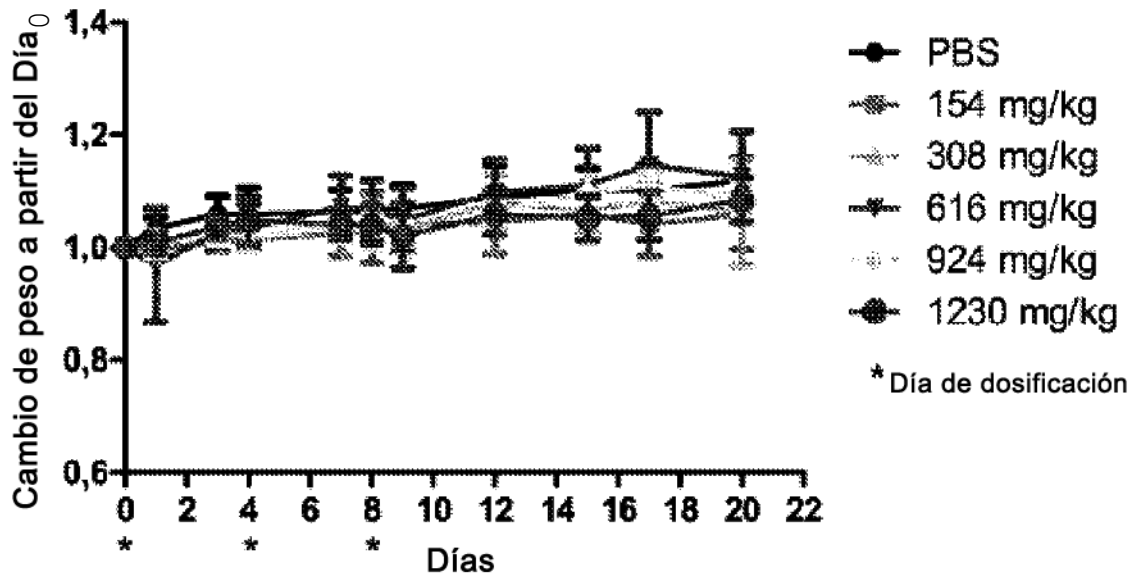


Figura 30

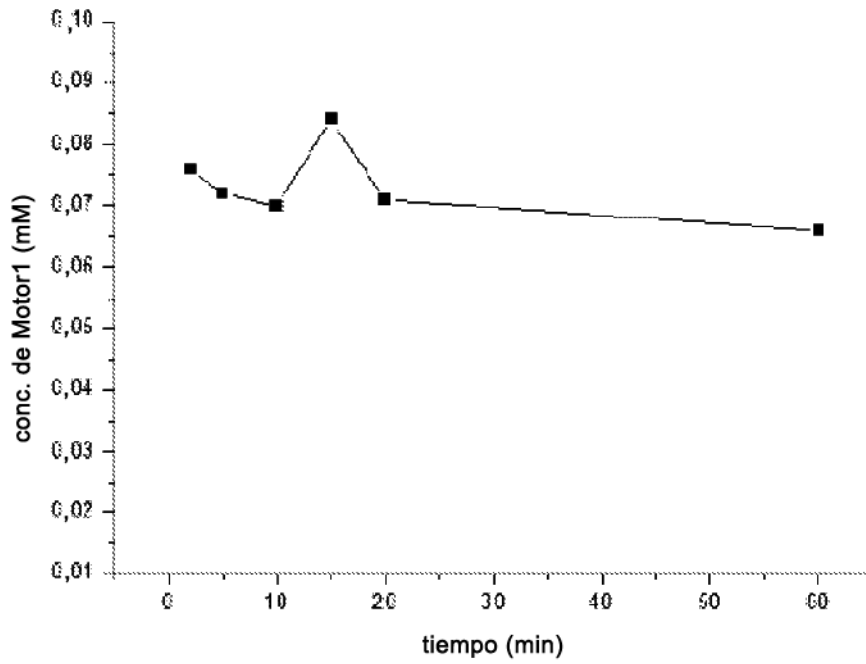


Figura 31

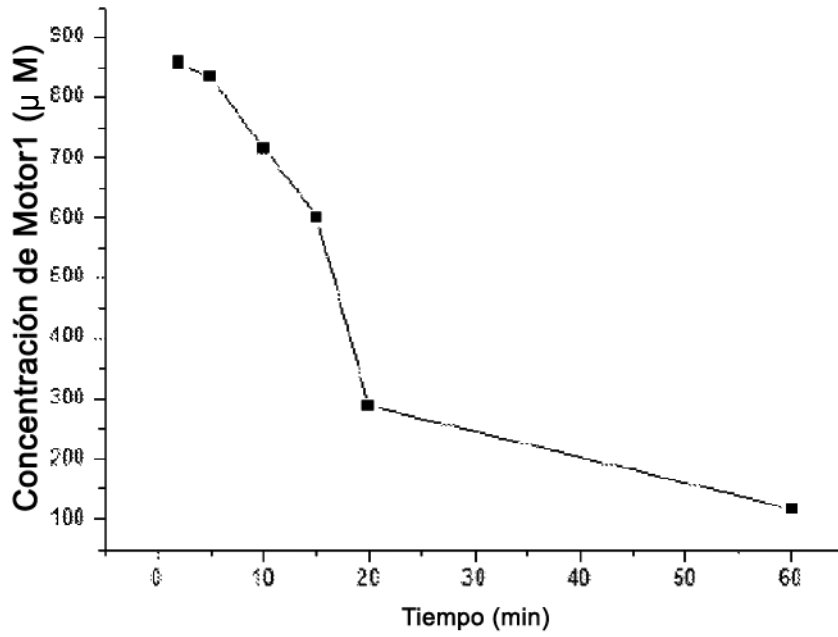


Figura 32

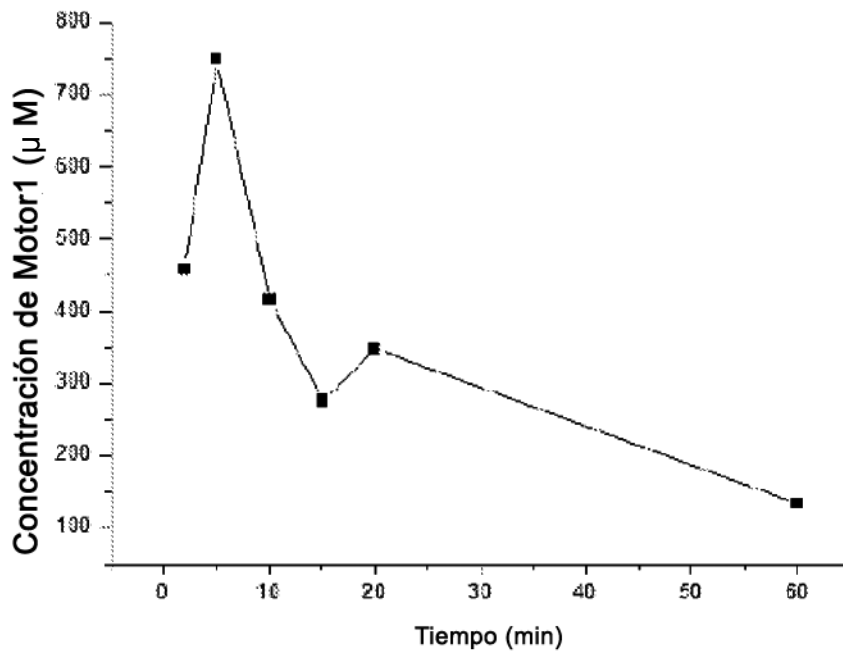


Figura 33

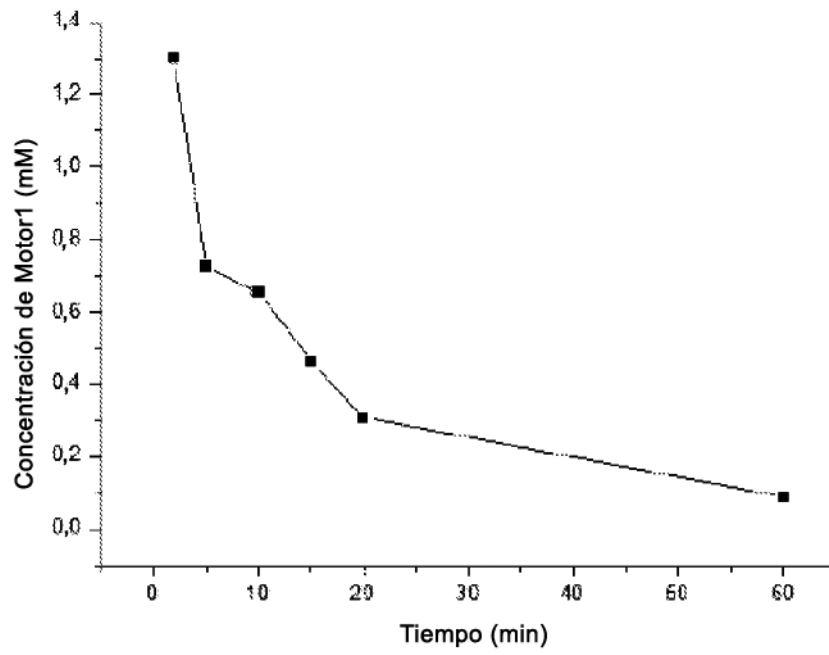


Figura 34



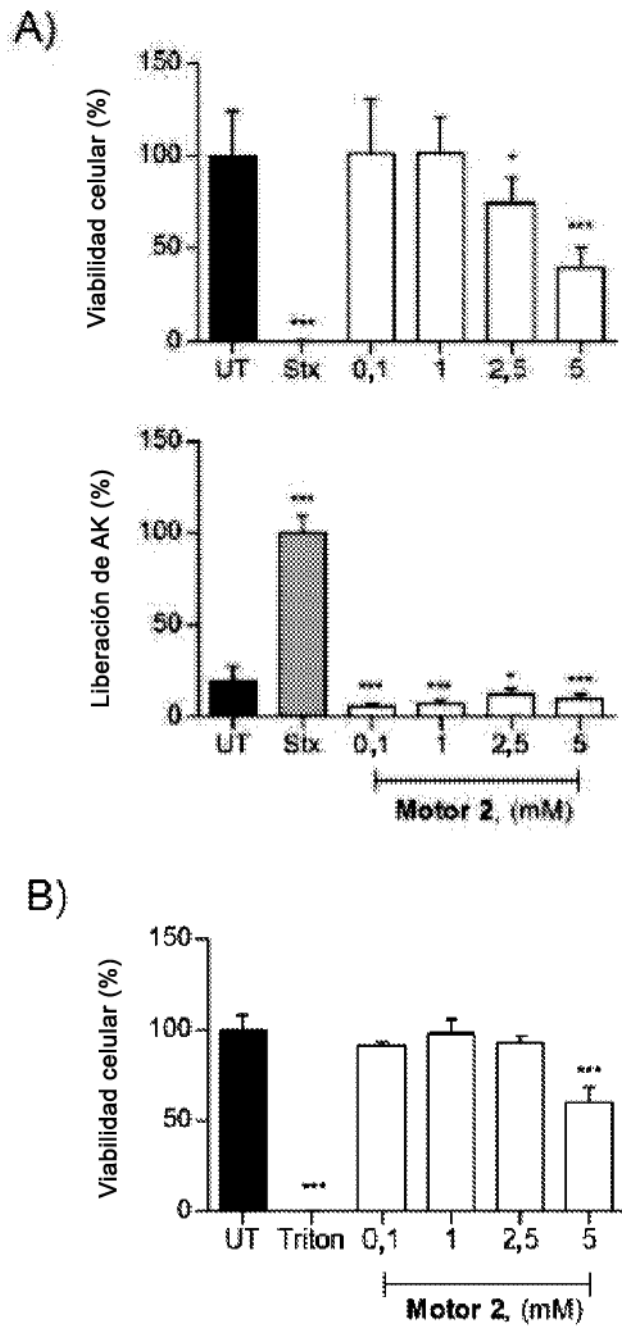


Figura 35

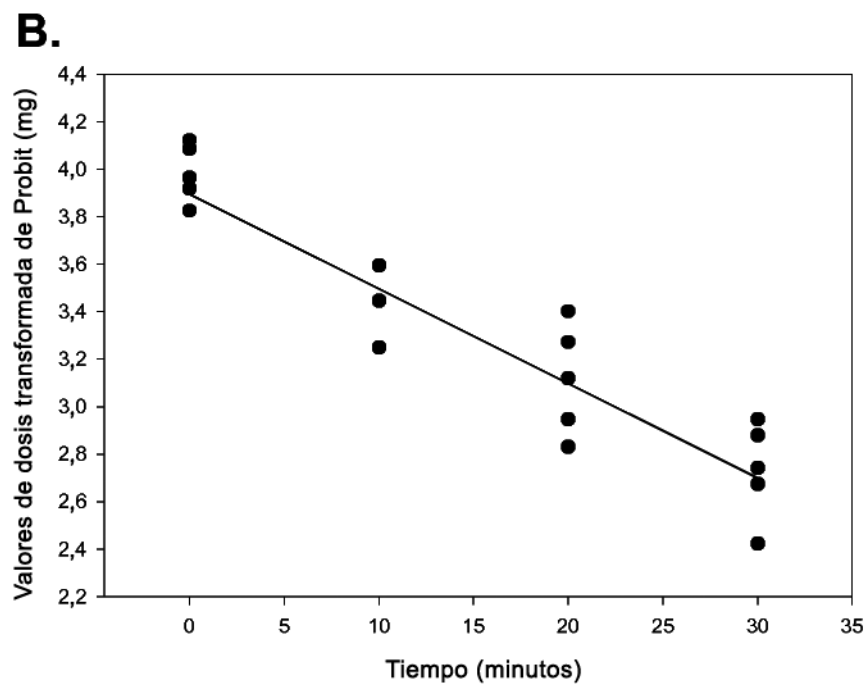
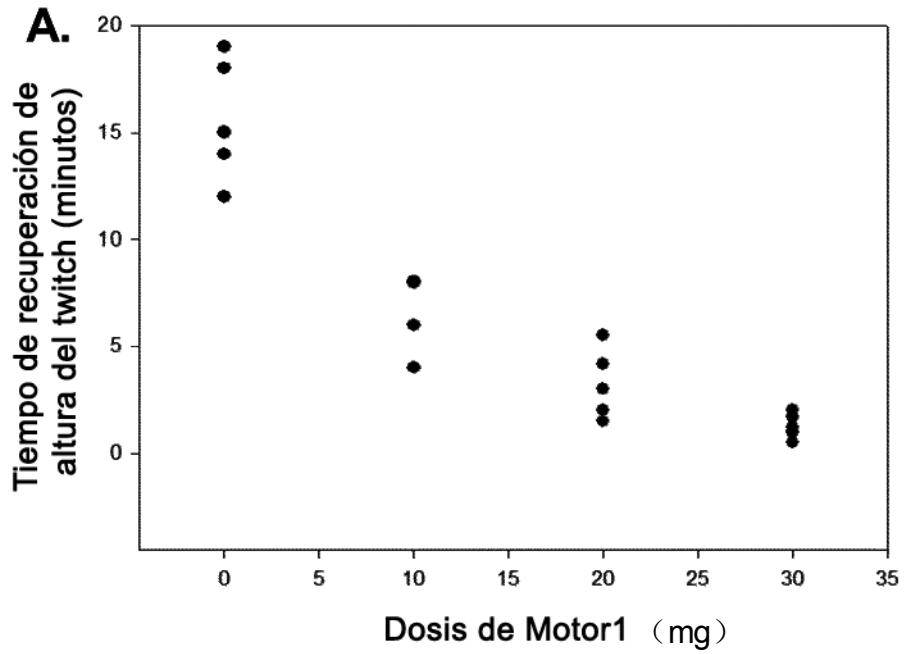


Figura 36

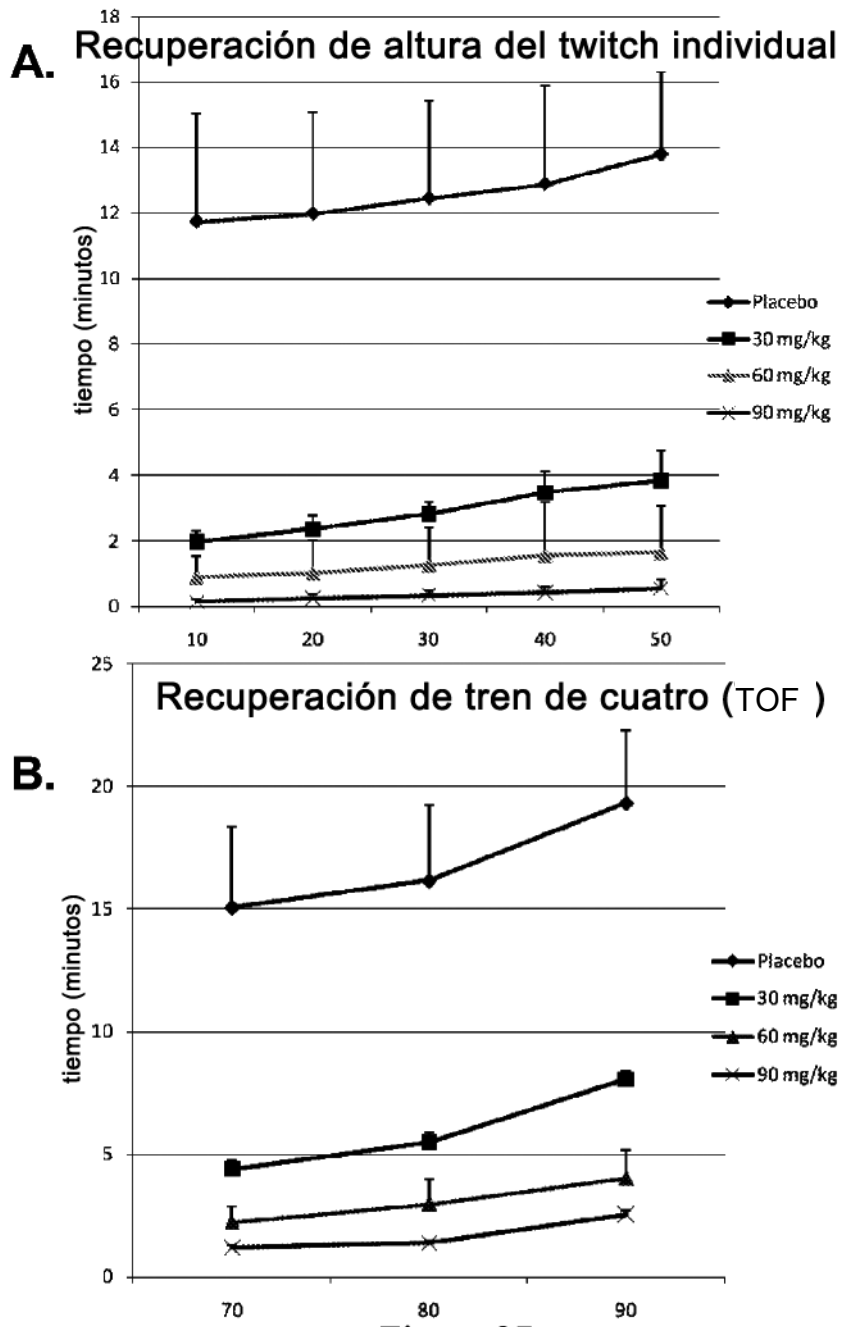


Figura 37

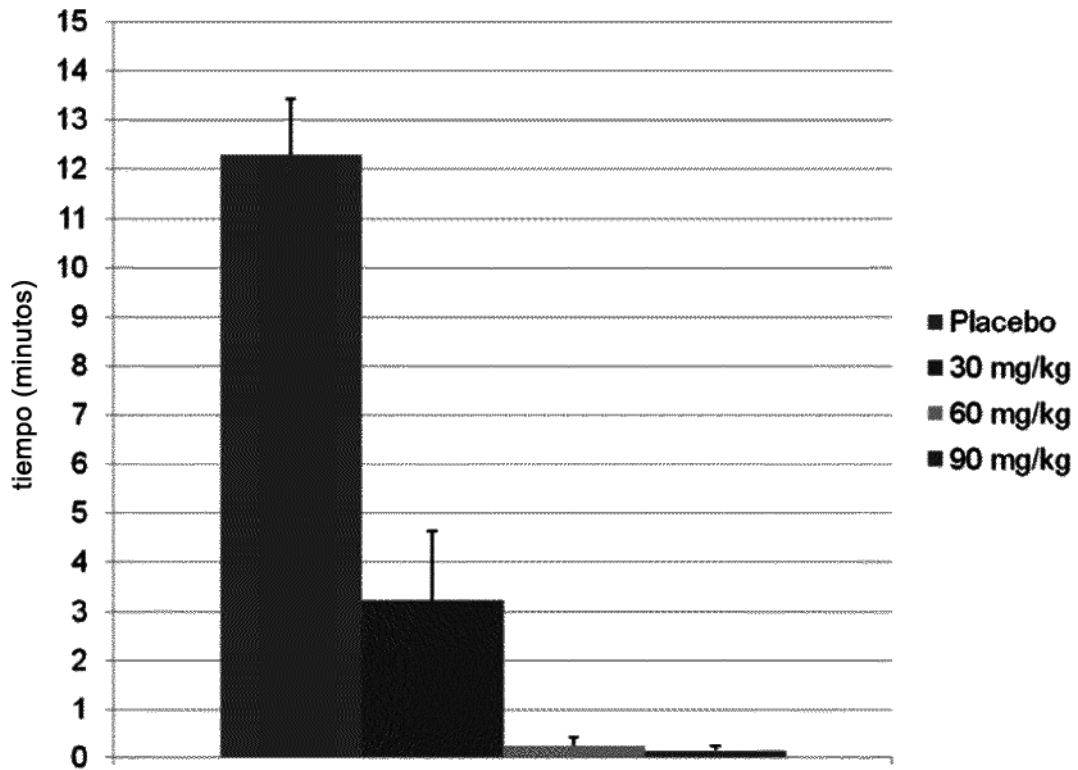


Figura 38

Fármaco	Antes de Motor1			30 min después de Motor1			N
	pH	pCO <sub>2</sub> (mmHg)	pO <sub>2</sub> (mmHg)	pH	pCO <sub>2</sub> (mmHg)	pO <sub>2</sub> (mmHg)	
Placebo	7,42 ± 0,02	42 ± 6	176 ± 20	7,42 ± 0,04	41 ± 3	171 ± 27	5
Motor1 30 mg/kg <sup>-1</sup>	7,42 ± 0,03	42 ± 3	185 ± 40	7,42 ± 0,03	39 ± 2	179 ± 42	5
Motor1 60 mg/kg <sup>-1</sup>	7,43 ± 0,03	44 ± 6	147 ± 6	7,43 ± 0,02	40 ± 6	176 ± 76	5
Motor1 90 mg/kg <sup>-1</sup>	7,42 ± 0,01	43 ± 2	176 ± 29	7,41 ± 0,01	41 ± 2	187 ± 21	5

Figura 39

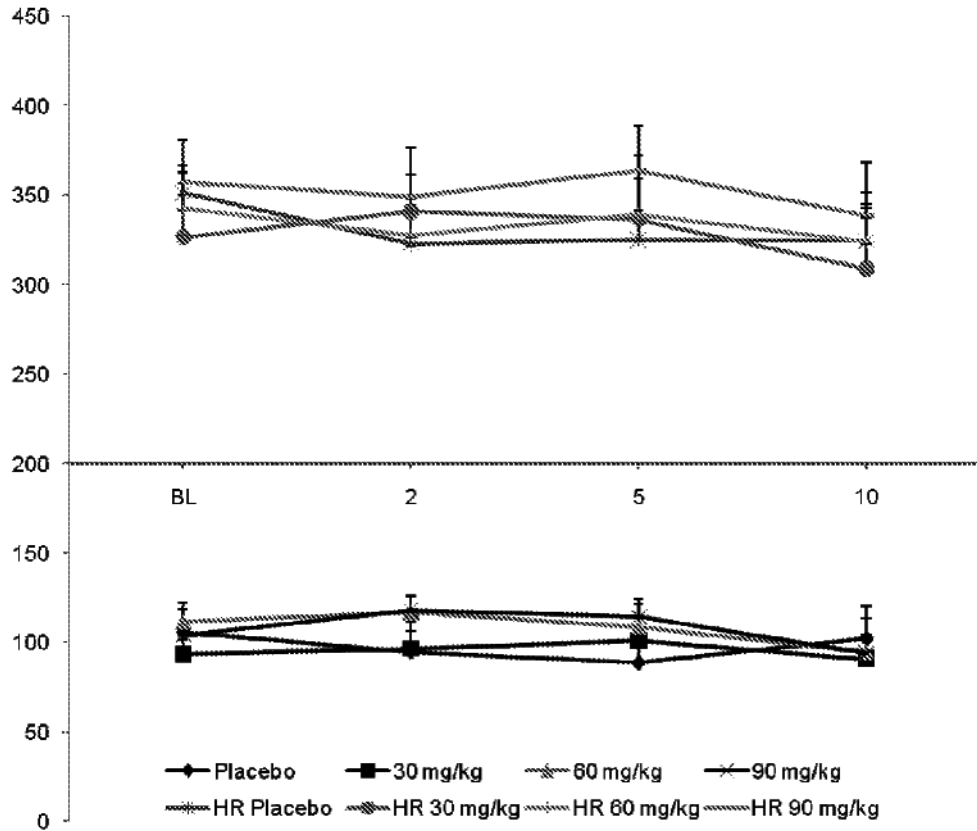


Figura 40

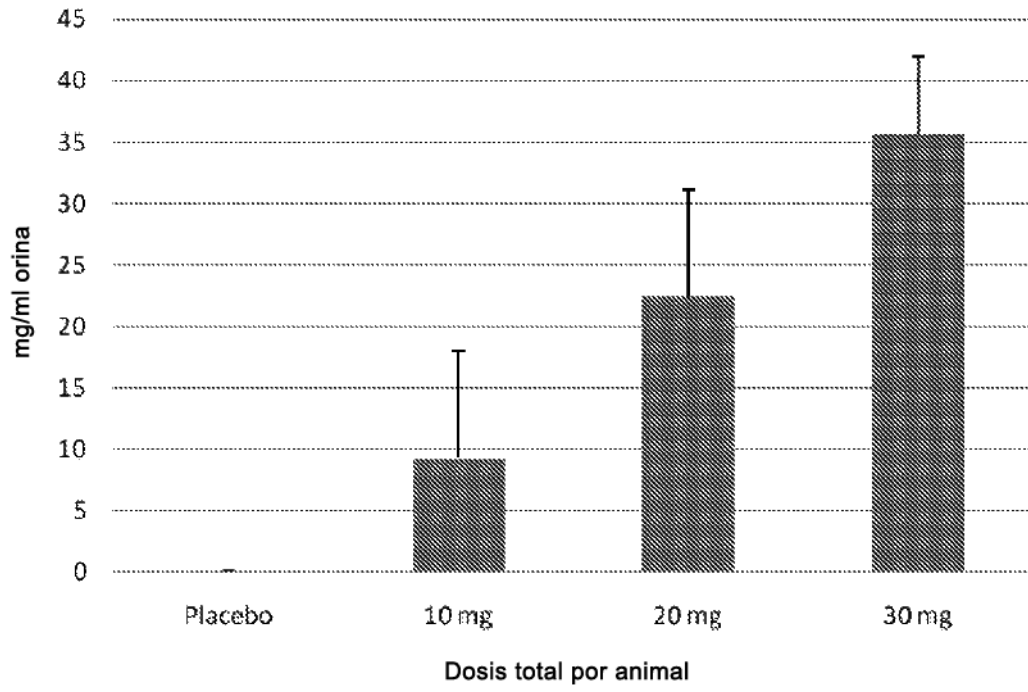


Figura 41

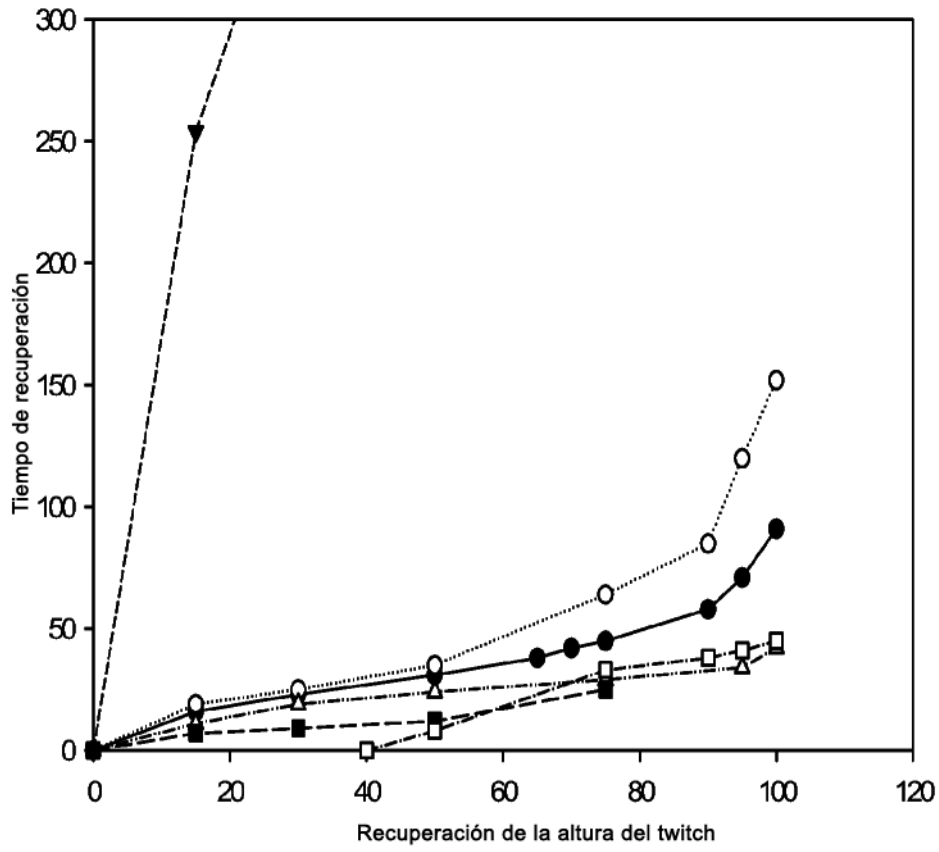


Figura 42

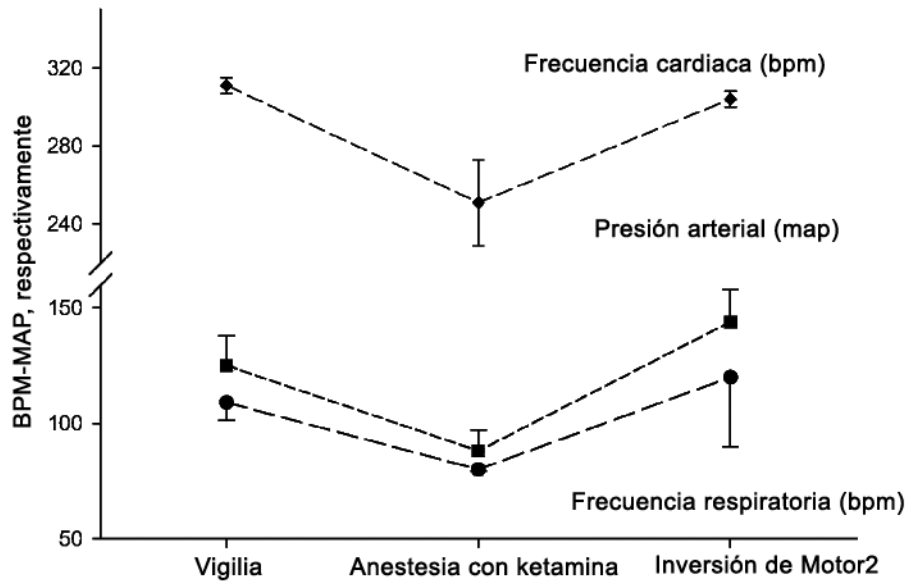


Figura 43

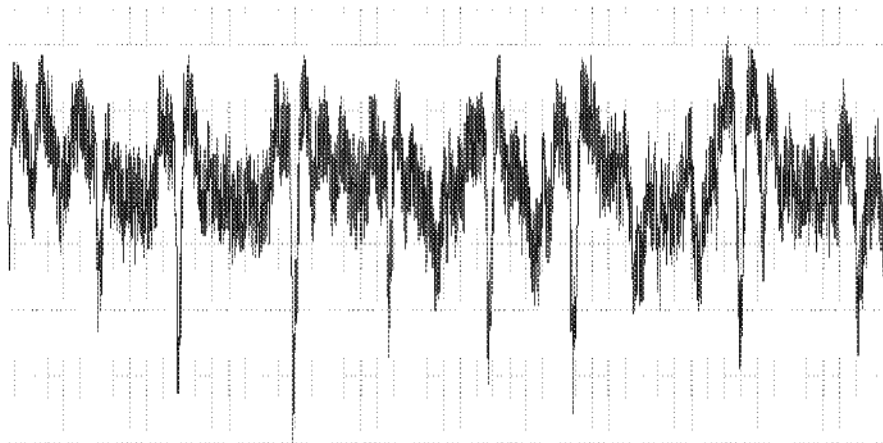


Figura 44



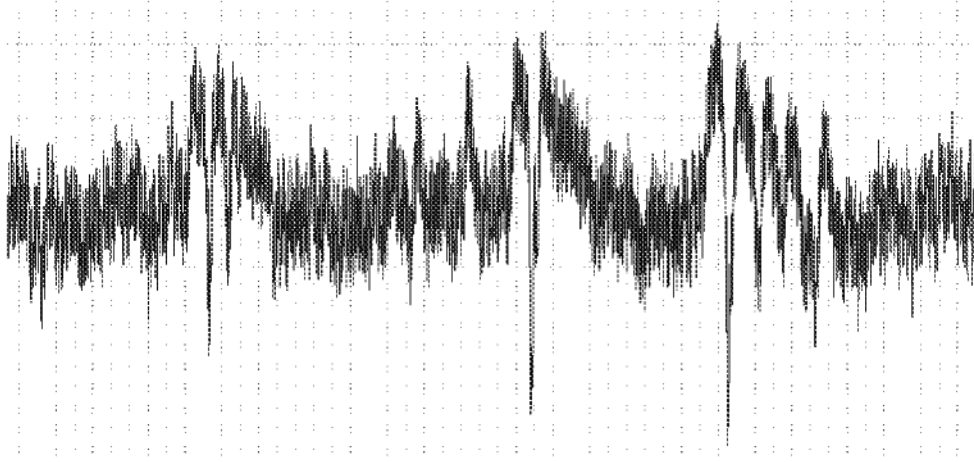


Figura 45