

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 628 634**

51 Int. Cl.:

A61K 39/40 (2006.01)

A01N 59/04 (2006.01)

A01N 55/02 (2006.01)

C07F 15/00 (2006.01)

C07H 5/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.07.2012 PCT/US2012/047661**

87 Fecha y número de publicación internacional: **24.01.2013 WO13013179**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.07.2012 E 12815454 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.03.2017 EP 2734235**

54 Título: **Moléculas liberadoras de monóxido de carbono-rutenio y usos de las mismas**

30 Prioridad:

21.07.2011 US 201161510136 P

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

03.08.2017

73 Titular/es:

**ALFAMA, INC. (100.0%)
955 Massachusetts Avenue 581
Cambridge, MA 02139, US**

72 Inventor/es:

**PAMPLONA, ANA;
BERNARDES, GONÇALO, J. L.;
MOTA, MARIA, M. y
ROMÃO, CARLOS, C.**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 628 634 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

Moléculas liberadoras de monóxido de carbono-rutenio y usos de las mismas

5 **Antecedentes de la invención**

El paludismo sigue siendo un devastador problema de salud a nivel mundial, que da lugar a hasta un millón de muertes anuales (véase, por ejemplo, Sachs, Science (2002) 298:122-124; Mwangi et al., J Infect Dis (2005) 191:1932-1939; Snow et al., Nature (2005) 434:214-217; Organización Mundial de la Salud (WHO)). Informe sobre el paludismo en el mundo, 2008). *Plasmodium falciparum* es el causante de las formas más graves de infección por paludismo, tal como paludismo cerebral (CM) y lesión pulmonar aguda (ALI) (véase, por ejemplo, Trampuz et al., Crit Care (2003) 7:315-323). La tasa de letalidad en el paludismo grave tratado con derivados de artemisinina o quinina sigue siendo inaceptablemente alta. El paludismo cerebral es uno de los síndromes más mortales, con una mortalidad del 13-21 % incluso después del tratamiento contra el paludismo (véase, por ejemplo, Idro et al., Lancet Neurol (2005) 4:827-840).

Por lo general, la terapia principal con derivados de quinina o de artemisinina es eficaz para controlar la parasitemia por *P. falciparum*, pero la mortalidad por paludismo cerebral (CM) y otras formas de paludismo grave sigue siendo inaceptablemente alta. En un esfuerzo para reducir la mortalidad relacionada con el paludismo, se han sugerido y probado tratamientos auxiliares/adyuvantes complementarios al tratamiento contra el paludismo (véase, por ejemplo, John et al., Expert Rev Anti Infect Ther (2010) 8:997-1008). La hemo oxigenasa 1 (HO-1) es un gen protector clave contra el desarrollo de CM en ratones (véase, por ejemplo, Pamplona et al., Nat Med (2007) 13:703-710). La inhalación de monóxido de carbono (CO), uno de los productos finales de la actividad de la HO-1, impidió completamente el paludismo cerebral y la incidencia de daños pulmonares agudos asociados con el paludismo (M-AALI) en 6 ratones C57BL / (véase, por ejemplo, Pamplona citado anteriormente; Epiphany et al., PLoS Pathog (2010) 6:e1000916). Las investigaciones realizadas en otros modelos experimentales han demostrado además que HO-1 / CO exhiben propiedades citoprotectoras y antiinflamatorias que son beneficiosas para la resolución de la inflamación aguda (véase, por ejemplo, Hayashi et al., Circ Res (1999) 85:663-671; Lee et al., Nat Med (2002) 8:240-246).

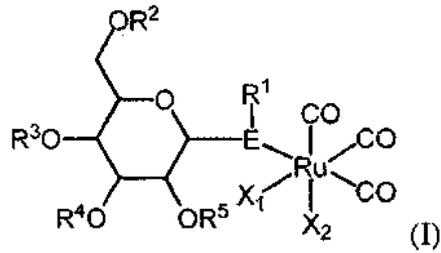
El monóxido de carbono es muy prometedor como agente terapéutico (véase, por ejemplo, Motterlini et al., Nat Rev Drug Discov (2010) 9:728-743). Sin embargo, la seguridad y la viabilidad de la aplicación de gas monóxido de carbono en la clínica sigue siendo cuestionable debido a su toxicidad y a la necesidad de instalaciones médicas altamente controladas. Por lo tanto, se ha propuesto a las moléculas liberadoras de CO-(CO-RM) como una alternativa válida. Entre las primeras CO-RM desarrolladas y que todavía se utilizan ampliamente en modelos experimentales se encuentran la CORM-2 liposoluble, $[\text{Ru}(\text{CO})_3\text{Cl}_2]_2$, y la CORM-3 hidrosoluble, $[\text{Ru}(\text{CO})_3\text{Cl}_2(\text{H}_2\text{NCH}_2\text{CO})_2]$. Ni CORM-2 ni CORM-3 elevan los niveles de carboxihemoglobina (COHb) en la sangre después de la administración *in vivo* (véase, por ejemplo, Clark et al., Circ Res (2003) 93:2-8). Se han notificado efectos protectores sustanciales similares a los observados para la inhalación de CO usando CORM-2 y CORM-3 en varios modelos experimentales de enfermedad, tales como infección bacteriana, disfunción vascular y lesión por reperusión de isquemia y térmica (véase, por ejemplo, Clark, citado anteriormente; Alcaraz et al., Curr Pharm Des (2008) 14:465-72); Kim et al., Annu Rev Pharmacol Toxicol 2006, 46:411-449). Además, CORM-2 carece de las propiedades deseables de tipo fármaco, tales como solubilidad en agua y estabilidad en su propio disolvente (véase, Motterlini et al., Circ Res (2002) 90:e17-e24). Por lo tanto, sigue habiendo la necesidad de desarrollar nuevas CORM como agentes terapéuticos.

En el documento US 7045140 se describen carbonilos de metales para la administración de CO terapéutico, comprendiendo los carbonilos al menos un ligando modulador no CO para modular la liberación de CO y la solubilidad. En el documento US 2010/196516 se describen métodos para el tratamiento de la infección mediante la administración de CO y diversos compuestos organometálicos que comprenden un ligando de CO para su uso en dichos tratamientos.

Sumario de la invención

La presente solicitud proporciona compuestos de CORM rutenio de la invención, composiciones farmacéuticas de los mismos y compuestos para su uso en métodos de tratamiento. Se ha descubierto que dichos compuestos son útiles en el tratamiento del paludismo, por ejemplo, como adyuvantes en combinación con agentes antipalúdicos. También se ha descubierto que dichos compuestos inducen la expresión de HO-1 y, por lo tanto, también se consideran útiles en el tratamiento de diversas afecciones inflamatorias, tales como lesión pulmonar aguda y síndrome de dificultad respiratoria aguda, que opcionalmente se asocian con una infección de paludismo.

Por ejemplo, en un aspecto, se proporciona un compuesto de la fórmula (I):



o una sal, un isómero, un hidrato o un solvato del mismo o una combinación de los mismos;

5 en la que:

E es-S- o -Se-;

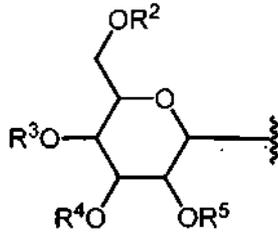
R¹ es hidrógeno o alquilo C₁₋₆;

10 cada uno de R², R³, R⁴ y R⁵ es, independientemente, hidrógeno, un grupo carbohidrato o un grupo protector de oxígeno; y

X₁ y X₂ son cada uno, independientemente, halógeno.

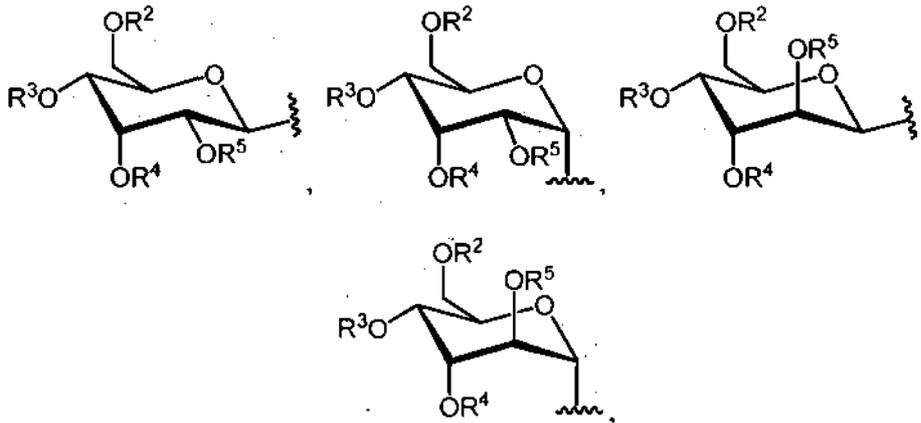
En determinadas realizaciones, E es -S-. En determinadas realizaciones, E es -Se-. En determinadas realizaciones, R¹ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, R¹ es -CH₃. En determinadas realizaciones, cada uno de R², R³, R⁴ y R⁵ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, X₁ y X₂ son cada uno -Cl.

En determinadas realizaciones, el sustituyente:

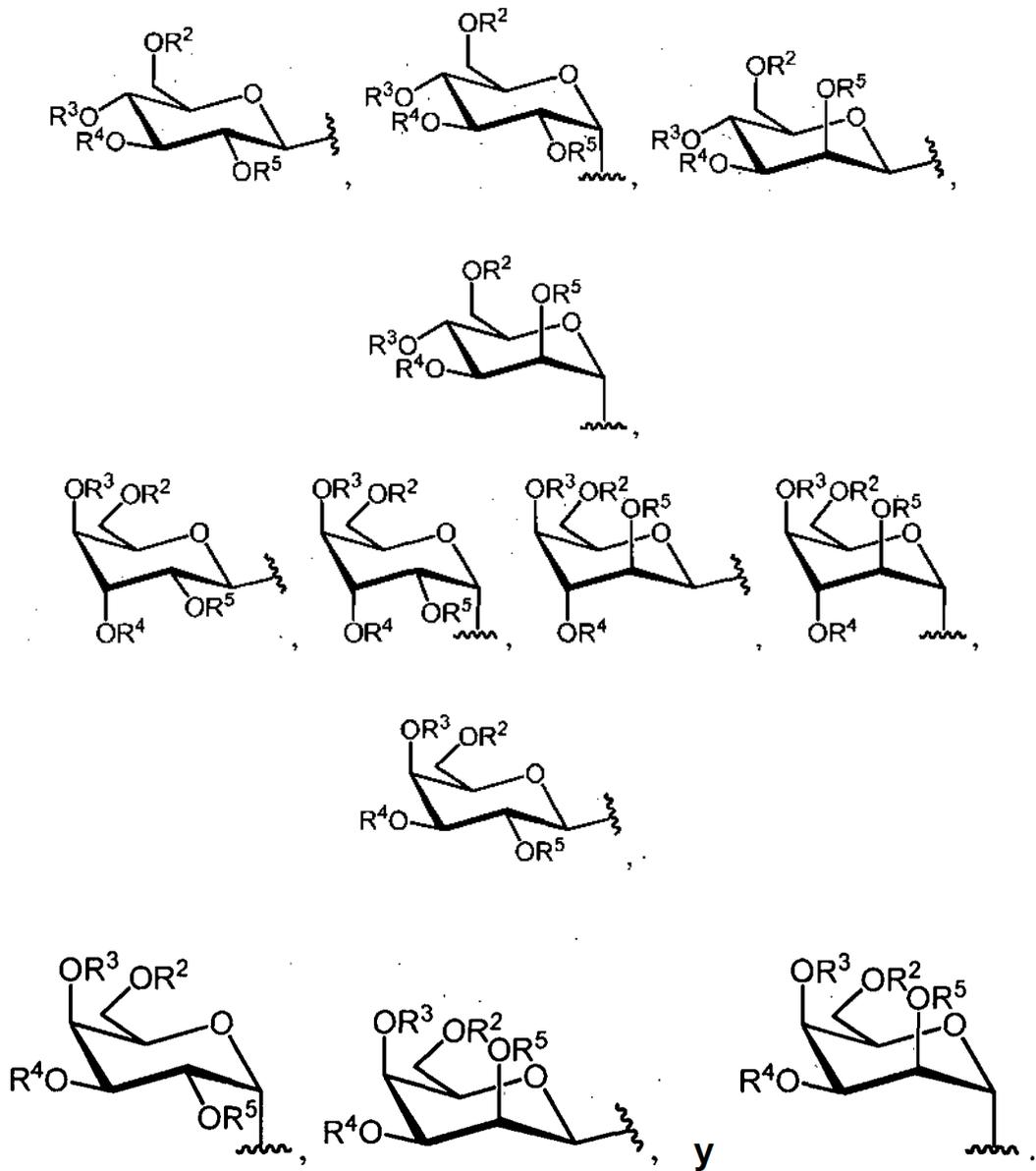


20

es un estereoisómero seleccionado de entre el grupo que consiste en:

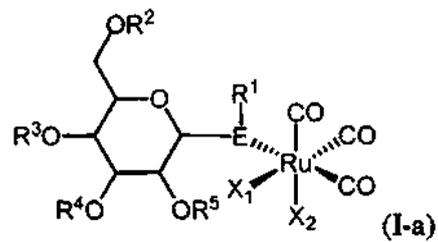


25



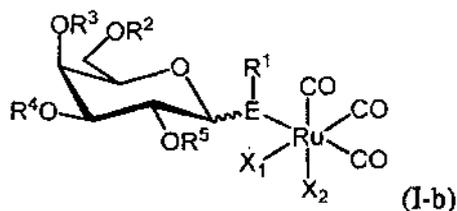
5

En determinadas realizaciones, el compuesto es un estereoisómero de fórmula (I-a):



10 o una sal, un isómero, un hidrato o un solvato del mismo o una combinación de los mismos.

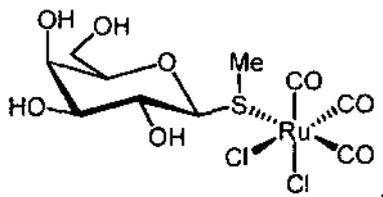
En determinadas realizaciones, el compuesto es un estereoisómero de fórmula (I-b):



o una sal, un isómero, un hidrato o un solvato del mismo o una combinación de los mismos.

En determinadas realizaciones, el compuesto

5



también se denomina en el presente documento Compuesto 1.

- 10 En otro aspecto, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal, isómero, hidrato o solvato del mismo o combinación de los mismos, y un excipiente farmacéuticamente aceptable. En determinadas realizaciones, el compuesto es el compuesto 1.

- 15 En otro aspecto más, se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal, isómero, hidrato o solvato del mismo o combinación de los mismos, para su uso en un método de tratamiento de una infección de paludismo en un sujeto con necesidad del mismo. En determinadas realizaciones, el compuesto es el compuesto 1. En determinadas realizaciones, la infección de paludismo es paludismo grave debido a una infección por *Plasmodium*. En determinadas realizaciones, la infección por *Plasmodium* es una infección por *Plasmodium falciparum*, una infección por *Plasmodium vivax*, una infección por *Plasmodium malariae*, una infección por *Plasmodium ovale* o una infección por *Plasmodium knowlesi*. En determinadas realizaciones, la infección por paludismo es paludismo cerebral (CM). En determinadas realizaciones, la infección por paludismo es paludismo asociado al embarazo (PAM). En determinadas realizaciones, el sujeto tiene una infección de paludismo sospechada o confirmada. En determinadas realizaciones, el método previene la infección de paludismo en el sujeto, *por ejemplo*, en determinadas realizaciones, el método inhibe la infección del sujeto por parásitos del paludismo. En determinadas realizaciones, la infección de paludismo es un recrudescimiento (recaída) de la infección de paludismo.
- 25

- En determinadas realizaciones, el método comprende además administrar uno o más agentes. En determinadas realizaciones, el agente es un agente antiinflamatorio. En determinadas realizaciones, el agente es un agente antipalúdico. En determinadas realizaciones, el compuesto de fórmula (I) o una sal, isómero, hidrato o solvato del mismo, es para su uso en combinación con un agente antipalúdico. En determinadas realizaciones, el compuesto de fórmula (I) o una sal, isómero, hidrato o solvato del mismo, es útil como adyuvante antipalúdico, *por ejemplo*, el compuesto de Fórmula (I) es un agente que potencia el efecto terapéutico del agente antipalúdico, cuando se usan en combinación. En determinadas realizaciones, el agente es un activador de la piruvato deshidrogenasa. En determinadas realizaciones, el agente se selecciona entre el grupo que consiste en quinazolinas, inhibidores de la proteína cinasa, quininas, tetraciclinas, aminoquinolonas, biquanidas, alcaloides de cinchonas, sulfonamidas, artemisininas, clindamicina, dapsona, atovaquona, lumefantrina, piperaquina, pironaridina, atovaquona, mefloquina, pirimetamina, halofantrina, inhibidores del TNF, quelatos de hierro, dexametasona, inmunoglobulinas intravenosas, sulfato de curdlano, dicloroacetato y sales de los mismos; gas CO y combinaciones de los mismos. En determinadas realizaciones, el agente es artesunato. En determinadas realizaciones, el agente es el gas CO. En determinadas realizaciones, el agente es un inhibidor del TNF. En determinadas realizaciones, el agente es un quelato de hierro. En determinadas realizaciones, el agente es dicloroacetato. En determinadas realizaciones, el agente es un inhibidor de proteína cinasa (por ejemplo, genisteína).
- 30
- 35
- 40

- En otro aspecto más, se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal, isómero, hidrato o solvato del mismo o combinación de los mismos, para su uso en un método de tratamiento de la lesión pulmonar aguda en un sujeto con necesidad del mismo. En determinadas realizaciones, la lesión pulmonar aguda es lesión pulmonar aguda asociada con el paludismo. En determinadas realizaciones, el compuesto es el compuesto 1.
- 45

- En todavía otro aspecto más, se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal, isómero, hidrato o solvato del mismo o combinación de los mismos, para su uso en un método de tratamiento del síndrome de dificultad respiratoria aguda en un sujeto con necesidad del mismo. En determinadas realizaciones, el síndrome de dificultad respiratoria aguda se asocia con una infección por paludismo. En determinadas realizaciones, el compuesto es el compuesto 1.
- 50

Los detalles de una o más realizaciones de la invención se indican en el presente documento. Otras características, objetos y ventajas de la invención se harán evidentes a partir de la siguiente descripción, las figuras, los ejemplos y las reivindicaciones.

5 Breve descripción de los dibujos

Figuras 1a-1c. CORM-2 protege del ECM. *Figura 1a:* Estructura química del dímero de tricarbonildiclororuteniodímero (II) (CORM-2) y tetraquis(dimetilsulfóxido)diclororutenio (II) (compuesto 2). *Figuras 1b-1c:* Efecto de CORM-2 sobre la supervivencia (*Figura 1b*) y la parasitemia (*Figura 1c*) de ratones C57BL/6 infectados por *P. berghei* ANKA GFP. Ratones infectados (control) tratados con DMSO, el compuesto 2 y CORM-2 entre el día 2 y el día 3 después de la infección (2x/día). (□), Infectados (control) (n=10), (O) DMSO (n=10), (Δ) ALF466 (n=10) y (▲) CORM-2 (n=10). Las parasitemias se muestran como la media ± el error estándar de la media. El área sombreada indica el periodo de tiempo de administración del compuesto 2 y CORM-2. Los datos son representativos de 2 experimentos independientes.

Figuras 2a-2h. El compuesto 1 es una CORM hidrosoluble dirigida al hígado y protege frente al ECM. *Figura 2a:* Síntesis esquemática de tricarbonilcloro (tiogalactopiranosido)rutenio(II) (compuesto 1). *Figuras 2b-2c:* La concentración de Ru y CO en órganos de ratones no infectados (NI) después del tratamiento i.v. con el compuesto 2, la forma inactiva y el compuesto 1. Los resultados se muestran como la concentración media ± error estándar de la media (n= 3-5 animales por grupo). Efecto del Compuesto 1 sobre la supervivencia (*Figura 2d*) y la parasitemia (*Figura 2d*) de ratones C57BL/6 infectados por *P. berghei* ANKA GFP. Tratamiento con el compuesto 2 y el compuesto 1 entre el día 2 y el día 3 después de la infección (2x/día). (□), Control (n = 10), (Δ) Compuesto 2 (n=10) y (●) Compuesto 1 (n=10). Las parasitemias se muestran como la media ± el error estándar de la media. El área sombreada indica el periodo de tiempo de administración del compuesto 2 y el compuesto 1. Los datos son representativos de 3 experimentos independientes. *Figura 2f:* Determinación de COHb en sangre entera de ratones C57BL/6 no infectados (NI), infectados con *P. berghei* ANKA (control) y tratados con el compuesto 2, el compuesto 1 y CO (250 ppm, 24 h), el día 3 después de la infección. NI (n = 6); Control (n=4); Compuesto 2 (n = 4); Compuesto 1 (n=4) y CO (n = 4). Las barras de error representan el error estándar de la media. El compuesto 1 induce la expresión de HO-1 en el hígado (*Figura 2g*) y el cerebro (*Figura 2h*) de ratones C57BL/6 infectados por *P. berghei* ANKA, respectivamente, el día 3 después de la infección, el último día de tratamiento con el compuesto 2 y el compuesto 1 se cuantificó el ARNm de HO-1 mediante qRT-PCR. NI (n=4-6); I + Compuesto 2 (n=4) e I + Compuesto 1 (n=3-5).

Figuras 3a-3i. El compuesto 1 reduce la acumulación del parásito en el cerebro y la neuroinflamación. Se determinó la permeabilidad de la BHE (*Figura 3a*), el parásito r18S (*Figura 3b*), CD8β (*Figura 3c*), y se cuantificó la expresión del ARNm de IFN-γ (*Figura 3d*) e ICAM-1 (*Figura 3e*) mediante qRT-PCR. NI (n = 4), I + Compuesto 2 (n=4) e I + Compuesto 1 (n=5). La cuantificación de azul Evans se demostró como los μg media de azul Evans (EB) por g de tejido cerebral ± error estándar de la media. NI (n = 4); Compuesto 2 (n = 5) y Compuesto 1 (n = 5). Se sacrificó a los ratones no infectados (NI), infectados tratados con el compuesto 2 y tratados con el compuesto 1 cuando el grupo control, ratones tratados con el compuesto 2, mostraron signos de ECM y se extirparon los cerebros después de perfusión intracardiaca. *Figuras 3f-3i:* Semicuantificación de los hallazgos histológicos en las secciones de cerebro teñidas con hematoxilina y eosina, analizadas al mismo tiempo como en las *Figuras 3a-3e*, usando un sistema de puntuación enmascarado. Los gráficos de puntos comparan el número de animales a los que se les ha asignado puntuaciones de gravedad de 1 (menos grave) a 3 (más grave) en ratones infectados, infectados y tratados con el compuesto 2 y tratados con el compuesto 1. Las imágenes son representativas de 3-8 ratones. La barra de escala corresponde a 100 μm.

Figuras 4a-4e. El compuesto 1 protege a los ratones de la ALI asociada con el paludismo (M-AALI). *Figura 4a:* Supervivencia (%) de ratones DBA/2 infectados por *P. berghei* ANKA que no reciben tratamiento o son tratados i.v. con el compuesto 2 y el compuesto 1 entre el día 2 y el día 3 después de la infección (2x/día). I (n=5); I+ Compuesto 2 (n = 9); I+ Compuesto 1 (n = 7). Las parasitemias se muestran como la media ± el error estándar de la media. *Figura 4b:* Niveles de la proteína VEGF en el plasma de ratones DBA infectados con *P. berghei* ANKA con síntomas de ALI, ratones tratados con el compuesto 2 y el compuesto 1 en comparación con ratones no infectados (NI). NI (n = 3), I (ALI) (n=3); I + Compuesto 2 (n=5) e I + Compuesto 1 (n=5). Los resultados se muestran como la concentración media ± el error estándar de la media. *Figuras 4c-4e:* Semicuantificación de los hallazgos histológicos en secciones de pulmón teñidas con hematoxilina y eosina, analizadas al mismo tiempo como en la *Figura 4b*, usando un sistema de puntuación enmascarado. Los gráficos de puntos muestran el número de animales a los que se les ha asignado puntuaciones de gravedad de 1 (menos grave) a 3 (más grave) en ratones infectados(ALI), infectados y tratados con el compuesto 2 (ALI) y tratados con el compuesto 1. Las imágenes son representativas de 4-6 ratones. La barra de escala corresponde a 100 μm.

Figuras 5a-5c. El compuesto 1 es un potencial o auxiliar /adyuvante para el ECM. *Figura 5a:* Supervivencia de ratones C57BL/6 infectados con *P. berghei* ANKA GFP, tratados con AS (d5-d6) o AS (d5-d6) y el compuesto 1 (d5-d9) o AS (d5-d6) y el compuesto 1 (d8-d9). La supervivencia se controló durante un periodo de 24 horas. Los datos son representativos de 2 experimentos independientes. El tratamiento con AS empezó cuando los ratones infectados (control) mostraron una puntuación de 1 (pelaje erizado), estadio inicial del ECM. La supervivencia global se mejoró significativamente mediante el tratamiento con el compuesto 1 (P <0,01). *Figura 5b:* Se muestra la parasitemia de los ratones infectados con *P. berghei* ANKA (control), infectados y tratados con AS (d5-d6) (AS) (▲), infectados y tratados con AS (d5-d6) y el compuesto 1 (d5-d9) (AS+ Compuesto 1) (A), e infectados y tratados con AS (d5-d6) y el compuesto 1 (d8-d9) (AS→ Compuesto 1) (●). (□) Control (n=5), (▲) AS (n=11), (A)

AS+ Compuesto 1 (d5- d9) (n=6), (●) AS→ Compuesto 1 (d8-d9) (n=9). Los datos representan la media ± el error estándar de la media. *Figura 5c*: A cada uno de los estadios clínicos del ECM (síntomas no detectables, pelaje erizado, pelaje erizado y deterioro motor, dificultad respiratoria y convulsiones y / o coma) se dio una puntuación de (0, 1, 2, 3 y 4). Los ratones se clasificaron gráficamente basados en los síntomas presentados después del día

5 de infección.
Figuras 6a-6b. El compuesto 1 no inhibe el crecimiento *in vitro* de los parásitos de *P. falciparum* y *P. berghei* ANKA. La CI_{50} del compuesto 1 en cultivos *in vitro* de parásitos del clon 3D7 de *P. falciparum* (*Figura 6a*) y de *P. berghei* ANKA (*Figura 6b*) en comparación con el antipalúdico cloroquina (CQ). Gráficos representativos de 3-4 experimentos para cada conjunto de datos.

10 **Figuras 7a-7b.** El compuesto 1 redujo la alteración de la barrera hematoencefálica (BHE) y la hemorragia cerebral del parénquima en ratones infectados por *P. berghei* ANKA. Cráneo (*Figura 7a*) y cerebros (*Figura 7b*) tras la evaluación de la alteración de la BHE mediante tinción con azul de Evans de ratones C57BL/6 no infectados (NI) frente a infectados con *P. berghei* ANKA (control) e infectados y tratados con el compuesto 2 (I+ Compuesto 2) o tratados con el compuesto 1 (I+ Compuesto 1). Las imágenes son representativas de un total de

15 5 ratones por grupo.
Figura 8. Espectro IR (KBr) de $RuCl_2(CO)_3(\beta\text{-D-tiogalactopiranosido de metilo})$ (Compuesto 1).

Figura 9. Espectro de RMN de 1H de $RuCl_2(CO)_3(\beta\text{-D-tiogalactopiranosido de metilo})$ (Compuesto 1), en D_2O .

Figura 10. Equivalentes de CO transferido a desoxi-Mb por $RuCl_2(CO)_3(\beta\text{-D-tiogalactopiranosido de metilo})$ (Compuesto 1). Promedio de 2 experimentos realizados en PBS7.4 con: [desoxi-Mb]=61 μM y [Compuesto 1]= 51 μM ; [desoxi-Mb]=68 μM y [Compuesto 1]= 50 μM .

20 **Figuras 11a-11e.** *Figura 11a*: Espectro ESI-MS de lisozima C nativa (2 mg/ml en H_2O). *Figura 11b*: ESI-MS de lisozima (2,0 mg/ml) cuando se incubó con CORM-3 (10 eq.) en H_2O durante 10 minutos a temperatura ambiente. *Figura 11c*: ESI-MS de lisozima (2,0 mg/ml) cuando se incubó con CORM-3 (10 eq.) en H_2O durante 1 hora a temperatura ambiente. *Figura 11d*: ESI-MS de lisozima (2,0 mg/ml) cuando se incubó con $Ru(CO)_3Cl_2(Gal\text{-S-Me})$ (compuesto 1) (10 eq.) en H_2O durante 10 minutos a temperatura ambiente. *Figura 11e*: ESI-MS de lisozima (2,0 mg/ml) cuando se incubó con $Ru(CO)_3Cl_2(Gal\text{-S-Me})$ (compuesto 1) (10 eq.) en H_2O durante 1 hora a temperatura ambiente.

25 **Figura 12.** CORM-3 protege parcialmente frente al ECM. *Figuras 12a-12b*: Efecto de CORM-3 sobre la supervivencia (*Figura 12a*) y la parasitemia (*Figura 12b*) de ratones C57BL/6 infectados por *P. berghei* ANKA GFP. Ratones infectados (control), el compuesto 2 y CORM-3 entre el día 2 y el día 3 después de la infección (2x/día). (□), Infectados (control) (n=5), (Δ) ALF466 (n=5) y (A) CORM-3 (n=4). Las parasitemias se muestran como la media ± el error estándar de la media. Los datos son representativos de 1 experimento independiente.

35 Descripción detallada de determinadas realizaciones de la invención

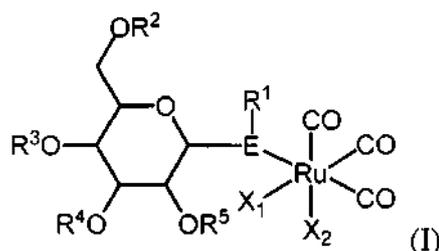
La presente invención se basa en el descubrimiento de que la adición de un ligando de tioazúcar al complejo CORM-2, $[Ru(CO)_3Cl_2]_2$, proporciona un nuevo complejo con propiedades mejoradas similares a fármacos, tal como estabilidad mejorada, solubilidad acuosa y / o la especificidad tisular. Un compuesto de ejemplo es el derivado de tiometil-beta-galactosa, denominado en el presente documento Compuesto 1, que se ha demostrado que tiene una

40 estabilidad mejorada, solubilidad acuosa mejorada y especificidad mejorada para el hígado en comparación con CORM-2. El CO liberado por el Compuesto 1 puede inducir una protección similar como se ha visto con la terapia de gas CO, pero sin los efectos tóxicos (niveles de COHb elevados) de inhalación de CO. Los inventores descubrieron que el compuesto 1 es una terapia eficaz en la protección frente a la muerte causada por la infección del paludismo, tal como paludismo cerebral (CM). De forma notable, la presente invención demuestra que el compuesto 1 es un

45 agente adyuvante eficaz cuando se utiliza en combinación con otro agente antipalúdico, *por ejemplo*, artesunato, después de la aparición de la infección de paludismo. Los inventores descubrieron además que el compuesto 1 induce la expresión de HO-1 y, por lo tanto, los inventores imaginan el compuesto 1 como una terapia eficaz en la mejora de las afecciones inflamatorias, por ejemplo, lesión pulmonar aguda y síndrome de dificultad respiratoria aguda, que opcionalmente pueden estar asociadas con infección del paludismo. Los inventores prevén que ciertos

50 bioisómeros del ligando de tioazúcar, tales como selenoazúcares, se puede encontrar, opcionalmente, que son útiles en la práctica de uno o más de los métodos de la invención.

Por lo tanto, en un aspecto, la presente invención proporciona compuestos de la invención de fórmula (I):



o sales, isómeros, hidratos o solvatos de los mismos o combinaciones de los mismos; en la que:

E es-S- o -Se-;

R¹ es hidrógeno o alquilo C₁₋₆;

cada uno de R², R³, R⁴ y R⁵ es, independientemente, hidrógeno, un grupo carbohidrato o un grupo protector de oxígeno; y

5 X₁ y X₂ son cada uno, independientemente, halógeno.

La presente invención también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de fórmula (I) o una sal, isómero, hidrato o solvato del mismo o combinación de los mismos. La presente invención proporciona además un compuesto de fórmula (I) o una sal, isómero, hidrato o solvato del mismo o combinación de los mismos, o una composición farmacéutica del mismo para su uso en métodos de uso y tratamiento.

Los términos químicos específicos se describen más adelante en el presente documento. Principios generales de la química orgánica, así como restos funcionales específicas y reactividad, se describen en Organic Chemistry, Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito, 1999; Smith and March's Advanced Organic Chemistry, 5^a Edición, John Wiley & Sons, Inc., Nueva York, 2001; Larock, Comprehensive Organic Transformations, VCH Publishers, Inc., Nueva York, 1989; y Carruthers, Some Modern Methods of Organic Synthesis, 3^a Edición, Cambridge University Press, Cambridge, 1987. Los principios generales en química organometálica se describen en S. W. Kirtley in Comprehensive Organometallic Chemistry I (G. Wilkinson, F. G.A. Stone, W. Abel Eds, Vol 3, 1080, Pergamon, Oxford 1982; M. J. Winter en Comprehensive Organometallic Chemistry II (W. Abel, F. G.A. Stone, G. Wilkinson Eds), Vol 5, 163, Pergamon, Oxford 1995; y M. Tamm, R. J. Baker, en Comprehensive Organometallic Chemistry III (R. H. Crabtree y D. M. P. Mingos Eds), Vol 5, 391, Elsevier, Oxford, 2007).

Los compuestos descritos en el presente documento pueden comprender uno o más centros quirales asimétricos y, por tanto, pueden existir en diversas formas isoméricas, *por ejemplo*, enantiómeros y / diastereómeros. Por ejemplo, los compuestos descritos en el presente documento pueden estar en la forma de un enantiómero individual, diastereómero o isómero geométrico, o pueden estar en forma de una mezcla de estereoisómeros, incluyendo mezclas racémicas y mezclas enriquecidas en uno o más estereoisómeros. Los isómeros pueden aislarse a partir de mezclas mediante métodos conocidos por los expertos en la materia, incluyendo cromatografía quiral de líquidos de alta presión (HPLC) y la formación y cristalización de sales quirales; o isómeros preferidos se pueden preparar mediante síntesis asimétricas. Véase, por ejemplo, Jacques et al., Enantiomers, Racemates and Resolutions (Wiley Interscience, Nueva York, 1981); Wilen et al., Tetrahedron 33:2725 (1977); Eliel, Stereochemistry of Carbon Compounds (McGraw-Hill, NY, 1962); y Wilen, Tables of Resolving Agents and Optical Resolutions pág. 268 (E.L. Eliel, Ed., Univ. de Notre Dame Press, Notre Dame, IN 1972). La invención abarca además compuestos descritos en el presente documento como isómeros individuales sustancialmente libres de otros isómeros y, COMO alternativa, como mezclas de varios isómeros.

Cuando se enumera un intervalo de valores, se pretende abarcar cada valor y subintervalo dentro del intervalo. Por ejemplo, con "alquilo C1-6" se pretende abarcar alquilo C1, C2, C3, C4, C5, C6, C1-6, C1-5, C1-4, C1-3, C1-2, C2-6, C2-5, C2-4, C2-3, C3-6, C3-5, C3-4, C4-6, C4-5 y C5-6.

Cuando se enumera un intervalo de valores, se pretende abarcar cada valor y subintervalo dentro del intervalo. Por ejemplo, con "alquilo C1-6" se pretende abarcar alquilo C1, C2, C3, C4, C5, C6, C1-6, C1-5, C1-4, C1-3, C1-2, C2-6, C2-5, C2-4, C2-3, C3-6, C3-5, C3-4, C4-6, C4-5 y C5-6.

"Alquilo" se refiere a un radical de un grupo hidrocarburo saturado ramificado o de cadena lineal que tiene de 1 a 10 átomos de carbono ("alquilo C1-10"). En algunas realizaciones, un grupo alquilo tiene de 1 a 9 átomos de carbono ("alquilo C1-9"). En algunas realizaciones, un grupo alquilo tiene de 1 a 8 átomos de carbono ("alquilo C1-8"). En algunas realizaciones, un grupo alquilo tiene de 1 a 7 átomos de carbono ("alquilo C1-7"). En algunas realizaciones, un grupo alquilo tiene de 1 a 6 átomos de carbono ("alquilo C1-6"). En algunas realizaciones, un grupo alquilo tiene de 1 a 5 átomos de carbono ("alquilo C1-5"). En algunas realizaciones, un grupo alquilo tiene de 1 a 4 átomos de carbono ("alquilo C1-4"). En algunas realizaciones, un grupo alquilo tiene de 1 a 3 átomos de carbono ("alquilo C1-3"). En algunas realizaciones, un grupo alquilo tiene de 1 a 2 átomos de carbono ("alquilo C1-2"). En algunas realizaciones, un grupo alquilo tiene 1 átomo de carbono ("alquilo C1"). En algunas realizaciones, un grupo alquilo tiene de 2 a 6 átomos de carbono ("alquilo C2-6"). Ejemplos de grupos alquilo C1-6 incluyen metilo (C1), etilo (C2), n-propilo (C3), isopropilo (C3), n-butilo (C4), terc-butilo (C4), sec-butilo (C4), iso-butilo (C4), n-pentilo (C5), 3-pentanolilo (C5), amilo (C5), neopentilo (C5), 3-metil-2-butanilo (C5), amilo terciario (C5) y n-hexilo (C6). Ejemplos adicionales de grupos alquilo incluyen n-heptilo (C7), n-octilo (C8), n-nonilo (C9), n-decilo (C10) y similares.

"Carbociclilo" se refiere a un radical de un grupo hidrocarburo no aromático cíclico que tiene de 3 a 4 átomos de carbono en el anillo ("carbociclilo C3-4") y cero heteroátomos en el sistema de anillo no aromático. Entre los grupos carbociclilo C3-4 de ejemplo se incluyen, sin limitaciones, ciclopropilo (C3), ciclopropenilo (C3), ciclobutilo (C4), y ciclobutenilo (C4). En algunas realizaciones, "carbociclilo" es un grupo carbociclilo monocíclico saturado que tiene de 3 a 4 átomos de carbono en el anillo ("cicloalquilo C3-4").

"Alquenilo" se refiere a un radical de un grupo hidrocarburo ramificado o de cadena lineal que tiene de 2 a 10 átomos de carbono y uno o más dobles enlaces carbono-carbono ("alquenilo C2-10"). En algunas realizaciones, un grupo

alqueno tiene de 2 a 9 átomos de carbono ("alqueno C2-9"). En algunas realizaciones, un grupo alqueno tiene de 2 a 8 átomos de carbono ("alqueno C2-8"). En algunas realizaciones, un grupo alqueno tiene de 2 a 7 átomos de carbono ("alqueno C2-7"). En algunas realizaciones, un grupo alqueno tiene de 2 a 6 átomos de carbono ("alqueno C2-6"). En algunas realizaciones, un grupo alqueno tiene de 2 a 5 átomos de carbono ("alqueno C2-5").

5 En algunas realizaciones, un grupo alqueno tiene de 2 a 4 átomos de carbono ("alqueno C2-4"). En algunas realizaciones, un grupo alqueno tiene de 2 a 3 átomos de carbono ("alqueno C2-3"). En algunas realizaciones, un grupo alqueno tiene 2 átomos de carbono ("alqueno C2"). El uno o más dobles enlaces carbono-carbono pueden ser internos (tal como en 2-butenilo) o terminales (tal como en 1-butenilo). Entre los ejemplos de grupos alqueno C2-4 se incluyen etenilo (C2), 1-propenilo (C3), 2-propenilo (C3), 1-butenilo (C4), 2-butenilo (C4), butadienilo (C4) y

10 similares. Entre los ejemplos de grupos alqueno C2-6 se incluyen los grupos alqueno C2-4 mencionados anteriormente, así como pentenilo (C5), pentadienilo (C5), hexenilo (C6), y similares. Entre los ejemplos adicionales de alqueno incluyen heptenilo (C7), octenilo (C8), octatrienilo (C8) y similares.

"Alquino" se refiere a un radical de un grupo hidrocarburo ramificado o de cadena lineal que tiene de 2 a 10 átomos de carbono y uno o más triples enlaces carbono-carbono ("alquino C2-10"). En algunas realizaciones, un grupo alquino tiene de 2 a 9 átomos de carbono ("alquino C2-9"). En algunas realizaciones, un grupo alquino tiene de 2 a 8 átomos de carbono ("alquino C2-8"). En algunas realizaciones, un grupo alquino tiene de 2 a 7 átomos de carbono ("alquino C2-7"). En algunas realizaciones, un grupo alquino tiene de 2 a 6 átomos de carbono ("alquino C2-6"). En algunas realizaciones, un grupo alquino tiene de 2 a 5 átomos de carbono ("alquino C2-5"). En algunas

15 realizaciones, un grupo alquino tiene de 2 a 4 átomos de carbono ("alquino C2-4"). En algunas realizaciones, un grupo alquino tiene de 2 a 3 átomos de carbono ("alquino C2-3"). En algunas realizaciones, un grupo alquino tiene 2 átomos de carbono ("alquino C2"). El uno o más triples enlaces carbono-carbono pueden ser internos (tal como en 2-butenilo) o terminales (tal como en 1-butenilo). Entre los ejemplos de grupos alquino C2-4 se incluyen, sin limitación, etinilo (C2), 1-propinilo (C3), 2-propinilo (C3), 1-butenilo (C4), 2-butenilo (C4) y similares. Entre los ejemplos

20 de grupos alqueno C2-6 se incluyen los grupos alqueno C2-4 mencionados anteriormente, así como pentinilo (C5), hexinilo (C6), y similares. Entre los ejemplos adicionales de alquino se incluyen heptinilo (C7), octinilo (C8) y similares.

"Heterociclilo" se refiere a un radical de un sistema de anillos no aromáticos de 5 a 10 miembros que tiene átomos de carbono en el anillo y de 1 a 4 heteroátomos en el anillo, en el que cada heteroátomo se selecciona independientemente de entre nitrógeno, oxígeno y azufre ("heterociclilo de 5-10 miembros"). En los grupos heterociclilo que contienen uno o más átomos de nitrógeno, el punto de unión puede ser un átomo de carbono o nitrógeno, según lo permita la valencia. Un grupo heterociclilo puede ser monocíclico o bicíclico, y puede ser saturado o puede contener uno o más dobles enlaces o triples enlaces carbono-carbono. Los sistemas de anillo

30 bicíclico heterociclilo pueden incluir uno o más heteroátomos en uno o ambos anillos. Heterociclilo también incluye sistemas de anillo en el que el anillo heterociclilo, como se ha definido anteriormente, está condensado con uno o más grupos carbociclilo en los que el punto de unión está en el anillo carbociclilo o heterociclilo, o sistemas de anillo en los que el anillo heterociclilo, como se ha definido anteriormente, está condensado con uno o más grupos arilo o heteroarilo, en el que el punto de unión está en el anillo heterociclilo y, en estos casos, el número de miembros en el

35 anillo sigue designando el número de miembros en el anillo en el sistema de anillo de heterociclilo.

En algunas realizaciones, un grupo heterociclilo es un sistema de anillos no aromáticos de 5-8 miembros que tienen átomos de carbono en el anillo y 1-4 heteroátomos en el anillo, en el que cada heteroátomo se selecciona independientemente de entre nitrógeno, oxígeno y azufre ("heterociclilo de 5-8 miembros"). En algunas realizaciones,

45 un grupo heterociclilo es un sistema de anillos no aromáticos de 5-6 miembros que tienen átomos de carbono en el anillo y 1-4 heteroátomos en el anillo, en el que cada heteroátomo se selecciona independientemente de entre nitrógeno, oxígeno y azufre ("heterociclilo de 5-6 miembros"). En algunas realizaciones, el heterociclilo de 5-6 miembros tiene 1-3 heteroátomos en el anillo seleccionados de nitrógeno, oxígeno y azufre. En algunas realizaciones, el heterociclilo de 5-6 miembros tiene 1-2 heteroátomos en el anillo seleccionados de nitrógeno, oxígeno y azufre. En algunas realizaciones, el heterociclilo de 5-6 miembros tiene 1 heteroátomo seleccionado de nitrógeno, oxígeno y azufre.

Entre los ejemplos de grupos heterociclilo de 5 miembros que contienen 1 heteroátomo se incluyen, sin limitación, tetrahidrofurano, dihidrofurano, tetrahidrotiofeno, dihidrotiofeno, pirrolidino, dihidropirrolilo y pirrolil-2,5-diona.

55 Entre los ejemplos de grupos heterociclilo de 5 miembros que contienen 2 heteroátomos se incluyen, sin limitación, dioxolanilo, oxatolanilo y ditiolanilo. Entre los ejemplos de grupos heterociclilo de 5 miembros que contienen 3 heteroátomos se incluyen, sin limitación, triazolínilo, oxadiazolínilo y tiadiazolínilo. Entre los ejemplos de grupos heterociclilo de 6 miembros que contienen 1 heteroátomo se incluyen, sin limitación, piperidínilo, tetrahidropirano, dihidropiridínilo y tianilo. Entre los ejemplos de grupos heterociclilo de 6 miembros que contienen 2 heteroátomos se incluyen, sin limitación, piperazínilo, morfolinilo, ditianilo, dioxanilo. Entre los ejemplos de grupos heterociclilo de 6 miembros que contienen 2 heteroátomos se incluyen, sin limitación, triazinanilo. Entre los ejemplos de grupos heterociclilo de 7 miembros que contienen 1 heteroátomo se incluyen, sin limitación, azepanilo, oxepanilo y tiepanilo. Entre los ejemplos de grupos heterociclilo de 8 miembros que contienen 1 heteroátomo se incluyen, sin limitación, azocanilo, oxecanilo y tiocanilo. Entre los grupos heterociclilo bicíclico de ejemplo se incluyen, sin limitación,

65 indolínilo, isoindolínilo, dihidrobenzofuranilo, dihidrobenzotienilo, tetrahidrobenzotienilo, tetrahidrobenzofuranilo, tetrahidroindolilo, tetrahidroquinolínilo, tetrahidroisoquinolínilo, decahidroquinolínilo, decahidroisoquinolínilo,

octahidrocromenilo, octahidroisocromenilo, decahidronaftiridinilo, decahidro-1,8-naftiridinilo, octahidropirrol[3,2-b]pirrol, indolinilo, ftalimidilo, naftalimidilo, cromanilo, cromenilo y similares.

5 "Ariolo" se refiere a un radical de un sistema de anillo aromático monocíclico o bicíclico $4n+2$ (por ejemplo, que tiene 6 o 10 π electrones compartidos en una disposición cíclica) que tiene 6-10 átomos de carbono de anillo y cero heteroátomos proporcionados en el aromático sistema de anillo aromático ("arilo C6-10"). En algunas realizaciones, un grupo arilo tiene 6 átomos de carbono ("arilo C6"; por ejemplo, fenilo). En algunas realizaciones, un grupo arilo tiene 10 átomos de carbono ("arilo C10"; por ejemplo, naftilo, tal como 1-naftilo y 2-naftilo). Arilo también incluye sistemas de anillo en los que el anillo arilo, como se ha definido anteriormente, está condensado con uno o más grupos carbocíclico o heterocíclico en los que el radical o punto de unión está en el anillo arilo, y, en tales casos, el número de átomos de carbono sigue designando el número de átomos de carbono en el sistema de anillo de arilo.

15 "Heteroarilo" se refiere a un radical de un sistema de anillo aromático monocíclico o bicíclico de 5-10 miembros $4n+2$ (por ejemplo, que tiene 6 o 10 π electrones compartidos en una disposición cíclica) que tiene átomos de carbono en el anillo y 1-4 heteroátomos en el anillo proporcionados en el aromático sistema de anillo aromático, en el que cada heteroátomo se selecciona independientemente de entre nitrógeno, oxígeno y azufre ("heteroarilo de 5-10 miembros"). En los grupos heteroarilo que contienen uno o más átomos de nitrógeno, el punto de unión puede ser un átomo de carbono o nitrógeno, según lo permita la valencia. Los sistemas de anillo heteroarilo bicíclico pueden incluir uno o más heteroátomos en uno o ambos anillos. Heteroarilo incluye sistemas de anillo en los que el anillo heteroarilo, como se ha definido anteriormente, está condensado con uno o más grupos carbocíclico o heterocíclico en los que el punto de unión está en el anillo heteroarilo, y, en tales casos, el número de miembros en el anillo sigue designando el número de miembros en el anillo en el sistema de anillo de heteroarilo. Heteroarilo también incluye sistemas de anillo en los que el anillo heteroarilo, como se ha definido anteriormente, está condensado con uno o más grupos arilo en los que el punto de unión está en el anillo arilo o heteroarilo, y, en tales casos, el número de miembros en el anillo sigue designando el número de miembros en el anillo en el sistema de anillo policíclico condensado (arilo/heteroarilo). Los grupos heteroarilo bicíclico en los que un anillo no contiene un heteroátomo (por ejemplo, indolilo, quinolinilo, carbazolilo y similares), el punto de unión puede estar en cualquiera de los anillos, es decir, en el anillo portador de un heteroátomo (por ejemplo, 2-indolilo) o el anillo que no contiene un heteroátomo (por ejemplo, 5-indolilo).

30 En algunas realizaciones, un grupo heteroarilo es un sistema de anillo aromático de 5-8 miembros que tienen átomos de carbono en el anillo y 1-4 heteroátomos en el anillo, proporcionados en el sistema del anillo aromático, en el que cada heteroátomo se selecciona independientemente de entre nitrógeno, oxígeno y azufre ("heteroarilo de 5-8 miembros"). En algunas realizaciones, un grupo heteroarilo es un sistema de anillo aromático de 5-6 miembros que tienen átomos de carbono en el anillo y 1-4 heteroátomos en el anillo, proporcionados en el sistema del anillo aromático, en el que cada heteroátomo se selecciona independientemente de entre nitrógeno, oxígeno y azufre ("heteroarilo de 5-6 miembros"). En algunas realizaciones, el heteroarilo de 5-6 miembros tiene 1-3 heteroátomos en el anillo seleccionados de entre nitrógeno, oxígeno y azufre. En algunas realizaciones, el heteroarilo de 5-6 miembros tiene 1-2 heteroátomos en el anillo seleccionados de entre nitrógeno, oxígeno y azufre. En algunas realizaciones, el heteroarilo de 5-6 miembros tiene 1 heteroátomo en el anillo seleccionado de entre nitrógeno, oxígeno y azufre.

45 Entre los ejemplos de grupos heteroarilo de 5 miembros que contienen 1 heteroátomo se incluyen, sin limitación, pirrolilo, furanilo y tiofenilo. Entre los ejemplos de grupos heteroarilo de 5 miembros que contienen 2 heteroátomo se incluyen, sin limitación, imidazolilo, pirazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo e isotiazolilo. Entre los ejemplos de grupos heteroarilo de 5 miembros que contienen 3 heteroátomo se incluyen, sin limitación, triazolilo, oxadiazolilo y tiadiazolilo. Entre los ejemplos de grupos heteroarilo de 5 miembros que contienen 4 heteroátomo se incluyen, sin limitación, tetrazolilo. Entre los ejemplos de grupos heteroarilo de 6 miembros que contienen 1 heteroátomo se incluyen, sin limitación, piridinilo. Entre los ejemplos de grupos heteroarilo de 6 miembros que contienen 2 heteroátomos se incluyen, sin limitación, piridazinilo, pirimidinilo y pirazinilo. Entre los ejemplos de grupos heteroarilo de 6 miembros que contienen 3 o 4 heteroátomos se incluyen, sin limitación, triazinilo y tetrazinilo, respectivamente. Entre los ejemplos de grupos heteroarilo de 7 miembros que contienen 1 heteroátomo se incluyen, sin limitación, azepinilo, oxepinilo y tiepinilo. Entre los grupos heteroarilo 5,6-bicíclicos de ejemplo se incluyen, sin limitación, indolilo, isoindolilo, indazolilo, benzotriazolilo, benzotiofenilo, isobenzotiofenilo, benzofuranilo, benzoisofuranilo, bencimidazolilo, benzoxazolilo, bencisoxazolilo, benzoxadiazolilo, benzotiazolilo, benzoisotiazolilo, benztiadiazolilo, indolizínilo y purínilo. Entre los grupos heteroarilo 6,6-bicíclicos de ejemplo se incluyen, sin limitación, naftiridinilo, pteridinilo, quinolinilo, isoquinolinilo, cinolinilo, quinoxalinilo, ftalazinilo y quinazolinilo.

60 "Parcialmente insaturado" se refiere a un grupo que incluye al menos un enlace doble o triple. La expresión "parcialmente insaturado" pretende abarcar anillos que tienen sitios múltiples de insaturación, pero no se pretende incluir grupos aromáticos (por ejemplo, restos arilo o heteroarilo), como se define en el presente documento. De forma análoga, "saturado" se refiere a un grupo que no contiene un enlace doble o triple, es decir, contiene todos los enlaces simples.

65 Los grupos alquilo, alqueno, alquino, carbocíclico, heterocíclico, arilo y heteroarilo, tal como se definen en el presente documento, están opcionalmente sustituidos (por ejemplo, un grupo alquilo "sustituido" o "no sustituido",

alqueno "sustituido" o "no sustituido", alquino "sustituido" o "no sustituido", carbociclilo "sustituido" o "no sustituido", heterociclilo "sustituido" o "no sustituido", arilo "sustituido" o "no sustituido" o heteroarilo "sustituido" o "no sustituido"). En general, el término "sustituido", vaya precedido o no del término "opcionalmente", significa que al menos un hidrógeno presentes en un grupo (por ejemplo, un átomo de carbono o nitrógeno) está sustituido con un sustituyente permisible, *por ejemplo*, un sustituyente que, tras la sustitución, da como resultado un compuesto estable, *por ejemplo*, un compuesto que no se transforma espontáneamente, tal como mediante reorganización, ciclación, eliminación u otra reacción. Salvo que se indique lo contrario, un grupo "sustituido" tiene un sustituyente en una o más posiciones sustituibles del grupo y, cuando más de una posición en cualquier estructura dada está sustituida, el sustituyente es el mismo o diferente en cada posición. Se contempla que el término "sustituido" incluye la sustitución con todos los sustituyentes permitidos de compuestos orgánicos, cualquiera de los sustituyentes descritos en el presente documento que se traduce en la formación de un compuesto estable. La presente invención contempla cualquiera y todas de tales combinaciones con el fin de llegar a un compuesto estable. Para los fines de la presente invención, los heteroátomos, tales como nitrógeno, pueden tener sustituyentes de hidrógeno y / o cualquier sustituyente adecuado como se describe en el presente documento que satisfaga las valencias de los heteroátomos y dé como resultado la formación de un resto estable.

Entre los sustituyentes de átomos de carbono a modo de ejemplo se incluyen, pero sin limitaciones, halógeno, -CN, -NO₂, -N₃, -SO₂H, -SO₃H, -OH, -OR^{aa}, -ON(R^{bb})₂, -N(R^{bb})₂, -N(R^{bb})₃⁺X⁻, -N(OR^{cc})R^{bb}, -SH, -SR^{aa}, -SSR^{cc}, -C(=O)R^{aa}, -CO₂H, -CHO, -C(OR^{cc})₂, -CO₂R^{aa}, -OC(=O)R^{aa}, -OCO₂R^{aa}, -C(=O)N(R^{bb})₂, -OC(=O)N(R^{bb})₂, -NR^{bb}C(=O)R^{aa}, -NR^{bb}CO₂R^{aa}, -NR^{bb}C(=O)N(R^{bb})₂, -C(=NR^{bb})R^{aa}, -C(=NR^{bb})OR^{aa}, -OC(=NR^{bb})R^{aa}, -OC(=NR^{bb})OR^{aa}, -C(=NR^{bb})N(R^{bb})₂, -OC(=NR^{bb})N(R^{bb})₂, -NR^{bb}C(=NR^{bb})N(R^{bb})₂, -C(=O)NR^{bb}SO₂R^{aa}, -NR^{bb}SO₂R^{aa}, SO₂N(R^{bb})₂, -SO₂R^{aa}, -SO₂OR^{aa}, -OSO₂R^{aa}, -S(=O)R^{aa}, -OS(=O)R^{aa}, -Si(R^{aa})₃, -OSi(R^{aa})₃-C(=S)N(R^{bb})₂, -C(=O)SR^{aa}, -C(=S)SR^{aa}, -SC(=S)SR^{aa}, -SC(=O)SR^{aa}, -OC(=O)SR^{aa}, -SC(=O)OR^{aa}, -SC(O)R^{aa}, -P(=O)₂R^{aa}, -OP(=O)₂R^{aa}, -P(=O)(R^{aa})₂, -OP(=O)(R^{aa})₂, -OP(=O)(OR^{cc})₂, -P(=O)₂N(R^{bb})₂, -OP(=O)₂N(R^{bb})₂, -P(=O)(NR^{bb})₂, -OP(=O)(NR^{bb})₂, -NR^{bb}P(=O)(OR^{cc})₂, -NR^{bb}P(=O)(NR^{bb})₂, -P(R^{cc})₂, -P(R^{cc})₃, -OP(R^{cc})₂, -OP(R^{cc})₃, -B(R^{aa})₂, -B(OR^{cc})₂, -BR^{aa}(OR^{cc}), -alquilo C₁₋₁₀, perhaloalquilo-C₁₋₁₀, alqueno C₂₋₁₀, alquino C₂₋₁₀, carbociclilo C₃₋₁₀, heterociclilo de 3-14 miembros, arilo C₆₋₁₄ y heteroarilo de 5-14 miembros, en el que cada alquilo, alqueno, alquino, carbociclilo, heterociclilo, arilo y heteroarilo están sustituidos independientemente con 0, 1, 2, 3, 4 o 5 grupos R^{dd}, o dos hidrógenos geminales sobre un átomo de carbono están sustituidos con el grupo =O, =S, =NN(R^{bb})₂, =NNR^{bb}C(=O)R^{aa}, =NNR^{bb}C(=O)OR^{aa}, =NNR^{bb}S(=O)₂R^{aa}, =NR^{bb} o =NOR^{cc}; cada uno de R^{aa}, independientemente, se selecciona de entre alquilo C₁₋₁₀, perhaloalquilo -C₁₋₁₀, alqueno C₂₋₁₀, alquino C₂₋₁₀, carbociclilo C₃₋₁₀, heterociclilo de 3-14 miembros, arilo C₆₋₁₄ y heteroarilo de 5-14 miembros, o dos grupos R^{aa} están unidos para formar un anillo heterociclilo de 3-14 miembros o heteroarilo de 5-14 miembros, en el que cada alquilo, alqueno, alquino, carbociclilo, heterociclilo, arilo y heteroarilo están sustituidos independientemente con 0, 1, 2, 3, 4 o 5 grupos R^{dd}; cada uno de R^{bb}, independientemente, se selecciona de hidrógeno, -OH, -OR^{aa}, -N(R^{cc})₂, -CN, -C(=O)R^{aa}, -C(=O)N(R^{cc})₂, -CO₂R^{aa}, -SO₂R^{aa}, -C(=NR^{cc})OR^{aa}, -C(=NR^{cc})N(R^{cc})₂, -SO₂N(R^{cc})₂, -SO₂R^{cc}, -SO₂OR^{cc}, -SOR^{aa}, -C(=S)N(R^{cc})₂, -C(=O)SR^{cc}, -C(=S)SR^{cc}, -P(=O)₂R^{aa}, -P(=O)(R^{aa})₂, -P(=O)₂N(R^{cc})₂, -P(=O)(NR^{cc})₂, alquilo C₁₋₁₀, perhaloalquilo C₁₋₁₀, alqueno C₂₋₁₀, alquino C₂₋₁₀, carbociclilo C₃₋₁₀, heterociclilo de 3-14 miembros, arilo C₆₋₁₄ y heteroarilo de 5-14 miembros, o dos grupos R^{bb} están unidos para formar un anillo heterociclilo de 3-14 miembros o heteroarilo de 5-14 miembros, en el que cada alquilo, alqueno, alquino, carbociclilo, heterociclilo, arilo y heteroarilo están sustituidos independientemente con 0, 1, 2, 3, 4 o 5 grupos R^{dd}; cada uno de R^{cc}, independientemente, se selecciona de hidrógeno, alquilo C₁₋₁₀, perhaloalquilo C₁₋₁₀, alqueno C₂₋₁₀, alquino C₂₋₁₀, carbociclilo C₃₋₁₀, heterociclilo de 3-14 miembros, arilo C₆₋₁₄ y heteroarilo de 5-14 miembros, o dos grupos R^{cc} están unidos para formar un anillo heterociclilo de 3-14 miembros o heteroarilo de 5-14 miembros, en el que cada alquilo, alqueno, alquino, carbociclilo, heterociclilo, arilo y heteroarilo están sustituidos independientemente con 0, 1, 2, 3, 4 o 5 grupos R^{dd}; cada uno de R^{dd}, independientemente, se selecciona de entre halógeno, -CN, -NO₂, -N₃, -SO₂H, -SO₃H, -OH, -OR^{ee}, -ON(R^{ff})₂, -N(R^{ff})₂, -N(R^{ff})₃⁺X⁻, -N(OR^{ee})R^{ff}, -SH, -SR^{ee}, -SSR^{ee}, -C(=O)R^{ee}, -CO₂H, -CO₂R^{ee}, -OC(=O)R^{ee}, -OCO₂R^{ee}, -C(=O)N(R^{ff})₂, -OC(=O)N(R^{ff})₂, -NR^{ff}C(=O)R^{ee}, -NR^{ff}CO₂R^{ee}, -NR^{ff}C(=O)N(R^{ff})₂, -C(=NR^{ff})OR^{ee}, -OC(=NR^{ff})R^{ee}, -OC(=NR^{ff})OR^{ee}, -C(=NR^{ff})N(R^{ff})₂, -OC(=NR^{ff})N(R^{ff})₂, -NR^{ff}C(=NR^{ff})N(R^{ff})₂, -NR^{ff}SO₂R^{ee}, -SO₂N(R^{ff})₂, -SO₂R^{ee}, -SO₂OR^{ee}, -OSO₂R^{ee}, -S(=O)R^{ee}, -OS(=O)R^{ee}, -Si(R^{ee})₃, -OSi(R^{ee})₃, -C(=S)N(R^{ff})₂, -C(=O)SR^{ee}, -C(=S)SR^{ee}, -SC(=S)SR^{ee}, -P(=O)₂R^{ee}, -P(=O)(R^{ee})₂, -OP(=O)(R^{ee})₂, -OP(=O)(OR^{ee})₂, alquilo C₁₋₆, perhaloalquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, carbociclilo C₃₋₁₀, heterociclilo de 3-10 miembros, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5-10 miembros, en el que cada alquilo, alqueno, alquino, carbociclilo, heterociclilo, arilo y heteroarilo están sustituidos independientemente con 0, 1, 2, 3, 4 o 5 grupos R^{gg} o dos sustituyentes R^{dd} geminales se pueden unir para formar =O o =S; cada uno de R^{ee}, independientemente, se selecciona de entre alquilo C₁₋₆, perhaloalquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, carbociclilo C₃₋₁₀, arilo C₆₋₁₀, heterociclilo de 3-10 miembros y heteroarilo de 3-10 miembros, en el que cada alquilo, alqueno, alquino, carbociclilo, heterociclilo, arilo y heteroarilo están sustituidos independientemente con 0, 1, 2, 3, 4 o 5 grupos R^{gg}; cada uno de R^{ff}, independientemente, se selecciona de hidrógeno, alquilo C₁₋₆, perhaloalquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, carbociclilo C₃₋₁₀, heterociclilo de 3-10 miembros, arilo C₆₋₁₀ y heteroarilo de 5-10 miembros, o dos grupos R^{ff} están unidos para formar un anillo heterociclilo de 3-14 miembros o heteroarilo de 5-14 miembros, en el que cada alquilo, alqueno, alquino, carbociclilo, heterociclilo, arilo y heteroarilo están sustituidos independientemente con 0, 1, 2, 3, 4 o 5 grupos R^{gg}; cada uno de R^{gg} es, independientemente, halógeno, -CN, -NO₂, -N₃, -SO₂H, -SO₃H, -OH, -O alquilo C₁₋₆, -ON(alquilo C₁₋₆)₂, -N(alquilo C₁₋₆)₃⁺X⁻, -NH(alquilo C₁₋₆)₂⁺X⁻, -NH₂(alquilo C₁₋₆)⁺X⁻, -NH₃⁺X⁻, -N(O alquilo C₁₋₆)(alquilo C₁₋₆), -N(OH)(alquilo C₁₋₆), -NH(OH), -SH, -S alquilo C₁₋₆, -SS(alquilo C₁₋₆), -C(=O)(alquilo C₁₋₆), -CO₂H, -CO₂(alquilo C₁₋₆), -OC(=O)(alquilo C₁₋₆),

-OCO₂(alquilo C₁₋₆), -C(=O)NH₂, -C(=O)N(alquilo C₁₋₆)₂, -OC(=O)NH(alquilo C₁₋₆), -NHC(=O)(alquilo C₁₋₆), -N(alquilo C₁₋₆)C(=O)(alquilo C₁₋₆), -NHCO₂(alquilo C₁₋₆), -NHC(=O)N(alquilo C₁₋₆)₂, -NHC(=O)(alquilo C₁₋₆), -NHC(=O)NH₂, -C(=NH)O(alquilo C₁₋₆), -OC(=NH)(alquilo C₁₋₆), -OC(=NH)O alquilo C₁₋₆, -C(=NH)N(alquilo C₁₋₆)₂, -C(=NH)NH(alquilo C₁₋₆), -C(=NH)NH₂, -OC(=NH)N(alquilo C₁₋₆)₂, -OC(NH)NH(alquilo C₁₋₆), -OC(NH)NH₂, -NHC(NH)N(alquilo C₁₋₆)₂, -NHC(=NH)NH₂, -NHSO₂(alquilo C₁₋₆), -SO₂N(alquilo C₁₋₆)₂, -SO₂NH(alquilo C₁₋₆), -SO₂NH₂, -SO₂ alquilo C₁₋₆, -SO₂O alquilo C₁₋₆, -OSO₂ alquilo C₁₋₆, -SO alquilo C₁₋₆, -Si(alquilo C₁₋₆)₃, -OSi(alquilo C₁₋₆)₃-C(=S)N(alquilo C₁₋₆)₂, C(=S)NH(alquilo C₁₋₆), C(=S)NH₂, -C(=O)S(alquilo C₁₋₆), -C(=S)S alquilo C₁₋₆, -SC(=S)S alquilo C₁₋₆, -P(=O)₂(alquilo C₁₋₆), -P(=O)(alquilo C₁₋₆)₂, -OP(=O)(alquilo C₁₋₆)₂, -OP(=O)(O alquilo C₁₋₆)₂, alquilo C₁₋₆, perhaloalquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, carbociclo C₃₋₁₀, arilo C₆₋₁₀, heterociclo de 3-10 miembros, heteroarilo de 5-10 miembros; o dos sustituyentes R⁹⁹ geminales pueden unirse para formar =O o =S; en el que X es un contraion.

Un "contraion" o "contraion aniónico" es un grupo cargado negativamente asociado con un grupo amino cuaternario catiónico con el fin de mantener la neutralidad electrónica. Entre los contraiones de ejemplo se incluyen iones haluro (por ejemplo, F⁻, Cl⁻, Br⁻, I⁻), NO₃⁻, ClO₄⁻, OH⁻, H₂PC₄⁻, HSO₄⁻, iones sulfonato (por ejemplo, metanosulfonato, trifluorometanosulfonato, p-toluenosulfonato, bencenosulfonato, sulfonato de 10-alcanfor, naftaleno-2-sulfonato, 5-sulfonato de ácido naftaleno-1-sulfónico, 2-sulfonato de ácido etan-1-sulfónico, y similares) e iones carboxilato (por ejemplo, acetato, etanoato, propanoato, benzoato, glicerato, lactato, tartrato, glicolato y similares).

"Halo" o "halógeno" se refiere a flúor (flúor, -F), cloro (cloro, -Cl), bromo (bromo, -Br) o yodo (yodo, -I).

Entre los sustituyentes de átomos de nitrógeno a modo de ejemplo se incluyen, pero sin limitaciones, -OH, -OR^{aa}, -N(R^{cc})₂, -C(=O)R^{aa}, -C(=O)N(R^{cc})₂, -CO₂R^{aa}, -SO₂R^{aa}, -C(=NR^{cc})R^{aa}, -C(=NR^{cc})OR^{aa}, -C(=NR^{cc})N(R^{cc})₂, -SO₂N(R^{cc})₂, -SO₂R^{cc}, -SO₂OR^{cc}, -SOR^{aa}, -C(=S)N(R^{cc})₂, -C(=O)SR^{cc}, -C(=S)SR^{cc}, alquilo C₁₋₁₀ (por ejemplo, aralquilo, heteroaralquilo), alqueno C₂₋₁₀, alquino C₂₋₁₀, carbociclo C₃₋₁₀, heterociclo de 3-14 miembros, arilo C₆₋₁₄ y heteroarilo de 5-14 miembros, en el que cada alquilo, alqueno, alquino, carbociclo, heterociclo, aralquilo, arilo y heteroarilo están sustituidos independientemente con 0, 1, 2, 3, 4 o 5 grupos R^{dd} y en el que R^{aa}, R^{bb}, R^{cc} y R^{dd} son como se definen en el presente documento. En determinadas realizaciones, el sustituyente átomo de nitrógeno es un grupo protector de nitrógeno. Los grupos protectores de nitrógeno son bien conocidos en la materia e incluyen los descritos con detalle en Protecting Groups in Organic Synthesis, T. W. Greene y P. G. M. Wuts, 3^a Edición, John Wiley & Sons, 1999.

Entre los sustituyentes de átomos de oxígeno a modo de ejemplo se incluyen, pero sin limitaciones, -R^{aa}, -C(=O)SR^{aa}, -C(=O)R^{aa}, -CO₂R^{aa}, -C(=O)N(R^{bb})₂, -C(=NR^{bb})R^{aa}, -C(=NR^{bb})OR^{aa}, -C(=NR^{bb})N(R^{bb})₂, -S(=O)R^{aa}, -SO₂R^{aa}, -Si(R^{aa})₃, -P(R^{cc})₂, -P(R^{cc})₃, -P(=O)₂R^{aa}, -P(=O)(R^{aa})₂, -P(=O)(OR^{cc})₂, -P(O)₂N(R^{bb})₂ y -P(=O)(NR^{bb})₂, en los que R^{aa}, R^{bb} y R^{cc} son como se definen en el presente documento. En determinadas realizaciones, el sustituyente átomo de oxígeno presente en un átomo de oxígeno es un grupo protector de oxígeno (también denominado grupo protector de hidroxilo). Los grupos protectores de oxígeno son bien conocidos en la materia e incluyen los descritos con detalle en Protecting Groups in Organic Synthesis, T. W. Greene y P. G. M. Wuts, 3^a Edición, John Wiley & Sons, 1999.

Entre los grupos protectores de oxígeno a modo de ejemplo se incluyen, pero sin limitaciones, metilo, metoximetilo (MOM), metiltiommetilo (MTM), *t*-butiltiommetilo, (fenildimetilsilil)metoximetilo (SMOM), benciloximetilo (BOM), *p*-metoxibenciloximetilo (PMBM), (4-metoxifenoxi)metilo (*p*-AOM), guaiacolmetilo (GUM), *f*-butoximetilo, 4-penteniloximetilo (POM), siloximetilo, 2-metoxietoximetilo (MEM), 2,2,2-tricloroetoximetilo, bis(2-cloroetoxi)metilo, 2-(trimetilsilil)etoximetilo (SEMOR), tetrahidropirano (THP), 3-bromotetrahidropirano, tetrahidrotiopirano, 1-metoxiciclohexilo, 4-metoxitetrahidropirano (MTHP), 4-metoxitetrahidrotiopirano, *S,S*-dióxido de 4-metoxitetrahidrotiopirano, 1-[(2-cloro-4-metil)fenil]-4-metoxi piperidin-4-ilo (CTMP), 1,4-dioxan-2-ilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidrotiofuranilo, 2,3,3a,4,5,6,7,7a-octahidro-7,8,8-trimetil-4,7-metanobenzofuran-2-ilo, 1-etoxietilo, 1-(2-cloroetoxi)etilo, 1-metil-1-metoxietilo, 1-metil-1-benciloxietilo, 1-metil-1-benciloxi-2-fluoroetilo, 2,2,2-tricloroetilo, 2-trimetilsililetilo, 2-(fenilselenil)etilo, *t*-butilo, alilo, *p*-clorofenilo *p*-metoxifenilo, 2,4-dinitrofenilo, bencilo (Bn), *p*-metoxibencilo, 3,4-dimetoxibencilo, *o*-nitrobencilo, *p*-nitrobencilo, *p*-halobencilo, 2,6-diclorobencilo, *p*-cianobencilo, *p*-fenilbencilo, 2-picolilo, 4-picolilo, *W*-óxido de 3-metil-2-picolilo, difenilmetilo, *p,p'*-dinitrobencilidrido, 5-dibenzosuberilo, trifenilmetilo, α -naftildifenilmetilo, *p*-metoxifenildifenilmetilo, di(*p*-metoxifenil)fenilmetilo, tri(*p*-metoxifenil)metilo, 4-(4'-bromofenaciloxifenil)difenilmetilo, 4,4',4"-tris(4,5-dicloroftalimidofenil)metilo, 4,4',4"-tris(levulinoiloxifenil)metilo, 4,4',4"-tris(benzoiloxifenil)metilo, 3-(imidazol-1- il)bis(4',4"-dimetoxifenil)metilo, 1,1-bis(4-metoxifenil)-1'-pirenilmetilo, 9-antrilo, 9-(9-fenil)xantenilo, 9-(9-fenil-10-oxo)antrilo, 1,3-benzodisulfuran-2-ilo, *S,S*-dióxido de benzoisotiazolilo, trimetilsililo (TMS), trietilsililo (TES), trisopropilsililo (TIPS), dimetilsopropilsililo (IPDMS), dietilsopropilsililo (DEIPS), dimetilhexilsililo, *t*-butildimetilsililo (TBDMS), *t*-butildifenilsililo (TBDPS), tribencilsililo, tri-*p*-xililsililo, trifenilsililo, difenilmetilsililo (DPMS), *t*-butilmetoxifenilsililo (TBMP), formiato, benzoilformiato, acetato (-Ac), cloroacetato, dicloroacetato, tricloroacetato, trifluoroacetato, metoxiacetato, trifenilmetoxiacetato, fenoxiacetato, *p*-clorofenoxiacetato, 3-fenilpropionato, 4-oxopentanoato (levulinato), 4,4-(etilenditio)pentanoato (levulinoilditioacetato), pivaloato, adamantoato, crotonato, 4-metoxicrotonato, benzoato, *p*-fenilbenzoato, 2,4,6-trimetilbenzoato (mesitoato), alquilcarbonato de metilo, carbonato de 9-fluorenilmetilo (Fmoc), alquilcarbonato de etilo, alquilcarbonato de 2,2,2-tricloroetilo (Troc), carbonato de 2-(trimetilsilil)etilo (TMSEC), etilcarbonato de 2-(fenilsulfonilo) (Psec), etilcarbonato de 2-(trifenilfosfonio) (Peoc), alquilcarbonato de isobutilo, alquilcarbonato de vinilo alquilcarbonato de alilo, alquilcarbonato de *p*-nitrofenilo, alquilcarbonato de bencilo, alquilcarbonato de *p*-metoxibencilo, alquilcarbonato de

3,4-dimetoxibencilo, alquilcarbonato de o-nitrobencilo, alquilcarbonato de p-nitrobencilo, alquilcarbonato de - bencilo, carbonato de 4-etoxi-1-naftilo, ditiocarbonato de metilo, 2- yodobenzoato, 4-azidobutirato, 4-nitro-4-metilpentanoato, o-(dibromometil)benzoato, 2-formilbencenosulfonato, 2-(metiltiometoxi)etilo, 4-(metiltiometoxi)butirato, 2-(metiltiometoximetil)benzoato, 2,6-dicloro-4- metilfenoxiacetato, 2,6-dicloro-4-(1,1,3,3-tetrametilbutil)fenoxiacetato, 2,4-bis(1,1-dimetilpropil)fenoxiacetato, clorodifenilacetato, isobutirato, monosuccinato, (E)-2-metil-2-butenato, o-(methoxiacil)benzoato, α - naftoato, nitrato, W,W,W',W'-tetrametilfosforodiamidato de alquilo, W-fenilcarbamatato de alquilo, borato, dimetilfosfotioilo, 2,4-dinitrofenilsulfonato de alquilo, sulfato, metanosulfonato (mesilato), benzylsulfonato y tosilato (Ts). En determinadas realizaciones, dos átomos de oxígeno proximales están protegidos como un acetal cíclico, *por ejemplo*, 1,2- o 1,3-dioles pueden estar protegidos como grupo un isopropilidino, un cetal cicloalquilideno (por ejemplo, ciclopentilideno o ciclohexilideno), un bencilideno acetal (por ejemplo, p-metoxibencilidina), un carbonato, un silileno (por ejemplo, di-t-butilsilileno, 1,3-(1,1,1,3,3)-tetraisopropildisiloxanilida), un 1,3-dioxolanilo o un 1,3-dioxanilo.

"Sal" o "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a las sales que son, dentro del alcance del buen juicio médico, adecuadas para su uso en contacto con los tejidos de los seres humanos y animales sin toxicidad excesiva, irritación, respuesta alérgica y similares y en consonancia con una proporción beneficio/riesgo razonable. Las sales farmacéuticamente aceptables se conocen bien en la técnica. Por ejemplo, véase Berge et al., describe sales farmacéuticamente aceptables con detalle en J. Pharmaceutical Sciences (1977) 66:1-19 y P. Heinrich Stahl and Camille G. Wermuth, Handbook of Pharmaceutical Salts. Properties, Selection and Use. International Union of Pure and Applied Chemistry, Wiley-VCH 2002. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables (es decir, una sal formada a partir del compuesto tras la adición de un ácido) y sales de adición de bases farmacéuticamente aceptables (es decir, una sal formada a partir el compuesto después de la adición de una base). Las sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables incluyen, pero sin limitaciones, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, nitrato, sulfato, bisulfato, fosfato, fosfato de ácido, isonicotinato, acetato, lactato, salicilato, citrato, tartrato, pantotenato, bitartrato, ascorbato, succinato, maleato, gentisinato, fumarato, gluconato, glucaronato, sacarato, formiato, benzoato, glutamato, metanosulfonato, etanosulfonato, bencenosulfonato, p-toluenosulfonato y pamoato. Las sales de adición de bases farmacéuticamente aceptables incluyen, pero sin limitaciones, aluminio, calcio, litio, magnesio, potasio, sodio, cinc y de amina cuaternaria.

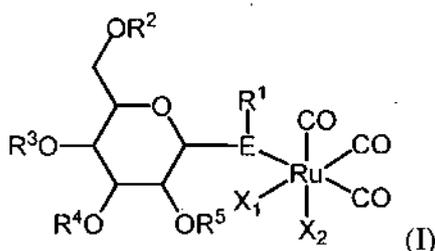
Un "isómero" incluye cualquiera y todos los isómeros geométricos y estereoisómeros. Por ejemplo, "isómeros" incluye los isómeros *cis* y *trans*, isómeros E y Z, enantiómeros *R* y *S*, diastereómeros, (D)-isómeros, (L)-isómeros, isómeros *fac* y *mer*, mezclas racémicas de los mismos y otras mezclas de los mismos, que se encuentran dentro del alcance de la invención.

Un "hidrato" se refiere a un compuesto de la presente divulgación asociado no covalentemente con una o más moléculas de agua. De forma análoga, Un "solvato" se refiere a un compuesto de la presente divulgación asociado no covalentemente con una o más moléculas de disolvente orgánico.

Un "grupo carbohidrato" o un "hidrato de carbono" se refiere a un monosacárido o un polisacárido (por ejemplo, un disacárido o un oligosacárido). Entre los ejemplos de monosacáridos se incluyen, pero sin limitaciones, alosa, altrosa, glucosa, manosa, gulosa, idosa, galactosa, talosa, ribosa, arabinosa, xilosa y lixosa. Los disacáridos son dos monosacáridos unidos. Entre los ejemplos de disacáridos se incluyen, pero sin limitaciones, sacarosa, maltosa, celobiosa y lactosa. Normalmente, un oligosacárido incluye entre tres y diez unidades de monosacáridos (por ejemplo, rafinosa, estaquiosa). El grupo carbohidrato puede ser un azúcar natural o un azúcar modificado. Entre los azúcares modificados de ejemplo se incluyen, pero sin limitaciones, 2'-desoxirribosa en la que se ha eliminado un grupo hidroxilo, 2'-fluororribosa en la que un grupo hidroxilo se sustituye con un átomo de flúor o N-acetilglucosamina, o una forma de la glucosa que contiene nitrógeno (por ejemplo, 2'-fluororribosa, desoxirribosa y hexosa). Los hidratos de carbono pueden existir en muchas formas diferentes, por ejemplo, confórmers, formas cíclicas, formas acíclicas, estereoisómeros, tautómeros, anómeros e isómeros.

Realizaciones del compuesto de fórmula (I)

Tal como se ha descrito generalmente anteriormente, la presente invención proporciona compuestos de fórmula (I):



o sales, isómeros, hidratos o solvatos de los mismos o combinaciones de los mismos; en la que:

E es-S- o -Se-;

R¹ es hidrógeno o alquilo C₁₋₆;

cada uno de R², R³, R⁴ y R⁵ es, independientemente, hidrógeno, un grupo carbohidrato o un grupo protector de oxígeno; y

5 X₁ y X₂ son cada uno, independientemente, halógeno.

En determinadas realizaciones, E is -S-. En determinadas realizaciones, E es -Se-.

10 En determinadas realizaciones, R¹ es alquilo C₁₋₅. En determinadas realizaciones, R¹ es alquilo C₁₋₄. En determinadas realizaciones, R¹ es alquilo C₁₋₃. En determinadas realizaciones, R¹ es alquilo C₁₋₂. En determinadas realizaciones, R¹ es alquilo C₂₋₆. En determinadas realizaciones, R¹ es alquilo C₂₋₅. En determinadas realizaciones, R¹ es alquilo C₂₋₄. En determinadas realizaciones, R¹ es alquilo C₂₋₃. En determinadas realizaciones, R¹ es alquilo C₃₋₆. En determinadas realizaciones, R¹ es alquilo C₃₋₅. En determinadas realizaciones, R¹ es alquilo C₃₋₄. En determinadas realizaciones, R¹ es alquilo C₄₋₆. En determinadas realizaciones, R¹ es alquilo C₄₋₅. En determinadas realizaciones, R¹ es alquilo C₁. En determinadas realizaciones, R¹ es alquilo C₂. En determinadas realizaciones, R¹ es alquilo C₃. En determinadas realizaciones, R¹ es alquilo C₄. En determinadas realizaciones, R¹ es alquilo C₅. En determinadas realizaciones, R¹ es alquilo C₆. En determinadas realizaciones, R¹ se selecciona entre el grupo que consiste en -CH₃, -CH₂CH₃, -(CH₂)₂CH₃, -(CH₂)₃CH₃, -(CH₂)₄CH₃, -(CH₂)₅CH₃, -CH(CH₃)₂, -C(CH₃)₃, -CH(CH₃)CH₂CH₃, -CH₂CH(CH₃)CH₃, -CH(CH₃)(CH₂)₂CH₃, -CH₂CH(CH₃)CH₂CH₃, -(CH₂)₂CH(CH₃)₂, -CH(CH₃)(CH₂)₃CH₃, -CH₂CH(CH₃)(CH₂)₂CH₃ y -(CH₂)₃CH(CH₃)₂. En determinadas realizaciones, R¹ es -CH₃ o -CH₂CH₃. En determinadas realizaciones, R¹ es -CH₃.

25 Tal como se ha descrito generalmente anteriormente, cada uno de R², R³, R⁴ y R⁵ es, independientemente, hidrógeno, un grupo carbohidrato o un grupo protector de oxígeno.

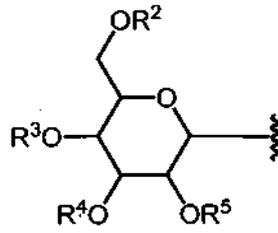
30 En determinadas realizaciones, al menos uno de R², R³, R⁴ y R⁵ es, independientemente, hidrógeno. En determinadas realizaciones, al menos dos de R², R³, R⁴ y R⁵ es, independientemente, hidrógeno. En determinadas realizaciones, al menos tres de R², R³, R⁴ y R⁵ es, independientemente, hidrógeno. En determinadas realizaciones, cada uno de R², R³, R⁴ y R⁵ es, independientemente, hidrógeno.

35 En determinadas realizaciones, al menos uno de R², R³, R⁴ y R⁵ es, independientemente, un grupo carbohidrato. En determinadas realizaciones, al menos dos de R², R³, R⁴ y R⁵ es, independientemente, un grupo carbohidrato. En determinadas realizaciones, al menos tres de R², R³, R⁴ y R⁵ es, independientemente, un grupo carbohidrato. En determinadas realizaciones, cada uno de R², R³, R⁴ y R⁵ es, independientemente, un grupo carbohidrato. Ejemplos de grupos carbohidrato se han descrito anteriormente y en el presente documento. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, el grupo carbohidrato es un monosacárido, *por ejemplo*, glucosa o galactosa. En determinadas realizaciones, el hidrato de carbono es un disacárido, *por ejemplo*, sacarosa. En determinadas realizaciones, el hidrato de carbono es un oligosacárido.

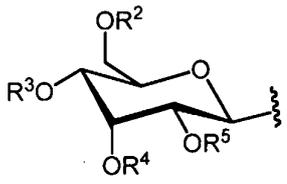
40 En determinadas realizaciones, al menos uno de R², R³, R⁴ y R⁵ es, independientemente, un grupo protector de oxígeno. En determinadas realizaciones, al menos dos de R², R³, R⁴ y R⁵ es, independientemente, un grupo protector de oxígeno. En determinadas realizaciones, al menos tres de R², R³, R⁴ y R⁵ es, independientemente, un grupo protector de oxígeno. En determinadas realizaciones, cada uno de R², R³, R⁴ y R⁵ es, independientemente, un grupo protector de oxígeno. Ejemplos de grupos carbohidrato se han descrito anteriormente y en el presente documento. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, el grupo protector de oxígeno se selecciona de entre el grupo que consiste en -R^{aa}, -C(=O)SR^{aa}, -C(=O)R^{aa}, -CO₂R^{aa}, -C(=O)N(R^{bb})₂, -C(=NR^{bb})R^{aa}, -C(=NR^{bb})OR^{aa}, -C(=NR^{bb})N(R^{bb})₂, -S(=O)R^{aa}, -SO₂R^{aa}, -Si(R^{aa})₃-P(R^{cc})₂, -P(R^{cc})₃, -P(=O)₂R^{aa}, -P(=O)(R^{aa})₂, -P(=O)(OR^{cc})₂, -P(=O)₂N(R^{bb})₂ y -P(=O)(NR^{bb})₂, en los que R^{aa}, R^{bb} y R^{cc} son como se definen en el presente documento. En determinadas realizaciones, el grupo protector de oxígeno es -C(=O)R^{aa}, en el que R^{aa} es alquilo C₁₋₁₀. En determinadas realizaciones, el grupo protector de oxígeno es -C(=O)CH₃.

55 Tal como se ha descrito generalmente anteriormente, X₁ y X₂ son cada uno, independientemente, halógeno: En determinadas realizaciones, X₁ y X₂ se seleccionan, cada uno independientemente, de entre el grupo que consiste en bromo, yodo o cloro. En determinadas realizaciones, X₁ y X₂ se seleccionan, cada uno independientemente, de entre el grupo que consiste en bromo o cloro. En determinadas realizaciones, al menos uno de X₁ y X₂ es yodo. En determinadas realizaciones, al menos uno de X₁ y X₂ es bromo. En determinadas realizaciones, al menos uno de X₁ y X₂ es cloro. En determinadas realizaciones, X₁ y X₂ son cada uno yodo. En determinadas realizaciones, X₁ y X₂ son cada uno bromo. En determinadas realizaciones, X₁ y X₂ son cada uno cloro.

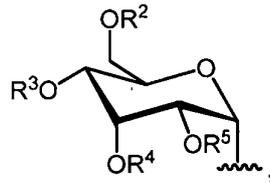
60 En determinadas realizaciones, el sustituyente azúcar:



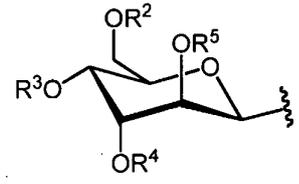
es un estereoisómero seleccionado de entre el grupo que consiste en:



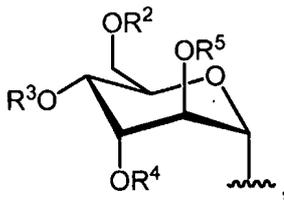
β - aloza



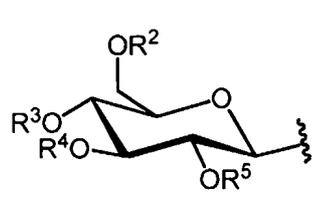
α - aloza



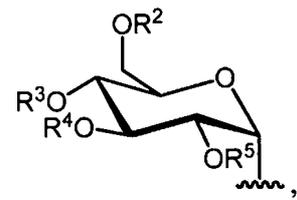
β - altrosa



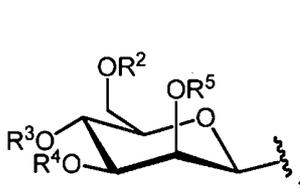
α - altrosa



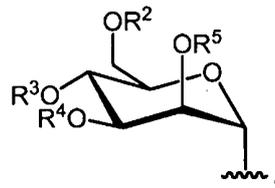
β - glucosa



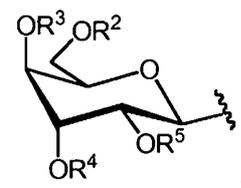
α - glucosa



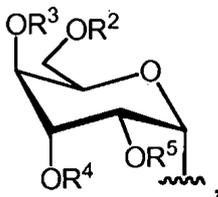
β - manosa



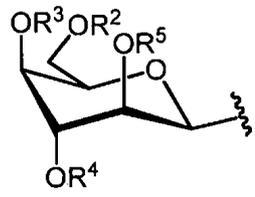
α - manosa



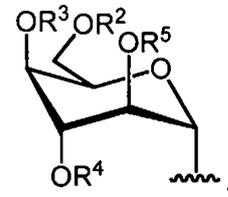
β - gulosa



α - gulosa

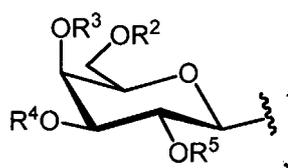


β - yodosa

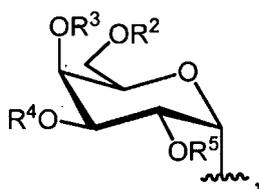


α - yodosa

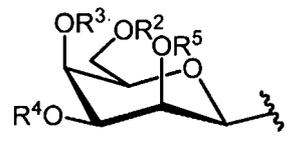
5



β -galactosa

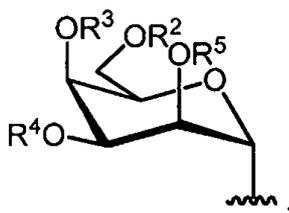


α -galactosa



β -talosa

y



α -talosa

5

en la que R^2 , R^3 , R^4 y R^5 son como se definen en el presente documento.

10

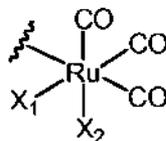
Alfa y beta designan la estereoquímica en el carbono anomérico C1 del sustituyente azúcar. En determinadas realizaciones, el sustituyente azúcar es *alfa* en el carbono anomérico. En determinadas realizaciones, el sustituyente azúcar es *beta* en el carbono anomérico.

15

En determinadas realizaciones, el sustituyente azúcar se selecciona de entre el grupo que consiste en α -glucosa, β -glucosa, α -manosa, β -manosa, α -galactosa y β -galactosa. En determinadas realizaciones, el sustituyente azúcar se selecciona de entre el grupo que consiste en α glucosa y β -glucosa. En determinadas realizaciones, el sustituyente azúcar se selecciona de entre el grupo que consiste en α manosa y β -manosa. En determinadas realizaciones, el sustituyente azúcar se selecciona de entre el grupo que consiste en α -galactosa y β -galactosa. En determinadas realizaciones, el sustituyente azúcar es α -glucosa. En determinadas realizaciones, el sustituyente azúcar es β -glucosa. En determinadas realizaciones, el sustituyente azúcar es α -manosa. En determinadas realizaciones, el sustituyente azúcar es β -manosa. En determinadas realizaciones, el sustituyente azúcar es α -galactosa. En determinadas realizaciones, el sustituyente azúcar es β -galactosa.

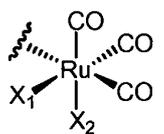
20

En determinadas realizaciones, el complejo de rutenio:

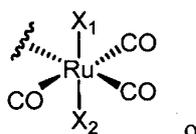


25

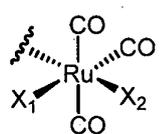
es un estereoisómero de fórmula:



(i)



(ii)



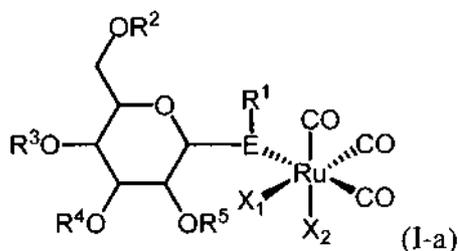
(iii)

30

en la que X_1 y X_2 son como se define en el presente documento.

En determinadas realizaciones, el complejo de rutenio es un estereoisómero de fórmula (i). En determinadas realizaciones, el complejo de rutenio es un estereoisómero de fórmula (ii). En determinadas realizaciones, el complejo de rutenio es un estereoisómero de fórmula (iii).

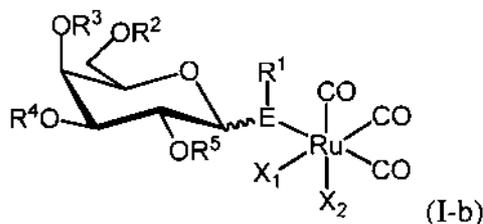
- 5 En determinadas realizaciones de fórmula (I), en el que el complejo de rutenio es un estereoisómero de fórmula (i), el compuesto es de fórmula (I-a):



- 10 o una sal, isómero, hidrato o solvato del mismo o combinación de los mismos, en la que E, R¹, R², R³, R⁴, R⁵, X₁ y X₂ son como se definen en el presente documento. En determinadas realizaciones, E es -S-. En determinadas realizaciones, E es -Se-. En determinadas realizaciones, R¹ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, R¹ es -CH₃. En determinadas realizaciones, cada uno de R², R³, R⁴ y R⁵ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, X₁ y X₂ son cada uno cloro (-Cl). En determinadas realizaciones, el sustituyente azúcar es α-galactosa o β-galactosa.
- 15 En determinadas realizaciones, el sustituyente azúcar es α-galactosa. En determinadas realizaciones, el sustituyente azúcar es β-galactosa.

En determinadas realizaciones de fórmula (I), en la que el sustituyente azúcar es α-galactosa o β-galactosa, el compuesto es de fórmula (I-b):

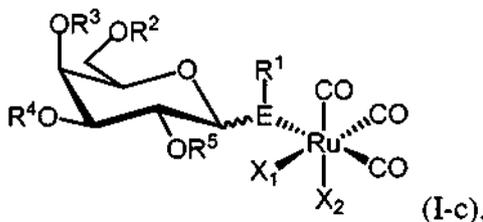
20



- o una sal, isómero, hidrato o solvato del mismo o combinación de los mismos, en la que E, R¹, R², R³, R⁴, R⁵, X₁ y X₂ son como se definen en el presente documento. En determinadas realizaciones, E es -S-. En determinadas realizaciones, E es -Se-. En determinadas realizaciones, R¹ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, R¹ es -CH₃. En determinadas realizaciones, cada uno de R², R³, R⁴ y R⁵ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, X₁ y X₂ son cada uno cloro (-Cl). En determinadas realizaciones, el complejo de rutenio es un estereoisómero de fórmula (i). En determinadas realizaciones, el sustituyente azúcar es α-galactosa. En determinadas realizaciones, el sustituyente azúcar es β-galactosa.
- 25
- 30

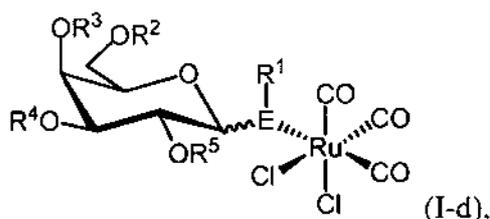
En determinadas realizaciones de fórmula (I-b), en el que el complejo de rutenio es un estereoisómero de fórmula (i), el compuesto es de fórmula (I-c):

35



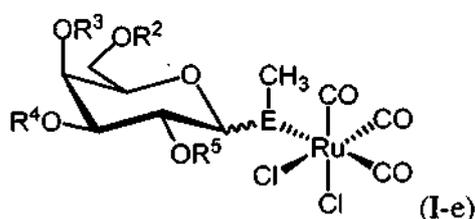
- o una sal, hidrato o solvato del mismo o combinación de los mismos, en la que E, R¹, R², R³, R⁴, R⁵, X₁ y X₂ son como se definen en el presente documento. En determinadas realizaciones, E es -S-. En determinadas realizaciones, E es -Se-. En determinadas realizaciones, R¹ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, R¹ es -CH₃. En determinadas realizaciones, cada uno de R², R³, R⁴ y R⁵ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, X₁ y X₂ son cada uno cloro (-Cl). En determinadas realizaciones, el sustituyente azúcar es α-galactosa. En determinadas realizaciones, el sustituyente azúcar es β-galactosa.
- 40

En determinadas realizaciones de fórmula (I-c), en el que X₁ y X₂ son cada uno cloro (-Cl), el compuesto es de fórmula (I-d):



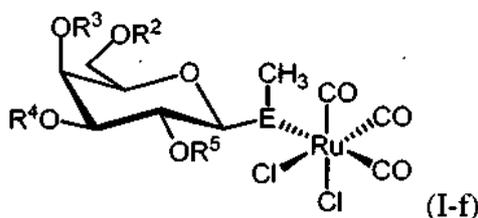
o una sal, hidrato o solvato del mismo o combinación de los mismos, en la que E, R¹, R², R³, R⁴ y R⁵, son como se definen en el presente documento. En determinadas realizaciones, E es -S-. En determinadas realizaciones, E es -Se-. En determinadas realizaciones, R¹ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, R¹ es -CH₃. En determinadas realizaciones, cada uno de R², R³, R⁴ y R⁵ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, el sustituyente azúcar es α-galactosa. En determinadas realizaciones, el sustituyente azúcar es β-galactosa.

En determinadas realizaciones de fórmula (I-d), en la que R¹ es -CH₃, el compuesto es de fórmula (I-e):



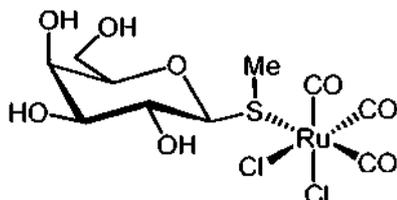
o una sal, hidrato o solvato del mismo o combinación de los mismos, en la que E, R², R³, R⁴ y R⁵, son como se definen en el presente documento. En determinadas realizaciones, E es -S-. En determinadas realizaciones, E es -Se-. En determinadas realizaciones, cada uno de R², R³, R⁴ y R⁵ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, el sustituyente azúcar es α-galactosa. En determinadas realizaciones, el sustituyente azúcar es β-galactosa.

En determinadas realizaciones de fórmula (I-e), en la que el sustituyente azúcar es β-galactosa, el compuesto es de fórmula (I-f):



o una sal, hidrato o solvato del mismo o combinación de los mismos, en la que E, R², R³, R⁴ y R⁵, son como se definen en el presente documento. En determinadas realizaciones, E es -S-. En determinadas realizaciones, E es -Se-. En determinadas realizaciones, cada uno de R², R³, R⁴ y R⁵ es hidrógeno.

En determinadas realizaciones de fórmula (I-f), en la que E es -S- y cada uno de R², R³, R⁴ y R⁵ es hidrógeno, el compuesto es:



o un hidrato o solvato del mismo o combinación de los mismos.

Composiciones farmacéuticas y administración

La presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la presente invención, *por ejemplo*, un compuesto de fórmula (I) o una sal, isómero, hidrato o solvato del mismo o combinación de los mismos, como se describe en el presente documento y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En determinadas realizaciones, el compuesto de la presente invención se proporciona en una cantidad eficaz en la

composición farmacéutica. En determinadas realizaciones, la cantidad eficaz es una cantidad terapéuticamente eficaz. En determinadas realizaciones, la cantidad eficaz es una cantidad profilácticamente eficaz.

5 Entre los excipientes farmacéuticamente aceptables se incluyen a cualquiera y a todos los disolventes, diluyentes, u otros vehículos líquidos, dispersiones, auxiliares de la suspensión, agentes tensioactivos, agentes isotónicos, agentes espesantes o emulsionantes, conservantes, aglutinantes sólidos, lubricantes y similares, según sea adecuado para la forma farmacéutica concreta deseada. Consideraciones generales sobre la formulación y/o fabricación de agentes de composiciones farmacéuticas se pueden encontrar, por ejemplo, en Remington's
10 Pharmaceutical Sciences, Decimosexta edición, E. W. Martin (Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1980) y en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21ª edición (Lippincott Williams & Wilkins, 2005).

Las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento se pueden preparar mediante cualquier método conocido en la técnica de farmacología. En general, dichos métodos de preparación incluyen las etapas de asociar el compuesto de la presente invención (el "principio activo") con un vehículo y/o uno o más ingredientes
15 auxiliares adicionales, y a continuación, si es necesario y/o deseable, la conformación y/o el envasado del producto en una forma farmacéutica monodosis y multidosis.

Las composiciones farmacéuticas se pueden preparar, envasar y/o vender a granel, como dosis unitaria sencilla y/o como una pluralidad de dosis unitarias sencillas. Como se usa en el presente documento, una "dosis unitaria" es una
20 cantidad pequeña de la composición farmacéutica que comprende una cantidad predeterminada del principio activo. La cantidad de principio activo es generalmente igual a la dosis del principio activo, que se administraría a un sujeto y/o una fracción conveniente de dicha dosificación tal como, por ejemplo, una mitad o un tercio de dicha dosis.

Las cantidades relativas del principio activo, el excipiente farmacéuticamente aceptables y/o cualesquiera
25 ingredientes adicionales en una composición farmacéutica de la invención variarán dependiendo de la identidad, tamaño, y/o estado del sujeto tratado, y adicionalmente dependiente de la vía por la que se va a administrar la composición. A modo de ejemplo, la composición puede comprender entre un 0,1% y 100 % (p/p) de principio activo.

Los excipientes farmacéuticamente aceptables usados en la fabricación de las composiciones farmacéuticas proporcionadas incluyen diluyentes inertes, agentes de dispersión y/o granulación, tensioactivos y/o emulsionantes,
30 agentes disgregantes, agentes aglutinantes, conservantes, agentes tamponadores, agentes y/o aceites lubricantes. Los excipientes tales como manteca de cacao y ceras de supositorio, agentes colorantes, agentes de recubrimiento, edulcorantes, aromatizantes, y agentes perfumantes, pueden estar presentes en la composición,

Entre los diluyentes de ejemplo se incluyen carbonato de calcio, carbonato de sodio, fosfato de calcio, fosfato
35 dicálcico, sulfato de calcio, hidrógeno fosfato de calcio, lactosa fosfato de sodio, sacarosa, celulosa, celulosa microcristalina, caolína, manitol, sorbitol, inositol, cloruro sódico, almidón seco, almidón de maíz, azúcar en polvo y mezclas de los mismos.

Los agentes de granulación y/o dispersantes de ejemplo se incluyen almidón de patata, almidón de maíz, almidón de
40 tapioca, glicolato de almidón sodio, arcillas, ácido algínico, goma guar, pulpa de cítricos, agar, bentonita, celulosa y productos de madera, esponja natural, resinas de intercambio catiónico, carbonato de calcio, silicatos, carbonato de sodio, poli(vinilpirrolidona) reticulada (crosopovidona), carboximetilalmidón sodio (glicolato de almidón sódico), carboximetilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio reticulada (crosarmelosa), metilcelulosa, almidón pregelatinizado (almidón 1500), almidón microcristalino, almidón insoluble en agua, carboximetilcelulosa de calcio, silicato de aluminio y magnesio (Veegum), lauril sulfato sódico, compuestos de amonio cuaternario y mezclas de los
45 mismos.

Entre los agentes tensioactivos y/o emulsionantes de ejemplo se incluyen, agar, ácido algínico, alginato de sodio,
50 tragacanto, condru, colesterol, xantana, pectina, gelatina, yema de huevo, caseína, lanolina, colesterol, cera, y lecitina), arcillas coloidales (por ejemplo, bentonita [silicato de aluminio] y Veegum [silicato de aluminio y magnesio]), derivados de aminoácidos, de cadena larga, alcoholes de alto peso molecular (por ejemplo, alcohol cetílico, alcohol oleílico, monoestearato de triacetina, diestearato de etilenglicol, monoestearato de glicerilo y monoestearato de propilenglicol, alcohol polivinílico), carbómeros (por ejemplo, carboxipolimetileno, poli(ácido acrílico), polímero de ácido acrílico y polímero de carboxivinilo), carragenano, derivados de celulosa (por ejemplo, carboximetilcelulosa de sodio, celulosa en polvo, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa metilcelulosa), ésteres de ácidos grasos de sorbitano (por ejemplo monolaurato de polioxietileno de sorbitano [Tween 20], polioxietileno de sorbitano [Tween 60], monooleato de polioxietileno de sorbitano [Tween 80], monopalmitato de sorbitano [Span 40], monoestearato de sorbitano [Span 60], triestearato de sorbitano [Span 65], monooleato de glicerilo, monooleato de sorbitano [Span 80]), ésteres de polioxietileno (por ejemplo, monoestearato de polioxietileno [Myrj 45], aceite de ricino polioxietileno, aceite de ricino polioxietileno, estearato polioxietileno, y Solutol), ésteres de ácido graso de sacarosa, ésteres de ácidos grasos de polietilenglicol (por ejemplo, Cremophor), éteres polioxietilenados, (por ejemplo, lauril éter de polioxietileno [Brij 30]), poli(vinilpirrolidona), monolaurato de dietilenglicol, oleato de trietanolamina, oleato de sodio, oleato de potasio, oleato de etilo, ácido oleico, laurato de etilo, lauril sulfato sódico,
65 Pluronic F 68, Poloxámero 188, bromuro de cetrimonio, cloruro de cetilpiridinio, cloruro de benzalconio, docusato sódico y/o mezclas de los mismos.

- Entre los agentes de unión de ejemplo se incluyen almidón (por ejemplo, almidón de maíz y pasta de almidón), gelatina, azúcares (por ejemplo, sacarosa, glucosa, dextrosa, dextrina, melazas, lactosa, lactitol, manitol, *etc.*), gomas naturales y sintéticas (por ejemplo, acacia, alginato de sodio, extracto de musgo de Irlanda, goma panwar, goma ghatti, mucílago de cáscara de isapol, carboximetilcelulosa, metilcelulosa, etilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, celulosa microcristalina, acetato de celulosa, poli(vinilpirrolidina), silicato de aluminio y magnesio (Veegum), y arabolaractano de alerce), alginatos, óxido de polietileno, polietilenglicol, sales de calcio inorgánicas, ácido silícico, polimetacrilatos, ceras, agua, alcohol y/o mezclas de las mismas.
- Entre los conservantes de ejemplo se pueden incluir antioxidantes, agentes quelantes, agentes antimicrobianos, conservantes antifúngicos, conservantes de alcohol, conservantes ácidos, y otros conservantes.
- Entre los ejemplos de antioxidantes se incluyen alfa-tocoferol, ácido ascórbico, palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado, hidroxitolueno butilado, monotioglicerol, metabisulfito de potasio, ácido propiónico, galato de propilo, ascorbato sódico, bisulfito de sodio, metabisulfito de sodio, y sulfito de sodio.
- Entre los agentes quelantes de ejemplo se incluyen ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) y sales e hidratos de los mismos (por ejemplo, edetato de sodio, edetato disódico, edetato trisódico, edetato disódico y cálcico, edetato dipotásico y similares), ácido cítrico y sales e hidratos de los mismos (por ejemplo, ácido cítrico monohidrato), ácido fumárico y sales e hidratos de los mismos, ácido málico y sales e hidratos de los mismos, ácido fosfórico y sales e hidratos de los mismos, y ácido tartárico y sales e hidratos de los mismos. Entre los conservantes antimicrobianos de ejemplo se incluyen cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, alcohol bencílico, bronopol, cetrimida, cloruro de cetilpiridinio, clorhexidina, clorobutanol, clorocresol, cloroxilenol, cresol, alcohol etílico, glicerina, hexetidina, imidurea, fenol, fenoxietanol, feniletil alcohol, nitrato de fenilmercurio, propilenglicol, y timerosal.
- Entre los ejemplos de conservantes antifúngicos se incluyen butil parabeno, metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno, ácido benzoico, ácido hidroxibenzoico, benzoato de potasio, sorbato de potasio, benzoato de sodio, propionato de sodio, y ácido sórbico.
- Entre los ejemplos de conservantes de alcohol se incluyen etanol, polietilenglicol, fenol, compuestos fenólicos, bisfenol, clorobutanol, hidroxibenzoato, y alcohol feniletilico.
- Entre los ejemplos de conservantes ácidos se incluyen vitamina A, vitamina C, vitamina E, beta-caroteno, ácido cítrico, ácido acético, ácido deshidroacético, ácido ascórbico, ácido sórbico, y ácido fítico.
- Entre otros conservantes se incluyen, acetato de tocoferol, mesilato de deteroxima, cetrimida, hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), etilendiamina, lauril sulfato de sodio (SLS), lauril éter sulfato de sodio (SLS), bisulfito de sodio, metabisulfito de sodio, sulfito de potasio, metabisulfito de potasio, Glydant Plus, Phenonip, metilparabeno, Germall 115, Germaben II, Neolone, Kathon y Euxyl. En determinadas realizaciones, el conservante es un antioxidante. En otras realizaciones, el conservante es un agente quelante.
- Entre los ejemplos de agentes tamponadores, se incluyen soluciones de tampón citrato, soluciones de tampón acetato, soluciones de tampón fosfato, cloruro de amonio, carbonato de calcio, cloruro de calcio, citrato de calcio, gluconato de calcio, gluceptato de calcio, gluconato de calcio, ácido D-glucónico, glicerofosfato de calcio, lactato de calcio, ácido propanoico, levulinato de calcio, ácido pentanoico, fosfato de calcio dibásico, ácido fosfórico, fosfato de calcio tribásico, hidróxido de fosfato de calcio, acetato de potasio, cloruro de potasio, gluconato de potasio, mezclas potásicas, fosfato de potasio dibásico, fosfato de potasio monobásico, mezclas de fosfato de potasio, acetato de sodio, bicarbonato de sodio, cloruro sódico, citrato de sodio, lactato sódico, fosfato de sodio dibásico, fosfato de sodio monobásico, mezclas de fosfato de sodio, trometamina, hidróxido de magnesio, hidróxido de aluminio, ácido algínico, agua apirógena, solución salina isotónica, solución de Ringer, alcohol etílico y mezclas de los mismos.
- Entre los ejemplos de agentes lubricantes se incluyen estearato de magnesio, estearato de calcio, ácido esteárico, sílice, talco, malta, behenato de glicerilo, aceites vegetales hidrogenados, polietilenglicol, benzoato de sodio, acetato de sodio, cloruro sódico, leucina, lauril sulfato de magnesio, lauril sulfato de sodio, y sus mezclas.
- Entre los ejemplos de aceites naturales se incluyen aceites de almendras, de almendras de albaricoque, aguacate, babasú, bergamota, semillas de grosella negra, borraja, enebro de miera, camomila, canola, alcaravea, carnaúba, ricino, canela, manteca de cacao, coco, hígado de bacalao, café, maíz, semillas de algodón, emú, eucalipto, onagra, pescado, semillas de lino, geraniol, calabaza, pepitas de uva, avellanas, hisopo, miristato de isopropilo, jojoba, nuez de kukui, lavandina, lavanda, limón, litsea cubeba, nuez de macadamia, malva, semillas de mango, semillas de hierba de la pradera, visón, nuez moscada, de oliva, naranja, de reloj anaranjado, palma, nuez de palma, nuez de melocotón, cacahuete, semillas de amapola, semillas de calabaza, colza, salvado de arroz, romero, cártamo, madera de sándalo, camelia sasquana, aceite especiado, espino cerval, sésamo, manteca de karité, silicona, soja, girasol, árbol del té, cardo, camelia, vetiver, avellana y aceites de germen de trigo. Entre los ejemplos de aceites sintéticos se incluyen, pero sin limitaciones, estearato de butilo, triglicérido caprílico, triglicérido cáprico, ciclometicona, sebacato de dietilo, dimeticona 360, miristato de isopropilo, aceite mineral, octildodecanol, alcohol oleílico, aceite de silicona, y mezclas de los mismos.

Las formas farmacéuticas líquidas para administración oral y parenteral incluyen emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además de los principios activos, la forma farmacéutica líquida puede comprender diluyentes inertes usados habitualmente en la técnica, tales como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, dimetilformamida, aceites (por ejemplo, de semilla de algodón, de cacahuete, maíz, de germen, de oliva, de ricino y de sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfúrico, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitán y mezclas de los mismos. Además de diluyentes inertes, las composiciones orales pueden incluir adyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes suspensores, edulcorantes, aromatizantes y perfumantes. En determinadas realizaciones para la administración parenteral, los conjugados de la invención se mezclan con agentes solubilizantes, tales como Cremophor, alcoholes, aceites, aceites modificados, glicoles, polisorbatos, ciclodextrinas, polímeros y mezclas de los mismos.

Las preparaciones inyectables, por ejemplo, suspensiones acuosas u oleaginosas inyectables estériles pueden formularse de acuerdo con la técnica conocida usando agentes dispersantes o humectantes adecuados y agentes de suspensión. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución, suspensión o emulsión inyectable estéril en un diluyente o disolvente no tóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo, como una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que se pueden emplear se encuentran agua, solución de Ringer, U.S.P. y solución de cloruro sódico isotónica. Además, normalmente se usan aceites fijos estériles como disolvente o medio de suspensión. Para este fin, puede emplearse cualquier aceite suave no volátil, incluyendo mono o diglicéridos sintéticos. Además, se usan ácidos grasos tales como ácido oleico en la preparación de los inyectables.

Las formulaciones inyectables pueden esterilizarse, por ejemplo, mediante filtración a través de un filtro de retención de bacterias, o incorporando agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que pueden disolverse o dispersarse en agua estéril u otro medio inyectable estéril antes de su uso.

Para prolongar el efecto de un fármaco, es a menudo deseable ralentizar la absorción del fármaco mediante inyección subcutánea o intramuscular. Esto puede lograrse mediante el uso de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo con poca solubilidad en agua. La velocidad de absorción del fármaco depende por tanto de su velocidad de disolución que, a su vez, puede depender del tamaño del cristal y de la forma cristalina. Como alternativa, la absorción retardada de una forma de fármaco administrada parenteralmente se logra disolviendo o suspendiendo el fármaco en un vehículo oleoso.

Las composiciones para administración rectal o vaginal son, normalmente, supositorios que pueden prepararse mezclando los conjugados de la presente invención con excipientes o vehículos adecuados no irritantes, tales como manteca de cacao, polietilenglicol o una cera para supositorio que son sólidos a temperatura ambiente pero líquidos a temperatura corporal y por lo tanto se derretirán en el recto o en la cavidad vaginal y liberarán el principio activo.

Las formas farmacéuticas sólidas para administración oral incluyen cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos y gránulos. En dichas formas farmacéuticas sólidas, el principio activo se mezcla con al menos un excipiente o vehículo inerte farmacéuticamente aceptable, tal como citrato de sodio o fosfato dicálcico y/o a) cargas o extensores, tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y ácido silícico, b) aglutinantes, tales como por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y goma arábiga, c) humectantes, tales como glicerol, d) agentes disgregantes, tales como agar, carbonato de calcio, almidón de patata o tapioca, ácido algínico, ciertos silicatos y carbonato sódico, e) agentes retardantes de la solución, tales como parafina, f) aceleradores de la absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario, g) agentes humectantes, tales como por ejemplo, alcohol cetílico y monoestearato de glicerol, h) absorbentes tales como caolín y arcilla bentonita e i) lubricantes, tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, lauril sulfato de sodio, y sus mezclas. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, la forma farmacéutica puede comprender agentes tamponadores.

Pueden emplearse composiciones sólidas de tipo similar como cargas en cápsulas de gelatina blandas y duras usando excipientes tales como lactosa o azúcar de la leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares. Las formas farmacéuticas sólidas de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos pueden prepararse con recubrimientos y envolturas, tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de formulación farmacéutica. Pueden comprender opcionalmente agentes opacificantes y también puede ser de una composición tal que liberen a el(los) ingrediente(s) activo(s) únicamente, o bien, preferentemente, en una parte determinada del tracto intestinal, opcionalmente, de manera retardada. Los ejemplos de composiciones de inclusión que pueden usarse incluyen sustancias poliméricas y ceras. También pueden emplearse composiciones sólidas de un tipo similar como cargas en cápsulas de gelatina blandas y duras usando excipientes tales como lactosa o azúcar de la leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares.

Los principios activos pueden estar en forma microencapsulada con uno o más excipientes, tal como se ha indicado anteriormente. Las formas farmacéuticas sólidas de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos pueden prepararse con recubrimientos y envolturas, tales como recubrimientos entéricos, recubrimientos de control de la liberación y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. En dichas formas

- farmacéuticas sólidas, el principio activo puede mezclarse con al menos un diluyente inerte, tal como sacarosa, lactosa o almidón. Dichas formas farmacéuticas pueden comprender, como es habitual, sustancias adicionales distintas de los diluyentes inertes, *por ejemplo*, lubricantes de compresión y otros adyuvantes para la compresión, tales como estearato de magnesio y celulosa microcristalina. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las formas farmacéuticas pueden comprender agentes tamponadores. Pueden comprender opcionalmente agentes opacificantes y también puede ser de una composición tal que liberen a el(los) ingrediente(s) activo(s) únicamente, o bien, preferentemente, en una parte determinada del tracto intestinal, opcionalmente, de manera retardada. Los ejemplos de composiciones de inclusión que pueden usarse incluyen sustancias poliméricas y ceras.
- 10 Las formas farmacéuticas para administración tópica y/o transdérmica de un compuesto de la presente invención pueden incluir pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, polvos, soluciones, pulverizaciones, inhaladores y/o parches. En general, el principio activo se mezcla en condiciones estériles con un vehículo farmacéuticamente aceptable y cualesquiera conservantes y/o tampones necesarios, según se requiera. Además, la presente invención contempla el uso de parches transdérmicos, que frecuentemente tienen la ventaja añadida de proporcionar un suministro controlado de un principio activo al organismo. Dichas formas farmacéuticas se pueden preparar, por ejemplo, disolviendo y/o dispensando el principio activo en el medio correcto. De forma alternativa o adicional, la velocidad se puede controlar tanto proporcionando una membrana de control de la velocidad y/o dispersando el principio activo en una matriz polimérica y/o gel.
- 20 Los dispositivos adecuados para administrar las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento por vía intradérmica incluyen los dispositivos de aguja corta tales como los que se describen en las patentes de Estados Unidos 4.886.499; 5.190.521; 5.328.483; 5.527.288; 4.270.537; 5.015.235; 5.141.496; y 5.417.662. Las composiciones intradérmicas se pueden administrar mediante dispositivos que limiten la longitud de penetración eficaz de una aguja dentro de la piel, tales como los que se describen en la publicación PCT WO 99/34850 y sus equivalentes funcionales. Son adecuados los dispositivos de inyección de chorro que administran vacunas líquidas a la dermis mediante un inyector de chorro líquido y/o mediante una aguja que perfora el estrato córneo y produce un chorro que alcanza la dermis. Los dispositivos de inyección de chorro se describen, por ejemplo, en las patentes de Estados Unidos 5.480.381; 5.599.302; 5.334.144; 5.993.412; 5.649.912; 5.569.189; 5.704.911; 5.383.851; 5.893.397; 5.466.220; 5.339.163; 5.312.335; 5.503.627; 5.064.413; 5.520.639; 4.596.556; 4.790.824; 4.941.880; 4.940.460; y en la Publicaciones PCT WO 97/37705 y WO 97/13537. Son adecuados los dispositivos de administración balística de polvo/partículas que usan gas comprimido para acelerar la vacuna en forma de polvo a través de las capas exteriores de la piel hasta alcanzar la dermis. De forma alternativa o adicional, se pueden usar jeringas convencionales según el método clásico de Mantoux de administración intradérmica.
- 35 Las formulaciones adecuadas para administración tópica incluyen, pero sin limitaciones, preparaciones líquidas y/o semilíquidas tales como linimentos, lociones, emulsiones de aceite en agua y/o de agua en aceite tales como cremas, pomadas y/o pastas, y/o soluciones y/o suspensiones. Las formulaciones que se pueden administrar por vía tópica, por ejemplo, comprenden de aproximadamente 1% a aproximadamente 10% (p/p) de principio activo, aunque la concentración del principio activo puede ser tan alta como el límite de solubilidad del principio activo en el disolvente. Las formulaciones para administración tópica pueden comprender además uno o más de los ingredientes adicionales descritos en el presente documento.
- 45 Una composición farmacéutica de la invención se puede preparar, envasar, y/o comercializar en una formulación adecuada para administración pulmonar a través de la cavidad bucal. Dicha formulación puede comprender partículas secas que comprenden el principio activo y que tienen un diámetro comprendido en el intervalo de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 7 nanómetros o de aproximadamente 1 a aproximadamente 6 nanómetros. Dichas composiciones están convenientemente en forma de polvos secos para su administración usando un dispositivo que comprende un depósito de polvo seco al que se puede dirigir una corriente de propulsor para dispersar el polvo y/o usar una recipiente dispensador de disolvente/polvo autopropulsado tal como un dispositivo que comprende el principio activo disuelto y/o suspendido en un propulsor de bajo punto de ebullición en un recipiente precintado. Dichos polvos comprenden partículas en las que al menos el 98% de las partículas en peso tienen un diámetro superior a 0,5 nanómetros y al menos el 95 % de las partículas en número tienen un diámetro inferior a 7 nanómetros. Como alternativa, al menos el 95 % de las partículas en peso tienen un diámetro superior a 1 nanómetro y al menos el 90 % de las partículas en número tienen un diámetro inferior a 6 nanómetros. Las composiciones de polvo seco pueden incluir un diluyente en forma de polvo fino como azúcar, y se proporciona convenientemente en una forma farmacéutica unitaria.
- 50 Los propulsores de bajo punto de ebullición por lo general incluyen propulsores líquidos que tienen un punto de ebullición inferior a 65 °F (18,3 °C) a presión atmosférica. Por lo general, el propulsor puede constituir del 50 al 99,9 % (p/p) de la composición, y el principio activo puede constituir del 0,1 al 20 % (p/p) de la composición. El propulsor puede comprender además ingredientes adicionales tales como un tensioactivo no iónico líquido y/o un tensioactivo aniónico sólido y/o un diluyente sólido (que puede tener un tamaño de las partículas del mismo orden de magnitud que las partículas que comprenden el principio activo).
- 60 Las composiciones farmacéuticas de la invención formulada para administración pulmonar pueden proporcionar el principio activo en forma de gotículas de una solución y/o suspensión. Dichas formulaciones pueden prepararse,
- 65

5 envasarse y/o comercializarse en forma de soluciones y/o suspensiones alcohólicas acuosas y/o diluidas, opcionalmente estériles, que comprenden el principio activo, y se pueden administrar convenientemente usando cualquier dispositivo de nebulización y/o atomización. Dichas formulaciones pueden comprender además uno o más ingredientes adicionales incluyendo, aunque no de forma limitativa, un agente aromatizante tal como sacarina de sodio, un aceite volátil, un agente tamponador, un agente tensioactivo, y/o un conservante tal como hidroxibenzoato de metilo. Las gotículas proporcionadas por esta vía de administración pueden tener un diámetro promedio comprendido en el intervalo de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 200 nanómetros.

10 Las formulaciones descritas en el presente documento que son útiles para administración pulmonar son útiles para administración intranasal de una composición farmacéutica de la invención. Otra formulación adecuada para su administración intranasal es un polvo grueso que comprende el principio activo y que tiene un diámetro promedio de aproximadamente 0,2 a 500 micrómetros. Dicha formulación se administra mediante inhalación rápida a través de las fosas nasales desde un envase con el polvo sujetado cerca de la nariz.

15 Las formulaciones para administración nasal pueden, por ejemplo, comprender desde aproximadamente tan solo un 0,1 % (p/p) y tanto como un 100 % (p/p) del principio activo, y pueden comprender uno o más de los ingredientes adicionales descritos en el presente documento. Una composición farmacéutica de la invención se puede preparar, envasar y/o comercializar en una formulación para administración bucal. Dichas formulaciones pueden estar, por ejemplo, en forma de comprimidos y/o gominolas fabricadas usando métodos convencionales, y pueden contener, por ejemplo, de 0,1 al 20 % (p/p) de principio activo, siendo el resto una composición que se puede disolver y/o disgregarse por vía oral y, opcionalmente, uno o más de los ingredientes adicionales descritos en el presente documento. Como alternativa, las formulaciones para administración bucal pueden comprender un polvo y/o una solución y/o suspensión aerosolizada y/o atomizada que comprende el principio activo. Dichas formulaciones en polvo, aerosolizadas, y/o en aerosol, cuando se dispersan, pueden tener un tamaño promedio de partículas y/o gotículas en el intervalo de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 200 nanómetros y pueden comprender además uno o más de los ingredientes adicionales descritos en el presente documento.

30 Una composición farmacéutica de la invención se puede preparar, envasar y/o comercializar en una formulación para administración oftálmica. Dichas formulaciones pueden estar, por ejemplo, estar en forma de colirios incluyendo, por ejemplo, una solución y/o suspensión al 0,1/1,0 % (p/p) del principio activo en un vehículo líquido acuoso u oleoso. Dichas gotículas pueden también comprender agentes tamponantes, sales, y/o uno o más de los ingredientes adicionales descritos en el presente documento. Otras formulaciones que se pueden administrar por vía oftálmica que son útiles incluyen aquellas que comprenden el principio activo en forma microcristalina y/o como preparación liposómica. Las gotas óticas y/o los colirios se consideran comprendidos dentro del alcance de la presente invención.

40 Aunque las descripciones de las composiciones farmacéuticas proporcionan en el presente documento están principalmente dirigidas a composiciones farmacéuticas que son adecuadas para su administración a seres humanos, el experto en la materia entenderá que dichas composiciones son generalmente adecuadas para su administración a todo tipo de animales. La modificación de composiciones farmacéuticas adecuadas para su administración a seres humanos para volver las composiciones adecuadas para su administración a diferentes animales es bien conocido, y el farmacéutico veterinario normalmente experto puede diseñar y/o llevar a cabo tales modificaciones con una pequeña experimentación ordinaria.

45 Los compuestos proporcionados en el presente documento se formulan normalmente en forma de dosis unitaria por facilidad de administración y uniformidad de la dosis. Se entenderá, sin embargo, que el uso diario total de las composiciones de la presente invención se decidirá por el médico a cargo del tratamiento dentro del alcance del buen juicio médico. El nivel específico de dosificación terapéuticamente eficaz para cualquier sujeto u organismo concreto dependerá de varios factores incluyendo la enfermedad, trastorno o afección que se esté tratando y la gravedad del trastorno; la actividad del principio activo específico utilizado; la composición específica empleada; la edad, el peso corporal, el estado de salud general, el sexo y la alimentación del sujeto; el tiempo de administración, la vía de administración y la tasa de excreción del principio activo específico utilizado; la duración del tratamiento; los fármacos usados en combinación o a la vez con el principio activo específico usado; y factores similares bien conocidos en la práctica médica.

55 Los compuestos y composiciones proporcionados en el presente documento pueden administrarse por cualquier vía, incluyendo enteral (por ejemplo, oral), parenteral, intravenosa, intramuscular, intraarterial, intramedular, intratecal, subcutánea, intraventricular, transdérmica, intradérmica, rectal, intravaginal, intraperitoneal, tópica (como mediante polvos, pomadas, cremas, y/o gotas), mucosal, nasal, bucal, sublingual; mediante instilación traqueal, instilación bronquial, y/o inhalación; y/o como una pulverización, pulverización nasal, y/o aerosol. Por lo general, la vía de administración más adecuada dependerá de diversos factores, entre los que se incluyen la naturaleza del agente, el régimen terapéutico y/o la afección del sujeto. La administración oral es el modo de administración preferente. Sin embargo, en determinadas realizaciones, el sujeto puede no estar en estado de tolerar la administración oral y, por tanto, la administración intravenosa, intramuscular y/o rectal administración también son modos de administración alternativos preferentes.

La cantidad exacta de un compuesto requerido para lograr una cantidad eficaz variará de un sujeto a otro, dependiendo, por ejemplo, de la especie, la edad y el estado general de un sujeto, la gravedad de los efectos secundarios o el trastorno, la identidad del compuesto o compuestos concretos, el modo de administración y similares. La dosificación deseada puede administrarse tres veces al día, dos veces al día, una vez al día, en días

5 alternos, cada tres días, cada semana, cada dos semanas, cada tres semanas, o cada cuatro semanas. En determinadas realizaciones, la dosificación adecuada se puede administrar usando administraciones múltiples (por ejemplo, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once, doce, trece, catorce o más administraciones).

10 En determinadas realizaciones, una cantidad eficaz de un compuesto para la administración una o más veces al día a un ser humano adulto de 70 kg puede comprender de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 3000 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 2000 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 1000 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 100 mg, de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 100 mg o de aproximadamente 20 mg a aproximadamente 100 mg, de un compuesto por forma farmacéutica unitaria.

15 En determinadas realizaciones, los compuestos de la invención se pueden administrar a niveles de dosificación suficientes para administrar de aproximadamente 1 mg / kg a aproximadamente 100 mg / kg, de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg, preferentemente de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg, preferentemente de aproximadamente 0,5 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg, de aproximadamente 10 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg, de aproximadamente 20 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg y, más

20 preferentemente, de aproximadamente 25 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg, de peso corporal del sujeto por día, una o más veces al día, para obtener el efecto terapéutico deseado.

25 Se apreciará que los intervalos de dosis como se describe en el presente documento proporcionan una guía para la administración de composiciones farmacéuticas proporcionadas a un adulto. La cantidad a administrar a, por ejemplo, un niño o un adolescente la puede determinar un médico o una persona experta en la materia y puede ser menor o la misma que se administra a un adulto.

30 También se apreciará que un compuesto o composición, tal como se describe en el presente documento, se pueden administrar en combinación con uno o más agentes terapéuticamente activos adicionales. Los agentes terapéuticamente activos incluyen, pero no se limitan a las mismas, moléculas orgánicas pequeñas (es decir, que tienen un peso molecular por debajo de 800 g / mol), tal como compuestos farmacológicos (por ejemplo, compuestos homologados por la U.S. Food and Drug Administration como se proporciona en el U.S. Code of Federal Regulations (C.F.R.)) péptidos, proteínas, hidratos de carbono, monosacáridos, oligosacáridos, polisacáridos, nucleoproteínas, mucoproteínas lipoproteínas; polipéptidos o proteínas sintéticos, moléculas orgánicas pequeñas unidas a proteínas,

35 glucoproteínas, esteroides, ácidos nucleicos, ADN, ARN, nucleótidos, nucleósidos, oligonucleótidos, oligonucleótidos antisentido, lípidos, hormonas, vitaminas, vacunas, gases y células. Ejemplos específicos de agentes terapéuticamente activos se describen adicionalmente en el presente documento. Los compuestos o composiciones se pueden administrar en combinación con agentes terapéuticamente activos adicionales que mejoran su biodisponibilidad, reducen y/o modifican su metabolismo, inhiben su excreción, y/o modifican su distribución dentro

40 del organismo. Se apreciará que los tratamientos utilizados pueden conseguir un efecto deseado para el mismo trastorno y/o pueden alcanzar diferentes efectos. En general, cada agente concreto se administrará a una dosis y/o con un calendario de tiempo determinado para dicho agente. Se apreciará además que los agentes adicionales utilizados en esta combinación se pueden administrar conjuntamente en una sola composición farmacéutica o administrarse por separado en composiciones farmacéuticas diferentes. La combinación particular a utilizar en un

45 régimen tendrá en cuenta la compatibilidad del compuesto de la invención con el agente adicional y/o el efecto terapéutico que se desea conseguir. En general, se espera que los agentes adicionales utilizados en combinación se utilicen a niveles que no superan los niveles los que se utilizan individualmente. En algunas realizaciones, los niveles utilizados en combinación serán menores que los utilizados individualmente.

50 La invención también abarca kits (por ejemplo, envases farmacéuticos). Los kits proporcionados pueden comprender una composición farmacéutica o compuesto de la invención y un recipiente (por ejemplo, un vial, ampolla, frasco, jeringa, y / o envase dispensador, u otro recipiente adecuado). En algunas realizaciones, los kits proporcionados pueden incluir, además, opcionalmente, un segundo recipiente que comprende un excipiente farmacéutico para la dilución o suspensión de una composición farmacéutica o compuesto de la invención. En algunas realizaciones, la

55 composición farmacéutica o compuesto de la invención proporcionado en el recipiente y el segundo recipiente se combinan para formar una forma farmacéutica unitaria.

Usos

60 La presente invención también proporciona compuestos de la presente invención, *por ejemplo*, compuestos de fórmula (I) o sales, isómeros, hidratos o solvatos de los mismos o combinaciones de los mismos, como se describe en el presente documento para su uso en métodos de uso y tratamiento.

65 Un "sujeto" para el que se contempla la administración es un sujeto humano, por ejemplo, un ser humano varón o mujer de cualquier grupo de edad, *por ejemplo*, un sujeto pediátrico (por ejemplo, un lactante, un niño, un adolescente) o sujeto adulto (por ejemplo, un adulto joven, un adulto de mediana edad o un adulto mayor).

"Tratar", "que trata" y "tratamiento" contemplan una acción que se produce mientras un sujeto padece una afección que reduce la gravedad de la afección o los síntomas asociados con la afección, o retarda o retrasa la progresión de la afección o los síntomas asociados con la afección ("tratamiento terapéutico") y también contempla una acción que se produce antes de que un sujeto comience a sufrir la afección y que inhibe o reduce la gravedad de la afección o los síntomas asociados con la afección ("tratamiento profiláctico"). Por ejemplo, "tratar una infección de paludismo" implica la administración de un compuesto de la presente invención a un sujeto que tiene infección de paludismo o un sujeto que presenta uno o más síntomas de la infección de paludismo (por ejemplo, aparición cíclica de frío repentino, seguido de rigor y luego fiebre y sudoración, dolor articular, vómitos, anemia, hemoglobinuria, daño en la retina, y / o convulsiones) ("tratar terapéuticamente una infección de paludismo"), y también implica el cuidado preventivo, tal como la administración de un compuesto de la presente invención a un sujeto en riesgo de infección de paludismo ("tratar profilácticamente una infección de paludismo").

Una "cantidad eficaz" de un compuesto se refiere a una cantidad suficiente para provocar la respuesta biológica deseada, es decir, tratar la afección (por ejemplo, una infección de paludismo, una afección inflamatoria). Como apreciarán los expertos en la materia, la cantidad eficaz de un compuesto de la invención puede variar dependiendo de factores tales como el criterio de valoración biológico deseado, la farmacocinética del compuesto, la afección que se esté tratando, el modo de administración y la edad y salud del sujeto. Una cantidad eficaz abarca el tratamiento terapéutico y profiláctico.

Una "cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto es una cantidad suficiente para proporcionar un beneficio terapéutico en el tratamiento de una afección o para retrasar o minimizar uno o más síntomas asociados con la afección. Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto significa una cantidad de un compuesto de la presente invención, solo o junto con otros tratamientos, que proporciona un beneficio terapéutico en el tratamiento de la afección. La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" puede abarcar una cantidad que mejora la terapia global, reduce o evita los síntomas o causas de la afección o aumenta la eficacia terapéutica de otro agente terapéuticamente activo.

Una "cantidad profilácticamente eficaz" de un compuesto es una cantidad suficiente para prevenir una afección o uno o más síntomas asociados con la afección o prevenir su recurrencia. Una cantidad profilácticamente eficaz de un compuesto significa una cantidad de un compuesto de la presente invención, solo o junto con otros agentes, que proporciona un beneficio terapéutico en la prevención de la afección. La expresión "cantidad profilácticamente eficaz" puede abarcar una cantidad que mejora la profilaxis global o mejora la eficacia profiláctica de otro agente profiláctico.

En determinadas realizaciones, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal, isómero, hidrato o solvato del mismo o combinación de los mismos, para su uso en el tratamiento de la infección de paludismo.

En determinadas realizaciones, la cantidad eficaz es una cantidad terapéuticamente eficaz. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, el método mejora la supervivencia por una infección de paludismo en el sujeto. En determinadas realizaciones, el sujeto tiene una infección de paludismo sospechada o confirmada.

En determinadas realizaciones, la cantidad eficaz es una cantidad profilácticamente eficaz. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, el método previene o reduce la probabilidad de infección de paludismo en el sujeto, *por ejemplo*, en determinadas realizaciones, el método comprende administrar un compuesto de Fórmula (I) a un sujeto en necesidad del mismo en una cantidad suficiente para prevenir o reducir la probabilidad de una infección por parásitos del paludismo. En determinadas realizaciones, el sujeto está en riesgo de infección de paludismo (por ejemplo, ha sido expuesto a otro sujeto que tiene una infección de paludismo sospechada o confirmada).

En determinadas realizaciones, la infección de paludismo es paludismo grave debido a una infección por *Plasmodium*. En determinadas realizaciones, la infección por *Plasmodium* es una infección por *Plasmodium falciparum*, una infección por *Plasmodium vivax*, una infección por *Plasmodium malariae*, una infección por *Plasmodium ovale* o una infección por *Plasmodium knowlesi*. En determinadas realizaciones, la infección por *Plasmodium* es una infección por *Plasmodium falciparum*. En determinadas realizaciones, la infección por *Plasmodium* es una infección por *Plasmodium vivax*. En determinadas realizaciones, la infección por *Plasmodium* es una infección por *Plasmodium malariae*. En determinadas realizaciones, la infección por *Plasmodium* es una infección por *Plasmodium ovale*. En determinadas realizaciones, la infección por *Plasmodium* es una infección por *Plasmodium knowlesi*.

En determinadas realizaciones, la infección por paludismo es paludismo cerebral (CM). En determinadas realizaciones, la infección por paludismo es paludismo asociado al embarazo (PAM). En determinadas realizaciones, la infección de paludismo es un recrudescimiento (recaída) de la infección de paludismo.

También se ha descubierto que los compuestos de la presente invención inducen la expresión de HO-1 y, por lo tanto, los compuestos de la presente invención también se consideran útiles en el tratamiento de una afección inflamatoria, tal como ALI y ARDS, que no necesariamente están asociados con la infección de paludismo. Sin

embargo, en determinadas realizaciones, el sujeto sufre una infección de paludismo también sufre una afección inflamatoria, por ejemplo, lesión pulmonar aguda (ALI) o síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA). En determinadas realizaciones, ta afección inflamatoria es una complicación de la infección de paludismo. Se considera que SDRA es la forma más grave de la ALI en el paludismo. El ALI y el SDRA se han descrito como complicaciones
 5 que surgen en sujetos que sufren infección de paludismo y podrían estar asociados con el paludismo cerebral; véase, *por ejemplo*, Mohan et al., J Vector Borne Dis. (2008) 45:179-93; Taylor et al., Treat Respir Med (2006) 5: 419-28.

En determinadas realizaciones, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal, isómero, hidrato o solvato del mismo o combinación de los mismos, para su uso en el tratamiento e la lesión pulmonar aguda.
 10

En determinadas realizaciones, la lesión pulmonar aguda es lesión pulmonar aguda asociada con el paludismo (M-AALI).

15 En determinadas realizaciones, la cantidad eficaz es una cantidad terapéuticamente eficaz. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, el método mejora la supervivencia frente a la lesión pulmonar aguda asociada con el paludismo en el sujeto. En determinadas realizaciones, el sujeto tiene una infección de paludismo sospechada o confirmada.

20 En determinadas realizaciones, la cantidad eficaz es una cantidad profilácticamente eficaz. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, el método previene o reduce la probabilidad de lesión pulmonar aguda asociada con el paludismo en el sujeto.

En determinadas realizaciones, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal, isómero, hidrato o solvato del mismo o combinación de los mismos, para su uso en el tratamiento del síndrome de dificultad respiratoria aguda (ARDS).
 25

En determinadas realizaciones, el síndrome de dificultad respiratoria aguda es un síndrome de dificultad respiratoria aguda asociado con el paludismo (M-AARDS).
 30

En determinadas realizaciones, la cantidad eficaz es una cantidad terapéuticamente eficaz. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, el método mejora la supervivencia frente al síndrome de dificultad respiratoria aguda asociado con el paludismo en el sujeto. En determinadas realizaciones, el sujeto tiene una infección de paludismo sospechada o confirmada.
 35

En determinadas realizaciones, la cantidad eficaz es una cantidad profilácticamente eficaz. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, el método previene o reduce la probabilidad de síndrome de dificultad respiratoria aguda asociada con el paludismo en el sujeto.

40 En cualquiera de los métodos descritos anteriormente, uno o más agentes terapéuticos adicionales (también denominado el "agente") pueden administrarse simultáneamente, antes de, o posteriormente a, el compuesto de fórmula (I), como se describe en el presente documento. El agente se puede añadir al mismo tiempo que el compuesto de Fórmula (I) (administración simultánea), antes o después de la administración del compuesto de Fórmula (I) (administración secuencial), o cualquier combinación de los mismos. Por ejemplo, en determinadas
 45 realizaciones, el agente se administra en primer lugar, seguido de la administración simultánea del agente y el compuesto de Fórmula (I). En determinadas realizaciones, el compuesto de fórmula (I) se administra en primer lugar, seguido de la administración simultánea del agente y el compuesto de Fórmula (I). En cualquiera de las realizaciones anteriores, el agente o el compuesto de Fórmula (I) se puede administrar solo después de la administración simultánea.
 50

En determinadas realizaciones, l compuesto de Fórmula (I) se utiliza como un agente adyuvante en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales (también denominado el "agente primario"). Como se usa en el presente documento, un "agente adyuvante" o "adyuvante" es un agente utilizado en combinación con el agente primario, y que potencia los efectos terapéuticos (por ejemplo, de forma aditiva o sinérgica) del agente primario. La terapia adyuvante incluye la administración del adyuvante antes de la administración del agente primario("terapia neoadyuvante"), durante la administración del agente primario("concomitante" o "terapia adyuvante sistémica concurrente") o después de la administración del agente primario.
 55

En determinadas realizaciones, el agente terapéutico adicional es un agente antipalúdico. Los agentes antipalúdicos de ejemplo incluyen, pero sin limitaciones, quinazolininas (por ejemplo, 2,4-diamino-6(3,4-diclorobencilamina quinazolina (PAM 1392), 2,4-diamino-6-[93,4-dichlorobenzyl0-nitrosoamino]-quinazoline (CI-679)), inhibidores de la proteína cinasa (por ejemplo, radicicol, estaurosporina, genisteína, 2,5-dihidroxycinnamato de metilo, tirfostina B44 y B46, lavendustina A y RO3), quininas (por ejemplo, quinina, quinacrina, quinidina), tetraciclinas (por ejemplo, doxiciclina, tetraciclina), aminoquinolonas (por ejemplo, amodiaquina, cloroquina, hidroxicloroquina, primaquina), biquanidas (por ejemplo, proguanil, clorproguanil), alcaloides de cinchona (por ejemplo, cinchoína, cinchonidina), sulfonamidas (por ejemplo, sulfonamida, sulfadoxina, sulfametoxipridazina), artemisininas (por ejemplo, artemisinina,
 65

arteméter, dihidroartemesinina, artesunato, artéter), clindamicina, dapsona, atovaquona, lumefantrina, piperquina, pironaridina, atovaquona, mefloquina, pirimetamina, halofantrina y sales de los mismos. En determinadas realizaciones, el agente antipalúdico es un compuesto de artemisinina (por ejemplo, artemisinina, arteméter, dihidroartemesinina, artesunato, artéter) En determinadas realizaciones, el agente antipalúdico es artemisinina,,
 5 arteméter, dihidroartemesinina, artesunato o artéter. En determinadas realizaciones, el agente antipalúdico es artemisinina. En determinadas realizaciones, el agente antipalúdico es artemisinina.

En determinadas realizaciones, el agente terapéutico adicional es un agente antiinflamatorio. Entre los ejemplos de agentes antiinflamatorios se incluyen, pero sin limitaciones, inhibidores del TNF (por ejemplo, anticuerpos monoclonales tales como infliximab, adalimumab, certolizumab pegol y golimumab; una proteína de fusión del receptor de circulación, tales como etanercept; derivados de xantina tales como pentoxifilina; bupropión); quelantes de hierro (por ejemplo, desferoxamina); dexametasona; inmunoglobulinas intravenosas; sulfato de curdlano; sales de los mismos; y gas CO. En determinadas realizaciones, el agente antiinflamatorio es gas CO.

15 En determinadas realizaciones, el agente terapéutico adicional es un activador de la piruvato deshidrogenasa, *por ejemplo*, dicloroacetato (DCA). Se ha demostrado que el DCA reduce la hiperlactatemia y la acidosis (por ejemplo, aumento de la acidez de la sangre) del paludismo grave (véase, por ejemplo, Krishna et al, Br. J. Clin. Pharmacol. (1996) 41:29-34).

20 Ejemplos

Con el fin de que la invención descrita en el presente documento se pueda entender mejor, se exponen los ejemplos siguientes. Debe entenderse que estos ejemplos son para fines ilustrativos únicamente y no deben interpretarse como limitantes de la presente invención de ningún modo.

25 *Ejemplo 1. CORM-2 protege contra el desarrollo de ECM.*

Se ha mostrado previamente que la administración de CO mediante inhalación protege a los ratones C57BL / 6 infectados con *P. berghei* ANKA infectados frente al desarrollo de ECM (véase, por ejemplo, Pamplona et al. Nat Med (2007) 13:703-710). Los inventores se preguntaron si CO-RMS podría imitar la protección conferida por la inhalación de CO en la infección por *P. berghei* ANKA. Con este fin, una CORM de rutenio conocida, Ru(CO)₃Cl₂, también se denomina en el presente documento CORM-2, se analizó con diferentes regímenes terapéuticos y dosis en ratones C57BL/6 infectados por *P. berghei* ANKA (datos no mostrados). Como control negativo, se usó un análogo de CORM-2 con depleción de CO, [Ru(DMSO)₄Cl₂] (también denominado en el presente documento "Compuesto 2"), en el que todos los ligandos de CO de Ru(II) están sustituidos por ligandos de DMSO (**Fig. 1a**). El tratamiento dos veces al día con CORM-2 entre los días 2 y 3 después de la infección previno

la muerte o los síntomas del ECM en todos los ratones C57BL / 6 infectados (P <0,001 frente a tratados con DMSO o con el compuesto 2). Estos ratones desarrollaron hiperparasitemia y anemia (> 30 % de glóbulos rojos infectados) y se sacrificaron 3 semanas después de la infección (**Fig. 1b,c**). Por el contrario, los ratones en los grupos tratados con el compuesto 2 (ratones "tratados de forma simulada") y de control tratados con DMSO murieron entre los días 6 y 7 después de la infección con síntomas de ECM, tales como hemiparaplejia o paraplejia, desviación de la cabeza, tendencia a darse la vuelta con la estimulación, ataxia y convulsiones (**Fig. 1b**). Un retraso estadísticamente significativo en la parasitemia también se observó después del día 5 de la infección en los ratones tratados con CORM-2 (P <0,01) (**Fig. 1c**).

Los inventores también evaluaron el efecto terapéutico de CORM-3, [Ru(CO)₃Cl₂(H₂NCH₂CO)₂], un compuesto soluble en agua mediante el modelo de ECM. Se observó que la administración de CORM-3 a una concentración equimolar a CORM-2, dentro del mismo calendario de tratamiento que CORM-2, protegió a los ratones del ECM en el 50 % (**Fig 12a**). Como el tratamiento con CORM-2, se produjo un retraso estadísticamente significativo en la parasitemia en los ratones tratados con CORM-3 entre el día 6 y el día 8 de la infección, en comparación con los controles (es decir, ratones infectados tratados con el compuesto 2 (P<0,001) y control infectados (P<0,05)) (**Fig. 12b**). Los ratones tratados con CORM-3 protegidos murieron 3 semanas después de la infección debido al desarrollo de hiperparasitemia y anemia (>50 % de glóbulos rojos infectados) (**Fig. 12b**). Aunque CORM-3 pudo conferir un 50 % de protección contra ECM, no fue tan eficaz como CORM-2.

Ejemplo 2. Una nueva molécula liberadora de CO (compuesto 1) protege a los ratones del ECM sin formación de COHb

60 Se sintetizó una nueva CO-RM hidrosoluble, tricarbonildicloro(metilgalactopiranosido) Ru(II) [Ru(CO)₃Cl₂(Gal-S-Me)] (Compuesto 1), mediante la reacción de CORM-2 con metilgalactopiranosido (Gal-S-Me) (**Fig. 2a**). Este complejo de tricarbonilo Ru cuenta con un ligando derivado de galactosa (Gal) coordinado con el centro de Ru a través de un enlace tioéter. La presencia del ligando de galactosa puede conferir un cierto grado de especificidad hepática.

65 El tricarbonildicloro(metilgalactopiranosido) Ru(II) (Ru(CO)₃Cl₂(Gal-S-Me)), también denominado en el presente

documento Compuesto 1, se preparó haciendo reaccionar CORM-2 con metiltiogalactopiranosido (Gal-S- Me) como se describe en el presente documento (véase la figura 2a y la sección Materiales y Métodos). La biodistribución del Compuesto 1 en los tejidos se evaluó mediante la cuantificación de los niveles de Ru y CO en el huésped mediante el método de Vreman et al., Anal Biochem. (2005) 341:280-9). Los tejidos de hígado, riñón, bazo, pulmón y cerebro de ratones no infectados (NI) se analizaron una hora después de la administración del compuesto 1 y la molécula control, compuesto 2 (**Fig. 2b**). En los ratones tratados con el compuesto 1, se pudo detectar Ru en todos los órganos analizados con una afinidad marcada por el hígado (**Fig. 2b**). De hecho, la concentración de Ru en el hígado de ratones tratados con el compuesto 1 fue de aproximadamente $7,0 \pm 0,3$ veces mayor que la medida en los ratones tratados con el compuesto 2 ($P < 0,05$) (**Fig. 2b**). El cerebro fue el órgano en el que los niveles de Ru fueron menores ($401,8 \pm 17,3$ veces menos que en el hígado), lo que indica un bajo potencial de neurotoxicidad (**Fig. 2b**). La cantidad de Ru retenido en el hígado después de la última inyección del compuesto 1 representó aproximadamente un $13,7 \pm 0,6$ % de la Ru administrada en todas las dosis. Los niveles de Ru en los ratones tratados con el compuesto 1 fueron más altos que los de los ratones tratados con el compuesto 2 para todos los órganos analizados ($P < 0,05$) (**Fig. 2b**), lo que implica una tasa de excreción menor del compuesto 1 o de sus metabolitos que contienen Ru. Los niveles medidos de CO para los ratones tratados con el compuesto 2 y tratados con el compuesto 1 fueron significativamente diferentes en todos los órganos ($P < 0,05$) (**Fig. 2c**). El compuesto 1 mostró niveles más altos de CO en el hígado y el bazo, de los que el bazo muestra el nivel más alto. El bazo es un órgano que desempeña un papel crucial en la eritrofagocitosis, proceso importante para la renovación de los glóbulos rojos y el reciclaje de hierro. Los eritrocitos son hidrolizados por los macrófagos esplénicos, en los que se produce la degradación de hemoglobina, se libera el hemo y se cataboliza por la hemo oxigenasa-1 en biliverdina, monóxido de carbono y hierro ferroso (Fe^{2+}). La producción endógena de CO debido a la mayor actividad de la HO-1 podría explicar los niveles más altos de CO vistos en el bazo de los ratones tratados con el compuesto 1. Se ha planteado la hipótesis de que el compuesto 1 estimula/aumenta la eritrofagocitosis.

Se usó e ensayo con lisozima de clara de huevo de gallina (HEWL) para evaluar la reactividad del compuesto 1 en presencia de proteínas (véase, por ejemplo, Santos-Silva, T. et al. J Am Chem Soc (2011) 133, 1192-1195). En este artículo se describen las interacciones de CORM-3 con las proteínas plasmáticas. CORM-3 reacciona rápidamente con las proteínas, perdiendo ion cloruro, glicinato y un ligando de CO. e prevé que el compuesto 1 podría reaccionar con proteínas del suero de una manera similar a lo que se ha visto anteriormente para CORM-3 y forma aductos de CO del que se puede liberar CO y ejercer sus efectos protectores. De hecho, el compuesto 1 en presencia de HEWL forma aductos de proteína-Ru^M(CO)₂, pero reacciona más lentamente que CORM-3 (véase la sección Materiales y Métodos, descrita en el presente documento, y la **Fig. 11a-11e**), y, por lo tanto, puede significar que la liberación de CO es más lenta y más eficiente. Se observó que CORM-3 reacciona más rápido y tiene una eficacia mucho más débil que el compuesto 1 en este tratamiento del ECM.

A continuación se evaluó la capacidad de donación de CO del compuesto 1 mediante un ensayo de carbonilación de desoxi-mioglobina (Mb) (véase, por ejemplo, Clark et al., Am J Pathol (1992) 140:325-336). Se observó que el compuesto 1 transfiere aproximadamente 1 equivalente de CO a Mb después de 15 minutos de incubación con desoxi-Mb, como se ve por Ru tricarbonilo CORM-3 (véase la sección Materiales y Métodos descrita en el presente documento). En conjunto, estos datos demuestran que el Compuesto 1 es capaz de transferir CO al hemo de Mb, reacciona con las proteínas para formar aductos de proteína-Ru^M(CO)₂ y, preferentemente, distribuye al hígado.

El potencial efecto protector del compuesto 1 se evaluó después en ECM. Los ratones C57BL/6 infectados por *P. berghei* ANKA fueron tratados diariamente con el compuesto 1 entre los días 2 y 3 después de la infección. El tratamiento con el compuesto 1 protegió al 100 % de los ratones C57BL / 6 infectados con *berghei* ANKA frente al desarrollo de ECM, en contraste con los ratones control infectados y tratados con el compuesto 2 que murieron con síntomas de ECM entre los días 6 y 8 después de la infección ($P < 0,0001$) (**Fig. 2d**). También se observó una detención pequeña pero significativa de la parasitemia en los ratones tratados con el compuesto 1 entre los días 5 y 7 después de la infección ($P < 0,01$) (**Fig. 2e**).

Los datos llevaron a los inventores a preguntarse si el compuesto 1 podría tener un efecto antiparasitario directo sobre los parásitos *P. berghei* ANKA y *P. falciparum*. Con este fin, el efecto del compuesto 1 y la cloroquina (CQ) contra el paludismo se controló en la replicación *in vitro* del aislado 3D7 de *P. falciparum* y *P. berghei* ANKA durante 48 horas y 24 horas, respectivamente. El compuesto 1 mostró valores de CI_{50} notablemente altos en comparación con CQ, aproximadamente 5600 y 350 veces mayor en los parásitos *P. falciparum* 3D7 y *P. berghei* ANKA respectivamente (véase la **Fig. 6a-6b**). La CI_{50} para el Compuesto 2 no se determinó debido a la ausencia de efecto inhibitor en el intervalo de concentraciones analizadas.

En conjunto, los resultados anteriores muestran que la administración terapéutica del compuesto 1, aunque no tiene un efecto antiparasitario, tiene un impacto significativo en el resultado global de la infección, como se indica por 100 % de supervivencia de los ratones infectados tratados con el compuesto 1 (**Fig. 2d**). La inhalación de CO a una dosis necesaria para obtener efectos protectores similares para ECM (250 ppm durante 24 horas, comenzando el día 2 después de la infección) indujo la formación de COHb $30,3 \pm 2$ % ($P < 0,05$), que es un valor inaceptable para los seres humanos. De forma notable, el compuesto 1 protegió completamente a los ratones contra ECM sin causar aumento mensurable en los niveles de COHb en la sangre. Los niveles de COHb en los ratones tratados con el compuesto 1 fueron similares a los observados para los ratones no infectados (NI), infectados control, tratados con

el compuesto 2 y tratados con DMSO (**Fig. 2f**). Los niveles de CO-Hb cuando se utiliza CO-RM-3 son similares a los del compuesto 1. En conjunto, estos datos demuestran que el compuesto 1 protege completamente a los ratones del inicio de ECM inicio sin afectar al transporte de oxígeno por la hemoglobina, superando de este modo el principal efecto adverso de la terapia con gas CO.

5

Ejemplo 3. El compuesto 1 induce la expresión de HO-1

Se ha demostrado que la inducción de HO-1 reduce la incidencia de CM en ratones C57BL / 6 infectados por *P. berghei* ANKA (véase, por ejemplo, Pamplona et al., Nat Med (2007) 13:703-710). El compuesto 1 se distribuye preferentemente en el hígado, que se considera un mediador de la inmunidad innata sistémica y local y se ha implicado en la regulación de genes que contribuyen al control de la inflamación, tales como HO-1 (véase, por ejemplo, Nemeth et al., Semin Immunopathol (2009) 31:333-343). No se encontraron signos de rutenio en el cerebro. Los inventores se preguntaron si el compuesto 1 podía modular la expresión de HO-1 y, por lo tanto, contribuir a la protección observada contra el ECM. La expresión del ARNm de HO-1 estaba significativamente regulada por aumento en el hígado de ratones C57BL / 6 infectados por *P. berghei* ANKA tratados con el compuesto 1, $11,1 \pm 2,3$ y $5,7 \pm 1,2$ veces, en comparación, respectivamente, con ratones no infectados e infectados tratados con el compuesto 2 ($P < 0,05$) (**Fig. 2g**). Además, la expresión del ARNm de HO-1 en el cerebro de ratones infectados tratados con el compuesto 1 el día 3 después de la infección no fue significativamente diferente de la de los ratones no infectados e infectados tratados con el compuesto 2 (**Fig. 2h**). Estos resultados muestran que el tratamiento con el Compuesto 1 indujo la regulación por aumento de la expresión de HO-1 en el hígado de ratones infectados, lo que contribuye al control de la respuesta inflamatoria sistémica del huésped frente a la infección de *P. berghei* ANKA.

20

Ejemplo 4. El compuesto 1 previene la alteración de la BHE y la neuroinflamación

La alteración de la barrera hematoencefálica (BHE) es una característica del ECM y se ha notificado en el CM humano (véase, por ejemplo, Thumwood et al., Parasitology (1988) 96:579-589; Medana et al., Int J Parasitol (2006) 36:555-568). Los ratones C57BL/6 infectados por *P. berghei* ANKA no tratados y los tratados con el compuesto 2 mostraron alteración de la BHE medida mediante la acumulación de azul Evans en el parénquima cerebral, es decir $4,3 \pm 0,65$ y $6,7 \pm 1,5$ veces de incremento, respectivamente, en comparación con ratones NI ($P < 0,01$), mientras que los ratones tratados con el compuesto 1 no mostraron ningún signo de alteración de la BHE, dado que los niveles de acumulación de azul de Evans fueron similares a los de los ratones NI (**Fig. 3a** y **Fig. 7a-7b**). Se sabe que la inhibición de la alteración de la BHE contribuye a la supresión del desarrollo de ECM (véase, por ejemplo, Favre et al., Microbes Infect (1999) 1:961-8). Además, en varios informes se ha demostrado inequívocamente que el desarrollo de ECM en ratones infectados con *P. berghei* ANKA depende de la presencia de células T, principalmente células T CD8⁺ (véase, por ejemplo, Berendt et al., Parasitol Today (1994) 10:412-414; Belnoue et al., J Immunol (2002) 169:6369-6375; Yanez et al., J Immunol (1996) 157:1620-1624). Más recientemente, se ha demostrado que la acumulación de células T CD8⁺ en el cerebro no es suficiente para el desarrollo de ECM en ratones C57BL / 6, pero la presencia concomitante de glóbulos rojos parasitados (pRBC) es necesaria para la aparición de patología (véase, por ejemplo, Baptista et al., Infect Immun (2010) 78:4033-9). Tanto la acumulación de pRBC como la expresión de ARNm de CD8-cadena - β en el cerebro fueron significativamente inferiores en ratones tratados con el compuesto 1 en comparación con los ratones tratados con el compuesto 2, que mostraron claros signos de CM ($P < 0,01$) (**Fig. 3b. c**) Durante el ECM, las citocinas proinflamatorias, como IFN- γ y moléculas de adhesión, tales como ICAM-1, están reguladas por aumento y desempeñan un papel decisivo en la patogenia del ECM (Favre, citado anteriormente; de Kossodo et al., J Immunol (1993) 151:4811-4820; Rudin et al., Eur J Immunol (1997) 27:810-815). De manera importante, el tratamiento con el compuesto 1 redujo la expresión de ARNm de IFN- γ en comparación con los ratones infectados tratados con el compuesto 2 ($P < 0,01$) (Fig. 3d) y la disminución de la expresión de ICAM-1 $2,02 \pm 0,06$ veces, $P < 0,01$ ratones tratados con el compuesto 1 y tratados con el compuesto 2), cuando se evaluaron el día 6 después de la infección (**Fig. 3e**).

35

40

45

50

55

El tratamiento con el compuesto 1 tratamiento también previno las características neuropatológicas asociadas con el ECM (véase, por ejemplo, Pamplona et al., Nat Med (2007) 13:703-710); Neill et al., Parasitology (1992) 105: 165-175). Los cerebros de ratones infectados con *P. berghei* ANKA y tratados con el compuesto 2 mostraron signos de congestión microvascular con pRBC y leucocitos y focos hemorrágicos. Por el contrario, los ratones infectados tratados con el compuesto 1 mostraron menos hemorragias y los vasos tenían una acumulación menor de pRBC y leucocitos (**Fig. 3f-i**). En su conjunto, estos resultados muestran que el tratamiento con el compuesto 1 previene la permeabilidad de la BHE, disminuye la congestión, las hemorragias y la neuroinflamación en el cerebro de los ratones infectados.

60

Ejemplo 5. El compuesto 1 protege a los ratones frente al desarrollo de ALI asociada con el paludismo

La patogenia del paludismo por *P. falciparum* grave es compleja y da como resultados un amplio espectro de manifestaciones de la enfermedad, tales como CM y ALI. A continuación, los inventores evaluaron el efecto protector del compuesto 1 en un modelo de lesión pulmonar aguda asociada con el paludismo (M-AALI) (véase, por ejemplo, Epiphanio et al. PLoS Pathog (2010) 6:1-10). El modelo de M-AALI, basado en la infección de ratones DBA-2 con *P. berghei* ANKA se caracteriza por disnea, obstrucción de las vías respiratorias, hipoxemia, exudado pulmonar y niveles de VEGF elevados en plasma, seguido de muerte entre los días 7 y 12 después de la infección. Ninguno de

65

los ratones DBA/2 infectados por *P. berghei* ANKA, tratados dos veces al día con el compuesto 1 entre los días 2 y 4 después de la infección, desarrolló M-AALI. En los grupos control de ratones infectados no tratados y tratados con el compuesto 2, el 83 % y el 67 % de los ratones, respectivamente, murieron con síntomas de M-AALI, tales como disnea, insuficiencia respiratoria (como primeros síntomas), y exudado pulmonar y niveles altos de VEGF en el plasma analizado *post-mortem* (**Fig. 4a**). Además, los niveles de VEGF fueron significativamente inferiores en los ratones infectados tratados con el Compuesto 1 ($P < 0,001$; **Fig. 4b**). El examen histológico del tejido pulmonar de los ratones infectados, infectados tratados con el compuesto 2 y tratados con el compuesto 1 mostró grandes diferencias en la congestión vascular con pRBC (**Fig. 4c-e**). En resumen, los datos muestran que el tratamiento con el compuesto 1 mejora significativamente el resultado infección en el modelo de M-AALI.

Ejemplo 6. Compuesto 1, un potencial tratamiento auxiliar /adyuvante para el ECM

Los datos anteriores muestran que el tratamiento con el Compuesto 1 protege a los ratones infectados con *P. berghei* frente a la muerte causada por ECM y M-AALI cuando se administra antes de que se observen síntomas de la enfermedad. Sin embargo, para que sea útil en los seres humanos, el compuesto 1 debe mostrar actividad terapéutica después de la aparición de la enfermedad, ya sea solo o en combinación con otros fármacos antipalúdicos. Por lo tanto, los inventores decidieron analizar el compuesto 1 como tratamiento auxiliar y adyuvante durante la fase aguda del ECM. El artesunato (AS) es el tratamiento primario en el paludismo grave y generalmente es eficaz en el control de la parasitemia por *P. falciparum* y se ha utilizado previamente para tratar ratones infectados por *P. berghei* ANKA (véase, por ejemplo, Vivas et al., *Acta Trop* (2008) 105:222-228; Bienvenu et al., *Acta Trop* (2008) 106:104-8; Sinclair et al., *Base de datos Cochrane Syst Rev* 3, CD005967). Por lo tanto, los inventores evaluaron la combinación del compuesto 1 y AS en la eliminación del parásito y la recuperación clínica del ECM. Se analizaron dos combinaciones de AS y compuesto 1: (i) Terapia auxiliar: se administraron AS y el compuesto 1 de forma concomitante durante 2 días después de la aparición de CM, seguido de un tratamiento de 3 días con el compuesto 1 solo, o (ii) terapia adyuvante: se administró AS los primeros 2 días después de la aparición de CM, seguido por la administración del compuesto 1 durante 3 días más.

El tratamiento con AS empezó cuando los ratones infectados (control) mostraron el estadio inicial del ECM (puntuación de 1). Todos los ratones infectados no tratados habían muerto por ECM el día 6 después de la infección (**Fig. 5a**). El efecto del tratamiento antipalúdico con AS solo se demostró por la disminución de la parasitemia de $6,8 + 0,3$ % a $0,59 + 0,06$ % (los días 5 y 9 después de la infección, respectivamente). El tratamiento con AS solo retrasó, pero en la mayoría de casos no previno la muerte por CM **Fig. 5b**). Nueve de 11 (82 %) ratones tratados con AS murieron con ECM entre los días 12 y 13 después de la infección (**Fig. 5a**). Los ratones tratados simultáneamente con AS y el compuesto 1 en el marco del protocolo auxiliar mostraron un aumento significativo de la supervivencia (83 %) cuando se comparó con el grupo tratado con AS (18 %) ($P < 0,01$) (**Fig. 5a**). El grupo infectado tratado con la combinación de AS y compuesto 1 según el protocolo adyuvante mostró una mejora de la supervivencia del 67 % del ECM ($P < 0,01$ frente a ratones tratados con AS-) (**Fig. 5a**). Como no se administraron agentes antipalúdicos después de día 7, los ratones que no tenían ECM desarrollaron hiperparasitemia y anemia (> 30 % de parasitemia) y fueron sacrificados en un plazo de 3 semanas después de la infección (**Fig. 5a**). Durante la administración de AS, entre los días 5 y 6, el Compuesto 1 no interfirió con la acción antipalúdica del AS *in vivo* (**Fig. 5b**). Estos resultados muestran claramente que un medicamento antipalúdico y el compuesto 1 usados en combinación después de la aparición de ECM puede mejorar significativamente la supervivencia.

Discusión

Los inventores han descubierto una nueva CORM hidrosoluble, tricarbonildicloro (tiogalactopiranósido) Ru (compuesto 1) (II), capaz de transferir CO a las proteínas hemo y que protege a los ratones de la muerte causada por el paludismo grave. Los inventores han observado que la CORM-2 liposoluble podía proteger completamente a los ratones frente a la muerte causada por ECM, mientras que el análogo a CORM-3 hidrosoluble era menos activo y solo podía proteger al 50 % de los ratones frente al ECM (véase la Figura 12)). La inhalación CO suprime la patogenia del CM y M-AALI en ratones (véase, por ejemplo, Pamplona, citado anteriormente; Epiphanyo citado anteriormente) pero produjo niveles inaceptables de carboxihemoglobina (COHb). La COHb se usa rutinariamente para evaluar la toxicidad del CO en seres humanos (véase, por ejemplo, Motterlini et al., *Nat Rev Drug Discov* (2010) 9:728-743). Los datos muestran que el compuesto 1, a concentraciones terapéuticas, no inducía la formación de niveles mensurables de COHb, al tiempo que preservaba los efectos protectores observados con CO inhalado.

Este trabajo también proporciona indicios de que el tratamiento con el compuesto 1 en el modelo de ECM induce la expresión de HO-1. Previamente se ha demostrado que la inducción de HO-1 protege a los ratones del desarrollo de ECM (véase, por ejemplo, Pamplona, citado anteriormente). Además, en un modelo de inflamación intestinal crónica se ha demostrado que el CO podría mejorar la colitis murina crónica a través de una vía dependiente de HO-1 (véase, por ejemplo, Hegazi et al., *J Exp Med* (2005) 202:1703-1713). Los datos sugieren fuertemente que HO-1 media en un componente significativo de la acción antiinflamatoria del compuesto 1 en el ECM, que se caracteriza no solo por respuestas inflamatorias exacerbadas mediadas por el parásito, sino también para pRBC, secuestro de RBC no parasitados en la microvasculatura del cerebro y, más recientemente, por coagulopatía y disfunción de la microcirculación (véase, por ejemplo, van der Heyde et al., *Trends Parasitol* (2006) 22:503-508).

A pesar de la introducción de nuevos agentes antipalúdicos, tales como derivados de la artemisinina (por ejemplo, artesunato), estos fármacos requieren al menos 12-18 horas para matar parásitos (véase, por ejemplo, Mishra et al., Nat Rev Neurol (2009) 5:189-198). Las muertes por paludismo grave pueden ocurrir dentro en las primeras 24 horas después del ingreso hospitalario (véase, por ejemplo, Idro et al., Lancet Neurol (2005) 4:827-840). Por lo tanto, la administración de terapias auxiliares en las primeras 24 horas es crucial para reducir la mortalidad. Los niños que sobreviven al episodio agudo de CM a menudo tienen déficits cognitivos (~ 25 %) y neurológicos (1,1- 4,4 %) a largo plazo (véase, por ejemplo, Trampuz et al., Crit Care (2003) 7:315-323; Idro citado anteriormente). El uso de terapias auxiliares que reducirían la lesión neurológica puede resultar esencial para reducir esta carga. Se ha evaluado una serie de tratamientos auxiliares, tales como agentes anti-TNF- α , quelantes de hierro (tal como desferoxamina) y dicloroacetato (estimula la piruvato deshidrogenasa y así reduce lactato) en ensayos clínicos aleatorizados (revisado en John et al., Expert Rev Anti Infect Ther (2010) 8:997-1008).

De forma notable, los presentes datos demuestran que el compuesto 1 es un adyuvante eficaz cuando está en combinación con un agente antipalúdico artemisinina (por ejemplo, artesunato (AS)) para el tratamiento de la infección por paludismo, *por ejemplo*, ECM. Además, el tratamiento con el compuesto 1 protegió a los ratones de la M-AALI, y disminuyó significativamente los niveles de VEGF en la circulación. Por lo tanto, el compuesto 1 puede ser un agente adyuvante eficaz en el tratamiento de la M-AALI así como de afecciones inflamatorias, tales como ALI, ya que los únicos tratamientos que se ha demostrado que mejoran la supervivencia y reducen la mortalidad para pacientes con ALI han sido estrategias de atención de soporte (véase, por ejemplo, Jain et al., Mayo Clin Proc (2006) 81:205-212).

En resumen, la nueva CORM, el compuesto 1, muestra una solubilidad en agua mejorada, puede transferir CO a las proteínas hemo y se tribuye *in vivo* con una afinidad moderada por el hígado. La bioactividad y las características terapéuticas clave del compuesto 1 se muestran en dos modelos distintos de paludismo grave. De manera importante, los datos muestran el uso de este compuesto como terapia adyuvante prometedora durante la fase aguda del paludismo cerebral. El compuesto 1 protege completamente a los ratones contra el CM experimental (ECM) y la lesión pulmonar aguda (ALI). El compuesto 1 permite la liberación específica de CO *in vivo* sin afectar al transporte de oxígeno por la hemoglobina, la principal limitación en la terapia de inhalación de CO. El efecto protector depende del CO e induce la expresión de hemo oxigenasa-1, lo que contribuye a la protección observada. De manera importante, cuando está en combinación con el fármaco antipalúdico artesunato, el compuesto 1 es un adyuvante eficaz para el ECM que confiere protección después de la aparición de la enfermedad grave.

El presente estudio aclara aún más los efectos antiinflamatorios y citoprotectores de un nuevo Ru tricarbonilo CO-RM en modelos de ECM y M-AALI. Los datos destacan el potencial terapéutico del compuesto 1 en la orientación farmacológica de la expresión de HO-1 que desempeña papeles citoprotectores, inmunomoduladores y antiinflamatorios cruciales. El trabajo demuestra claramente que el CO liberado por el Compuesto 1 puede inducir una protección similar como se ha visto con la terapia de gas CO, pero sin los efectos tóxicos (niveles de COHb elevados) de inhalación de CO. En conjunto, este trabajo representa una importante prueba de principio preclínica de CORM como una nueva clase de fármacos para el tratamiento de las formas graves de la infección de paludismo y establecer una nueva CO-RM con muchas características de tipo fármaco importantes relevantes para otras aplicaciones terapéuticas.

Materiales y métodos

45 *Reactivos*

Para los estudios *in vivo*, el dímero de tricarbonildiclororutenio(II) (CORM-2) y artesunato (AS) se adquirieron en Sigma-Aldrich. CORM-3/ac-Ru(CO)₃Cl(NH₂CH₂COO) también denominada fac-Ru(CO)₃Cl(glicinato), se sintetizó como se ha descrito anteriormente (véase, por ejemplo, Clark et al., Am J Pathol (1992) 140:325-36). El compuesto 2 (Tetrakis(dimetilsulfóxido)diclororutenio(II)) se adquirió en Strem Chemicals, Inc. El β -D-tiogalactopiranosido se adquirió en Carbosynth. La lisozima C de clara de huevo de gallina (código PDB 3b61; código UniProtKB/Swiss-Prot P00698) (masa isotópica promedio calculada = 14305,1) se utilizó como un modelo para la interacción con Ru(CO)₃Cl₂(Gal-S-Me) y CORM-3.

55 *Ratones*

Los ratones C57BL/6 y DBA-2 salvajes se adquirieron en Charles River Laboratories International Inc. (Barcelona, España) y se estabularon en las instalaciones apirógenas del Instituto de Medicina Molecular. Todos los protocolos se aprobaron y realizaron de acuerdo con las regulaciones para el Cuidado de Animales de la Dirección General de Veterinaria (Portugal).

Parásitos, infección y evaluación de la enfermedad

Se utilizaron glóbulos rojos infectados con *P. berghei* ANKA transgénico con proteína verde fluorescente (GFP) y *P. berghei* ANKA para infectar ratones (véase, por ejemplo, Franke-Fayard et al. Mol Biochem Parasitol (2004) 137:23-33). Los parásitos criopreservados se pasaron una vez a través de ratones C57BL / 6 o DBA-2 antes de usarse para

infectar animales de experimentación. Se infectaron ratones C57BL/6 o DBA-2 de 6 a 8 semanas de edad (de sexos equivalentes en cada experimento) mediante inyección intraperitoneal (*i.p.*) de 10^6 glóbulos rojos infectados. Los ratones infectados se controlaron diariamente para detectar síntomas clínicos de paludismo cerebral experimental (ECM), incluyendo hemiplejía o paraplejía, desviación de la cabeza, tendencia a darse la vuelta con la estimulación, ataxia y convulsiones, o ALI, incluyendo disnea. Se sacrificó a los ratones que mostraban signos graves de ECM el día 5, 6 o 7 después de la infección (*p.i.*) y ALI entre los días 7 y 9. La parasitemia se evaluó mediante citometría de flujo para los ratones infectados con *P. berghei* ANKA, con expresión de GFP usando sangre de la cola, como se ha descrito anteriormente (véase, por ejemplo, Pamplona et al., *Nat Med* (2007) 13:703-710). La parasitemia media se expresa como el porcentaje de glóbulos rojos infectados. Para los ratones infectados con *P. berghei* sin GFP se evaluó la parasitemia diariamente mediante recuento microscópico de frotis sanguíneos finos teñidos con Giemsa. La parasitemia media se expresa como el porcentaje de glóbulos rojos infectados. La supervivencia se expresa como el porcentaje.

Evaluación clínica del paludismo cerebral experimental

Con el fin de evaluar la presentación clínica de paludismo cerebral experimental se utilizó una clasificación en estadios clínicos de 0 a 4 (véase, por ejemplo, Bienvenu et al., *Acta Trop* (2008) 106:104-8; Franklin et al., *Proc Natl Acad Sci U S A* (2011) 108:3689-94). En resumen, el estadio 0 indica ausencia de síntomas clínicos detectables, estadio 1, pelaje erizado; estadio 2, pelaje erizado y desequilibrio; estadio 3, parálisis de las extremidades y dificultad respiratoria, y estadio 4, convulsiones, coma o muerte. Los ratones fueron clasificados clínicamente antes y después del tratamiento para evaluar la recuperación clínica.

Tratamientos in vivo

CORM-2 (Sigma-Aldrich) y el compuesto 2 se solubilizaron usando 10 % de dimetilsulfóxido (DMSO; Sigma-Aldrich) en PBS. CORM-3 y el compuesto 1 se solubilizaron en PBS (1x). La solución de CORM-2 (20 mg / kg de peso corporal) se administró por vía intravenosa (*i.v.*) de acuerdo con los calendarios elegidos. El compuesto 2, CORM-3 y el compuesto 1 se administraron *i.v.* a concentraciones equimolares en relación con CORM-2 (36,7 mg / kg). Como vehículo de control se utilizó una solución de 10 % de DMSO en PBS administrado *i.v.* Las concentraciones de CORM-2 utilizadas en el presente estudio se basaron en informes anteriores (véase, por ejemplo, Chen et al. *Am. J. Pathol.* (2009) 175:422-429; Sun et al., *World. J. Gastroenterol.* (2008) 14:547-553). El artesunato se presenta como un polvo de ácido artesúnic. La solución de artesunato (AS) se preparó disolviendo 60 mg de ácido artesúnic anhídrido en 1 ml de bicarbonato de sodio (5 %) para formar artesunato de sodio y, después, se diluyó en 5 ml de NaCl (0,9 %). Una solución AS (*i.p.*) se administró a 40 mg / kg / día, como se ha descrito anteriormente (véase, por ejemplo, Bienvenu, *Acta Trop* (2008) 106:104-108). El tratamiento con AS se inició cuando los ratones infectados no tratados presentaron el estadio clínico 1 para el paludismo cerebral experimental.

Cuantificación e COHb en sangre periférica

Se extrajo sangre de la cola de los ratones a los tubos capilares (VWR) con heparina (100 ui./ml en PBS 1X; LEO Pharma Inc.), se transfirió a cubetas AVOXimeter 4000 (ITC) donde los niveles de carboxihemoglobina (COHb), oxihemoglobina (O_2Hb) y metahemoglobina (MetHb) se midieron en un ACO-oxímetro portátil VOXimeter 4000 (ITC). Los resultados se muestran como el porcentaje medio de la especie de hemoglobina total en la circulación.

Determinación de CO en tejidos

El CO cuantificó en diferentes tejidos como se ha descrito previamente (véase, por ejemplo, Vreman et al., *Anal Biochem* (2005) 341:280-289). En resumen, el CO se liberó en forma de gas en un vial cerrado mediante la adición de 25 μ l de agua y 5 μ l de ácido sulfosalicílico (SSA, 30 % [peso / vol]) a 30 μ l de la muestra diluida después de homogeneizar. Los viales se incubaron en hielo durante al menos 10 minutos antes de su análisis. El gas en el espacio superior de los viales se analizó cuantitativamente con un cromatógrafo de gases (GC) equipado con detector de fotometría de compuesto reductor (detector RCP) (Peak Laboratories, Mountain View, CA), que permite cuantificar CO en el gas a concentraciones tan bajas como 1-2 partes por mil millones (ppb). La cantidad de CO se calculó utilizando una curva de calibración preparada a partir de patrones de CO. En resumen, se extrajo sangre de la cola de los ratones a los tubos capilares (VWR) con heparina (100 ui./ml en PBS 1X; LEO Pharma Inc.), se transfirió a cubetas AVOXimeter 4000 (ITC) donde los niveles de carboxihemoglobina (COHb), oxihemoglobina (O_2Hb) y metahemoglobina (MetHb) se midieron en un ACO-oxímetro portátil VOXimeter 4000 (ITC). Los resultados se muestran como el porcentaje medio de la especie de hemoglobina total en la circulación.

Cuantificación de Ru en tejidos

Las muestras de tejido se pesaron y se secaron a 80 °C durante la noche, seguido de 2 o más horas a 120 °C. Los tejidos secos se digirieron a continuación mediante la adición de 2 ml de solución de hidróxido de tetraetilamonio (20 % en peso en agua) (Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EE.UU.)) durante 24 horas. Después de la digestión completa del tejido, se añadió 1 ml de agua. El contenido de Ru se analizó mediante un espectrómetro de emisión atómica de plasma acoplado inductivamente (ICP-AES) (modelo Ultima - Horiba Jobin Yvon, Longjumeau, Francia) usando un

método estándar de Ru externo.

Histología

- 5 Para la evaluación de las características histológicas, se anestesió profundamente a los ratones hasta que dejaron de respirar cuando los ratones de control infectados presentaron signos de ECM o ALI. Se extrajeron los hígados pulmones y cerebros y se fijaron en formalina al 10 % tamponada durante 24-72 horas. Se cortaron secciones de cuatro micrómetros de los tejidos embebidos en parafina y se tiñeron con hematoxilina y eosina de acuerdo con procedimientos estándar. Los análisis histológicos se realizaron en un microscopio Leica DM 2500 (Leica
10 Microsystems).

Determinación de los niveles de la proteína VEGF

- 15 El VEGF de ratón en muestras de plasma se determinó utilizando un kit de ELISA comercial (R & D Systems) siguiendo las instrucciones del fabricante. La clasificación por grupos se realizó solo al final de cada experimento después de determinar la causa de la muerte.

PCR cuantitativa con transcripción inversa en tiempo real (qRT-PCR)

- 20 Se sacrificó a los ratones cuando los ratones de control infectados presentaron signos de ECM y se les perfundió intracardialmente con PBS para eliminar los RBC circulantes y los leucocitos de los órganos. Se aisló el ARN de cerebros, hígados y pulmones utilizando el reactivo Trizol (Invitrogen, Life technologies), de acuerdo con las recomendaciones del fabricante. La síntesis de la primera hebra de ADNc a partir de los moldes de ARN se llevó a cabo usando el kit Transcriptor First Strand cDNA Synthesis (Roche). Las reacciones de RT-PCR se realizaron en
25 presencia de verde SYBER (SYBER Green PCR master mix, Applied Biosystems) en un ABI PRISM 7500Fast (Applied Biosystem). Los oligonucleótidos utilizados para la amplificación específica de genes incluyen:

SEQ ID NO 1: *hprt* 5'-GTTGGATACAGGCCAGACTTTGTTG-3' (directo);
 SEQ ID NO 2: 5'-GATTCAACCTTGCGCTCATCTTAGGC-3' (inverso);
 SEQ ID NO 3: *ho-1* 5'-TCTCAGGGGGTCAGGTC-3' (directo);
 SEQ ID NO 4: 5'-GGAGCGGTGTCTGGGATG3'(inverso);
 SEQ ID NO 5: *Pb 18S* 5'-AAGCATTAAATAAAGCGAATACATCCTTAC-3' (directo)
 SEQ ID NO 6: 5'-GGAGATTGTTTTGACGTTTATGTG-3' (inverso);
 SEQ ID NO 7: *CD8β* 5'TGCTCGAGATGTGATGAAGG-3'(directo);
 SEQ ID NO 8: y 5'-TCCCCTGTTGACTGGTCATT-3' (inverso);
 SEQ ID NO 9: *ifn-β* 5'-CACACTG CATCTTGGCTTT G-3'(directo);
 SEQ ID NO 10: 5'-TCTGGCTCTGCAGGATTTTC-3'(inverso);
 SEQ ID NO 11: *icam-1* 5'-CGAAGGTGGTTCTTCTGAGC-3' (directo); y
 SEQ ID NO 12: 5'-GTCTGCTGAGACCCCTCTTG-3' (inverso).

- 30 Los cambios relativos en la expresión génica entre los grupos experimental y de control se calcularon por el método Pfaffl usando *hprt* como gen de control interno.

Análisis estadístico

- 35 Para las muestras en las que $n \geq 5$, los análisis estadísticos se realizaron utilizando la prueba t de Student y para $n < 5$, los análisis estadísticos se realizaron usando la prueba U de Mann-Whitney. Las curvas de supervivencia se compararon mediante la prueba del orden logarítmico y la prueba de Gehan-Breslow-Wilcoxon. Un valor de $P < 0,05$ se consideró significativo.

Cuantificación de la liberación de CO usando un ensayo de Mb

- 40 El ensayo de Mb se realizó como se describe en lark et al., Circ. Res. (2003) 93:2-8). Se preparó una solución madre de mioglobina (Mb) a partir de músculo esquelético equino disolviendo la proteína en PBS7.4. De esta solución se tomaron alícuotas a una cubeta (concentración final entre aproximadamente 60 μ M) y se añadió $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ en PBS, pH 7,4 (solución de 10 mg/ml; 0,1 % de concentración final) para convertir met-Mb en desoxi-Mb. Las reacciones se
45 realizaron mezclando en la misma cubeta y por este orden, la solución madre de Mb, la solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$, una cantidad calculada de una solución del compuesto 1 y la adición de PBS para obtener el volumen final deseado. Antes de añadir la solución del compuesto 1 un espectro de control siempre se adquirió para ver si la proteína se había reducido correctamente con ditionito de sodio. Dos controles se realizaron por duplicado, El control negativo (0 % DE CO-Mb), una solución DE desoxi-Mb y el control positivo (100 % DE CO-Mb), obtenido mediante el burbujeo
50 de gas CO puro en la solución de desoxi-Mb durante 10- 15 minutos. El espectro experimental se ajustó como una suma ponderada de los espectros de desoxi-Mb y de CO-Mb. Se usó la función Solver en MS Excel para calcular el

porcentaje de CO-Mb mediante deconvolución de los espectros usando patrones positivos y negativos como controles. El espectro de absorbancia se convirtió en un porcentaje de CO-Mb y la cantidad de CO liberado se calculó como equivalentes molares de CO sobre la base de la concentración inicial del compuesto 1 (véase la Figura 10).

5

Espectrometría de masas de las proteínas

Se realizó cromatografía de líquidos-espectrometría de masas (LC-MS) en un Micromass Quattro API instrument (ESI-TOF-MS) acoplado a Waters Alliance 2795 HPLC usando un MassPREP On-Line Desalting Cartridge. Se usaron agua:acetonitrilo, 95:5 (disolvente A) y acetonitrilo (disolvente B), conteniendo el disolvente A 0,1 % de ácido fórmico, como la fase móvil a un caudal de 0,3 ml min⁻¹. El gradiente se programó de la siguiente manera: 95 % de A (0,5 min isocrático) a 80 % de B después de 1,5 min, después isocrático durante 1 minuto. Después de 4 minutos a 95 % de A y, a continuación, isocrático durante 6 minutos. La fuente de electropulverización de LCT se hizo funcionar con un voltaje capilar de 3,0 kV y un voltaje de cono de 20 V. Se utilizó nitrógeno como nebulizador y gas de desolvatación a un flujo total de 600 l h⁻¹. Las proteínas normalmente eluyen entre 2 y 4 minutos usando este método. Los espectros se calibra utilizando una curva de calibración construida a partir de un mínimo de 17 picos emparejados de la serie de iones se multiplican cargada de la mioglobina equina, que también se obtuvo a un voltaje de cono de 20 V. Los espectros de masas totales se reconstruyeron a partir de la serie de iones utilizando el algoritmo MaxEnt preinstalado en el software MassLynx (v. 4.0 de Waters) de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

20

Estudios de unión de lisozima

La lisozima C de clara de huevo de gallina (código PDB 3b61; UniProtKB/Swiss-Prot código P00698). La secuencia de aminoácidos de la lisozima de clara de huevo empleada se describe en Canfield et al., J. Biol. Chem. (1963) 238:2698-2707 (1963). La determinación cuantitativa de la unión lisozima-ligando en las fases de solución y de gas por espectrometría de masas - ionización por electropulverización sigue Veros et al., Rapid Commun. Mass Spectrom. (2007) 21:3505-3510). Todas las manipulaciones se llevaron a cabo a temperatura ambiente. La lisozima liofilizada (2 mg, 0,14 μmol) se disolvió en 1 ml de agua en un tubo de plástico de 1,5 ml. La muestra se dividió en alícuotas de 150 μl (0,3 mg, 0,02 mol) y se almacenó a 4 °C. Una alícuota de 50 μl se analizó mediante LC-MS (masa isotópica promedio calculada de la lisozima de clara de huevo = 14305,1).

25

30

Santos-Silva et al., han descrito anteriormente reactividad de CORM-3 hacia las proteínas y la formación de un complejo de dicarbonil Ru (II)-lisozima (véase, por ejemplo, Santos-Silva et al., J. Am. Chem. Soc. (2011) 133:1192-1195). Una solución de CORM-3 o el compuesto 1 (10 equivalentes, 0,2 μmol) en agua (50 μl) (en esta concentración el pH de la solución que contiene CORM-3 es 3,0 y el compuesto 1 4,0) se añadió por micropipeta a la solución de lisozima (150 μl) y la mezcla de reacción se agitó con vórtex periódicamente durante 1 minuto. El tubo se dejó agitar durante 1 hora. Se recogieron alícuotas de 50 μl y se analizaron mediante LC-MS durante el tiempo de reacción (10 minutos y 1 hora). Se detectaron dos especies de proteínas, uno correspondiente a la masa de la lisozima nativa (14305 = masa calculada) y otra correspondiente a la adición de una unidad de RuCO₂⁺ (m/z 157,9) a la masa de lisozima (14463 = masa calculada). Después de 1 hora, las moléculas pequeñas se eliminaron de la mezcla de reacción mediante la carga de la muestra en una columna de desalado PD10 (GE Healthcare) equilibrada previamente con 10 volúmenes de columna de agua desionizada y eluyendo con 3,50 ml de agua desionizada. La muestra recogida (ahora diluida a 0,57 mg / ml) se analizó mediante LC-MS en diez minutos y 1 hora a temperatura ambiente, véase, *por ejemplo*, ESI-MS de lisozima cuando se incubaba con CORM-3 en 10 minutos (Figura 11b) y 1 hora (Figura 11c) y ESI-MS de lisozima cuando se incubaba con el compuesto 1 a los 10 minutos (Figura 11d) y 1 hora (Figura 11e).

35

40

45

Preparación de tricarbonildicloro (tiogalactopiranósido)rutenio(II) (compuesto 1)

50

El dímero de diclorotricarbonilrutenio (II) dímero (0,52 g, 1,02 mmol) se disolvió en metanol anhidro (30 ml) y se transfirió mediante una cánula a una solución de β-D-tiogalactopiranósido (0,42 g, 2,04 mmol) en metanol anhidro (30 ml). Se formó una solución transparente de color amarillo ligeramente claro y se agitó durante 24 horas a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno.

55

La solución se concentró y se añadió éter dietílico. El precipitado blanco se filtró, se lavó con éter dietílico (3 x 30 ml), y se secó. El residuo se disolvió parcialmente en éter dietílico y se congeló en nitrógeno líquido. El sólido se trituró y se agitó. Se formó un polvo blanco y se filtró y se secó para dar tricarbonildicloro(tiogalactopiranósido) rutenio (II) (348 mg, 73 %); El producto se almacenó en nitrógeno; ν_{\max} (disco de KBr cm⁻¹) 2139 (s, C=O) 2060 (s, C=O) cm⁻¹; δ_{H} (400 MHz, D₂O) 2,23 (3H, s, CH₃), 3,58-75 (6H, m), 4,38 (1H, d, J=9,2 Hz, H-1); Encontrado: C, 25,81 %, H, 2,94 %, S, 6,80 %. C₁₀H₁₄Cl₂O₈RuS Requiere: C, 25,76 %, H, 3,03 %, S, 6,88 %.

60

Otras realizaciones

Lo anterior ha sido una descripción de determinadas realizaciones no limitantes de la invención. Los expertos en la materia apreciarán que se pueden realizar varios cambios y modificaciones a esta descripción sin apartarse del

65

espíritu o alcance de la presente invención, como se define en las siguientes reivindicaciones.

LISTADO DE SECUENCIAS

- 5 <110> Alfama, Inc.
< 120 > Moléculas liberadoras de monóxido de carbono rutenio carbono rutenio y usos de las mismas
<130> JXC/FP6957682
- 10 <140> EP 12815454.9
<141> 20/07/2012
<150> PCT/US2012/047661
15 <151> 20/07/2012
<150> US 61/510.136
<151> 21/07/2011
- 20 <160> 12
<170> PatentIn versión 3.5
<210> 1
25 <211> 2
<212> ADN
<213> Secuencia artificial
<220>
30 <223>Oligonucleótido sintético
<400> 1
gttgatata gccagactt tggg 25
- 35 <210>2
<211> 26
<212> ADN
<213> Secuencia artificial
- 40 <220>
<223>Oligonucleótido sintético
<400> 2
45 gattcaacct tgcgctcatc ttaggc 26
<210>3
<211> 17
<212> ADN
<213> Secuencia artificial
- 50 <220>
<223>Oligonucleótido sintético
<400>3
55 tctcaggggg tcaggtc 17
<210>4
<211> 18
<212> ADN
60 <213> Secuencia artificial
<220>
<223>Oligonucleótido sintético
- 65 <400> 4
ggagcgggtg ctgggatg 18

<210>5
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400> 5
 10 aagcattaa taaagcgaat acatccttac
 <210>6
 <211> 25
 <212> ADN
 15 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 20 <400> 6
 ggagattggt tttgacgttt atgtg 25
 <210>7
 <211> 20
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223>-Oligonucleótido sintético
 30 <400> 7
 tgctcgagat gtgatgaagg 20
 <210>8
 <211> 20
 35 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 40 <223>Oligonucleótido sintético
 <400>8
 tcccctgttg actggtcatt 20
 45 <210>9
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 50 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400> 9
 55 cactgcat ctggcttg 20
 <210> 10
 <211> 20
 <212> ADN
 60 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223>Oligonucleótido sintético
 <400> 10
 65 tctggctctg caggatttc 20

ES 2 628 634 T3

5 <210> 11
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223>Oligonucleótido sintético

10 <400> 11
cgaagtggt tctctgagc 20

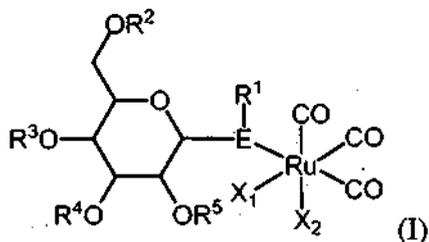
15 <210> 12
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223>Oligonucleótido sintético

20 <400> 12
gtctgctgag accccttg 20

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I):



5

o una sal, un isómero, un hidrato o un solvato del mismo o una combinación de los mismos; en la que:

10 E es-S- o -Se-;
 R¹ es hidrógeno o alquilo C₁₋₆;
 cada uno de R², R³, R⁴ y R⁵ es, independientemente, hidrógeno, un grupo carbohidrato o un grupo protector de oxígeno; y
 X₁ y X₂ son cada uno, independientemente, halógeno.

15 2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que E es -S-.

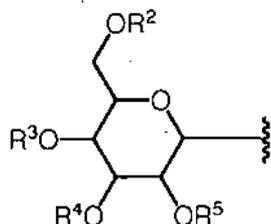
3. El compuesto de las reivindicaciones 1-2, en el que R¹ es -CH₃.

20 4. El compuesto de las reivindicaciones 1-3, en el que cada uno de R², R³, R⁴ y R⁵ es hidrógeno.

20

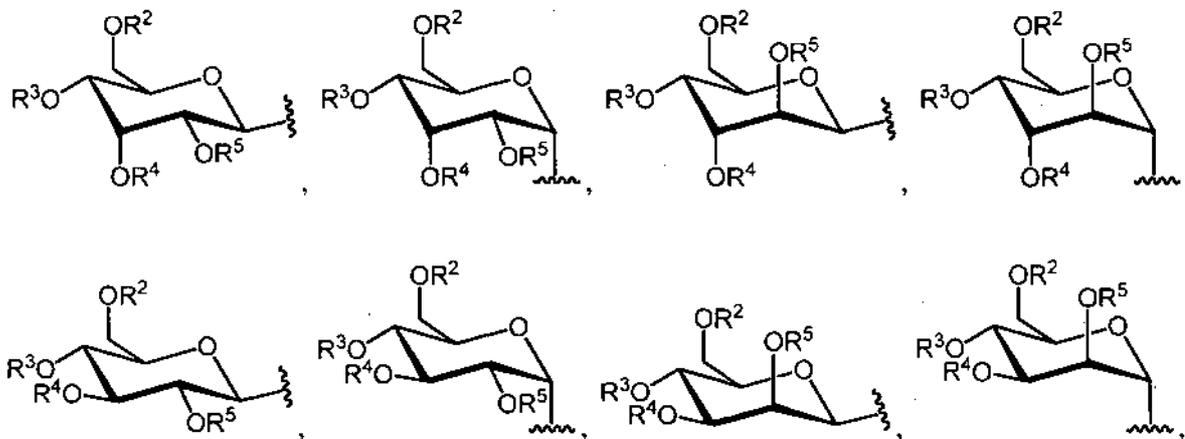
5. El compuesto de las reivindicaciones 1-4, en el que X₁ y X₂ son cada uno -Cl.

6. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el sustituyente:

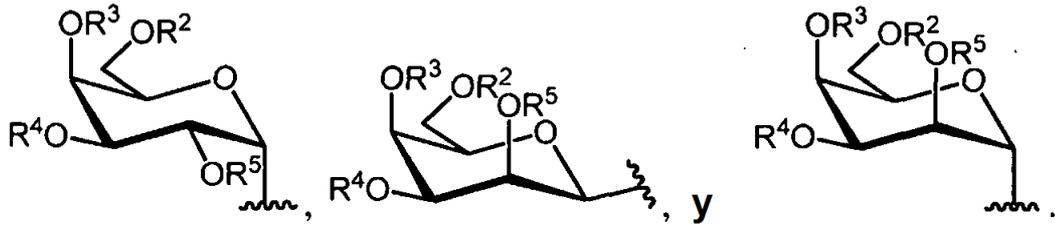
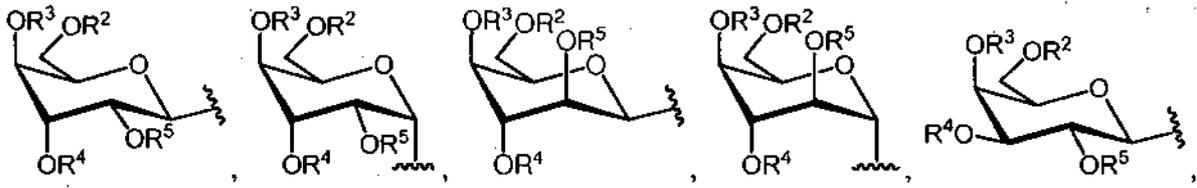


25

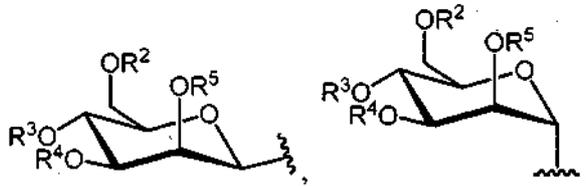
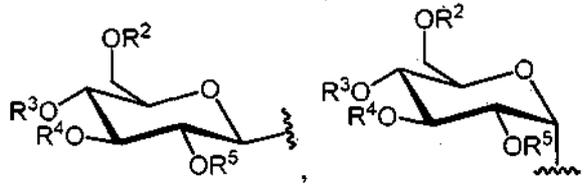
es un estereoisómero seleccionado de entre el grupo que consiste en:



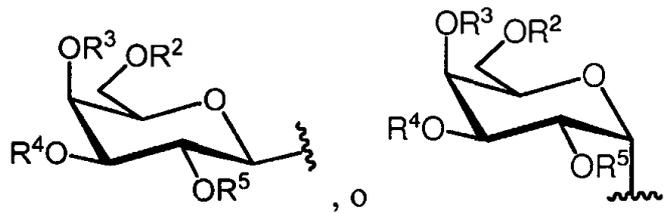
30



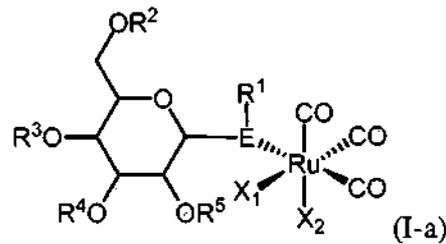
7. El compuesto de la reivindicación 5, en el que el sustituyente es:



5



8. El compuesto de la reivindicación 1, en donde el compuesto es un estereoisómero de fórmula (I-a):

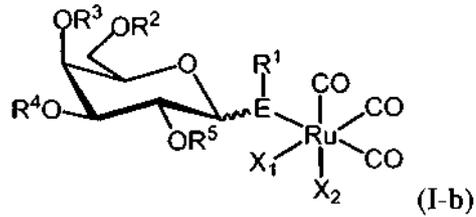


10

o una sal, un isómero, un hidrato o un solvato del mismo o una combinación de los mismos.

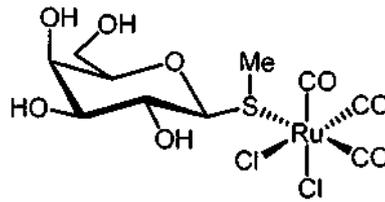
9. El compuesto de la reivindicación 1, en donde el compuesto es un estereoisómero de fórmula (I-b):

15

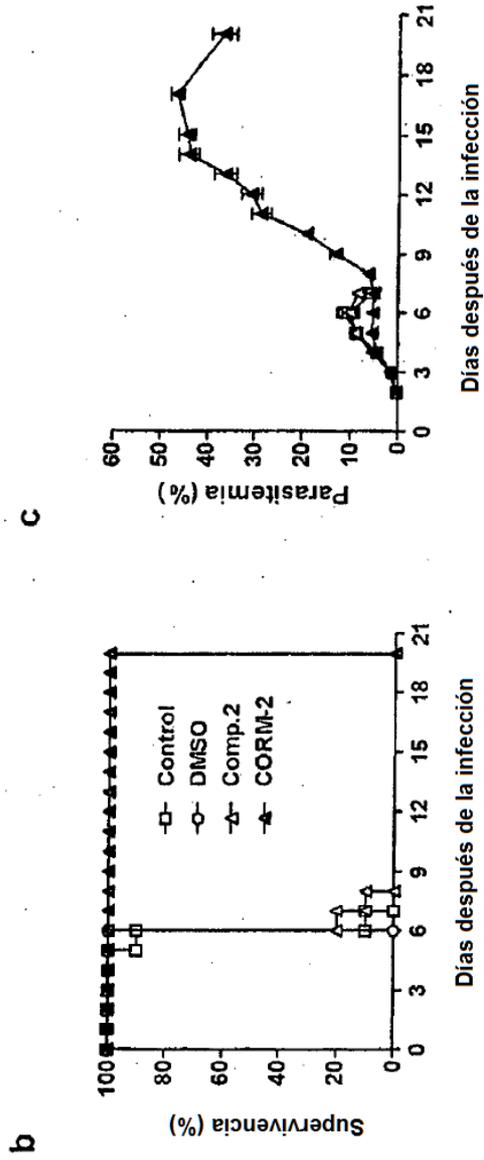
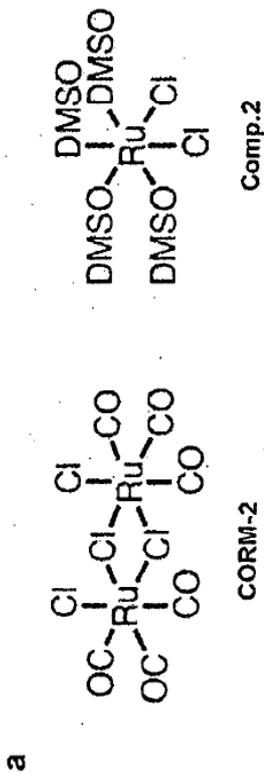


o una sal, un isómero, un hidrato o un solvato del mismo o una combinación de los mismos.

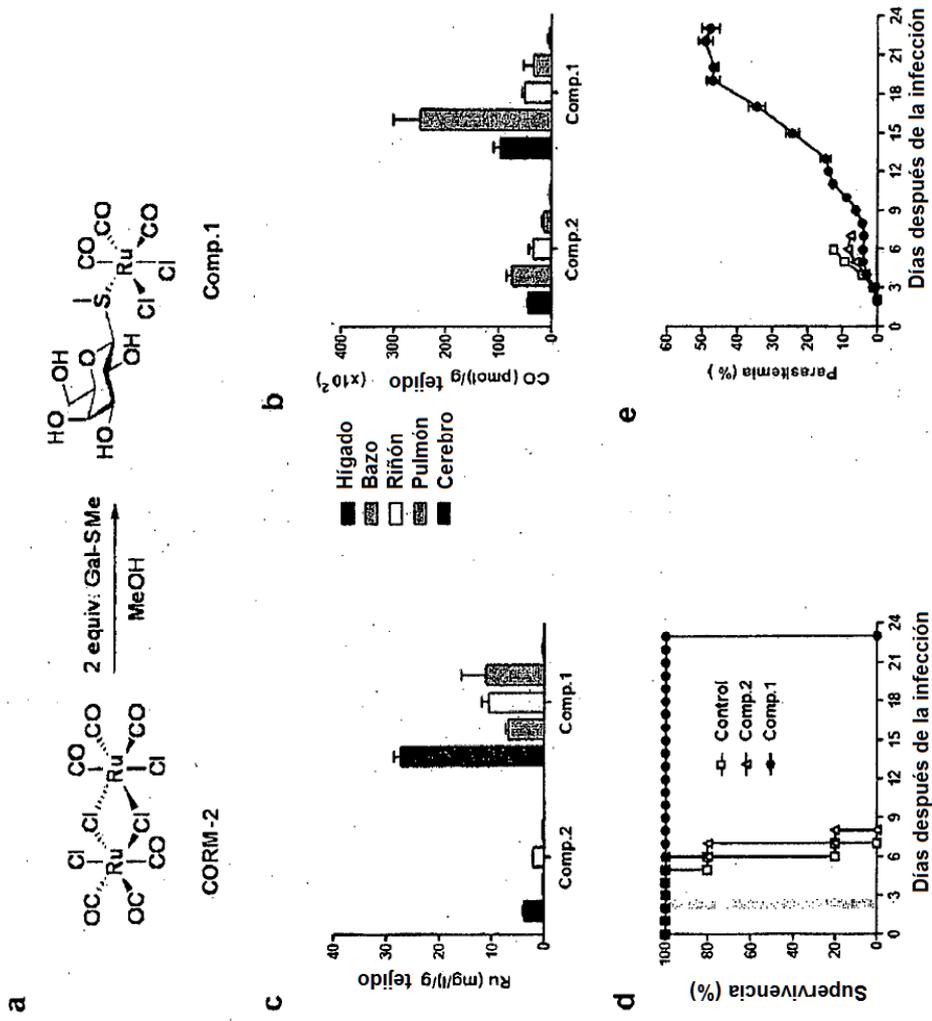
- 5 10. El compuesto de la reivindicación 1, en donde el compuesto es:



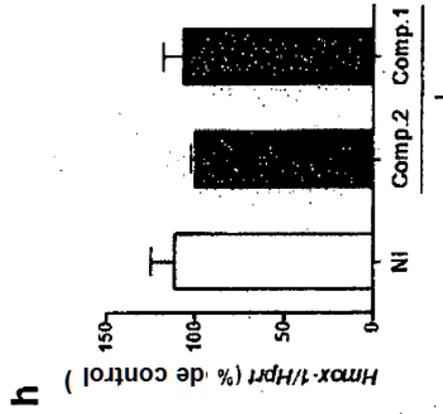
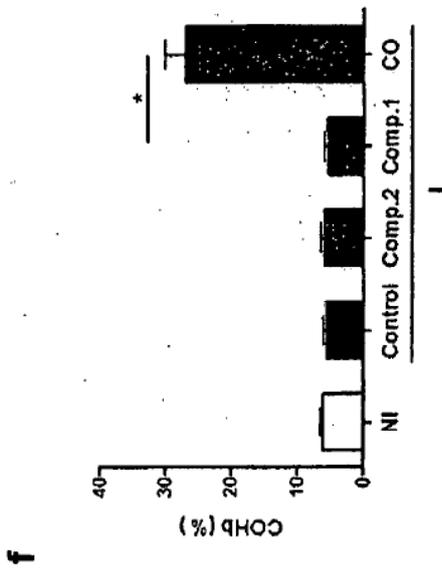
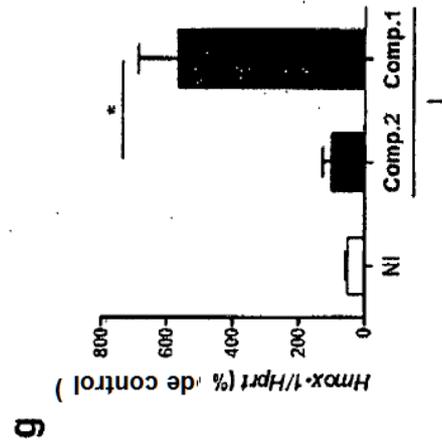
- 10 11. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, o una sal, un isómero, un hidrato o un solvato del mismo o una combinación de los mismos, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 15 12. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, o una sal, un isómero, un hidrato o un solvato del mismo o una combinación de los mismos, para su uso en el tratamiento de la infección de paludismo.
13. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, o una sal, un isómero, un hidrato o un solvato del mismo o una combinación de los mismos, para su uso en el tratamiento de la lesión pulmonar aguda.
- 20 14. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, para su uso en el tratamiento del síndrome de dificultad respiratoria aguda.



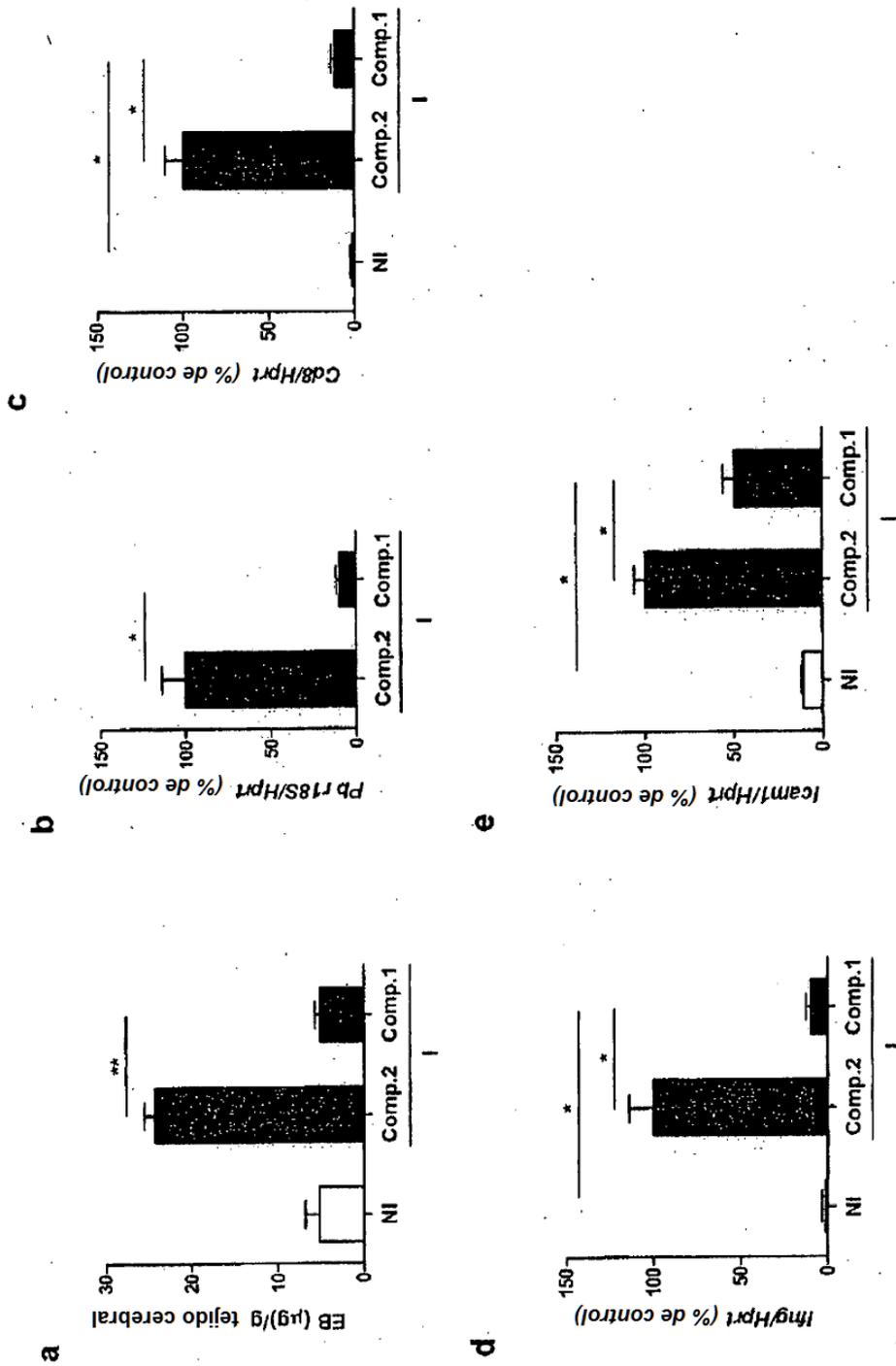
Figuras 1a-1c



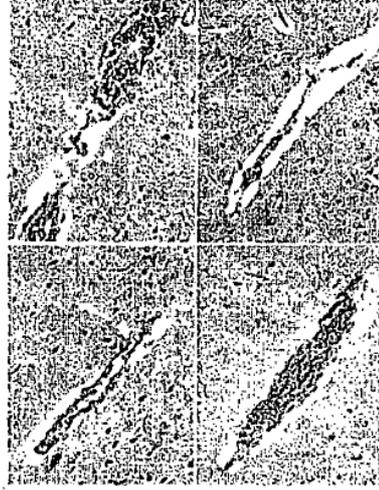
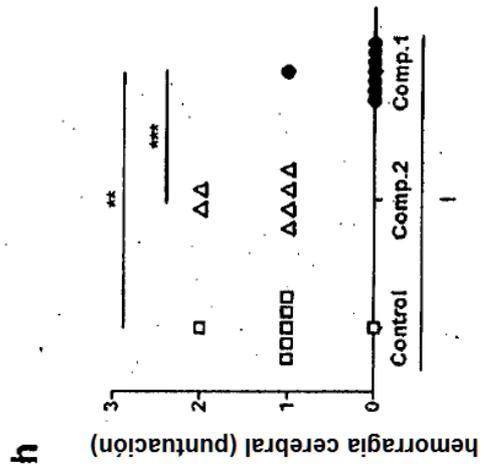
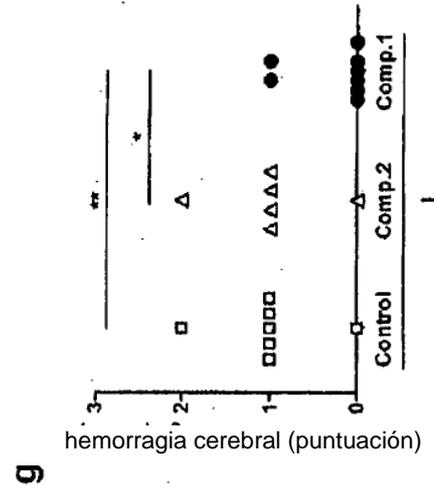
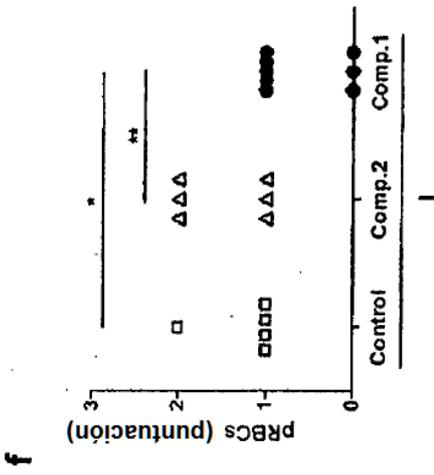
Figuras 2a-2e



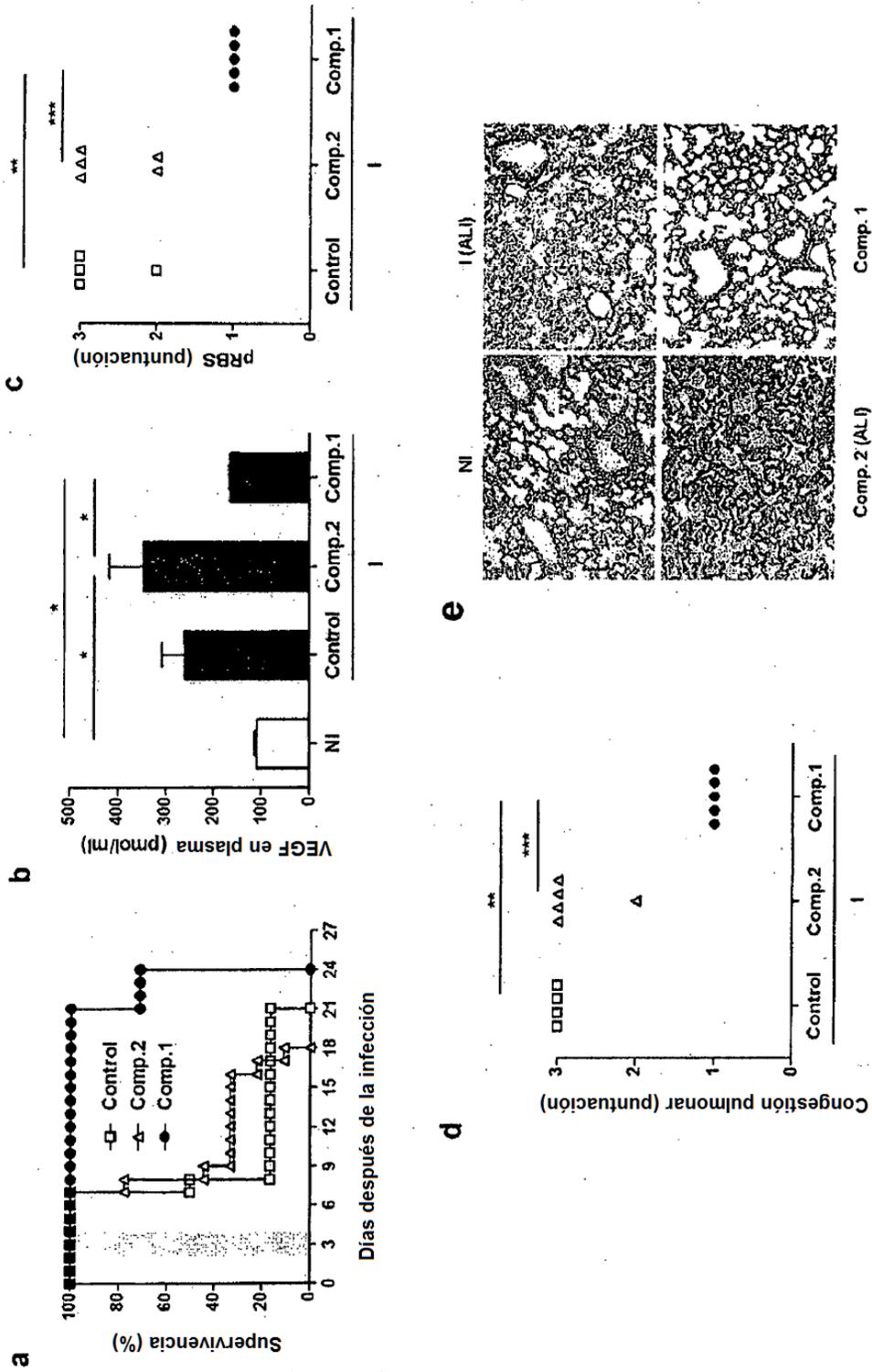
Figuras 2f-2h



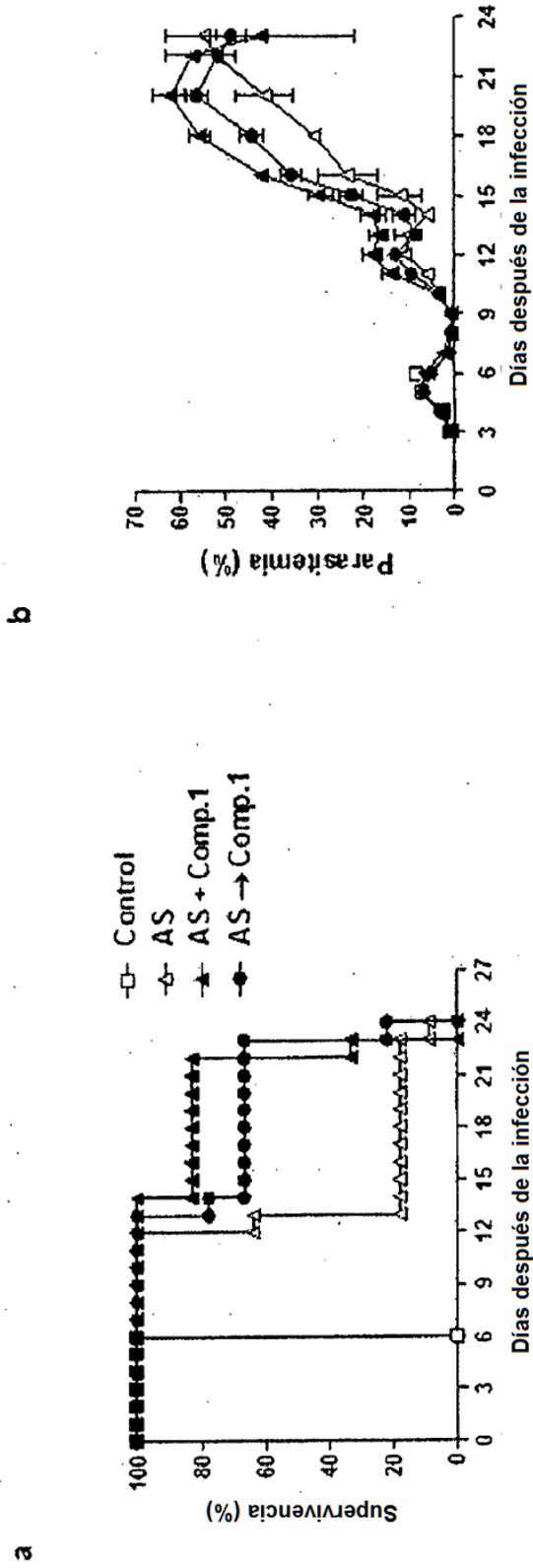
Figuras 3a-3e



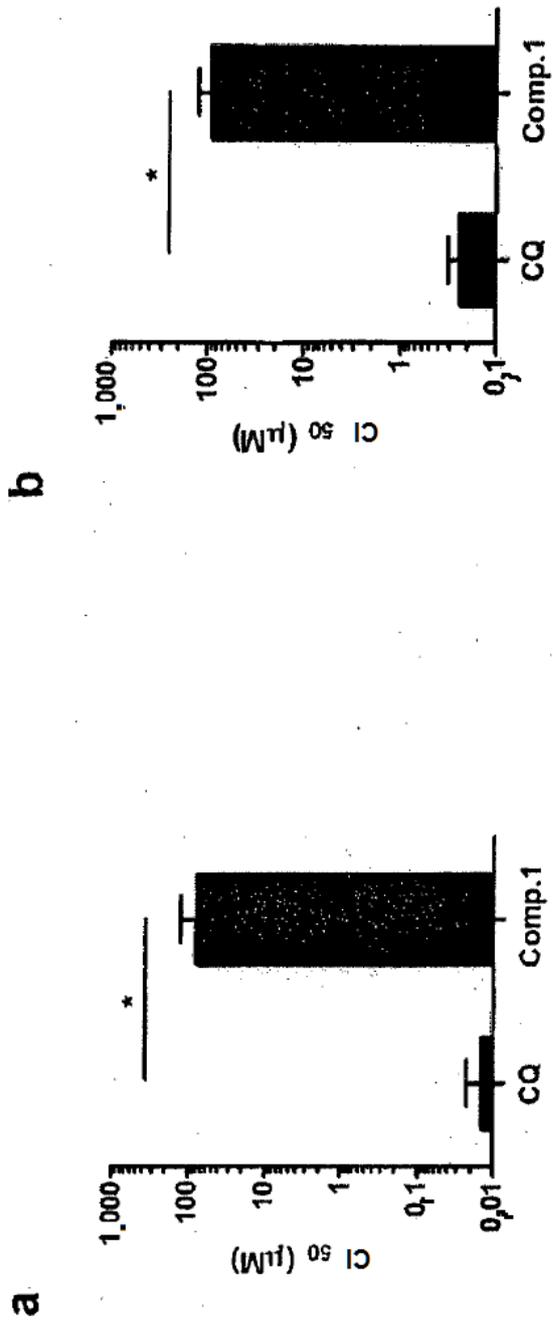
Figuras 3f-3i



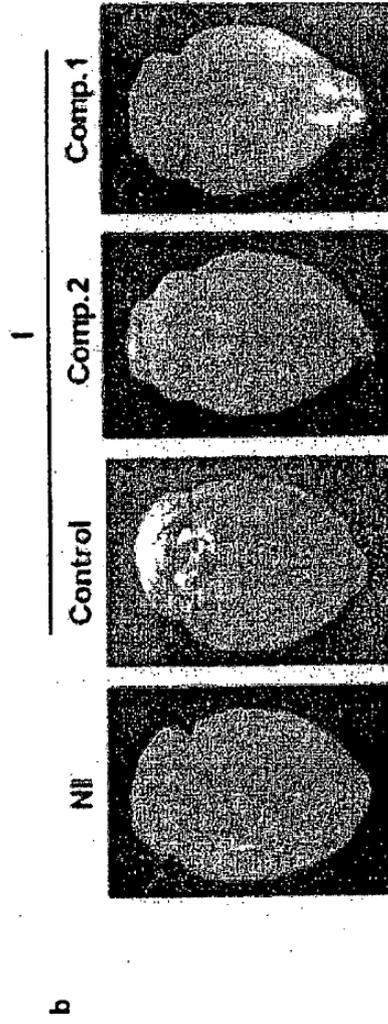
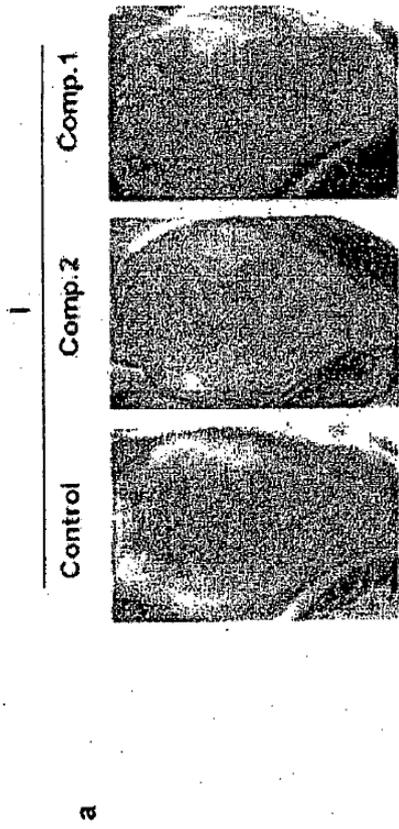
Figuras 4a-4e



Figuras 5a-5b



Figuras 6a-6b



Figuras 7a-7b

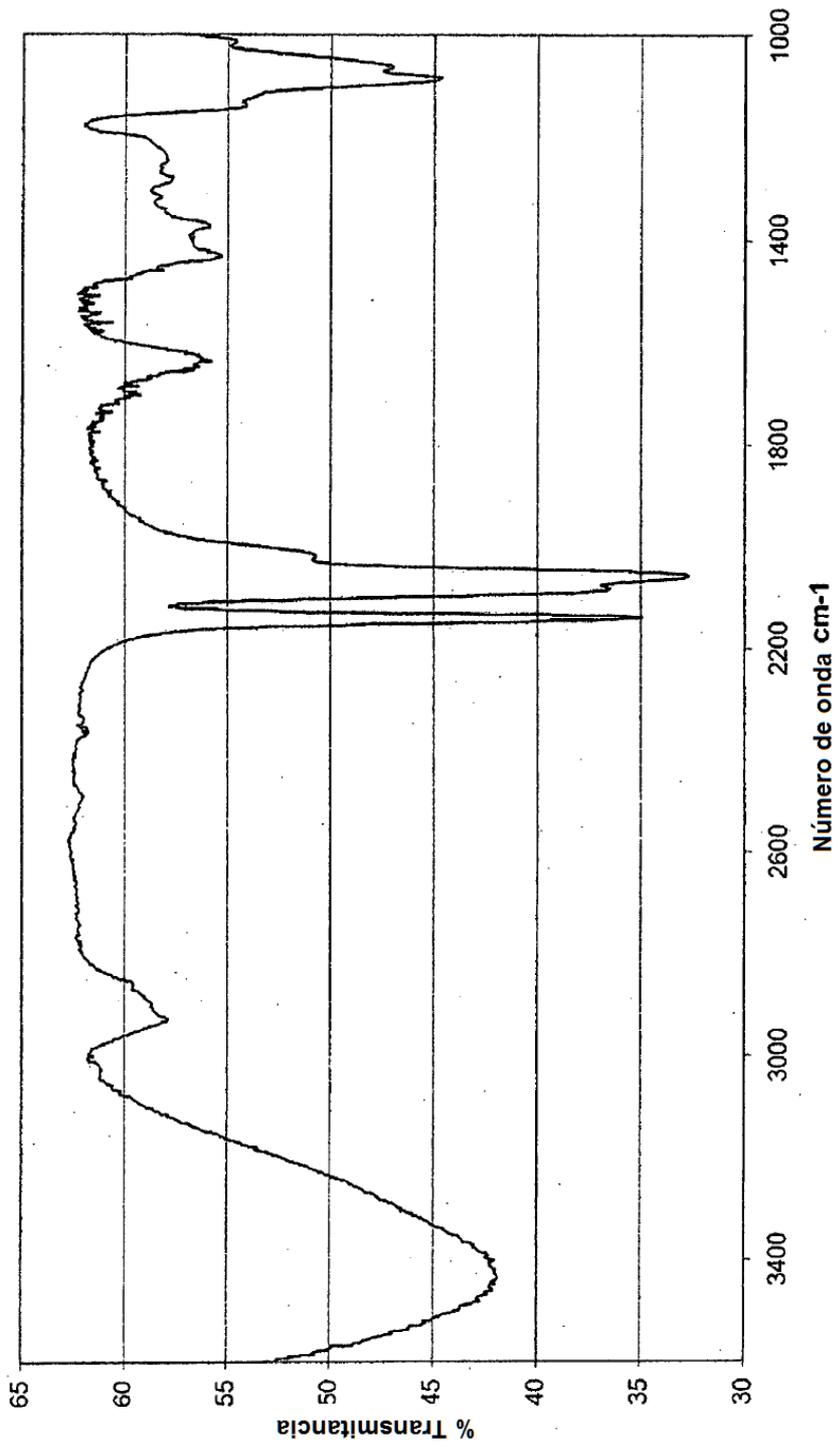


Figura 8

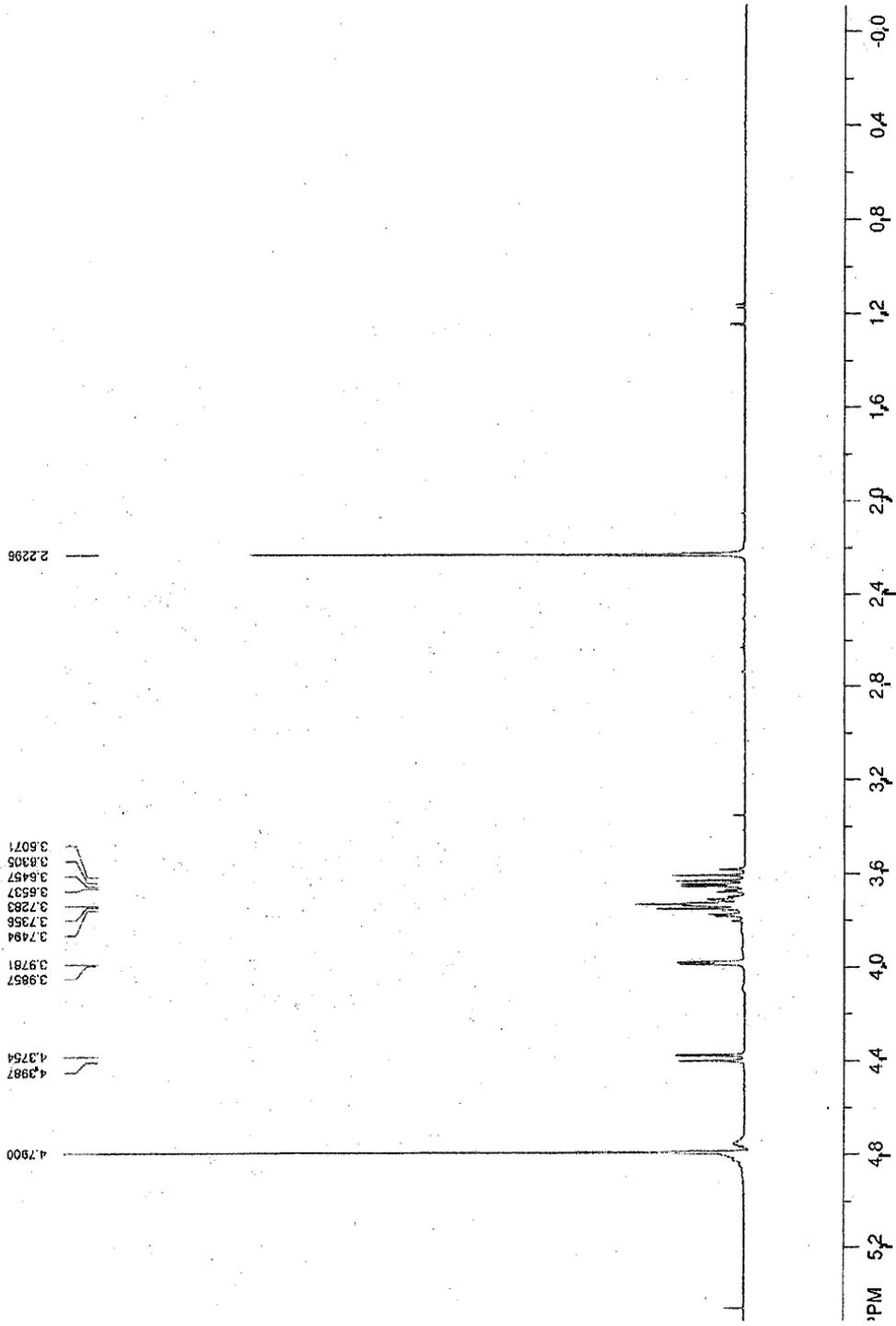


Figura 9

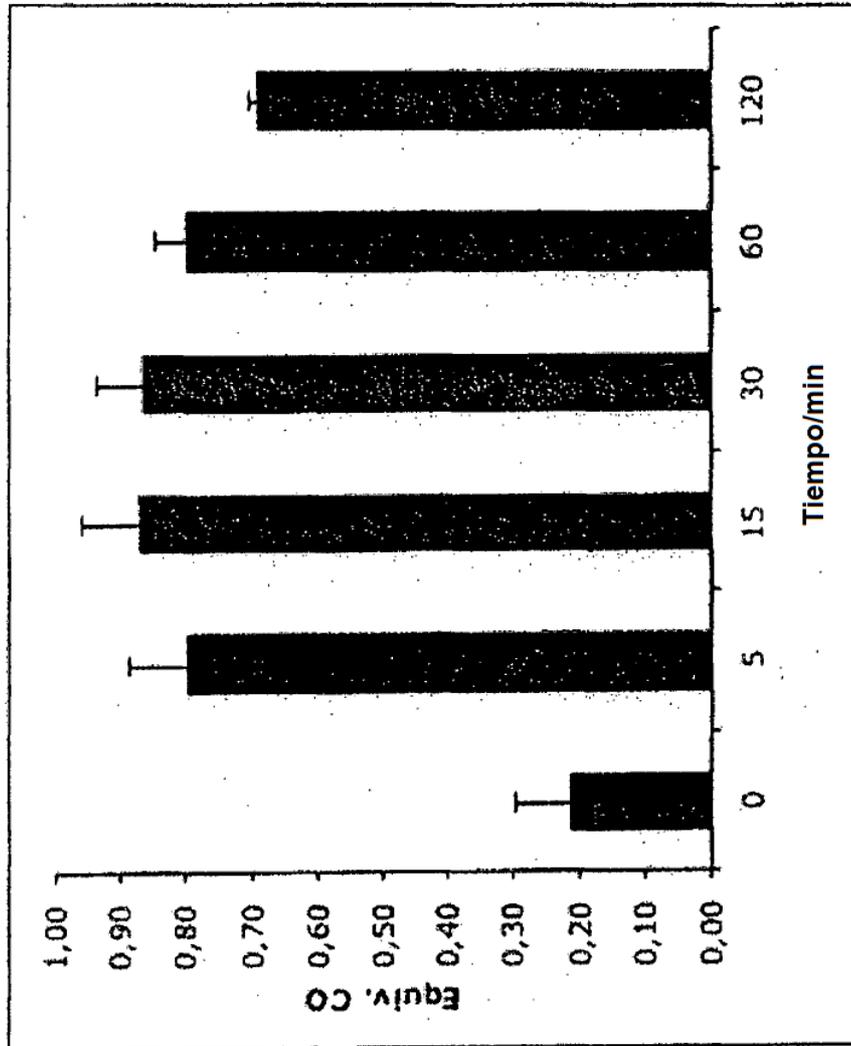


Figura 10

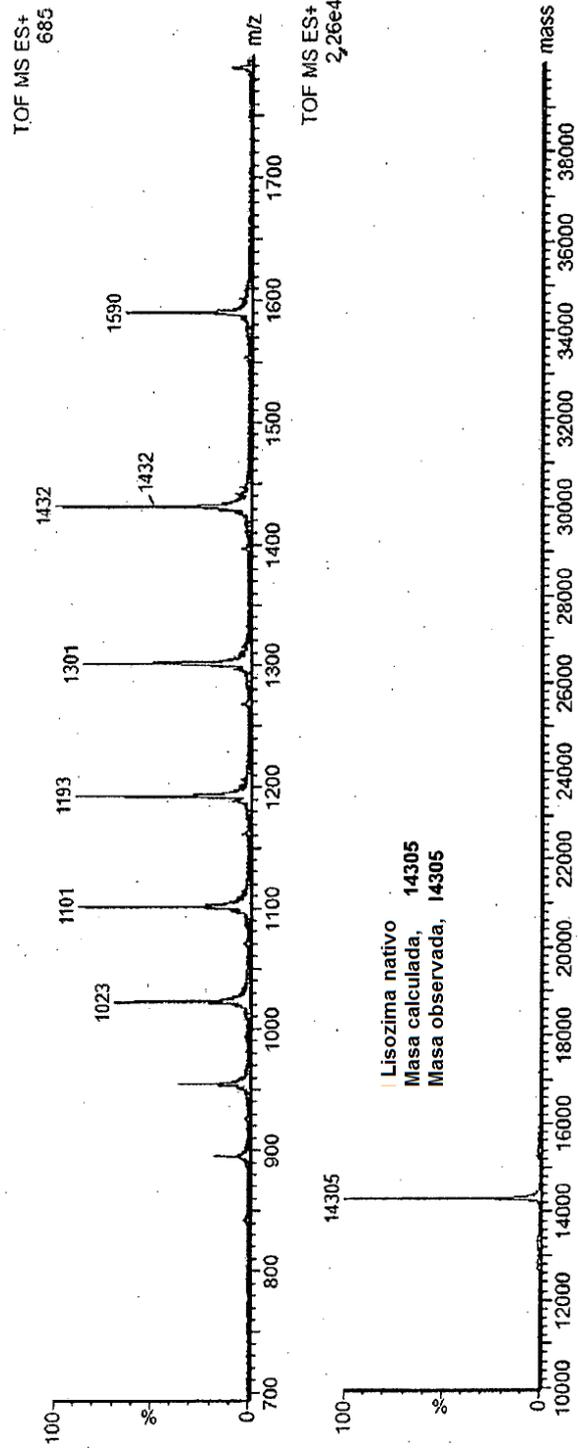


Figura 11a

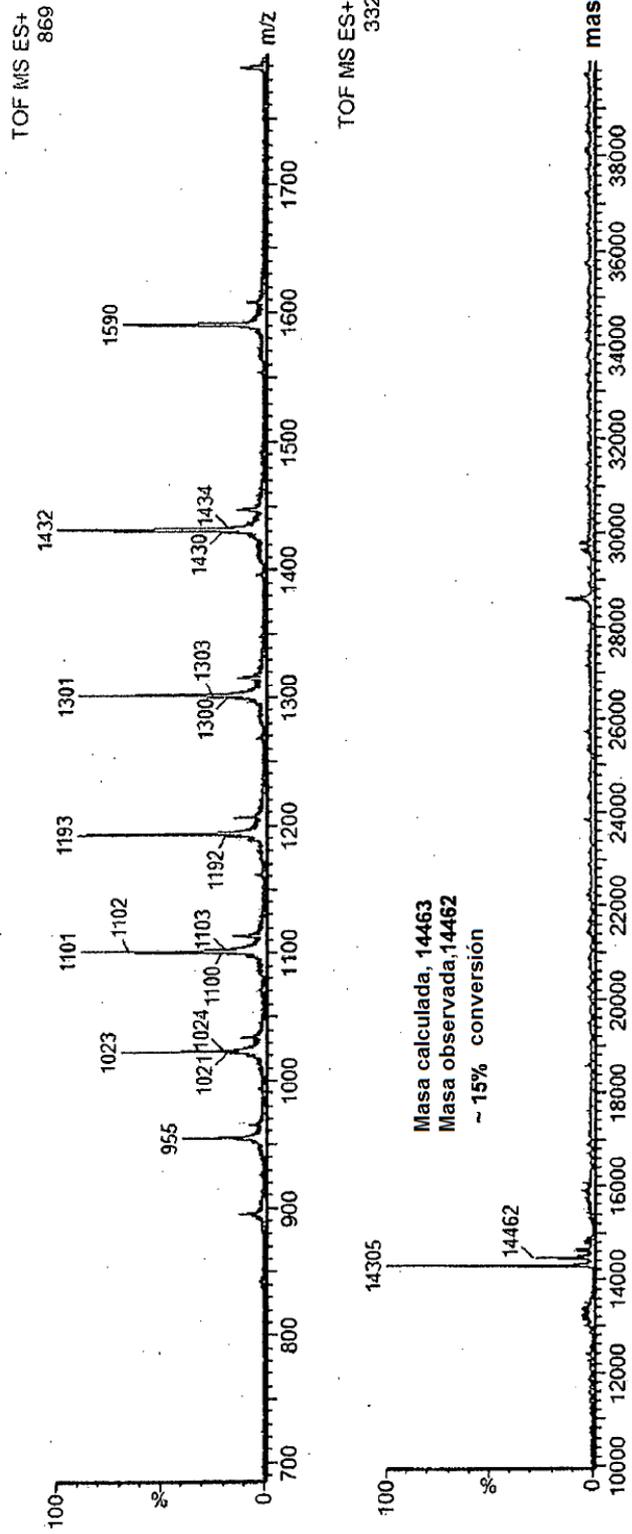


Figura 11b

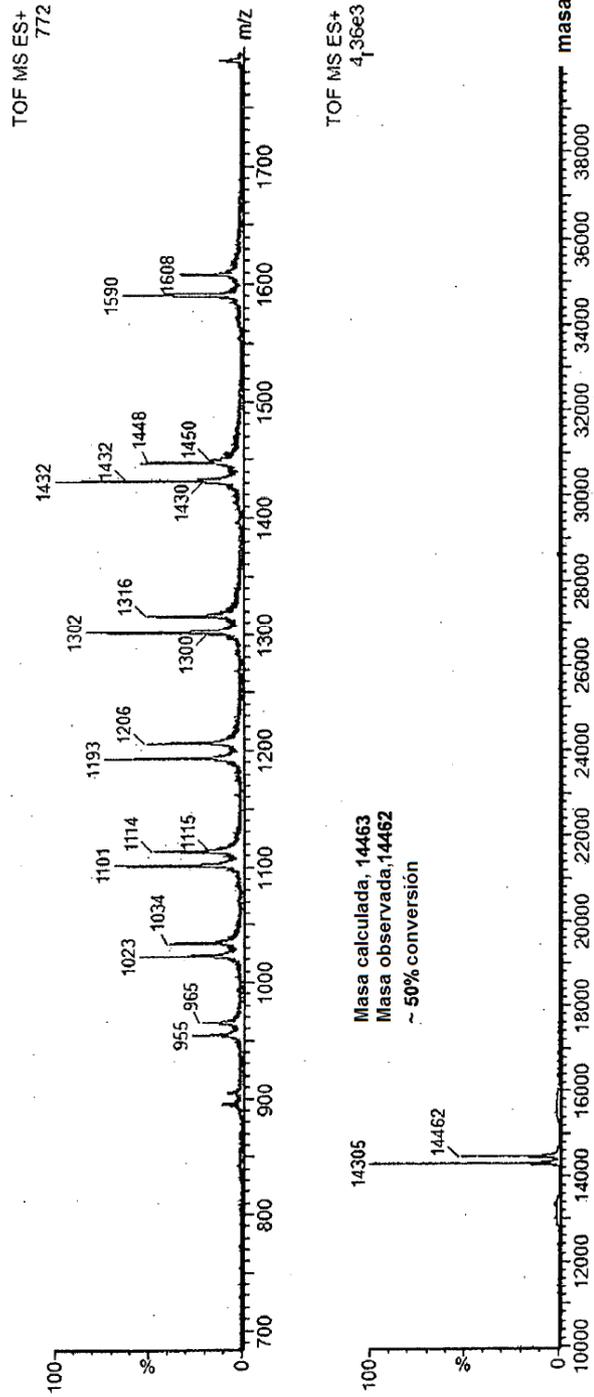


Figura 11c

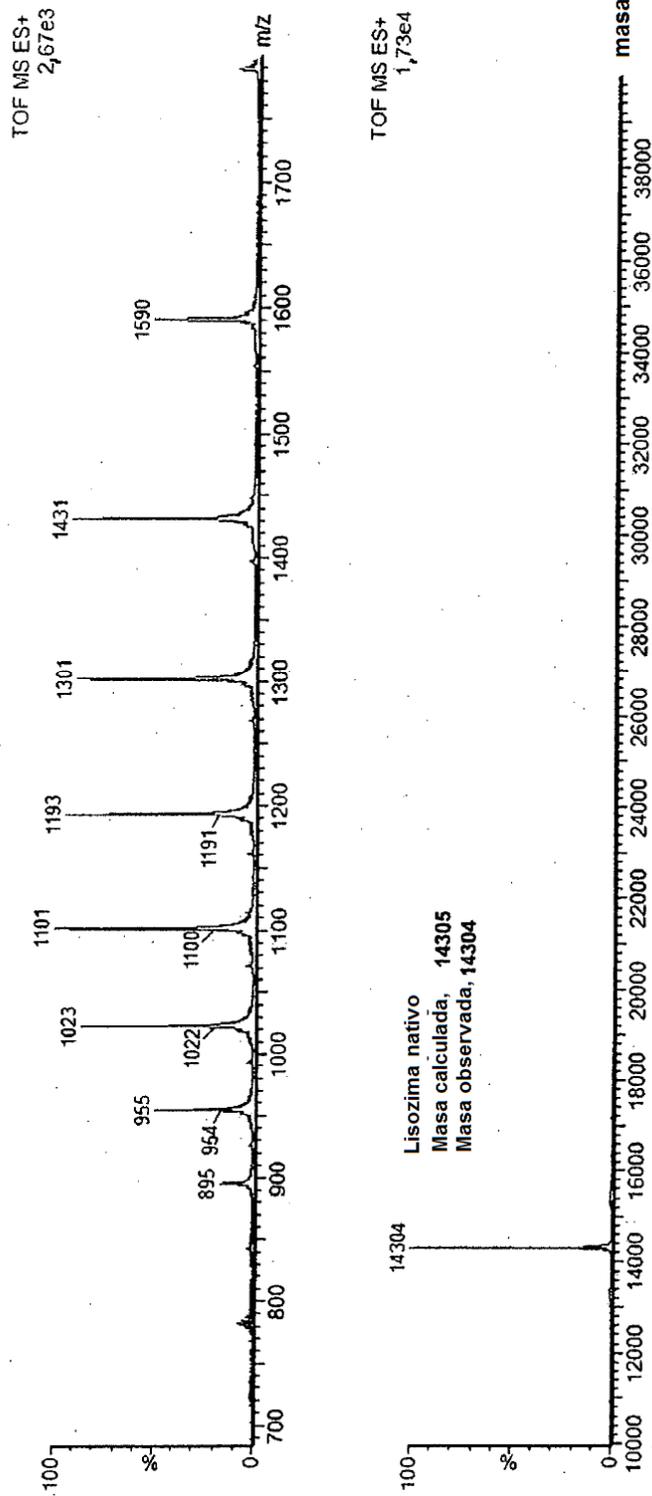


Figura 11d

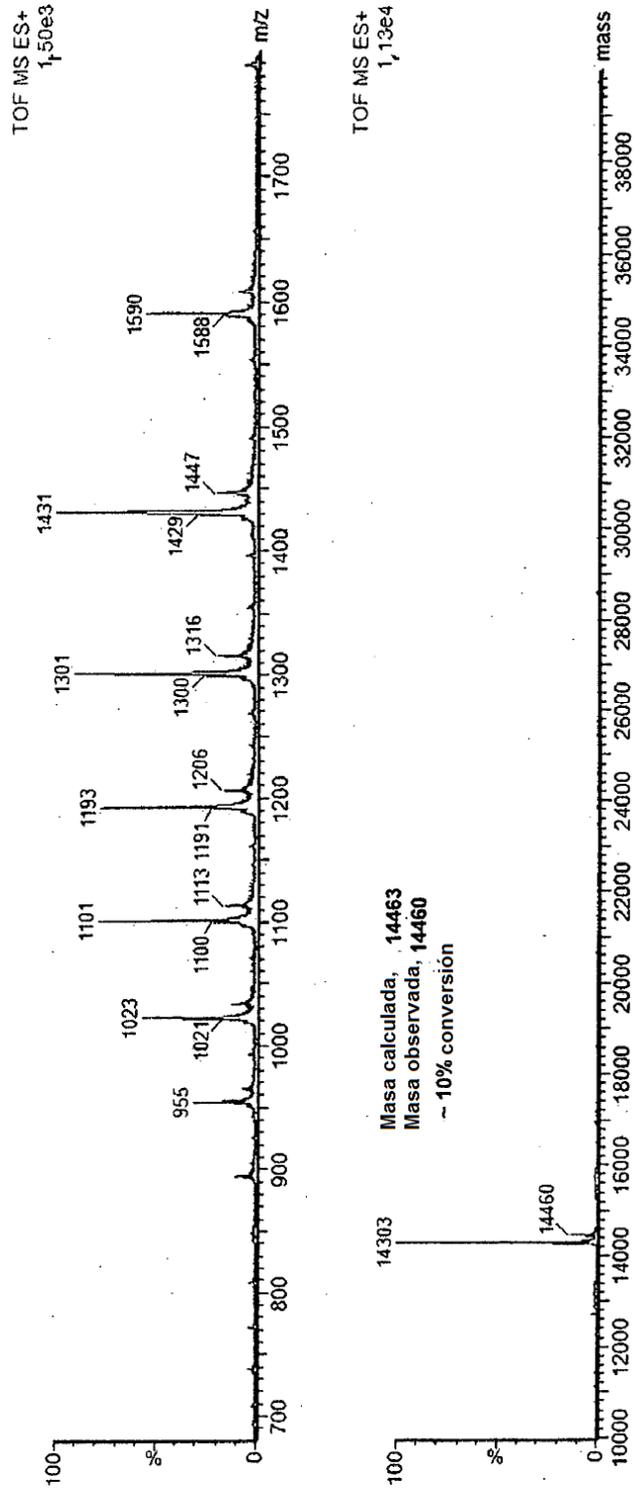


Figura 11e

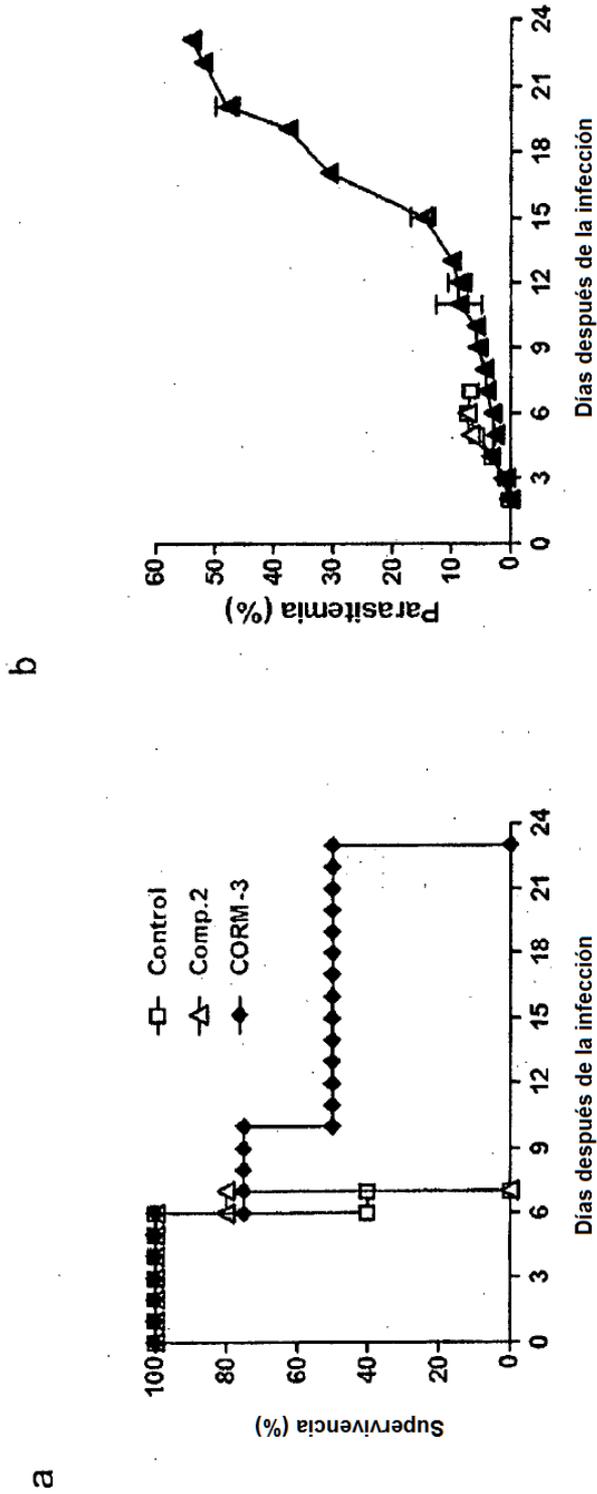


Figura 12