

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 770 362**

51 Int. Cl.:

A61K 31/165 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.09.2010** **PCT/IB2010/002247**

87 Fecha y número de publicación internacional: **17.03.2011** **WO11030205**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.09.2010** **E 10759717 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.11.2019** **EP 2475361**

54 Título: **Bencenopropanamida N-sustituída para su uso en el tratamiento del dolor y la inflamación**

30 Prioridad:

09.09.2009 US 240839 P

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

01.07.2020

73 Titular/es:

NOVAREMED LTD. (100.0%)

9 Bareket St., POB 7018

4917001 Petah Tiqwa, IL

72 Inventor/es:

KAPLAN, ELIAHU

74 Agente/Representante:

SUGRAÑES MOLINÉ, Pedro

ES 2 770 362 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Bencenopropanamida N-sustituida para su uso en el tratamiento del dolor y la inflamación

- 5 La presente invención se refiere al tratamiento o la profilaxis del dolor y proporciona el uso de determinados compuestos en la fabricación de medicamentos para el tratamiento o la profilaxis del dolor en seres humanos y animales no humanos.
- 10 El dolor es una respuesta empírica polifacética y multidimensional frente a una variedad de estados de estímulo. La IASP (*International Association for the Study of Pain*, Asociación Internacional para el Estudio del Dolor) define el dolor como “una experiencia sensitiva y emocional desagradable asociada con daño tisular real o potencial, o descrito en función de tal daño”.
- 15 El dolor en animales es frecuentemente el resultado de nocicepción, es decir, actividad en el sistema nervioso que resulta de la estimulación de nociceptores. El dolor neuropático se diferencia del dolor nociceptivo en que éste implica daño al nervio dando como resultado sensación de dolor. En el dolor central, el dolor se genera en el cerebro a partir de alguna forma de lesión. Ocasionalmente, el dolor puede ser psicogénico, es decir, producido por enfermedad mental.
- 20 El dolor puede ser agudo o crónico. El dolor agudo se produce habitualmente por daño, infección y/o inflamación de tejido blando entre otras causas. El dolor agudo sirve para alertar tras una lesión o disfunción del organismo. El dolor crónico puede no tener causa evidente o puede producirse por una enfermedad o desequilibrio en desarrollo. El dolor crónico se define como la enfermedad del dolor; su origen, duración, intensidad y síntomas específicos pueden variar.
- 25 La experiencia de dolor fisiológico puede agruparse según el origen y los nociceptores relacionados. El dolor cutáneo se produce por lesión a la piel o tejidos superficiales. Los nociceptores cutáneos terminan justo por debajo de la piel, y debido a la alta concentración de terminaciones nerviosas, producen un dolor localizado bien definido de corta duración. Los ejemplos de lesiones que producen dolor cutáneo incluyen cortes con papel, cortes menores, quemaduras (de primer grado) menores y laceraciones. El dolor somático se origina a partir de ligamentos, tendones, huesos, vasos sanguíneos y nervios. Se detecta con nociceptores somáticos. La escasez de receptores de dolor en estas áreas produce un dolor sordo, mal localizado de mayor duración que el dolor cutáneo; los ejemplos incluyen esguinces y fracturas de huesos. El dolor miofascial se produce habitualmente por puntos desencadenantes en músculos, tendones y fascia y puede ser local o referido. El dolor visceral se origina a partir de las vísceras u
- 30 órganos del organismo. Los nociceptores viscerales están ubicados dentro de los órganos y cavidades internas del organismo. La escasez aún mayor de nociceptores en estas áreas produce un dolor que es habitualmente más intenso y de mayor duración que el dolor somático. El dolor visceral es extremadamente difícil de localizar, y varias lesiones al tejido visceral muestran dolor “referido”, donde la sensación se localiza en un área completamente no relacionada con el sitio de la lesión. El dolor de miembro fantasma, un tipo de dolor referido, es la sensación de dolor de un miembro que se ha perdido o para el que una persona ya no recibe señales físicas. El dolor neuropático puede producirse como resultado de lesión o enfermedad al propio tejido nervioso. Esto puede alterar la capacidad de los nervios sensitivos para transmitir información correcta al tálamo, y por tanto el cerebro interpreta estímulos dolorosos aun cuando no existe causa psicológica desconocida obvia para el dolor.
- 35 40 El dolor agudo se trata habitualmente de manera simultánea con productos farmacéuticos o técnicas apropiadas para eliminar la causa y productos farmacéuticos o técnicas apropiadas para controlar la sensación de dolor, comúnmente analgésicos.
- 45 Los analgésicos se incluyen en tres categorías: analgésicos opioides (narcóticos), analgésicos no opioides y analgésicos adyuvantes. Los analgésicos opioides son analgésicos potentes que están químicamente relacionados con la morfina. Sin embargo, los opioides tienen muchos efectos secundarios, que pueden producirse más probablemente en personas con determinados trastornos: insuficiencia renal, un trastorno del hígado, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), demencia u otro trastorno cerebral. Somnolencia, estreñimiento, náuseas, vómito y picazón son comunes cuando se inicia un tratamiento con opioides. Además de la morfina, los analgésicos opioides conocidos en el momento de redactar este documento incluyen codeína, fentanilo, hidrocodona, hidromorfona, levorfanol, meperidina, metadona, oxicodona, oximorfona, pentazocina y propoxifeno.
- 50 55 También se dispone de una variedad de analgésicos no opioides en el momento de redactar este documento. A menudo son eficaces para el dolor de leve a moderado. La mayoría de los analgésicos no opioides se clasifican como fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE). Un ejemplo de un analgésico que no es un AINE es el acetaminofeno, que se conoce comúnmente como paracetamol. El acetaminofeno no tiene sustancialmente propiedades antiinflamatorias.
- 60 65 Los AINE se usan para tratar dolor de leve a moderado y pueden combinarse con opioides para tratar dolor de moderado a intenso. Los AINE no sólo alivian el dolor, sino que también reducen la inflamación que a menudo acompaña y empeora el dolor. Aunque se usan ampliamente, los AINE también pueden tener efectos secundarios,

algunas veces graves, incluyendo problemas en el tracto digestivo, problemas de hemorragias, problemas relacionados con retención de fluidos y aumento del riesgo de trastornos del corazón y de vaso sanguíneo. Los AINE actuales incluyen aspirina, ibuprofeno, ketoprofeno, naproxeno, inhibidores de cox-2 tales como celecoxib, trisalicilato de colina y magnesio, diflunisal, salsalato, diclofenaco, etodolaco, fenoprofeno, flurbiprofeno, indometacina, ketorolaco, meclofenamato, ácido mefenámico, meloxicam, nabumetona, oxaprozina, piroxicam, sulindaco y tolmetina.

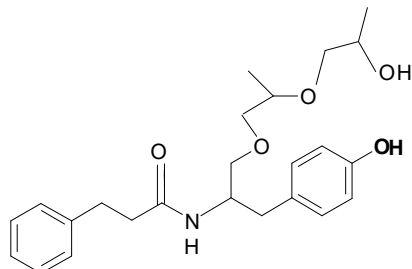
Los analgésicos adyuvantes incluyen antidepresivos tales como, por ejemplo, imipramina, amitriptilina, bupropión, desipramina, fluoxetina y venlafaxina; anticonvulsivos (tales como carbamazepina, gabapentina y pregabalina) y anestésicos locales orales y tópicos.

En el tratamiento del dolor crónico, se usa a menudo la "Escalera Analgésica de Tres Peldaños" desarrollada por la Organización Mundial de la Salud. Para el dolor leve, pueden emplearse acetaminofeno, aspirina u otros AINE. Para el dolor de leve a moderado, se emplean opioides semanales tales como codeína y dihidrocodeína en combinación con acetaminofeno, aspirina u otros AINE. En el caso de dolor de moderado a intenso, pueden administrarse opioides fuertes tales como morfina, diamorfina o fentanilo, hidromorfona, metadona, oxycodona o fenazocina en combinación con acetaminofeno, aspirina u otros AINE.

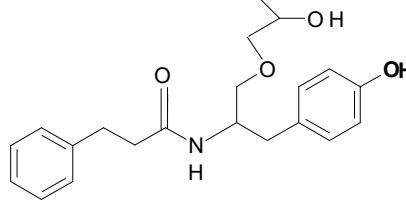
Un objeto de la presente invención es proporcionar compuestos alternativos para el tratamiento o la profilaxis del dolor. En particular, un objeto de la presente invención es proporcionar AINE alternativos para el tratamiento o la profilaxis del dolor y para reducir la inflamación. De manera deseable, los compuestos de la invención deben no tener o no tener sustancialmente actividad sobre el sistema nervioso central.

El documento WO 2004/031129 se refiere a compuestos útiles en el tratamiento, prevención y control de enfermedades inmunoalérgicas, enfermedades autoinmunitarias y rechazo de trasplante de órganos o tejidos después del trasplante. El documento WO 2007/129226 se refiere a compuestos para tratar trastornos proliferativos celulares. El documento WO 2005/092305 se refiere a compuestos para su uso en el tratamiento de enfermedades víricas. Ahora se han descubierto compuestos similares útiles en el tratamiento del dolor.

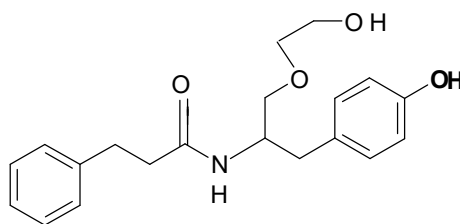
Por lo tanto, de acuerdo con un aspecto de la presente invención, se proporcionan compuestos para su uso en el tratamiento o la prevención del dolor, cuyos compuestos se seleccionan del grupo que consiste en:



Compuesto 1 (NRD 71)



Compuesto 2 (NRD 135); y



Compuesto 3 (NRD 175)

o una forma isomérica quiral, diastereomérica o geométrica de los mismos.

Los compuestos de la presente invención pueden usarse para el tratamiento o la profilaxis del dolor agudo o crónico. Por ejemplo, los compuestos pueden usarse para el tratamiento del dolor nociceptivo tal como, por ejemplo, dolor cutáneo, dolor somático, dolor miofascial, dolor visceral, dolor del miembro fantasma o dolor neuropático. Los compuestos de la invención también pueden usarse en el tratamiento de cefaleas o migraña. Los compuestos pueden usarse solos o en combinación con acetaminofeno u otro AINE para el tratamiento del dolor crónico leve o conjuntamente con opioides débiles o fuertes para el tratamiento del dolor moderado o intenso.

Los compuestos de la invención también pueden emplearse en el tratamiento o la profilaxis del dolor neuropático y pueden usarse conjuntamente con uno o más antidepresivos o medicamentos antiepilépticos tales como, por ejemplo, gabapentina o pregabalina.

5 Según otro aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento o la prevención del dolor en un paciente animal humano o no humano, comprendiendo dicha composición una cantidad farmacéuticamente eficaz de uno o más de los compuestos de la invención.

10 Dichos uno o más compuestos pueden estar en una forma pura, sustancialmente pura o parcialmente pura como se describe con más detalle a continuación. Los compuestos pueden administrarse bajo la supervisión de un médico de cabecera en una cantidad suficiente para conseguir controlar de manera eficaz el dolor. En algunas realizaciones, la dosis diaria de dicho uno o más compuestos puede ajustarse para determinar dicha cantidad eficaz.

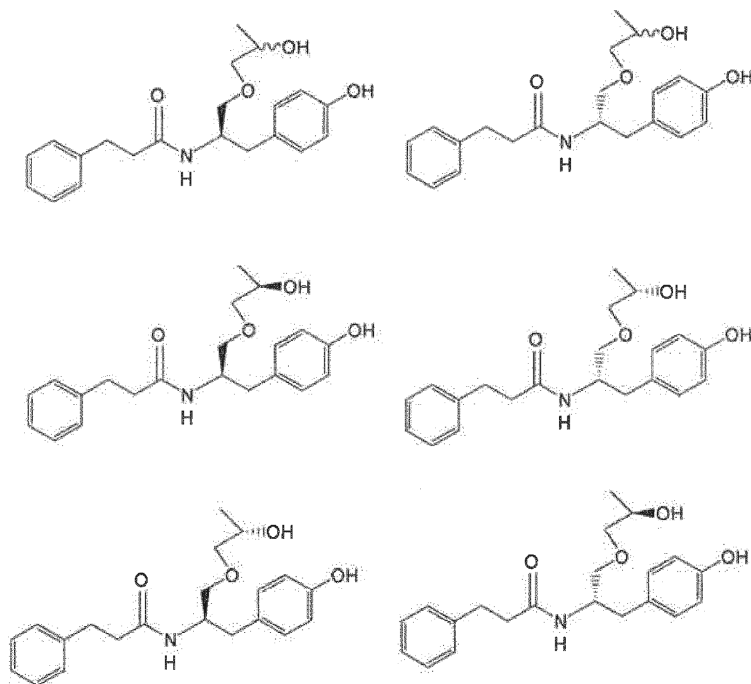
15 Dichos uno o más compuestos pueden administrarse por vía parenteral, por vía transdérmica, por vía intramuscular, por vía intravenosa, por vía intradérmica, por vía intranasal, por vía subcutánea, por vía intraperitoneal, por vía intraventricular o por vía rectal. Preferiblemente, el uno o más compuestos se administran por vía oral.

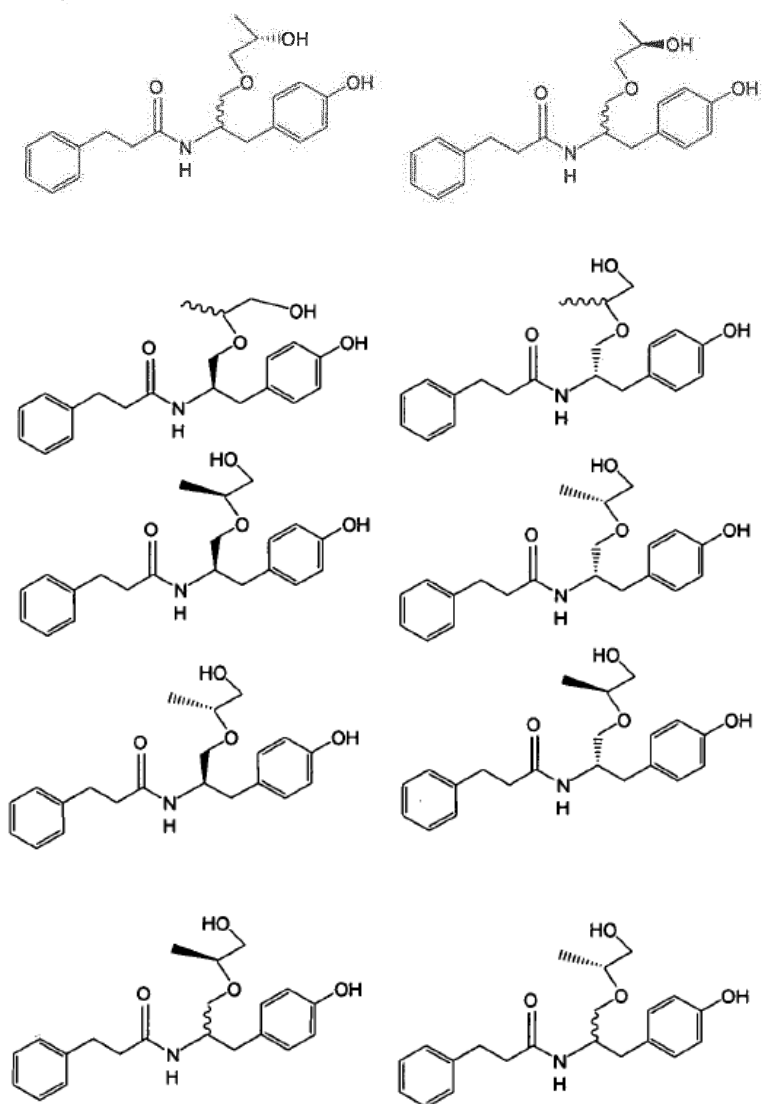
Opcionalmente, el uno o más compuestos de la presente invención pueden administrarse de manera simultánea, secuencial o separada con al menos un analgésico opioide, antidepresivo o medicamento antiepiléptico. Alternativamente, el uno o más compuestos de la invención pueden administrarse de manera simultánea, secuencial o separada con uno o más de otros AINE o acetaminofeno.

25 Aún en otro aspecto de la presente invención, se proporciona el uso de uno o más de los compuestos de la invención en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento o la profilaxis del dolor. Dicho medicamento puede fabricarse para la administración conjunta con uno o más de acetaminofeno, otro AINE, un opioide, un antiepiléptico o un antidepresivo.

30 Ventajosamente, se ha encontrado que los compuestos de la presente invención son eficaces para reducir o prevenir la inflamación. También se ha encontrado que los compuestos de la invención no tienen o no tienen sustancialmente (es decir, dentro de límites aceptables) un efecto perjudicial sobre el sistema nervioso central.

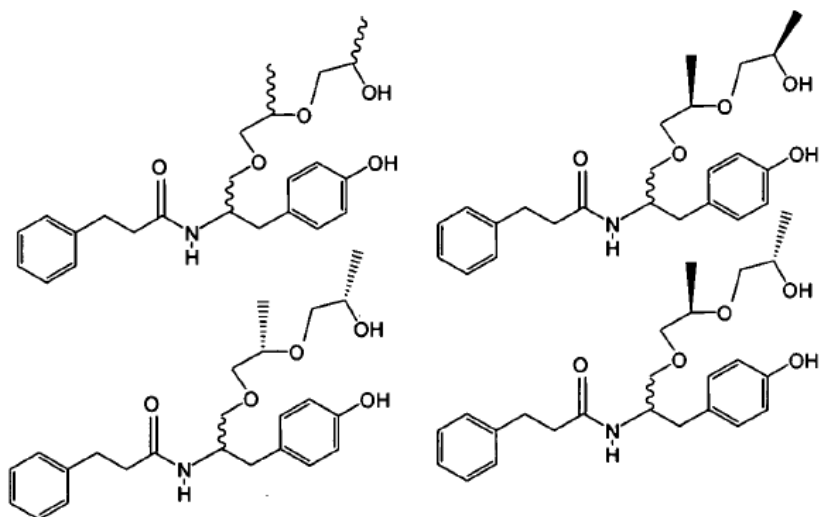
Se contemplan todas las formas isoméricas quirales, diastereoméricas, racémicas y geométricas de una estructura, a menos que se indique específicamente la estereoquímica o la forma isomérica específica. Por ejemplo, para el compuesto 2, se contemplan las siguientes formas isoméricas:

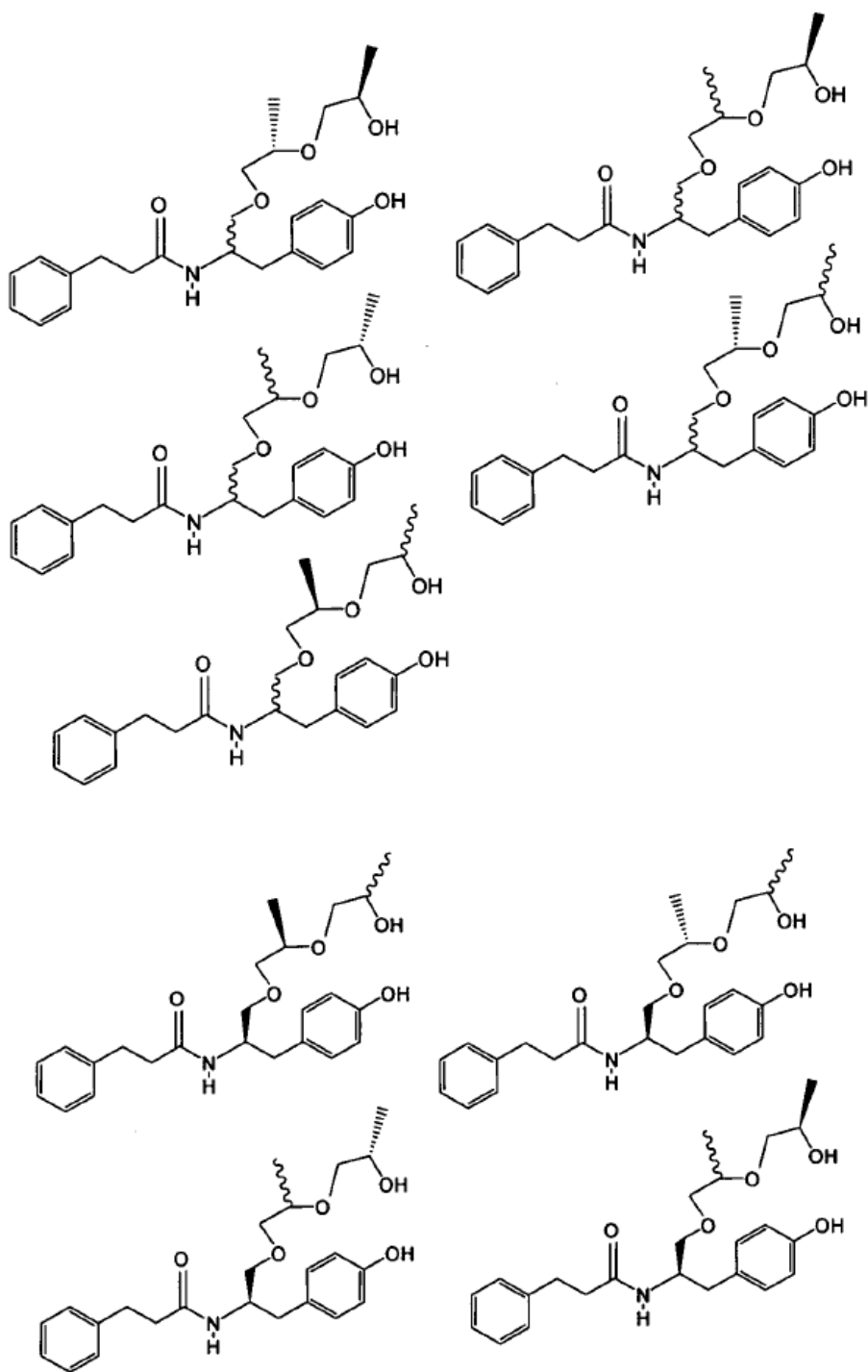


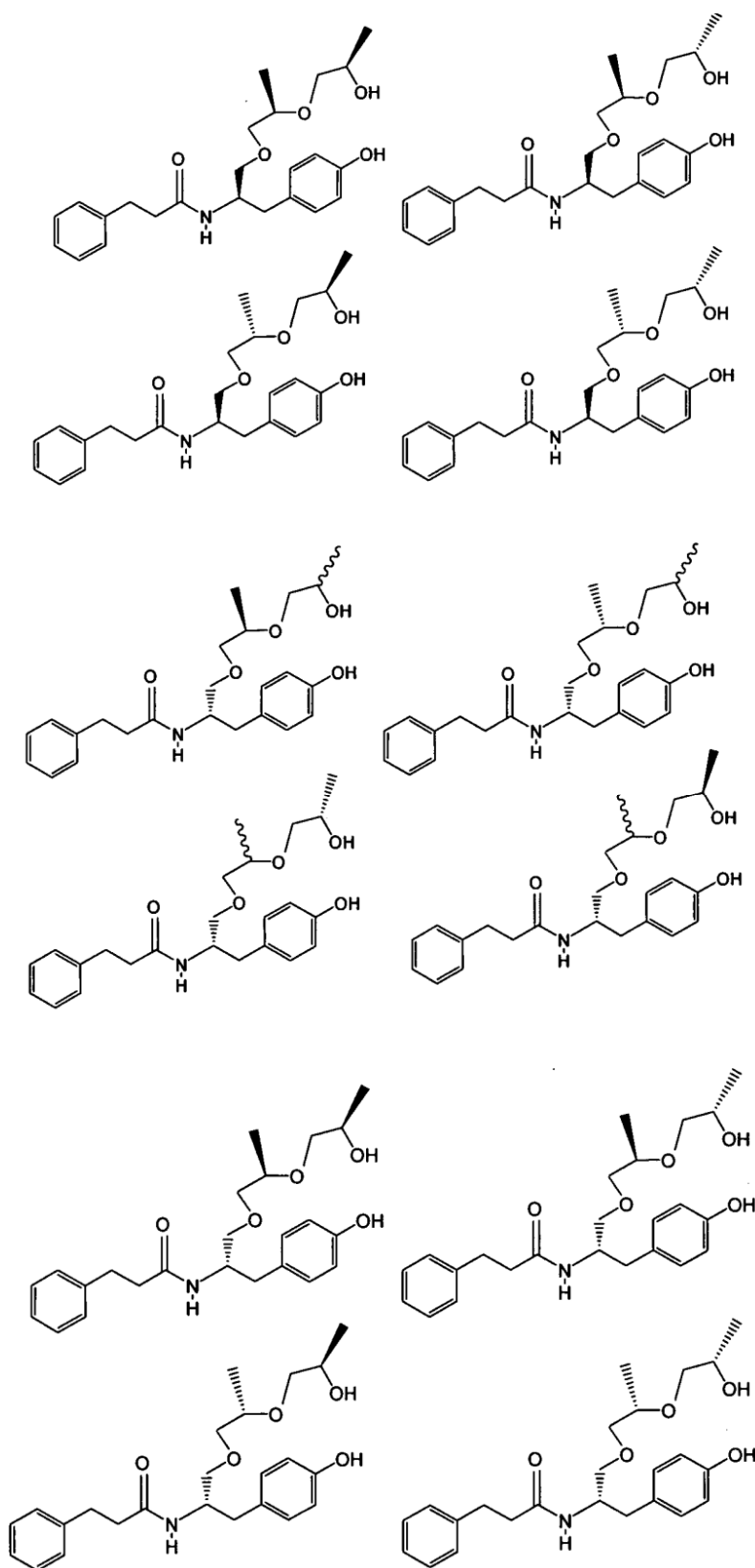


Por ejemplo, a continuación se muestran algunas formas isoméricas del compuesto 1:

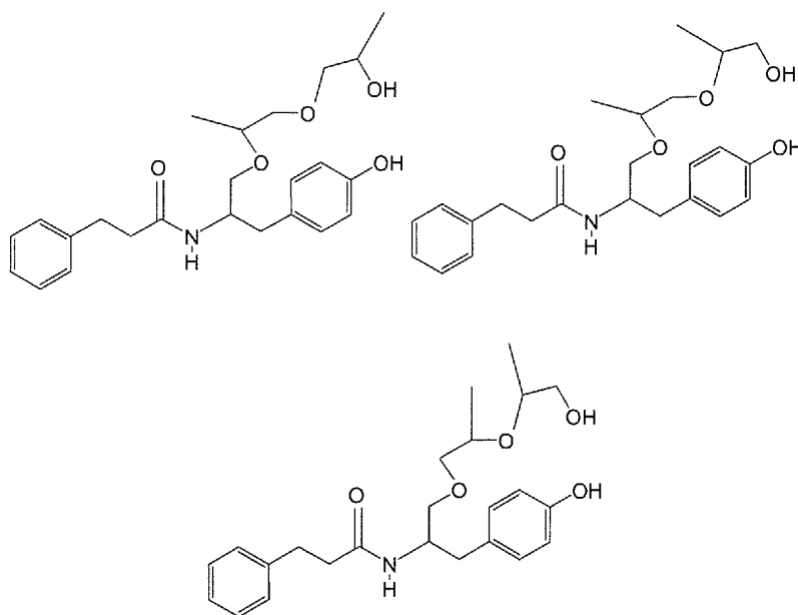
5



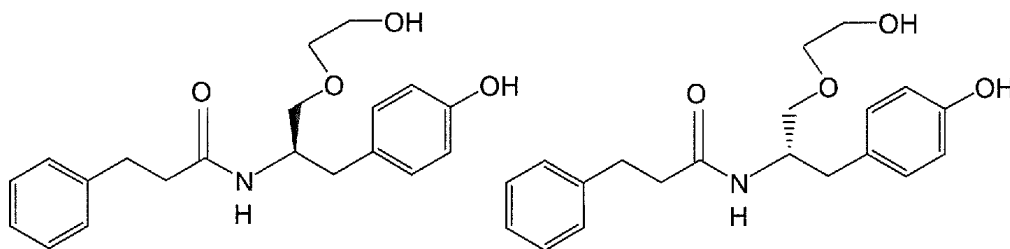




Las formas isoméricas del compuesto 1 también incluyen isómeros geométricos como se muestra a continuación, incluidas todas las permutaciones R y S:



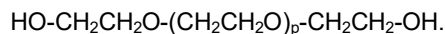
Por ejemplo, a continuación se muestran formas isoméricas del compuesto 3 (NRD 175).



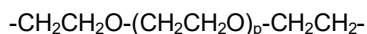
A continuación, se dan a conocer en detalle métodos de síntesis adecuados para obtener y purificar los compuestos de la presente invención. Sin embargo, debe ser evidente para un experto en la técnica que los compuestos pueden prepararse usando cualquier otro método de síntesis factible.

Los compuestos de la invención pueden sintetizarse como conjugados de polialquilenglicol (PAG). Los polímeros que pueden usarse para tal conjugación incluyen poli(etilenglicol) (PEG), también conocido como poli(óxido de etileno) (PEO) y polipropilenglicol (incluyendo poliisopropilenglicol).

Un polialquilenglicol (PAG), tal como PEG, es un polímero lineal terminado en cada extremo con grupos hidroxilo:



El polímero anterior, α,ω -dihidroxi-poli(etilenglicol), también puede representarse como HO-PEG-OH, donde se entiende que el símbolo -PEG- representa la siguiente unidad estructural:



donde p puede oscilar entre 0 y aproximadamente 48. PEG puede usarse como metoxi-PEG-OH, o mPEG, en el que un extremo terminal es el grupo metoxilo relativamente inerte, mientras el otro extremo terminal es un grupo hidroxilo que se somete a modificación química fácil. Además, PEG puede sustituirse por copolímeros al azar o de bloque de diferentes óxidos de alqueno (por ejemplo, óxido de etileno y óxido de propileno) que están estrechamente relacionados con PEG en su química.

Los polímeros de PAG pueden ser lineales o ramificados.

Debe entenderse que los compuestos de la invención comprenden un resto de PAG que puede incluir una mezcla de polímeros que tienen un número variable de unidades monoméricas. La síntesis de un compuesto de conjugado de PAG puede producir una población de moléculas con una distribución de Poisson del número de unidades monoméricas por polímero en el conjugado. Por tanto, un compuesto según la invención que se describe que tiene un polímero de $n = 2$ unidades monoméricas se refiere no sólo a los polímeros reales en esa población que está describiéndose que tiene $n = 2$ unidades monoméricas, sino también a una población de moléculas, siendo el pico

de la distribución 2 o próximo a 2. La distribución de unidades monoméricas en una población dada puede determinarse, por ejemplo, mediante resonancia magnética nuclear (RMN) o mediante espectrometría de masas (EM).

Aún en otro aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento o la profilaxis del dolor, comprendiendo dicha composición una cantidad farmacéuticamente eficaz de uno o más de los compuestos de la invención. Dicha composición puede comprender además uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. En algunas realizaciones, dicha composición también puede comprender acetaminofeno, uno o más de otros AINE, uno o más opioides débiles o fuertes, un antidepresivo o un agente antiepiléptico.

La composición farmacéutica de la invención puede comprender uno o más de los compuestos de la invención en forma pura, sustancialmente pura o parcialmente pura. En algunas realizaciones, dicha forma sustancialmente pura puede comprender al menos el 95 % en peso de dicho uno o más compuestos, por ejemplo, el 96 % en peso, el 97 % en peso, el 98 % en peso o más del 99 % en peso de dichos compuestos.

Dicha forma sustancial o parcialmente pura de dicho(s) compuesto(s) puede comprender además una proporción de polialquilenglicol libre tal como, por ejemplo, polietilenglicol (PEG) o polipropilenglicol (PPG). Tal polialquilenglicol puede ser biológicamente activo por sí mismo. La longitud de cadena del polialquilenglicol libre puede oscilar entre 1-50, preferiblemente entre 1-25, más preferiblemente 1-5 o 1 o 2. En algunas realizaciones, dicho polialquilenglicol puede tener una longitud de cadena de 1, 2, 3, 4 o 5 unidades monoméricas. Dicho polialquilenglicol libre puede comprender una mezcla de diferentes longitudes de cadena. Por tanto, para una forma sustancialmente pura de dicho uno o más compuestos, dicha forma puede comprender hasta el 5 % en peso de polialquilenglicol libre, por ejemplo, hasta el 4 % en peso, el 3 % en peso, el 2 % en peso o menos del 1 % en peso, siendo la cantidad total en dicha forma de dicho uno o más compuestos y dicho polialquilenglicol libre el 100 % en peso.

Dicha forma parcialmente pura de dicho uno o más compuestos puede comprender aproximadamente el 5-60% en peso del uno o más compuestos según la invención y aproximadamente el 95-40% en peso de polialquilenglicol libre, siendo la cantidad total el 100% en peso. Normalmente, dicha forma parcialmente pura puede comprender aproximadamente el 45-55% en peso de dicho uno o más compuestos y aproximadamente el 55-45% en peso de dicho uno o más polialquilenglicoles. Alternativamente, dicha forma puede comprender aproximadamente el 80-95% en peso de dicho uno o más compuestos y aproximadamente el 20-5% en peso de dicho(s) polialquilenglicol(es).

De manera adecuada, la composición de la invención puede formularse como una forma farmacéutica unitaria. Cada forma farmacéutica unitaria puede comprender toda o una fracción predeterminada de la cantidad de dosis diaria del uno o más compuestos de la invención, por ejemplo, una mitad o una cuarta parte de la cantidad de dosis diaria.

Por tanto, la composición puede formularse como un comprimido, una píldora, una cápsula, un polvo, gránulos, una disolución o suspensión parenteral estéril, un aerosol dosificado o pulverización líquida, gotas, una ampolla, un dispositivo de autoinyector, un supositorio, una crema o un gel. Dicha composición puede adaptarse para administración oral, enteral, parenteral, intratecal, intranasal, sublingual, rectal o tópica, o para administración mediante inhalación o insuflación. Se prefieren particularmente composiciones orales tales como comprimidos, píldoras, cápsulas u obleas.

Para preparar una forma farmacéutica sólida tal como un comprimido, dicho uno o más compuestos pueden mezclarse con uno o más excipientes farmacéuticos, por ejemplo, componentes para preparación de comprimidos convencionales tales como almidón de maíz, lactosa, sacarosa, sorbitol, talco, ácido esteárico, estearato de magnesio, fosfato de dicalcio o gomas, u otros diluyentes farmacéuticos, por ejemplo, agua, para formar una composición de formulación previa sólida que contiene una mezcla sustancialmente homogénea de dicho uno o más compuestos, de modo que dicho uno o más compuestos se dispersan uniformemente por toda la composición, de manera que la composición puede subdividirse fácilmente en formas farmacéuticas unitarias igualmente eficaces tales como comprimidos, píldoras y cápsulas.

Dicha composición de formulación previa sólida se subdivide entonces en formas farmacéuticas unitarias de la clase mencionada anteriormente, que pueden contener cada una desde 0,1 hasta aproximadamente 500 mg del uno o más compuestos. Las formas farmacéuticas unitarias favorables contienen desde 1 hasta 500 mg, por ejemplo, 1, 5, 10, 25, 50, 100, 300 o 500 mg, del/de los compuesto(s).

Cuando se formula como un comprimido o píldora, dicho comprimido o píldora puede recubrirse o componerse de otro modo para proporcionar una forma farmacéutica que permite la ventaja de acción prolongada. Por ejemplo, dicho comprimido o píldora puede comprender un componente de dosificación interna y uno de dosificación externa, estando este último en forma de una envoltura sobre el primero. Estos dos componentes pueden estar separados por una capa entérica que sirve para resistir la disgregación en el estómago y permite que el componente interno pase intacto al interior del duodeno o sea de liberación retardada. Se conoce una variedad de materiales en el uso en tales capas o recubrimientos entéricos, incluyendo tales materiales varios ácidos poliméricos y mezclas de ácidos poliméricos con materiales tales como goma laca, alcohol cetílico y acetato de celulosa.

Alternativamente, la composición farmacéutica de la presente invención puede formularse como una forma farmacéutica líquida para administración por vía oral o mediante inyección; por ejemplo una disolución acuosa, un jarabe aromatizado de manera adecuada, una suspensión acuosa u oleosa o una emulsión aromatizada con aceites comestibles tales como, por ejemplo, aceite de semilla de algodón, aceite de sésamo, aceite de coco o aceite de cacahuete, así como un elixir o un vehículo farmacéutico similar. Los agentes de dispersión o de suspensión adecuados para una suspensión acuosa incluyen gomas naturales y sintéticas, por ejemplo, goma tragacanto, goma arábica, alginato, dextrano, carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, polivinilpirrolidona o gelatina.

A continuación, se facilita una descripción a modo de ejemplo únicamente con referencia a los dibujos adjuntos de realizaciones de la presente invención.

En los dibujos:

La FIG. 1a proporciona gráficos que muestran los resultados (tiempo de reacción frente a tiempo después del tratamiento) de un ensayo de la placa caliente usando ratones Balb/c después de la administración del Compuesto 2 o 3 de la invención;

La FIG. 1b proporciona gráficos que muestran los resultados (tiempo total frente a formulación) de un ensayo de la placa caliente usando ratones Balb/c después de la administración del Compuesto 2 o 3 de la invención;

La FIG. 1c proporciona gráficos que muestran los resultados (peso de los órganos frente a formulación) de un ensayo de la placa caliente usando ratones Balb/c después de la administración del Compuesto 2 o 3 de la invención;

La FIG. 1d proporciona un gráfico que muestra los resultados (tiempo de reacción frente a formulación) de un ensayo de la placa caliente usando ratones Balb/c después de la administración del Compuesto 2 o 3 de la invención;

La FIG. 2a proporciona gráficos que muestran los resultados (tiempo de reacción frente a tiempo después del tratamiento) de un ensayo de la placa caliente usando ratones Balb/c después de la administración del Compuesto 2 de la invención;

La FIG. 2b proporciona gráficos que muestran los resultados (tiempo total frente a formulación) de un ensayo de la placa caliente usando ratones Balb/c después de la administración del Compuesto 2 de la invención;

Las FIGs. 3a y 3b proporcionan gráficos que muestran los resultados (tiempo de reacción frente a tiempo después del tratamiento) de un ensayo de la placa caliente usando ratones Balb/c después de la administración del Compuesto 2 de la invención;

La FIG. 3c proporciona un gráfico que muestra los resultados (tiempo total frente a formulación) de un ensayo de la placa caliente usando ratones Balb/c después de la administración del Compuesto 2 de la invención;

La FIG. 4a proporciona un gráfico que muestra los resultados (tiempo de reacción frente a tiempo después del tratamiento) de un ensayo de la placa caliente usando ratones Balb/c después de la administración del Compuesto 2 de la invención;

La FIG. 4b proporciona un gráfico que muestra los resultados (tiempo total frente a formulación) de un ensayo de la placa caliente usando ratones Balb/c después de la administración del Compuesto 2 de la invención;

La FIG. 5a proporciona un gráfico que muestra los resultados (tiempo de reacción frente a tiempo después del tratamiento) de un ensayo de la placa caliente usando ratones Balb/c después de la administración del Compuesto 2 o 3 de la invención;

La FIG. 5b proporciona un gráfico que muestra los resultados (tiempo total frente a formulación) de un ensayo de la placa caliente usando ratones Balb/c después de la administración del Compuesto 2 o 3 de la invención;

Las FIGs. 6a, 6b y 6c proporcionan gráficos que muestran los resultados (tiempo de reacción frente a tiempo después del tratamiento) de un ensayo de la placa caliente usando ratones Balb/c después de la administración del Compuesto 2 de la invención;

Las FIGs. 6d y 6e proporcionan gráficos que muestran los resultados (tiempo total frente a formulación) de un ensayo de la placa caliente usando ratones Balb/c después de la administración del Compuesto 2 de la invención;

Las FIGs. 7a y 7b proporcionan gráficos que muestran los resultados (tiempo de reacción frente a tiempo

después del tratamiento) de un ensayo de la placa caliente usando ratones Balb/c después de la administración del Compuesto 1 de la invención;

Las FIGs. 7c y 7d proporcionan gráficos que muestran los resultados (tiempo total frente a formulación) de un ensayo de la placa caliente usando ratones Balb/c después de la administración del Compuesto 1 de la invención;

La FIG. 8a proporciona un gráfico que muestra los resultados (tiempo de reacción frente a tiempo después del tratamiento) de un ensayo de la placa caliente usando ratones Balb/c después de la administración del Compuesto 3 de la invención;

La FIG. 8b proporciona un gráfico que muestra los resultados (tiempo total frente a formulación) de un ensayo de la placa caliente usando ratones Balb/c después de la administración del Compuesto 3 de la invención;

Las FIGs. 9a y 9b proporcionan gráficos que muestran los resultados (tiempo de reacción frente a tiempo después del tratamiento) de un ensayo de la placa caliente usando ratones Balb/c después de la administración del Compuesto 1 o 2 de la invención;

Las FIGs. 9c, 9d, 9e proporcionan gráficos que muestran los resultados (tiempo total frente a formulación) de un ensayo de la placa caliente usando ratones Balb/c después de la administración del Compuesto 1 o 2 de la invención;

Las FIGs. 10a y 10b proporcionan gráficos que muestran los resultados (tiempo de reacción frente a tiempo después del tratamiento) de un ensayo de la placa caliente usando ratones Balb/c después de la administración del Compuesto 1 o 2 de la invención;

La FIG. 10c proporciona un gráfico que muestra los resultados (tiempo total frente a formulación) de un ensayo de la placa caliente usando ratones Balb/c después de la administración del Compuesto 1 o 2 de la invención;

La FIG. 11 proporciona un gráfico que muestra los resultados (aumento de volumen frente a formulación) de un ensayo de edema de ratas SD después de la administración del Compuesto 2 o 3 de la invención;

Las FIGs. 12a-12e proporcionan gráficos que muestran los resultados (reacción frente a formulación) de un ensayo de formalina en ratones Balb/c después de la administración del Compuesto 1 o 2 de la invención.

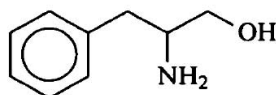
Síntesis de compuestos de polialquilenglicol

Los compuestos de polialquilenglicol se sintetizaron generalmente mediante la preparación del compuesto de alcohol apropiado seguido por conjugación del alcohol con un polímero de polialquilenglicol (PAG) (por ejemplo, polietilenglicol (PEG) o polipropilenglicol (PPG)) de la longitud deseada.

Los compuestos A a E y G a L son compuestos de la divulgación. Los compuestos F, M y N se usan en la producción de compuestos de la invención.

Síntesis 1: Compuesto A (fenilalaninol)

Se añadieron 1,2 g de LiAlH_4 32 mM a 2,3 g de HCl de éster etílico de fenilalanina 10 mM en 50 ml de éter seco. Tras agitar durante 2 horas a temperatura ambiente, se añadieron agua y KOH y se extrajo el producto de reacción con acetato de etilo. Tras la evaporación, se obtuvieron 0,8 g de compuesto A, un aceite amarillo claro.

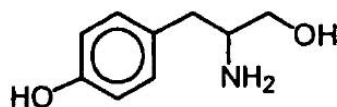


Peso mol.: 151,21

El compuesto **A** cristalizó dejándolo estar. Pf-70.

RMN de CDCl_3 7,30 (5H, m), 3,64 (1H, dd, $J = 10,5, 3,8$ Hz) 3,40 (1H, dd, $J = 10,5, 7,2$ Hz) 3,12 (1H, m), 2,81 (1H, dd, $J = 13,2, 5,2$ Hz), 2,52 (1H, dd, $J = 13,2, 8,6$ Hz)

RMN de acetona d_6 7,30 (5H, m), 3,76 (1H, dt) 3,60 (1H, m) 3,30 (1H, t), 2,85 (2H, m). *Helv. Chim. Acta*, 31, 1617 (1948). Biels.-E3, vol. 13, pág. 1757.

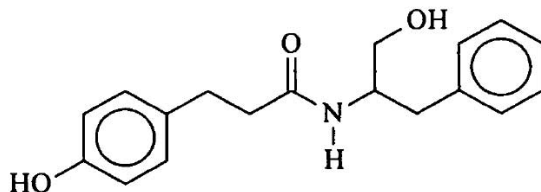
Síntesis 2: Compuesto B (tirosinol)

$C_9H_{13}NO_2$
Peso mol.: 167,21

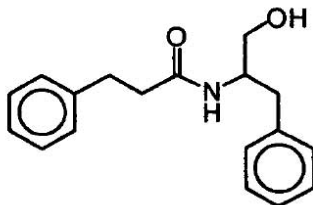
- 5 A 3 g de HCl de éster etílico de L-tirosina 12 mM en 50 ml de éter seco se le añadieron 1,2 g de $LiAlH_4$ 32 mM. Tras agitar 3 horas a temperatura ambiente, se añadieron agua y KOH y se extrajo la reacción con acetato de etilo. La evaporación dio 1,1 g de un aceite amarillo claro, rendimiento del 54%, que cristalizó dejándolo estar. Pf-85.
RMN de $CDCl_3$ 7,20 (4H, AB q, $J = 8,6$ Hz), 3,50 (2H, m) 3,20 (1H, m), 2,81 (2H, m).
- 10 RMN de $CDCl_3$ de base libre de éster etílico de tirosina 7,0, 6,56 (4H, AB q, $J = 8,8$ Hz), 4,20 (2H, q, $J = 7,0$ Hz), 3,70, 3,0, 2,80 (3H, 12 línea ABXm), 1,28 (3H, t, $J = 7,0$ Hz). JACS 71, 305 (1949). Biels. -E3, vol. 13, pág. 2263.

Síntesis 3: Compuesto C

- 15 Se sometieron a reflujo 0,66 g de ácido 4-hidroxihidrocínámico y 4 ml de cloruro de tionilo en 30 ml de ciclohexano durante 2 horas. Tras la evaporación, se obtuvo un sólido blanco, al que se añadieron 0,65 g de aceite del compuesto 1 (4,3 mM) en 30 ml de diclorometano y 0,4 ml de trietilamina. Tras agitar durante 2 horas a temperatura ambiente, se añadieron agua y KOH con el fin de neutralizar el pH. Se extrajo el producto de reacción con diclorometano. La evaporación dio 0,8 g de compuesto 4, aceite viscoso amarillo claro. Se trituró parte de este
- 20 producto y se recrystalizó con etanol para dar un sólido blanco. Pf-149.
RMN de $CDCl_3$ 7,30-6,9(9H, m), 3,50(2H, m) 3,30(2H, t, $J = 7,2$ Hz) 2,90 (3H, m), 2,60(2H, t, $J = 7,2$ Hz).

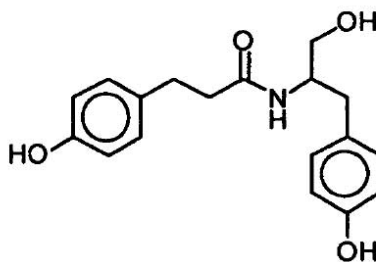


$C_{18}H_{21}NO_3$
Peso mol.: 299,36

25 *Síntesis 4: Compuesto D*

$C_{18}H_{21}NO_2$
Peso mol.: 283,36

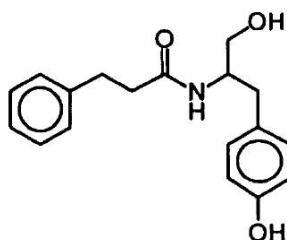
- 30 Se sometieron a reflujo 0,75 g de ácido hidrocínámico 5 mM y 4 ml de cloruro de tionilo en 30 ml ciclohexano durante 2 horas. La evaporación dio un sólido blanco al que se añadieron 0,83 g de fenilalaninol 5,5 mM en 30 ml de diclorometano y 0,5 ml de trietilamina. Tras agitar 3 horas a temperatura ambiente, se añadieron agua y KOH hasta pH neutro y se extrajo la reacción con diclorometano. La evaporación dio 0,57 g de un aceite viscoso amarillo, rendimiento del 40%.
- 35 RMN de $CDCl_3$ 7,40-7,10 (10H, m), 3,60 (2H, m) 3,35 (2H, t, $J = 7,2$ Hz) 2,95 (3H, m), 2,50 (2H, t, $J = 7,2$ Hz).

Síntesis 5: Compuesto E

$C_{18}H_{21}NO_4$
Peso mol.: 315,36

Se sometieron a reflujo 0,66 g de ácido 4-hidroxihidrocinámico 4 mM y 4 ml de cloruro de tionilo en 30 ml de ciclohexano 3 horas. La evaporación dio un sólido amarillo claro al que se añadieron 0,72 g de tirosinol 4,3 mM en 30 ml de diclorometano y 0,5 ml de trietilamina. Tras agitar 3 horas a temperatura ambiente, se añadieron agua y KOH hasta pH neutro y se extrajo la reacción con diclorometano. La evaporación dio 0,53 g de aceite viscoso amarillo claro, rendimiento del 42%.

RMN de $CDCl_3$ 7,30, 7,20 (8H, 2 ABq, $J = 8,6$ Hz), 3,40 (2H, m) 3,30 (2H, t, $J = 7,2$ Hz) 2,90 (3H, m), 2,60 (2H, t, $J = 7,2$ Hz).

Síntesis 6: Compuesto F

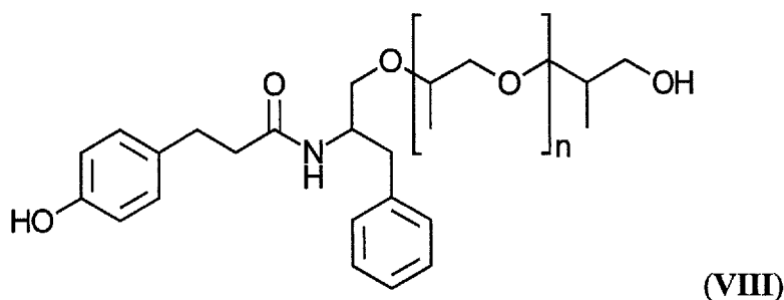
$C_{18}H_{21}NO_3$
Peso mol.: 299,36

Se sometieron a reflujo 0,45 g de ácido hidrocinámico 3 mM y 3 ml de cloruro de tionilo en 30 ml de ciclohexano durante 2 horas. La evaporación dio un sólido amarillo claro al que se añadieron 0,58 g de tirosinol 3,5 mM en 30 ml de diclorometano y 0,4 ml de trietilamina. Tras agitar durante 2,5 horas a temperatura ambiente, se añadieron agua y KOH para lograr un pH neutro y se extrajo la reacción con diclorometano. La evaporación dio 0,57 g de aceite viscoso amarillo claro, rendimiento del 63 %.

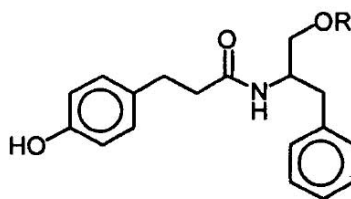
RMN de $CDCl_3$ 7,40-7,10 (9H, m), 3,60 (2H, m) 3,35 (2H, t, $J = 7,2$ Hz) 2,95 (3H, m), 2,50 (2H, t, $J = 7,2$ Hz).

Compuestos sintetizados a partir de fenilalaninol (Compuesto A)

Estos compuestos incluyen los representados por la estructura de fórmula **VIII**:



Este compuesto también puede representarse como fórmula A, donde R es un polímero de polipropilenglicol y n es el número total de monómeros de polipropileno en el polímero:

**Fórmula A***Síntesis 7: Compuesto G*

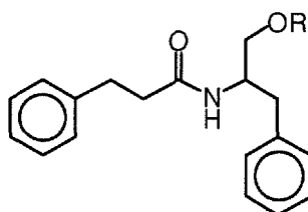
5 R = PPG (polipropilenglicol); n = 2.

Se añadieron 0,3 g de compuesto **C** (1 mM), 0,8 g de trifetilfosfina 3 mM y 0,55 g de diazocarbocilato de etilo 3,2 mM a 1 g de poli(propilenglicol) (peso mol. promedio 424, n = 7) en 60 ml de diclorometano. Tras agitar durante 4 horas a temperatura ambiente, la evaporación y cromatografía dieron 0,55 g de aceite viscoso, un rendimiento del 73%. RMN de CDCl₃ 7,30-6,9 (9H, m), 4,1-3,0 (m), 2,60 (2H, t, J = 7,2 Hz), 1,2-1,1 (m). Se colocaron 0,1 g, 0,33 mmol de este producto, carbonato de potasio (0,069 g, 0,5 mmol, finamente molido) y THF (3 ml, secado sobre gránulos de KOH) en un matraz de fondo redondo equipado con un agitador magnético y un tubo de secado con CaCl₂. Se enfrió la mezcla sobre un baño de hielo-sal (-10°C.) y se introdujo gota a gota una disolución previamente enfriada de carbonato de di-terc-butilo (0,066 g, 0,30 mmoles) en 2 ml de THF (secado). Se permitió que la mezcla se agitara a la temperatura del hielo durante 1 hora y luego durante 2 días a temperatura ambiente. Luego se evaporó la mezcla de reacción, se introdujo agua (5 ml) y se extrajo el producto con dos porciones de 10 ml de acetato de etilo. Se secaron los extractos combinados sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtraron con papel y se eliminó el disolvente. Se trituró el residuo oleoso con una pequeña cantidad de n-hexano y se recuperó el sólido formado mediante filtración a vacío (rendimiento 0,12 g, 90,1%). Alternativamente, puede disolverse el residuo oleoso en una mezcla 1:1 de acetato de etilo y hexano y recristalizarse el producto.

Síntesis 8: Compuesto H

R=PPG; n=1.

El Compuesto **H** se preparó utilizando el mismo procedimiento descrito anteriormente en la Síntesis 7 para el Compuesto G, con la sustitución de PPG, n = 2 por PPG, n = 1.

Compuestos sintetizados a partir del Compuesto D**Fórmula B***Síntesis 9: Compuesto I*

35 R = PPG; n = 2.

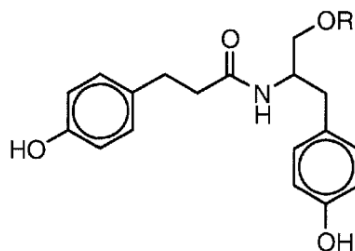
El Compuesto **I** se preparó como se describió anteriormente en la Síntesis 7 a partir de 0,22 g del Compuesto **D**.

Síntesis 10: Compuesto J

40 R = PPG; n = 1.

El Compuesto **J** se preparó como se describió anteriormente en la Síntesis 7 a partir de 0,2 g del Compuesto **D**.

45 Compuestos sintetizados a partir del Compuesto E (tirosinol)



Fórmula D

Síntesis 11: Compuesto K

R = PPG; n = 2.

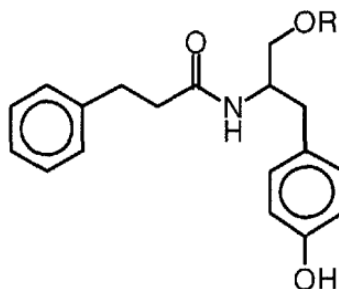
El Compuesto **K** se preparó como se describió anteriormente en la Síntesis 7 del Compuesto **E**.

Síntesis 12: Compuesto L

R = PPG; n = 1

El Compuesto **L** se preparó como se describió anteriormente en la Síntesis 8 del Compuesto **E**.

Compuestos sintetizados a partir del compuesto F



Fórmula E

Síntesis 13: Compuesto 1

R=PPG; n=2.

Mesilación de PPG

Se hicieron reaccionar 106 mg de PPG₄₂₅ (0,25 mmol) con el 90 por ciento en moles de cloruro de mesilo (26 mg, 2 gotas) y 0,4 mmoles de piridina (31,6 mg, 2 gotas) para dar el PPG (**M**) monomesilado. Tras combinar PPG, cloruro de mesilo y piridina, se llevó a cabo la reacción de mesilación a 0°C a lo largo de 30 minutos mientras se agitaba, y luego se continuó la reacción durante otros 60 minutos a temperatura ambiente. Durante el mezclado, la mezcla de reacción pasó de incolora a blanca lechosa. Luego se disolvió la mezcla en 5 ml de cloruro de metileno y se lavó la fase orgánica dos veces con disolución de HCl 1 M, luego dos veces con disolución de NaOH 1 M y una vez con agua. Se secó la fase orgánica sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se eliminó el disolvente.

Activación de sodio.

Se disolvieron 0,1 g del compuesto F (0,25 mmol) en 5 ml de etanol absoluto y luego se hicieron reaccionar con una cantidad equimolar de etóxido de sodio en etanol absoluto (preparado previamente haciendo reaccionar 0,25 mg-átomo de sodio con un exceso de etanol absoluto). Se evaporó el etanol de las disoluciones combinadas hasta sequedad total para producir la sal de sodio (**N**).

Hacer reaccionar M y N

Se disolvió **M** en 5 ml de un acetonitrilo secado en hidróxido de potasio y se introdujo la disolución en un matraz de

fondo redondo que contenía un agitador magnético. Se introdujeron 5 ml de disolución de acetonitrilo secado de **N** en el matraz, seguido por una cantidad catalítica (algunos cristales) de yoduro de potasio. Se conectaron un condensador de reflujo y un burbujeador de gas, ajustados en su parte superior, al recipiente de reacción y se permitió que la mezcla de reacción se sometiera a reflujo bajo atmósfera de nitrógeno, mientras se agitaba, durante 24 h. Luego se filtró la mezcla de reacción con papel y se eliminó el disolvente. Se disolvió el residuo en 2 ml de acetato de etilo y luego se hizo pasar a través de una columna de gel de sílice, usando acetato de etilo para la elución. Resultó que la mancha de absorción UV de la CCF (elución con acetato de etilo) en $R_f = 0,55$ contenía el producto **1** deseado (una mezcla de moléculas que contienen longitudes de subunidades de PPG diferentes), sin embargo, también resultó que contenía algo de PPG sin reaccionar. Otras fracciones contenían PPG mesilado sin reaccionar y PPG doblemente mesilado.

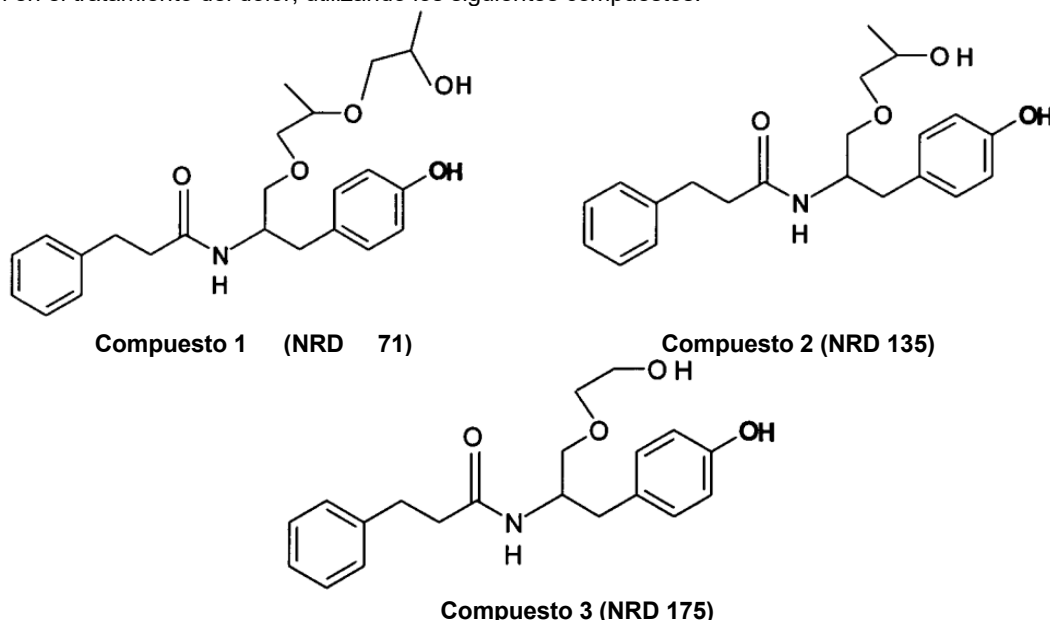
Síntesis 14: Compuesto 2

R=PPG; n=1

El Compuesto **2** se preparó usando el mismo procedimiento descrito anteriormente en la Síntesis 13 del Compuesto F, con la sustitución de PPG, n = 2 por PPG, n = 1.

Ejemplos

Los experimentos descritos a continuación se realizaron para demostrar la utilidad de los compuestos de la invención en el tratamiento del dolor, utilizando los siguientes compuestos.



Ejemplo 1

Efecto antinociceptivo del Compuesto 2 y Compuesto 3

El objetivo del estudio fue evaluar en ratones la actividad antinociceptiva de los elementos que se sometieron a ensayos de la placa caliente cuando éstos se administraron por vía subcrónica. Para determinar el posible efecto antinociceptivo en los ratones, se midió el tiempo de respuesta de lamido de las patas o de salto después de colocarlos en la superficie calentada (placa caliente).

Se utilizó un total de 42 ratones Balb/c (de 12 semanas de vida). Los ratones eran machos con un peso de aproximadamente 25 g al inicio del estudio. Los pesos mínimos y máximos del grupo estuvieron dentro de un intervalo de $\pm 10\%$ del peso medio del grupo.

Los compuestos 2 y 3 se sometieron a ensayo y se compararon con Diclofenac® (Perigo). Se utilizaron soluciones de DMSO (dimetilsulfóxido). Se sometieron a ensayo seis grupos de ratones (cada uno con n = 7 o n = 8 ratones), el último grupo recibió Diclofenac®.

Grupo de animales	Volumen de la dosis	Ensayo a: Tiempo/min	Dosis mg/kg/día
DMSO 1 M (simulado) (7)	10 ml/kg	-60, 0, 60, 120, 180, 240, 300, 360	Ninguna
Compuesto 2, 2 M+3 M (7+7) [1 unidad]			0,1; 5
Compuesto 3, 4 M+5 M (7+7) [1 unidad]			0,1; 5
Diclofenac® 6 M (8)			10

Para la administración a los grupos de ratones, se prepararon formulaciones según la siguiente tabla.

Formulación	Composición
1	Control - 0,02 % DMSO 0,3 ml/ratón, po (3 ml/10 ratones) (0,6 µl DMSO + 2999,4 µl ADD (agua destilada desionizada)), n=8.
2	Compuesto 2, 0,1 mg/kg = 0,003 mg/0,3 ml/ratón, po (3 ml/10 ratones) (compuesto 2, 0,03 mg (Reserva 50 mg/1 ml DMSO) 0,6 µl + 2999,4 µl ADD, n=8
3	Compuesto 2, 5 mg/kg = 0,15 mg/0,3 ml/ratón, po (3 ml/10 ratones) (compuesto 2, 1,5 mg (Reserva 50 mg/1 ml DMSO) 30 µl + 2970 µl ADD), n=8
4	Compuesto 3, 0,1 mg/kg = 0,003 mg/0,3 ml/ratón, po (3 ml/10 ratones) (compuesto 3, 0,03 mg (Reserva 50 mg/1 ml DMSO) 0,6 µl + 2999,4 µl ADD), n=8
5	Compuesto 3, 5 mg/kg = 0,15 mg/0,3 ml/ratón, po (3 ml/10 ratones) (compuesto 3, 1,5 mg (Reserva 50 mg/1 ml DMSO) 30 µl + 2970 µl ADD), n=8
6	Diclofenac® 10 mg/kg = 0,3 mg/0,3 ml/ratón, po (3 ml/10 ratones) de reserva (Diclofenac® 51 mg + 51000 µl ADD), n=8

5

Todos los grupos recibieron los fármacos diariamente por vía oral (po) durante 16 días. Los experimentos de la placa caliente se realizaron los días; 1, 8 y 15.

10

Se examinaron los siguientes parámetros: peso corporal (días 1, 8 15); campo abierto el día 16, incluida la distancia recorrida, la velocidad, la inmovilidad, la crianza, el tiempo de estancia en el centro y otros parámetros. Después del último experimento (es decir, campo abierto día 16), los animales se sacrificaron por decapitación y se extrajo su sangre 24 horas después de la última administración del fármaco. Para un examen de toxicidad (formaldehído al 4 %), se diseccionaron los siguientes órganos: hígado (vesícula biliar), bazo, pulmones, cerebro, corazón y riñón.

15

La placa caliente se mantiene termostáticamente a una temperatura de 52° C. Una hora antes de la administración de los fármacos, los ratones se someten a un ensayo de la placa caliente. En el momento 0, a los ratones se le administra el compuesto de ensayo y la respuesta a la placa caliente se mide nuevamente en diferentes momentos: 60, 120, 180, 240, 300 y 360 min.

20

Los resultados se expresan como: Delta desde la respuesta máxima [respuesta inicial frente a máxima]; medidas absolutas a lo largo del tiempo; y tiempo acumulado.

25

Las Figuras 1a y 1b proporcionan resultados gráficos que muestran una comparación de los compuestos compuestos 2 y 3 con Diclofenac® los días 1, 8 y 15.

30

La Figura 1c muestra datos de peso de órganos internos después de la administración de los compuestos de ensayo.

Datos adicionales mostraron que las composiciones 2-5 aumentaron significativamente el tiempo de reacción en comparación con el control. En la FIG. 1d se proporciona una muestra de dichos datos.

Estos datos muestran que los compuestos compuestos 2 y 3 son eficaces como analgésicos.

35

Ejemplo 2

Actividad nociceptiva usando el Compuesto 2

40

Usando el procedimiento descrito en el Ejemplo 1, 40 ratones macho (Balb/c, de 9 semanas de vida, sin tratamiento previo (*naïve*)), se dividieron en 5 grupos (8 ratones por grupo) y se trataron diariamente (0 min, po) con las formulaciones que se muestran en la siguiente tabla.

Formulación	Composición
1	Control - 0,2 % DMSO 0,3 ml/ratón, po (3 ml/10 ratones) (6 µl DMSO+ 2994 µl ADD), n=8.
2	Compuesto 2, 0,01 mg/kg =0,0003 mg/0,3 ml/ratón, po (3 ml/10 ratones) (Compuesto 2, 0,003 mg (Reserva 50 mg/1 ml DMSO) 0,06 µl + 2999,94 µl ADD), n=8
3	Compuesto 2, 0,1 mg/kg = 0,003 mg/0,3 ml/ratón, po (3 ml/10 ratones) (Compuesto 2, 0,03 mg (Reserva 50 mg/1 ml DMSO) 0,6 µl + 2999,4 µl ADD), n=8
4	Compuesto 2, 1 mg/kg = 0,03 mg/0,3 ml/ratón, po (3 ml/10 ratones) (Compuesto 2, 0,3 mg (Reserva 50 mg/1 ml DMSO) 6 µl + 2994 µl ADD), n=8
5	Compuesto 2, 0,1 mg/kg = 0,003 mg/0,3 ml/ratón, i.p. (3 ml/10 ratones) (Compuesto 2, 0,03 mg (Reserva 50 mg/1 ml DMSO) 0,6 µl + 2999,4 µl ADD), n=8

Los animales se determinaron en la placa caliente a: -60, 0, 120, 240, 360, 420 y 480 min. La temperatura media de la placa caliente era de 52 grados $\pm$ 1.

En las figuras 2a y 2b se proporcionan datos de estos ensayos.

Ejemplo 3

Actividad nociceptiva usando el Compuesto 2

Usando el procedimiento descrito en el Ejemplo 1, 40 ratones macho (Balb/c, de 9 semanas de vida, sin tratamiento previo), se dividieron en 5 grupos (8 ratones por grupo) y se trataron diariamente (0 min, po) con las formulaciones que se muestran en la siguiente tabla.

Formulación	Composición
1	Control - ADD+2,5 % DMSO 0,25 ml/ratón, po (2,5 ml/10 ratones) (63 µl DMSO+ 2437 µl ADD), n=8.
2	Compuesto 2, 25 eqM (12,5) mg/kg =0,3125 mg/0,25 ml/ratón, po (2,5 ml/10 ratones) ((Compuesto 2, 3,125 mg (Reserva 50 mg/1 ml DMSO) 63 µl + 2437 µl ADD)
3	Compuesto 2, 12,5 eqM (6,25) mg/kg =0,15625 mg/0,25 ml/ratón, po (2,5 ml/10 ratones) ((Compuesto 2, 1,5625 mg (Reserva 50 mg/1 ml DMSO) 32 µl + 2468 µl ADD)
4	Compuesto 2, 6,25 eqM (3,125) mg/kg =0,078 mg/0,25 ml/ratón, po (2,5 ml/10 ratones) ((Compuesto 2, 0,78 mg (Reserva 50 mg/1ml DMSO) 16 µl + 2484 µl ADD)

Los animales se determinaron en la PC a: -60, 0, 60, 120, 180, 240, 300 y 360 min. La temperatura media de la placa caliente era de 52 grados $\pm$ 1.

En las figuras 3a, 3b y 3c se proporcionan datos de este ensayo.

Ejemplo 4

Actividad nociceptiva usando el Compuesto 2

Usando el procedimiento descrito en el Ejemplo 1, 40 ratones macho (Balb/c, de 13 semanas de vida, con tratamiento previo (*not naïve*)), se dividieron en 5 grupos (8 ratones por grupo) y se trataron diariamente (0 min, po) con las formulaciones que se muestran en la siguiente tabla.

Formulación	Composición
1	Control - ADD + 0,2 % DMSO 0,3 ml/ratón, po (3 ml/10 ratones) (6 µl DMSO + 2994 µl ADD), n=8.
2	Compuesto 2 (Pm 357) 1 mg/kg =0,03 mg/0,3 ml/ratón, po (3 ml/10 ratones) ((Compuesto 2, 0,3 mg (Reserva 50 mg/1 ml DMSO) 6 µl + 2994 µl ADD)
3	Compuesto 2 (Pm 357) 0,2 mg/kg =0,006 mg/0,3 ml/ratón, po (3 ml/10 ratones) ((Compuesto 2, 0,06 mg (Reserva 50 mg/1 ml DMSO) 1,2 µl + 2998,8 µl ADD)
4	Compuesto 2 (Pm 357) 0,04 mg/kg =0,0012 mg/0,3 ml/ratón, po (3 ml/10 ratones) ((Compuesto 2, 0,012 mg (Reserva 50 mg/1 ml DMSO) 0,24 µl + 2999,76 µl ADD)
5	Compuesto 2 (Pm 357) 0,008 mg/kg =0,00024 mg/0,3 ml/ratón, po (3 ml/10 ratones) ((Compuesto 2, 0,0024 mg (Reserva 50 mg/1 ml DMSO) 0,048(0,05) µl + 2999,95 µl ADD)

Los animales se determinaron en la PC a: -60, 0, 60, 120, 180, 240, 300 y 360 min. Después del tratamiento. La temperatura media de la placa caliente era de 52 grados $\pm$ 1.

En las figuras 4a y 4b se proporcionan datos de este ensayo.

Ejemplo 5

Actividad nociceptiva usando los Compuestos 2 y 3

- 5 Usando el procedimiento descrito en el Ejemplo 1, 40 ratones macho (Balb/c, de 15 semanas de vida, con tratamiento previo), se dividieron en 5 grupos (8 ratones por grupo) y se trataron diariamente (0 min, po) con las formulaciones que se muestran en la siguiente tabla.

Formulación	Composición
1	Control - ADD + 0,02 % DMSO 0,3 ml/ratón, po (3 ml/10 ratones) (0,06 µl DMSO+ 2999,94 µl ADD), n=8.
2	Compuesto 2 (PM=357) 0,01 mg/kg =0,0003 mg/0,3 ml/ratón, po (3 ml/10 ratones) (Compuesto 2, 0,003 mg (Reserva 50 mg/1000 µl DMSO) 0,06 µl + 2999,94 µl ADD), n=8
3	Compuesto 2, 0,001 mg/kg =0,00003 mg/0,3 ml/ratón, po (3 ml/10 ratones) (Compuesto 2, 0,0003 mg (Reserva 50 mg/1000 µl DMSO) 0,006 µl + 2999,994 µl ADD), n=8
4	Compuesto 3 (PM=343) 0,01 mg/kg =0,0003 mg/0,3 ml/ratón, po (3 ml/10 ratones) (Compuesto 3, 0,003 mg (Reserva 50 mg/1000 µl DMSO) 0,06 µl + 2999,94 µl ADD), n=8
5	Compuesto 3, 0,001 mg/kg =0,00003 mg/0,3 ml/ratón, po (3 ml/10 ratones) (Compuesto 3, 0,0003 mg (Reserva 50 mg/1000 µl DMSO) 0,006 µl + 2999,994 µl ADD), n=8

- 10 Los animales se determinaron en la PC a: -60, 0, 60, 120, 180, 240, 300 y 360 min. después del tratamiento. La temperatura media de la placa caliente era de 52 grados $\pm$ 1.

En las figuras 5a y 5b se proporcionan datos de este ensayo.

Ejemplo 6

- 15 Actividad nociceptiva usando el Compuesto 2
- 20 Usando el procedimiento descrito en el Ejemplo 1, 40 ratones macho (Balb/c, de 9 semanas de vida, con tratamiento previo), se dividieron en 5 grupos (8 ratones por grupo) y se trataron diariamente (0 min, po) con las formulaciones que se muestran en la siguiente tabla.

Formulación	Composición
1	Control - ADD + 1,24 % DMSO 0,25 ml/ratón, po (2,5 ml/10 ratones) (31 µl DMSO+ 2469 µl ADD), n=8.
2	Compuesto 2 (Pm 357) 6,25 mg/kg = 0,15625 mg/0,25 ml/ratón, po (2,5 ml/10 ratones) ((Compuesto 2, 1,5625 mg (Reserva 50 mg/1 ml DMSO) 31,25 (31) µl + 2469 µl ADD)
3	Compuesto 2 (Pm 357) 2,083 (2,1) mg/kg =0,052 mg/0,25 ml/ratón, po (2,5 ml/10 ratones) ((Compuesto 2, 0,52 mg (Reserva 50 mg/1 ml DMSO) 10,415 (10) µl + 2490 µl ADD)
4	Compuesto 2 (Pm 357) 0,694 (0,7) mg/kg =0,01735 mg/0,25 ml/ratón, po (2,5 ml/10 ratones) ((Compuesto 2, 0,1735 mg (Reserva 50 mg/1 ml DMSO) 3,47(3) µl + 2497 µl ADD)
5	Gabapentina (GBP) 30 mg/kg = 7,5 mg/0,25 ml/ratón, po (2,5 ml/10 ratones) (GBP 7,5 mg+2500 µl ADD)

- 25 Los animales se determinaron en la PC a: -60, 0, 60, 120, 180, 240, 300 y 360 min. y 24 h después del tratamiento. La temperatura media de la placa caliente era de 52 grados $\pm$ 1.

En las figuras 6a-e se proporcionan datos de este ensayo.

Ejemplo 7

- 30 Actividad nociceptiva usando el Compuesto 1
- 35 Usando el procedimiento descrito en el Ejemplo 1, 40 ratones macho (Balb/c, de 12 semanas de vida, sin tratamiento previo), se dividieron en 5 grupos (8 ratones por grupo) y se trataron diariamente (0 min, po) con las formulaciones que se muestran en la siguiente tabla.

Formulación	Composición
1	Control - ADD + 5 % DMSO 0,25 ml/ratón, po (2,5 ml/10 ratones) (125 µl DMSO + 2375 µl ADD), n=8.
2	Compuesto 1, 25 mg/kg = 0,625 mg/0,25 ml/ratón, po (2,5 ml/10 ratones) (Compuesto 1 1,5625 mg (Reserva 30 mg/0,6 ml DMSO) 32 µl + 2468 µl ADD)
3	Compuesto 1 (Pm 415) eqM 25 mg/kg (15 mg/kg) = 3,75 mg/0,25 ml/ratón, po (2,5 ml/10 ratones) (Compuesto 1 3.75 mg (Reserva 30 mg/0,6 ml DMSO) 75 µl + 2425 µl ADD)

Formulación	Composición
4	Compuesto 1 (Pm 415) eqM 12.5 mg/Kg (7.5 mg/kg) = 1.875 mg/0.25 ml/ratón, po (2.5 ml/10 ratones)(Compuesto 1, 1,875 mg (Reserva 30 mg/0,6 ml DMSO) 37,5 (38) µl + 2462 µl ADD)

Los animales se determinaron en la PC a: -60, 0, 60, 120, 180, 240, 300 y 360 min. y 24 h. La temperatura media de la placa caliente era de 52 grados $\pm$ 1.

- 5 En las figuras 7a-d se proporcionan datos de este experimento.

Ejemplo 8

Actividad nociceptiva usando el Compuesto 3

- 10 Usando el procedimiento descrito en el Ejemplo 1, 37 ratones macho (Balb/c, de 16 semanas de vida, con tratamiento previo), se dividieron en 5 grupos y se trataron diariamente (0 min, po) con las formulaciones que se muestran en la siguiente tabla.

Formulación	Composición
1	Control - ADD + 1,2 % DMSO 0,3 ml/ratón, po (3 ml/10 ratones) (36 µl DMSO+ 2964 µl ADD), n=7.
2	Compuesto 3 (PM=343) 0,06 mg/kg =0,0018 mg/0,3 ml/ratón, po (3 ml/10 ratones) (Compuesto 3, 0,018 mg (Reserva 4,6 mg/92 µl DMSO) 0,36 µl + 2999,64 µl ADD), n=7
3	Compuesto 3, 0,6 mg/kg =0,018 mg/0,3 ml/ratón, po (3 ml/10 ratones) (Compuesto 3, 0,18 mg (Reserva 4,6 mg/92 µl DMSO) 3,6 µl + 2996,4 µl ADD), n=7
4	Compuesto 3, 6 mg/kg =0,18 mg/0,3 ml/ratón, po (3 ml/10 ratones) (Compuesto 3, 1,8 mg (Reserva 4,6 mg/92 µl DMSO) 36 µl + 2964 µl ADD), n=8
5	Diclofenac 50 mg/kg =1,25 mg/0,3 ml/ratón, po (3 ml/10 ratones) Diclofenac 14,4 mg + 0,25 µl DMSO+ 2999,75 µl ADD), n=8

- 15 Los animales se determinaron en la PC a: -60, 0, 60, 120, 180, 240, 300 y 360 min. después del tratamiento. La temperatura media de la placa caliente era de 52 grados $\pm$ 1.

En las figuras 8a y 8b se proporcionan datos de este experimento.

20

Ejemplo 9

Actividad nociceptiva usando los Compuestos 1 y 2

- 25 Usando el procedimiento descrito en el Ejemplo 1, 40 ratones macho (Balb/c, de 13 semanas de vida, con tratamiento previo), se dividieron en 5 grupos y se trataron diariamente (0 min, po) con las formulaciones que se muestran en la siguiente tabla.

Formulación	Composición
1	Control - ADD + 0,8 % DMSO 0,3 ml/ratón, po (3 ml/10 ratones) (24 µl DMSO + 2976 µl ADD), n=8.
2	Compuesto 2 (Pm 357) 4 mg/kg =0,12 mg/0,3 ml/ratón, po (3 ml/10 ratones) ((Compuesto 2, 1,2 mg (Reserva 50 mg/1 ml DMSO) 24 µl + 2976 µl ADD)
3	Compuesto 2 (Pm 357) 0,04 mg/kg =0,0012 mg/0,3 ml/ratón, po (3 ml/10 ratones) ((Compuesto 2, 0,012 mg (Reserva 50 mg/1ml DMSO) 0,24 µl + 2999,76 µl ADD)
4	Compuesto 1 (Pm 415) eq. 4 (4,65) mg/kg =0,14 mg/0,3 ml/ratón, po (3 ml/10 ratones) ((Compuesto 1, 1,395 mg (Reserva 30 mg/0,6 ml DMSO) 27,9(28) µl + 2972 µl ADD)
5	Compuesto 1 (Pm 415) eq. 0,04 (0,05) mg/kg =0,0014 mg/0,3 ml/ratón, po (3 ml/10 ratones) ((Compuesto 1, 0,014 mg (Reserva 60 mg/0,6 ml DMSO) 0,279 (0,28) µl + 2999,72 µl ADD)

- 30 Los animales se determinaron en la PC a: -60, 0, 60, 120, 180, 240, 300 y 360 min. después del tratamiento. La temperatura media de la placa caliente era de 52 grados $\pm$ 1.

En las figuras 9a-e se proporcionan datos de este experimento.

Ejemplo 10

Actividad nociceptiva usando los Compuestos 1 y 2

Usando el procedimiento descrito en el Ejemplo 1, 40 ratones macho (Balb/c, de 13 semanas de vida, con

tratamiento previo), se dividieron en 5 grupos y se trataron diariamente (0 min, po) con las formulaciones que se muestran en la siguiente tabla.

Formulación	Composición
1	Control - ADD + 0,04 % DMSO 0,3 ml/ratón, po (3 ml/10 ratones) (1,2 µl DMSO+ 2998,8 µl ADD), n=8.
2	Compuesto 1, 0,125 mg/kg =0,00375 mg/0,3 ml/ratón, po (3 ml/10 ratones) (Compuesto 1 0,0375 mg (Reserva 60 mg/1,2 ml DMSO) 0,75 µl + 2999,25 µl ADD), n=8
3	Compuesto 2, 0,1 mg/kg =0,003 mg/0,3 ml/ratón, po (3 ml/10 ratones) (Compuesto 2, 0,03 mg (Reserva 60 mg/1,2 ml DMSO) 0,6 µl + 2999,4 µl ADD), n=8
4	Diclofenac 50 mg/kg =1,25 mg/0,3 ml/ratón, po (3 ml/10 ratones) Diclofenac 12,5 mg + 0,25 µl DMSO+ 2999,75 µl ADD), n=8

- 5 Los animales se determinaron en la PC a: -60, 0, 60, 120, 180, 240, 300 y 360 min. después del tratamiento. La temperatura media de la placa caliente era de 52 grados $\pm$ 1.

En las figuras 10a, 10b y 10c se proporcionan datos de este experimento.

10 Ejemplo 11

Ensayo de edema

- 15 Ratitas macho SD (de 9 semanas de vida, sin tratamiento previo), se dividieron en 5 grupos (6 ratones en cada grupo) y se trataron (-120 min, p.o.) con las formulaciones que se muestran en la siguiente tabla.

Formulación	Composición
1	Control - ADD+10 % DMSO 0,3 ml/rata, po (2,4 ml/8 ratas) (241 µl DMSO+ 2159 µl ADD)
2	Compuesto 2, 1 mg/kg = 0,3 mg/0,3 ml/rata, po (2,4 ml/8 ratas) (Compuesto 2, 2,4 mg (Reserva 21,5 mg/0,43 ml DMSO) 32 µl +2352 µl ADD)
3	Compuesto 2, 5 mg/kg =1,5 mg/0,3 ml/rata, po (2,4 ml/8 ratas) (Compuesto 2, 12 mg (Reserva 21,5 mg/0,43 ml DMSO) 241 µl + 2159 µl ADD)
4	Compuesto 3, 1 mg/kg =0,3 mg/0,3 ml/rata, po (2,4 ml/8 ratas) (Compuesto 3, 2,4 mg (Reserva 19,1 mg/0,382 ml DMSO) 32 µl + 2352 µl ADD)
5	Compuesto 3, 5 mg/kg =1,5 mg/0,3 ml/rata, po (2,4 ml/8 ratas) (Compuesto 3, 12 mg (Reserva 19,1 mg/0,382 ml DMSO) 241 µl + 2159 µl ADD)

En la figura 11 se proporcionan datos de este ensayo.

20 Ejemplo 12

Ensayo con formalina

- 25 Ensayo con formalina. Este método utilizado era similar al descrito por Hunscaar y Hole (1987) "The formalin test in rats: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain," Pain 30, págs. 103-104.

Se usaron cinco animales en cada grupo y dos o tres horas después de la administración oral de los conjugados, se inyectaron por vía subcutánea 40 µl o 20 µl (ratas o ratones, respectivamente) de una solución de formalina al 1 % (en solución salina al 0,9 %) en la superficie dorsal de la pata trasera. Se comprobó el comportamiento típico de retroceso inducido por formalina de la pata donde se aplicó la inyección. Los animales se llevaron a una cámara de vidrio y se midió el tiempo total que pasó el animal lamiendo o mordiendo la pata inyectada. El comportamiento del dolor inducido por formalina es bifásico. La duración del lamido de las patas se determinó durante los dos períodos de tiempo siguientes: 0-5 min (primera fase neurogénica) y 20-30 min (segunda fase inflamatoria) después de recibir la inyección de formalina.

- 35 Parte a. Ratones macho (ratones Balb/c de 27 semanas de vida con tratamiento previo) se dividieron en 4 grupos (5 ratones por grupo) y se trataron (0 min, i.p.) con las siguientes formulaciones, respectivamente:

Formulación	Composición
1a	Control - (0,2 ml DMSO + 3,52 solución salina) i.p. 0,3 ml/ ratón. n=5.
2a	Compuesto 2, 0,2 mg/kg = 0,006 mg/0,3 ml/ratón, 6 ratones/0,036 mg/1,8 ml = (0,72 µl (2 mg compuesto 2 + 40 µl DMSO) + 1799,28 µl ADD) n=5.
3a	Compuesto 2, 1 mg/kg = 0,03 mg/0,3 ml/ratón, 6 ratones/0,18 mg/1,8 ml = (3,6 µl (2 mg compuesto 2 + 40 µl DMSO) + 1796,4 µl ADD) n=5.
4a	Compuesto 2, 2,5 mg/kg = 0,15 mg/0,3 ml/ratón, 6 ratones/0,9 mg/1,8 ml = (9 µl (2 mg reserva compuesto 2 + 40 µl DMSO) + 1782 µl ADD) n=5.

Parte b. Ratones macho (ratones Balb/c de 27 semanas de vida con tratamiento previo) se dividieron en 4 grupos (5 ratones por grupo) y se trataron (0 min, i.p.) con las siguientes formulaciones, respectivamente:

Formulación	Composición
1b	Control - (0,2 ml DMSO + 3,52 solución salina) i.p. 0,3 ml/ ratón. n=5.
2b	Compuesto 2, 0,2 mg/kg= 0,006 mg/0,3 ml/ratón, 6 ratones/0,036 mg/1,8 ml = (0,72 µl (1,3 mg compuesto 2 + 26 µl DMSO) + 1799,28 µl ADD) n=5.
3b	Compuesto 2, 1 mg/kg = 0,03 mg/0,3 ml/ratón, 6 ratones/0,18 mg/1,8 ml = (3,6 µl (1,3 mg compuesto 2 + 26 µl DMSO) + 1796,4 µl ADD) n=5.
4b	Compuesto 2, 2,5 mg/kg = 0,15 mg/0,3 ml/ratón, 6 ratones/0,9 mg/1,8 ml = (9 µl (1,3 mg compuesto 2 + 26 µl DMSO) + 1782 µl ADD) n=5.

5

Tabla 1a. Datos de la Parte a.

Formalina 1 % (50 µl) vía intraplantar en la pata trasera derecha (3 h después del tratamiento)

n.º de ratón	peso	tratamiento	Formalina	5 min	inflam.	10 min
1		08:20	11:20		11:40	
2		08:30	11:30		11:50	
3		08:40	11:40		12:00	
4		08:50	11:50		12:10	
5		09:00	12:00		12:20	
6		09:10	12:10		12:30	
7		09:20	12:20		12:40	
8		09:30	12:30		12:50	
9		09:40	12:40		13:00	
10		09:50	12:50		13:10	
11		10:50	13:50		14:10	
12		11:00	14:00		14:20	
13		11:10	14:10		14:30	
14		11:20	14:20		14:40	
15		11:30	14:30		14:50	
16		11:40	14:40		15:00	
17		11:50	14:50		15:10	
18		12:00	15:00		15:20	
19		12:10	15:10		15:30	
20		12:20	15:20		15:40	

Tabla 1b. Datos de la Parte b.

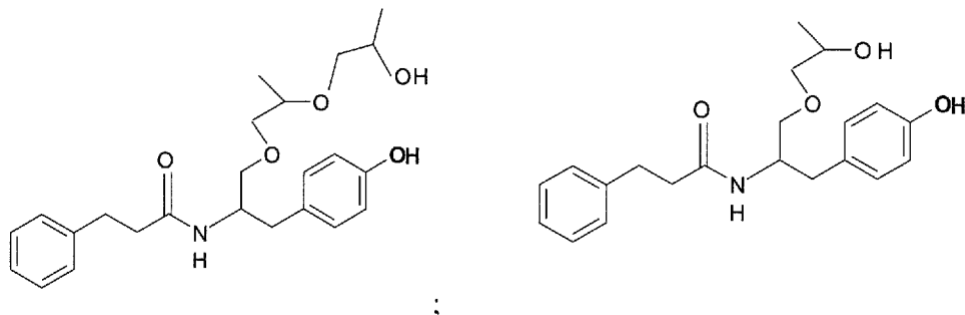
Formalina 1 % (50 µl) vía intraplantar en la pata trasera derecha (4 h después del tratamiento)						
n.º de ratón	peso	tratamiento	Formalina	5 min	inflam.	10 min
1		06:30	10:30		10:50	
2		06:40	10:40		11:00	
3		06:50	10:50		11:10	
4		07:00	11:00		11:20	
5		07:10	11:10		11:30	
6		07:20	11:20		11:40	
7		07:30	11:30		11:50	
8		07:40	11:40		12:00	
9		07:50	11:50		12:10	
10		08:00	12:00		12:20	
11		08:10	12:10		12:30	
12		08:20	12:20		12:40	
13		08:30	12:30		12:50	
14		08:40	12:40		13:00	
15		08:50	12:50		13:10	
16		09:00	13:00		13:20	

Formalina 1 % (50 µl) vía intraplantar en la pata trasera derecha (4 h después del tratamiento)						
n.º de ratón	peso	tratamiento	Formalina	5 min	inflam.	10 min
17		09:10	13:10		13:30	
18		09:20	13:20		13:40	
19		09:30	13:30		13:50	
20		09:40	13:40		14:00	

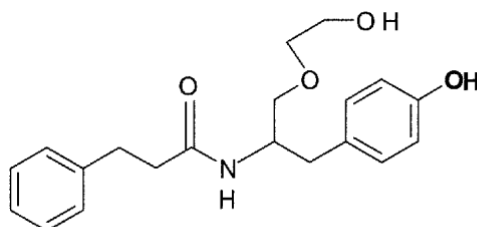
Los resultados de estos ensayos se muestran gráficamente en las Figuras 12a y 12b, respectivamente. Las figuras 12c, 12d y 12e proporcionan datos adicionales basados en el tiempo de medición. Estos datos confirman además las propiedades antiinflamatorias del Compuesto 2.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto para su uso en el tratamiento o la profilaxis del dolor, en el que el compuesto se selecciona del grupo que consiste en



y



o una forma isomérica quiral, diastereomérica, racémica o geométrica del mismo.

2. Un compuesto para su uso según la reivindicación 1, para el tratamiento del dolor agudo o crónico.

3. Un compuesto para su uso según la reivindicación 1, para el tratamiento del dolor nociceptivo o neuropático.

4. Una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento o la profilaxis del dolor, comprendiendo dicha composición una cantidad farmacéuticamente eficaz de uno o más de los compuestos reivindicados en la reivindicación 1, opcionalmente junto con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

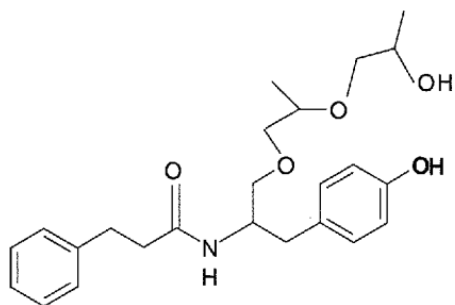
5. Una composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 4, cuya composición comprende dicho uno o más compuestos en forma sustancialmente pura, consistiendo dicha forma sustancialmente pura en al menos 95 % en peso de dicho uno o más compuestos y hasta 5 % en peso de polialquilenglicol libre, siendo la cantidad total en dicha forma de dicho uno o más compuestos y de dicho polialquilenglicol libre de 100 % en peso.

6. Una composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 4, cuya composición comprende dicho uno o más compuestos en forma parcialmente pura, consistiendo dicha forma parcialmente pura en aproximadamente 5-60 % en peso del uno o más compuestos y en aproximadamente 95-40 % en peso de polialquilenglicol libre, siendo la cantidad total de 100 % en peso.

7. Una composición farmacéutica para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 4-6, que está formulada para administración oral.

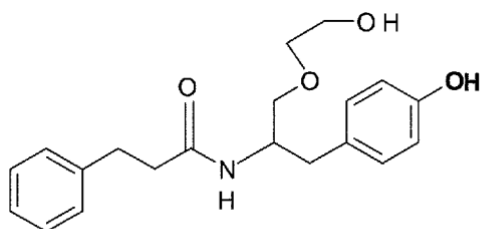
8. Una composición farmacéutica para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 4-7, en la que dicha composición se formula como una forma de dosificación unitaria, que comprende preferiblemente de 0,1 a aproximadamente 500 mg del uno o más compuestos, comprendiendo más preferiblemente de 1 a 300 mg, más preferiblemente de 1 a 50 mg, lo más preferiblemente de 25 a 50 mg de uno o más compuestos.

9. Un compuesto para su uso en el tratamiento o la profilaxis de inflamación, en el que el compuesto se selecciona del grupo que consiste en:



;

y



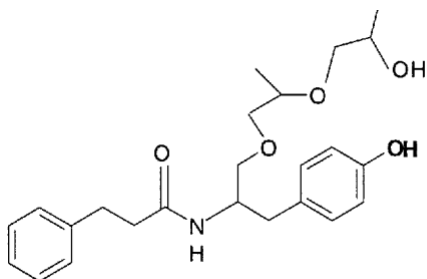
5

,

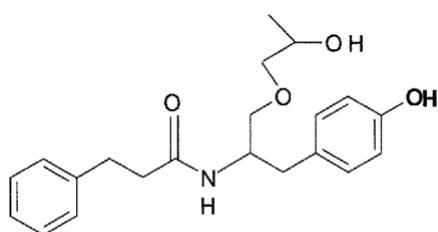
o una forma isomérica quiral, diastereomérica, racémica o geométrica del mismo.

10. Uso de un compuesto para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la profilaxis del dolor, en el

que el compuesto se selecciona del grupo que consiste en



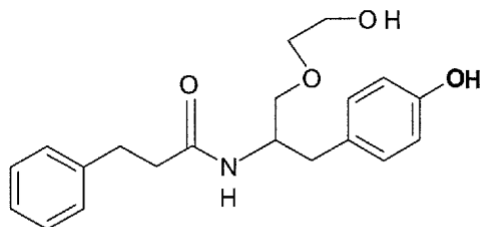
;



;

y

15



;

o una forma isomérica quiral, diastereomérica, racémica o geométrica del mismo.

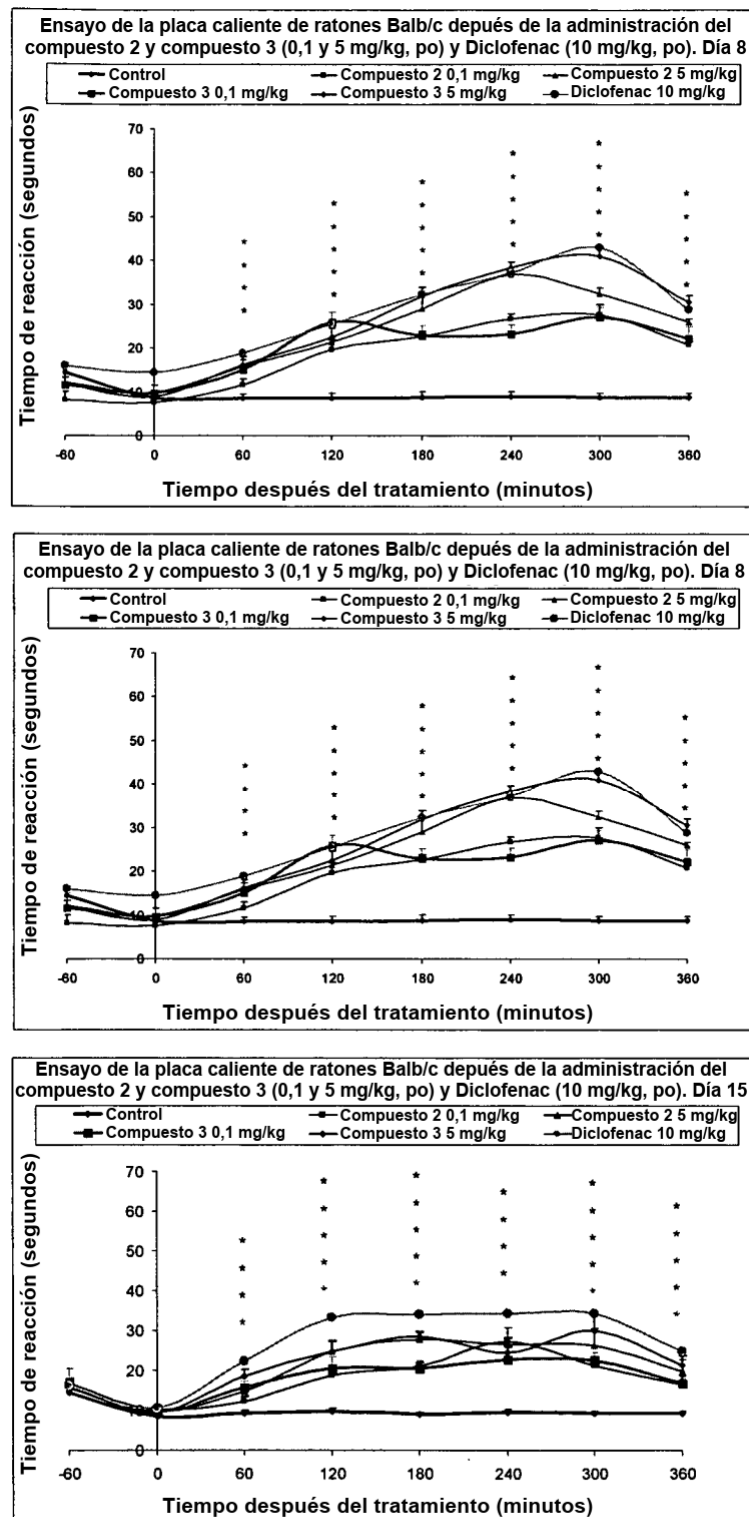


FIG 1a.

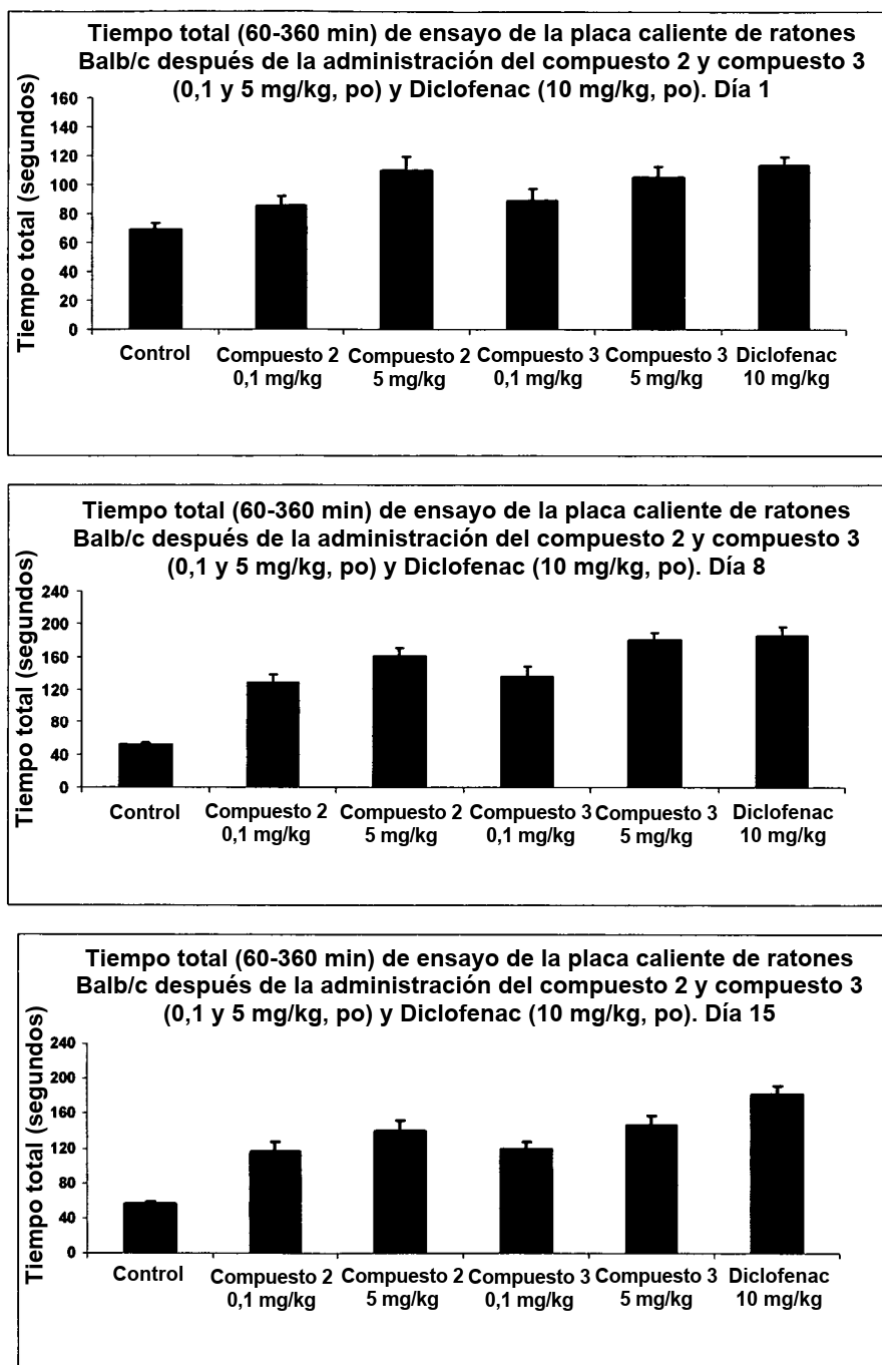


FIG 1b.

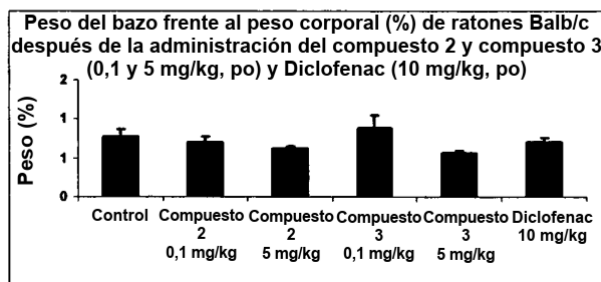
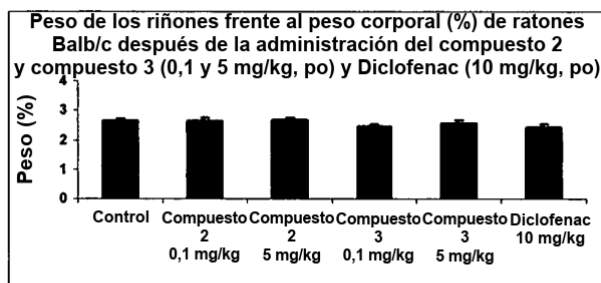
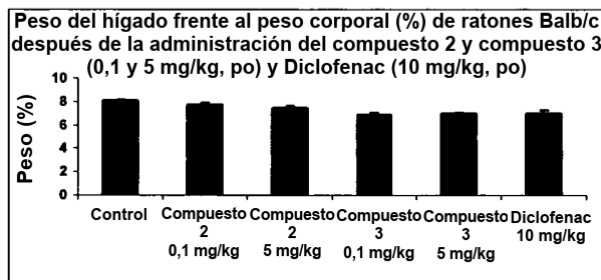
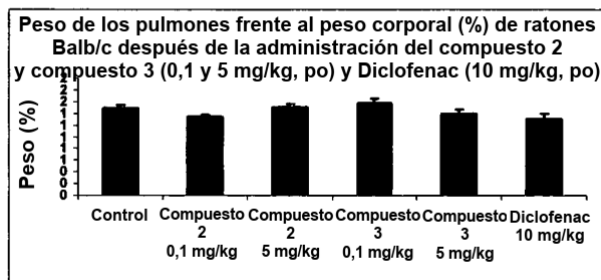
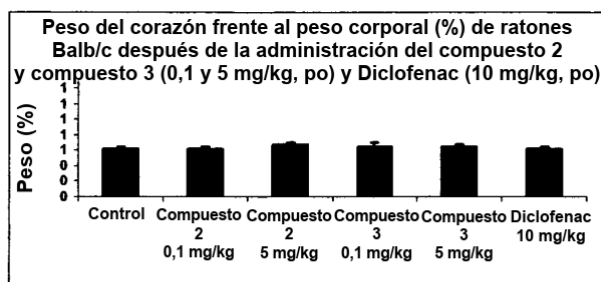


FIG. 1c

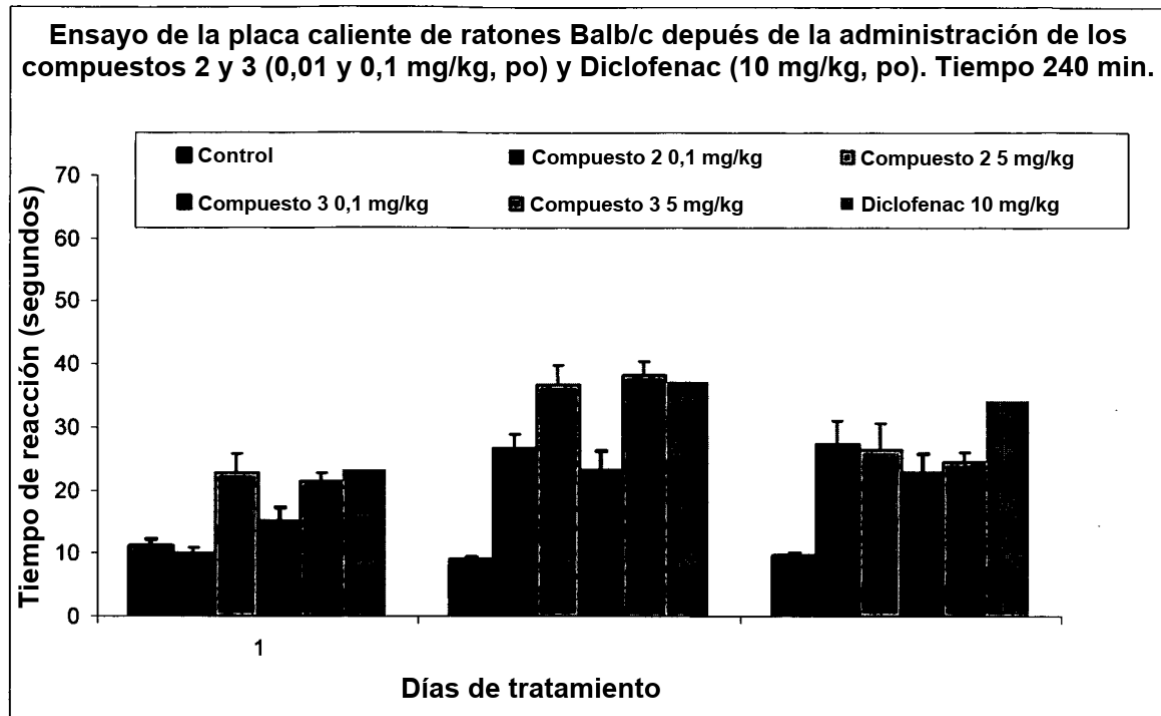


FIG. 1d

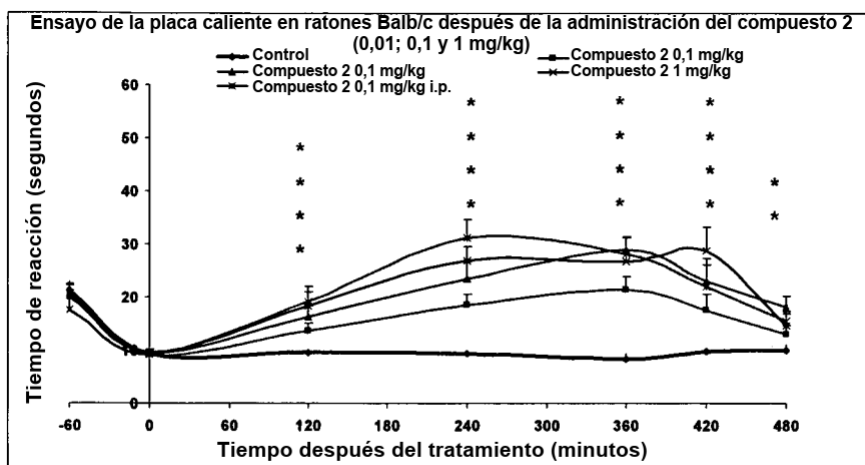


FIG 2a

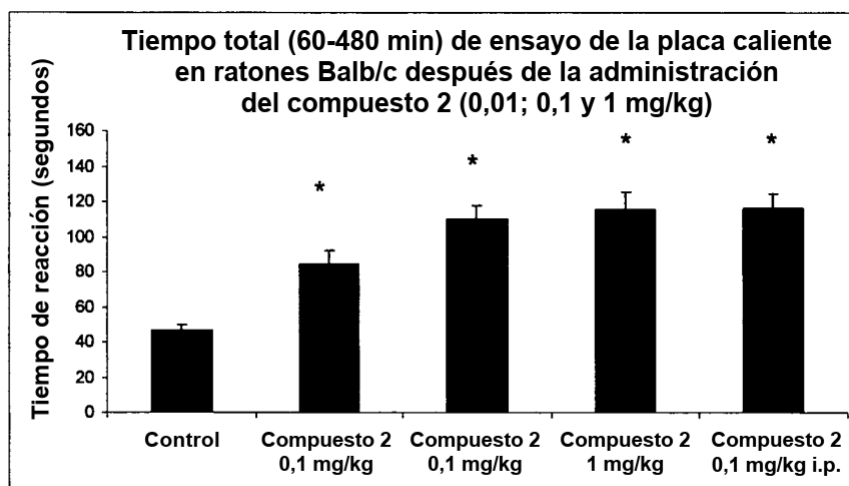


FIG 2b.

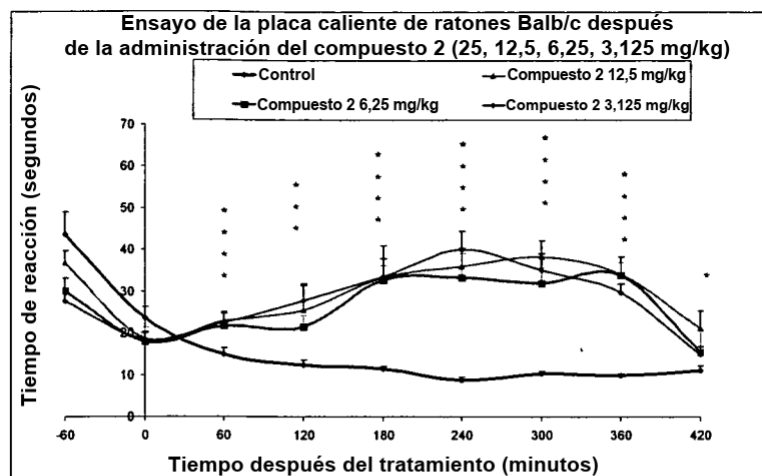


FIG 3a.

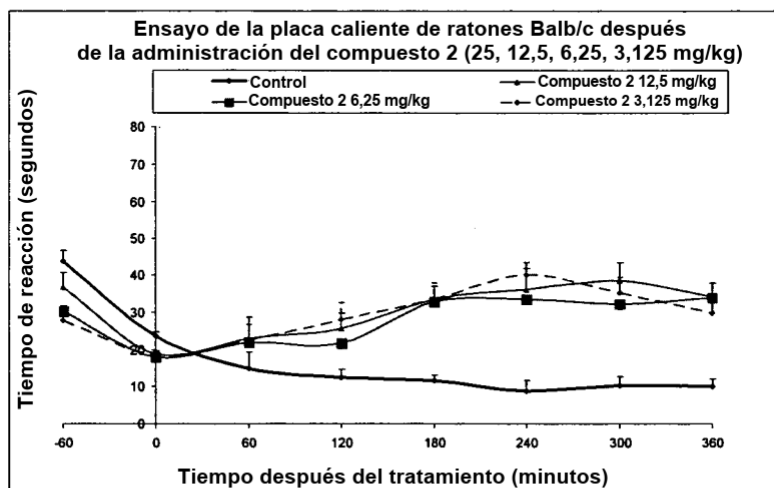


FIG. 3b

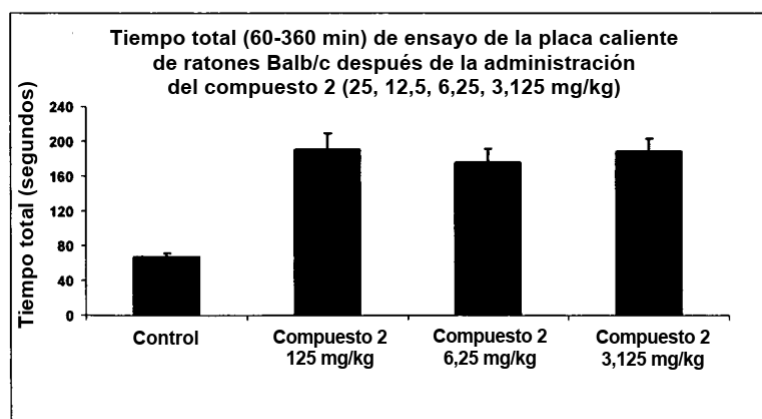


FIG. 3c

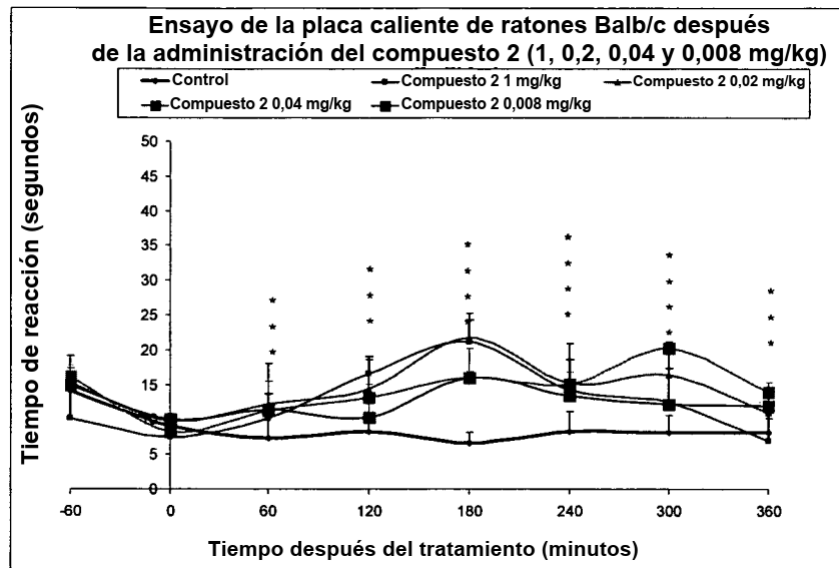


FIG. 4a

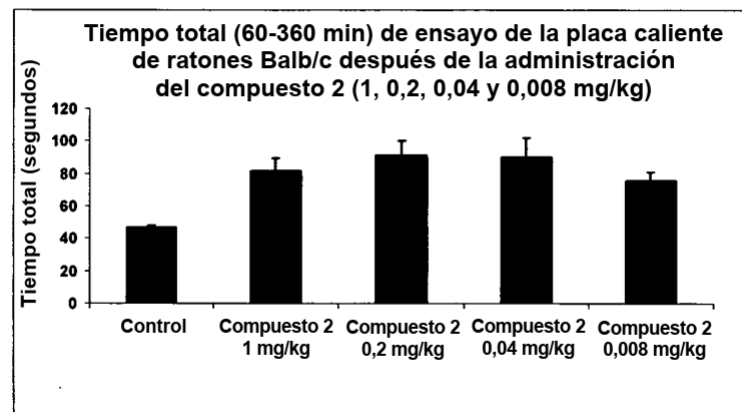


FIG. 4b

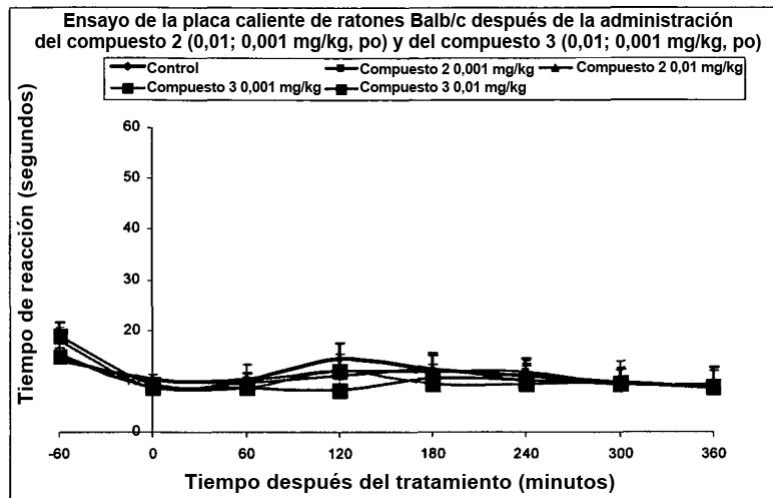


FIG. 5a

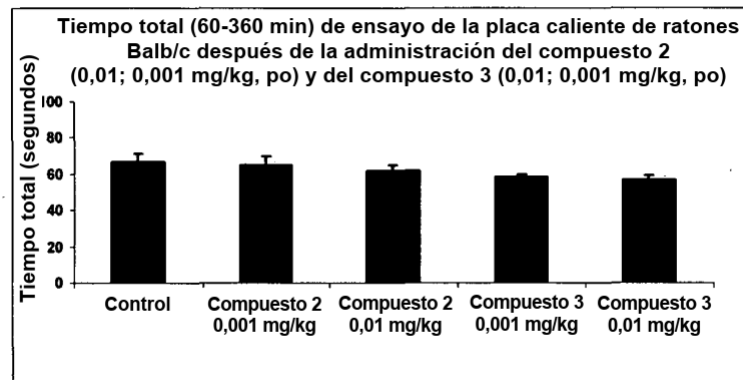


FIG. 5b

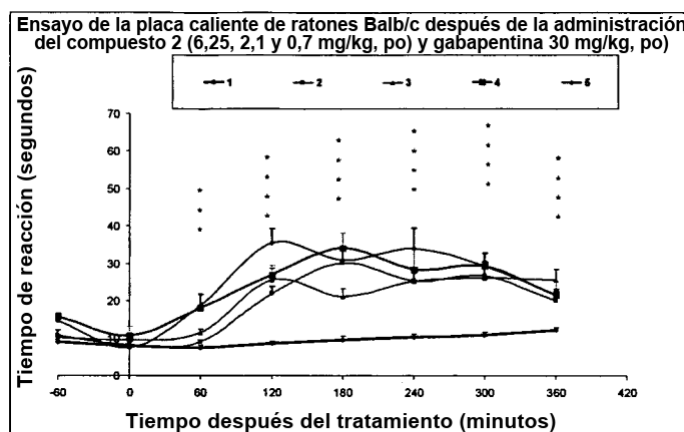


FIG. 6a.

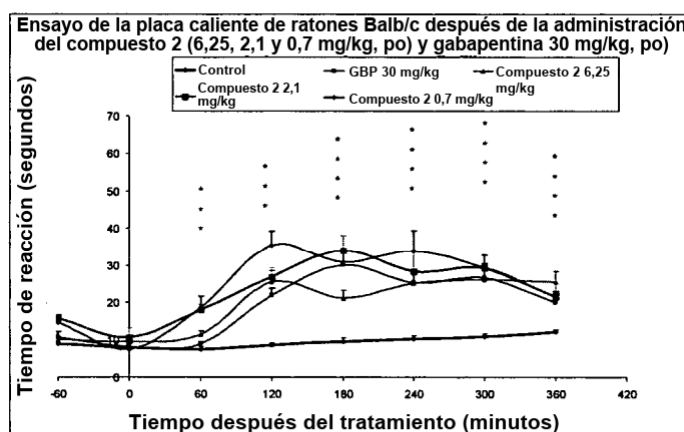


FIG 6b.

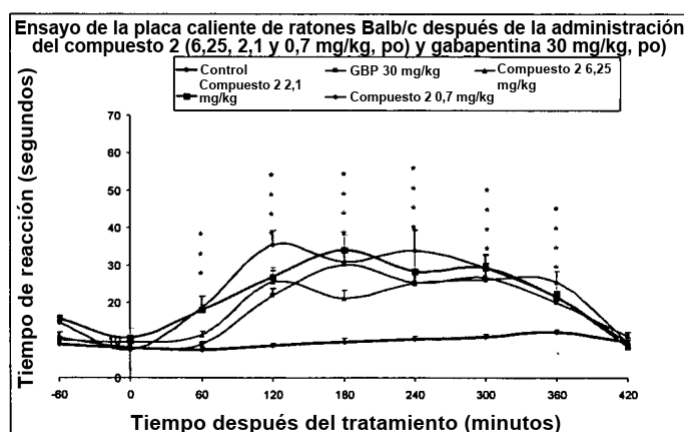


FIG. 6c

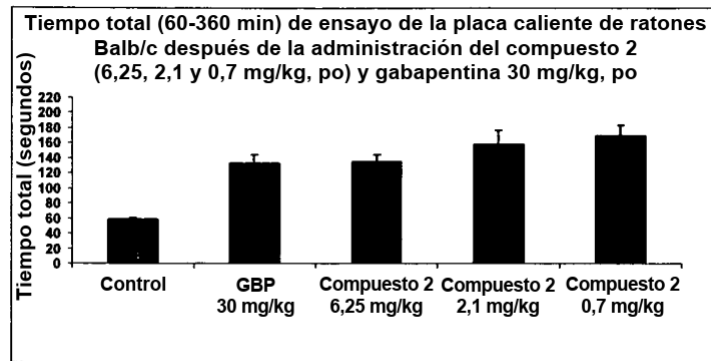


FIG. 6d.

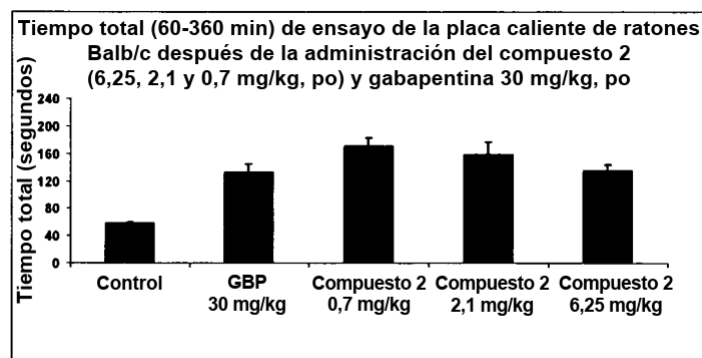


FIG. 6e

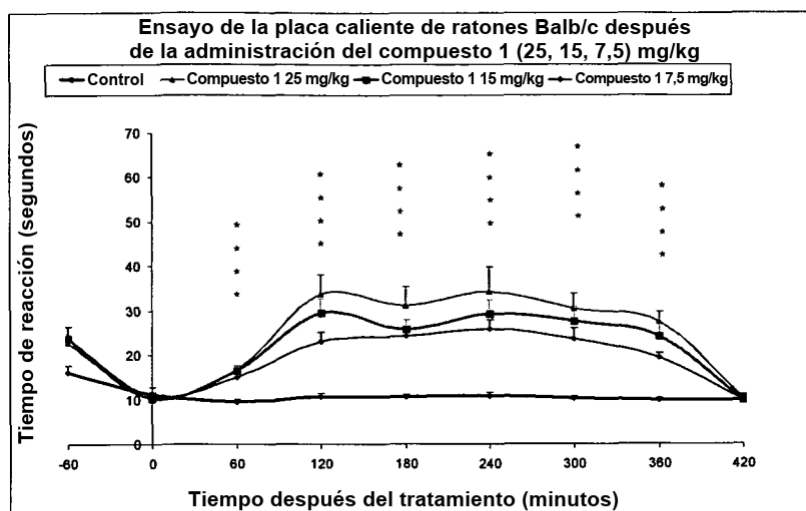


FIG. 7a

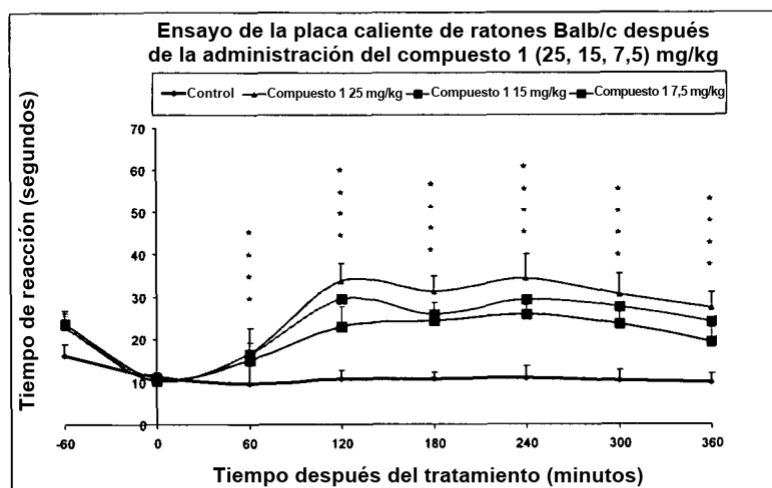


FIG. 7b

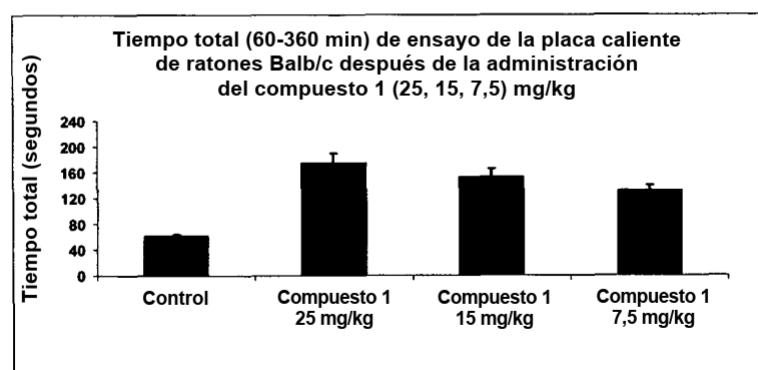


FIG. 7c

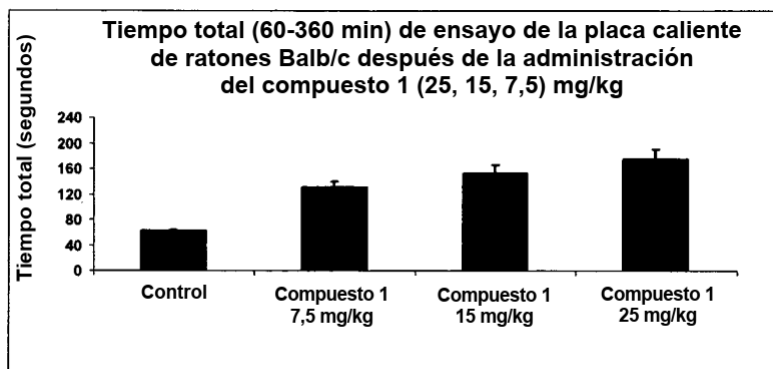


FIG. 7d

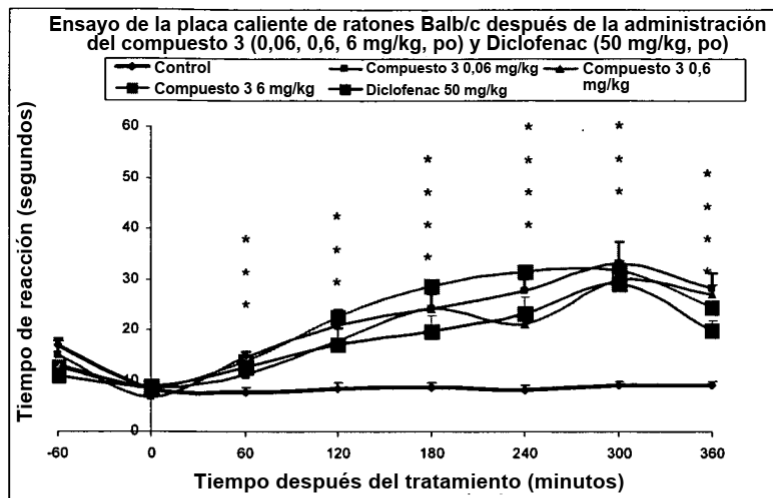


FIG. 8a

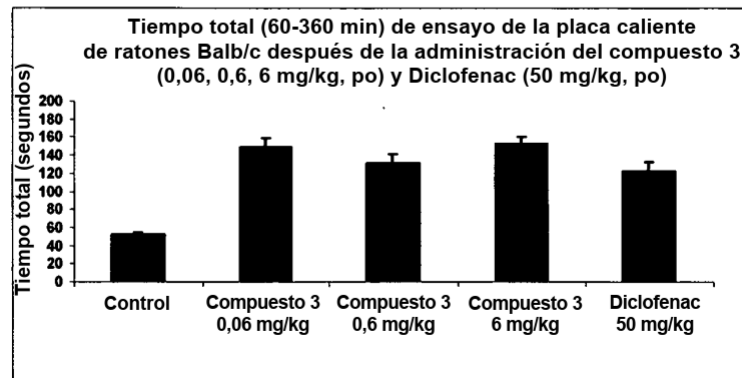


FIG. 8b

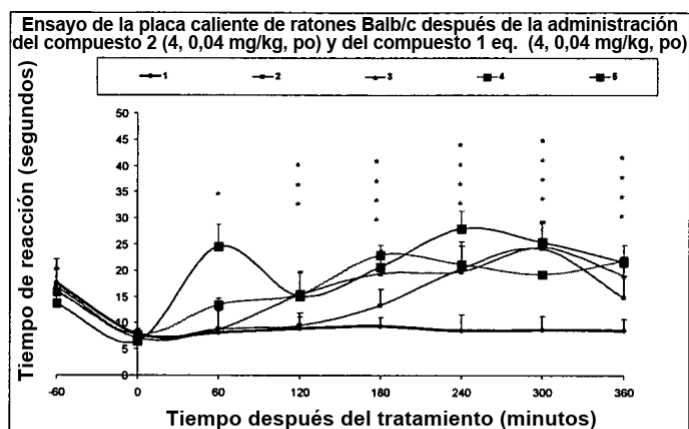


FIG. 9a

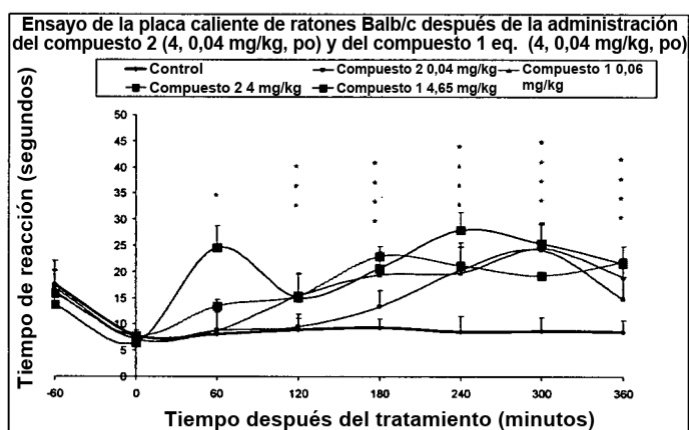


FIG. 9b

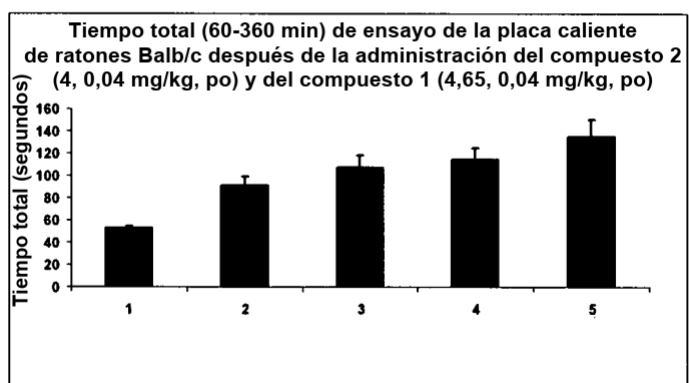


FIG. 9c

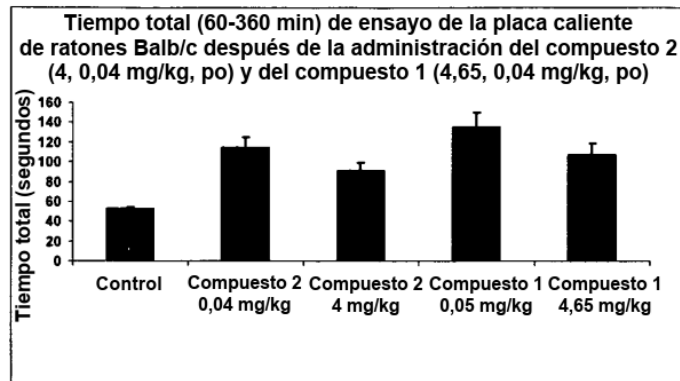


FIG. 9d

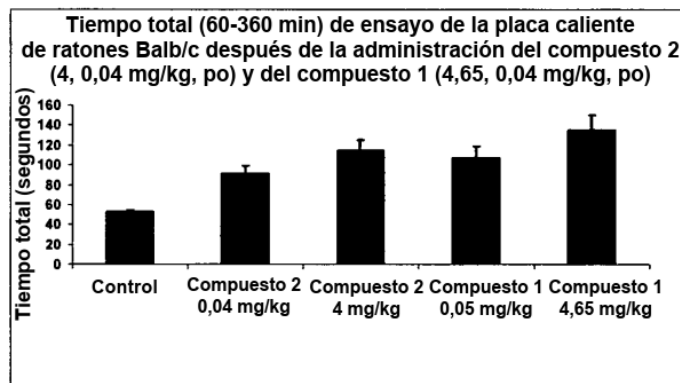


FIG. 9e

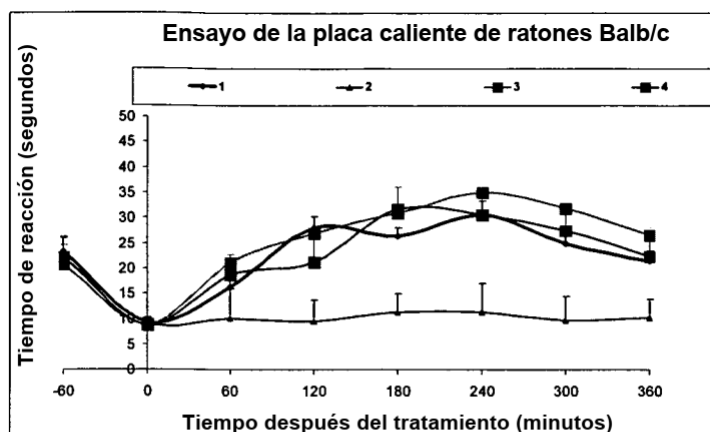


FIG. 10a

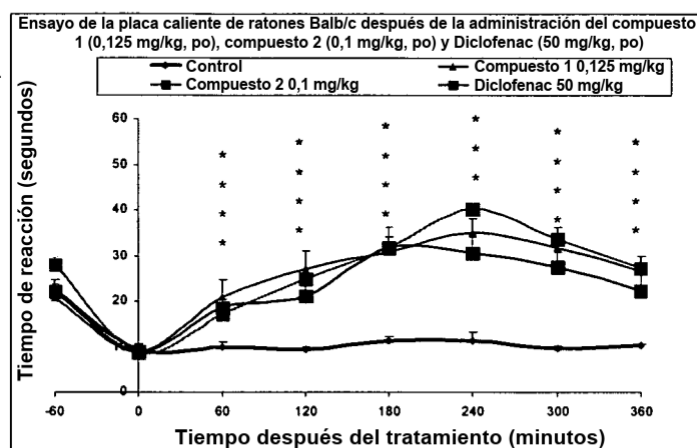


FIG. 10b

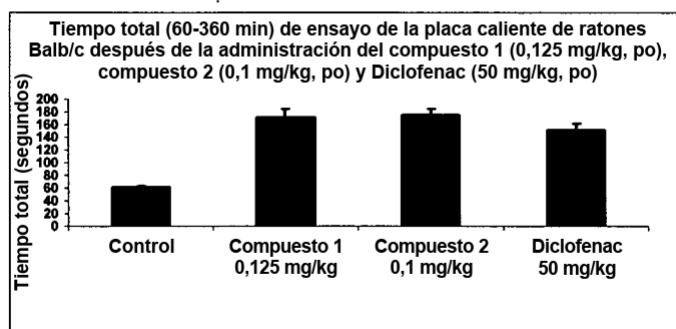


FIG. 10c

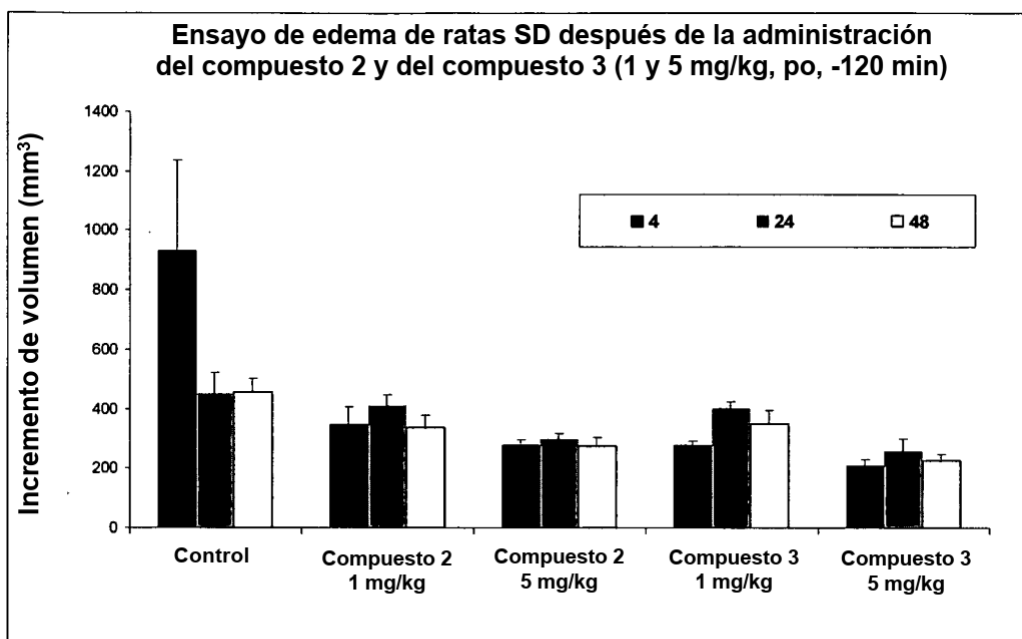


FIG. 11

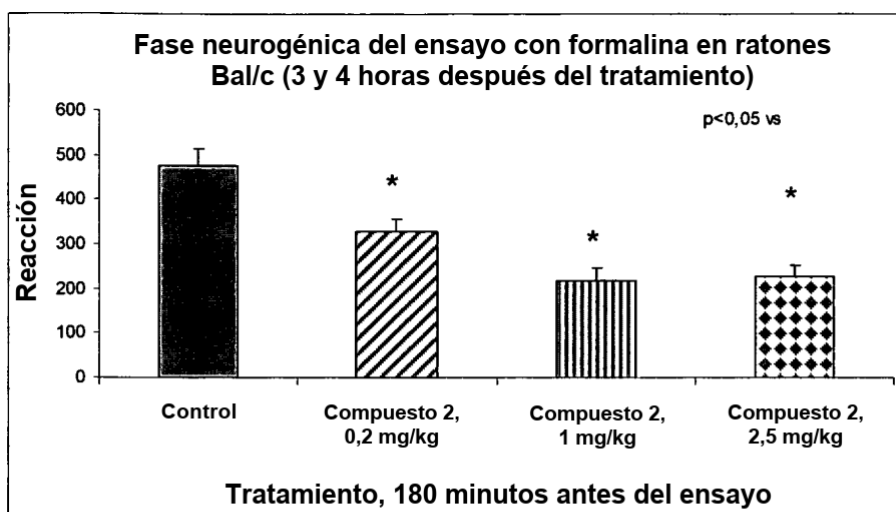


FIG 12a.

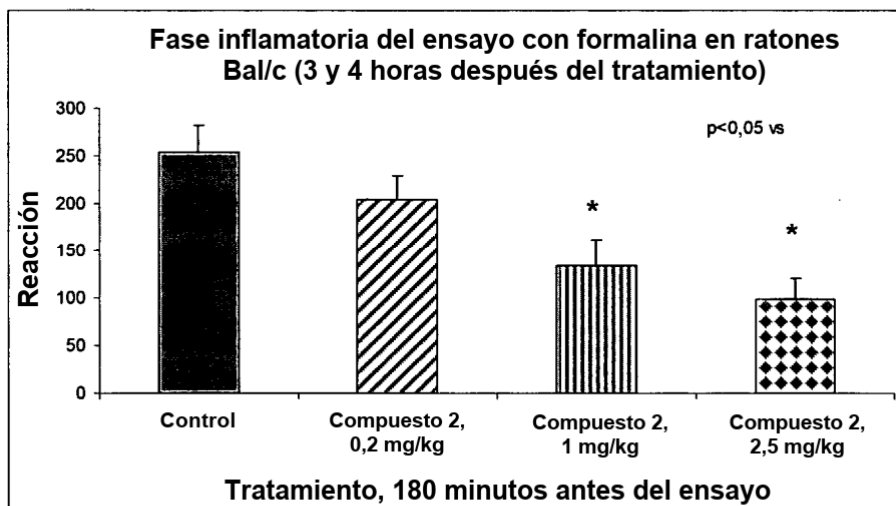


FIG 12b.

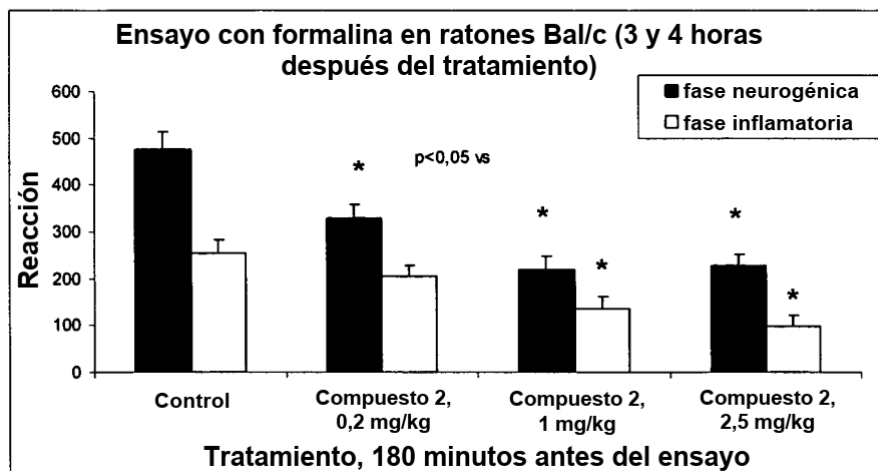


FIG 12c.

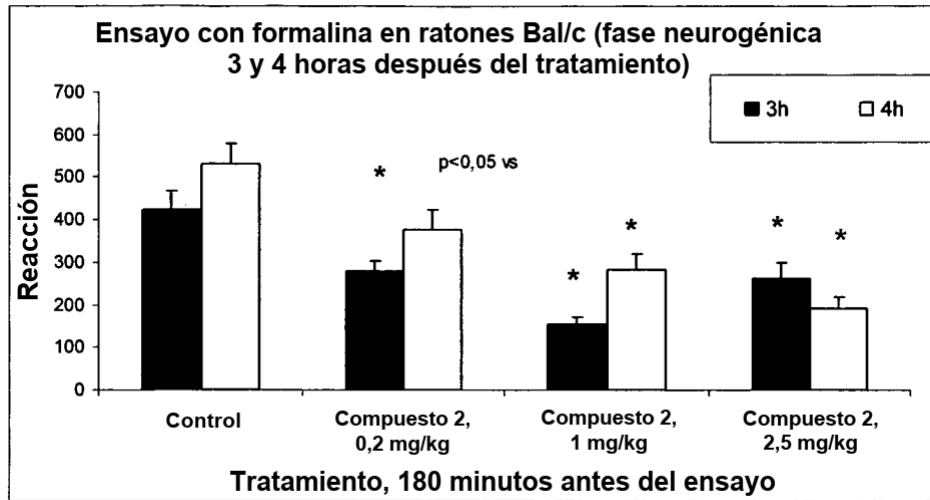


FIG 12d.

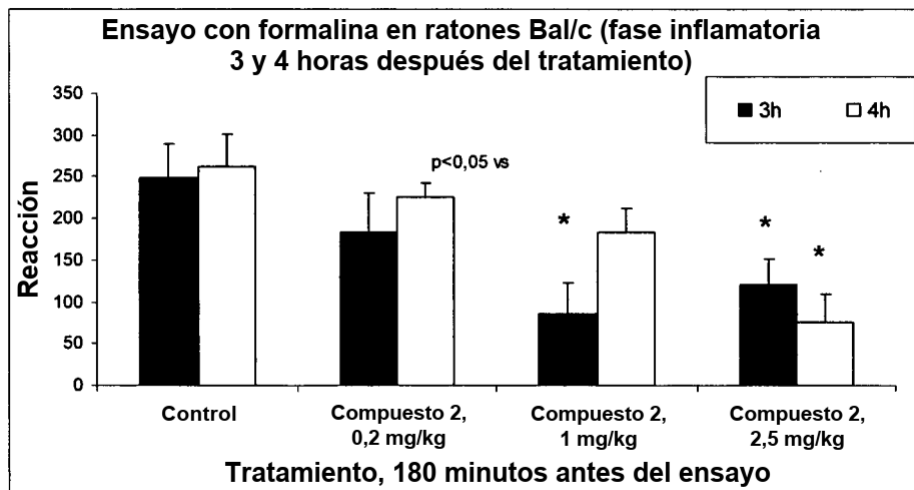


FIG 12e.