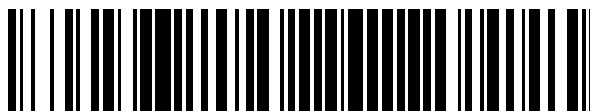


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 656 237**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/555** (2006.01)

**A61K 33/00** (2006.01)

**C07F 11/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.04.2012 PCT/US2012/034264**

87 Fecha y número de publicación internacional: **26.10.2012 WO12145520**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.04.2012 E 12774004 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.11.2017 EP 2699242**

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

30 Prioridad:

**19.04.2011 US 201161477036 P**

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

**26.02.2018**

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**BLÄTTLER, WALTER, ANTON;  
ROMÃO, CARLOS, J. R. C.;  
RODRIGUES, SANDRA, SOFIA PEREIRA;  
KROMER, LUKAS, ADRIAN;  
OTTERBEIN, LEO, EDMOND y  
GALLO, DAVID, JOHN**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

**ES 2 656 237 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 y usos de las mismas

**5 Campo de la invención**

La presente descripción se refiere a moléculas liberadoras de monóxido de carbono (CO-RM) y usos de las mismas para tratar enfermedades hepáticas y afecciones inflamatorias.

**10 Antecedentes de la invención**

El monóxido de carbono (CO) es la toxina ambiental más comúnmente encontrada. Paradójicamente, hace más de medio siglo, se descubrió que el monóxido de carbono se forma constantemente en los humanos en pequeñas cantidades, y que bajo ciertas condiciones fisiopatológicas esta producción endógena de monóxido de carbono puede aumentar (Sjostrand, Scan J Clin Lab Invest. (1949) 1: 201-214). Por lo tanto, aunque se sabe desde hace mucho tiempo que el monóxido de carbono se genera en el cuerpo humano, solo en los últimos años los científicos han comenzado a explorar las posibles actividades biológicas de esta molécula gaseosa. La principal fuente endógena de monóxido de carbono es la hemooxigenasa, que existe en isoformas constitutivas (HO-2 y HO-3) e inducibles (HO-1). Hemo sirve como sustrato para HO-1 y HO-2 en la formación de monóxido de carbono, hierro ferroso libre y biliverdina, ésta última se convierte rápidamente en bilirrubina por la biliverdina reductasa (véase, por ejemplo, Maines, Annu Rev Pharmacol Toxicol. (1997) 37:517-554). En general, se cree que HO-1 representa un sistema defensivo inducible pivotal contra estímulos estresantes, incluyendo radiación UVA, carcinógenos, daño por isquemia-reperusión, choque endotóxico, y varias afecciones diferentes caracterizadas por la producción de radicales libres derivados de oxígeno (véase, por ejemplo, Abraham et al., Cell Physiol Biochem. (1996) 6: 129-168). Como parte de sus acciones fisiológicas y citoprotectoras, el monóxido de carbono derivado de hemo oxigenasa parece desempeñar un papel principal como neurotransmisor, regulador del tono sinusoidal, inhibidor de la agregación plaquetaria, y supresor de respuestas hipertensivas agudas. El monóxido de carbono aplicado exógenamente ha sido un procedimiento experimental muy útil para revelar los efectos beneficiosos del monóxido de carbono en modelos de enfermedades animales (véanse, por ejemplo, los documentos US 2002155166, US 2003039638, US 2003219496, US 2003219497, US 2004052866, WO 03/103585, WO 04/043341). Por lo tanto, los hallazgos consistentes revelan una serie de funciones celulares importantes que respaldan un papel versátil para el monóxido de carbono.

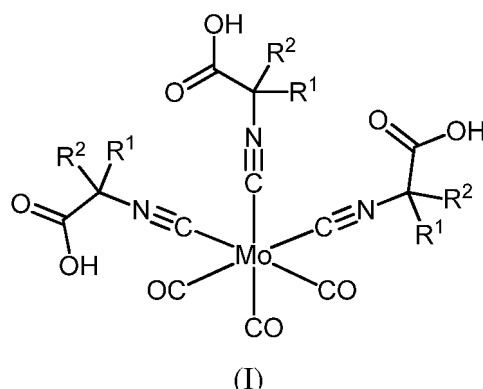
La administración de monóxido de carbono por inhalación no es práctica para aplicaciones clínicas, ya que requiere dispositivos de administración especiales tales como ventiladores, máscaras faciales, carpas o inhaladores portátiles. Además, la administración de monóxido de carbono a las dianas terapéuticas por inhalación es ineficaz, ya que implica el transporte de monóxido de carbono por la hemoglobina. La hemoglobina se une al monóxido de carbono de manera reversible, pero con una afinidad muy alta. Por lo tanto, las dosis requeridas para administrar monóxido de carbono a dianas terapéuticas en tejidos enfermos probablemente están asociadas a efectos adversos. Las moléculas liberadoras de monóxido de carbono (CO-RM) son una alternativa terapéutica potencial que puede administrar monóxido de carbono directamente a dianas terapéuticas sin la formación de complejos intermedios de CO-hemoglobina (véase, por ejemplo, Johnson et al., Angew Chem Int Ed Engl (2003) 42:3722-3729). Por lo general, se reconocen las ventajas de la administración de monóxido de carbono por CO-RM sobre la administración de monóxido de carbono por inhalación. Sin embargo, las CO-RM deben ser capaces de administrar monóxido de carbono selectivamente a los tejidos enfermos. La identificación de las CO-RM que son más adecuadas para el tratamiento de una enfermedad en particular sigue siendo un gran desafío para el desarrollo de CO-RM. Por lo tanto, sigue existiendo la necesidad de CO-RM que, tras la administración in vivo, se dirijan selectivamente a una enfermedad u órgano particular con beneficio terapéutico.

El documento US 2010/0196516 describe el uso de monóxido de carbono para tratar infecciones y también describe moléculas liberadoras de monóxido de carbono a base de molibdeno.

**Sumario de la Invención**

La presente solicitud proporciona compuestos de CO-RM de molibdeno de la invención, composiciones farmacéuticas de los mismos, y métodos de preparación, uso y tratamiento.

En un aspecto, se proporciona un compuesto de la fórmula (I):



o una sal, éster, amida, solvato o hidrato del mismo, o una combinación del mismo, en la que:  
 5 cada caso de  $R^1$  es independientemente hidrógeno, un alquilo  $C_{1-3}$  sin sustituir, o un alquilo  $C_{1-3}$  sustituido con  $-CO_2R^{A1}$  o  $-C(=O)N(R^{A1})_2$ , en la que cada caso de  $R^{A1}$  es independientemente hidrógeno o alquilo  $C_{1-10}$ ;  
 cada caso de  $R^2$  es independientemente hidrógeno, un alquilo  $C_{1-3}$  sin sustituir, o un alquilo  $C_{1-3}$  sustituido con  $-CO_2R^{A2}$  o  $-C(=O)N(R^{A2})_2$ , en la que cada caso de  $R^{A2}$  es independientemente hidrógeno o alquilo  $C_{1-10}$ ;  
 con la condición de que cada caso de  $R^1$  y  $R^2$  unidos al mismo carbono no sea ninguno hidrógeno;  
 10 en la que un éster de un compuesto de Fórmula (I) es un compuesto en el que uno o más átomos de hidrógeno de ácido de los grupos de ácido carboxílico en la molécula se reemplazan con un grupo alquilo  $C_{1-10}$ ;  
 y una amida de un compuesto de Fórmula (I) es un compuesto en la que uno o más de los grupos  $-OH$  de los grupos de ácido carboxílico en la molécula se reemplazan con un grupo seleccionado de amino, alquil  $C_{1-10}$  amino, y dialquil  $C_{1-10}$  amino.

15 En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^2$  es hidrógeno. En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^2$  es hidrógeno y cada caso de  $R^1$  es independientemente un alquilo  $C_{1-3}$  sustituir o un alquilo  $C_{1-3}$  sustituido con  $-CO_2R^{A1}$  o  $-C(=O)N(R^{A1})_2$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^1$  es independientemente un alquilo  $C_{1-3}$  sin sustituir. En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^1$  es alquilo  $C_{1-3}$  sustituido con  $-CO_2R^A$ .

20 En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^2$  es independientemente un alquilo  $C_{1-3}$  sin sustituir o un alquilo  $C_{1-3}$  sustituido con  $-CO_2R^{A2}$  o  $-C(=O)N(R^{A2})_2$ , y cada caso de  $R^1$  es independientemente un alquilo  $C_{1-3}$  sin sustituir o un alquilo  $C_{1-3}$  sustituido con  $-CO_2R^{A1}$  o  $-C(=O)N(R^{A1})_2$ .

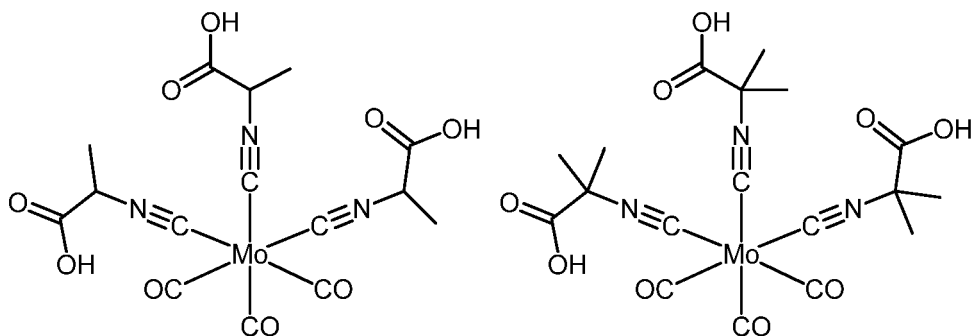
25 En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^1$  es independientemente un alquilo  $C_{1-3}$  sin sustituir; y cada caso de  $R^2$  es independientemente un alquilo  $C_{1-3}$  sin sustituir.

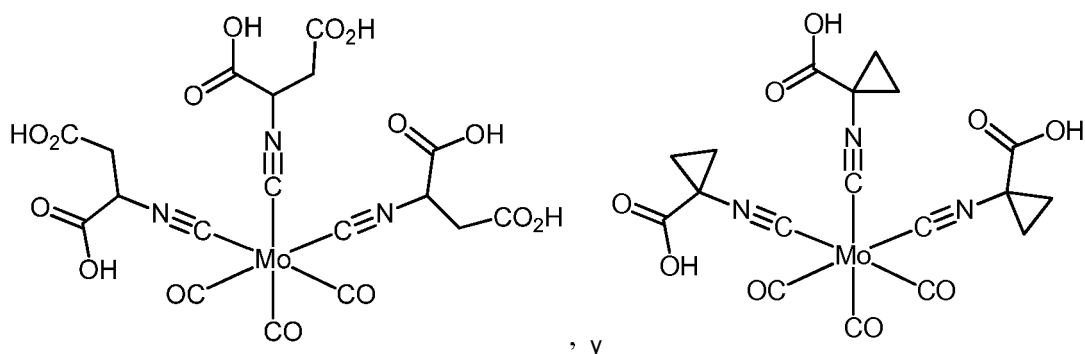
En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^1$  es independientemente un alquilo  $C_{1-3}$  sin sustituir; y cada caso de  $R^2$  es independientemente un alquilo  $C_{1-3}$  sustituido con  $-CO_2R^{A2}$ .

30 En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^1$  es independientemente un alquilo  $C_{1-3}$  sustituido con  $-CO_2R^{A1}$ ; y cada caso de  $R^2$  es independientemente un alquilo  $C_{1-3}$  sustituido con  $-CO_2R^{A2}$ .

35 En determinadas realizaciones,  $R^1$  y  $R^2$  y el carbono al que ambos están unidos se unen independientemente para formar un carbociclilo  $C_{3-4}$ .

Los compuestos a modo de ejemplo de la Fórmula (I) incluyen, pero sin limitación:



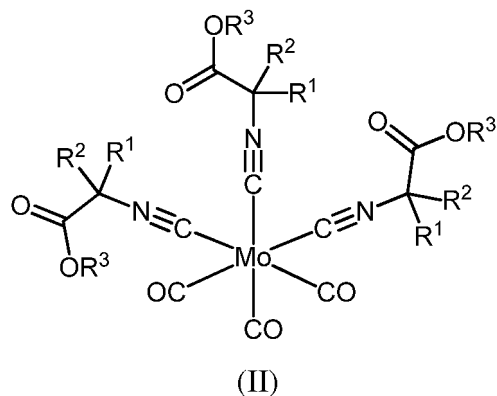


y sales, ésteres, amidas, solvatos, e hidratos de los mismos, y combinaciones de los mismos.

- 5 También se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la Fórmula (I), o una sal, éster, amida, solvato, o hidrato del mismo, o una combinación de los mismos, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

En otro aspecto, se proporcionan ésteres de la Fórmula (I), *por ejemplo*, de la Fórmula (II):

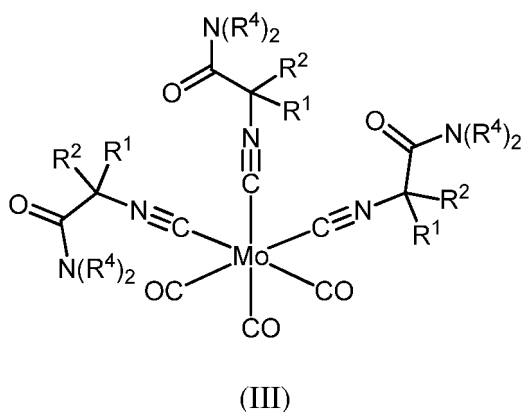
10



o una sal, solvato o hidrato de los mismos, o una combinación de los mismos; en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son como se definen en el presente documento; y cada caso de R<sup>3</sup> es independientemente alquilo C<sub>1-6</sub>.

15

En otro aspecto más, se proporcionan amidas de la Fórmula (I), *por ejemplo*, de la Fórmula (III):



20

o una sal, solvato o hidrato de las mismas, o una combinación de los mismos; en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son como se definen en el presente documento; y cada caso de R<sup>4</sup> es independientemente hidrógeno o alquilo C<sub>1-6</sub>.

- 25 También se proporcionan compuestos de la invención para su uso en un método para tratar una enfermedad hepática y/o una enfermedad inflamatoria en un sujeto. En determinadas realizaciones, el método comprende administrar una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula (I), o una sal, éster, amida, solvato, o hidrato del

mismo, o una combinación de los mismos. En otras realizaciones, el método comprende dar instrucciones al sujeto para que tome una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula (I), o una sal, éster, amida, solvato, o hidrato del mismo, o una combinación de los mismos. En determinadas realizaciones, la cantidad eficaz es una cantidad terapéuticamente eficaz. En determinadas realizaciones, la cantidad eficaz es una cantidad profilácticamente eficaz.

5

También se proporcionan métodos para preparar compuestos de la presente invención.

Los detalles de una o más realizaciones de la descripción se exponen en las figuras adjuntas y la Descripción Detallada. Otras características, objetos y ventajas de la descripción serán evidentes a partir de la descripción y de las reivindicaciones.

10

### Breve descripción de los dibujos

El archivo de patente o solicitud contiene al menos un dibujo realizado a color. La Oficina proporcionará copias de esta patente o publicación de solicitud de patente con dibujos a color previa solicitud y pago de la tarifa necesaria.

15

**Figuras 1A-1C.** La figura 1A representa la liberación de CO del Compuesto 1b (50  $\mu$ M) en tampón HEPES 50 mM (pH 7,4) en la oscuridad o a la luz. La figura 1B representa el CO liberado del Compuesto 1b (10  $\mu$ M) en tampón K-fosfato 0,5 M (pH 7,4) en presencia o ausencia de microsomas hepáticos de rata. La figura 1C representa los experimentos de distribución de CO tisular realizados en ratones hembra CD-1. El Compuesto 1b se administró i.v. (50 mg/kg en 150  $\mu$ l de PBS pH 7,5). 25 minutos después de la dosificación, el animal fue sacrificado, se recogieron el corazón, los riñones, el hígado y el pulmón, y se realizó la cuantificación de CO. Las muestras de la sangre recién recogida se transfirieron a cubetas AVOXimeter 4000 (ITC) para medir los niveles de carboxihemoglobina (COHb), oxihemoglobina (O2Hb) y metahemoglobina (MetHb) usando un oxímetro de CO portátil AVOXimeter 4000. Los resultados se muestran como el porcentaje medio de especies de hemoglobina total en circulación.

20

25

**Figuras 2A-2E.** La figura 2A representa la liberación de CO del Compuesto 2b (50  $\mu$ M) en tampón HEPES 50 mM (pH 7,4) en la oscuridad o a la luz. La figura 2B representa el CO liberado del Compuesto 2b (10  $\mu$ M) en tampón K-fosfato 0,5 M (pH 7,4) en presencia o ausencia de microsomas hepáticos de rata. Las figuras 2C-2E representan tres experimentos de distribución de CO tisular idénticos realizados en ratones hembra CD-1. El Compuesto 2b se administró i.v. (50 mg/kg en 150  $\mu$ l de PBS pH 7,5). 25 minutos después de la dosificación, el animal fue sacrificado, se recogieron el corazón, los riñones, el hígado y el pulmón, y se realizó la cuantificación de CO. Las muestras de la sangre recién recogida se transfirieron a cubetas AVOXimeter 4000 (ITC) para medir los niveles de carboxihemoglobina (COHb), oxihemoglobina (O2Hb) y metahemoglobina (MetHb) usando un oxímetro de CO portátil AVOXimeter 4000. Los resultados se muestran como el porcentaje medio de especies de hemoglobina total en circulación.

30

35

**Figuras 3A-3B.** La figura 3A representa el dibujo ORTEP del Compuesto 3a; se muestra el esquema de etiquetado para todos los átomos distintos de hidrógeno. Los elipsoides térmicos tienen un nivel de probabilidad del 30 %. La figura 3B representa el patrón de difracción de polvos de rayos X (XRPD) del Compuesto 3a.

40

**Figura 4A-4G.** La figura 4A representa el dibujo ORTEP del Compuesto 3b; se muestra el esquema de etiquetado para todos los átomos distintos de hidrógeno. Los elipsoides térmicos tienen un nivel de probabilidad del 30 %. La figura 4B representa el patrón de difracción de polvos de rayos X (XRPD) del Compuesto 3b, producto de tipo I. La figura 4C representa el patrón de difracción de polvos de rayos X (XRPD) del Compuesto 3b, producto de tipo II. La figura 4D representa la liberación de CO del Compuesto 3b (50  $\mu$ M) en tampón HEPES

45

50 mM (pH 7,4) en la oscuridad o a la luz. La figura 4E representa la liberación de CO del Compuesto 3b (10  $\mu$ M) en tampón K-fosfato 0,5 M (pH 7,4) en presencia o ausencia de microsomas hepáticos de rata. Las figuras 4F-4G representan dos experimentos de distribución de CO tisular idénticos realizados en ratones hembra CD-1. El Compuesto 3b se administró i.v. (50 mg/kg en 150  $\mu$ l de PBS pH 7,5). 25 minutos después de la dosificación, el animal fue sacrificado, se recogieron el corazón, los riñones, el hígado y el pulmón, y se realizó la cuantificación de CO. Las muestras de la sangre recién recogida se transfirieron a cubetas AVOXimeter 4000 (ITC) para medir los niveles de carboxihemoglobina (COHb), oxihemoglobina (O2Hb) y metahemoglobina (MetHb) usando un oxímetro de CO portátil AVOXimeter 4000. Los resultados se muestran como el porcentaje medio de especies de hemoglobina total en circulación.

50

**Figuras 5A-5B.** La figura 5A representa el CO liberado del Compuesto 4b (10  $\mu$ M) en tampón K-fosfato 0,5 M (pH 7,4) en presencia o ausencia de microsomas hepáticos de rata. La figura 5B representa los experimentos de distribución de CO tisular realizados en ratones hembra CD-1. El Compuesto 4b se administró i.v. (50 mg/kg en 150  $\mu$ l de PBS pH 7,5). 25 minutos después de la dosificación, el animal fue sacrificado, se recogieron el corazón, los riñones, el hígado y el pulmón, y se realizó la cuantificación de CO. Las muestras de la sangre recién recogida se transfirieron a cubetas AVOXimeter 4000 (ITC) para medir los niveles de carboxihemoglobina (COHb), oxihemoglobina (O2Hb) y metahemoglobina (MetHb) usando un oxímetro de CO portátil AVOXimeter 4000. Los resultados se muestran como el porcentaje medio de especies de hemoglobina total en circulación.

55

60

**Figuras 6A-6B.** La figura 6A representa el CO liberado del Compuesto 5b (10  $\mu$ M) en tampón K-fosfato 0,5 M (pH 7,4) en presencia o ausencia de microsomas hepáticos de rata. La figura 6B representa los experimentos de distribución de CO tisular realizados en ratones hembra CD-1. El Compuesto 5b se administró i.v. (50 mg/kg en 150  $\mu$ l de PBS pH 7,5). 25 minutos después de la dosificación, el animal fue sacrificado, se recogieron el corazón, los riñones, el hígado y el pulmón, y se realizó la cuantificación de CO. Las muestras de la sangre

65

recién recogida se transfirieron a cubetas AVOXimeter 4000 (ITC) para medir los niveles de carboxihemoglobina (COHb), oxihemoglobina (O2Hb) y metahemoglobina (MetHb) usando un oxímetro de CO portátil AVOXimeter 4000. Los resultados se muestran como el porcentaje medio de especies de hemoglobina total en circulación.

La **figura 7** representa la farmacocinética del Compuesto 3b en ratones CD-1. El compuesto 3b se administró por vía intravenosa (i.v.), a una dosis de 100 mg/kg. Se tomaron muestras de sangre después de 1, 5, 10, 20 y 30 minutos después de la administración. La concentración del Compuesto 3b en suero se ensayó mediante HPLC. La curva experimental representa la eliminación de la circulación y la descomposición a través de la liberación de CO.

La **figura 8** representa la cantidad de CO liberado del Compuesto 3b, expresada en equivalentes de CO, en tampón fosfato pH 7,4 ("tampón"), tampón fosfato pH 7,4 en presencia de microsomas hepáticos humanos ("humano") o microsomas hepáticos de rata ("rata"). El ensayo se realizó en viales cerrados durante 1 hora a 37 °C. Se retiró una alícuota de gas del espacio de aire de los viales y se determinó la concentración de CO por GC-RCP en diferentes puntos de tiempo.

La **figura 9** representa el porcentaje de carboxihemoglobina (CO-Hb) medida en ratones hembra CD-1 después de la administración del Compuesto 3b a 300 mg/kg, por vía intravenosa. La CO-Hb se cuantificó durante 80 min usando un oxímetro (Avoximeter 4000 de A-vox Instruments). El valor inicial de CO-Hb medida con este instrumento es del 3-4 %.

Las **figuras 10A-10B** representan la cinética de producción y depuración de alanina aminotransferasa (ALT). La **figura 10A** representa la cinética de la producción de ALT después de la administración de 300 mg/kg de acetaminofeno (APAP) por inyección intraperitoneal (i.p.). ALT se expresa en U/l a lo largo del tiempo (horas). La **figura 10B** representa la cinética de la eliminación de APAP después de la administración de 300 mg/kg por inyección i.p. APAP se expresa en g/l en el tiempo (horas).

**Figuras 11A-11B.** La **figura 11A** representa el efecto del tratamiento con el Compuesto 3b en la ALT sérica en un modelo de insuficiencia hepática aguda (ALF) inducida por APAP. Se indujo ALF en ratones macho C57B1/6 con una dosis única de acetaminofeno (300 mg/kg) por inyección i.p. Una hora después de la inyección de APAP, los animales se trataron con dosis de 0,3, 3, 30 o 60 mg/kg del Compuesto 3b. La ALT se midió 22 h después de la inyección de APAP (n = 5 ratones para cada grupo). La **figura 11B** representa el efecto del Compuesto 3b en el daño hepático inducido por APAP. Se indujo ALF en ratones macho C57B1/6 con una dosis única de acetaminofeno (300 mg/kg) por inyección i.p. El compuesto 3b (0,3, 3, 30, 60 mg/kg) o el Compuesto 1b (60 mg/kg) se administraron a ratones 1 h después de APAP. Veintidós horas después de la inyección de APAP, se midió la ALT sérica (resultados en la Figura 11A), se cortaron secciones centrilobulares de hígados de ratón y se tiñeron con hematoxilina y eosina, y se determinó el porcentaje de necrosis hepática (figura 11B).

**Figuras 12A-12C.** Las **figuras 12A-12B** representan el efecto del tratamiento con NAC o el Compuesto 3b en la ALT sérica en un modelo de ALF. Se indujo ALF en ratones macho C57B1/6 con una dosis única de acetaminofeno (300 mg/kg) por inyección i.p. Los animales se trataron con NAC (N-acetil-cisteína; 300 mg/kg) o el Compuesto 3b (60 o 120 mg/kg) administrados una y tres horas después de la inyección de APAP. La ALT se midió 22 h después de la inyección de APAP (n = 4 o n = 5 ratones para cada grupo). La **figura 12B** es un zoom de la figura 12A para ayudar a visualizar las diferencias en los grupos tratados. La **figura 12C** confirma los resultados obtenidos con las determinaciones de ALT en suero (figura 12A-12B), y representa el efecto del tratamiento con NAC o el Compuesto 3b sobre el daño hepático en un modelo de ALF inducido por APAP. Se indujo ALF en ratones macho C57B1/6 con una dosis única de acetaminofeno (300 mg/kg) por inyección i.p. Los animales se trataron con NAC (300 mg/kg) o el Compuesto 3b (60 o 120 mg/kg) administrados una y tres horas después de la inyección de APAP. Veintidós horas después de la inyección de APAP, se midió la ALT en suero (indicada en las figuras 12A-12B), se cortaron secciones centrilobulares de hígados de ratón y se tiñeron con hematoxilina y eosina, y se determinó el porcentaje de necrosis hepática.

La **figura 13** representa el efecto del tratamiento con NAC o el Compuesto 3b en la ALT sérica en un modelo de insuficiencia hepática aguda (ALF) inducida por APAP. Se indujo ALF en ratones macho C57B1/6 con una dosis única de acetaminofeno (300 mg/kg) por inyección i.p. Cinco horas y siete horas después de la inyección de APAP, los animales se trataron con NAC (150 mg/kg) o el Compuesto 3b (120 mg/kg) o una combinación de ambos compuestos. La alanina aminotransferasa (ALT) se midió 22 h después de la inyección de APAP (n = 4 o n = 5 ratones para cada grupo).

La **figura 14** representa el efecto del tratamiento tardío con el Compuesto 3b en la ALT sérica en el modelo de ALF. Se indujo ALF en ratones macho C57B1/6 con una dosis única de acetaminofeno (300 mg/kg) por inyección i.p. Dieciséis horas después de la inyección de APAP, los animales se trataron con diferentes dosis del Compuesto 3b (0,3, 3, 30 o 60 mg/kg). La alanina aminotransferasa (ALT) se midió 22 h después de la inyección de APAP (n = 4 o n = 5 ratones para cada grupo).

Las **figuras 15A-15B** representan el efecto del tratamiento de combinación con NAC y el Compuesto 3b en la ALT sérica en el modelo de ALF. Se indujo ALF en ratones macho C57B1/6 con una dosis única de acetaminofeno (300 mg/kg) por inyección i.p. NAC (300 mg/kg) y el Compuesto 3b (120 mg/kg, figura 15A o 60 mg/kg, figura 15B) se administraron a ratones, por separado o en combinación, una hora y tres horas después de la inyección de APAP. Los experimentos 1 y 2 representan dos experimentos independientes. La alanina aminotransferasa (ALT) se midió 22 h después de la inyección de APAP (n = 4 o n = 5 ratones para cada grupo).

La **figura 16** representa el efecto de NAC y el Compuesto 3b en el daño hepático inducido por acetaminofeno. Se indujo ALF en ratones macho C57B1/6 con una dosis única de acetaminofeno (300 mg/kg) por inyección i.p. NAC y el Compuesto 3b se administraron una y tres horas después de la administración de APAP. Veintidós horas después de la inyección de APAP, se midió la ALT sérica y se cortaron secciones centrilobulares de

hígados de ratón y se tiñeron con hematoxilina y eosina. A: Ratón sin tratar; B y C: Ratón de control con APAP; D y E: APAP más Compuesto 3b 2 x 100 mg/kg (experimentos por duplicado); F y G: APAP más Compuesto 3b 2 x 300 mg/kg (experimentos por duplicado); H e I: APAP más NAC 2 x 300 mg/kg (experimentos por duplicado).

La **figura 17** representa la curva de supervivencia de ratones C57BL/6 inyectados (i.p.) con 500 mg/kg de APAP.

5 Los ratones se mantuvieron en ayunas durante la noche y APAP se administró después (n = 15). La supervivencia de los ratones se controló durante 4 días.

Las **figuras 18A-18B** representan la curva de supervivencia de ratones C57BL/6 inyectados (i.p.) con 500 mg/kg de APAP y tratados con el Compuesto 3b. Los ratones se mantuvieron en ayunas durante la noche y APAP se administró después (n = 15). El compuesto 3b se administró a una dosis de 120 mg/kg a 1 h y 3 h (A) o a 3 h y 5 h (B) después de la administración de APAP. La supervivencia de los ratones se controló durante 4 días.

10 La **figura 19** representa la curva de supervivencia de ratones C57BL/6 inyectados (i.p.) con 500 mg/kg de APAP y tratados con el Compuesto 3b, NAC o ambos administrados en diferentes momentos. Los ratones se mantuvieron en ayunas durante la noche y APAP se administró después (n = 15). El compuesto 3b se administró a una dosis de 120 mg/kg (i.p.) a +3 h o +4 h después de la administración de APAP. Otro grupo de ratones recibió NAC (150 mg/kg, ip) +1 h después de APAP. Los dos grupos restantes se administran en el modo de combinación NAC + Compuesto 3b; un grupo de ratones se administró con NAC (150 mg/kg, ip) +1 h más Compuesto 3b (120 mg/kg, ip) +3 h y otro con el Compuesto 3b (150 mg/kg, ip) +1 h más Compuesto 3b (120 mg/kg, ip) +4 h. La supervivencia de los ratones se controló durante 4 días.

15 La **figura 20** representa el efecto del Compuesto 3b en el modelo de isquemia-reperusión. En ratones C57BL/6 anestesiados, la arteria hepática y la vena porta se pinzaron durante 30 minutos; 24 h más tarde, se determinaron los niveles séricos de ALT. El Compuesto 3b se administró por inyección i.p. a 30 mg/kg, 1 hora antes y 1 h después de la cirugía.

20 Las **figuras 21A-21B** representan el efecto del Compuesto 3b en un modelo ex vivo de apoptosis. La apoptosis de hepatocitos primarios de ratones C57BL/6 se indujo con Actinomicina D (ActD; 200 ng/ml) y Factor  $\alpha$  de Necrosis Tumoral (TNF- $\alpha$ ; 10 ng/ml). El compuesto 3b se añadió a los cultivos 1 hora antes y 1 hora después de la adición de los inductores de apoptosis ActD/TNF- $\alpha$ . El compuesto 3b se ensayó a concentraciones de 25, 50, 100 y 150  $\mu$ g/0,5 ml de pocillo. La supervivencia de los hepatocitos se determinó 24 horas después de la adición de los inductores de apoptosis. **Figura 21A:** Porcentaje de aumento en las células de supervivencia tratadas con ActD/TNF- $\alpha$  en presencia del Compuesto 3b, con respecto a las células tratadas solo con los inductores de apoptosis. **Figura 21B:** Toxicidad de las dosis del Compuesto 3b en hepatocitos murinos (no tratados con inductores de apoptosis). Los datos son la media  $\pm$  DE de 3-5 experimentos independientes (3-5 hígados de diferentes ratones).

25 La **figura 22** representa el efecto del Compuesto 3b en un modelo de regeneración hepática. Los animales fueron anestesiados y el 70% del hígado fue resecado, correspondiente a los lóbulos hepáticos izquierdo y medio. El compuesto 3b se administró (2 x 100 mg/kg) 1 hora antes y 1 hora después de la cirugía. Dos días después, se sacrificaron los animales, se extirparon los hígados, se pesaron, y se tiñeron con fosfohistona H3 (PH3, un marcador específico para la división celular).

30 Las **figuras 23A-23C** representan el efecto del Compuesto 3b en un modelo de colitis inducida por TNBS (ácido 2,4,6-trinitrobenzenosulfónico). La colitis se indujo en ratones Balb/C mediante una única administración intracolónica de 100 ml de etanol al 40% que contenía 4 mg de TNBS. Dexametasona (Dex; 0,3 mg/kg), Compuesto 3b (120 mg/kg) o su vehículo se administraron diariamente durante 3 días consecutivos comenzando desde 1 hora antes de la inducción de colitis (día 1). El día 4 después de la inducción de la colitis, se sacrificaron los ratones, se aisló el colon, se limpió y se resecó y pesó un segmento de 7 cm del colon distal (figura 23A). La consistencia de las heces se determinó usando la puntuación: 0, sedimentos bien formados; 1, heces sueltas; 2, heces líquidas o heces con sangre (figura 23B). Los animales se pesaron a lo largo de todo el estudio (figura 23C).

35 La **figura 24** representa el efecto del Compuesto 4b en el modelo de ALF en ratones, administrado (ip) a una dosis de 0,3, 3, 10 o 30 mg/kg administrada 3 horas y 5 horas (+3 h, +5 h) después de la administración de APAP (300 mg/kg). Los niveles séricos de ALT se evaluaron 22 horas después de la administración de APAP. El compuesto 4b fue capaz de reducir los niveles de ALT inducidos por APAP de una manera dependiente de la dosis; a una dosis de 30 mg/kg, los niveles de ALT se redujeron en un 75 % con respecto a los animales de control no tratados.

40 La **figura 25** representa el efecto del Compuesto 5b en el modelo de ALF en ratones, administrado (i.p.) a una dosis de 10, 30 o 120 mg/kg administrada 3 horas y 5 horas (+3 h, +5 h) después de la administración de APAP (300 mg/kg). Los niveles séricos de ALT se evaluaron 22 horas después de la administración de APAP. El compuesto 5b fue capaz de reducir los niveles de ALT inducidos por APAP de una manera dependiente de la dosis; a una dosis de 120 mg/kg, los niveles de ALT se redujeron en un 70% con respecto a los animales de control no tratados.

45

50

55

60

**Descripción detallada de determinadas realizaciones de la invención**

La presente divulgación está basada, al menos en parte, en el sorprendente descubrimiento de que los compuestos particulares de moléculas liberadoras de monóxido de carbono (CO-RM) de la Fórmula (I):

60

65

70

75

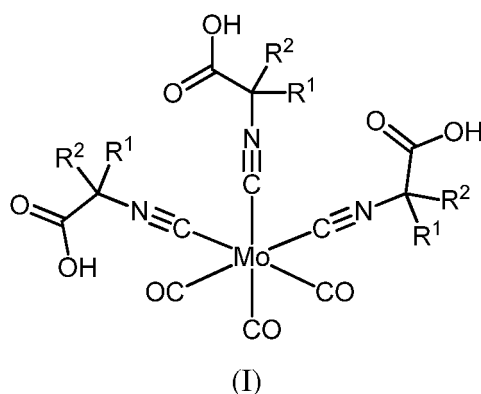
80

85

90

95

100



son moléculas terapéuticas liberadoras de CO con especificidad para el hígado, y se ha encontrado que reducen la necrosis hepática, estimulan la regeneración hepática, y reducen la inflamación.

5

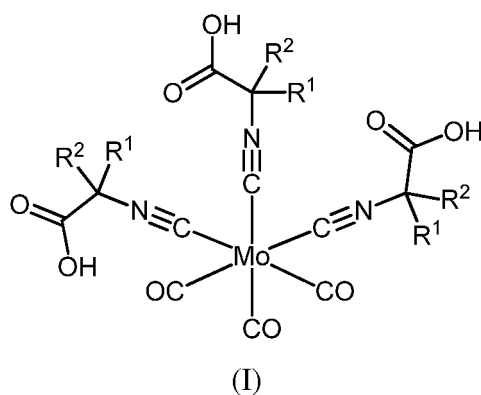
Como se entiende a partir de la siguiente descripción, los compuestos de la Fórmula (I) requieren que cada caso de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> unidos al mismo carbono no sean ninguno hidrógeno. Ese requisito es un aspecto importante del presente descubrimiento. Por ejemplo, una molécula liberadora de CO estructuralmente similar en la que cada caso de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> es hidrógeno es inactivo en un modelo in vivo de insuficiencia hepática.

10

Por lo tanto, los compuestos de la presente divulgación se consideran particularmente útiles para el tratamiento de enfermedades del hígado, pero también se contemplan generalmente para su uso en el tratamiento de enfermedades inflamatorias.

### 15 **Compuestos**

En un aspecto, la presente descripción proporciona un compuesto de la Fórmula (I):



20

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

25 cada caso de R<sup>1</sup> es independientemente hidrógeno, un alquilo C<sub>1-3</sub> sin sustituir, o un alquilo C<sub>1-3</sub> sustituido con -CO<sub>2</sub>R<sup>A1</sup> o -C(=O)N(R<sup>A1</sup>)<sub>2</sub>, en la que cada caso de R<sup>A1</sup> es independientemente hidrógeno o alquilo C<sub>1-10</sub>;  
 cada caso de R<sup>2</sup> es independientemente hidrógeno, un alquilo C<sub>1-3</sub> sin sustituir, o un alquilo C<sub>1-3</sub> sustituido con -CO<sub>2</sub>R<sup>A2</sup> o -C(=O)N(R<sup>A2</sup>)<sub>2</sub>, en la que cada caso de R<sup>A2</sup> es independientemente hidrógeno o alquilo C<sub>1-10</sub>;  
 o R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> y el carbono al que están unidos, se unen independientemente para formar un carbociclilo C<sub>3-4</sub>; con la condición de que cada caso de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> unidos al mismo carbono no sea ninguno hidrógeno.

30 Los términos químicos específicos se describen a continuación. 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 March's Advanced Organic Chemistry, 5<sup>a</sup> 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<sup>a</sup> Edición, Cambridge University Press,  
 35 Cambridge, 1987. Los principios generales en química organometálica se describen en S. W. Kirtley en 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).

40



Cuando se enumera un intervalo de valores, se pretende abarcar cada valor y subintervalo dentro del intervalo. Por ejemplo, alquilo C<sub>1-6</sub> pretende incluir, alquilo C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>, C<sub>6</sub>, C<sub>1-6</sub>, C<sub>1-5</sub>, C<sub>1-4</sub>, C<sub>1-3</sub>, C<sub>1-2</sub>, C<sub>2-6</sub>, C<sub>2-5</sub>, C<sub>2-4</sub>, C<sub>2-3</sub>, C<sub>3-6</sub>, C<sub>3-5</sub>, C<sub>3-4</sub>, C<sub>4-6</sub>, C<sub>4-5</sub>, y C<sub>5-6</sub>.

- 5 "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 C<sub>1-10</sub>"). En algunas realizaciones, un grupo alquilo tiene de 1 a 9 átomos de carbono ("alquilo C<sub>1-9</sub>"). En algunas realizaciones, un grupo alquilo tiene de 1 a 8 átomos de carbono ("alquilo C<sub>1-8</sub>"). En algunas realizaciones, un grupo alquilo tiene de 1 a 7 átomos de carbono ("alquilo C<sub>1-7</sub>"). En algunas realizaciones, un grupo alquilo tiene de 1 a 6 átomos de carbono ("alquilo C<sub>1-6</sub>"). En algunas realizaciones, un grupo alquilo tiene de 1 a 5 átomos de carbono ("alquilo C<sub>1-5</sub>"). En algunas realizaciones, un grupo alquilo tiene de 1 a 4 átomos de carbono ("alquilo C<sub>1-4</sub>"). En algunas realizaciones, un grupo alquilo tiene de 1 a 3 átomos de carbono ("alquilo C<sub>1-3</sub>"). En algunas realizaciones, un grupo alquilo tiene de 1 a 2 átomos de carbono ("alquilo C<sub>1-2</sub>"). En algunas realizaciones, un grupo alquilo tiene 1 átomo de carbono ("alquilo C<sub>1</sub>"). En algunas realizaciones, un grupo alquilo tiene de 2 a 6 átomos de carbono ("alquilo C<sub>2-6</sub>"). Los ejemplos de grupos alquilo C<sub>1-6</sub> incluyen metilo (C<sub>1</sub>), etilo (C<sub>2</sub>), n-propilo (C<sub>3</sub>), isopropilo (C<sub>3</sub>), n-butilo (C<sub>4</sub>), terc-butilo (C<sub>4</sub>), sec-butilo (C<sub>4</sub>), iso-butilo (C<sub>4</sub>), n-pentilo (C<sub>5</sub>), 3-pentanilo (C<sub>5</sub>), amilo (C<sub>5</sub>), neopentilo (C<sub>5</sub>), 3-metil-2-butanilo (C<sub>5</sub>), amilo terciario (C<sub>5</sub>), y n-hexilo (C<sub>6</sub>). Los ejemplos adicionales de grupos alquilo incluyen n-heptilo (C<sub>7</sub>), n-octilo (C<sub>8</sub>), n-nonilo (C<sub>9</sub>), n-decilo (C<sub>10</sub>), y similares.

- 20 "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 C<sub>3-4</sub>") y cero heteroátomos en el sistema de anillo no aromático. Los grupos carbociclilo C<sub>3-4</sub> a modo de ejemplo incluyen, sin limitación, ciclopropilo (C<sub>3</sub>), ciclopropenilo (C<sub>3</sub>), ciclobutilo (C<sub>4</sub>), y ciclobutenilo (C<sub>4</sub>). En algunas realizaciones, "carbociclilo" es un grupo carbociclilo monocíclico saturado que tiene de 3 a 4 átomos de carbono en el anillo ("cicloalquilo C<sub>3-4</sub>").

- 25 "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 C<sub>2-10</sub>"). En algunas realizaciones, un grupo alquenilo tiene de 2 a 9 átomos de carbono ("alquenilo C<sub>2-9</sub>"). En algunas realizaciones, un grupo alquenilo tiene de 2 a 8 átomos de carbono ("alquenilo C<sub>2-8</sub>"). En algunas realizaciones, un grupo alquenilo tiene de 2 a 7 átomos de carbono ("alquenilo C<sub>2-7</sub>"). En algunas realizaciones, un grupo alquenilo tiene de 2 a 6 átomos de carbono ("alquenilo C<sub>2-6</sub>"). En algunas realizaciones, un grupo alquenilo tiene de 2 a 5 átomos de carbono ("alquenilo C<sub>2-5</sub>"). En algunas realizaciones, un grupo alquenilo tiene de 2 a 4 átomos de carbono ("alquenilo C<sub>2-4</sub>"). En algunas realizaciones, un grupo alquenilo tiene de 2 a 3 átomos de carbono ("alquenilo C<sub>2-3</sub>"). En algunas realizaciones, un grupo alquenilo tiene 2 átomos de carbono ("alquenilo C<sub>2</sub>"). El uno o más dobles enlaces carbono-carbono pueden ser internos (tal como en 2-butenilo) o terminales (tal como en 1-butenilo). Los ejemplos de grupos alquenilo C<sub>2-4</sub> incluyen etenilo (C<sub>2</sub>), 1-propenilo (C<sub>3</sub>), 2-propenilo (C<sub>3</sub>), 1-butenilo (C<sub>4</sub>), 2-butenilo (C<sub>4</sub>), butadienilo (C<sub>4</sub>), y similares. Los ejemplos de grupos alquenilo C<sub>2-6</sub> incluyen los grupos alquenilo C<sub>2-6</sub> mencionados anteriormente, así como pentenilo (C<sub>5</sub>), pentadienilo (C<sub>5</sub>), hexenilo (C<sub>6</sub>), y similares. Los ejemplos adicionales de alquenilo incluyen heptenilo (C<sub>7</sub>), octenilo (C<sub>8</sub>), octatrienilo (C<sub>8</sub>), y similares.

- 40 "Alquinilo" se refiere a un radical de un grupo hidrocarburo de cadena lineal o ramificada que tiene de 2 a 10 átomos de carbono y uno o más triples enlaces carbono-carbono ("alquinilo C<sub>2-10</sub>"). En algunas realizaciones, un grupo alquinilo tiene de 2 a 9 átomos de carbono ("alquinilo C<sub>2-9</sub>"). En algunas realizaciones, un grupo alquinilo tiene de 2 a 8 átomos de carbono ("alquinilo C<sub>2-8</sub>"). En algunas realizaciones, un grupo alquinilo tiene de 2 a 7 átomos de carbono ("alquinilo C<sub>2-7</sub>"). En algunas realizaciones, un grupo alquinilo tiene de 2 a 6 átomos de carbono ("alquinilo C<sub>2-6</sub>"). En algunas realizaciones, un grupo alquinilo tiene de 2 a 5 átomos de carbono ("alquinilo C<sub>2-5</sub>"). En algunas realizaciones, un grupo alquinilo tiene de 2 a 4 átomos de carbono ("alquinilo C<sub>2-4</sub>"). En algunas realizaciones, un grupo alquinilo tiene de 2 a 3 átomos de carbono ("alquinilo C<sub>2-3</sub>"). En algunas realizaciones, un grupo alquinilo tiene 2 átomos de carbono ("alquinilo C<sub>2</sub>"). El uno o más triples enlaces carbono-carbono pueden ser internos (tal como en 2-butinilo) o terminales (tal como en 1-butinilo). Los ejemplos de grupos alquinilo C<sub>2-6</sub> incluyen, sin limitación, etinilo (C<sub>2</sub>), 1-propinilo (C<sub>3</sub>), 2-propinilo (C<sub>3</sub>), 1-butinilo (C<sub>4</sub>), 2-butinilo (C<sub>4</sub>), y similares. Los ejemplos de grupos alquinilo C<sub>2-6</sub> incluyen los grupos alquinilo C<sub>2-6</sub>, mencionados anteriormente así como pentinilo (C<sub>5</sub>), hexinilo (C<sub>6</sub>), y similares. Los ejemplos adicionales de alquinilo incluyen heptinilo (C<sub>7</sub>), octinilo (C<sub>8</sub>), y similares.

- 55 "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 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 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, 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, tetrahidrofuranilo, dihidrofuranilo, tetrahidrotiofenilo, dihidrotiofenilo, pirrolidinilo, dihidropirrolilo y pirrolil-2,5-diona. Entre los ejemplos de grupos heterociclilo de 5 miembros que contienen 2 heteroátomos se incluyen, sin limitación, dioxolanilo, oxatiolanilo y ditiolanilo. Entre los ejemplos de grupos heterociclilo de 5 miembros que contienen 3 heteroátomos se incluyen, sin limitación, triazolinilo, oxadiazolinilo y tiadiazolinilo. Entre los ejemplos de grupos heterociclilo de 6 miembros que contienen 1 heteroátomo se incluyen, sin limitación, piperidinilo, tetrahidropiranilo, dihidropiridinilo y tianilo. Entre los ejemplos de grupos heterociclilo de 6 miembros que contienen 2 heteroátomos se incluyen, sin limitación, piperazinilo, morfolinilo, ditanilo, 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, indolinilo, isoindolinilo, dihidrobenzofuranilo, dihidrobenzotienilo, tetrahidrobenzotienilo, tetrahidrobenzofuranilo, tetrahidroindolilo, tetrahidroquinolinilo, tetrahidroisoquinolinilo, decahidroquinolinilo, decahidroisoquinolinilo, octahidrocromenilo, octahidroisocromenilo, decahidronaftiridinilo, decahidro-1,8-naftiridinilo, octahidropirrol[3,2-b]pirrol, indolinilo, ftalimidilo, naftalimidilo, cromanilo, cromenilo y similares.

"Ariolo" se refiere a un radical de un sistema de anillo aromático monocíclico o bicíclico  $4n+2$  (por ejemplo, que tiene 6 o 10  $\pi$  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 ("ariolo  $C_{6-10}$ "). En algunas realizaciones, un grupo ariolo tiene 6 átomos de carbono en el anillo ("ariolo  $C_6$ "; por ejemplo, fenilo). En algunas realizaciones, un grupo ariolo tiene 10 átomos de carbono en el anillo ("ariolo  $C_{10}$ "; por ejemplo, naftilo, tal como 1-naftilo y 2-naftilo). Ariolo también incluye sistemas de anillo en los que el anillo ariolo, como se ha definido anteriormente, está condensado con uno o más grupos carbociclilo o heterociclilo en los que el radical o punto de unión está en el anillo ariolo, y, en tales casos, el número de átomos de carbono sigue designando el número de átomos de carbono en el sistema de anillo de ariolo.

"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  $\pi$  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 carbociclilo o heterociclilo 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 ariolo en los que el punto de unión está en el anillo ariolo 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 (ariolo/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).

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

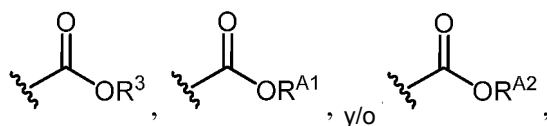
nitrógeno, oxígeno y azufre.

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 heteroátomos se incluyen, sin limitación, imidazolilo, pirazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo e isotiazolilo. Entre los ejemplos de grupos heteroarilo de 5 miembros que contienen 3 heteroátomos se incluyen, sin limitación, triazolilo, oxadiazolilo y tiadiazolilo. Entre los ejemplos de grupos heteroarilo de 5 miembros que contienen 4 heteroátomos 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, benzimidazolilo, benzoxazolilo, benzoisoxazolilo, benzoxadiazolilo, benzotiazolilo, benzoisotiazolilo, benztiadiazolilo, indolizínilo y purínilo. Entre los grupos heteroarilo 6,6-bicíclicos de ejemplo se incluyen, sin limitación, naftiridinilo, pteridinilo, quinolinilo, isoquinolinilo, cinnolinilo, quinoxalinilo, ftalazinilo y quinazolinilo.

Alquilo, carbociclilo, heterociclilo, arilo y heteroarilo, como se definen en el presente documento, pueden estar opcionalmente sustituidos (por ejemplo, alquilo "sustituido" o "sin sustituir", carbociclilo "sustituido" o "sin sustituir", heterociclilo "sustituido" o "sin sustituir", arilo "sustituido" o "sin sustituir" o heteroarilo "sustituido" o "sin sustituir"). En general, el término "sustituido", vaya precedido o no del término "opcionalmente", significa que al menos un hidrógeno presente en un grupo (por ejemplo, un átomo de carbono o nitrógeno) está sustituido con un sustituyente permisible, es decir, un sustituyente distinto de hidrógeno 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. A menos que se indique otra cosa, 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 que da como resultado la formulación de un compuesto estable. Los sustituyentes a modo de ejemplo incluyen, pero sin limitación, alquilo, alquénilo, alquínilo, carbociclilo, heterociclilo, arilo, heteroarilo, hidroxilo sustituido o sin sustituir (por ejemplo, -OH, alcoxi), tiol sustituido o sin sustituir (por ejemplo, -SH, alquiltiooxi), amino sustituido o sin sustituir (por ejemplo, -NH<sub>2</sub>, alquil amino, dialquil amino), ciano, nitro, halo (es decir, -F, Br, -Cl, -I), éster, amida, imino, -CO<sub>2</sub>H, -CHO, y similares.

El término "sal" o la expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellas 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 ácidos 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 del compuesto después de la adición de una base). Las sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables incluyen, pero sin limitación, sales 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 limitación, aluminio, calcio, litio, magnesio, potasio, sodio, cinc y de amina cuaternaria.

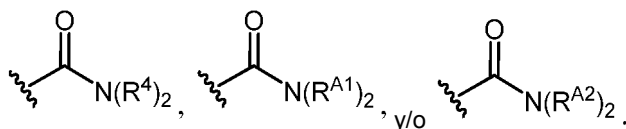
Un "éster" de un compuesto de la presente descripción se refiere al compuesto en el que uno o más de los hidrógenos ácidos de los grupos de ácido carboxílico (-CO<sub>2</sub>H) proporcionados en la molécula se reemplazan con un grupo distinto de hidrógeno (por ejemplo, un grupo alquilo). Los ésteres a modo de ejemplo de compuestos de la presente descripción incluyen, pero sin limitación, compuestos que comprenden uno o más de los siguientes grupos:



en los que R<sup>3</sup>, R<sup>A1</sup>, y R<sup>A2</sup> son como se describen en el presente documento, con la condición de R<sup>3</sup>, R<sup>A1</sup>, y R<sup>A2</sup> no sean hidrógeno.

Una "amida" de un compuesto de la presente descripción se refiere a que el compuesto en el que uno o más de los

grupos -OH del ácido carboxílico (-CO<sub>2</sub>H) proporcionado en la molécula se reemplazan con un grupo amino sustituido o sin sustituir. Las amidas a modo de ejemplo de compuestos de la presente descripción incluyen, pero sin limitación, compuestos que comprenden uno o más de los siguientes grupos:



5

en los que R<sup>4</sup>, R<sup>A1</sup>, y R<sup>A2</sup> son como se describen en el presente documento.

El término "hidrato" se refiere a un compuesto de la presente descripción asociado no covalentemente con una o más moléculas de agua. Del mismo modo, Un "solvato" se refiere a un compuesto de la presente divulgación asociado no covalentemente con una o más moléculas de disolvente orgánico.

10

(i) *Diversas realizaciones de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup>*

En determinadas realizaciones, al menos un caso de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> y el carbono al que están unidos ambos, se unen para formar un carbociclilo C<sub>3-4</sub>. En determinadas realizaciones, al menos un caso de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> y el carbono al que están unidos ambos se unen para formar un anillo de ciclopropanilo (C<sub>3</sub>). En determinadas realizaciones, al menos un caso de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> y el carbono al que están unidos ambos se unen para formar un anillo de ciclobutanilo (C<sub>4</sub>).

15

En determinadas realizaciones, al menos dos casos de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> y el carbono al que están unidos ambos se unen independientemente para formar un carbociclilo C<sub>3-4</sub>. En determinadas realizaciones, al menos dos casos de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> y el carbono al que están unidos ambos se unen para formar un anillo de ciclopropanilo (C<sub>3</sub>). En determinadas realizaciones, al menos dos casos de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> y el carbono al que están unidos ambos se unen para formar un anillo de ciclobutanilo (C<sub>4</sub>).

20

25

En determinadas realizaciones, cada caso de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> y el carbono al que están unidos ambos se unen independientemente para formar un carbociclilo C<sub>3-4</sub>. En determinadas realizaciones, cada caso de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> y el carbono al que están unidos ambos se unen para formar un anillo de ciclopropanilo (C<sub>3</sub>). En determinadas realizaciones, cada caso de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> y el carbono al que están unidos ambos se unen para formar un anillo de ciclobutanilo (C<sub>4</sub>).

30

En determinadas realizaciones, al menos un caso de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup>, en el que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> están unidos al mismo carbono, comprenden R<sup>1</sup> independientemente seleccionado de hidrógeno, un alquilo C<sub>1-3</sub> sin sustituir, y un alquilo C<sub>1-3</sub> sustituido con -CO<sub>2</sub>R<sup>A1</sup> o -C(=O)N(R<sup>A1</sup>)<sub>2</sub>, en el que cada caso de R<sup>A1</sup> es independientemente hidrógeno o alquilo C<sub>1-10</sub>; y R<sup>2</sup> independientemente seleccionado de hidrógeno, un alquilo C<sub>1-3</sub> sin sustituir, y un alquilo C<sub>1-3</sub> sustituido con -CO<sub>2</sub>R<sup>A2</sup> o -C(=O)N(R<sup>A2</sup>)<sub>2</sub>, en el que cada caso de R<sup>A2</sup> es independientemente hidrógeno o alquilo C<sub>1-10</sub>.

35

En determinadas realizaciones, al menos dos casos de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup>, en el que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> están unidos al mismo carbono, comprenden R<sup>1</sup> independientemente seleccionado de hidrógeno, un alquilo C<sub>1-3</sub> sin sustituir, y un alquilo C<sub>1-3</sub> sustituido con -CO<sub>2</sub>R<sup>A1</sup> o -C(=O)N(R<sup>A1</sup>)<sub>2</sub>, en el que cada caso de R<sup>A1</sup> es independientemente hidrógeno o alquilo C<sub>1-10</sub>; y R<sup>2</sup> independientemente seleccionado de hidrógeno, un alquilo C<sub>1-3</sub> sin sustituir, y un alquilo C<sub>1-3</sub> sustituido con -CO<sub>2</sub>R<sup>A2</sup> o -C(=O)N(R<sup>A2</sup>)<sub>2</sub>, en el que cada caso de R<sup>A2</sup> es independientemente hidrógeno o alquilo C<sub>1-10</sub>.

40

En determinadas realizaciones, cada caso de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup>, en el que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> están unidos al mismo carbono, comprenden R<sup>1</sup> independientemente seleccionado de hidrógeno, un alquilo C<sub>1-3</sub> sin sustituir, y un alquilo C<sub>1-3</sub> sustituido con -CO<sub>2</sub>R<sup>A1</sup> o -C(=O)N(R<sup>A1</sup>)<sub>2</sub>, en el que cada caso de R<sup>A1</sup> es independientemente hidrógeno o alquilo C<sub>1-10</sub>; y R<sup>2</sup> independientemente seleccionado de hidrógeno, un alquilo C<sub>1-3</sub> sin sustituir, y un alquilo C<sub>1-3</sub> sustituido con -CO<sub>2</sub>R<sup>A2</sup> o -C(=O)N(R<sup>A2</sup>)<sub>2</sub>, en el que cada caso de R<sup>A2</sup> es independientemente hidrógeno o alquilo C<sub>1-10</sub>.

45

Como se usa en el presente documento, cuando R<sup>1</sup> es un alquilo C<sub>1-3</sub> sin sustituir o un alquilo C<sub>1-3</sub> sustituido con -CO<sub>2</sub>R<sup>A1</sup> o -C(=O)N(R<sup>A1</sup>)<sub>2</sub>, se entiende que cada caso de R<sup>1</sup> puede incluir diversos grupos diferentes, *por ejemplo*, por ejemplo, cada caso de R<sup>1</sup> puede seleccionarse independientemente de alquilo C<sub>1-2</sub> sin sustituir, alquilo C<sub>1-2</sub> sustituido con -CO<sub>2</sub>R<sup>A1</sup>, alquilo C<sub>1-2</sub> sustituido con -C(=O)N(R<sup>A1</sup>)<sub>2</sub>, alquilo C<sub>2-3</sub> sin sustituir, alquilo C<sub>2-3</sub> sustituido con -CO<sub>2</sub>R<sup>A1</sup>, alquilo C<sub>2-3</sub> sustituido con -C(=O)N(R<sup>A1</sup>)<sub>2</sub>, alquilo C<sub>1</sub> sin sustituir, alquilo C<sub>1</sub> sustituido con -CO<sub>2</sub>R<sup>A1</sup>, alquilo C<sub>1</sub> sustituido con -C(=O)N(R<sup>A1</sup>)<sub>2</sub>, alquilo C<sub>2</sub> sin sustituir, alquilo C<sub>2</sub> sustituido con -CO<sub>2</sub>R<sup>A1</sup>, alquilo C<sub>2</sub> sustituido con -C(=O)N(R<sup>A1</sup>)<sub>2</sub>, alquilo C<sub>3</sub> sin sustituir, alquilo C<sub>3</sub> sustituido con -CO<sub>2</sub>R<sup>A1</sup>, o alquilo C<sub>3</sub> sustituido con -C(=O)N(R<sup>A1</sup>)<sub>2</sub>. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, cada caso de R<sup>1</sup> se selecciona independientemente de -CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>R<sup>A1</sup>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>R<sup>A1</sup>, -CH(CO<sub>2</sub>R<sup>A1</sup>)CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>R<sup>A1</sup>, -CH<sub>2</sub>CH(CO<sub>2</sub>R<sup>A1</sup>)CH<sub>3</sub>, -CH(CO<sub>2</sub>R<sup>A1</sup>)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -CH(CH<sub>3</sub>)(CHCO<sub>2</sub>R<sup>A1</sup>), -C(CO<sub>2</sub>R<sup>A1</sup>)(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>C(=O)N(R<sup>A1</sup>)<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(=O)N(R<sup>A1</sup>)<sub>2</sub>, -CH(C(=O)N(R<sup>A1</sup>)<sub>2</sub>)CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(=O)N(R<sup>A1</sup>)<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH(C(=O)N(R<sup>A1</sup>)<sub>2</sub>)CH<sub>3</sub>, -CH(C(=O)N(R<sup>A1</sup>)<sub>2</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -CH(CH<sub>3</sub>)(CHC(=O)N(R<sup>A1</sup>)<sub>2</sub>), y -C(C(=O)N(R<sup>A1</sup>)<sub>2</sub>)(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.

55

60

Tal como se ha descrito generalmente anteriormente, cada caso de  $R^{A1}$  es independientemente hidrógeno o alquilo  $C_{1-10}$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^{A1}$  es independientemente hidrógeno o alquilo  $C_{1-8}$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^{A1}$  es independientemente hidrógeno o alquilo  $C_{1-6}$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^{A1}$  es independientemente hidrógeno o alquilo  $C_{1-3}$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^{A1}$  es independientemente hidrógeno o alquilo  $C_{1-2}$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^{A1}$  es independientemente hidrógeno o alquilo  $C_1$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^{A1}$  es independientemente hidrógeno.

Además, como se usa en el presente documento, cuando  $R^2$  es un alquilo  $C_{1-3}$  sin sustituir o un alquilo  $C_{1-3}$  sustituido con  $-CO_2R^{A2}$  o  $-C(=O)N(R^{A2})_2$ , se entiende que cada caso de  $R^2$  puede incluir diversos grupos diferentes, *por ejemplo*, por ejemplo, cada caso de  $R^2$  puede seleccionarse independientemente de alquilo  $C_{1-2}$  sin sustituir, alquilo  $C_{1-2}$  sustituido con  $-CO_2R^{A2}$ , alquilo  $C_{1-2}$  sustituido con  $-C(=O)N(R^{A2})_2$ , alquilo  $C_{2-3}$  sin sustituir, alquilo  $C_{2-3}$  sustituido con  $-CO_2R^{A2}$ , alquilo  $C_{2-3}$  sustituido con  $-C(=O)N(R^{A2})_2$ , alquilo  $C_1$  sin sustituir, alquilo  $C_1$  sustituido con  $-CO_2R^{A2}$ , alquilo  $C_1$  sustituido con  $-C(=O)N(R^{A2})_2$ , alquilo  $C_2$  sin sustituir, alquilo  $C_2$  sustituido con  $-CO_2R^{A2}$ , alquilo  $C_2$  sustituido con  $-C(=O)N(R^{A2})_2$ , alquilo  $C_3$  sin sustituir, alquilo  $C_3$  sustituido con  $-CO_2R^{A2}$ , o alquilo  $C_3$  sustituido con  $-C(=O)N(R^{A2})_2$ . Por ejemplo, en determinadas realizaciones, cada caso de  $R^2$  se selecciona independientemente de  $-CH_3$ ,  $-CH_2CH_3$ ,  $-CH_2CH_2CH_3$ ,  $-CH(CH_3)_2$ ,  $-CH_2CO_2R^{A2}$ ,  $-CH_2CH_2CO_2R^{A2}$ ,  $-CH(CO_2R^{A2})CH_3$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CO_2R^{A2}$ ,  $-CH_2CH(CO_2R^{A2})CH_3$ ,  $-CH(CO_2R^{A2})CH_2CH_3$ ,  $-CH(CH_3)(CHCO_2R^{A2})$ ,  $-C(CO_2R^{A2})(CH_3)_2$ ,  $-CH_2C(=O)N(R^{A2})_2$ ,  $-CH_2CH_2C(=O)N(R^{A2})_2$ ,  $-CH(C(=O)N(R^{A2})_2)CH_3$ ,  $-CH_2CH_2CH_2C(=O)N(R^{A2})_2$ ,  $-CH_2CH(C(=O)N(R^{A2})_2)CH_3$ ,  $-CH(C(=O)N(R^{A2})_2)CH_2CH_3$ ,  $-CH(CH_3)(CHC(=O)N(R^{A2})_2)$ , y  $-C(C(=O)N(R^{A2})_2)(CH_3)_2$ .

Como se ha descrito generalmente anteriormente, cada caso de  $R^{A2}$  es independientemente hidrógeno o alquilo  $C_{1-10}$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^{A2}$  es independientemente hidrógeno o alquilo  $C_{1-8}$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^{A2}$  es independientemente hidrógeno o alquilo  $C_1$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^{A2}$  es independientemente hidrógeno o alquilo  $C_{1-6}$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^{A2}$  es independientemente hidrógeno o alquilo  $C_{1-3}$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^{A2}$  es independientemente hidrógeno o alquilo  $C_{1-2}$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^{A2}$  es independientemente hidrógeno o alquilo  $C_1$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^{A2}$  es independientemente hidrógeno.

(ii) *Realizaciones en las que uno de  $R^1$  y  $R^2$  es hidrógeno*

En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^2$  es hidrógeno. En este caso, en determinadas realizaciones, cada caso de  $R^1$  es independientemente un alquilo  $C_{1-3}$  sin sustituir o un alquilo  $C_{1-3}$  sustituido con  $-CO_2R^{A1}$  o  $-C(=O)N(R^{A1})_2$ . En determinadas realizaciones, al menos un caso de  $R^1$  es un alquilo  $C_{1-3}$  sustituido con  $-CO_2R^{A1}$ . En determinadas realizaciones, al menos un caso de  $R^1$  es un alquilo  $C_{1-3}$  sustituido con  $-C(=O)N(R^{A1})_2$ . En determinadas realizaciones, al menos un caso de  $R^1$  es un alquilo  $C_{1-3}$  sin sustituir. En determinadas realizaciones, al menos dos casos de  $R^1$  es un alquilo  $C_{1-3}$  sin sustituir o un alquilo  $C_{1-3}$  sustituido con  $-CO_2R^{A1}$ . En determinadas realizaciones, al menos dos casos de  $R^1$  es un alquilo  $C_{1-3}$  sustituido con  $-CO_2R^{A1}$ . En determinadas realizaciones, al menos dos casos de  $R^1$  es un alquilo  $C_{1-3}$  sustituido con  $-C(=O)N(R^{A1})_2$ . En determinadas realizaciones, al menos dos casos de  $R^1$  es un alquilo  $C_{1-3}$  sin sustituir.

En determinadas realizaciones,  $R^2$  es hidrógeno y cada caso de  $R^1$  es independientemente alquilo  $C_{1-3}$  sin sustituir o alquilo  $C_{1-3}$  sustituido con  $-CO_2R^{A1}$  o  $-C(=O)N(R^{A1})_2$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^1$  es independientemente alquilo  $C_{1-2}$  sin sustituir o alquilo  $C_{1-2}$  sustituido con  $-CO_2R^{A1}$  o  $-C(=O)N(R^{A1})_2$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^1$  es independientemente alquilo  $C_{2-3}$  sin sustituir o alquilo  $C_{2-3}$  sustituido con  $-CO_2R^{A1}$  o  $-C(=O)N(R^{A1})_2$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^1$  es independientemente alquilo  $C_1$  sin sustituir o alquilo  $C_1$  sustituido con  $-CO_2R^{A1}$  o  $-C(=O)N(R^{A1})_2$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^1$  es independientemente alquilo  $C_2$  sin sustituir o alquilo  $C_2$  sustituido con  $-CO_2R^{A1}$  o  $-C(=O)N(R^{A1})_2$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^1$  es independientemente alquilo  $C_3$  sin sustituir o alquilo  $C_3$  sustituido con  $-CO_2R^{A1}$  o  $-C(=O)N(R^{A1})_2$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^1$  es independientemente  $-CH_3$ ,  $-CH_2CH_3$ ,  $-CH_2CH_2CH_3$ ,  $-CH(CH_3)_2$ ,  $-CH_2CO_2R^{A1}$ ,  $-CH_2CH_2CO_2R^{A1}$ ,  $-CH(CO_2R^{A1})CH_3$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CO_2R^{A1}$ ,  $-CH_2CH(CO_2R^{A1})CH_3$ ,  $-CH(CO_2R^{A1})CH_2CH_3$ ,  $-CH(CH_3)(CHCO_2R^{A1})$ ,  $-C(CO_2R^{A1})(CH_3)_2$ ,  $-CH_2C(=O)N(R^{A1})_2$ ,  $-CH_2CH_2C(=O)N(R^{A1})_2$ ,  $-CH(C(=O)N(R^{A1})_2)CH_3$ ,  $-CH_2CH_2CH_2C(=O)N(R^{A1})_2$ ,  $-CH_2CH(C(=O)N(R^{A1})_2)CH_3$ ,  $-CH(C(=O)N(R^{A1})_2)CH_2CH_3$ ,  $-CH(CH_3)(CHC(=O)N(R^{A1})_2)$ , y  $-C(C(=O)N(R^{A1})_2)(CH_3)_2$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^1$  es independientemente  $-CH_3$ ,  $-CH_2CO_2R^{A1}$  o  $-CH_2C(=O)N(R^{A1})_2$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^1$  es  $-CH_3$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^1$  es independientemente  $-CH_2CO_2R^{A1}$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^1$  es  $-CH_2CO_2H$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^1$  es independientemente  $-CH_2C(=O)N(R^{A1})_2$ .

En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^2$  es hidrógeno y cada caso de  $R^1$  es independientemente alquilo  $C_{1-3}$  sustituido con  $-CO_2R^{A1}$ . En este caso, en determinadas realizaciones, cada caso de  $R^1$  es independientemente alquilo  $C_{1-2}$  sustituido con  $-CO_2R^{A1}$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^1$  es independientemente alquilo  $C_{2-3}$  sustituido con  $-CO_2R^{A1}$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^1$  es independientemente alquilo  $C_1$  sustituido con  $-CO_2R^{A1}$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^1$  es independientemente alquilo  $C_2$  sustituido





realizaciones, cada caso de  $R^1$  es independientemente  $-\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{R}^{\text{A}1})_2$ .

En cualquiera de las realizaciones anteriores,  $R^2$  es independientemente un alquilo  $\text{C}_{1-3}$  sin sustituir o un alquilo  $\text{C}_{1-3}$  sustituido con  $-\text{CO}_2\text{R}^{\text{A}2}$  o  $-\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{R}^{\text{A}2})_2$ .

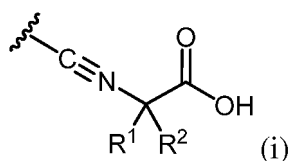
5 En cualquiera de las realizaciones anteriores, cada caso de  $R^2$  es independientemente alquilo  $\text{C}_{1-3}$  sustituido con  $-\text{CO}_2\text{R}^{\text{A}2}$ . En este caso, en determinadas realizaciones, cada caso de  $R^2$  es independientemente alquilo  $\text{C}_{1-2}$  sustituido con  $-\text{CO}_2\text{R}^{\text{A}2}$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^2$  es independientemente alquilo  $\text{C}_{2-3}$  sustituido con  $-\text{CO}_2\text{R}^{\text{A}2}$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^2$  es independientemente alquilo  $\text{C}_1$  sustituido con  $-\text{CO}_2\text{R}^{\text{A}2}$ .  
 10 En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^2$  es independientemente alquilo  $\text{C}_2$  sustituido con  $-\text{CO}_2\text{R}^{\text{A}2}$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^2$  es independientemente alquilo  $\text{C}_3$  sustituido con  $-\text{CO}_2\text{R}^{\text{A}2}$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^2$  es independientemente  $-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{R}^{\text{A}2}$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{R}^{\text{A}2}$ ,  $-\text{CH}(\text{CO}_2\text{R}^{\text{A}2})\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{R}^{\text{A}2}$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CO}_2\text{R}^{\text{A}2})\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}(\text{CO}_2\text{R}^{\text{A}2})\text{CH}_2\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}(\text{CH}_3)(\text{CHCO}_2\text{R}^{\text{A}2})$ , o  $-\text{C}(\text{CO}_2\text{R}^{\text{A}2})(\text{CH}_3)_2$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^2$  es independientemente  $-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{R}^{\text{A}2}$ .  
 15 En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^2$  es  $-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ .

En cualquiera de las realizaciones anteriores, cada caso de  $R^2$  es independientemente alquilo  $\text{C}_{1-3}$  sustituido con  $-\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{R}^{\text{A}2})_2$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^2$  es independientemente alquilo  $\text{C}_{1-2}$  sustituido con  $-\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{R}^{\text{A}2})_2$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^2$  es independientemente alquilo  $\text{C}_{2-3}$  sustituido con  $-\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{R}^{\text{A}2})_2$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^2$  es independientemente alquilo  $\text{C}_1$  sustituido con  $-\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{R}^{\text{A}2})_2$ .  
 20 En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^2$  es independientemente alquilo  $\text{C}_2$  sustituido con  $-\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{R}^{\text{A}2})_2$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^2$  es independientemente alquilo  $\text{C}_3$  sustituido con  $-\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{R}^{\text{A}2})_2$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^2$  es independientemente  $-\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{R}^{\text{A}2})_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{R}^{\text{A}2})_2$ ,  $-\text{CH}(\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{R}^{\text{A}2})_2)\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{R}^{\text{A}2})_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{R}^{\text{A}2})_2)\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}(\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{R}^{\text{A}2})_2)\text{CH}_2\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}(\text{CH}_3)(\text{CHC}(=\text{O})\text{N}(\text{R}^{\text{A}2})_2)$ , y  $-\text{C}(\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{R}^{\text{A}2})_2)(\text{CH}_3)_2$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^2$  es independientemente  $-\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{R}^{\text{A}2})_2$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^2$  es  $-\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{NH}_2$ .

En cualquiera de las realizaciones anteriores, cada caso de  $R^2$  es independientemente alquilo  $\text{C}_{1-3}$  sin sustituir. En este caso, en determinadas realizaciones, cada caso de  $R^2$  es independientemente alquilo  $\text{C}_{1-2}$  sin sustituir. En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^2$  es independientemente alquilo  $\text{C}_{2-3}$  sin sustituir. En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^2$  es independientemente alquilo  $\text{C}_1$  sin sustituir. En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^2$  es independientemente alquilo  $\text{C}_2$  sin sustituir. En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^2$  es independientemente alquilo  $\text{C}_3$  sin sustituir. En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^2$  es independientemente  $-\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ , o  $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^2$  es  $-\text{CH}_3$ .

(iv) Realizaciones adicionales

Se ha de apreciar a partir del análisis anterior que el compuesto de Fórmula (I), como se ha descrito anteriormente, y subconjuntos del mismo (por ejemplo, compuestos de Fórmula (II)), incluyen compuestos en los que cada caso del ligando (i):



45 puede ser igual o diferente. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, cada caso del ligando (i) es el mismo. En determinadas realizaciones, al menos un caso del ligando (i) es diferente.

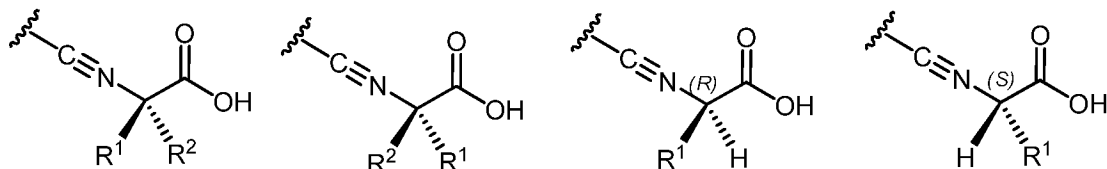
En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^1$  es el mismo. En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^2$  es el mismo. Por ejemplo, en determinadas realizaciones,  $R^1$  y  $R^2$  unidos al mismo carbono son iguales. En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^1$  y  $R^2$  es  $-\text{CH}_3$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^1$  y  $R^2$  es  $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^1$  y  $R^2$  es  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^1$  y  $R^2$  es  $-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^1$  y  $R^2$  es  $-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_3$ .

55 Sin embargo, en determinadas realizaciones, al menos un caso de  $R^1$  es diferente de  $R^2$  unido al mismo carbono o de otro caso de  $R^1$ . En determinadas realizaciones, al menos un caso de  $R^2$  es diferente de  $R^1$  unido al mismo carbono o de otro caso de  $R^2$ . En determinadas realizaciones,  $R^1$  y  $R^2$  unidos al mismo carbono son grupos diferentes. Por ejemplo, en determinadas realizaciones,  $R^2$  es hidrógeno y  $R^1$  es  $-\text{CH}_3$ . En determinadas realizaciones,  $R^2$  es hidrógeno y  $R^1$  es  $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ . En determinadas realizaciones,  $R^2$  es hidrógeno y  $R^1$  es  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ . En determinadas realizaciones,  $R^2$  es hidrógeno y  $R^1$  es  $-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ . En determinadas realizaciones,  $R^2$  es hidrógeno y  $R^1$  es  $-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_3$ .



Como se entiende a partir del análisis anterior, los grupos  $R^1$  y  $R^2$  unidos al mismo carbono pueden ser diferentes cada uno, *por ejemplo*, por ejemplo, en los que  $R^2$  es hidrógeno y  $R^1$  no es hidrógeno. En este caso, el ligando de la fórmula (i) es un ligando quiral, es *decir*, que tiene estereoquímica (R) o (S). En determinadas realizaciones, el ligando quiral tiene estereoquímica (R). En determinadas realizaciones, el ligando quiral tiene estereoquímica (S).

5



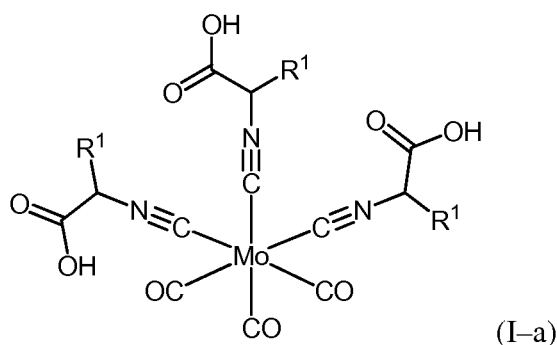
Se contemplan adicionalmente en el presente documento diversas realizaciones de las realizaciones descritas anteriormente.

10

Por ejemplo, en ciertas realizaciones de Fórmula (I), ni  $R^1$  ni  $R^2$  son hidrógeno.

En otras realizaciones de Fórmula (I), cada caso de  $R^2$  es hidrógeno, es *decir*, para proporcionar un compuesto de la Fórmula (I-a):

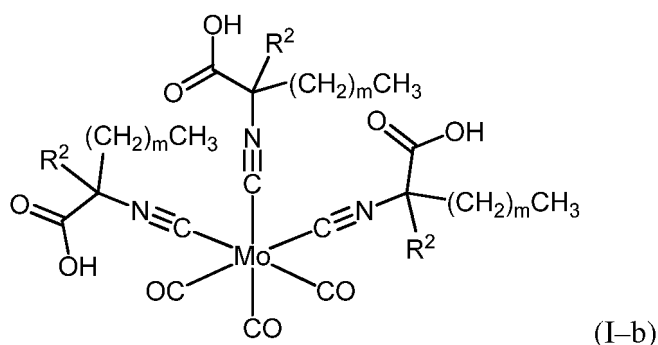
15



o una sal, éster, amida, solvato, o hidrato del mismo, o una combinación de los mismos; en la que  $R^1$  es como se describe en el presente documento.

20

En otras realizaciones, cuando  $R^1$  es un alquilo  $C_{1-3}$  sin sustituir, el compuesto de Fórmula (I) es un compuesto de la Fórmula (I-b):

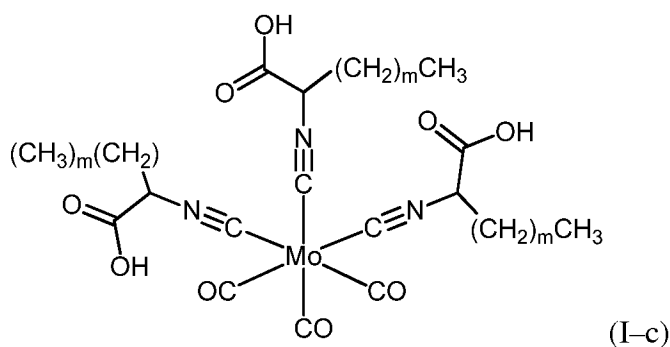


25

o una sal, éster, amida, solvato, o hidrato del mismo, o una combinación de los mismos; en la que  $R^2$  es como se describe en el presente documento y cada caso de m es independientemente 0, 1 o 2. En determinadas realizaciones, m es 0. En determinadas realizaciones, m es 1. En determinadas realizaciones, m es 2. En determinadas realizaciones,  $R^2$  es hidrógeno. En ciertas realizaciones  $R^2$  no es hidrógeno.

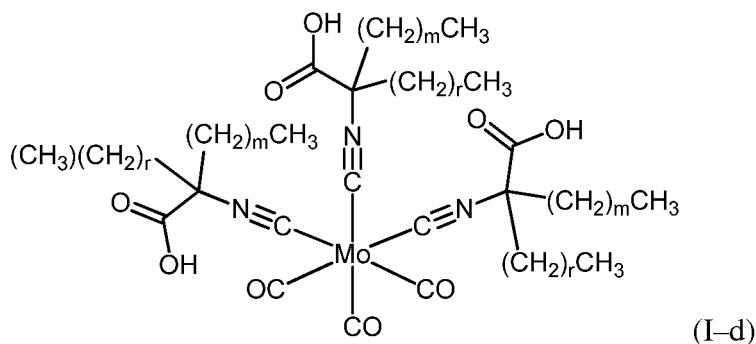
30

Por ejemplo, en ciertas realizaciones de Fórmula (I-b), en la que  $R^2$  es hidrógeno, el compuesto de la Fórmula (I) es un compuesto de la Fórmula (I-c):



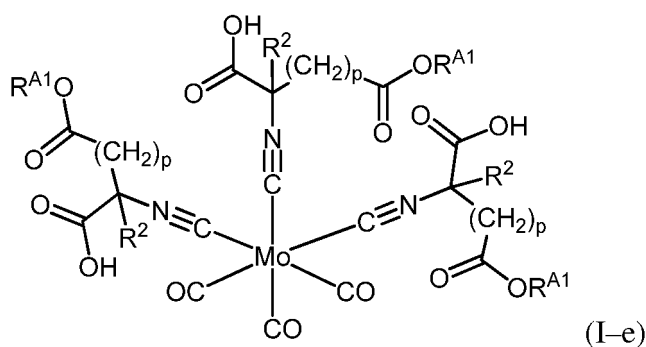
o una sal, éster, amida, solvato, o hidrato del mismo, o una combinación de los mismos; en la que cada caso de m es independientemente 0, 1 o 2. En determinadas realizaciones, m es 0. En determinadas realizaciones, m es 1. En determinadas realizaciones, m es 2.

En determinadas realizaciones de fórmula (I-b), en la que R<sup>2</sup> es un alquilo C<sub>1-3</sub> sin sustituir, el compuesto es de la Fórmula (I-d):



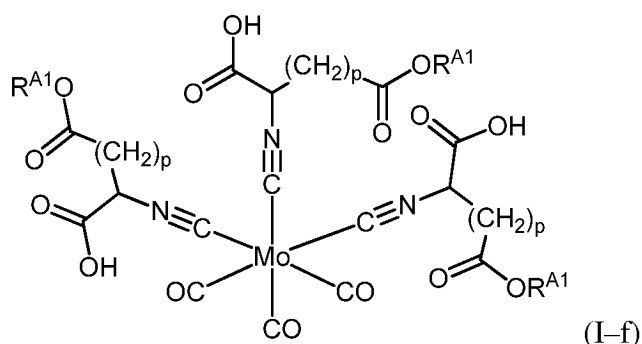
o una sal, éster, amida, solvato, o hidrato del mismo, o una combinación de los mismos; en la que cada caso de r es independientemente 0, 1 o 2. En determinadas realizaciones, r es 0. En determinadas realizaciones, r es 1. En determinadas realizaciones, r es 2.

En otras realizaciones más, en la que R<sup>1</sup> es un alquilo C<sub>1-3</sub> sustituido con -CO<sub>2</sub>R<sup>A1</sup>, el compuesto de Fórmula (I) es un compuesto de la Fórmula (I-e):



o una sal, éster, amida, solvato, o hidrato del mismo, o una combinación de los mismos; en la que R<sup>2</sup> y R<sup>A1</sup> son como se describen en el presente documento, y cada caso de p es independientemente 1, 2 o 3. En determinadas realizaciones, p es 1. En determinadas realizaciones, p es 2. En determinadas realizaciones, p es 3. En determinadas realizaciones, R<sup>2</sup> es hidrógeno. En determinadas realizaciones, R<sup>2</sup> no es hidrógeno. En determinadas realizaciones, R<sup>A1</sup> es hidrógeno.

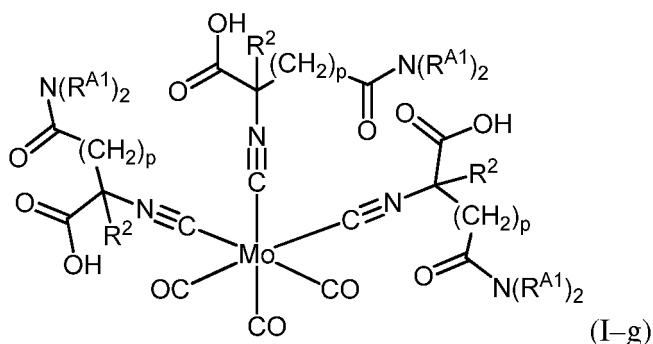
Por ejemplo, en ciertas realizaciones de Fórmula (I-e), en la que R<sup>2</sup> es hidrógeno, el compuesto es de la Fórmula (I-f):



o una sal, éster, amida, solvato, o hidrato del mismo, o una combinación de los mismos; en la que  $R^{A1}$  es como se describe en el presente documento, y cada caso de  $p$  es independientemente 1, 2 o 3. En determinadas realizaciones,  $p$  es 1. En determinadas realizaciones,  $p$  es 2. En determinadas realizaciones,  $p$  es 3. En determinadas realizaciones,  $R^{A1}$  es hidrógeno.

En otras realizaciones más, cuando  $R^1$  es un alquilo  $C_{1-3}$  sustituido con  $-CO_2N(R^{A1})_2$ , el compuesto de Fórmula (I) es un compuesto de la Fórmula (I-g):

10

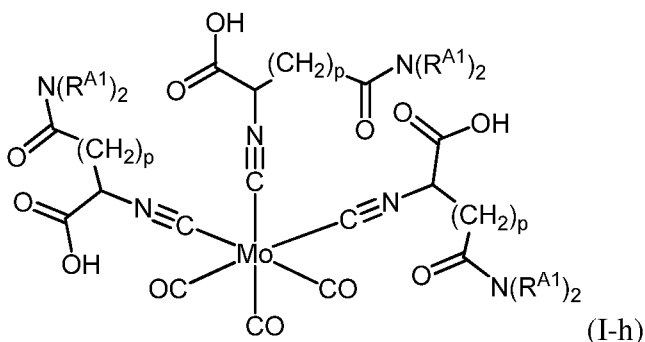


o una sal, éster, amida, solvato, o hidrato del mismo, o una combinación de los mismos; en la que  $R^{A1}$  es como se describe en el presente documento, y cada caso de  $p$  es independientemente 1, 2 o 3. En determinadas realizaciones,  $p$  es 1. En determinadas realizaciones,  $p$  es 2. En determinadas realizaciones,  $p$  es 3. En determinadas realizaciones,  $R^{A1}$  es hidrógeno.

15

Por ejemplo, en ciertas realizaciones de Fórmula (I-g), en la que  $R^2$  es hidrógeno, el compuesto es de la Fórmula (I-h):

20

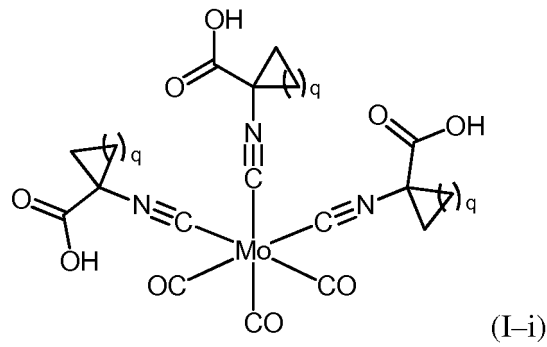


o una sal, éster, amida, solvato, o hidrato del mismo, o una combinación de los mismos; en la que  $R^{A1}$  es como se describe en el presente documento, y cada caso de  $p$  es independientemente 1, 2 o 3. En determinadas realizaciones,  $p$  es 1. En determinadas realizaciones,  $p$  es 2. En determinadas realizaciones,  $p$  es 3. En determinadas realizaciones,  $R^{A1}$  es hidrógeno.

25

En aún otras realizaciones más de Fórmula (I), en la que cada caso de  $R^1$  y  $R^2$  y el carbono al que están unidos ambos se unen independientemente para formar un carbociclico  $C_{3-4}$ , el compuesto es de la Fórmula (I-i):

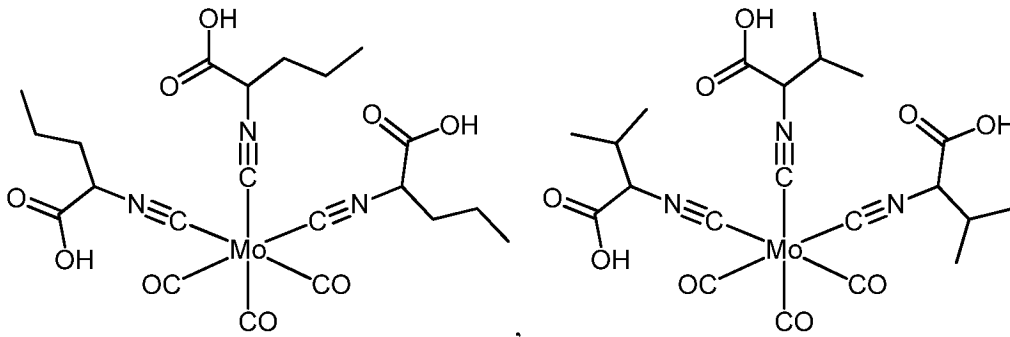
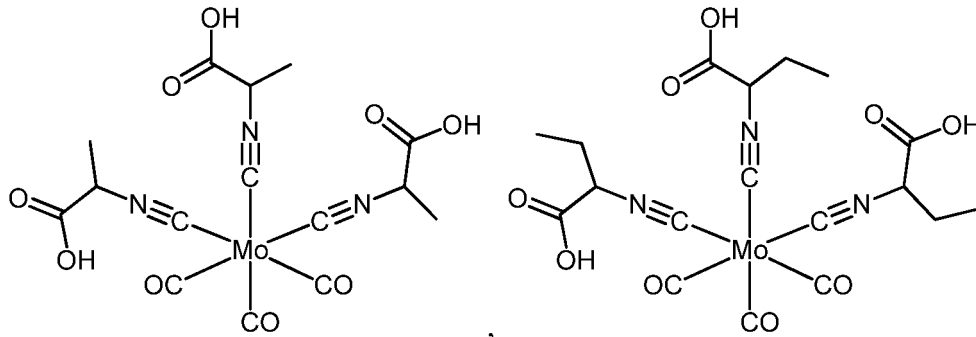
30



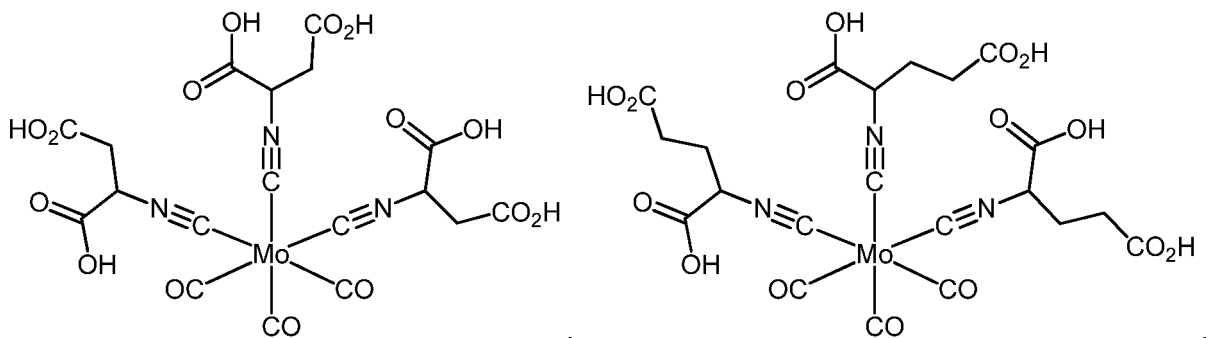
o una sal, éster, amida, solvato, o hidrato del mismo, o una combinación de los mismos; en la que cada caso de q es independientemente 1 o 2. En determinadas realizaciones, q es 1. En determinadas realizaciones, q es 2.

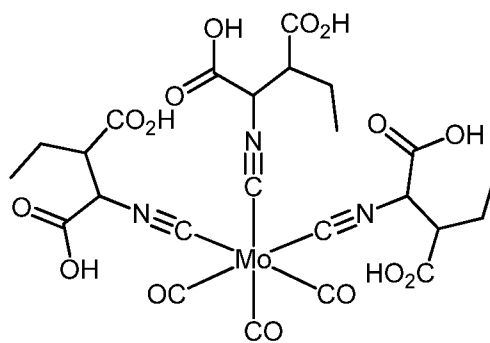
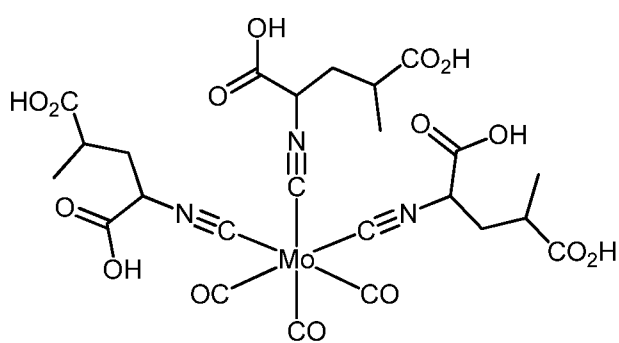
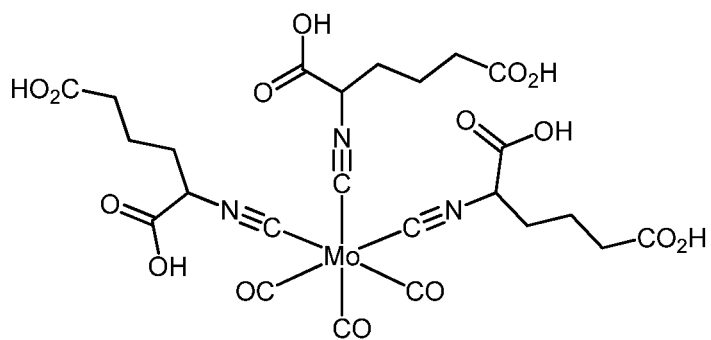
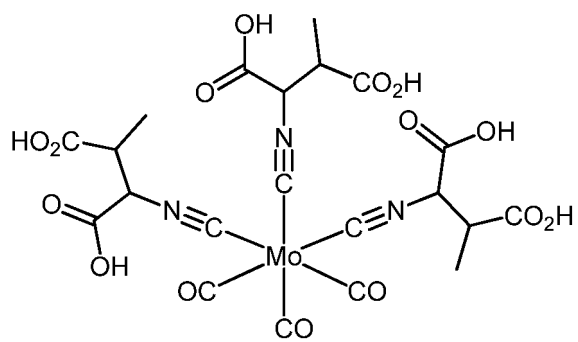
5

Los compuestos a modo de ejemplo de Fórmula (I) incluyen, pero sin limitación:

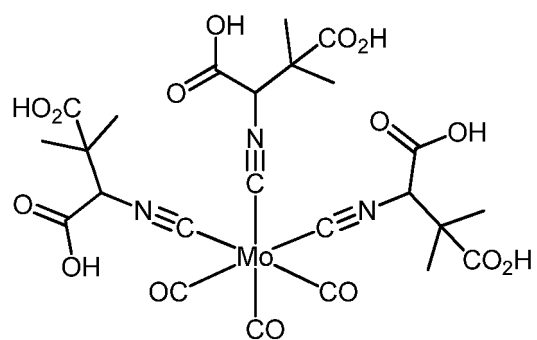
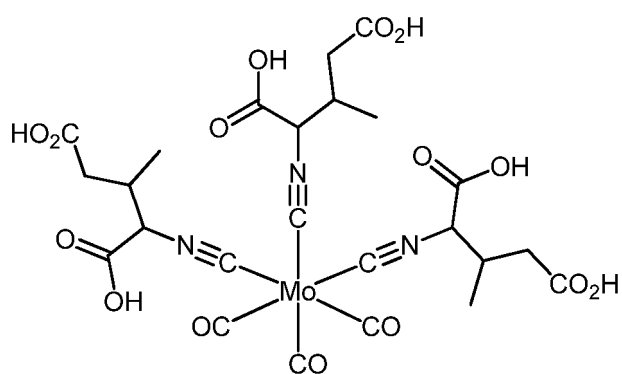


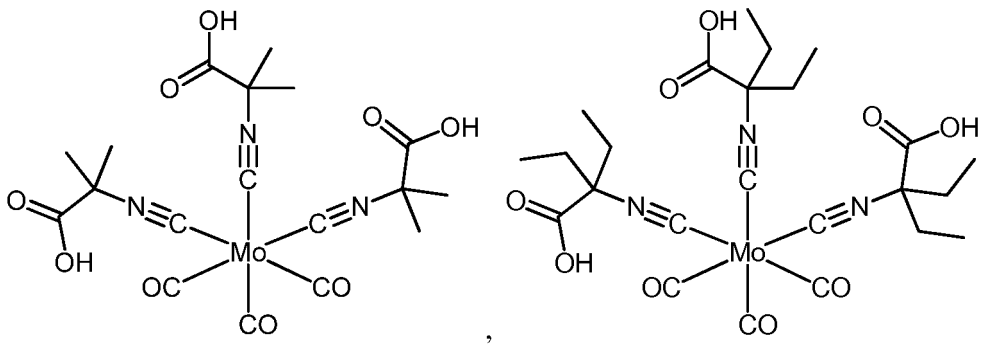
10



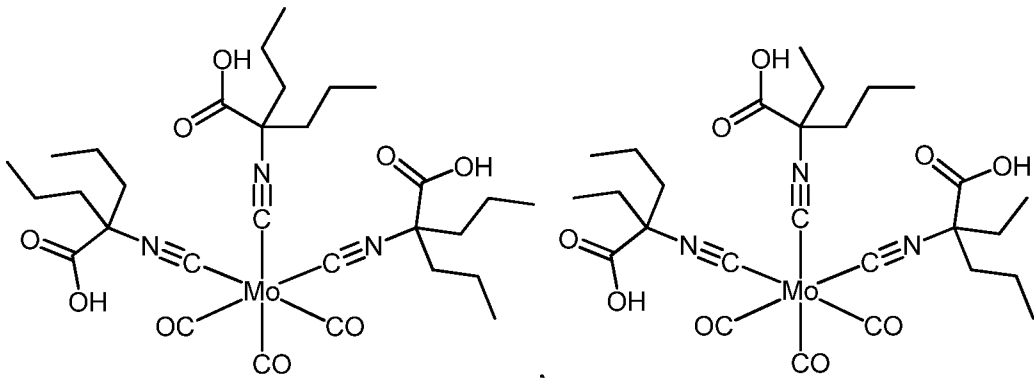


5

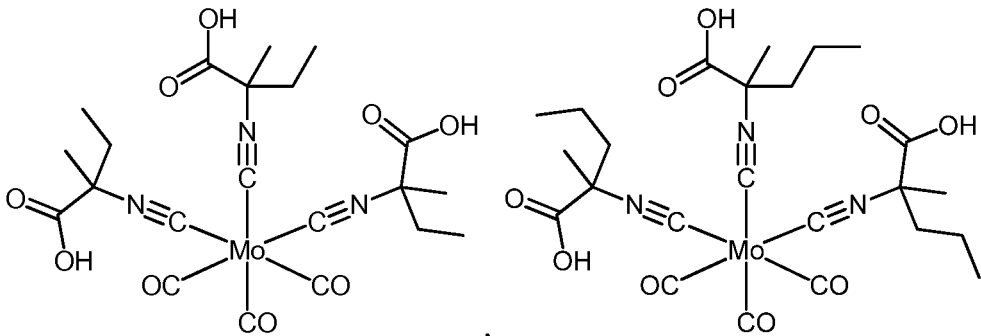




,

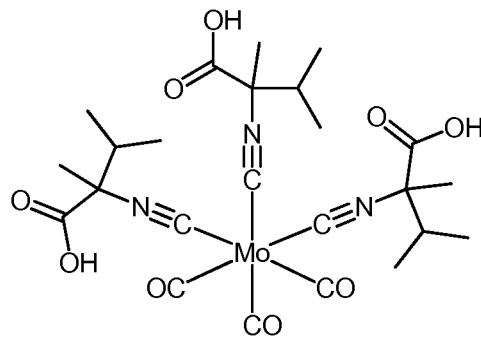


,

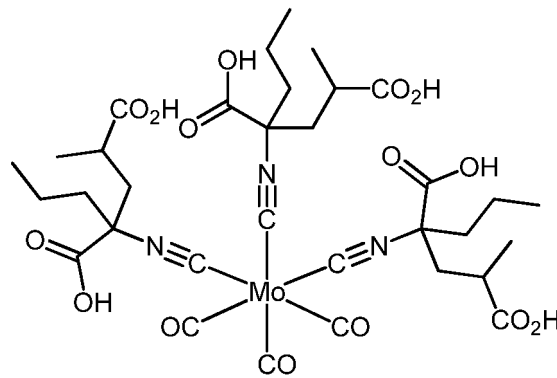
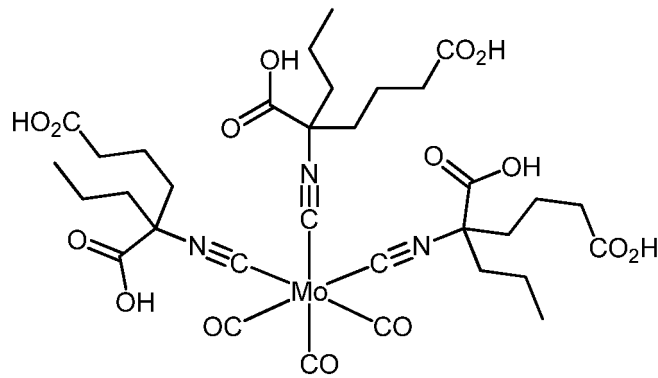
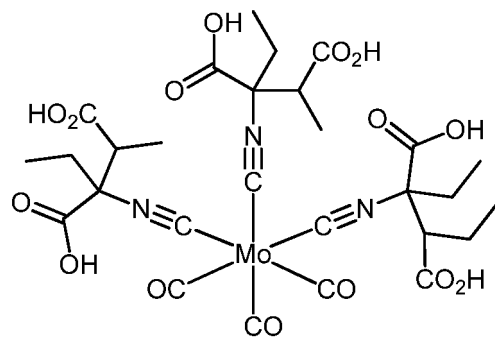
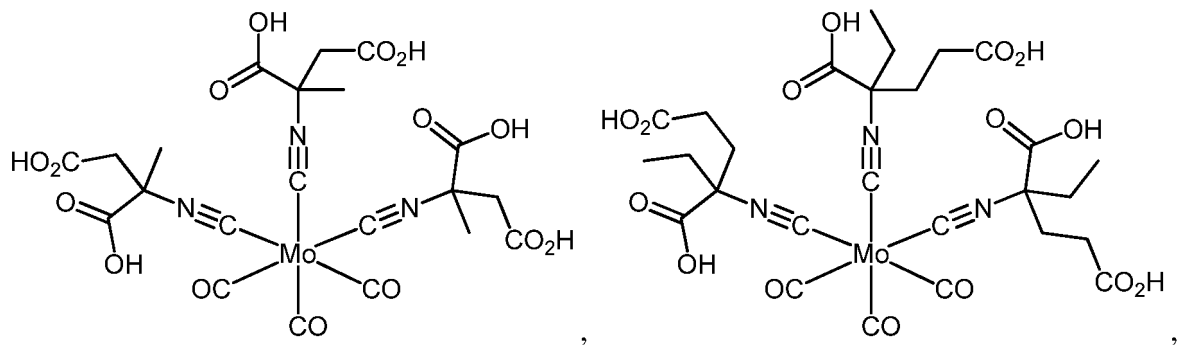


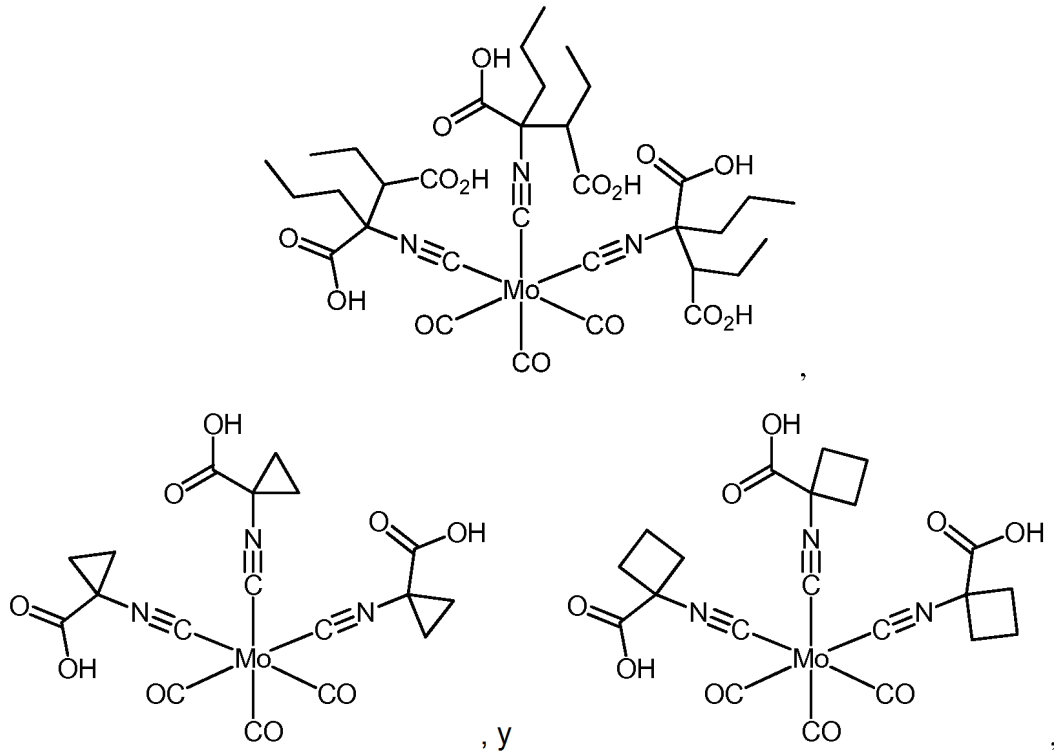
,

5



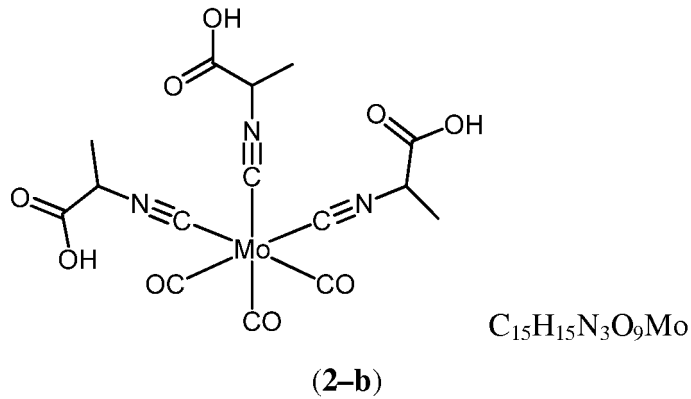
,





5 y sales, ésteres, amidas, solvatos, e hidratos de los mismos, y combinaciones de los mismos.

En determinadas realizaciones, el compuesto de Fórmula (I) es el compuesto **(2-b)**:

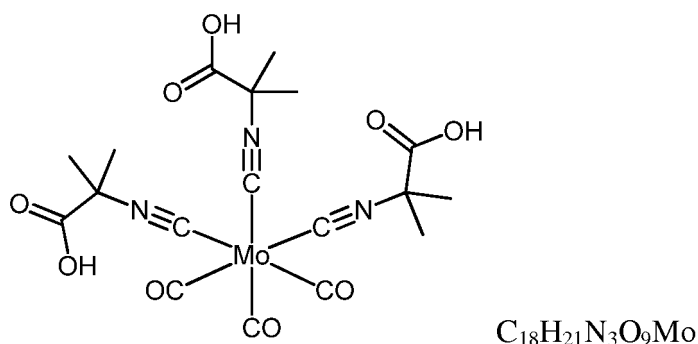


10 o una sal, éster, amida, solvato, o hidrato del mismo, o una combinación de los mismos.

La presente descripción también proporciona un compuesto de la fórmula molecular  $C_{15}H_{15}N_3O_9Mo$  o una sal, éster, amida, solvato, o hidrato del mismo, o una combinación de los mismos.

15 En determinadas realizaciones, el compuesto de Fórmula (I) es el compuesto **(3-b)**:



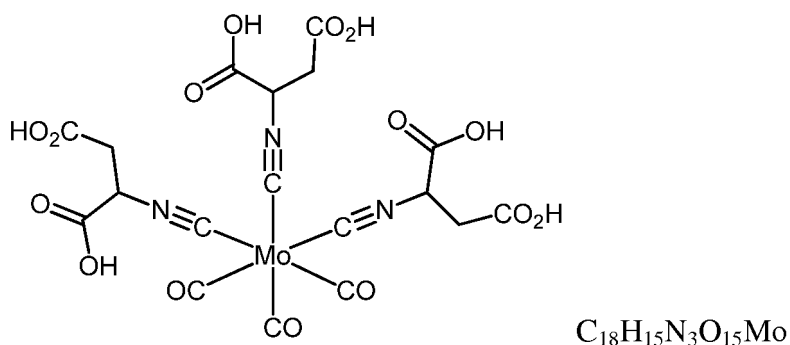


(3-b)

o una sal, éster, amida, solvato, o hidrato del mismo, o una combinación de los mismos.

- 5 La presente descripción también proporciona un compuesto de la fórmula molecular  $C_{18}H_{21}N_3O_9Mo$  o una sal, éster, amida, solvato, o hidrato del mismo, o una combinación de los mismos.

En determinadas realizaciones, el compuesto de Fórmula (I) es el compuesto (4-b):



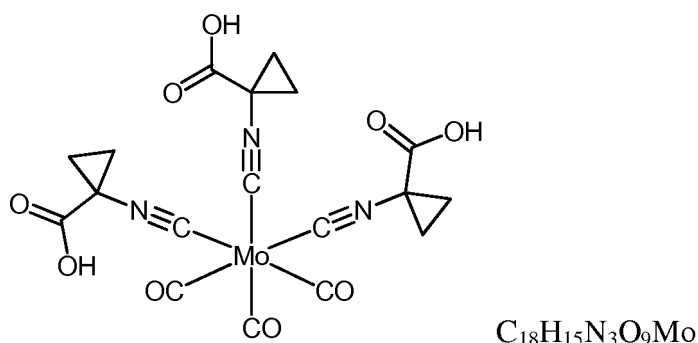
(4-b)

10

o una sal, éster, amida, solvato, o hidrato del mismo, o una combinación de los mismos.

- 15 La presente descripción también proporciona un compuesto de la fórmula molecular  $C_{18}H_{15}N_3O_{15}Mo$  o una sal, éster, amida, solvato, o hidrato del mismo, o una combinación de los mismos.

En determinadas realizaciones, el compuesto de Fórmula (I) es el compuesto (5-b):



(5-b)

20

o una sal, éster, amida, solvato, o hidrato del mismo, o una combinación de los mismos.

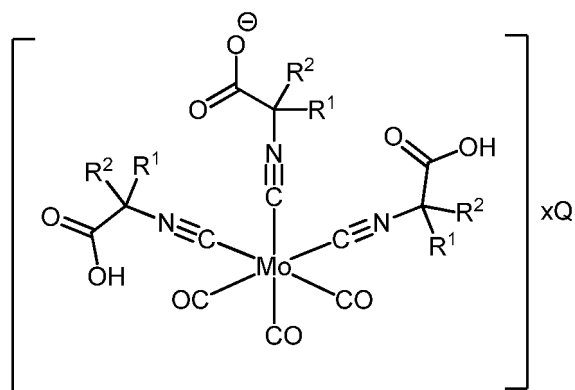
La presente descripción también proporciona un compuesto de la fórmula molecular  $C_{18}H_{15}N_3O_9Mo$  o una sal, éster, amida, solvato, o hidrato del mismo, o una combinación de los mismos.

25

Se entiende que el compuesto de Fórmula (I) incluye sales, ésteres, amidas, solvatos, hidratos y cualquier

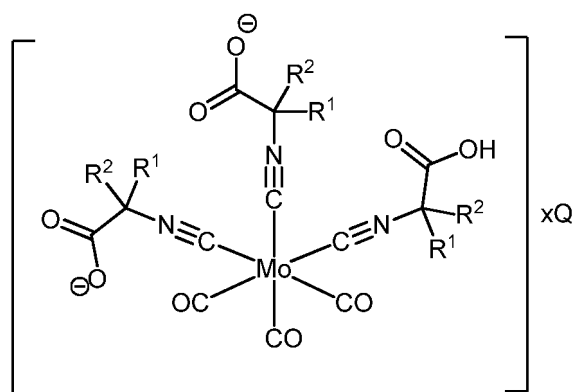
combinación de los mismos, del compuesto. Las sales, ésteres, amidas, solvatos, e hidratos se describen en el presente documento.

- 5 En determinadas realizaciones, el compuesto de Fórmula (I) comprende una sal. En determinadas realizaciones, el compuesto de Fórmula (I) comprende una mezcla del compuesto completamente protonado y una o más sales. Las formas de sales específicas del compuesto de Fórmula (I) se contemplan en el presente documento ya que el compuesto contiene múltiples grupos ácidos que pueden formar una sal tras el contacto con una base ("sal de adición de bases").
- 10 Por ejemplo, en determinadas realizaciones, la sal del compuesto de Fórmula (I) es una sal proporcionada a partir de la desprotonación de uno, dos, tres, o más grupos de ácidos carboxílicos unidos al mismo, *por ejemplo*, tal como las sales representadas en la Fórmula (I-j), (I-k), (I-l), o (I-m):

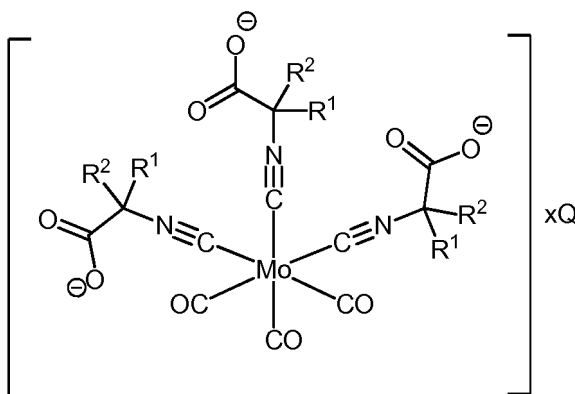


(I-j)

15

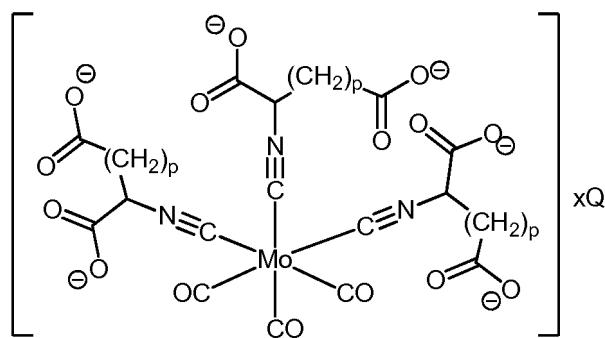


(I-k)



(I-l)

20 o



(I-m)

o un solvato o hidrato de los mismos, o una combinación de los mismos, en las que x es 1, 2, 3, 4, 5 o 6, y Q es un catión, es *decir*, que hace neutro al compuesto.

5

Es evidente a partir de la representación del compuesto de Fórmula (I-m) que la presente descripción contempla la formación de sales a partir de la desprotonación de uno o más sustituyentes  $-\text{CO}_2\text{H}$  unidos al ligando (i). Por razones de brevedad, el compuesto de Fórmula (I-m) se representa como completamente desprotonado. Sin embargo, todas las formas de sales intermedias, en las que 1, 2, 3, 4 o 5 de los grupos de ácido carboxílico están desprotonados,

10

Además, como se entenderá a partir de lo anterior, Q puede ser cualquier catión, es *decir*, cualquier átomo o grupo de átomos que lleva una carga positiva. En determinadas realizaciones, cada caso del catión Q es independientemente  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ , o una amina cuaternaria de la fórmula  $[\text{NR}^{\text{B}}_4]^+$ , en la que cada  $\text{R}^{\text{B}}$  es independientemente hidrógeno o alquilo  $\text{C}_{1-10}$  sustituido o sin sustituir, o dos grupos  $\text{R}^{\text{B}}$  están unidos para formar un anillo de heteroarilo de 5-10 miembros sustituido o sin sustituir o anillo de heterociclilo de 5-10 miembros sustituido o sin sustituir.

15

En determinadas realizaciones, al menos un caso de Q es  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ , o  $\text{Al}^{3+}$ . En determinadas realizaciones, al menos un caso de Q es  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ , o  $\text{Li}^+$ . En determinadas realizaciones, al menos un caso de Q es  $\text{Na}^+$ . En determinadas realizaciones, al menos un caso de Q es  $\text{K}^+$ . En determinadas realizaciones, al menos un caso de Q es  $\text{Li}^+$ . En determinadas realizaciones, cada caso del catión Q es independientemente  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ , o  $\text{Li}^+$ . En determinadas realizaciones, cada caso del catión Q es  $\text{Na}^+$  (es *decir*, para proporcionar una sal sódica). En determinadas realizaciones, cada caso del catión Q es  $\text{K}^+$  (es *decir*, para proporcionar una sal potásica). En determinadas realizaciones, cada caso del catión Q es  $\text{Li}^+$  (es *decir*, para proporcionar una sal de litio).

20

25

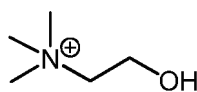
En determinadas realizaciones, al menos un caso del catión Q es una amina cuaternaria de la fórmula  $[\text{NR}^{\text{B}}_4]^+$  o  $[(\text{R}^{\text{B}})_2\text{N}=\text{R}^{\text{C}}]^+$  donde  $\text{R}^{\text{C}}$  es alquilo  $\text{C}_{1-10}$  sin sustituir o sustituido (por ejemplo, alquilo  $\text{C}_{1-8}$  sustituido o sin sustituir, alquilo  $\text{C}_{1-6}$  sustituido o sin sustituir, alquilo  $\text{C}_{1-6}$  sustituido o sin sustituir, alquilo  $\text{C}_{1-3}$  sustituido o sin sustituir, o alquilo  $\text{C}_{1-2}$  sustituido o sin sustituir), o  $\text{R}^{\text{C}}$  y  $\text{R}^{\text{B}}$  se unen para formar un anillo de heteroarilo de 5-10 miembros sustituido o sin sustituir o un anillo de heterociclilo de 5-10 miembros sustituido o sin sustituir; y cada caso de  $\text{R}^{\text{B}}$  es independientemente hidrógeno o alquilo  $\text{C}_{1-10}$  sustituido o sin sustituir (por ejemplo, alquilo  $\text{C}_{1-8}$  sustituido o sin sustituir, alquilo  $\text{C}_{1-6}$  sustituido o sin sustituir, alquilo  $\text{C}_{1-6}$  sustituido o sin sustituir, alquilo  $\text{C}_{1-3}$  sustituido o sin sustituir, o alquilo  $\text{C}_{1-2}$  sustituido o sin sustituir), o dos grupos  $\text{R}^{\text{B}}$  y el nitrógeno al que están unidos se unen para formar un anillo de heteroarilo 5-10 de miembros sustituido o sin sustituir, un anillo de heterociclilo de 5-10 miembros sustituido o sin sustituir.

30

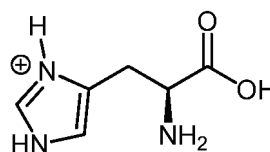
35

Las aminas cuaternarias a modo de ejemplo de la fórmula  $[\text{NR}^{\text{B}}_4]^+$  incluyen, pero sin limitación, colina, histidina, lisina, y arginina:

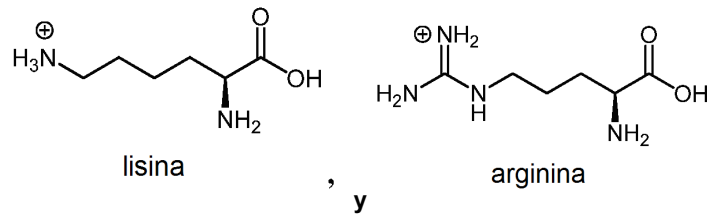
40



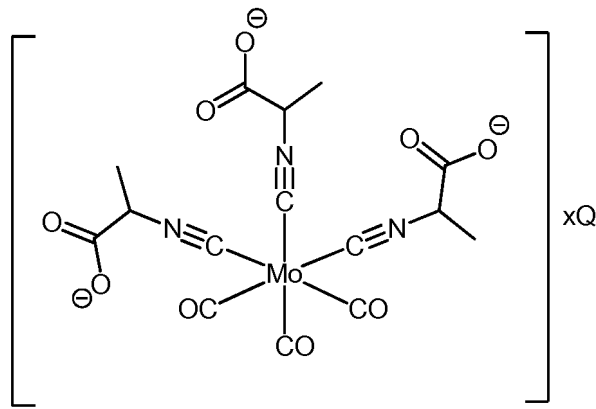
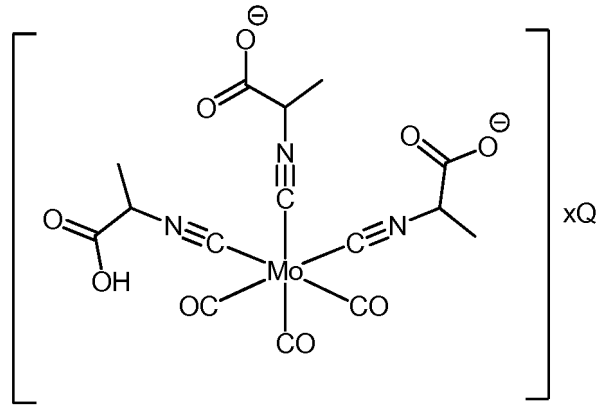
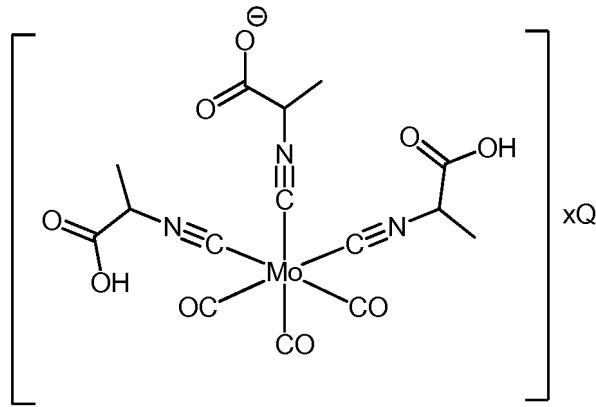
colina



histidina



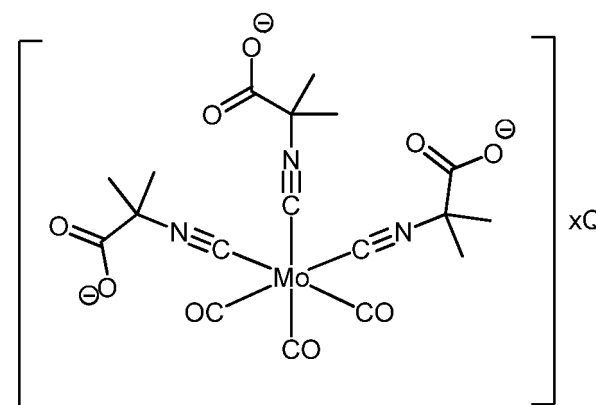
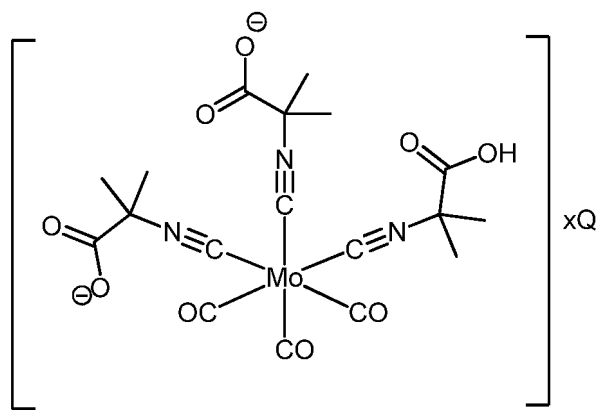
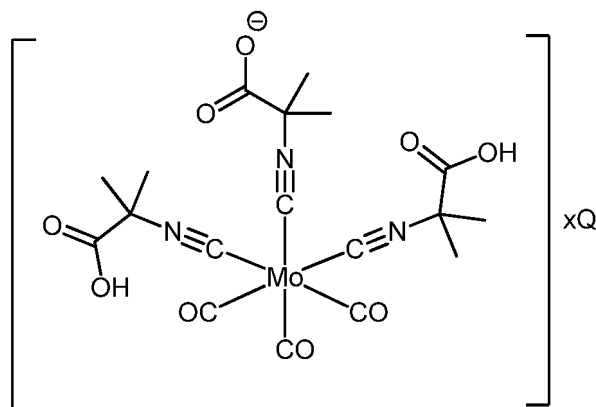
5 En determinadas realizaciones, una sal del compuesto (2-b) se selecciona entre cualquier de las siguientes formas de mono, di, o tri-sal:



10 o

15 o un solvato o hidrato del mismo, o una combinación de los mismos, en el que x es 1, 2 o 3, y Q es un catión, como se describe en el presente documento.

En determinadas realizaciones, una sal del compuesto (3-b) se selecciona entre cualquier de las siguientes formas de mono, di, o tri-sal:



o un solvato, o hidrato del mismo, o una combinación de los mismos, en el que x es 1, 2 o 3, y Q es un catión como se describe en el presente documento.

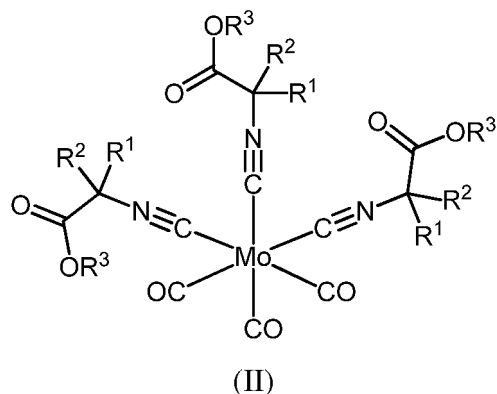
- 15 En determinadas realizaciones, el compuesto de Fórmula (I) es un éster y/o una amida, como se describe en el presente documento. En determinadas realizaciones, el éster y/o la amida hidroliza *in vivo* en el compuesto de ácido carboxílico de la Fórmula (I). En determinadas realizaciones, el éster y/o la amida es un profármaco. Un "profármaco" se refiere a un éster y/o una amida de un compuesto de Fórmula (I) que puede reaccionar en condiciones biológicas (*por ejemplo*, condiciones enzimáticas *in vitro* o *in vivo*) para proporcionar el compuesto precursor de ácido carboxílico. En determinadas realizaciones, un profármaco tiene propiedades físicas y/o de dispensación mejoradas con respecto al precursor. Los profármacos se diseñan normalmente para potenciar las propiedades farmacológicas, farmacéuticas y/o farmacocinéticas asociadas con el compuesto precursor. La ventaja de un profármaco puede residir en sus propiedades físicas, tales como una solubilidad en agua mejorada para administración parenteral a pH fisiológico en comparación con el compuesto precursor, o mejora la absorción del
- 20

tracto digestivo, o puede tener una estabilidad mejorada para el almacenamiento a largo plazo.

En determinadas realizaciones, el éster es un profármaco, es decir, hidroliza *in vivo* en el compuesto de ácido carboxílico de la Fórmula (I).

5

En determinadas realizaciones, el éster del compuesto de Fórmula (I) es un compuesto de Fórmula (II):

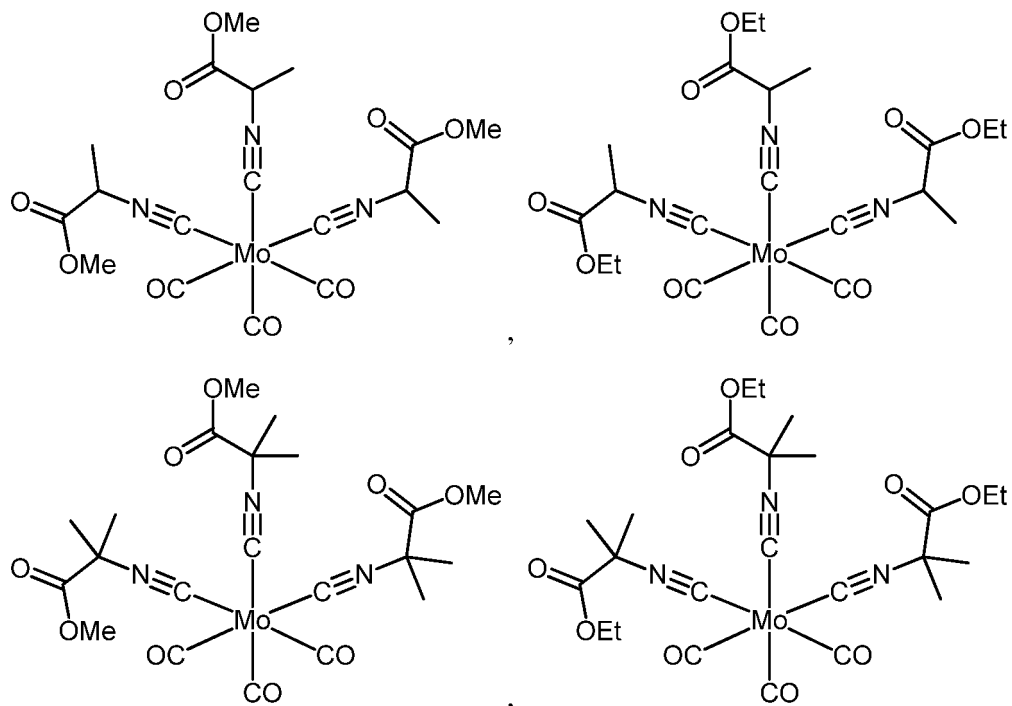


10 o una sal, solvato, o hidrato del mismo, o una combinación de los mismos; en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son como se describen en el presente documento; y cada caso de R<sup>3</sup> es independientemente alquilo C<sub>1-6</sub>, con la condición de que cada caso de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> unidos al mismo carbono no sea ninguno hidrógeno.

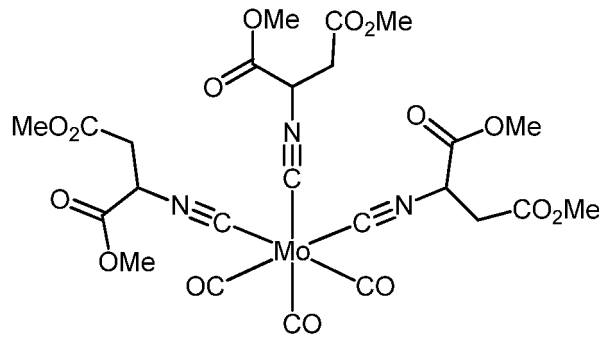
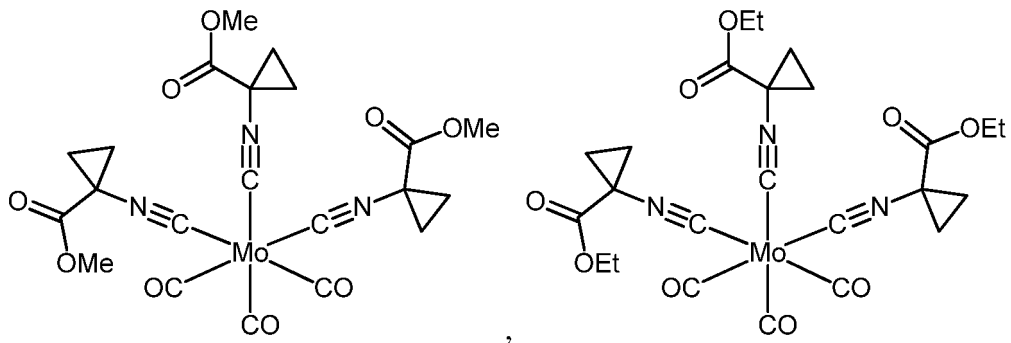
15 En determinadas realizaciones, cada caso de R<sup>3</sup> es independientemente alquilo C<sub>1-5</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub>, alquilo C<sub>1-3</sub>, alquilo C<sub>1-2</sub>, alquilo C<sub>2-6</sub>, alquilo C<sub>2-5</sub>, alquilo C<sub>2-4</sub>, alquilo C<sub>2-3</sub>, alquilo C<sub>3-6</sub>, alquilo C<sub>3-5</sub>, alquilo C<sub>3-4</sub>, alquilo C<sub>4-6</sub>, alquilo C<sub>5-6</sub>, alquilo C<sub>6</sub>, alquilo C<sub>5</sub>, alquilo C<sub>4</sub>, alquilo C<sub>3</sub>, alquilo C<sub>2</sub>, o alquilo C<sub>1</sub>. En determinadas realizaciones, cada caso de R<sup>3</sup> es independientemente -CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, o -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>. En determinadas realizaciones, cada caso de R<sup>3</sup> es -CH<sub>3</sub>.

20

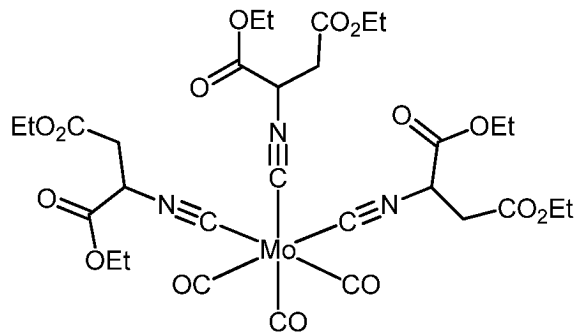
Los compuestos a modo de ejemplo de Fórmula (II) incluyen, pero sin limitación:



25



y

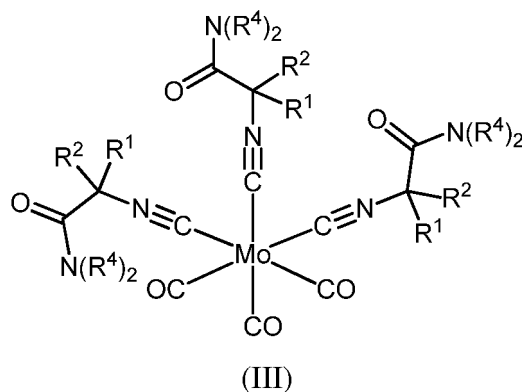


5

y sales, solvatos, e hidratos de los mismos, y combinaciones de los mismos.

10 En determinadas realizaciones, el compuesto de Fórmula (I) es una amida, como se describe en el presente documento. En determinadas realizaciones, la amida es un profármaco, es decir, hidroliza *in vivo* en el compuesto de ácido carboxílico de la Fórmula (I).

En determinadas realizaciones, la amida del compuesto de Fórmula (I) es un compuesto de Fórmula (III):



15

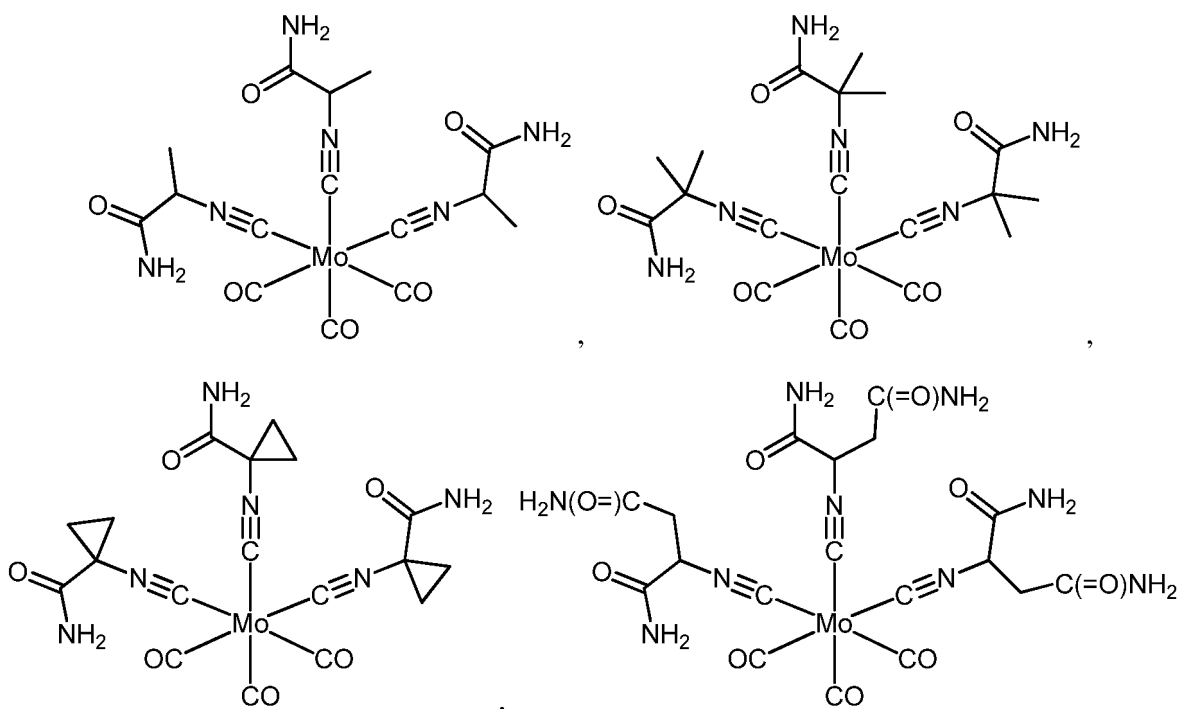
o una sal, solvato, o hidrato del mismo, o una combinación de los mismos; en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son como se describen

en el presente documento; y cada

caso de  $R^4$  es independientemente hidrógeno o alquilo  $C_{1-6}$ , con la condición de que cada caso de  $R^1$  y  $R^2$  unidos al mismo carbono no sea ninguno hidrógeno.

5 En determinadas realizaciones,  $R^4$  es alquilo  $C_{1-5}$ , alquilo  $C_{1-6}$ , alquilo  $C_{1-3}$ , alquilo  $C_{1-2}$ , alquilo  $C_{2-6}$ , alquilo  $C_{2-5}$ , alquilo  $C_{2-4}$ , alquilo  $C_{2-3}$ , alquilo  $C_{3-6}$ , alquilo  $C_{3-5}$ , alquilo  $C_{3-4}$ , alquilo  $C_{4-6}$ , alquilo  $C_{5-6}$ , alquilo  $C_6$ , alquilo  $C_5$ , alquilo  $C_4$ , alquilo  $C_3$ , alquilo  $C_2$ , o alquilo  $C_1$ . En determinadas realizaciones,  $R^4$  es  $-CH_3$ ,  $-CH_2CH_3$ ,  $-CH_2CH_2CH_3$ ,  $-CH(CH_3)_2$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CH_3$ ,  $-CH_2CH(CH_3)_2$ ,  $-C(CH_3)_3$ ,  $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$ ,  $-CH_2CH_2CH(CH_3)_2$ , o  $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^4$  es  $-CH_3$ . En determinadas realizaciones, cada caso de  $R^4$  es  $-CH_2CH_3$ .

Los compuestos a modo de ejemplo de Fórmula (III) incluyen, pero sin limitación:

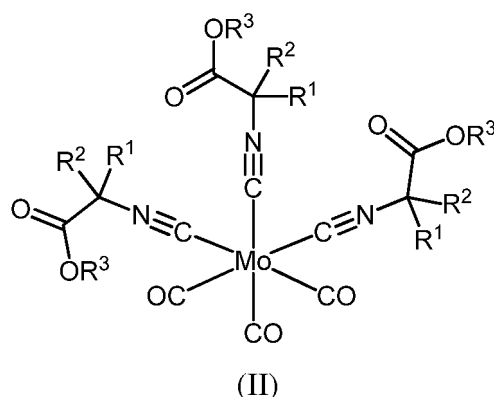


20 y sales, solvatos, e hidratos de los mismos, y combinaciones de los mismos.

**Métodos de preparación**

Se proporcionan métodos para fabricar los compuestos de la presente descripción, es decir, compuestos de la Fórmula (I), (II), y (III).

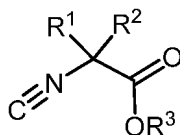
25 Por ejemplo, en un aspecto, se proporciona un método para preparar un compuesto de la Fórmula (II):



30 o una sal, solvato, o hidrato del mismo, o una combinación de los mismos; en la que  $R^1$ ,  $R^2$ , y  $R^3$  son como se



definen en el presente documento; comprendiendo el método hacer reaccionar un complejo de molibdeno tri-CO con un isocianuro de la fórmula:



5 en la que  $R^1$ ,  $R^2$ , y  $R^3$  son como se describen en el presente documento; para proporcionar un compuesto de la Fórmula (II).

10 En determinadas realizaciones, el complejo de molibdeno tri-CO es de la fórmula:



en la que  $L_3$  representa tres ligandos monodentados, un ligando bidentado y un ligando monodentado, o un ligando tridentado.

15 Los ligandos monodentados a modo de ejemplo incluyen, pero sin limitación, CO, organonitrilos (*por ejemplo*,  $\text{CH}_3\text{CN}$ ,  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CN}$ ), aminas monosustituidas, aminas disustituidas, aminas trisustituidas, heterociclilo (*por ejemplo*, piridina, piperidina), dialquil-cianamidas, óxido de trifenilfosfina, THF, DMF, o NMF.

20 Los ligandos bidentados a modo de ejemplo incluyen, pero sin limitación, 1,5-ciclooctadieno, norbornadieno, 1,2-etileno-diamina, tetrametiletilendiamina, 1,2-dimetoxietano, diglima, o 2,5-ditiahexano.

Los ligandos tridentados a modo de ejemplo incluyen, pero sin limitación, trieno cíclico conjugado (*por ejemplo*, cicloheptatrieno), trieno acíclico conjugado, arenos (*por ejemplo*, benceno, tolueno, xileno, mesitileno, naftaleno), tetraazamacrocilos (*por ejemplo*, tetraazaciclododecano), poliaminas (*por ejemplo*, dietilenotriamina), y tritociilononano.

En determinadas realizaciones, el complejo de molibdeno tri-CO es de la fórmula:



en la que  $L_3$  representa tres ligandos monodentados. En determinadas realizaciones, los tres ligandos monodentados son ligandos CO. En determinadas realizaciones, los tres ligandos monodentados son ligandos de organonitrilo.

35 En determinadas realizaciones, el complejo de molibdeno tri-CO es de la fórmula:



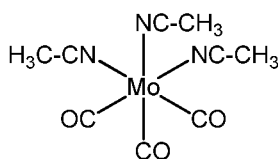
40 en la que  $L_3$  representa un ligando bidentado y un ligando monodentado.

En determinadas realizaciones, el complejo de molibdeno tri-CO es de la fórmula:

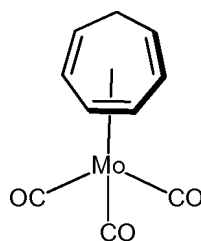


45 en la que  $L_3$  representa un ligando tridentado. En determinadas realizaciones, el ligando tridentado es un trieno cíclico. En determinadas realizaciones, el trieno cíclico es cicloheptatrieno.

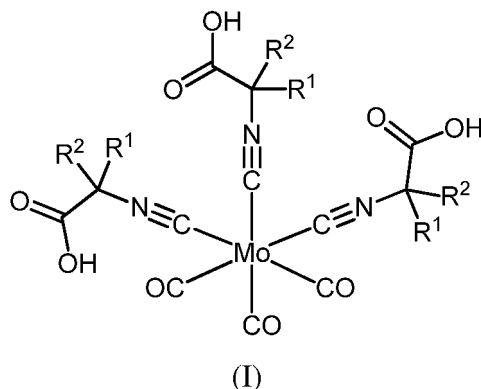
50 En determinadas realizaciones, el complejo de molibdeno tri-CO es:



En determinadas realizaciones, el complejo de molibdeno tri-CO es:



En otro aspecto más, se proporciona un método para preparar un compuesto de la Fórmula (I):



5

o un solvato o hidrato del mismo, o una combinación de los mismos; en la que  $R^1$  y  $R^2$  son como se definen en el presente documento; comprendiendo el método hidrolizar un compuesto de Fórmula (II) para proporcionar un compuesto de la Fórmula (I).

10

En determinadas realizaciones, la etapa de hidrolización comprende un ácido. En determinadas realizaciones, el ácido es un catalizador ácido.

15

En determinadas realizaciones, la etapa de hidrolizar comprende una base. En determinadas realizaciones, la base es un catalizador de base. En determinadas realizaciones, la base es una base inorgánica. En determinadas realizaciones, la base es un hidróxido. Los hidróxidos a modo de ejemplo incluyen NaOH, KOH, y LiOH.

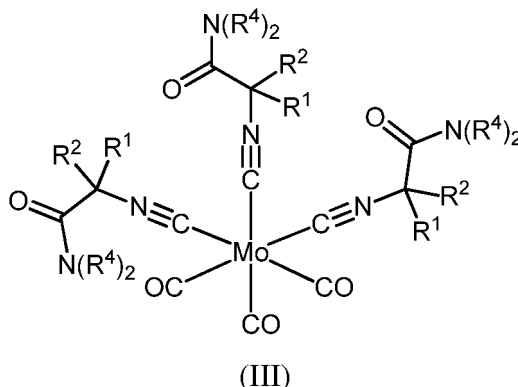
20

En ciertas realizaciones, la etapa de hidrolización comprende una enzima. En ciertas realizaciones, la enzima es una carboxiesterasa. En ciertas realizaciones, la enzima es una lipasa.

25

El acoplamiento químico del ácido carboxílico con una amina (*por ejemplo*, de la fórmula  $\text{HN}(\text{R}^4)_2$ ) o alcohol (*por ejemplo*, de la fórmula  $\text{HOR}^3$ ) puede emplear métodos ya conocidos en la técnica; véase, *por ejemplo*, Smith and March March's Advanced Organic Chemistry, 5ª 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, 3ª Edición, Cambridge University Press, Cambridge, 1987, para ejemplos de condiciones de reacción útiles en estos tipos de conversiones químicas.

Por ejemplo, en un aspecto, se proporciona un método para preparar un compuesto de la Fórmula (III):



30

o un solvato o hidrato del mismo, o una combinación de los mismos; en la que  $R^1$ ,  $R^2$ , y  $R^4$  son como se definen en

el presente documento; comprendiendo el método acoplar una amina de la fórmula  $\text{HN}(\text{R}^4)_2$  y un compuesto de Fórmula (I) para proporcionar un compuesto de la Fórmula (III).

5 En determinadas realizaciones, la etapa de acoplamiento comprende poner en contacto el compuesto de la Fórmula (I) y la amina de la fórmula  $\text{HN}(\text{R}^4)_2$  con un agente de acoplamiento peptídico.

### **Composiciones farmacéuticas**

10 En determinadas realizaciones, la presente descripción proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la presente descripción o una sal, éster, amida, solvato, o hidrato del mismo, o combinación de los mismos, y un excipiente farmacéuticamente aceptable. En determinadas realizaciones, el compuesto de la presente descripción o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se proporciona en una cantidad eficaz en la composición farmacéutica.

15 Entre los excipientes farmacéuticamente aceptables se incluyen a cualquiera y a todos los disolventes, diluyentes u otros vehículos líquidos, adyuvantes de dispersión o suspensión, agentes tensioactivos, agentes isotónicos, agentes espesantes o emulsionantes, conservantes, aglutinantes sólidos, lubricantes y similares, según sea adecuado para la forma de dosificación concreta deseada. Consideraciones generales sobre la formulación y/o fabricación de agentes de composiciones farmacéuticas se pueden encontrar, por ejemplo, en Remington's 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).

25 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 descripción (el "principio activo") con un vehículo y/o uno o más ingredientes 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.

30 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 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.

35 Las cantidades relativas del principio activo, el excipiente farmacéuticamente aceptables y/o cualesquiera ingredientes adicionales en una composición farmacéutica de la descripción 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.

40 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, 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.

45 Entre los diluyentes de ejemplo se incluyen carbonato de calcio, carbonato sódico, fosfato de calcio, fosfato dicálcico, sulfato cálcico, hidrogenofosfato de calcio, lactosa fosfato de sodio, sacarosa, celulosa, celulosa microcristalina, caolín, manitol, sorbitol, inositol, cloruro sódico, almidón seco, almidón de maíz, azúcar en polvo, etc., y combinaciones de los mismos.

50 Los agentes de granulación y/o dispersantes de ejemplo se incluyen almidón de patata, almidón de maíz, almidón de tapioca, glicolato sódico de almidón, 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 sódico, poli(vinilpirrolidona) reticulada (crospovidona), carboximetilalmidón sodio (glicolato de almidón sódico), carboximetilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio reticulada (croscarmelosa), 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, etc., y combinaciones de los mismos.

60 Entre los agentes tensioactivos y/o emulsionantes de ejemplo se incluyen, agar, ácido algínico, alginato de sodio, tragacanto, condruj, 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 polioxietileno, (por ejemplo, lauril éter de polioxietileno [Brij 30]), poli(vinilpirrolidina), monolaurato de dietilenglicol, oleato de trietanolamina, oleato de sodio, oleato de potasio, oleato de etilo, ácido oleico, laurato de etilo, lauril sulfato sódico, Pluronic F 68, Poloxámero 188, bromuro de cetrimonio, cloruro de cetilpiridinio, cloruro de benzalconio, docusato sódico, *etc.* y/o combinaciones 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, *etc.*, y/o combinaciones de los mismos.

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, edeatato 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 sódico, 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, glubionato 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 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 sódico, 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 alginico, agua apirógena, solución salina isotónica, solución de Ringer, alcohol etílico, *etc.*, y combinaciones 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 sódico, acetato

de sodio, cloruro sódico, leucina, lauril sulfato de magnesio, lauril sulfato sódico, *etc.*, y combinaciones de los mismos.

5 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, espinos 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 limitación, estearato de butilo, triglicérido caprílico, triglicérido cáprico, ciclometicona, sebacato de dietilo, dimeticona 360, miristato de isopropilo, aceite mineral, octilododecanol, alcohol oleílico, aceite de silicona, y combinaciones de los mismos.

20 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 tetrahidrofurfurílico, 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 de suspensión, edulcorantes, agentes aromatizantes y perfumantes. En determinadas realizaciones para la administración parenteral, los compuestos de la descripción se mezclan con agentes solubilizantes, tales como Cremophor, alcoholes, aceites, aceites modificados, glicoles, polisorbatos, ciclodextrinas, polímeros, y combinaciones de los mismos.

30 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 atóxico 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, aceites fijos estériles, se usan convencionalmente en forma de un disolvente o un 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.

40 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.

45 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.

50 Las composiciones para administración rectal o vaginal son, normalmente, supositorios que pueden prepararse mezclando los compuestos de la presente descripción 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.

60 Las formas de dosificación sólidas para administración oral incluyen cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos y gránulos. En dichas formas sólidas de dosificación, el principio activo se mezcla con al menos un excipiente o vehículo inerte farmacéuticamente aceptable tal como citrato de sodio o fosfato de dicalcio y/o a) cargas o diluyentes 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, determinados silicatos y carbonato de sodio, e) agentes retardadores de la disolución 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 mezclas de los mismos. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, la forma farmacéutica puede comprender agentes tamponadores.

5 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 sólidas de dosificación 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 incluidas que pueden utilizarse 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.

15 Los principios activos pueden estar en forma microencapsulada con uno o más excipientes, tal como se ha indicado anteriormente. Las formas sólidas de dosificación 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 incluidas que pueden utilizarse incluyen sustancias poliméricas y ceras.

Las formas farmacéuticas para administración tópica y/o transdérmica de un compuesto de la presente descripción 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 descripción 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. Como alternativa o adicionalmente, 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.

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 a través de las capas exteriores de la piel hasta alcanzar la dermis. Como alternativa o adicionalmente, se pueden usar jeringas convencionales según el método clásico de Mantoux de administración intradérmica.

Las formulaciones adecuadas para administración tópica incluyen, pero sin limitación, 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.

Una composición farmacéutica de la descripción 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

5 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.

10 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).

15 Las composiciones farmacéuticas de la descripción formulada para administración pulmonar pueden proporcionar el principio activo en forma de gotículas de una solución y/o suspensión. Dichas formulaciones pueden prepararse, 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, pero sin limitación, un agente aromatizante tal como sacarina de sodio, un aceite volátil, un agente tamponante, 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.

20 Las formulaciones descritas en el presente documento que son útiles para administración pulmonar son útiles para administración intranasal de una composición farmacéutica de la descripción. 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.

25 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 descripción 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 descripción 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 descripción.

35 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 descripción 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, peso corporal, 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.

65 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. Las rutas contempladas específicamente son administración oral, administración intravenosa (por ejemplo, inyección intravenosa sistémica), administración regional a través de suministro sanguíneo y/o linfático, y/o administración directa a un sitio afectado. Por lo general, la vía de administración más adecuada dependerá de diversos factores, entre los que se incluyen la naturaleza del agente (por ejemplo, su estabilidad en el entorno del tracto gastrointestinal), el estado del sujeto (por ejemplo, si el sujeto es capaz de tolerar administración oral), etc.

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 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).

En determinadas realizaciones, los compuestos de la descripción pueden administrarse por vía oral o parenteral a niveles de dosificación suficientes para administrar de aproximadamente 0,001 mg/kg a aproximadamente 200 mg/kg, de 0,001 mg/kg a aproximadamente 150 mg/kg, de 0,001 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg, de 0,001 mg/kg a aproximadamente 50 mg/kg, de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 50 mg/kg, preferentemente de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 40 mg/kg, preferentemente de aproximadamente 0,5 mg/kg a aproximadamente 30 mg/kg, de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg, de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg y, más preferentemente, de aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 25 mg/kg, de peso corporal del sujeto por día, una o más veces al día, para obtener el efecto terapéutico deseado.

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.

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 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 del organismo. Se apreciará que los tratamientos utilizados pueden conseguir un efecto deseado para el mismo trastorno y/o pueden alcanzar diferentes efectos.

El compuesto o composición se puede administrar simultáneamente con, antes de, o posteriormente a, uno o más agentes terapéuticamente activos adicionales. En general, cada agente se administrará a una dosis y/o con un calendario de tiempo determinado para dicho agente. Se apreciará además que el agente terapéuticamente activo adicional utilizado en esta combinación se puede administrar conjuntamente en una sola composición o administrarse por separado en composiciones diferentes. La combinación particular a utilizar en un régimen tendrá en cuenta la compatibilidad del compuesto de la invención con el agente terapéuticamente activo adicional y/o el efecto terapéutico que se desea conseguir. En general, se espera que los agentes terapéuticamente activos 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.

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.

Aún incluidos adicionalmente por la descripción se encuentran los 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 composición farmacéutica o compuesto de la invención proporcionado en el recipiente y el segundo recipiente se combinan para formar una forma farmacéutica unitaria.



Opcionalmente, un único recipiente puede comprender uno o más compartimentos para contener una composición farmacéutica o compuesto de la invención, y/o un excipiente farmacéuticamente aceptable para suspensión o dilución. En algunas realizaciones, un único recipiente puede ser apropiado para la modificación de manera que el recipiente pueda recibir una modificación física para permitir la combinación de compartimentos y/o componentes de compartimentos individuales. Por ejemplo, una lámina o bolsa de plástico puede comprender dos o más compartimentos separados por un sello perforado que puede romperse para permitir la combinación del contenido de dos compartimentos individuales una vez que se genera la señal para romper el sello. Por lo tanto, un kit puede comprender tales recipientes multicompartimentales que proporcionan una composición farmacéutica o compuesto de la invención y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

Opcionalmente, se proporcionan adicionalmente instrucciones de uso en dichos kits de la descripción. Dichas instrucciones pueden proporcionar, en general, por ejemplo, instrucciones para la dosificación y administración. En otras realizaciones, las instrucciones pueden proporcionar adicionalmente detalles adicionales relacionados con instrucciones especializadas para recipientes y/o sistemas particulares para administración. Además, las instrucciones pueden proporcionar instrucciones especializadas para su uso en conjunción y/o junto con un agente terapéutico adicional.

### **Métodos de tratamiento y uso**

La presente descripción se basa, al menos en parte, en el descubrimiento de que los compuestos de la Fórmula (I) liberan una cantidad eficaz de monóxido de carbono (CO) preferiblemente en el hígado. Estos compuestos también muestran actividad antiinflamatoria y actividad regenerativa en el hígado.

Por lo tanto, en el presente documento se describe un método para tratar la enfermedad hepática en un sujeto que lo necesita, comprendiendo el método administrar una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula (I), o una sal, éster, amida, solvato, o un hidrato del mismo, o una combinación de los mismos, para tratar la enfermedad hepática.

También se describe un método para tratar la enfermedad hepática en un sujeto que lo necesita, comprendiendo el método dar instrucciones al sujeto para que tome una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula (I), o una sal, éster, amida, solvato, o un hidrato del mismo, o una combinación de los mismos, para tratar la enfermedad hepática.

En otro aspecto, se proporciona un compuesto de Fórmula (I) para su uso en el tratamiento de la enfermedad hepática.

Por ejemplo, el método o uso es un tratamiento terapéutico, y la cantidad eficaz es una cantidad terapéuticamente eficaz. En otros ejemplos, el método o uso es un tratamiento profiláctico, y la cantidad eficaz es una cantidad profilácticamente eficaz.

Las enfermedades hepáticas a modo de ejemplo incluyen, pero sin limitación, lesión hepática inducida por fármacos (por ejemplo, lesión hepática inducida por acetaminofeno), hepatitis (por ejemplo, hepatitis crónica, la hepatitis vírica, hepatitis inducida por alcohol, hepatitis autoinmune, esteatohepatitis), enfermedad del hígado graso no alcohólico, enfermedad hepática inducida por alcohol (por ejemplo, hígado graso alcohólico, hepatitis alcohólica, cirrosis relacionada con el alcohol), cirrosis hepática, cáncer de hígado, cirrosis biliar primaria, colestatitis, enfermedad quística del hígado, y colangitis esclerosante primaria.

La enfermedad hepática puede ser una lesión hepática inducida por fármacos. La lesión hepática inducida por fármacos también puede ser una lesión hepática inducida por acetaminofeno.

En ciertos ejemplos, la enfermedad hepática causa la muerte de células hepáticas en el sujeto. En ciertos ejemplos, la administración del compuesto estimula la regeneración de células hepáticas en el sujeto.

En ciertos ejemplos, el método comprende adicionalmente administrar un agente terapéutico adicional. En ciertos ejemplos, el agente terapéutico adicional es N-acetilcisteína (NAC).

En ciertos ejemplos, la enfermedad hepática está asociada con la inflamación.

También se describe un método para tratar una enfermedad inflamatoria en un sujeto que lo necesita, comprendiendo el método administrar una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula (I), o una sal, éster, amida, solvato, o un hidrato del mismo, o una combinación de los mismos, para tratar la enfermedad inflamatoria.

También se describe un método para tratar una enfermedad inflamatoria en un sujeto que lo necesita, comprendiendo el método dar instrucciones al sujeto para que tome una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula (I), o una sal, éster, amida, solvato, o un hidrato del mismo, o una combinación de los mismos, para tratar la enfermedad inflamatoria.

En otro aspecto, se proporciona un compuesto de Fórmula (I) para su uso en el tratamiento de una enfermedad

inflamatoria.

Por ejemplo, el método o uso es un tratamiento terapéutico, y la cantidad eficaz es una cantidad terapéuticamente eficaz. En otros ejemplos, el método o uso es un tratamiento profiláctico, y la cantidad eficaz es una cantidad profilácticamente eficaz.

Las enfermedades inflamatorias a modo de ejemplo incluyen, pero sin limitación, inflamación asociada con asma, arteritis (por ejemplo, poliarteritis, arteritis temporal, periarteritis nodosa, arteritis de Takayasu), artritis (por ejemplo, artritis cristalina, osteoartritis, artritis psoriásica, artritis gotosa, artritis reactiva, artritis reumatoide y artritis de Reiter), espondilitis anquilosante, amilosis, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedades autoinmunes, alergias o reacciones alérgicas, aterosclerosis, bronquitis, bursitis, prostatitis crónica, conjuntivitis, enfermedad de Chagas, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, cermatomiositis, diverticulitis, diabetes (por ejemplo, diabetes mellitus de tipo I, diabetes mellitus Tipo 2), una afección cutánea (por ejemplo, psoriasis, eccema, quemaduras, dermatitis, prurito (pícor)), endometriosis, síndrome de Guillain-Barre, infección, cardiopatía isquémica, enfermedad de Kawasaki, glomerulonefritis, gingivitis, hipersensibilidad, dolores de cabeza (por ejemplo, dolores de cabeza por migraña, dolores de cabeza por tensión), íleo (por ejemplo, íleo postoperatorio e íleo durante la sepsis), púrpura trombocitopénica idiopática, cistitis intersticial (síndrome de vejiga dolorosa), trastorno gastrointestinal [por ejemplo, seleccionado de úlceras pépticas, enteritis regional, diverticulitis, hemorragia gastrointestinal, trastornos gastrointestinales eosinófilos (por ejemplo, esofagitis eosinófila, gastritis eosinófila, gastroenteritis eosinófila, colitis eosinófila), gastritis, diarrea, enfermedad por reflujo gastroesofágico (GORD, o su sinónimo GERD), enfermedad inflamatoria del intestino (IBD), enfermedad de Crohn, síndrome de Behcet, colitis (por ejemplo, colitis ulcerosa, colitis colágena, colitis linfocítica, colitis isquémica, colitis por derivación, colitis indeterminada, colitis microscópica, colitis química, colitis infecciosa, colitis fulminante), y síndrome de intestino inflamado (IBS)], lupus, esclerosis múltiple, morfea, miastenia grave, isquemia miocárdica, síndrome nefrótico, pénfigo vulgar, anemia perniciosa, úlceras pépticas, polimiositis, cirrosis biliar primaria, neuroinflamación asociada con trastornos cerebrales (por ejemplo, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington y enfermedad de Alzheimer), prostatitis, inflamación crónica asociada a lesión por radiación craneal, enfermedad inflamatoria pélvica, lesión por reperfusión, enteritis regional, fiebre reumática, lupus sistémico eritematoso, esclerodermia, esclerotoma, sarcoidosis, espondiloartropatías, síndrome de Sjögren, tiroiditis, rechazo de trasplantes, tendinitis, traumatismo o lesión (por ejemplo, congelación, irritantes químicos, toxinas, formación de cicatrices, quemaduras, lesiones físicas), vasculitis, vitíligo y granulomatosis de Wegener. En algunas realizaciones preferidas, el trastorno inflamatorio es colitis.

Un "sujeto" al cual se contempla la administración incluye, pero sin limitación, seres humanos (es decir, un varón o una 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 geriátrico)) y/u otros animales no humanos, por ejemplo, mamíferos (por ejemplo, primates (por ejemplo, monos cynomolgo y monos rhesus); mamíferos de interés comercial tales como ganado vacuno, cerdos, caballos, ovejas, cabras, gatos, y/o perros), aves (por ejemplo, aves de interés comercial tales como pollos, patos, gansos, y/o pavos), reptiles, anfibios y peces. En determinadas realizaciones, el animal no humano es un mamífero. El animal no humano puede ser un hombre o una mujer y en cualquier etapa de desarrollo. Un animal no humano puede ser un animal transgénico.

Los términos "tratar", "que trata" y "tratamiento" contemplan una acción que ocurre mientras un sujeto padece una enfermedad, trastorno o afección que reduce la gravedad de la enfermedad, trastorno o afección, o retarda o ralentiza la progresión de la enfermedad, trastorno o afección ("tratamiento terapéutico"), y también contempla una acción que ocurre antes de que un sujeto comience a padecer la enfermedad, trastorno o condición, y que inhibe o reduce la gravedad de la enfermedad, trastorno o afección ("tratamiento profiláctico").

En general, la "cantidad eficaz" de un compuesto se refiere a una cantidad suficiente para provocar la respuesta biológica deseada, *es decir*, tratar la enfermedad, trastorno o afección. Como apreciarán los expertos en la materia, la cantidad eficaz de un compuesto de la descripción puede variar dependiendo de factores tales como el criterio de valoración biológico deseado, la farmacocinética del compuesto, la enfermedad que se está tratando, el modo de administración, y la edad, salud, y estado del sujeto. Una cantidad eficaz incluye el tratamiento terapéutico y profiláctico.

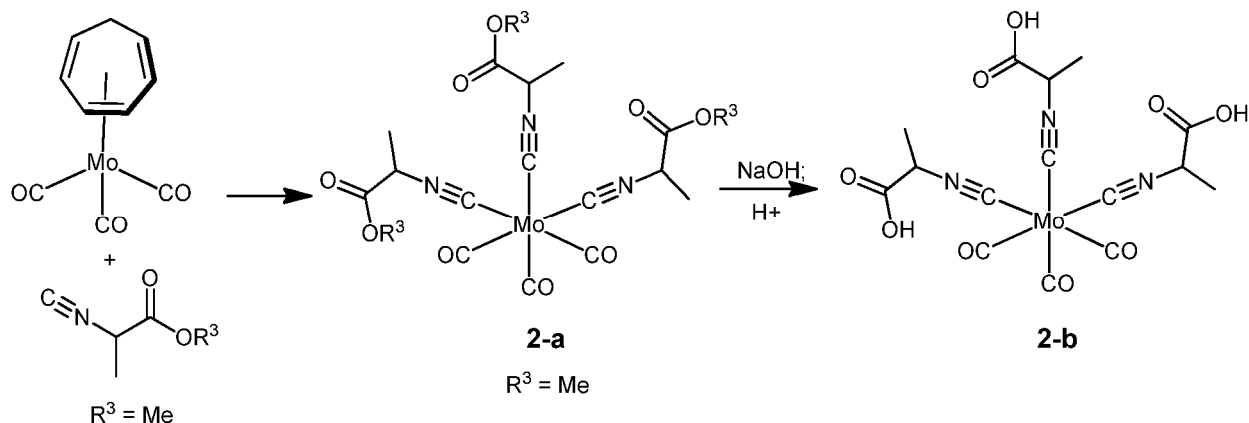
Una "cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto es una cantidad suficiente para proporcionar un beneficio terapéutico en el tratamiento de una enfermedad, trastorno o afección, o para retrasar o minimizar uno o más síntomas asociados con la enfermedad, trastorno o afección. Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto se refiere a una cantidad de agente terapéutico, solo o junto con otros tratamientos, que proporciona un beneficio terapéutico en el tratamiento de la enfermedad, trastorno o afección. La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" puede incluir una cantidad que mejora la terapia global, reduce o evita síntomas o causas de enfermedad o afección, o mejora la eficacia terapéutica de otro agente terapéutico.

Una "cantidad profilácticamente eficaz" de un compuesto es una cantidad suficiente para prevenir la enfermedad, trastorno o afección, o uno o más síntomas asociados con la enfermedad, trastorno o afección, o prevenir su recurrencia. Una cantidad profilácticamente eficaz de un compuesto se refiere a una cantidad del compuesto, solo o



Caracterización de **(1-b)**: Análisis elemental: Calculado para  $C_{12}H_9O_9N_3Mo$ : % de C: 33,12; % de H: 2,08; % de N: 9,66; Extracto N.º 2 Encontrado: % de C: 32,40; % de H: 2,12; % de N: 9,86; Extracto N.º 3 Encontrado: % de C: 30,50; % de H: 2,12; % de N: 9,13; Calculado para  $MoC_{12}H_9N_3O_9 \cdot (NaCl)_{0,6}$ : % de C: 30,65; % de H: 1,93; % de N: 8,94. IR (KBr): Bandas (C≡O): 1941(s); 1849(s); Bandas (C=O): 1720(s); Bandas (C≡N): 2195(s); 2159(s).  $^1H$  RMN ( $D_2O$ , 400 MHz, temperatura ambiente,  $\delta$  en ppm):  $\delta = 4,52$  (s,2H).  $^1H$  RMN ( $d^6$ -DMSO, 400 MHz, temperatura ambiente,  $\delta$  en ppm):  $\delta = 4,64$  (s,2H).  $^{13}C$  RMN ( $d^6$ -DMSO, 100 MHz, temperatura ambiente,  $\delta$  en ppm):  $\delta = 213,9$  (C≡O), 166,25 (CN), 159,9 (CO), 45,90(CNCH<sub>2</sub>).  $^{13}C$  RMN ( $d^6$ -acetona, 100 MHz, temperatura ambiente,  $\delta$  en ppm):  $\delta = 214,4$  (C≡O), 167,52 (CN), 163,81 (CO), 46,10(CNCH<sub>2</sub>).

10 *Preparación de Tricarbonil[tris(2-ácido isocianopropiónico)]Mo(0) (2-b)*



Preparación de tricarbonil[tris(éster metílico del ácido 2-isocianopropiónico)]Mo(0) **(2-a)**: Se disolvió ( $\eta^6$ - $C_7H_8$ )Mo(CO)<sub>3</sub> (0,383 g; 1,41 mmol; 272,11 g/mol) en 30 ml de MeOH y se añadió lentamente CNCH(CH<sub>3</sub>)CO<sub>2</sub>Me (3 equiv.; 0,4784 g; 4,23 mmol; 113,12 g/mol), disuelto en 10 ml de MeOH. La suspensión de color rojo oscuro se volvió de color naranja-pardo y se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La solución se llevó a sequedad, dando un aceite de color naranja, que se aplicó sobre una columna de sílice equilibrada en hexano. Se eluyó con hexano y después 4:6 de acetato de etilo/hexano. Las fracciones se agruparon basándose en el análisis por TLC. La solución de producto se llevó a sequedad dando un aceite de color verde, compuesto **(2-a)**.  $C_{18}H_{21}N_3O_9Mo$  (519,3186 g/mol). Rendimiento: 0,3677 g, (50%). El extracto N.º 2 se preparó de forma análoga dando un rendimiento del 63%.

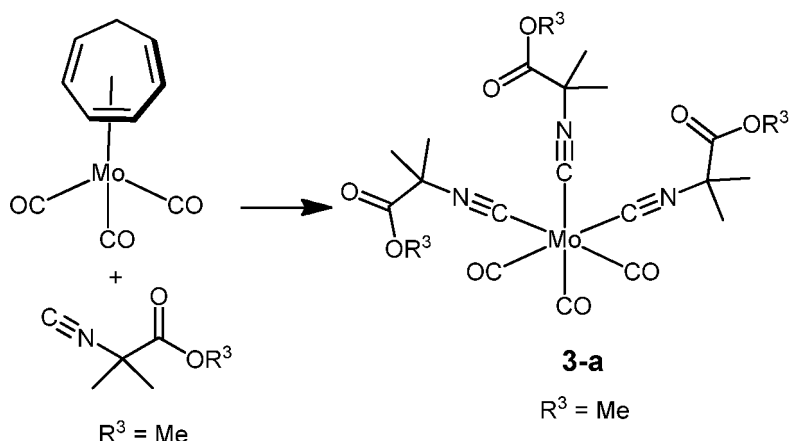
Caracterización de **(2-a)**: IR (CHCl<sub>3</sub>): Bandas (C≡O): 1948(s); 1887(a,s); Bandas (C=O): 1746(s); Bandas (C≡N): 2103(s).  $^1H$  RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, temperatura ambiente,  $\delta$  en ppm):  $\delta = 4,49$  (c,1H), 3,82 (s,3H), 1,66 (d,3H).

Preparación de tricarbonil[tris(ácido 2-isocianopropiónico)]Mo(0) **(2-b)**: El compuesto **(2a)** (0,3677 g;  $7,08 \times 10^{-4}$  mol; 519,3186 g/mol) se disolvió en 20 ml de THF y se puso en un baño de hielo. NaOH (10 equiv.; 0,283 g; 7,08 mmol; 40 g/mol) se disolvió en 5 ml de H<sub>2</sub>O y se añadió lentamente a la solución anterior. La solución se agitó durante 4 h mientras se calentó lentamente a temperatura ambiente. Después, se llevó a sequedad a sequedad dando un polvo de color blanco. El sólido se disolvió en agua y se añadió ácido clorhídrico (1 M) hasta que el pH alcanzó 1 para proporcionar un precipitado de color blanco, el compuesto **(2-b)** que se recogió por filtración y se lavó con agua fría.  $C_{15}H_{15}N_3O_9Mo$  (477,2382 g/mol). Rendimiento: 96%.

Caracterización de **(2-b)**: Análisis elemental: Calculado para  $C_{15}H_{15}N_3O_9Mo \cdot 0,5NaCl$ : % de C: 35,57; % de H: 2,98; % de N: 8,30; Extracto N.º 1 Encontrado: % de C: 35,35; % de H: 3,19; % de N: 8,55. IR (KBr): Bandas (C=O): 1920(s); 1867(a,s); Bandas (C=O): 1729(s); Bandas (C≡N): 2170(s); 2123(s).  $^1H$  RMN (CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>, 400 MHz, temperatura ambiente,  $\delta$  en ppm):  $\delta = 4,78$ (c,1H), 1,67(d, 3H).

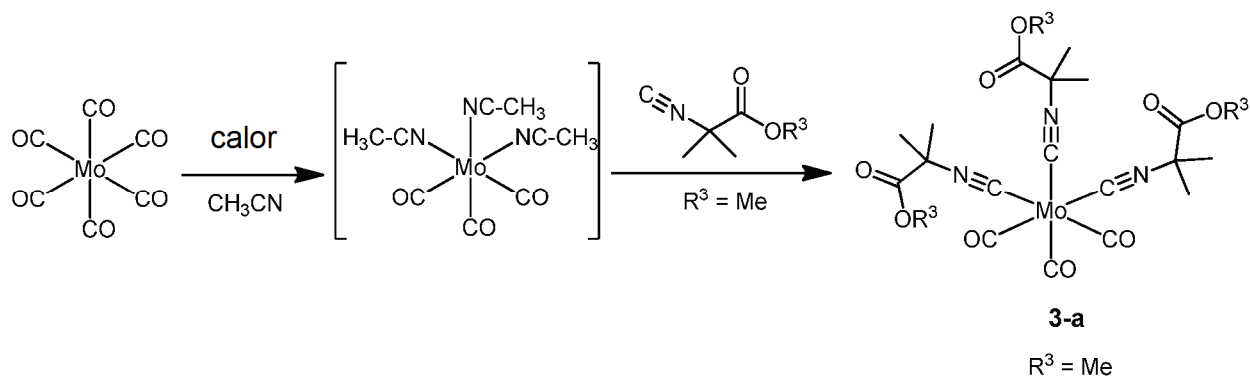
40 *Preparación de Tricarbonil[tris(éster metílico del ácido 2-isociano-2metil-propiónico)]Mo(0) (3-a)*

## Método A



- 5 Se disolvió 2-isociano-2-metilpropanoato de metilo (3,068 g; 24,127 mmol; 127,14 g/mol) en 65 ml de THF. Se añadió lentamente ( $\eta^6\text{-C}_7\text{H}_8$ )Mo(CO)<sub>3</sub> (1/3 equiv.; 2,2 g; 8,085 mmol; 272,11 g/mol), en porciones en forma de un sólido. Se obtuvo una solución ligeramente turbia de color naranja-rojo. Ésta se agitó a temperatura ambiente (22-23 °C) y 500 rpm. El análisis por TLC en acetato de etilo:hexano (1:1) después de 30 min mostró una mancha principal con Fr 0,65 (revelado con amonio molibdato cérico), y otra pequeña mancha con Fr 0,9 que no se coloreó con amonio molibdato cérico. Después de 2 h de tiempo de reacción, el análisis por TLC mostró solamente una mancha mayor con Fr 0,65. La solución se concentró y se formó un precipitado cuando la mitad del disolvente se evaporó. La solución se concentró adicionalmente casi a sequedad (aprox. 5 ml restantes) y se añadió Et<sub>2</sub>O (45 ml). El precipitado resultante se filtró y se lavó con 2 x 15 ml de Et<sub>2</sub>O para proporcionar un polvo de color beige, compuesto (**3-a**). Rendimiento: 4,22 g (93,0%) (PM = 561,3939 g/mol).
- 10
- 15 Caracterización del compuesto (**3-a**): Análisis elemental: Calculado para MoC<sub>21</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>O<sub>9</sub>: % de C: 44,92; % de H: 4,85; % de N: 7,48; Encontrado: % de C: 44,70; % de H: 5,05; % de N: 7,61. <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, temperatura ambiente,  $\delta$  en ppm; 10 mg/600  $\mu$ l):  $\delta$  = 3,82 (s,3H) OCH<sub>3</sub>; 1,68 (s,6H) C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. <sup>13</sup>C RMN (100,6 MHz, CDCl<sub>3</sub>, temperatura ambiente,  $\delta$  en ppm, 10 mg/600  $\mu$ l): 212,66 (C≡O); 170,82 (C≡N); 166768 (C=O); 61,16 (C<sub>cuat</sub>); 53,52 (OCH<sub>3</sub>); 27,81 (2 x CH<sub>3</sub>). IR (0,4 mg/ 280 mg KBr): Bandas (C≡O): 1932(s), 1873(sh), 1860(s); Bandas (C=O): 1749 y 1742(m, división); Bandas (C≡N): 2168(m), 2124 y 2111(m, división). IR (0,5 mg/ml de CHCl<sub>3</sub>): Bandas (C=O): 1944(s), 1888(s); Bandas (C=O): 1744(m); Bandas (C≡N): 2152(w), 2090(m).
- 20

## Método B



- 25 La siguiente preparación alternativa se adaptó a partir de Achatz et al., Anorg. Allg. Chem (2005) 631:2339-2346, donde se forma Mo(CO)<sub>3</sub>(NCMe)<sub>3</sub> y se usa *in situ*.
- 30 Se calentó a reflujo Mo(CO)<sub>6</sub> (0,6 g; 2,27 mmol; 264 g/mol) en CH<sub>3</sub>CN durante 20 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, se añadió 1 g (3,5 equiv.) de CNC(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>Me y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 20 horas más y a 55 °C durante 5 horas. El disolvente se evaporó al vacío y el residuo se lavó con acetato de etilo/hexano (2:3) y el residuo de color negro se cromatografió sobre gel de sílice con diclorometano para dar 250 mg de compuesto (**3-a**). Rendimiento: 21%.
- 35

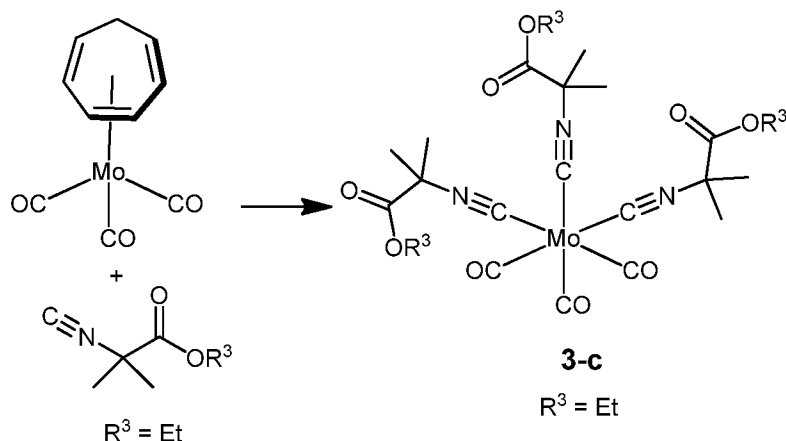
ES 2 656 237 T3

Tabla 1. Datos de fracción de polvo de rayos X para el Compuesto 3a (espectros proporcionados en la figura 3B)

Pos. [°2Th.]	Altura [cts]	FWHM [°2Th.]	espaciamiento d [Å]	Int. Rel. [%]	Ancho de la punta [°2Th.]
7,0301	1086,94	0,2319	12,57423	4,97	0,2783
7,3100	4729,63	0,1181	12,09333	21,62	0,1417
9,7404	842,89	0,0634	9,08068	3,85	0,0761
10,2522	21880,08	0,1181	8,62851	100,00	0,1417
10,5961	1578,50	0,4069	8,34923	7,21	0,4883
11,1690	803,13	0,0748	7,92216	3,67	0,0897
11,5561	5718,57	0,1949	7,65770	26,14	0,2339
11,5823	4312,47	0,2362	7,64044	19,71	0,2834
11,9561	65,64	0,0900	7,40239	0,30	0,1080
12,2441	301,11	0,1181	7,22888	1,38	0,1417
12,8761	196,44	0,0900	6,87548	0,90	0,1080
13,2278	1664,17	0,1181	6,69341	7,61	0,1417
14,1561	1221,10	0,0010	6,25654	5,58	0,0012
14,5561	14614,87	0,1423	6,08550	66,80	0,1707
14,5913	6264,68	0,2362	6,07086	28,63	0,2834
15,8761	2170,69	0,0010	5,58238	9,92	0,0012
16,1858	4203,96	0,1181	5,47624	19,21	0,1417
16,4267	1503,52	0,3431	5,39646	6,87	0,4117
16,5692	1233,75	0,1181	5,35039	5,64	0,1417
16,7961	918,22	0,4154	5,27862	4,20	0,4984
17,2361	836,42	0,0010	5,14485	3,82	0,0012
17,5515	2770,11	0,1181	5,05308	12,66	0,1417
18,1161	803,92	0,0010	4,89687	3,67	0,0012
18,6117	10181,39	0,1181	4,76756	46,53	0,1417
18,9242	3006,51	0,1181	4,68954	13,74	0,1417
19,6593	4402,52	0,1181	4,51582	20,12	0,1417
20,0361	1744,89	0,1026	4,43174	7,97	0,1231
20,1394	1868,29	0,1181	4,40923	8,54	0,1417
20,5782	1082,94	0,0617	4,31262	4,95	0,0740
20,5961	1956,44	0,0010	4,31963	8,94	0,0012
20,8445	3487,36	0,1574	4,25812	15,94	0,1889
21,1916	1379,14	0,1181	4,18917	6,30	0,1417
21,8365	1274,91	0,1181	4,06688	5,83	0,1417
22,1161	358,84	0,0900	4,01609	1,64	0,1080
22,4411	804,84	0,1574	3,95866	3,68	0,1889
22,6781	928,98	0,3323	3,91782	4,25	0,3988
23,0189	2058,35	0,1181	3,86058	9,41	0,1417
23,5656	379,02	0,1181	3,77224	1,73	0,1417
23,9315	225,32	0,1181	3,71538	1,03	0,1417
24,3088	1283,09	0,1574	3,65856	5,86	0,1889
25,1256	966,15	0,1574	3,54145	4,42	0,1889
25,8356	801,00	0,1574	3,44572	3,66	0,1889
26,2350	863,64	0,1181	3,39415	3,95	0,1417
26,5574	1002,35	0,1181	3,35367	4,58	0,1417
27,7020	511,31	0,1574	3,21765	2,34	0,1889
27,9561	352,11	0,0900	3,18899	1,61	0,1080

## ES 2 656 237 T3

28,4762	368,84	0,1574	3,13191	1,69	0,1889
28,8820	800,58	0,1574	3,08882	3,66	0,1889
29,3887	1651,43	0,1574	3,03671	7,55	0,1889
29,8361	146,46	0,0900	2,99219	0,67	0,1080
30,2165	1040,25	0,1574	2,95537	4,75	0,1889
30,8992	1213,52	0,1574	2,89161	5,55	0,1889
31,1561	969,14	0,0010	2,86836	4,43	0,0012
31,4427	1953,63	0,1574	2,84286	8,93	0,1889
31,9903	257,05	0,1574	2,79543	1,17	0,1889
32,3561	193,07	0,0900	2,76467	0,88	0,1080
32,6777	1161,21	0,1574	2,73818	5,31	0,1889
33,3123	2979,60	0,1181	2,68746	13,62	0,1417
33,5452	2099,09	0,5730	2,66933	9,59	0,6876
33,9961	258,12	0,0900	2,63495	1,18	0,1080
34,7439	892,15	0,2362	2,57993	4,08	0,2834
34,7961	1482,26	0,0010	2,58258	6,77	0,0012
36,1400	187,16	0,1574	2,48340	0,86	0,1889
36,9215	285,89	0,1968	2,43262	1,31	0,2362
37,5161	553,76	0,0900	2,39542	2,53	0,1080
37,7521	1047,46	0,1574	2,38098	4,79	0,1889
38,1617	310,89	0,1574	2,35636	1,42	0,1889
39,3561	135,20	0,0900	2,28756	0,62	0,1080
39,7513	928,26	0,1181	2,26572	4,24	0,1417
39,9754	618,59	0,1181	2,25353	2,83	0,1417
40,5647	358,12	0,1574	2,22214	1,64	0,1889
40,8789	527,11	0,1574	2,20579	2,41	0,1889
41,6261	857,01	0,1181	2,16790	3,92	0,1417
41,9554	1396,25	0,1574	2,15164	6,38	0,1889
42,3427	568,09	0,1181	2,13286	2,60	0,1417
42,9455	868,03	0,1574	2,10430	3,97	0,1889
43,5161	273,05	0,0900	2,07803	1,25	0,1080
43,8132	281,04	0,1968	2,06462	1,28	0,2362
44,3961	699,17	0,0900	2,03886	3,20	0,1080
44,6649	2250,52	0,1574	2,02721	10,29	0,1889
46,1282	117,20	0,1181	1,96625	0,54	0,1417
46,5849	80,29	0,2362	1,94803	0,37	0,2834
48,3071	1791,64	0,1440	1,88253	8,19	0,1728
49,0361	1,00	0,0900	1,85623	0,00	0,1080

Preparación de Tricarbonil[tris(éster etílico del ácido 2-isociano-2-metil-propiónico)]Mo(0) (**3-c**)

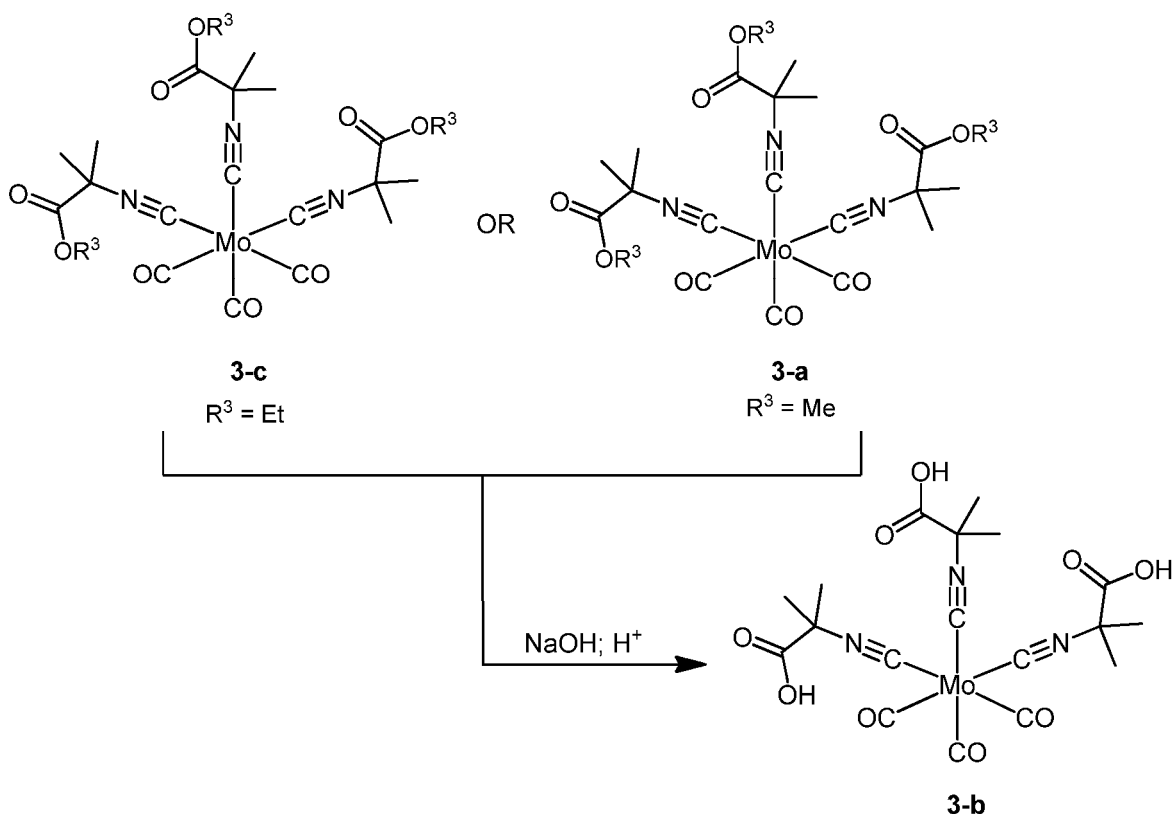
5 Se disolvió ( $\eta^6\text{-C}_7\text{H}_8$ )Mo(CO)<sub>3</sub> (0,644 g; 2,37 mmol; 272,11 g/mol) en 30 ml de MeOH y se añadió lentamente CNC(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>Et (3 equiv.; 0,903 g; 6,40 mmol; 141,17 g/mol), disuelto en 10 ml de MeOH. La solución de color rojo oscuro se volvió de color naranja-pardo y se agitó a temperatura ambiente durante 2,5 horas. La solución se concentró y se añadió éter dietílico, pero no se formó precipitado, por lo tanto, la solución se evaporó a sequedad. El análisis IR de la mezcla de producto en bruto indicó que el producto deseado estaba contaminado con Mo(CO)<sub>4</sub>(CNC(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>Et)<sub>2</sub> (banda a 2019 cm<sup>-1</sup>). Por lo tanto, la mezcla se separó por cromatografía en columna sobre gel de sílice. La columna se lavó en primer lugar con hexano y después se eluyó con una mezcla de hexano y acetato de etilo (8:2) para proporcionar el compuesto (**3-c**) en forma de un aceite de color verdusco. Rendimiento: 0,94 g (73%).

15 Caracterización del compuesto (**3-c**): Análisis elemental: Calculado para C<sub>24</sub>H<sub>33</sub>N<sub>3</sub>O<sub>9</sub>Mo: % de C: 47,77; % de H: 5,51; % de N: 6,96, Encontrado: % de C: 47,70; % de H: 5,20; % de N: 6,63. IR (KBr): Bandas (C≡O): 1939(s); 1868(a,s); Bandas (C=O): 1744(s); Bandas (C≡N): 2154(s); 2104 (s). <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, temperatura ambiente, δ en ppm): δ = 4,25 (c, 6H), 1,66 (s, 18H), 1,34 (t, 9H).

Preparación de Tricarbonil[tris(ácido 2-isociano-2-metil-propiónico)]Mo(0) (**3b**)

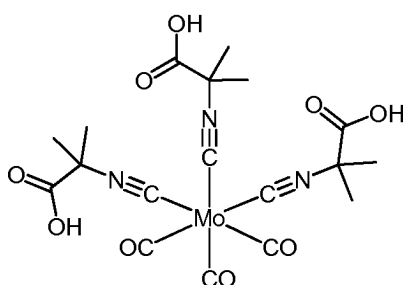
20 Siguiendo el procedimiento descrito por Beck y colaboradores (Achatz et al., Anorg. Allg. Chem (2005) 631:2339-2346), la saponificación del compuesto (**3-a**) o (**3-c**) con NaOH seguido de protonación con un ácido (por ejemplo, HCl o H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) en una solución acuosa condujo a la formación de tricarbonil[tris(ácido 2-isociano-2-metil-propiónico)]Mo(0) (**3-b**). El compuesto (**3-b**) es estable cuando se almacena en viales de color pardo a temperatura ambiente en atmósfera de N<sub>2</sub> durante 6 meses o más.





Se observó después de la preparación de varios lotes que se obtuvieron dos conjuntos de datos espectroscópicos para el compuesto (**3-b**). El producto de tipo I corresponde al complejo de ácido tricarbóxico completamente protonado y el producto de tipo II contiene cantidades menores de sal sódica del ácido carboxílico que surgen de un pequeño grado de desprotonación (cantidades variables 0,4-0,6 mol de Na por mol de Mo). El producto de tipo II puede convertirse en el tipo I añadiendo exceso de ácido durante la síntesis o a través de lavado con ácido al final de la síntesis. La actividad biológica de los productos de tipo I y tipo II es la misma. Los productos de tipo I y tipo II se reconocen por las diferencias en sus espectros IR (KBr) y los espectros de  $^{13}\text{C}$  RMN. La composición total y la estereoquímica facial del Compuesto (**3-b**) se confirmó por cristalografía de rayos X.

*Preparación de Tricarbonil[tris(ácido 2-isociano-2-metil-propiónico)]Mo(0), (**3-b**) Tipo I*



**3-b, completamente protonado**

#### Método A

El Compuesto (**3-a**) (1,914 g; 3,41 mmol; 561,3939 g/mol) se disolvió en 36 ml de THF y se puso en un baño de hielo. NaOH (10 equiv.; 1,364 g; 34,1 mmol; 40 g/mol) se disolvió en 9 ml de  $\text{H}_2\text{O}$  y se añadió lentamente a la solución de color amarillo anterior. Se obtuvo una solución turbia de color amarillo, que se agitó durante 1 hora mientras se calentaba lentamente a temperatura ambiente. Un análisis por TLC en hexano:acetato de etilo (1:1) mostró solamente una mancha con  $R_f$  0 al final de este tiempo. Los disolventes se concentraron hasta que desapareció el THF. Después, se añadieron 27 ml de agua, seguido de 17,05 ml de ácido  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1 M. Se formó un precipitado de color blanco, que se convirtió en un aceite de color amarillo. El agua se evaporó hasta que se formó de nuevo un polvo de color blanco. Después de la filtración, el pH de la solución incolora era de 1. El sólido se lavó con 5 x 20 ml porciones de agua. El pH de las soluciones de lavado fue sucesivamente 3, 4, 4, 4 y 4. El producto

lavado final se secó al vacío. Después del secado a  $1,0 \times 10^{-2}$  Torr durante 30 h y a  $2,0 \times 10^{-5}$  Torr durante 9 h, el espectro IR (1,2 mg del compuesto **(3-b)**) en 840 mg de KBr) y RMN (10 mg/600  $\mu$ l de acetona- $d_6$ ) mostró que el complejo era puro. Rendimiento: 1,600 g (90,3%).  $C_{18}H_{21}O_9N_3Mo$  (519,31 g/mol).

- 5 Caracterización del compuesto **(3-b)**, Tipo I. Análisis elemental: Calculado para  $C_{18}H_{21}O_9N_3Mo$ : % de C: 41,63; % de H: 4,08; % de N: 8,09; Encontrado: C: 41,50; % de H: 4,43; % de N: 8,31.  $^1H$  RMN ( $CD_3COCD_3$ , 400 MHz, temperatura ambiente,  $\delta$  en ppm, 10 mg/600  $\mu$ l):  $\delta = 1,71$  (s,  $CH_3$ ).  $^{13}C$  RMN ( $CD_3COCD_3$ , 100,6 MHz, temperatura ambiente,  $\delta$  en ppm, 10 mg/600  $\mu$ l): 214,65 (C=O); 171,37 (C $\equiv$ N); 164,34 (C=O); 62,08 ( $C_{quat}$ ); 27,85 (2 x  $CH_3$ ). IR (KBr): Bandas (C=O): 1925(s), 1875(s); 1841(sh), Bandas (C=O): 1747(w,sh) y 1719(m), Bandas (C $\equiv$ N): 2157(m), 2110(s). IR ( $CHCl_3$ ): Bandas (C=O): 1942(s), 1882(s); Bandas (C=O): 1737(w); Bandas (C $\equiv$ N): 2152(w), 2098(m).

## Método B

Se desarrolló un segundo método para obtener complejos de tipo I completamente protonados.

- 15 El Compuesto **(3-a)** (1,01 g; 1,800 mmol; 561,3939 g/mol) se disolvió en 20 ml de THF dando una solución de color amarillo transparente. Esta solución se puso en un baño de hielo y se agitó durante aproximadamente 10 minutos. NaOH (10 equiv.; 0,722 g; 18,00 mmol; 40 g/mol) se disolvió en 5 ml de  $H_2O$  (miliQ) y se añadió gota a gota. La solución de color amarillo se agitó sin eliminar el baño de hielo. La solución se volvió de color amarillo claro y turbia. 20 Después de 20 minutos, el análisis por TLC realizado en hexano:acetato de etilo (1:1) mostró un consumo completo del material de partida (Fr 0,8, tinción azul con amonio molibdato cérico) y una nueva mancha en el punto de partida (tinción fuerte de color azul con amonio molibdato cérico). Después de otra hora, se añadió la resina de intercambio iónico Dowex 50WX8-200 (Ref. 217506; capacidad de intercambio 1,7 mequiv./ml; 6 g) y la solución se agitó durante 10 minutos (la resina Dowex se había activado antes de su uso disolviéndola en HCl acuoso 1 M y en agitación 25 durante dos horas, seguido de filtración y lavado con agua hasta pH neutro). La resina Dowex se retiró por filtración y la solución se evaporó (temperatura de baño 30  $^{\circ}C$ ) dando un material de color blanco y un residuo de color pardo gomoso (la RMN en acetona mostró algo de contaminación con THF). Al día siguiente, el producto en bruto (material de color blanco) se lavó con agua (2 x 30 ml). La suspensión se dejó en reposo y después se filtró. El pH final de la solución de lavado fue de 2,6 (electrodo de pH). El polvo de color blanco, compuesto **(3b)**, producto de tipo I, se 30 secó al vacío. Rendimiento: 0,66 g (70%).

- Caracterización del compuesto **(3-b)**, Tipo I. Análisis elemental: Calculado para  $C_{18}H_{21}O_9N_3Mo$ : % de C: 41,63; % de H: 4,08; % de N: 8,09; Encontrado: % de C: 41,30; % de H: 4,23; % de N: 8,05.  $^1H$  RMN ( $CD_3COCD_3$ , 400 MHz, temperatura ambiente,  $\delta$  en ppm, 10 mg/600  $\mu$ l):  $\delta = 1,71$  (s,  $CH_3$ ).  $^{13}C$  RMN ( $CD_3COCD_3$ , 100,6 MHz, temperatura ambiente,  $\delta$  en ppm, 10 mg/600  $\mu$ l): 214,70 (C=O); 171,46 (C $\equiv$ N); 164,22 (C=O); 62,10 ( $C_{quat}$ ); 27,86 (2 x  $CH_3$ ). IR (KBr): Bandas (C=O): 1924(s), 1871(s); 1840(sh); Bandas (C=O): 1747(w,sh) y 1721(m); Bandas (C $\equiv$ N): 2158(m), 2108(s). IR ( $CHCl_3$ ): Bandas (C=O): 1941(s), 1882(s); Bandas (C=O): 1737(w); Bandas (C $\equiv$ N): 2153(w), 2099(m).

- 40 Tabla 2. Datos de fracción de polvo de rayos X para el Compuesto 3b, Tipo I (espectros proporcionados en la figura 4B)

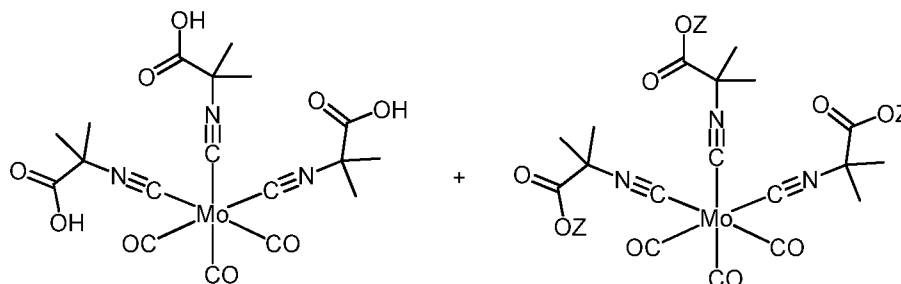
Pos. [ $^{\circ}2Th.$ ]	Altura [cts]	FWHM [ $^{\circ}2Th.$ ]	espaciamiento d [Å]	Int. Rel. [%]	Ancho de la punta [ $^{\circ}2Th.$ ]
7,3071	104,21	0,2362	12,09818	5,15	0,2834
8,5643	570,16	0,1574	10,32490	28,16	0,1889
9,9976	2025,02	0,1181	8,84764	100,00	0,1417
11,1631	225,27	0,6884	7,92639	11,12	0,8261
11,3636	403,87	0,1574	7,78695	19,94	0,1889
12,5320	1651,83	0,1574	7,06346	81,57	0,1889
14,5147	290,27	0,1181	6,10275	14,33	0,1417
14,9564	728,89	0,1181	5,92349	35,99	0,1417
15,5593	242,84	0,1732	5,69531	11,99	0,2078
15,9707	350,89	0,1574	5,54950	17,33	0,1889
17,1217	474,25	0,1574	5,17896	23,42	0,1889
17,5108	231,68	0,1181	5,06474	11,44	0,1417
18,0265	467,34	0,1181	4,92100	23,08	0,1417
18,3523	524,18	0,1181	4,83437	25,88	0,1417
18,8952	235,57	0,1968	4,69666	11,63	0,2362
19,5631	1443,96	0,3012	4,53781	71,31	0,3615
19,6857	1861,41	0,1574	4,50981	91,92	0,1889
20,0428	332,44	0,1856	4,43026	16,42	0,2227

ES 2 656 237 T3

20,3432	299,89	0,1181	4,36551	14,81	0,1417
20,7693	181,47	0,1181	4,27691	8,96	0,1417
22,2149	1436,61	0,1968	4,00177	70,94	0,2362
22,8270	189,65	0,1181	3,89583	9,37	0,1417
23,0031	351,89	0,0010	3,86640	17,38	0,0012
23,3512	500,66	0,1181	3,80953	24,72	0,1417
23,8140	349,40	0,1968	3,73654	17,25	0,2362
24,3728	344,81	0,1181	3,65213	17,03	0,1417
24,6863	472,11	0,1574	3,60645	23,31	0,1889
25,1231	84,73	0,0900	3,54474	4,18	0,1080
26,0031	39,50	0,0900	3,42674	1,95	0,1080
27,8772	167,00	0,1574	3,20048	8,25	0,1889
28,3631	60,99	0,0900	3,14675	3,01	0,1080
28,6635	102,42	0,1181	3,11444	5,06	0,1417
29,4031	258,48	0,1672	3,03777	12,76	0,2006
29,7607	240,64	0,1181	3,00208	11,88	0,1417
30,3092	448,03	0,1574	2,94899	22,12	0,1889
30,7590	639,70	0,1968	2,90688	31,59	0,2362
30,9231	375,19	0,0010	2,89183	18,53	0,0012
31,8625	407,11	0,1574	2,80868	20,10	0,1889
32,9911	132,45	0,1574	2,71513	6,54	0,1889
33,3765	242,32	0,1574	2,68466	11,97	0,1889
34,6343	209,74	0,2755	2,58999	10,36	0,3306
35,4600	133,72	0,1181	2,53155	6,60	0,1417
36,6431	131,56	0,0900	2,45249	6,50	0,1080
36,9291	234,25	0,1181	2,43415	11,57	0,1417
37,3231	128,05	0,0900	2,40935	6,32	0,1080
38,1379	245,64	0,3149	2,35973	12,13	0,3779
38,6431	89,09	0,0900	2,33004	4,40	0,1080
39,5231	72,92	0,0900	2,28016	3,60	0,1080
40,0232	133,72	0,2362	2,25282	6,60	0,2834
40,9283	148,51	0,1181	2,20506	7,33	0,1417
42,2431	68,44	0,0900	2,13943	3,38	0,1080
42,4031	76,70	0,0900	2,13172	3,79	0,1080
42,5631	62,75	0,0900	2,12408	3,10	0,1080
43,0418	90,09	0,9446	2,10156	4,45	1,1336
44,0031	98,50	0,0900	2,05786	4,86	0,1080
44,6400	144,25	0,2755	2,02996	7,12	0,3306
45,6313	75,09	0,3936	1,98814	3,71	0,4723
46,8031	22,71	0,0900	1,94106	1,12	0,1080
48,5231	37,91	0,0900	1,87621	1,87	0,1080
50,0381	82,16	0,3149	1,82289	4,06	0,3779
50,5231	54,18	0,0900	1,80653	2,68	0,1080
52,1631	26,97	0,0900	1,75353	1,33	0,1080
53,3498	62,23	0,6298	1,71729	3,07	0,7557
54,9231	56,59	0,0900	1,67176	2,79	0,1080
55,9430	69,71	0,4723	1,64368	3,44	0,5668
57,3994	34,49	0,4723	1,60539	1,70	0,5668

60,1631	33,11	0,0900	1,53808	1,63	0,1080
61,2152	49,98	0,9446	1,51415	2,47	1,1336
62,7421	35,86	0,7680	1,47970	1,77	0,9216
65,2831	2,62	0,0900	1,42930	0,13	0,1080
66,5631	19,62	0,0900	1,40489	0,97	0,1080
67,1631	26,13	0,0900	1,39379	1,29	0,1080

Preparación de Tricarbonil(tris(ácido 2-isociano-2-metil-propiónico))Mo(0), (**3-b**) Tipo II



5

**3-b, completamente protonado + cantidad menor de sal sódica**  
Z = H o Na, Na:Mo = 0,4 - 0,6

El Compuesto (**3-a**) (1,06 g; 1,888 mmol; 561,3939 g/mol) se disolvió en 40 ml de THF y se puso en un baño de hielo. NaOH (10 equiv.; 0,755 g; 18,88 mmol; 40 g/mol) se disolvió en 10 ml de H<sub>2</sub>O y se añadió gota a gota a la solución anterior durante 10 min. La solución de color amarillo claro turbia se agitó durante 2 h mientras se calentó lentamente a temperatura ambiente, sin eliminar el baño de hielo. Después de 2 h, el análisis por TLC realizó en hexano:acetato de etilo (1:1) mostró solamente producto hidrolizado con  $R_f = 0$ . La solución turbia de color amarillo claro se llevó a sequedad dando una gran cantidad de un polvo de color blanco. El sólido se disolvió de nuevo en agua (10 ml) y se añadió gota a gota H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1 M (9,4 ml). La solución se volvió de color azul y tenía un pH final de 1-2. El sólido se filtró y se lavó con 5 x 10 ml de agua. Cada vez la solución se agitó durante 2 min y se dejó en reposo. El pH final de la solución de lavado fue entre 4 y 5. El polvo de color blanquecino se secó al vacío para proporcionar el compuesto (**3-b**) que contenía sodio (Tipo II). Rendimiento: 0,920 g (93,8%).

Caracterización del compuesto (**3-b**), Tipo II. Análisis elemental: Calculado para C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>O<sub>9</sub>N<sub>3</sub>Mo: % de C: 41,63; % de H: 4,08; % de N: 8,09; Encontrado: C: 40,60; % de H: 3,80; % de N: 7,82. El compuesto se secó adicionalmente a alto vacío (2 x 10<sup>-5</sup> Torr) durante 1 semana: Encontrado: % de C: 41,20; % de H: 4,15; % de N: 8,24. <sup>1</sup>H RMN (CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>, 400 MHz, temperatura ambiente,  $\delta$  en ppm, 10 mg/600  $\mu$ l):  $\delta = 1,68$  (s, CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C RMN (CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>, 100,6 MHz, temperatura ambiente,  $\delta$  en ppm, 10 mg/600  $\mu$ l): 214,93 (C≡O); 172,59 (C≡N); 163,48 (C=O); 62,60 (C<sub>quat</sub>); 27,92 (2 x CH<sub>3</sub>); IR (KBr): Bandas (C≡O): 1927(s), 1859(s); Bandas (C≡N): 1755(m) y 1685(w); Bandas (C=N): 2166(m), 2105 (m). IR (CHCl<sub>3</sub>): Bandas (C≡O): 1942(s), 1882(s); Bandas (C=O): 1735(w) y 1677(w); Bandas (C≡N): 2157(w), 2099(m).

Tabla 3. Datos de fracción de polvo de rayos X para el Compuesto 3b, Tipo II (espectros proporcionados en la figura 4C)

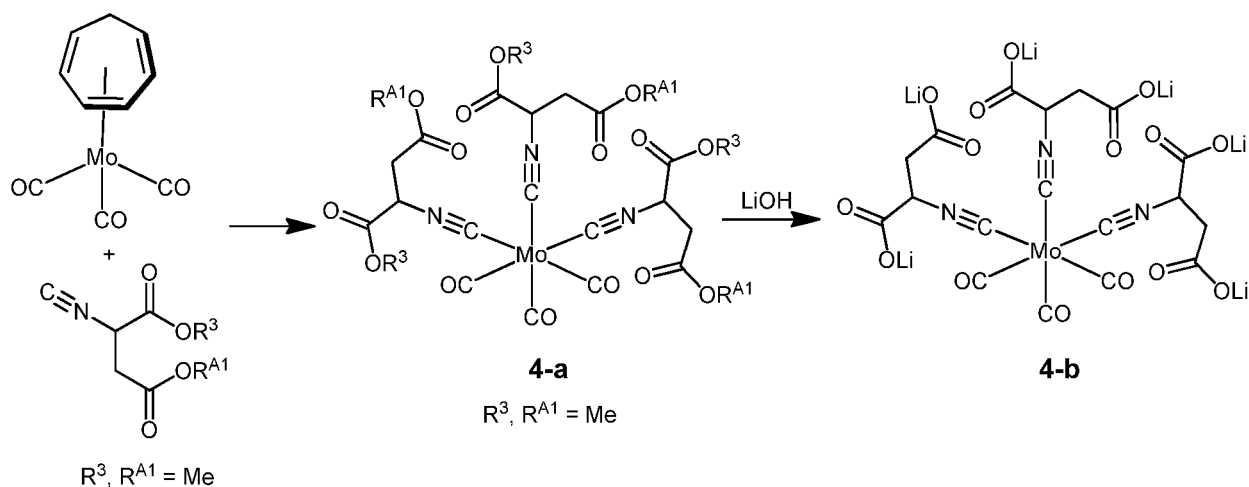
Pos. [°2Th.]	Altura [cts]	FWHM [°2Th.]	espaciamiento d [Å]	Int. Rel. [%]	Ancho de la punta [°2Th.]
8,4046	693,12	0,1181	10,52069	10,77	0,1417
9,0220	1116,38	0,1181	9,80208	17,34	0,1417
10,4406	897,42	0,1181	8,47318	13,94	0,1417
11,1898	718,15	0,1181	7,90751	11,15	0,1417
12,0642	4146,69	0,1181	7,33625	64,40	0,1417
12,3598	558,34	0,1181	7,16147	8,67	0,1417
12,7161	352,12	0,0010	6,96163	5,47	0,0012
13,1525	1852,12	0,1181	6,73158	28,77	0,1417
14,1853	1751,55	0,1181	6,24372	27,20	0,1417
14,4761	855,55	0,5774	6,11895	13,29	0,6929
14,9150	1108,39	0,0557	5,93985	17,21	0,0668
15,2754	6245,08	0,1574	5,80052	97,00	0,1889

ES 2 656 237 T3

16,8191	3219,27	0,1181	5,27143	50,00	0,1417
17,5629	2561,96	0,1181	5,04984	39,79	0,1417
18,1561	770,77	0,0798	4,88617	11,97	0,0957
18,4106	3739,81	0,1754	4,81919	58,08	0,2104
18,5642	6438,53	0,1181	4,77965	100,00	0,1417
18,8668	1896,91	0,1181	4,70368	29,46	0,1417
19,3886	548,12	0,1181	4,57825	8,51	0,1417
19,5770	754,05	0,0319	4,53461	11,71	0,0383
19,9962	3012,25	0,1181	4,44048	46,78	0,1417
20,3682	4161,26	0,1181	4,36023	64,63	0,1417
21,0361	758,19	0,0842	4,22327	11,78	0,1010
21,0361	758,19	0,0842	4,22327	11,78	0,1010
21,0361	758,19	0,0842	4,22327	11,78	0,1010
21,1445	1109,60	0,1181	4,20186	17,23	0,1417
21,4743	715,52	0,1181	4,13806	11,11	0,1417
22,4230	461,94	0,1181	3,96508	7,17	0,1417
22,9853	1320,11	0,1181	3,86934	20,50	0,1417
23,2480	1361,50	0,1181	3,82621	21,15	0,1417
23,7168	251,03	0,1574	3,75163	3,90	0,1889
24,2239	1107,55	0,1181	3,67423	17,20	0,1417
24,5635	880,09	0,0386	3,62421	13,67	0,0463
24,6166	875,68	0,0728	3,61651	13,60	0,0874
24,6285	596,28	0,1968	3,61479	9,26	0,2362
25,2742	964,10	0,1574	3,52388	14,97	0,1889
25,8361	89,65	0,0900	3,44851	1,39	0,1080
26,2646	694,73	0,1181	3,39320	10,79	0,1417
26,6375	726,26	0,1574	3,34655	11,28	0,1889
27,8654	342,90	0,1574	3,20181	5,33	0,1889
28,0361	193,62	0,0900	3,18270	3,01	0,1080
28,3296	584,86	0,1181	3,15039	9,08	0,1417
28,5032	708,22	0,0202	3,13159	11,00	0,0242
28,9163	1335,22	0,1574	3,08779	20,74	0,1889
29,5701	385,66	0,1181	3,02099	5,99	0,1417
29,9695	667,36	0,1181	2,98164	10,37	0,1417
30,5576	891,48	0,1574	2,92558	13,85	0,1889
30,9107	335,55	0,1181	2,89296	5,21	0,1417
31,2307	343,16	0,1181	2,86405	5,33	0,1417
31,4361	365,48	0,0900	2,84580	5,68	0,1080
31,7528	1213,96	0,1574	2,81814	18,85	0,1889
31,9561	222,28	0,0900	2,80067	3,45	0,1080
32,3161	162,00	0,0900	2,77029	2,52	0,1080
32,6753	1762,53	0,1574	2,74065	27,37	0,1889
33,0260	752,80	0,0603	2,71234	11,69	0,0723
33,5161	385,22	0,0900	2,67380	5,98	0,1080
33,5408	471,86	0,1574	2,66967	7,33	0,1889
33,5961	851,84	0,0010	2,67203	13,23	0,0012
33,9812	400,50	0,1181	2,63607	6,22	0,1417
34,4694	309,84	0,1181	2,59985	4,81	0,1417

34,7561	169,83	0,0900	2,57906	2,64	0,1080
35,4745	110,00	0,1181	2,52845	1,71	0,1417
36,1065	181,14	0,1968	2,48563	2,81	0,2362
36,5241	255,60	0,2362	2,45817	3,97	0,2834
37,1576	763,34	0,1574	2,41770	11,86	0,1889
37,9056	445,34	0,1574	2,37169	6,92	0,1889
38,3937	1081,37	0,0721	2,34265	16,80	0,0866
38,6178	928,72	0,2362	2,32957	14,42	0,2834
39,2817	314,81	0,1181	2,29172	4,89	0,1417
39,7236	132,84	0,1181	2,26723	2,06	0,1417
40,2360	366,37	0,1574	2,23953	5,69	0,1889
40,6669	254,37	0,1181	2,21679	3,95	0,1417
40,8361	189,89	0,0900	2,20800	2,95	0,1080
41,6361	173,21	0,0900	2,16741	2,69	0,1080
41,8622	277,62	0,1968	2,15622	4,31	0,2362
42,3961	164,70	0,0900	2,13030	2,56	0,1080
42,5561	163,70	0,0900	2,12266	2,54	0,1080
42,8155	302,26	0,1181	2,11039	4,69	0,1417
43,1695	609,30	0,1968	2,09390	9,46	0,2362
43,8690	202,44	0,1181	2,06213	3,14	0,1417
44,2503	175,16	0,1574	2,04524	2,72	0,1889
44,6012	267,21	0,1181	2,02996	4,15	0,1417
44,9961	151,84	0,0900	2,01306	2,36	0,1080
46,0376	178,86	0,1968	1,96991	2,78	0,2362
46,6165	140,91	0,1181	1,94678	2,19	0,1417
47,4015	102,08	0,1181	1,91636	1,59	0,1417
47,8761	121,07	0,0900	1,89847	1,88	0,1080
48,3561	208,06	0,0900	1,88074	3,23	0,1080
48,4788	138,59	0,5760	1,87626	2,15	0,6912
48,5961	164,94	0,0900	1,87666	2,56	0,1080

Preparación de Tricarbonil[tris(2-isocianosuccinato de litio)]Mo(0) (**4-b**)



5

Preparación de tricarbonil[tris(éster metílico de 2-isocianosuccinato)] Mo(0) (**4-a**): Se disolvió ( $\eta^6\text{-C}_7\text{H}_8$ )Mo(CO)<sub>3</sub> (0,281 g; 1,032 mmol; 272,11 g/mol) en 20 ml de MeOH y se añadió lentamente CNCH(COOMe)CH<sub>2</sub>COOMe (3 equiv.; 0,5303 g; 3,1 mmol; 171,14 g/mol), disuelto en 10 ml de MeOH. La solución de color rojo oscuro se volvió

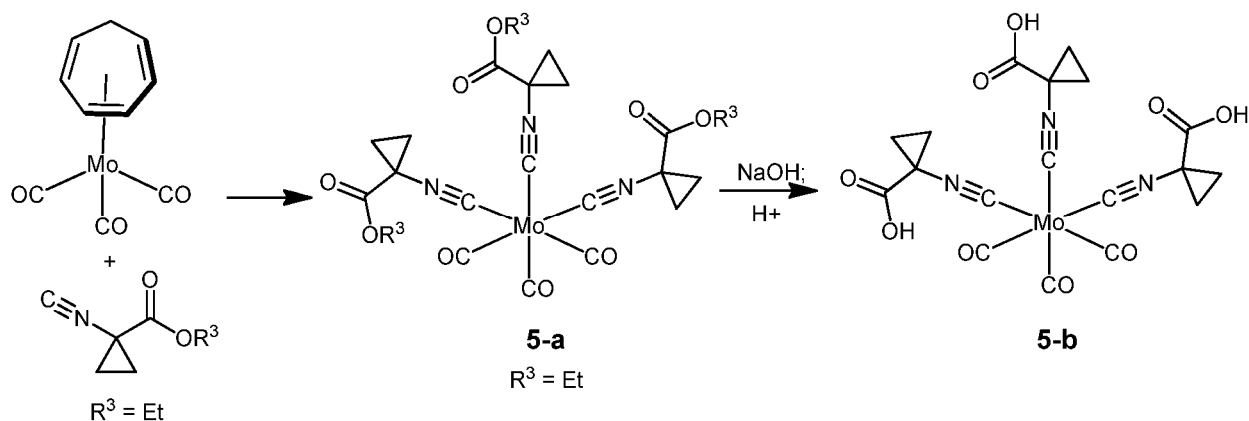
lentamente de color naranja-pardo. La reacción se detuvo después de 1,5 h y se llevó a sequedad para proporcionar el compuesto (**4-a**). Rendimiento: 100%.  $C_{24}H_{27}N_3O_{15}Mo$  (693,4284 g/mol)

Caracterización del compuesto (**4-a**): Análisis elemental: Calculado para  $MoC_{24}H_{27}N_3O_{15}$ : % de C: 41,57; % de H: 3,92; % de N: 6,06; Encontrado: % de C: 41,3; % de H: 3,94; % de N: 6,06. IR (KBr): Bandas (C≡O): 1943(s); 1876(s); Bandas (C=O): 1740(s); Bandas (C≡N): 2165(sh); 2107(s).  $^1H$  RMN ( $CDCl_3$ , 400 MHz, temperatura ambiente,  $\delta$  en ppm):  $\delta = 4,82(t,3H)$ , 3,86 (s, 9H), 3,77 (s, 9H), 3,04(m,6H).

Preparación de tricarbonil[tris(2-isocianosuccinato de litio)]Mo(0) (**4-b**): El Compuesto (4-a) (0,6669 g;  $9,62 \times 10^{-4}$  mol; 693,4224 g/mol) se disolvió en 20 ml de THF a 0 °C. Se disolvió LiOH.H<sub>2</sub>O (6 equiv.; 242 mg; 5,77 mmol), en 5 ml de H<sub>2</sub>O también a 0 °C. Se añadió la solución de hidróxido de litio, la reacción se mantuvo durante una noche, calentamiento a temperatura ambiente y después se evaporó a sequedad para proporcionar el compuesto (**4-b**) en forma de la sal de hexalio. Rendimiento del compuesto (**4-b**): 100 %.

Caracterización del compuesto (**4-b**): Análisis elemental: Calculado para  $MoC_{18}H_9N_3O_{15}Li_6$ : % de C: 33,53; % de H: 1,41; % de N: 6,52; Encontrado: % de C: 33,42; % de H: 3,06; % de N: 4,94. IR (KBr): Bandas (C≡O): 1944(s); 1872(s); Bandas (C=O): 1586(s); Bandas (C≡N): 2144(s)  $^1H$  RMN ( $D_2O$ , 400 MHz, temperatura ambiente,  $\delta$  en ppm):  $\delta = 4,64-4,60$  (m,3H), 2,85-2,69 (m,6H).

20 *Preparación de Tricarbonil[tris(ácido isocianociclopropilcarboxílico)]Mo(0)(5-b)*



Preparación de tricarbonil[tris(éster etílico del ácido isocianociclopropilcarboxílico)]Mo(0) (**5-a**): Se suspendió  $Mo(CO)_3(\eta^6-C_7H_8)$  (0,521 g; 1,92 mmol; 272,1117 g/mol) en 25 ml de MeOH para dar una suspensión de color rojo. Se disolvió isocianociclopropilcarboxilato de etilo (3 equiv.; 0,8 g; 5,75 mmol; 139,16 g/mol) en 20 ml de MeOH y se añadió lentamente a la suspensión anterior. Se obtuvo inmediatamente una solución de color naranja claro. La solución se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, después de lo cual el disolvente se concentró y comenzó a caer un polvo de color blanco. El sólido, ligeramente contaminado con trazas de un aceite, se filtró y se lavó con 5 ml de MeOH. Después, se transfirió a una columna cromatografía de gel de sílice activada. Las fracciones se recogieron en tubos de ensayo y la elución se siguió de TLC. La mezcla de eluyente (hexano (7)/acetato de etilo (3)) fue siempre la misma, sin embargo, los primeros 6 tubos de ensayo eluidos correspondían a las mezclas traza de impurezas y se descartaron. Las fracciones limpias se recogieron y se evaporaron a sequedad para dar un aceite de color verde. Rendimiento: 54 % (0,6194 g).

Caracterización para el compuesto (**5a**): Calculado para  $C_{24}H_{27}N_3O_9Mo$ : % de C: 48,25, % de H: 6,24, % de N: 7,03, Encontrado: % de C: 47,60; % de H: 4,80; % de N: 7,05. IR (KBr): Bandas (C≡O): 1942 (s); 1875 (s); Bandas (C=O): 1738 (m); Bandas (C≡N): 2154 (m); 2106 (s).  $^1H$  RMN ( $C_6D_6$ , 400 MHz, temperatura ambiente,  $\delta$  en ppm):  $\delta = 3,86$  (c, 2H,  $OCH_2CH_3$ ), 1,08 (m, 2H, ciclo), 0,97 (t, 3H,  $OCH_2CH_3$ ), 0,87 (m, 2H, ciclo).  $^{13}C$  RMN ( $C_6D_6$ , 100 MHz, temperatura ambiente,  $\delta$  en ppm):  $\delta = 212,5$  (C≡O), 168,3 (CN), 166,8 (C=O), 62,5 ( $CCH_2CH_2$ ), 36,5 ( $CCH_2CH_2$ ), 19,3 ( $COCH_2CH_3$ ), 14,15 ( $COCH_2CH_3$ ).

Preparación de tricarbonil[tris(ácido isocianociclopropilcarboxílico)]Mo(0) (**5-b**): El compuesto (**5-a**) (0,619 g, 1,04 mmol, 597,432 g/mol) se disolvió en THF anhidro (20 ml) y se puso en un baño de hielo. Se añadió gota a gota una solución acuosa de hidróxido sódico (10 equivalentes, 10,37 mmol, 0,4148 g) en 5 ml de agua a la solución de color amarillo. Se obtuvo una emulsión de color amarillo, que se agitó durante 4 horas mientras se ponía lentamente a temperatura ambiente. El THF se evaporó, y cuando solamente quedaba agua, se añadieron 15 ml más de este disolvente. La solución se filtró para retirar las trazas de un sólido, y se añadieron gota a gota 5,2 ml de una solución acuosa 1 M de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (37 mmol). Después de añadir todo el ácido y de la precipitación de un aceite de color parduzco, el pH de la solución era de 2. El disolvente se concentró, se separó más cantidad de aceite, y después de un determinado punto, el aceite se convirtió en un polvo de color amarillo oscuro. Se filtró y se lavó 4 veces con 20 ml de agua cada vez (pH 5). El sólido se secó al vacío. Rendimiento: 79% (0,420 g).

Caracterización de (**5b**): Calculado para  $C_{18}H_{15}N_3O_9Mo$ : % de C: 42,12; % de H: 2,95; % de N: 8,19; Encontrado: % de C: 42,40; % de H: 3,32; % de N: 8,48. IR (KBr): Bandas (C≡O): 1941 (s); 1874 (s); Bandas (C=O): 1705 (m); Bandas (C≡N): 2153 (m); 2109 (s).  $^1H$  RMN ( $CD_3OD$ , 400 MHz, temperatura ambiente,  $\delta$  en ppm):  $\delta$  = 1,66, 1,63 (m, 4H, ciclo).  $^{13}C$  RMN ( $CD_3OD$ , 100 MHz, temperatura ambiente,  $\delta$  en ppm):  $\delta$  = 213,7 (C≡O), 171,5 (CN), 164,2 (C=O), 37,2 ( $CCH_2CH_2$ ), 20,2 ( $CCH_2CH_2$ ).

## Ejemplo 2. Cinética de liberación de CO

La cinética de liberación de CO de los Compuestos 1b, 2b, 3b, 4b y 5b se realizó in vitro en tampón HEPES (pH 7,4) o en tampón fosfato (pH 7,4) y en presencia de microsomas hepáticos. La cuantificación del CO liberado se realizó de acuerdo con Vreman et al. Anal. Biochem. (2005) 341: 280-289 usando un cromatógrafo de gases con un detector de fotómetro de compuesto reductor (GC-RCP; Peak Laboratories, Mountain View, CA), que permite cuantificar CO en mezclas de gases a concentraciones tan bajas como 1-2 partes por billón (ppb).

### Método general para la determinación de la liberación de CO en tampón HEPES

La cinética de liberación de CO de todos los compuestos se evaluó en tampón HEPES 50 mM (pH 7,4) en un vial sellado de 8 ml. Las soluciones madre (5 mM) de los compuestos se prepararon en tampón PBS (cada compuesto era soluble en PBS después de la adición de 3 equivalentes de NaOH) y se añadieron 10  $\mu$ l a 990  $\mu$ l de tampón HEPES 50 mM (la concentración final en tampón era de 50  $\mu$ M). Dado que la activación de la luz puede liberar CO de compuestos de molibdeno carbonilo, la liberación de CO se determinó con soluciones en viales de vidrio transparentes cerrados mantenidos bajo la luz (en el banco de laboratorio bajo iluminación regular de laboratorio) o en la oscuridad (envueltos en papel de aluminio y guardados en una caja de cartón). Se extrajeron muestras de gas (desde 10  $\mu$ l hasta 500  $\mu$ l) del espacio superior del vial (volumen de 7 ml) con una jeringa hermética a los gases 15, 30, 60, 120, 240, 360 min y 24 horas después del inicio de la incubación. Las muestras de gas se inyectaron en viales sellados que contenían aire (8 ml) para la dilución. Todo el volumen de gas de los viales (8 ml) se transfirió con gas portador al GC-PCR y se analizó para determinar el CO. El GC-PCR se calibró con un gas que contenía una cantidad conocida de CO. La curva de calibración se estableció a partir de gas de un cilindro que contenía aire sintético con 30 ppm de CO (Linde, Cat. N.º 14960013) y la preparación de diluciones en viales de 8 ml como se ha descrito anteriormente.

### Método general para la liberación de CO en presencia de microsomas hepáticos

La cinética de liberación de CO de los Compuestos 1b, 2b, 3b, 4b y 5b también se evaluó en presencia de microsomas hepáticos de rata o humanos. En un vial de 8 ml, se combinaron los siguientes reactivos:

- 713  $\mu$ l de agua purificada
- 200  $\mu$ l de tampón fosfato potásico 0,5 M, pH 7,4
- 50  $\mu$ l de solución A del sistema de regeneración de NADPH (BD, Cat. N.º 451220)
- 10  $\mu$ l de solución B del sistema de regeneración de NADPH (BD, Cat. N.º 451200)
- 2  $\mu$ l de una solución 5 mM del compuesto en DMSO (10  $\mu$ M de concentración final)

Los viales se cerraron y, después de mezclar, las muestras se calentaron a 37 °C durante 5 minutos antes de añadir una alícuota (25  $\mu$ l, 0,5 mg de contenido de proteína) de microsomas hepáticos de rata (BD, Cat. N.º 452511) o microsomas hepáticos humanos (BD, Cat. N.º 452161) en cada vial. En paralelo, se prepararon viales análogos con todos los reactivos excepto los microsomas. Debido a la sensibilidad a la luz de los compuestos de molibdeno, las reacciones se realizaron en la oscuridad. Las muestras se incubaron a 37 °C y las muestras de gas del espacio superior (de 100  $\mu$ l a 500  $\mu$ l) de los viales se eliminaron con una jeringa hermética a los gases después de 5, 10, 15, 30 y 60 minutos (en algunos casos, muestras también se tomaron en 1, 2, 3 o 4 minutos) después de la adición de los microsomas. Después, las muestras de gas se inyectaron en viales sellados vacíos (volumen de 8 ml) y la cantidad de CO presente en los viales se midió usando GC-PCR.

### Curva de calibración de CO para GC-RCP

Se estableció una curva de calibración de CO para poder extrapolar las áreas pico obtenidas en el GC-PCR a las concentraciones conocidas de CO. Se inyectaron diferentes volúmenes de gas de una botella de gas CO de 30 ppm (Linde, Cat. N.º 14960013) en viales de 8 ml. Los valores del área pico obtenidos en la GC-PCR y las correspondientes ppm o pmol de CO en cada muestra se trazaron en un gráfico. Se obtuvo una curva de respuesta lineal para concentraciones de CO de hasta 0,857 ppm (o 268 pmol). Por encima de estos valores, las lecturas de la GC-PCR no son precisas.

La Tabla 4 proporciona el volumen de gas inyectado desde una botella de gas CO de 30 ppm (Linde, Cat. N.º 14960013) en un vial de 8 ml y las correspondientes concentraciones de CO. Valores de las áreas pico de CO de las diferentes muestras analizadas en la GC-RCP.



Tabla 4.

Volumen de botella de CO ( $\mu$ l)	CO (ppm)	CO (pmol)	Área pico
0	0	0	4854782
25	0,107	33	9682321
50	0,214	67	13791770
75	0,321	100	19163149
100	0,429	134	27436859
200	0,857	268	49579021
250	1,071	335	1085495
350	1,5	469	29003989

Los equivalentes de CO liberados en cada punto de tiempo de cada compuesto se determinaron mediante la siguiente ecuación: (CO liberado (pmol) x número de ligandos de CO en la molécula)/([CO] en el compuesto (pmol)).

5 Una solución de 1 ml de un compuesto de tricarbonilo, a una concentración de 50  $\mu$ M, contiene un total de 150.000 pmol de CO.

#### *Cinética de liberación de CO del Compuesto 1b*

10 La cinética de liberación de CO del Compuesto 1b en tampón HEPES 50 mM (pH 7,4) se presenta en la figura 1A. La vida media de la liberación de CO es de aproximadamente 4 horas en la oscuridad y aproximadamente 1 hora bajo la luz. En 24 horas en tampón HEPES 50 mM, el Compuesto 1b libera 1,6 equivalentes de CO en condiciones de luz y 1,4 equivalentes de CO en la oscuridad, respectivamente.

15 En un estudio de metabolismo in vitro del Compuesto 1b, se determinó que el 60 % del Compuesto 1b se descomponía en una reacción de una hora con microsomas hepáticos. La descomposición del sesenta por ciento podría liberar hasta 1,8 equivalentes molares de CO. Esta velocidad de descomposición es más rápida que la observada en el tampón de pH 7,4 en solitario, donde se liberaron 0,5 equivalentes molares de CO en aproximadamente 4 h. Por lo tanto, los microsomas hepáticos aceleran la descomposición del compuesto. Con el fin

20 de investigar si esta descomposición acelerada del Compuesto 1b en presencia de microsomas estaba induciendo una liberación rápida de CO del compuesto, se determinó el perfil de liberación de CO del Compuesto 1b en presencia de microsomas hepáticos. Los microsomas se incubaron con el Compuesto 1b usando viales cerrados para permitir la medición cuantitativa del CO liberado. Como control, el Compuesto 1b se incubó en condiciones similares en ausencia de microsomas. Los resultados se presentan en la figura 1B y muestran una mayor velocidad

25 de liberación de CO a partir del Compuesto 1b en presencia de microsomas después de 10 minutos de reacción.

#### *Cinética de liberación de CO del Compuesto 2b*

30 La cinética de liberación de CO del Compuesto 2b en tampón HEPES 50 mM (pH 7,4) se presenta en la figura 2A. La vida media de la liberación de CO en el caso del Compuesto 2b es de aproximadamente 4 horas en la oscuridad, pero bajo luz tarda aproximadamente 90 minutos en liberar 0,5 equivalentes de CO. Después de 24 horas de incubación en tampón HEPES 50 mM, el Compuesto 2b libera 1,5 equivalentes de CO en condiciones de luz y 1,2 equivalentes de CO en la oscuridad, respectivamente.

35 También se investigó la cinética de liberación de CO del Compuesto 2b en presencia de microsomas hepáticos de rata. Los microsomas se incubaron con el Compuesto 2b usando viales cerrados para permitir la medición cuantitativa del CO liberado. Como control, el Compuesto 2b se incubó en condiciones similares en ausencia de microsomas. Los resultados se presentan en la figura 2B. Los microsomas aceleraron la descomposición del

40 Compuesto 2b.

#### *Cinética de liberación de CO del Compuesto 3b*

45 La cinética de liberación de CO del Compuesto 3b en tampón HEPES 50 mM (pH 7,4) se presenta en la figura 4D. La vida media de la liberación de CO es de aproximadamente 2 horas en la oscuridad y aproximadamente 1 hora bajo la luz. En 24 horas en tampón HEPES 50 mM, el Compuesto 3b libera 1,8 equivalentes de CO en condiciones de luz y 1,3 equivalentes de CO en la oscuridad, respectivamente.

50 En un estudio de metabolismo in vitro de la cinética de liberación de CO del Compuesto 3b, se determinó que el 80 % del Compuesto 3b se descompuso en 60 minutos de incubación con microsomas hepáticos. Con el fin de investigar si esta descomposición acelerada del Compuesto 3b en presencia de microsomas estaba induciendo una liberación de CO más rápida del compuesto, se determinó el perfil de liberación de CO del Compuesto 3b en presencia de microsomas hepáticos. Los microsomas se incubaron con el Compuesto 3b usando viales cerrados para permitir la medición cuantitativa del CO liberado. Como control, el Compuesto 3b se incubó en condiciones

similares en ausencia de microsomas. Los resultados se presentan en la figura 4E y muestran una mayor velocidad de liberación de CO del Compuesto 3b en presencia de microsomas. La velocidad de liberación inicial de CO es de 0,0297 equivalentes de CO (297,22 pmol) por minuto en presencia de microsomas y 0,0072 equivalentes de CO (72,265 pmol) por minuto en ausencia de microsomas. Estos resultados indican que la velocidad de liberación de CO inicial es aproximadamente 4 veces más rápida en presencia de microsomas.

#### *Cinética de liberación de CO del Compuesto 4b*

La cinética de liberación de CO del Compuesto 4b en tampón HEPES 50 mM (pH 7,4) se presenta en la figura 5A. La estabilidad del compuesto 4b se determinó midiendo la liberación de CO in vitro en tampón Hepes 50 mM (pH 7,4) usando un GC equipado con RCP. La concentración del compuesto 4b fue de 50  $\mu$ M. La vida media para la liberación de CO se define como el tiempo necesario para liberar 0,5 equivalentes molares de CO y se encontró que era de aproximadamente 1 h para el compuesto 4b (en ausencia de luz). La vida media para la liberación de CO también se midió en sangre de oveja usando un oxímetro. Se usó una concentración de 632,1  $\mu$ g/ml de compuesto 4b. Esta concentración corresponde a la  $C_{m\acute{a}x}$  calculada en el ratón para una dosis de 50 mg/kg. La vida media de la liberación de CO en sangre in vitro fue de aproximadamente 2,5 horas.

#### *Cinética de liberación de CO del Compuesto 5b*

La cinética de liberación de CO del Compuesto 5b en tampón HEPES 50 mM (pH 7,4) se presenta en la figura 6A. La estabilidad del compuesto 5b se determinó midiendo la liberación de CO in vitro en tampón Hepes 50 mM (pH 7,4) usando un GC equipado con RCP. La concentración del compuesto 5b fue de 50  $\mu$ M. La vida media para la liberación de CO se define como el tiempo necesario para liberar 0,5 equivalentes molares de CO y se encontró que era de 6 h para el compuesto 5b (en ausencia de luz).

La vida media para la liberación de CO también se midió en sangre de oveja usando un oxímetro. Se usó una concentración de 632,1  $\mu$ g/ml de compuesto 5b (esta concentración corresponde a la  $C_{m\acute{a}x}$  calculada en el ratón para una dosis de 50 mg/kg). El compuesto 5b liberó 0,12 equivalentes molares de CO en 3 horas.

#### 30 *Sumario*

La Tabla 5 resume las vidas medias de liberación de CO de compuestos de isociano de molibdeno carbonilo en tampón HEPES 50 mM (pH 7,4) o en tampón de fosfato de potasio (pH 7,4) en presencia de microsomas. El compuesto 4b es el menos estable, con una vida media de 1 hora para la liberación espontánea de CO en soluciones de pH 7,4. Los compuestos 1b y 2b tienen vidas medias de liberación espontánea de CO de 4 horas.

Tabla 5.

Compuesto	Vida media de la liberación de CO en la oscuridad (tiempo hasta liberar 0,5 equivalentes de CO)	
	Tampón HEPES (pH 7,4)	Microsomas tampón fosfato K (pH 7,4)
1b	4 h	20 min (1,1 CO equiv. en 1 h)
2b	4 h	30 min. (0,9 CO equiv. en 1 h)
3b	2 h	13 min (1,5 CO equiv. en 1 h)
4b	1 h	---
5b	6h	---

La cinética de liberación de CO de estos compuestos se evaluó en presencia de microsomas hepáticos. Para todos los compuestos evaluados, los microsomas aceleraron la liberación de CO. Estos resultados sugieren que los compuestos podrían activarse in vivo por el metabolismo en el hígado. De hecho, los experimentos de distribución de CO en tejido realizados en ratones mostraron que la administración del Compuesto 3b o del Compuesto 2b aumentaba los niveles de CO en el hígado, en comparación con la sangre, tejidos de riñón, corazón y pulmón (véase el Ejemplo 3). Sin embargo, no hubo una mayor acumulación de CO en el hígado de los animales tratados con el Compuesto 1b a pesar de que este compuesto también se activó por microsomas in vitro.

#### **Ejemplo 3. Acumulación de monóxido de carbono (CO) en tejidos después de la administración de la molécula liberadora de monóxido de carbono**

Las moléculas liberadoras de monóxido de carbono (CO-RM) son portadoras de monóxido de carbono (CO) y pueden liberar CO in vivo. El CO puede unirse a la hemoglobina en la sangre y a varias proteínas hemo en las células. Vreman et al. Anal Biochem 341:280-289 describen un método para liberar CO unido a los tejidos en la fase gaseosa, y cuantificarlo usando cromatografía GC-RCP. Se aplica esta metodología para ensayar el CO en diversos tejidos de ratones tratados con CO-RM (véase el Ejemplo 2, en el presente documento). Sin embargo, dado que el método de liberación de CO de Vreman (incubación in vitro con ácido sulfosalicílico) también libera CO del CO-RM,

el CO liberado de las muestras de tejido representa CO unido a proteínas tisulares y CO del compuesto CO-RM acumulado en el tejido. Para los compuestos CO-RM con velocidades de liberación lenta de CO in vivo, el CO medido en el punto de muestreo más temprano (5 min después de la administración de CO-RM) puede ser por tanto en su mayor parte una medida para la distribución tisular del CO-RM intacto.

5

#### Métodos

El compuesto se disolvió en PBS y los ácidos se neutralizaron con 3 equiv. de NaOH (de una solución madre de NaOH 2,5 M). El pH se redujo a aproximadamente 7,5 mediante la adición de HCl (a partir de una solución madre 1 M). El compuesto se administró i.v. (50 mg/kg en 150  $\mu$ l) a dos ratones hembra CD-1 (Charles River). Los ratones se calentaron durante diez minutos bajo una lámpara de infrarrojos para facilitar la administración i.v. en una vena de la cola. Cinco y veinte minutos después de la dosificación, los dos ratones se anestesiaron con IsoFluorano, y la sangre se recogió del plexo retroorbital usando una pipeta Pasteur que contenía ~20  $\mu$ l de solución de heparina. El animal se abrió; la vena porta se cortó y los órganos se perfundieron inyectando 10-15 ml de PBS frío en el ventrículo izquierdo del corazón. Luego se recogieron el corazón, los riñones, el hígado y el pulmón, se lavaron brevemente con tampón de fosfato de potasio, se secaron con una toalla de papel y se congelaron rápidamente en nitrógeno líquido. Las muestras de la sangre recién recogida se transfirieron a cubetas AVOXimeter 4000 (ITC) para medir los niveles de carboxihemoglobina (COHb), oxihemoglobina (O<sub>2</sub>Hb) y metahemoglobina (MetHb) usando un oxímetro de CO portátil AVOXimeter 4000. Los resultados se muestran como el porcentaje medio de especies de hemoglobina total en circulación. Los órganos y la sangre se conservaron a -20 °C hasta que se realizó la cuantificación de CO.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

Para la cuantificación de CO, se siguió el protocolo descrito por Vreman et al. Los órganos se cortaron en trozos pequeños, que se pesaron y se añadieron 4 volúmenes de agua (un volumen correspondiente a cuatro veces el peso de la muestra de tejido) a cada muestra de órgano. Los tejidos se homogeneizaron usando un desgarrador de tejido. Se colocaron alícuotas de homogeneizado (30  $\mu$ l) en viales a los que se añadieron agua (25  $\mu$ l) y ácido sulfosalicílico (SSA, 5  $\mu$ l, 30 % [peso/vol.]) inmediatamente antes de que se cerraran con un tapón hermético a los gases. Los viales se incubaron en hielo durante al menos 20 minutos antes de ser analizados por GC-PCR (en experimentos posteriores, el tiempo de incubación se extendió a 45 minutos). La cantidad de CO se calculó utilizando una curva de calibración preparada a partir de patrones de CO. Los resultados para el Compuesto 1b (un experimento, figure 1C), el Compuesto 2b (tres experimentos repetidos, figuras 2C-2E), el Compuesto 3b (dos experimentos repetidos, figuras 4F-4G), el Compuesto 4b (figura 5B) y el Compuesto 5b (figura 6B), se presentan como pmol CO por mg de tejido fresco húmedo (pmol CO/mg FW). COHb se determinó usando un oxímetro (AVOXimeter 4000, EE. UU.).

Resultados: Los experimentos de distribución de CO de tejido realizados en ratones mostraron que la administración del compuesto 3b o del compuesto 2b aumentaba los niveles de CO en el hígado, en comparación con la sangre, tejidos de riñón, corazón y pulmón. Por el contrario, no hay una acumulación preferencial de CO en el hígado de los animales tratados con el compuesto 1b, en relación con otros órganos, aunque este compuesto también se activó por microsomas in vitro. Los resultados muestran que los Compuestos 2b y 3b se distribuyen preferentemente al hígado poco después de la administración, mientras que el compuesto 1b no lo hace. Curiosamente, estos tres compuestos se descomponen por microsomas hepáticos para liberar CO a velocidades relativamente similares, aunque algo más rápido en el caso del compuesto 3b. El compuesto 3b, que tiene una acumulación preferencial en el hígado y también una velocidad de liberación de CO más rápida inducida por el microsoma hepático, tiene un mejor perfil de administración de CO a este órgano que tanto 2b como 1b. Este último libera CO más rápido que 2b pero su tropismo hepático es lo suficientemente bajo como para comprometer completamente la eficacia terapéutica. El compuesto 2b presenta un equilibrio intermedio y aún conserva la actividad terapéutica, aunque es menor que la del Compuesto 3b. Tomados en conjunto, estos dos conjuntos de resultados sugieren que la liberación de CO en el hígado no es suficiente para producir acción terapéutica y que también se necesita alguna acumulación preferencial en el hígado (véase más adelante el Ejemplo 4 "Beneficio terapéutico del Compuesto 3b en modelo de insuficiencia hepática aguda (ALF) inducida por APAP").

#### Ejemplo 4. Moléculas liberadoras de monóxido de carbono para el tratamiento de enfermedad hepática

##### 55 Estudios preliminares de seguridad en ratones

Los estudios preliminares de seguridad en ratones demostraron que dosis de hasta 1 g/kg no mostraron toxicidad. La figura 7 representa la farmacocinética del Compuesto 3b en ratones CD-1. El compuesto 3b se administró por vía intravenosa (i.v.), a una dosis de 100 mg/kg. Se tomaron muestras de sangre después de 1, 5, 10, 20 y 30 minutos después de la administración. La concentración del Compuesto 3b en suero se ensayó mediante HPLC. La curva experimental representa la eliminación de la circulación y la descomposición a través de la liberación de CO.

##### Distribución in vivo

65 Se encontró que el Compuesto 3b se distribuye rápidamente al hígado. Cinco minutos después de la inyección i.v. de Compuesto 3b, la concentración de CO es cinco veces mayor en el hígado que en la sangre; veinte minutos

después, entre los cuatro tejidos no sanguíneos analizados, la concentración de CO sigue siendo máxima en el hígado.

5 La Tabla 6 proporciona la distribución de CO en sangre, corazón, hígado, pulmón y riñón después de la administración del Compuesto 3b a 50 mg/kg por inyección i.p. El CO se ensayó por GC-RCP, 5 y 20 minutos después de la administración del compuesto. La concentración de CO en los diversos órganos se normaliza a la cantidad de CO cuantificada en sangre (concentración de CO como fracción de concentración en sangre 50 mg/kg de Compuesto 3b inyectado i.v. en t = 0; CO ensayado en tejidos por GC en t = 5 min y t = 20 min).

10

Tabla 6.

	5 min	20 min
<b>Sangre</b>	1	1
<b>Corazón</b>	0,046 ± 0,012	0,072 ± 0,055
<b>Hígado</b>	5,26 ± 3,18	0,163 ± 0,062
<b>Pulmón</b>	0,049 ± 0,020	0,060 ± 0,046
<b>Riñón</b>	0,419 ± 0,295	0,074 ± 0,028

#### *Los microsomas humanos y de rata aceleran la liberación de CO del Compuesto 3b*

15 La figura 8 representa la cantidad de CO liberado del Compuesto 3b, expresada en equivalentes de CO, en tampón fosfato pH 7,4 ("tampón"), tampón fosfato pH 7,4 en presencia de microsomas humanos ("humano") o microsomas de rata ("rata"). El ensayo se realizó en viales cerrados durante 1 hora a 37 °C. Se retiró una alícuota de gas del espacio de aire de los viales y se determinó la concentración de CO por GC-RCP en diferentes puntos de tiempo.

20 Se encontró que en un tampón de pH 7,4, el Compuesto 3b libera 0,25 equiv. mol de CO en 1 hora. También se descubrió que los microsomas aceleran la liberación de CO por un factor de aproximadamente 4,0 - 5,5. La distribución tisular al hígado y la liberación mejorada de CO por los microsomas hepáticos sugieren una administración específica de CO al hígado.

#### *Niveles de COHb en ratones tratados con el Compuesto 3b*

25

La figura 9 representa el porcentaje de carboxihemoglobina (CO-Hb) medida en ratones hembra CD-1 después de la administración del Compuesto 3b a 300 mg/kg, por vía intravenosa. La CO-Hb se cuantificó durante 80 min usando un oxímetro (Avoximeter 4000 de A-vox Instruments). El valor inicial de CO-Hb medida con este instrumento es del 3-4 %. Se encontró que los ratones tratados i.v con el Compuesto 3b a una dosis de 300 mg/kg no excedían el 7,5% de COHb en sangre y que las dosis terapéuticas del Compuesto 3b no causaban niveles sintomáticos de COHb en la sangre de los ratones.

30

#### *Beneficio terapéutico del Compuesto 3b en el modelo de insuficiencia hepática aguda (ALF) inducida por APAP*

35 Se estudió el Compuesto 3b en un modelo subletal para lesión hepática inducida por acetaminofeno (APAP).

Las figuras 10A-10B representan la cinética de producción y depuración de alanina aminotransferasa (ALT). La figura 10A representa la cinética de la producción de ALT después de la administración de 300 mg/kg de APAP por inyección intraperitoneal (i.p.). ALT se expresa en U/l a lo largo del tiempo (horas). La figura 10B representa la cinética de la eliminación de APAP después de la administración de 300 mg/kg por inyección i.p. APAP se expresa en g/l en el tiempo (horas).

40

La figura 11A representa el efecto del tratamiento con el Compuesto 3b en la ALT sérica en un modelo de insuficiencia hepática aguda (ALF) inducida por APAP. Ratones macho C57BL/6 ayunaron durante una noche para aumentar la actividad de CYP450. Se indujo ALF en ratones macho C57B1/6 con una dosis única de acetaminofeno (300 mg/kg) por inyección i.p. Una hora después de la inyección de APAP, los animales se trataron con dosis de 0,3, 3, 30 o 60 mg/kg del Compuesto 3b. La alanina aminotransferasa sérica (ALT) se midió 22 h después de la inyección de APAP (n = 5 ratones para cada grupo). La figura 11B representa el efecto del Compuesto 3b en el daño hepático inducido por APAP. Se indujo ALF en ratones macho C57B1/6 con una dosis única de acetaminofeno (300 mg/kg) por inyección i.p. El compuesto 3b (0,3, 3, 30, 60 mg/kg) o el Compuesto 1b (60 mg/kg) se administraron a ratones 1 h después de APAP. Veintidós horas después de la inyección de APAP, se midió la ALT en suero (indicada en la figura 11A), se cortaron secciones centrilobulares de hígados de ratón y se tiñeron con hematoxilina y eosina, y se determinó el porcentaje de necrosis hepática. Los datos indican una reducción dependiente de la dosis de los niveles de ALT del 9% al 83% en relación con el control de APAP, y una reducción de la necrosis dependiente de la dosis del 0% al 56% en relación con el control de APAP. Los datos también indican que el Compuesto 1b no reduce la necrosis en relación con el control de APAP, incluso a la dosis más alta de 60 mg/kg. Estos datos muestran inequívocamente una fuerte actividad terapéutica del Compuesto 3b en el tratamiento de ALF inducido por

55

acetaminofeno y la falta de actividad del Compuesto 1b a dosis similares. Esta diferencia en la actividad terapéutica se correlaciona fuertemente con los perfiles de administración de CO al hígado por acumulación y liberación de CO, los cuales favorecen el Compuesto 3b sobre el Compuesto 1b como se analiza en el Ejemplo 3.

##### 5 *Beneficio terapéutico del Compuesto 3b en dosis más altas en el modelo ALF*

El compuesto 3b también se estudió para ver si había un beneficio terapéutico en dosis más altas. Se trataron tres grupos de 5 ratones con 2 dosis de compuesto administrado 1 h y 3 h después de la exposición a APAP: (1) Compuesto 3b, 2 x 60 mg/kg; (2) Compuesto 3b, 2 x 120 mg/kg; y (3) NAC, 2 x 300 mg/kg, y el efecto evaluado 22 h después de APAP.

Las figuras 12A-12B representan el efecto del tratamiento con NAC o el Compuesto 3b en la ALT sérica en un modelo de ALF. Se indujo ALF en ratones macho C57B1/6 con una dosis única de acetaminofeno (300 mg/kg) por inyección i.p. Los animales se trataron con NAC (N-acetilcisteína; 300 mg/kg) o el Compuesto 3b (60 o 120 mg/kg) administrados una y tres horas después de la inyección de APAP. La alanina aminotransferasa (ALT) se midió 22 h después de la inyección de APAP (n = 4 o n = 5 ratones para cada grupo). La figura 12B es un zoom de la figura 12A para ayudar a visualizar las diferencias en los grupos tratados.

La figura 12C confirma los resultados obtenidos con marcadores de ALT en suero (figura 12A-12B), y representa el efecto del tratamiento con NAC o el Compuesto 3b sobre el daño hepático en un modelo de ALF inducido por APAP. Se indujo ALF en ratones macho C57B1/6 con una dosis única de acetaminofeno (300 mg/kg) por inyección i.p. Los animales se trataron con NAC (300 mg/kg) o el Compuesto 3b (60 o 120 mg/kg) administrados una y tres horas después de la inyección de APAP. Veintidós horas después de la inyección de APAP, se midió la ALT en suero (indicada en las figuras 12A-12B), se cortaron secciones centrilobulares de hígados de ratón y se tiñeron con hematoxilina y eosina, y se determinó el porcentaje de necrosis hepática.

Los resultados indican que en ambas dosis usadas, el Compuesto 3b es altamente terapéutico, y a 2 x 120 mg/kg, el Compuesto 3b es tan eficaz como NAC.

##### 30 *La dosificación del compuesto 3b tardía después de la lesión por APAP en el modelo ALF es más eficaz que la dosificación de NAC*

La figura 13 representa el efecto del tratamiento con NAC o el Compuesto 3b en la ALT sérica en un modelo de insuficiencia hepática aguda (ALF) inducida por APAP. Se indujo ALF en ratones macho C57B1/6 con una dosis única de acetaminofeno (300 mg/kg) por inyección i.p. Cinco horas y siete horas después de la inyección de APAP, los animales se trataron con NAC (150 mg/kg) o el Compuesto 3b (120 mg/kg) o una combinación de ambos compuestos. La alanina aminotransferasa (ALT) se midió 22 h después de la inyección de APAP (n = 4 o n = 5 ratones para cada grupo). \*La administración de NAC a ratones imita la dosis en humanos, que es de 150 mg/kg (dosis de carga) durante 60 minutos; 50 mg durante 4 horas (2ª dosis); 100 mg durante 16 horas (3ª dosis); para un total de 300 mg durante 21 horas.

La figura 14 representa el efecto del tratamiento tardío con el Compuesto 3b en la ALT sérica en el modelo de ALF. Se indujo ALF en ratones macho C57B1/6 con una dosis única de acetaminofeno (300 mg/kg) por inyección i.p. Dieciséis horas después de la inyección de APAP, los animales se trataron con diferentes dosis del Compuesto 3b (0,3, 3, 30 o 60 mg/kg). La alanina aminotransferasa (ALT) se midió 22 h después de la inyección de APAP (n = 4 o n = 5 ratones para cada grupo).

Se encontró que el NAC dado tarde después de la lesión de APAP ya no es eficaz y aumenta los niveles de ALT en suero (es tóxico). El compuesto 3b es terapéutico cuando se administra tarde después de la lesión por APAP cuando el NAC ha perdido actividad. Además, NAC no interfiere con la actividad del Compuesto 3b.

También se descubrió que el tratamiento con una única dosis de Compuesto 3b administrado 16 horas después de la lesión de APAP produce un efecto terapéutico dependiente de la dosis. Los niveles séricos de ALT alcanzan su máximo a aproximadamente 22 h después de la administración de APAP, cuando se tomaron las medidas, y vuelven a ser casi normales 48 h después de APAP. Por lo tanto, los tratamientos posteriores en este modelo no son indicativos de la actividad del fármaco.

##### 60 *La dosificación del Compuesto 3b más NAC Temprano después de la lesión por APAP muestra efecto aditivo en el modelo de ALF*

Las figuras 15A-15B representan el efecto del tratamiento de combinación con NAC y el Compuesto 3b en la ALT sérica en el modelo de ALF. Se indujo ALF en ratones macho C57B1/6 con una dosis única de acetaminofeno (300 mg/kg) por inyección i.p. NAC (300 mg/kg) y el Compuesto 3b (120 mg/kg, figura 15A o 60 mg/kg, figura 15B) se administraron a ratones, por separado o en combinación, una hora y tres horas después de la inyección de APAP. Los experimentos 1 y 2 representan dos experimentos independientes. La alanina aminotransferasa (ALT) se midió 22 h después de la inyección de APAP (n = 4 o n = 5 ratones para cada grupo). Los niveles de ALT y el porcentaje

respectivo de aumento de ALT, en relación con el aumento observado en ratones inyectados con APAP solo, se presentan en la Tabla 7.

5 La Tabla 7 proporciona los niveles de ALT medidos en suero de ratones 22 horas después de la administración de APAP y el porcentaje de aumento de ALT en relación con el aumento observado en ratones, que se inyectaron con APAP solo.

Tabla 7.

Tratamiento 1 h y 3 h después de APAP	Valores de ALT medidos (media ± D.E.)		% de aumento de ALT en relación con el aumento con APAP solo	
	Experimento 1	Experimento 2	Experimento 1	Experimento 2
APAP, 300 mg/kg en t = 0 (sin tratamiento)	9050	12220	100 (= 9050 ALT U/L)	100 (= 12220 ALT U/L)
NAC (2 x 300 mg/kg)	1745 ± 738	6620 ± 2142	19,3 ± 8,7	54,2 ± 17,5
3b (2 x 120 mg/kg)	4480 ± 630	4360 ± 926	49,5 ± 7,0	35,7 ± 7,6
NAC más 3b (2 x 120 mg/kg)	123 ± 59	352 ± 59	1,4 ± 0,6	2,9 ± 3,1
3b (2 x 60 mg/kg)	5180 ± 1312	5500 ± 987	57,2 ± 14,5	45,0 ± 8,1
NAC más 3b (2 x 60 mg/kg)	132 ± 156	189 ± 103	1,5 ± 1,7	1,5 ± 0,8

10 Los datos proporcionan los valores experimentales de ALT en suero para cada animal.

Resultados: 2 x 60 mg/kg del Compuesto 3b es casi tan eficaz como 2 x 120 mg/kg del Compuesto 3b. Los efectos terapéuticos de NAC y el Compuesto 3b son aditivos. En combinación, las dosis bajas y altas del Compuesto 3b son igualmente eficaces.

15 *Análisis histológico hepático en el modelo de ALF*

20 La figura 16 representa el efecto de NAC y el Compuesto 3b en el daño hepático inducido por acetaminofeno. Se indujo ALF en ratones macho C57B1/6 con una dosis única de acetaminofeno (300 mg/kg) por inyección i.p. NAC y el Compuesto 3b se administraron una y tres horas después de la administración de APAP. Veintidós horas después de la inyección de APAP, se midió la ALT sérica y se cortaron secciones centrilobulares de hígados de ratón y se tiñeron con hematoxilina y eosina. A: Ratón sin tratar; B y C: Ratón de control con APAP (experimento por duplicado); D y E: APAP más Compuesto 3b 2 x 100 mg/kg (experimento por duplicado); F y G: APAP más Compuesto 3b 2 x 300 mg/kg (experimento por duplicado); H e I: APAP más NAC 2 x 300 mg/kg (experimento por duplicado).

30 Resultados: una dosis de 300 mg/kg de acetaminofeno causa una fuerte necrosis en el hígado del ratón. La necrosis es centrilobular y perivascular como se describe en la bibliografía. Los hígados de animales tratados con el Compuesto 3b o NAC tienen muy poca o ninguna necrosis. Los hígados de animales tratados con el Compuesto 3b y NAC parecían diferentes, lo que sugirió al patólogo diferentes mecanismos farmacológicos en este modelo. Por lo tanto, podría esperarse una aditividad para los efectos terapéuticos cuando NAC y el Compuesto 3b se administran en combinación.

35 Hipótesis: NAC administrado temprano (<3 - 5 h) en este modelo, previene la lesión hepática al reaccionar con el metabolito tóxico del acetaminofeno, NAPQI. El Compuesto 3b administrado temprano o tarde (<16 h) acelera la curación al limitar la inflamación y promover la regeneración. Esta hipótesis del mecanismo de acción del Compuesto 3b está respaldada por la observación de que las áreas perivasculares tenían un gran número de figuras mitóticas.

40 *Dosificación del Compuesto 4b en el modelo de ALF*

45 La figura 24 representa el efecto del Compuesto 4b en el modelo de ALF en ratones, administrado (ip) a una dosis de 0,3, 3, 10 o 30 mg/kg administrada 3 horas y 5 horas (+3 h, +5 h) después de la administración de APAP (300 mg/kg). Los niveles séricos de ALT se evaluaron 22 horas después de la administración de APAP. El compuesto 4b fue capaz de reducir los niveles de ALT inducidos por APAP de una manera dependiente de la dosis; a una dosis de 30 mg/kg, los niveles de ALT se redujeron en un 75 % con respecto a los animales de control no tratados.

*Dosificación del Compuesto 5b en el modelo de ALF*

50 La figura 25 representa el efecto del Compuesto 5b en el modelo de ALF en ratones, administrado (i.p.) a una dosis de 10, 30 o 120 mg/kg administrada 3 horas y 5 horas (+3 h, +5 h) después de la administración de APAP (300 mg/kg). Los niveles séricos de ALT se evaluaron 22 horas después de la administración de APAP. El compuesto 5b fue capaz de reducir los niveles de ALT inducidos por APAP de una manera dependiente de la dosis; a una dosis de 120 mg/kg, los niveles de ALT se redujeron en un 70% con respecto a los animales de control no tratados.

*Modelo de fallo hepático por APAP mortal*

Se ensayó el Compuesto 3b en un modelo de fallo hepático por APAP mortal (véase, por ejemplo, Imada et al., J Clin Invest (2009) 119:305-14).

5 R ratones macho C57BL/6 ayunaron durante una noche para aumentar la actividad de CYP450. Se dosificó i.p. APAP a 500 mg/kg. La supervivencia se controló durante 3 a 5 días. La supervivencia en los animales de control tratados con APAP es del 40 - 60% al final del experimento.

10 La figura 17 representa la curva de supervivencia de ratones C57BL/6 inyectados (i.p.) con 500 mg/kg de APAP. Los ratones se mantuvieron en ayunas durante la noche y APAP se administró después (n = 15). La supervivencia de los ratones se controló durante 4 días.

15 Las figuras 18A-18B representan la curva de supervivencia de ratones C57BL/6 inyectados (i.p.) con 500 mg/kg de APAP y tratados con el Compuesto 3b. Los ratones se mantuvieron en ayunas durante la noche y APAP se administró después (n = 15). El compuesto 3b se administró a una dosis de 120 mg/kg a 1 h y 3 h (A) o a 3 h y 5 h (B) después de la administración de APAP. La supervivencia de los ratones se controló durante 4 días.

20 La Figura 19 representa la curva de supervivencia de ratones C57BL/6 inyectados (i.p.) con 500 mg/kg de APAP y tratados con el Compuesto 3b y NAC por separado y las respectivas combinaciones usando tiempos de administración diferentes. Los ratones se mantuvieron en ayunas durante la noche y APAP se administró después (n = 15). El compuesto 3b se administró a una dosis de 120 mg/kg (i.p.) a +3 h o +4 h después de la administración de APAP. Otro grupo de ratones recibió NAC (150 mg/kg, ip) +1 h después de APAP. Los dos grupos restantes se administran en el modo de combinación NAC + Compuesto 3b; un grupo de ratones se administró con NAC (150 mg/kg, ip) +1 h más Compuesto 3b (120 mg/kg, ip) +3 h y otro con el Compuesto 3b (150 mg/kg, ip) +1 h más Compuesto 3b (120 mg/kg, ip) +4 h. La supervivencia de los ratones se controló durante 4 días.

30 Resultados: El Compuesto 3B dosificado a 2 x 120 mg/kg, 1 h y 3 h o 3 h y 5 h después de la administración de APAP, causa una supervivencia del 100 %, mientras que el 53% (8 de 15) de los animales mueren en los grupos de control de APAP. El NAC dosificado a 2 x 300 mg/kg utilizando los mismos programas causó también una supervivencia del 100% en ambos experimentos (datos no mostrados). El perfil de supervivencia de los ratones tratados con las combinaciones de APAP y NAC + Compuesto 3b como se ha descrito anteriormente, se aumenta en comparación con los tratamientos individuales con NAC o el Compuesto 3b, lo que indica un posible efecto terapéutico aditivo de estas moléculas en el modelo de ALF.

35 *Modelo de isquemia-reperfusión*

Modelo de isquemia-reperfusión hepática en ratones C57BL/6. En ratones C57BL/6 anestesiados, la arteria hepática y la vena porta se pinzaron durante 30 minutos; 24 h más tarde, se determinaron los niveles séricos de ALT. El Compuesto 3b se dosificó i.p. a 30 mg/kg cada 1 h antes y 1 h después de la cirugía.

45 La figura 20 representa el efecto del Compuesto 3b en el modelo de isquemia-reperfusión. En ratones C57BL/6 anestesiados, la arteria hepática y la vena porta se pinzaron durante 30 minutos; 24 h más tarde, se determinaron los niveles séricos de ALT. El Compuesto 3b se administró por inyección i.p. a 30 mg/kg, 1 hora antes y 1 h después de la cirugía.

50 Resultados: Los animales tratados con el Compuesto 3b tenían niveles iniciales (29 U/l) de ALT en suero, mientras que los animales de control no tratados tenían niveles elevados de ALT 5 veces (149 U/l). El Compuesto 3b demuestra la prevención del daño por isquemia/reperfusión en hígados de ratones. El compuesto 3b demuestra actividad antiinflamatoria en el hígado.

*Modelo ex-vivo de apoptosis*

55 Las figuras 21A-21B representan el efecto del Compuesto 3b en un modelo ex vivo de apoptosis. La apoptosis de hepatocitos primarios de ratones C57BL/6 se indujo con Actinomicina D (ActD; 200 ng/ml) y Factor  $\alpha$  de Necrosis Tumoral (TNF- $\alpha$ ; 10 ng/ml). El compuesto 3b se añadió a los cultivos 1 hora antes y 1 hora después de la adición de los inductores de apoptosis ActD/TNF- $\alpha$ . El compuesto 3b se ensayó a concentraciones de 25, 50, 100 y 150  $\mu$ g/0,5 ml de pocillo. La supervivencia de los hepatocitos se determinó 24 horas después de la adición de los inductores de apoptosis. *Figura 21A:* Porcentaje de aumento en las células de supervivencia tratadas con ActD/TNF- $\alpha$  en presencia del Compuesto 3b, con respecto a las células tratadas solo con los inductores de apoptosis. *Figura 21B:* Toxicidad de las dosis del Compuesto 3b en hepatocitos murinos (no tratados con inductores de apoptosis). Los datos son la media  $\pm$  DE de 3-5 experimentos independientes (3-5 hígados de diferentes ratones).

65 Resultados: El Compuesto 3b tiene una fuerte actividad antiapoptótica en el hígado. El tratamiento con ActD/TNF- $\alpha$  solo reduce la supervivencia al 24,8  $\pm$  5,5% (n = 23; datos no mostrados). El Compuesto 3b también previene la muerte de hepatocitos inducida por ActD/TNF- $\alpha$ . Se encontró que la supervivencia de los hepatocitos aumentaba de

una manera dependiente de la dosis, y que este aumento es de más del 125% en un tratamiento de 2 x 150 µg/0,5 ml de pocillo (2 x 600 µM) con el Compuesto 3b.

#### *Modelo de regeneración hepática*

5 Regeneración hepática en el modelo de hepatectomía parcial murina para evaluar la actividad regenerativa. Modelo: Resección hepática parcial (70%) en ratones y velocidad de regeneración.

10 La figura 22 representa el efecto del Compuesto 3b en un modelo de regeneración hepática. Los animales fueron anestesiados y el 70% del hígado fue resecado, correspondiente a los lóbulos hepáticos izquierdo y medio. El compuesto 3b se administró (2 x 100 mg/kg) 1 hora antes y 1 hora después de la cirugía. Dos días después, se sacrificaron los animales, se extirparon los hígados, se pesaron, y se tiñeron con fosfohistona H3 (PH3, un marcador específico para la división celular). Los datos demuestran un aumento de la actividad mitótica del grupo tratado en relación con el control.

15 Resultados: Los datos del peso del hígado 48 h después de la resección sugieren una regeneración más rápida con el Compuesto 3b (89% de aumento en el control frente al 102% en los animales tratados con el Compuesto 3b). El compuesto 3b aumenta la tinción de PH3, lo que indica que hay una mayor frecuencia de división celular. NAC no tiene ningún efecto y puede ser perjudicial (véase, por ejemplo, Yang et al., Crit Care (2009) 13: R55).

#### *Modelo de colitis inducida por TNBS*

25 Las figuras 23A-23C representan el efecto del Compuesto 3b en un modelo de colitis inducida por TNBS. La colitis se indujo en ratones Balb/C mediante una única administración intracolónica de 100 µl de etanol al 40% que contenía 4 mg de TNBS (ácido 2,4,6-trinitrobencenosulfónico). Dexametasona (Dex; 0,3 mg/kg), Compuesto 3b (120 mg/kg) o su vehículo se administraron diariamente durante 3 días consecutivos comenzando desde 1 hora antes de la inducción de colitis (día 1). El día 4 después de la inducción de la colitis, se sacrificaron los ratones, se aisló el colon, se limpió y se resecó y pesó un segmento de 7 cm del colon distal (figura 23A). La consistencia de las heces se determinó usando la puntuación: 0, sedimentos bien formados; 1, heces sueltas; 2, heces líquidas o heces con

30 sangre (figura 23B). Los animales se pesaron a lo largo de todo el estudio (figura 23C).

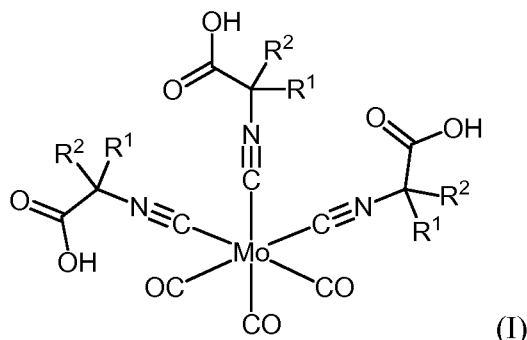
#### **Otras realizaciones**

35 Lo anterior ha sido una descripción de determinadas realizaciones no limitantes de la descripción. Los expertos en la técnica apreciarán que se pueden realizar varios cambios y modificaciones a esta descripción sin apartarse del espíritu o alcance de la presente descripción, como se define en las siguientes reivindicaciones.



REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la Fórmula (I):

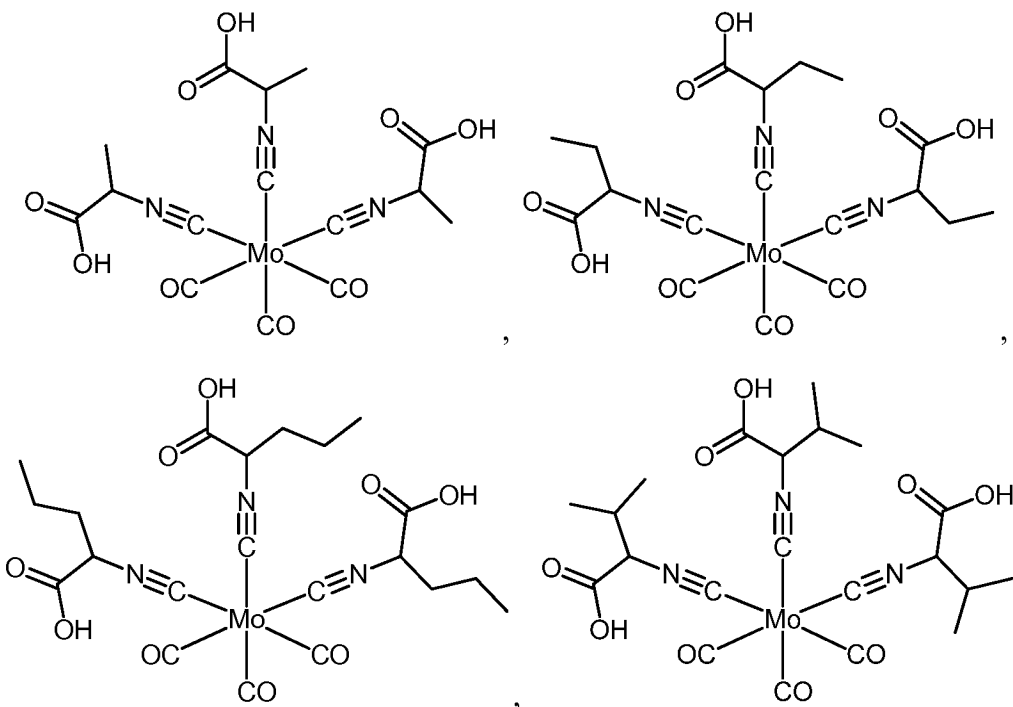


5

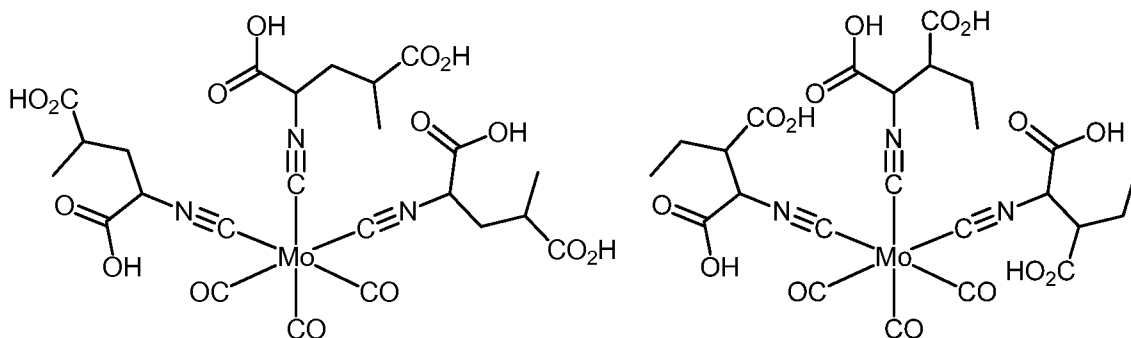
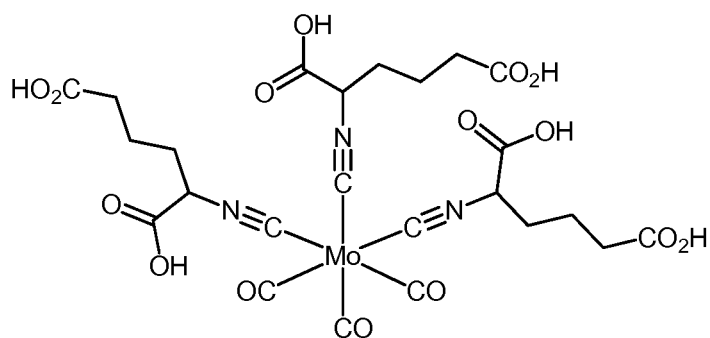
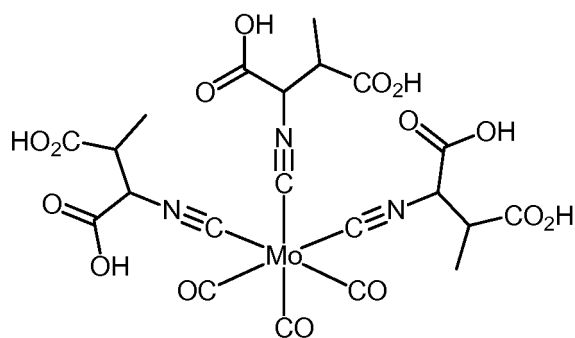
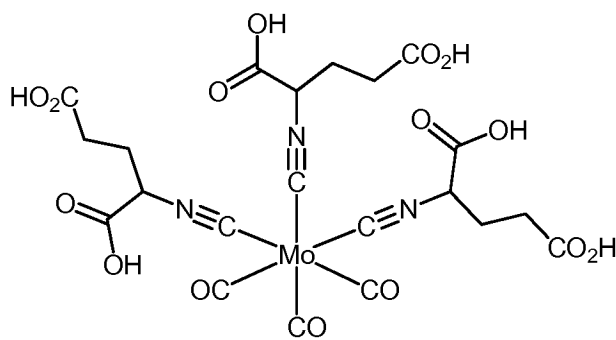
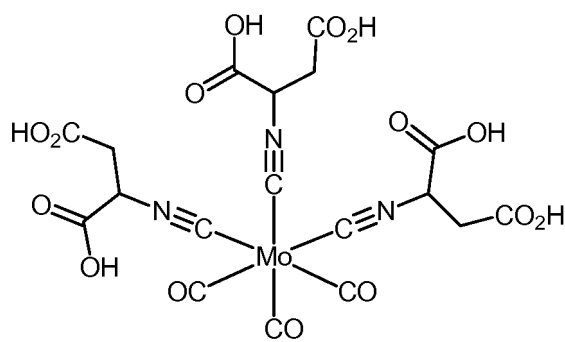
o una sal, un éster, una amida, un solvato o un hidrato del mismo, o una combinación de los mismos, en la que:

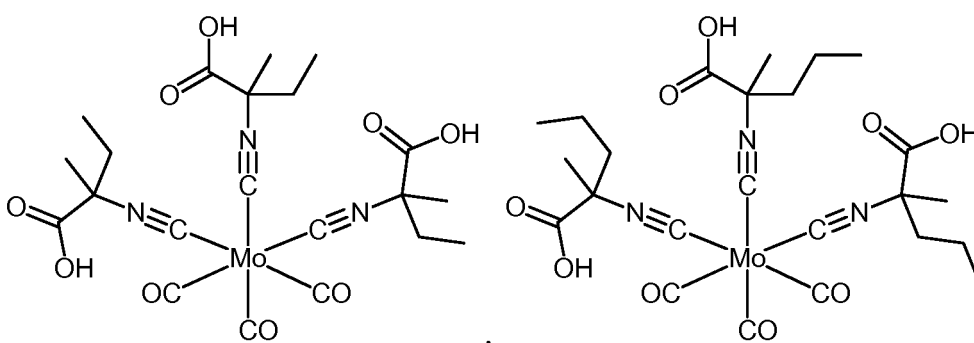
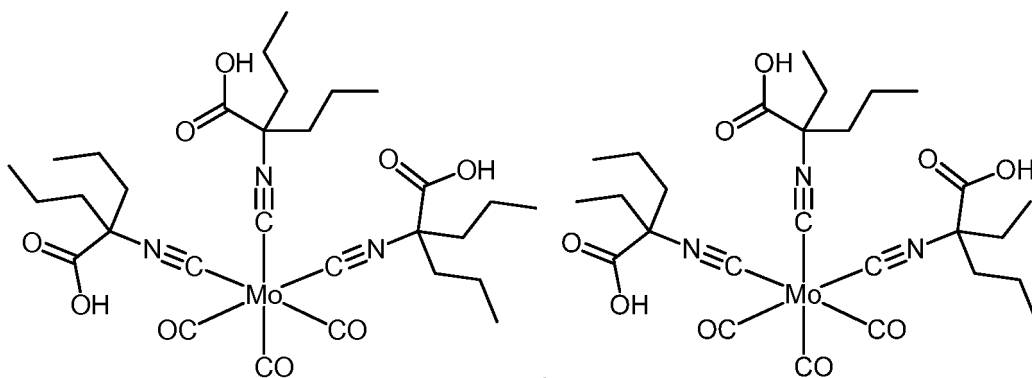
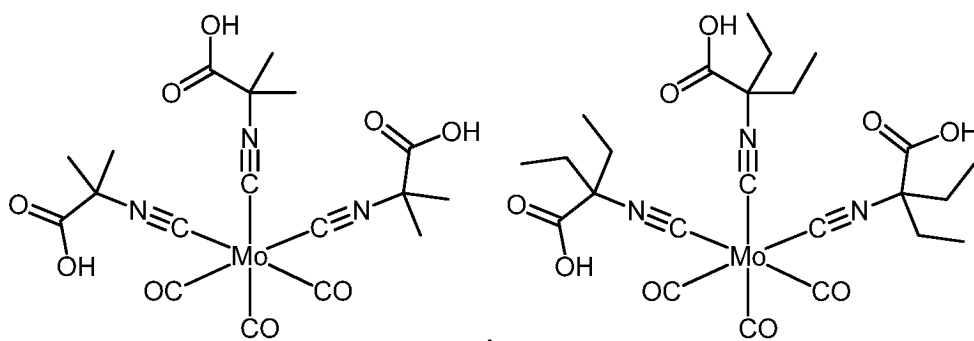
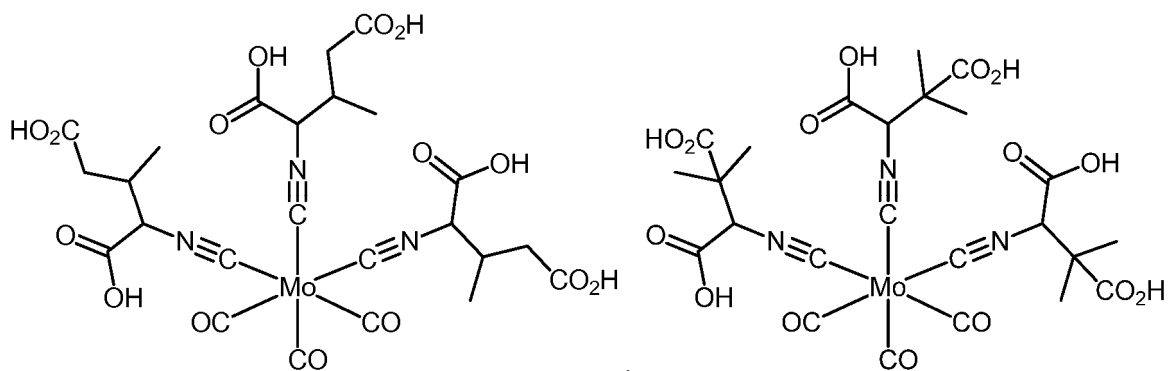
- 10 cada caso de R<sup>1</sup> es independientemente hidrógeno, un alquilo C<sub>1-3</sub> sin sustituir o un alquilo C<sub>1-3</sub> sustituido con -CO<sub>2</sub>R<sup>A1</sup> o -C(=O)N(R<sup>A1</sup>)<sub>2</sub>, en donde cada caso de R<sup>A1</sup> es independientemente hidrógeno o alquilo C<sub>1-10</sub>;
- 15 cada caso de R<sup>2</sup> es independientemente hidrógeno, un alquilo C<sub>1-3</sub> sin sustituir o un alquilo C<sub>1-3</sub> sustituido con -CO<sub>2</sub>R<sup>A2</sup> o -C(=O)N(R<sup>A2</sup>)<sub>2</sub>, en donde cada caso de R<sup>A2</sup> es independientemente hidrógeno o alquilo C<sub>1-10</sub>;
- o R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> y el carbono al que están unidos ambos se unen independientemente para formar un carbociclilo C<sub>3-4</sub>;
- con la condición de que cada caso de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> unidos al mismo carbono no sea ninguno hidrógeno;
- en donde un éster de un compuesto de Fórmula (I) es un compuesto en el que uno o más átomos de hidrógeno de ácido de los grupos de ácido carboxílico en la molécula se reemplazan con un grupo alquilo C<sub>1-10</sub>;
- y
- 20 una amida de un compuesto de Fórmula (I) es un compuesto en la que uno o más de los grupos -OH de los grupos de ácido carboxílico en la molécula están reemplazados con un grupo amino, alquilo C<sub>1-10</sub> amino o dialquil C<sub>1-10</sub> amino.

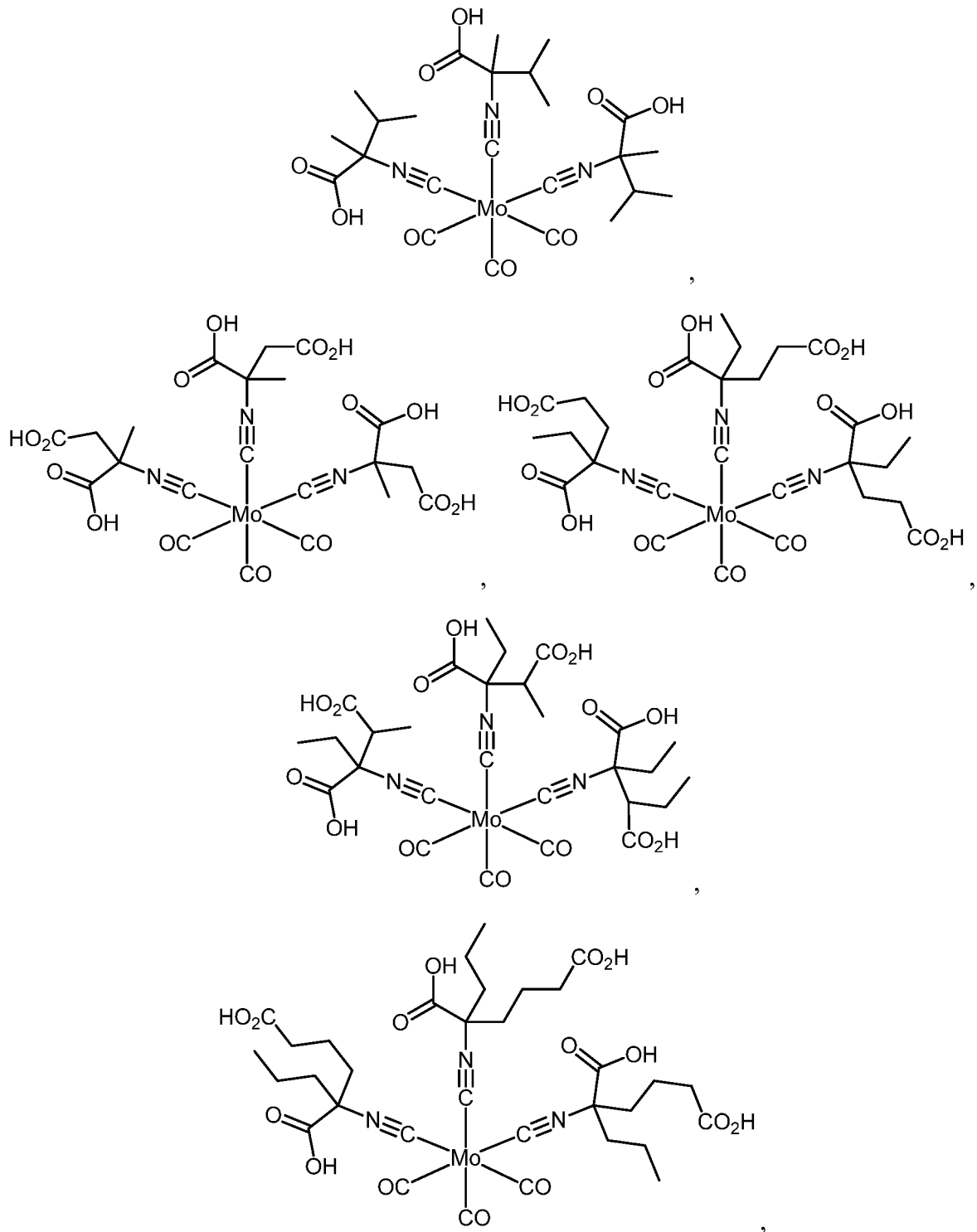
2. El compuesto de la reivindicación 1, en donde el compuesto es:

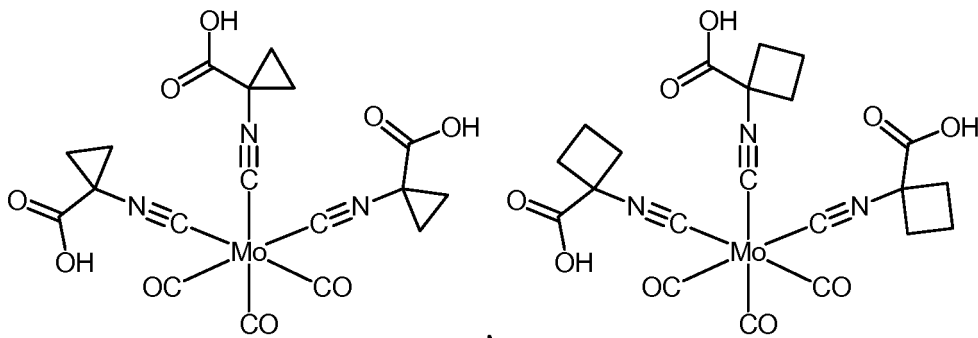
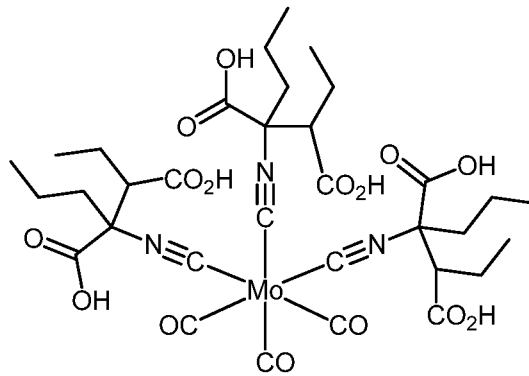
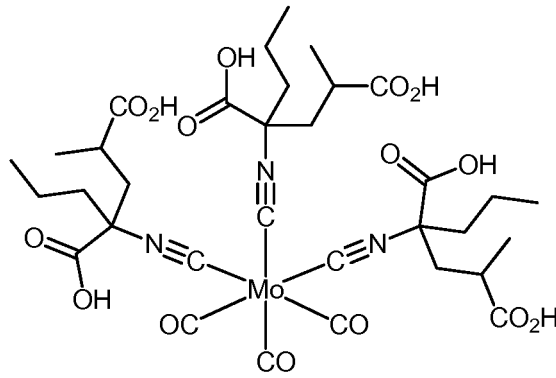


25







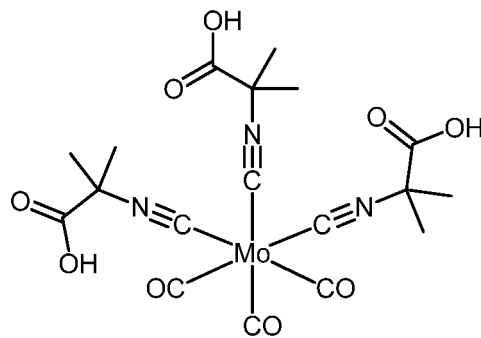


5

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

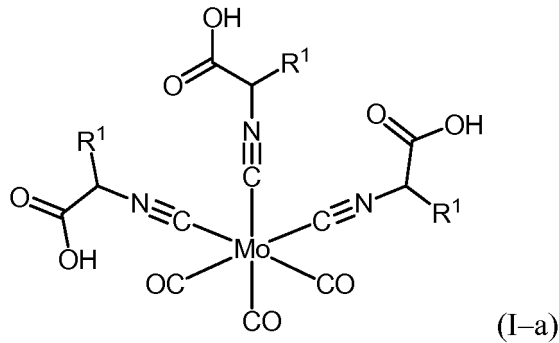
3. El compuesto de la reivindicación 2, en donde el compuesto es un compuesto de fórmula:

10

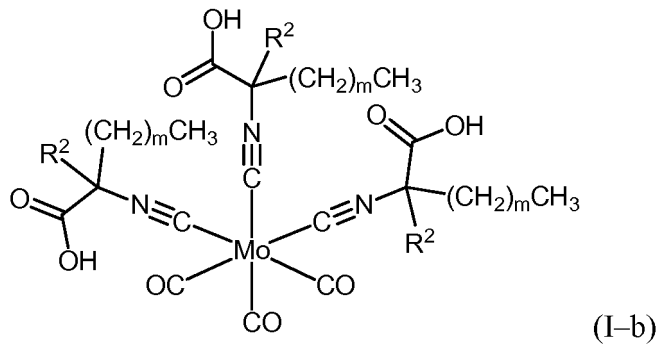


o una sal, un solvato o un hidrato del mismo.

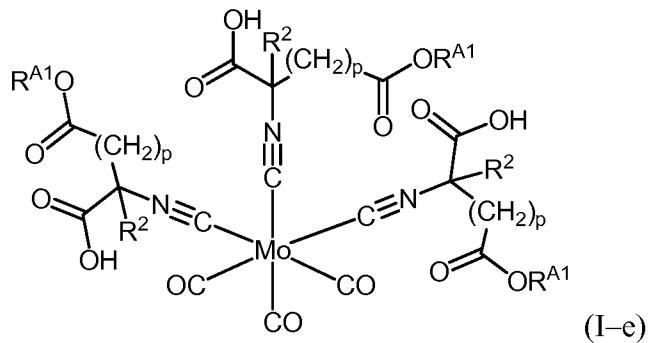
4. El compuesto de la reivindicación 1, en donde el compuesto es de la Fórmula (I-a):



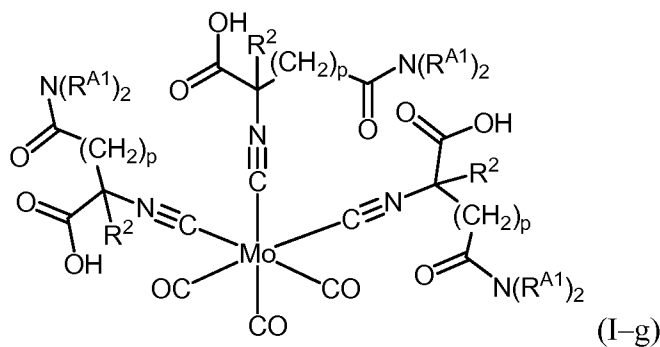
5 o una sal, un éster, una amida, un solvato o un hidrato del mismo, o una combinación de los mismos, o en donde el compuesto es de la Fórmula (I-b):



10 o una sal, un éster, una amida, un solvato o un hidrato del mismo, o una combinación de los mismos; en donde cada caso de m es independientemente 0, 1 o 2, o en donde el compuesto es de la Fórmula (I-e):

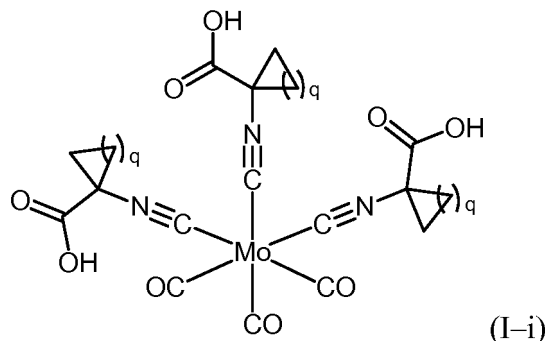


15 o una sal, un éster, una amida, un solvato o un hidrato del mismo, o una combinación de los mismos; en donde cada caso de p es independientemente 1, 2 o 3, o en donde el compuesto es de la Fórmula (I-g):



o una sal, un éster, una amida, un solvato o un hidrato del mismo, o una combinación de los mismos; en donde cada caso de p es independientemente 1, 2 o 3, o en donde el compuesto es de la Fórmula (I-i):

5



o una sal, un éster, una amida, un solvato o un hidrato del mismo, o una combinación de los mismos; en donde cada caso de q es independientemente 1 o 2.

10

5. El compuesto de la reivindicación 1, o una sal, un éster, una amida, un solvato o un hidrato del mismo, o una combinación de los mismos, en el que cada caso de R<sup>2</sup> es hidrógeno, preferiblemente en el que cada caso de R<sup>2</sup> es hidrógeno y cada caso de R<sup>1</sup> es independientemente un alquilo C<sub>1-3</sub> sin sustituir o un alquilo C<sub>1-3</sub> sustituido con -CO<sub>2</sub>R<sup>A1</sup> o -C(=O)N(R<sup>A1</sup>)<sub>2</sub>, más preferiblemente en el que cada caso de R<sup>1</sup> es independientemente un alquilo C<sub>1-3</sub> sin sustituir, o en el que cada caso de R<sup>1</sup> es alquilo C<sub>1-3</sub> sustituido con -CO<sub>2</sub>R<sup>A</sup>.

15

6. El compuesto de la reivindicación 1, o una sal, un éster, una amida, un solvato o un hidrato del mismo, o una combinación de los mismos, en el que cada caso de R<sup>2</sup> es independientemente un alquilo C<sub>1-3</sub> sin sustituir o un alquilo C<sub>1-3</sub> sustituido con -CO<sub>2</sub>R<sup>A2</sup> o -C(=O)N(R<sup>A2</sup>)<sub>2</sub>, y cada caso de R<sup>1</sup> es independientemente un alquilo C<sub>1-3</sub> sin sustituir o un alquilo C<sub>1-3</sub> sustituido con -CO<sub>2</sub>R<sup>A1</sup> o -C(=O)N(R<sup>A1</sup>)<sub>2</sub>, preferiblemente en el que cada caso de R<sup>1</sup> es independientemente un alquilo C<sub>1-3</sub> sin sustituir; y cada caso de R<sup>2</sup> es independientemente un alquilo C<sub>1-3</sub> sin sustituir o un alquilo C<sub>1-3</sub> sustituido con -CO<sub>2</sub>R<sup>A2</sup>, o en el que cada caso de R<sup>1</sup> es independientemente un alquilo C<sub>1-3</sub> sustituido con -CO<sub>2</sub>R<sup>A1</sup>; y cada caso de R<sup>2</sup> es independientemente un alquilo C<sub>1-3</sub> sustituido con -CO<sub>2</sub>R<sup>A2</sup>.

20

25

7. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, o una sal, un éster, una amida, un solvato o un hidrato del mismo, o una combinación de los mismos, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

30

8. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, o una sal, un éster, una amida, un solvato o un hidrato del mismo, o una combinación de los mismos, para su uso en el tratamiento de una enfermedad hepática en un sujeto que lo necesite, preferiblemente en donde la enfermedad hepática causa la muerte de las células hepáticas, y preferiblemente en donde el compuesto estimula la regeneración de células hepáticas.

35

9. El compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 8, o una sal, un éster, una amida, un solvato o un hidrato del mismo, o una combinación de los mismos, en donde la enfermedad hepática se selecciona del grupo que consiste en una lesión hepática inducida por fármacos, hepatitis, hepatopatía grasa no alcohólica, enfermedad hepática inducida por alcohol, cirrosis hepática, cáncer de hígado, cirrosis biliar primaria, colestasis, enfermedad quística del hígado y colangitis esclerosante primaria, en donde la hepatitis es preferiblemente hepatitis crónica, hepatitis vírica, hepatitis inducida por alcohol, hepatitis autoinmune o esteatohepatitis, en donde la enfermedad hepática inducida por alcohol es preferiblemente hígado graso alcohólico, hepatitis alcohólica o cirrosis relacionada con el alcohol, y en donde la lesión hepática inducida por fármaco es preferiblemente lesión hepática inducida por acetaminofeno.

45

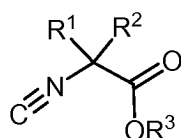
10. El compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 8, o una sal, un éster, una amida, un solvato o un hidrato del mismo, o una combinación de los mismos, en donde el compuesto se administra junto con un agente terapéutico adicional, que es preferiblemente N-acetilcisteína (NAC).

50

11. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, o una sal, un éster, una amida, un solvato o un

hidrato del mismo, o una combinación de los mismos, para su uso en el tratamiento de una enfermedad inflamatoria, en donde la enfermedad inflamatoria es preferiblemente una inflamación asociada a un trastorno gastrointestinal, y en donde el trastorno gastrointestinal se selecciona preferiblemente del grupo que consiste en úlceras pépticas, enteritis regional, diverticulitis, hemorragia gastrointestinal, trastornos gastrointestinales eosinófilos, gastritis, diarrea, enfermedad de reflujo gastroesofágico, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Crohn, síndrome de Behcet, colitis y síndrome del intestino inflamado.

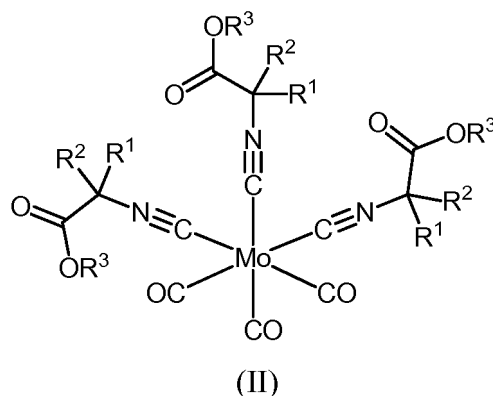
12. Un método para preparar un compuesto de la reivindicación 1, comprendiendo el método hacer reaccionar un complejo de molibdeno tri-CO con un isocianuro de la fórmula:



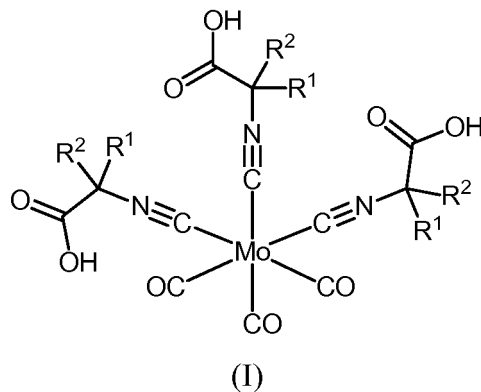
en el que:

cada caso de R<sup>1</sup> es independientemente hidrógeno, un alquilo C<sub>1-3</sub> sin sustituir o un alquilo C<sub>1-3</sub> sustituido con -CO<sub>2</sub>R<sup>A1</sup> o -C(=O)N(R<sup>A1</sup>)<sub>2</sub>, en donde cada caso de R<sup>A1</sup> es independientemente hidrógeno o alquilo C<sub>1-10</sub>; cada caso de R<sup>2</sup> es independientemente hidrógeno, un alquilo C<sub>1-3</sub> sin sustituir o un alquilo C<sub>1-3</sub> sustituido con -CO<sub>2</sub>R<sup>A2</sup> o -C(=O)N(R<sup>A2</sup>)<sub>2</sub>, en donde cada caso de R<sup>A2</sup> es independientemente hidrógeno o alquilo C<sub>1-10</sub>; o R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> y el carbono al que están unidos, se unen independientemente para formar un carbociclilo C<sub>3-4</sub>;

y cada caso de R<sup>3</sup> es independientemente alquilo C<sub>1-6</sub>; con la condición de que cada caso de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> unidos al mismo carbono no sea ninguno hidrógeno; para proporcionar un compuesto de la Fórmula (II):



o un solvato o un hidrato del mismo, o una combinación de los mismos; e hidrolizar el compuesto de Fórmula (II) para proporcionar un compuesto de la Fórmula (I):



o una sal, un solvato o un hidrato, o una combinación de los mismos, en donde la etapa de hidrolizar comprende preferiblemente una base; y en donde la base es preferiblemente un hidróxido, más preferiblemente NaOH, KOH o LiOH.



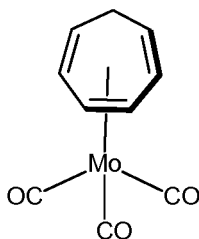
13. El método de la reivindicación 12, en el que la etapa de hidrolización comprende un ácido.

14. El método de la reivindicación 12, en el que el complejo de molibdeno tri-CO es de la fórmula:

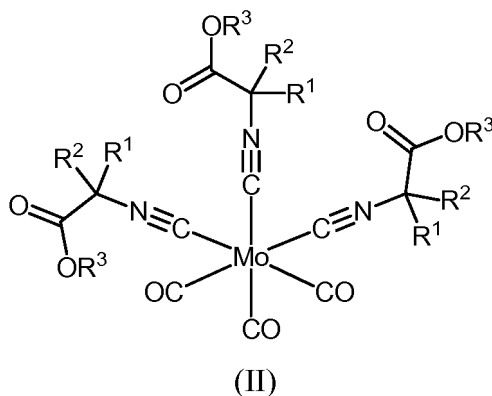


en la que  $\text{L}_3$  representa tres ligandos monodentados, un ligando bidentado y un ligando monodentado o un ligando tridentado, y

10 en donde el complejo de molibdeno tri-CO es preferiblemente

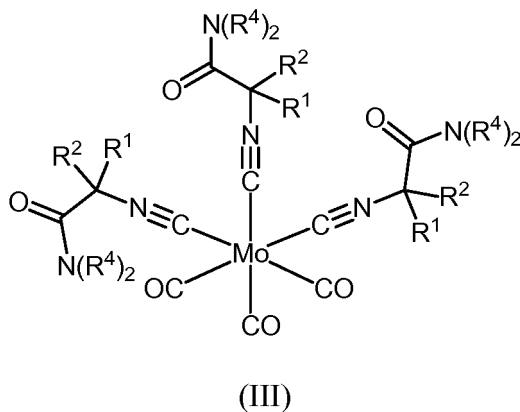


15. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el éster del compuesto es un compuesto de Fórmula (II):



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

20 cada caso de  $\text{R}^3$  es independientemente alquilo  $\text{C}_{1-6}$ ; y en donde la amida del compuesto es un compuesto de Fórmula (III):



25 o una sal, un solvato o un hidrato del mismo, o una combinación de los mismos; en donde:

cada caso de  $\text{R}^4$  es independientemente hidrógeno o alquilo  $\text{C}_{1-6}$ .

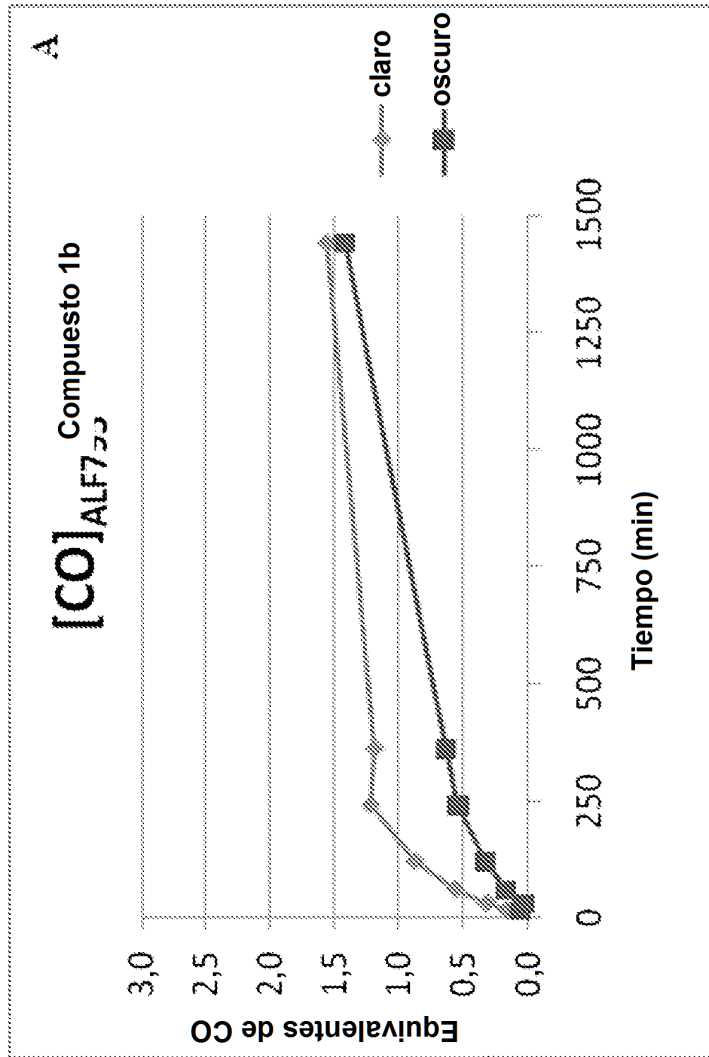


FIGURA 1A

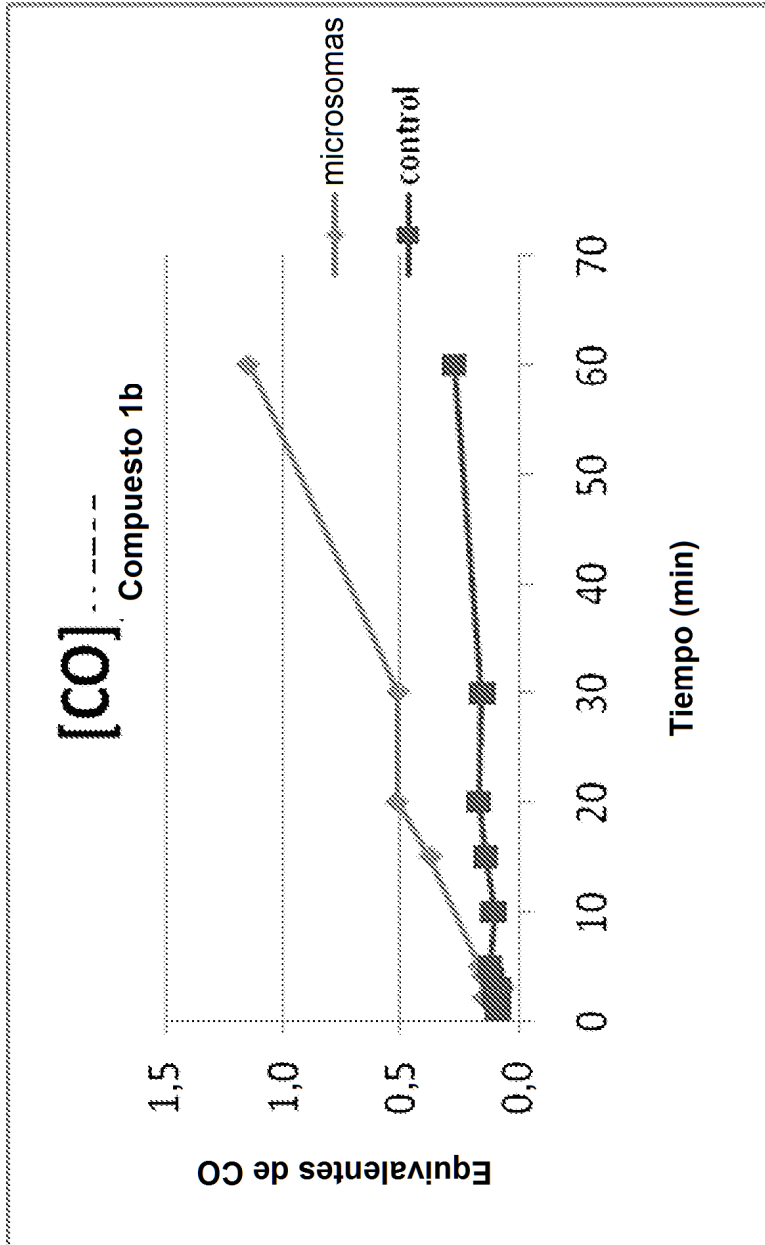
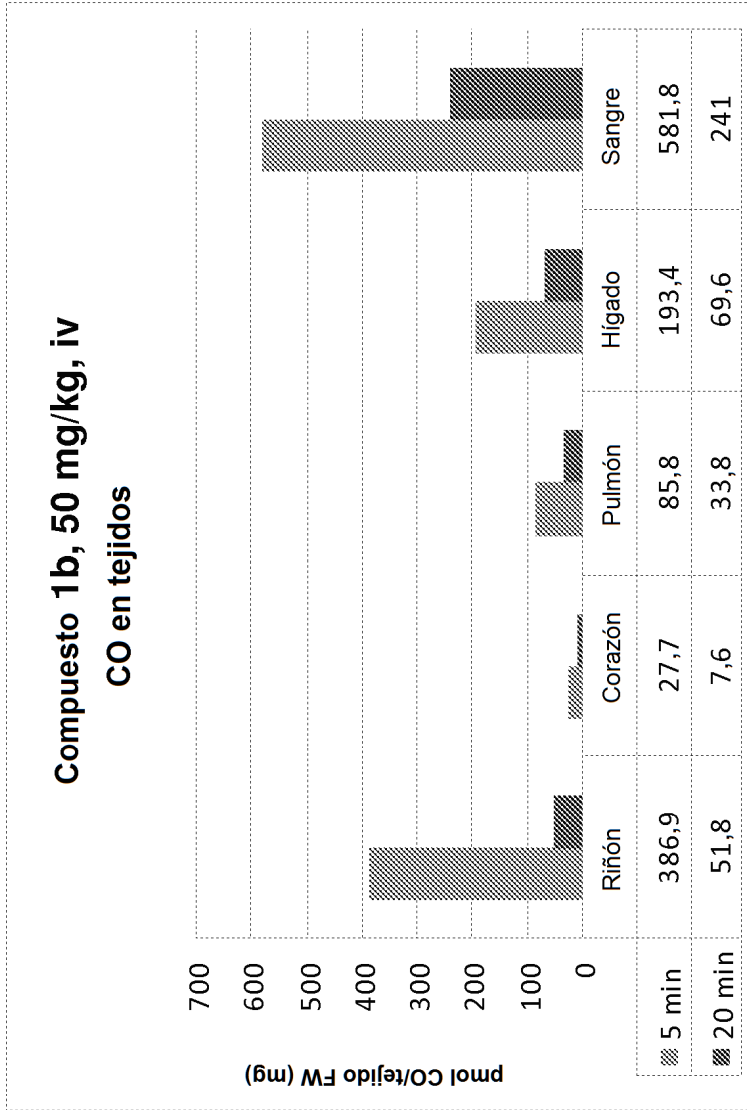


FIGURA 1B



**Oximetría (Compuesto 1b)**

min	tHb	O <sub>2</sub> Hb	COHb	MethHb
5	16,1	59,6	1,2	0,2
20	16,0	20,6	1,5	0,0

**FIGURA 1C**

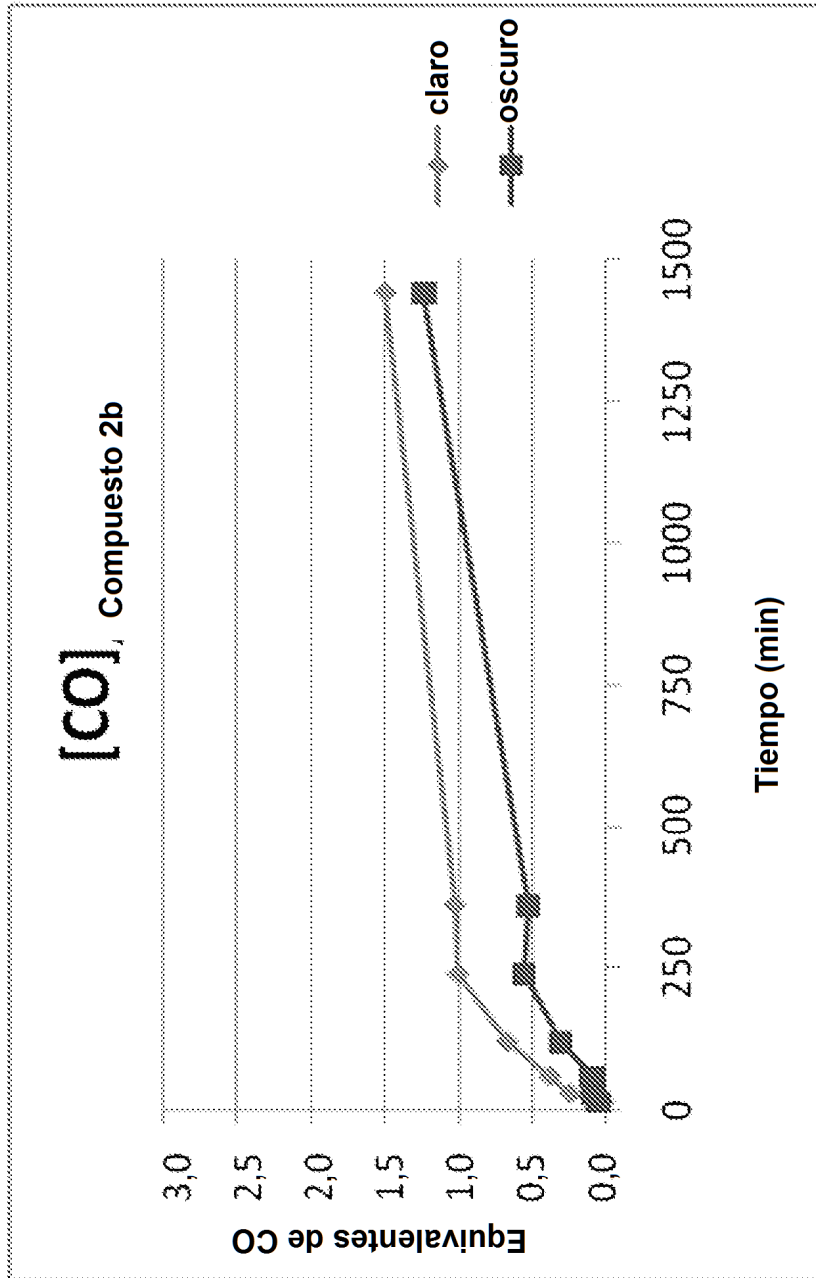


FIGURA 2A

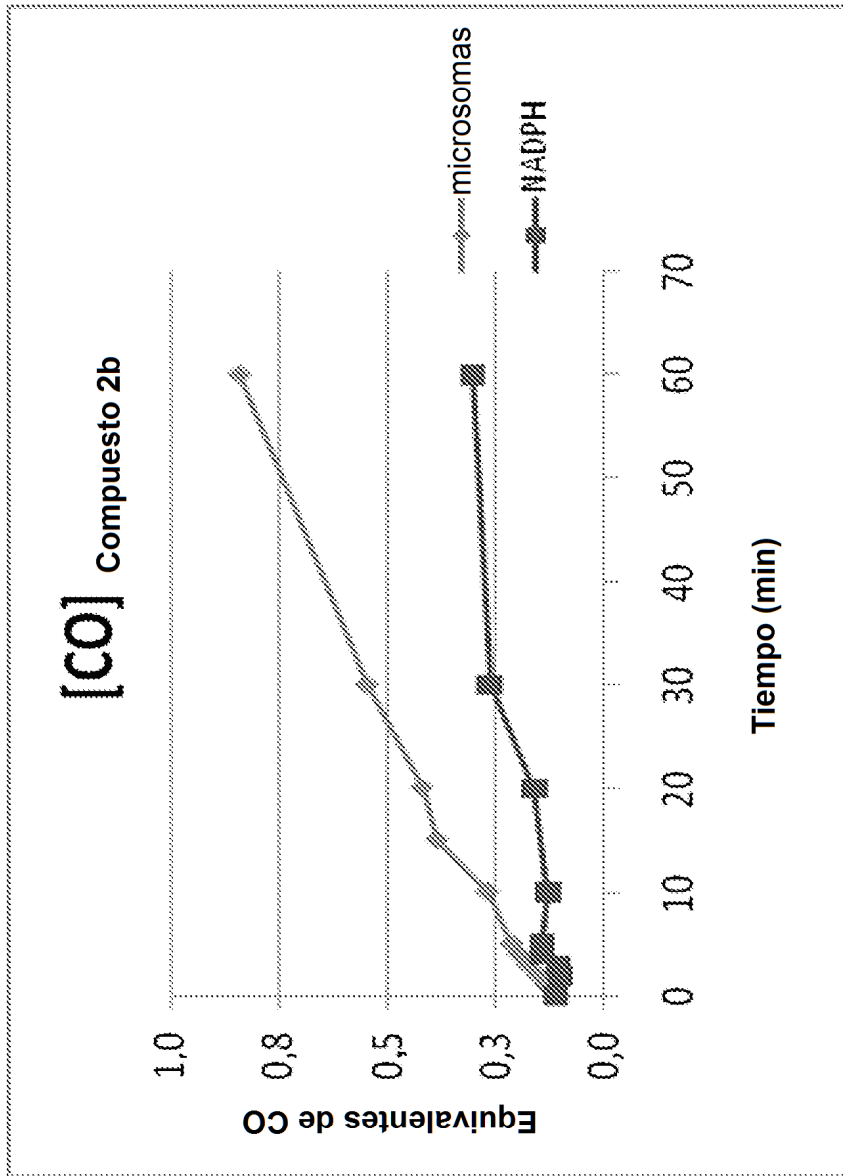
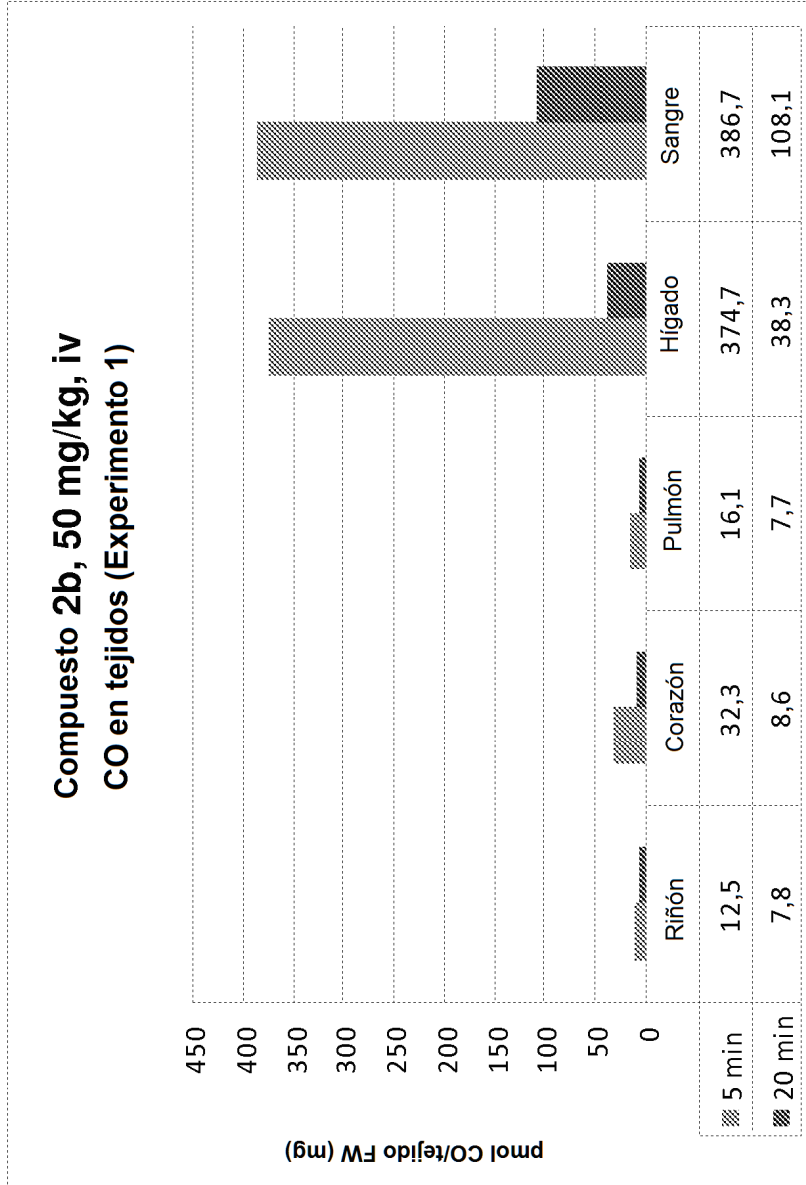


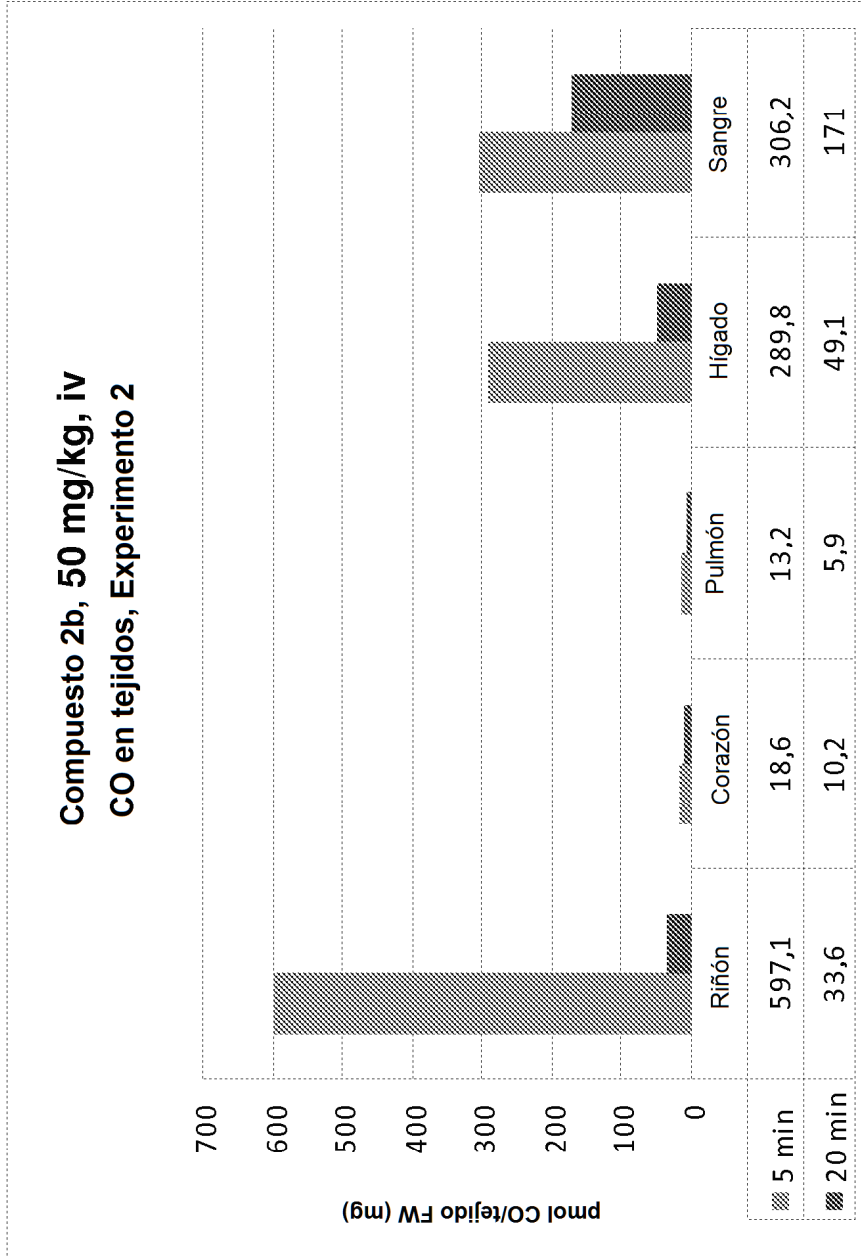
FIGURA 2B



**Oximetría (Compuesto 2b)**

min	tHb	O <sub>2</sub> Hb	COHb	MethHb
5	15,3	33,5	3,7	0,0
20	15,0	35,2	5,4	0,0

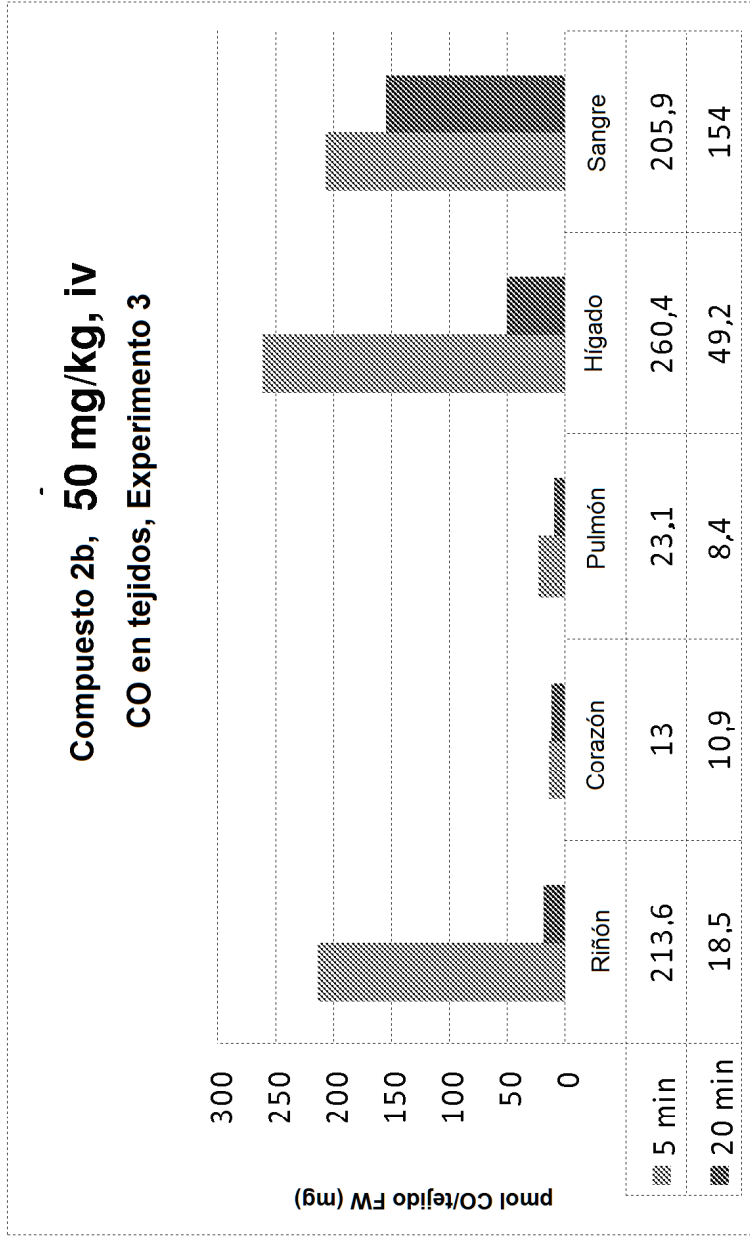
**FIGURA 2C**



Oximetría (Compuesto 2b)				
min	tHb	O <sub>2</sub> Hb	COHb	MethHb
5	20,3	13,0	1,1	0,1
20	17,0	45,5	3,2	0,3

FIGURA 2D





Oximetría (Compuesto 2b)				
min	tHb	O <sub>2</sub> Hb	COHb	MetHb
5	18,9	58,8	3,0	0,3
20	17,7	42,3	2,1	0,6

FIGURA 2E

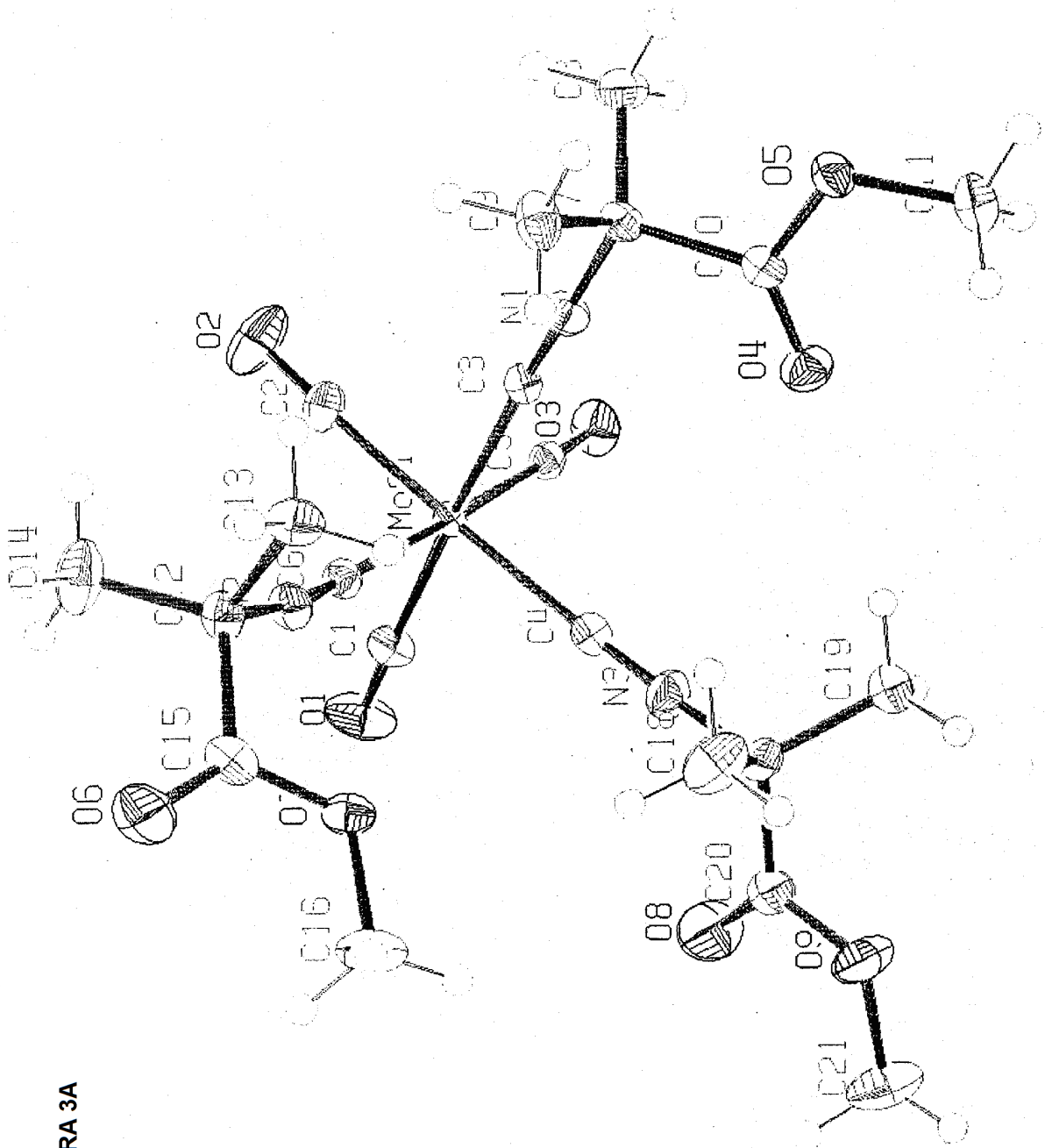


FIGURA 3A

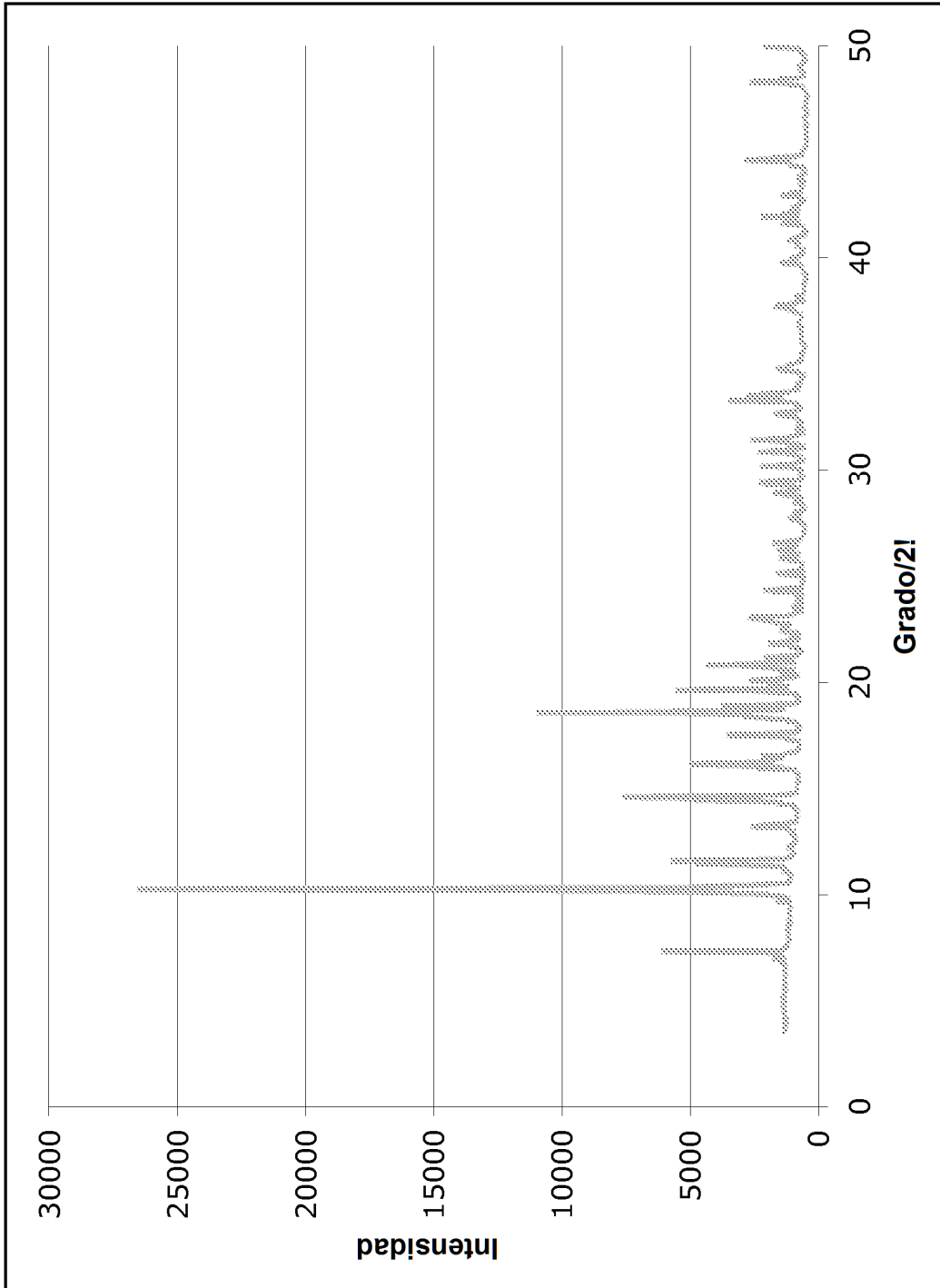


FIGURA 3B

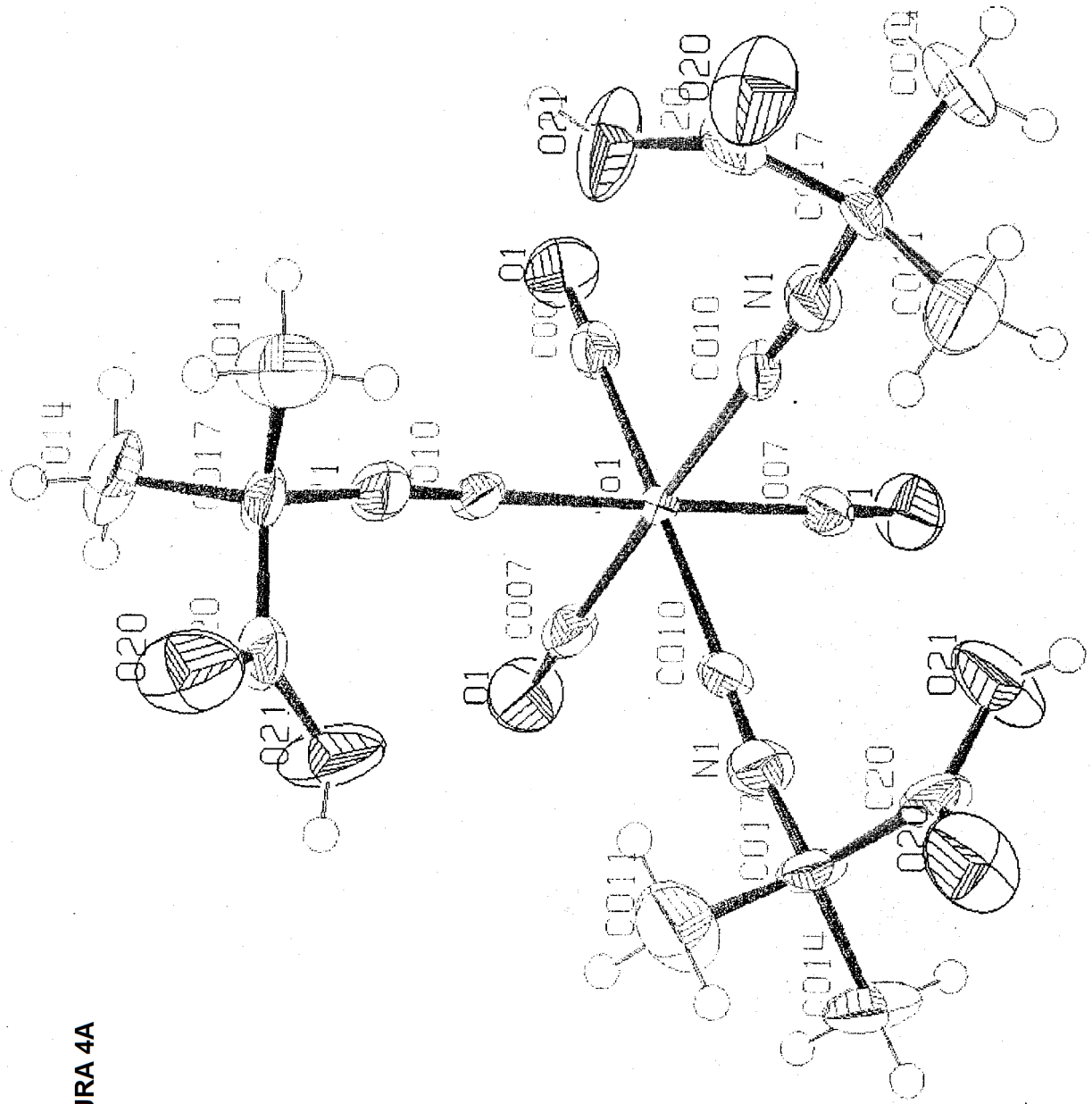
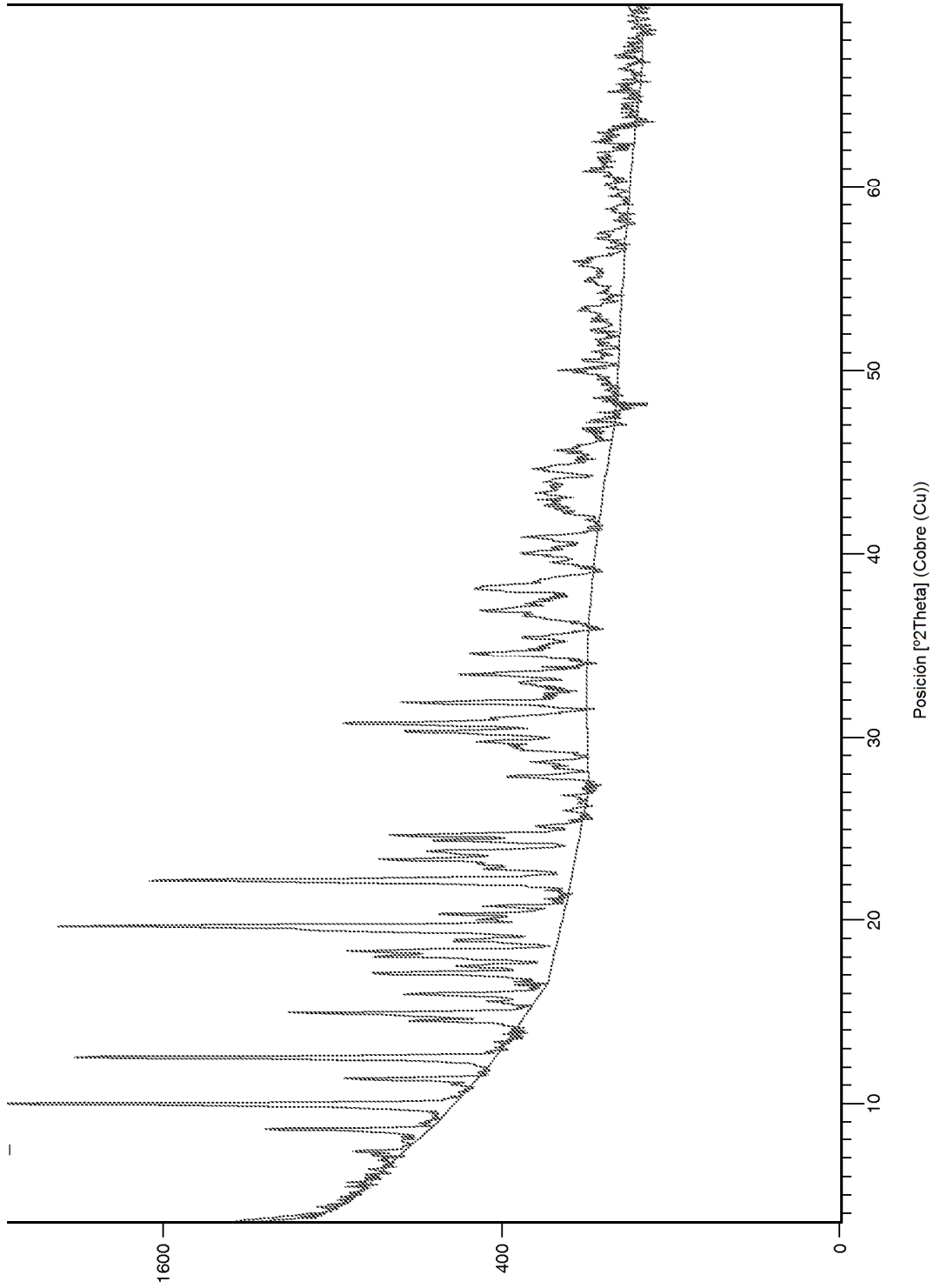


FIGURA 4A



**FIGURA 4B**

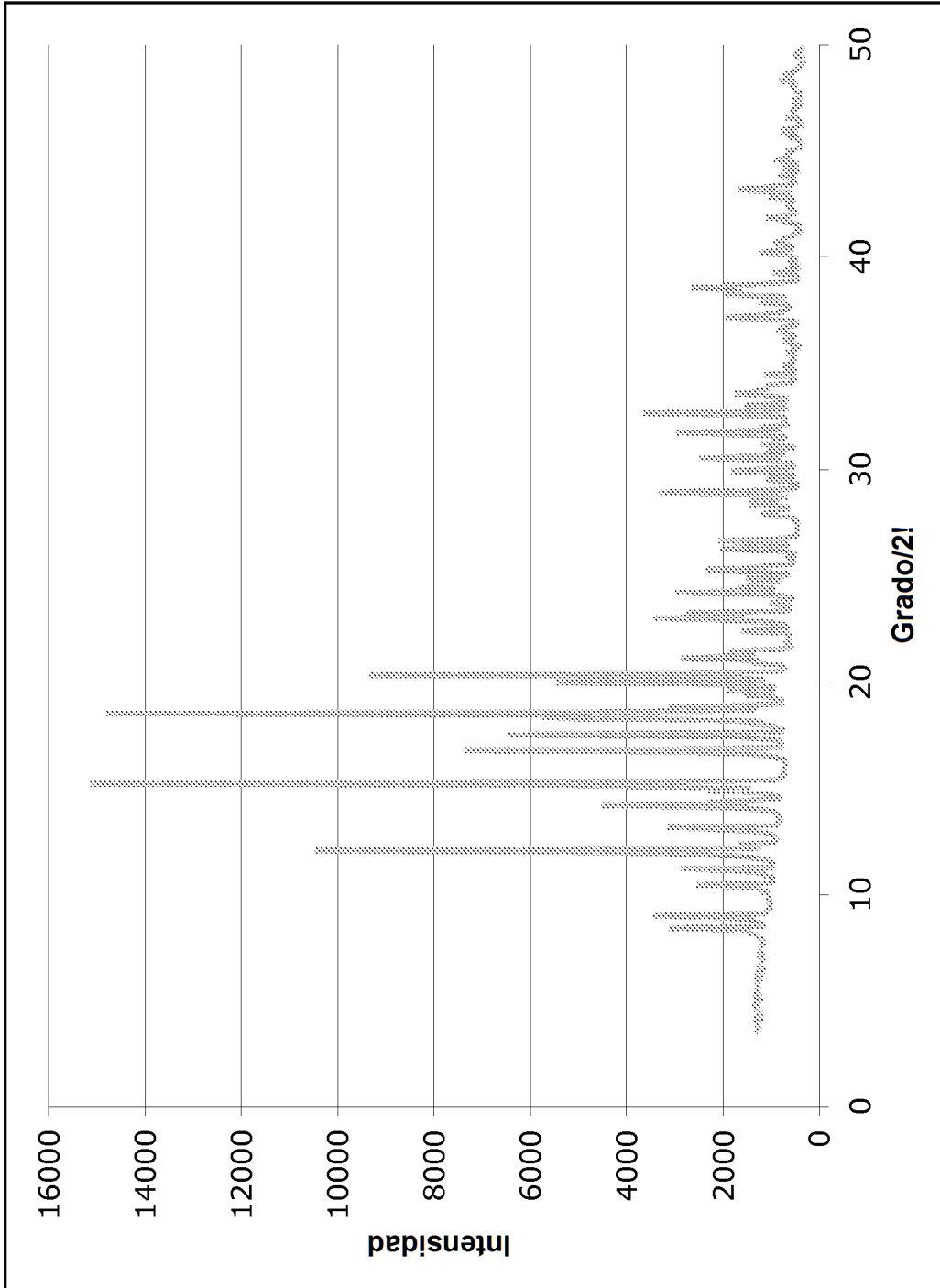


FIGURA 4C

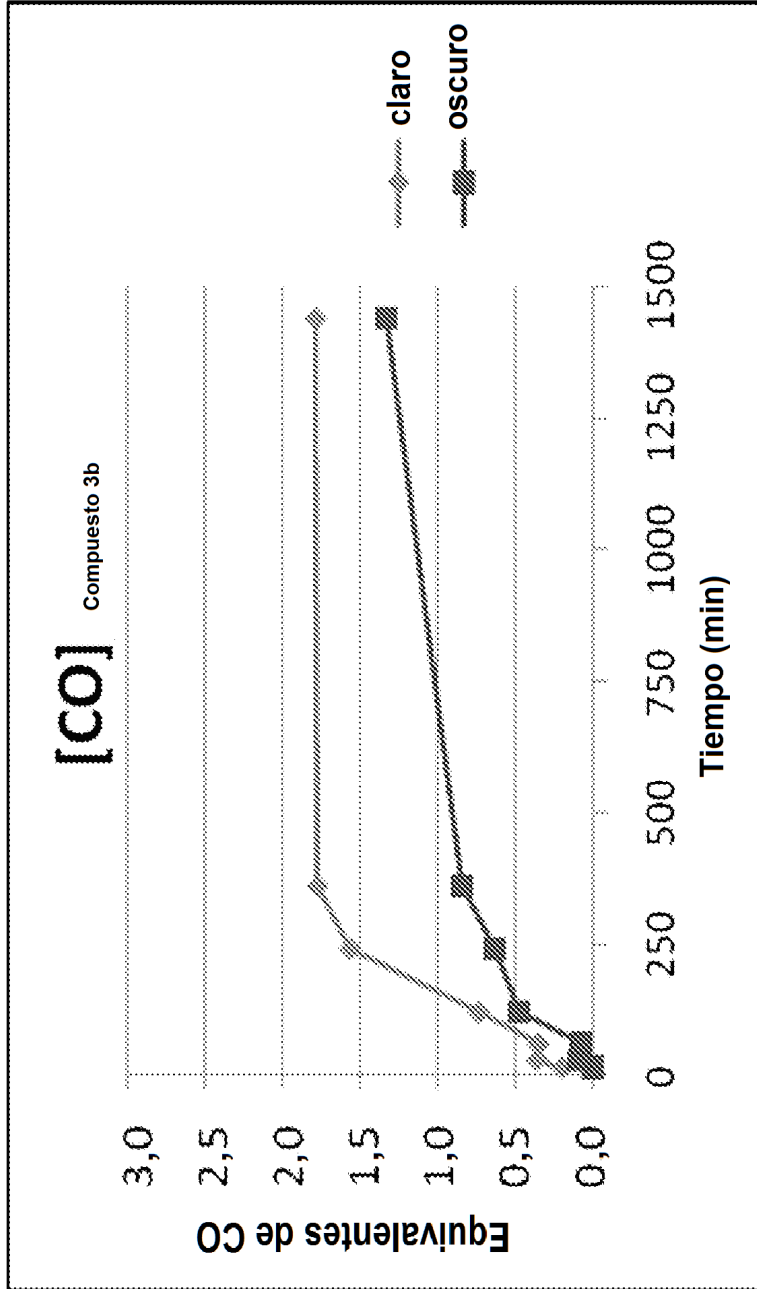


FIGURA 4D

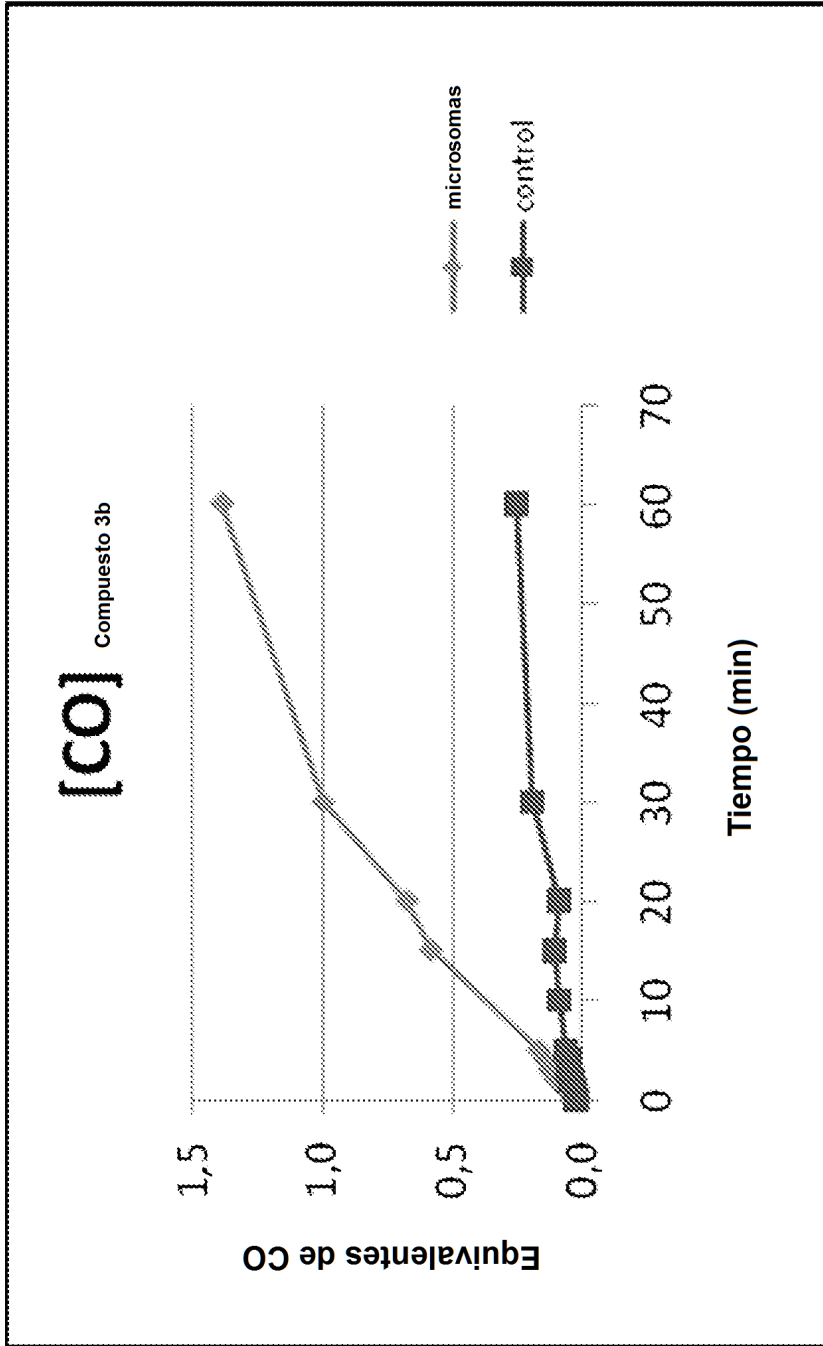
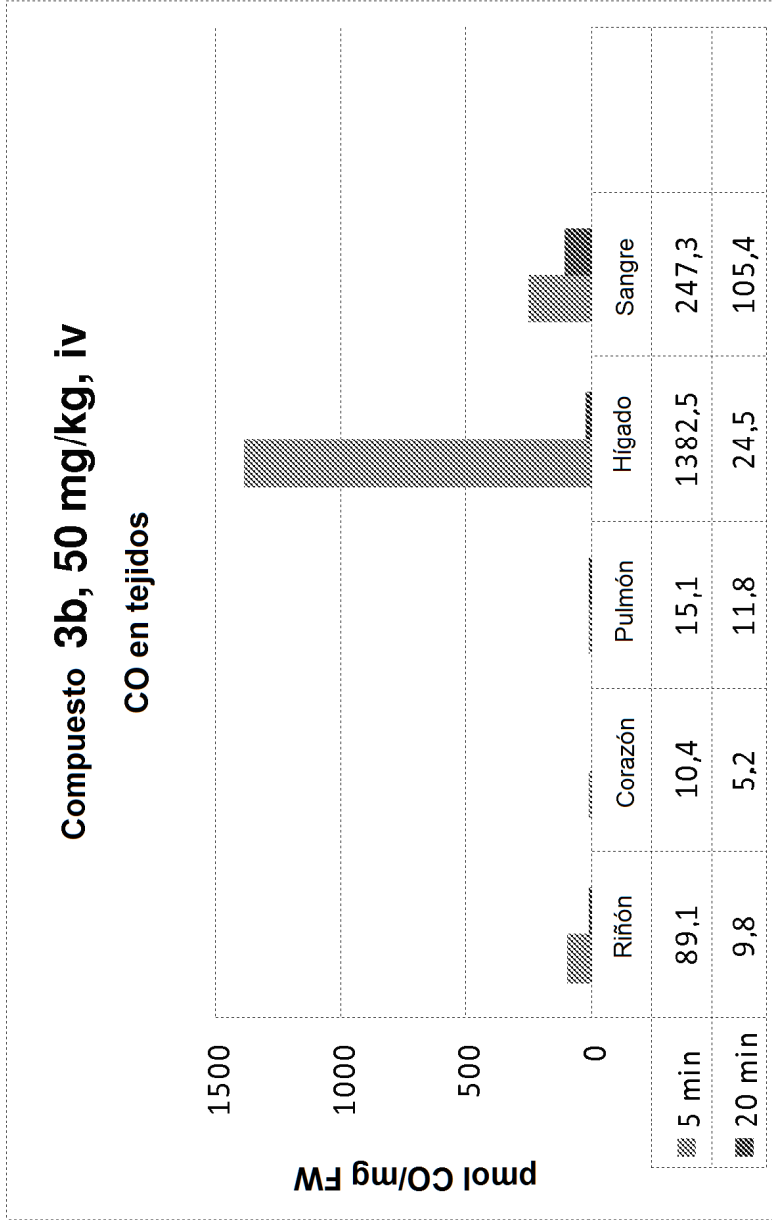


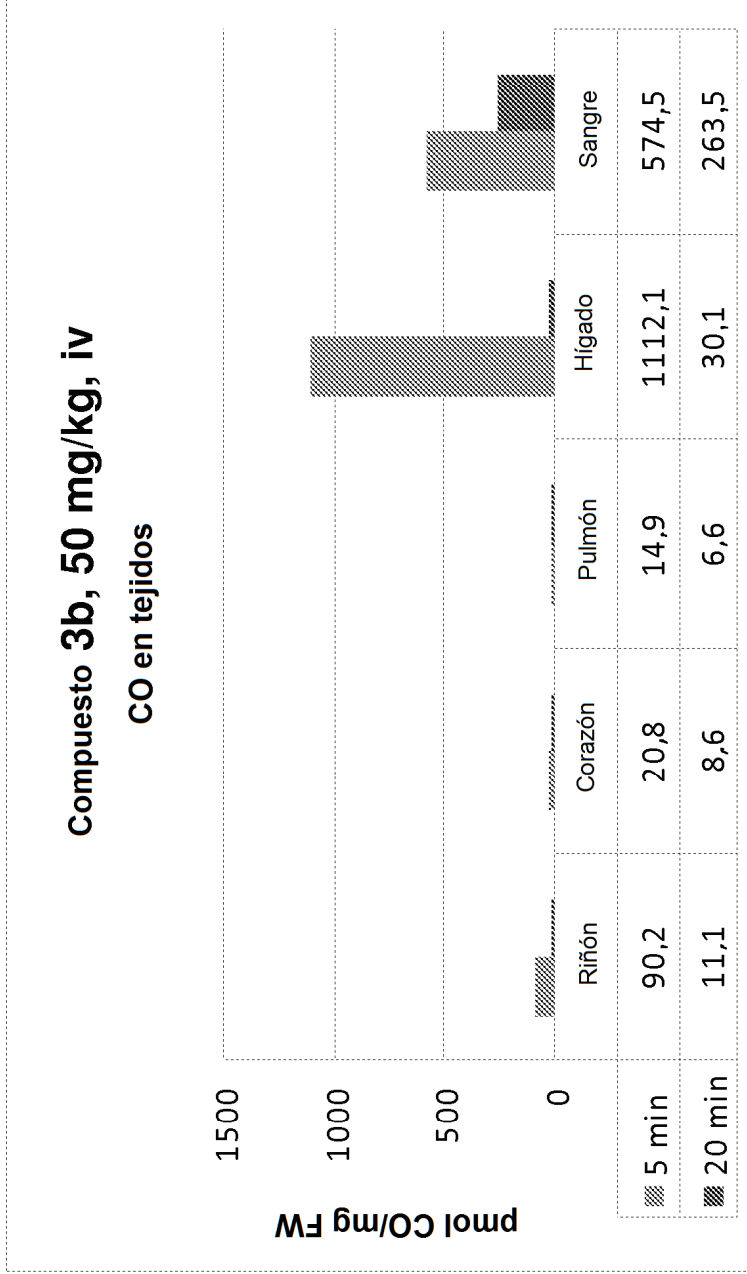
FIGURA 4E





Oximetría (Compuesto 3b)				
min	tHb	O <sub>2</sub> Hb	COHb	MetHb
5	16,1	35,8	2,9	0,1
20	15,4	48,2	3,8	1,5

FIGURA 4F



**Oximetría (Compuesto 3b)**

min	tHb	O <sub>2</sub> Hb	COHb	MetHb
5	16,4	28,8	3,0	0,0
20	15,7	52,6	3,2	0,5

**FIGURA 4G**

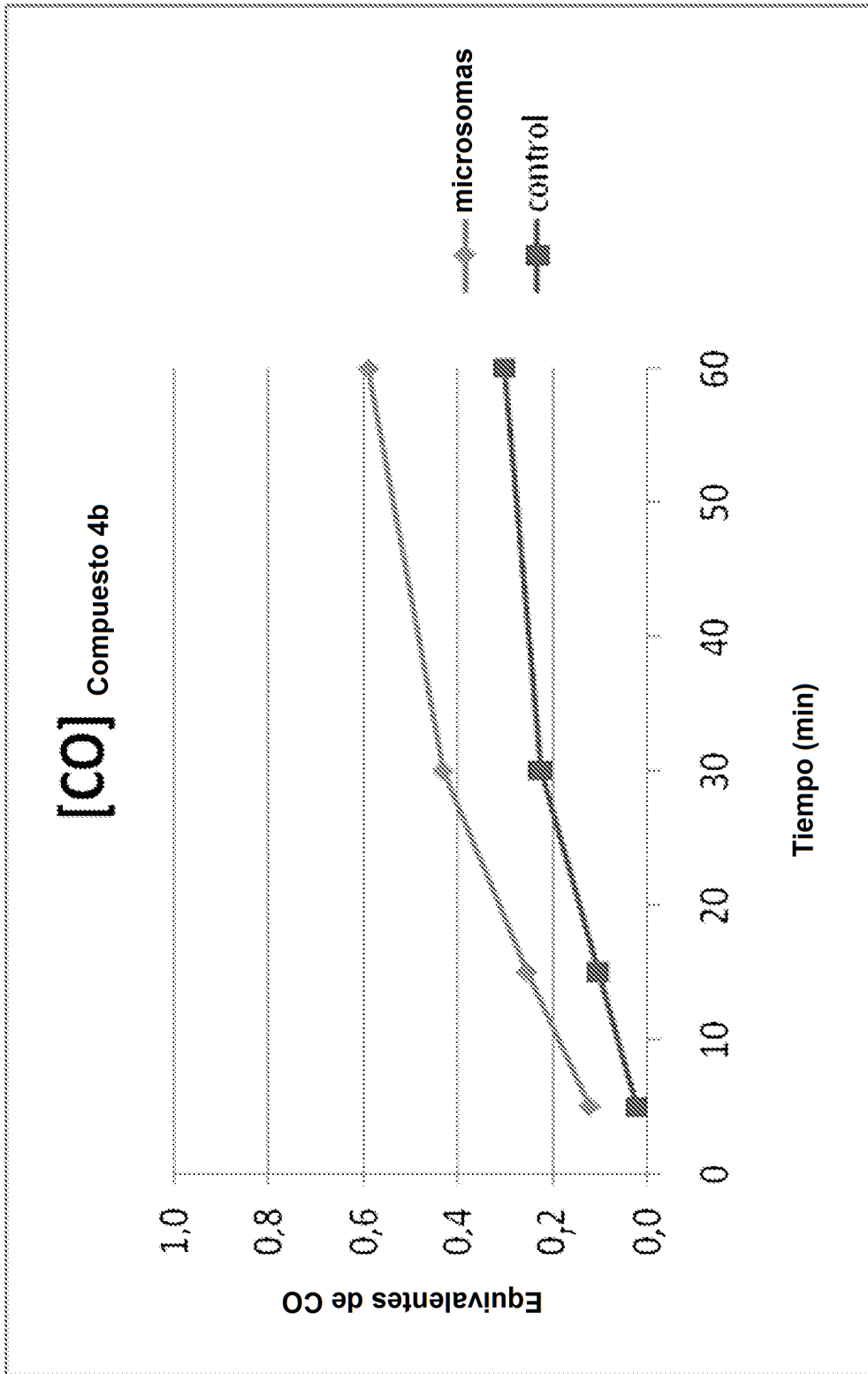
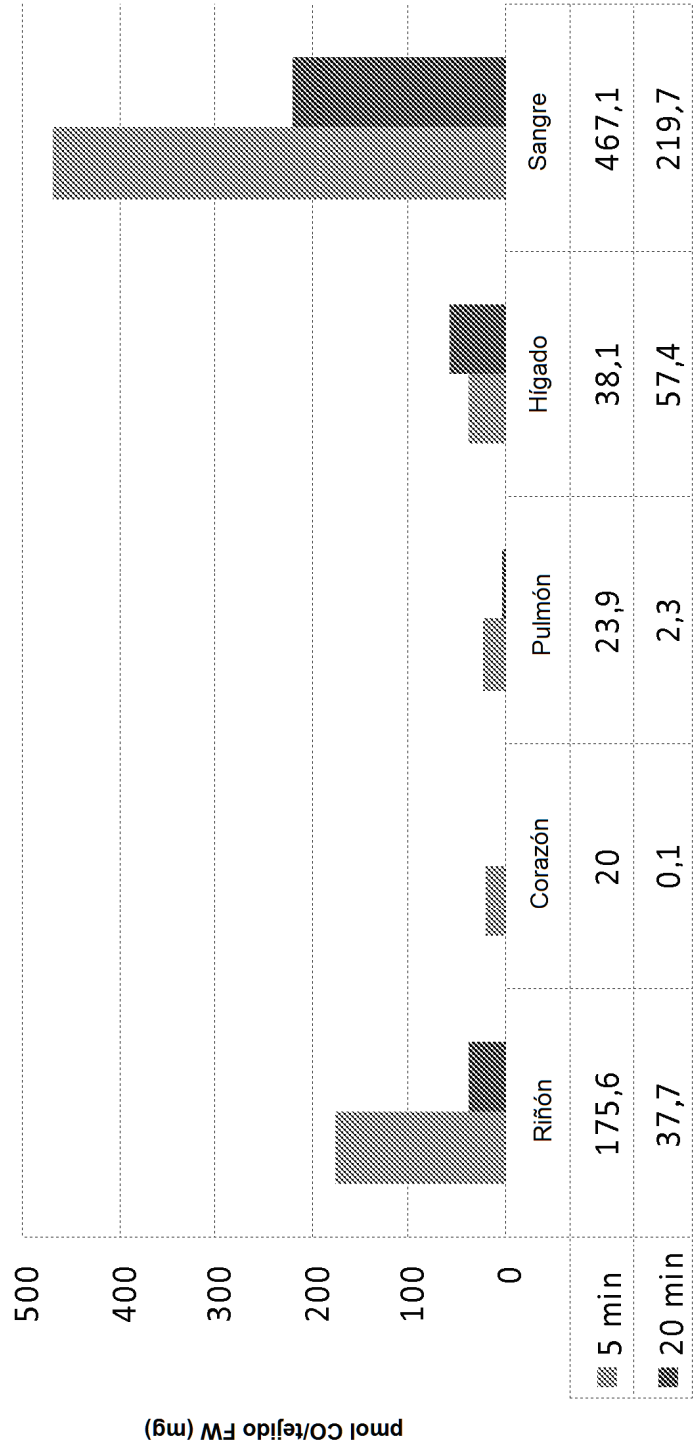


FIGURA 5A

**Compuesto 4b, 50 mg/kg, iv**  
**CO en tejidos**



**FIGURA 5B**

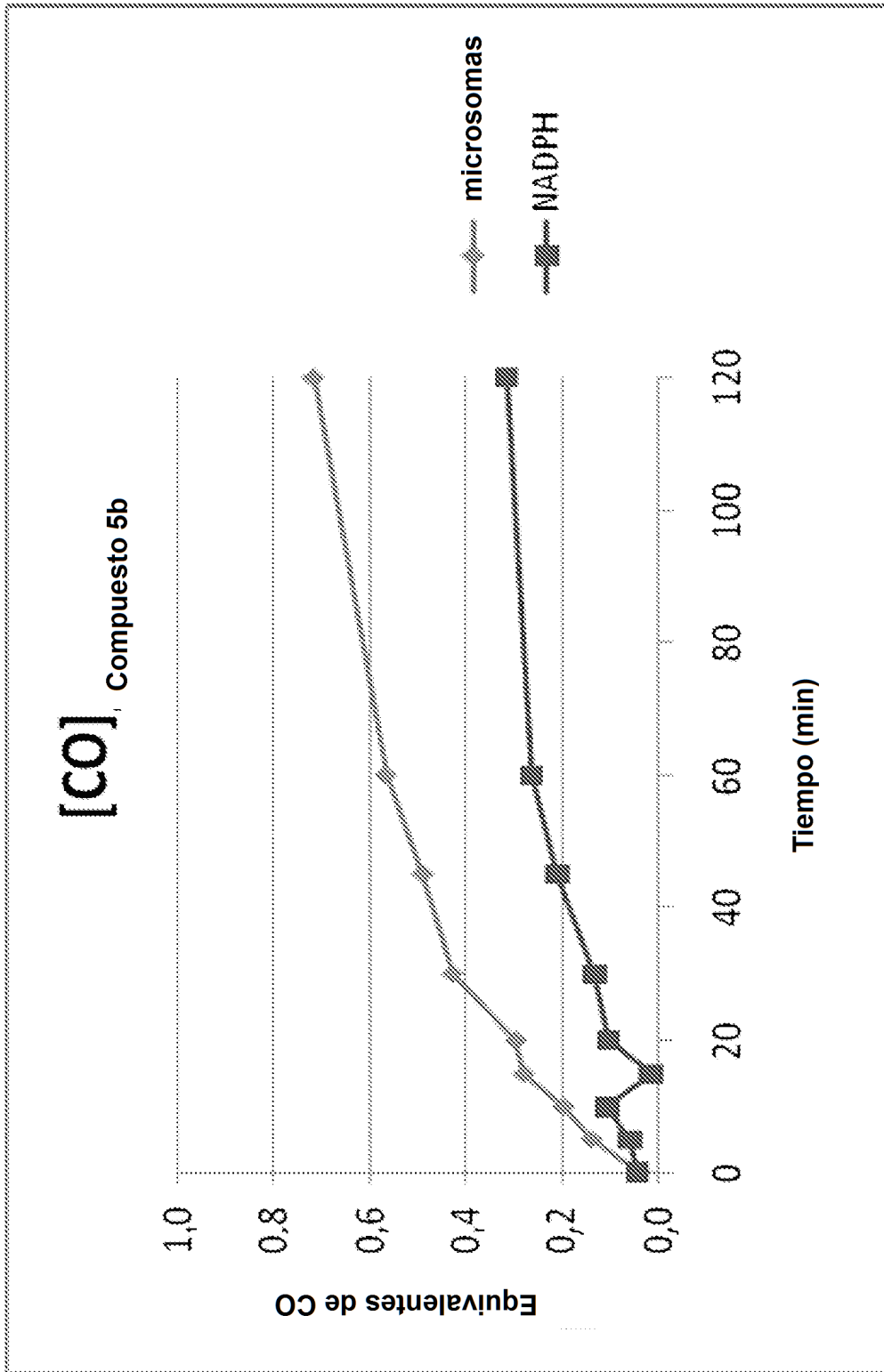
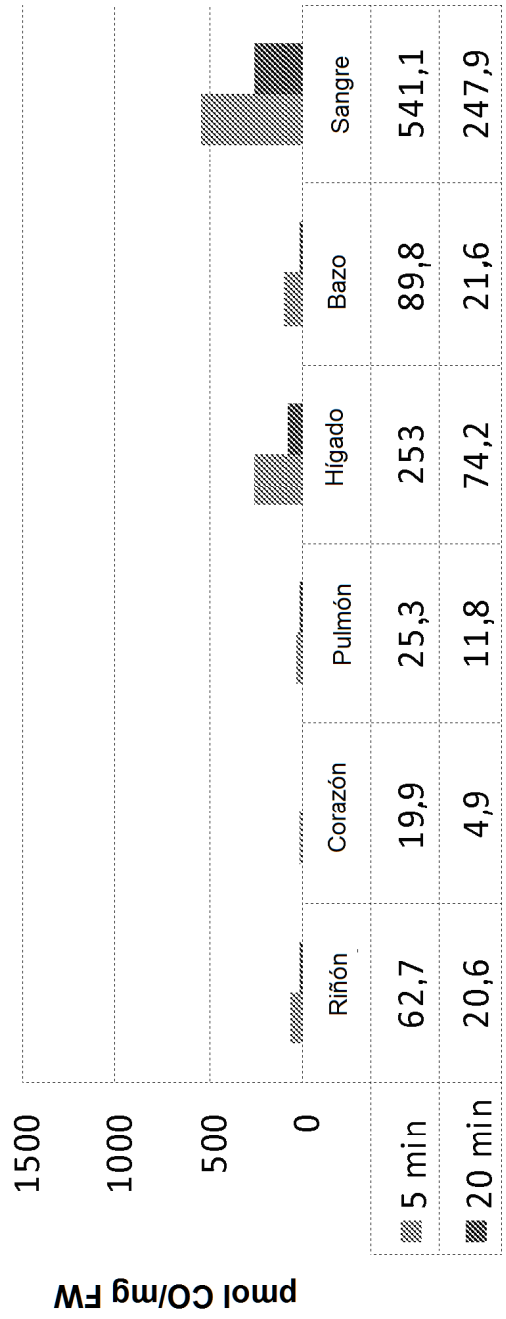


FIGURA 6A

**Compuesto 5b, 50 mg/kg, iv**  
CO en tejidos



**FIGURA 6B**

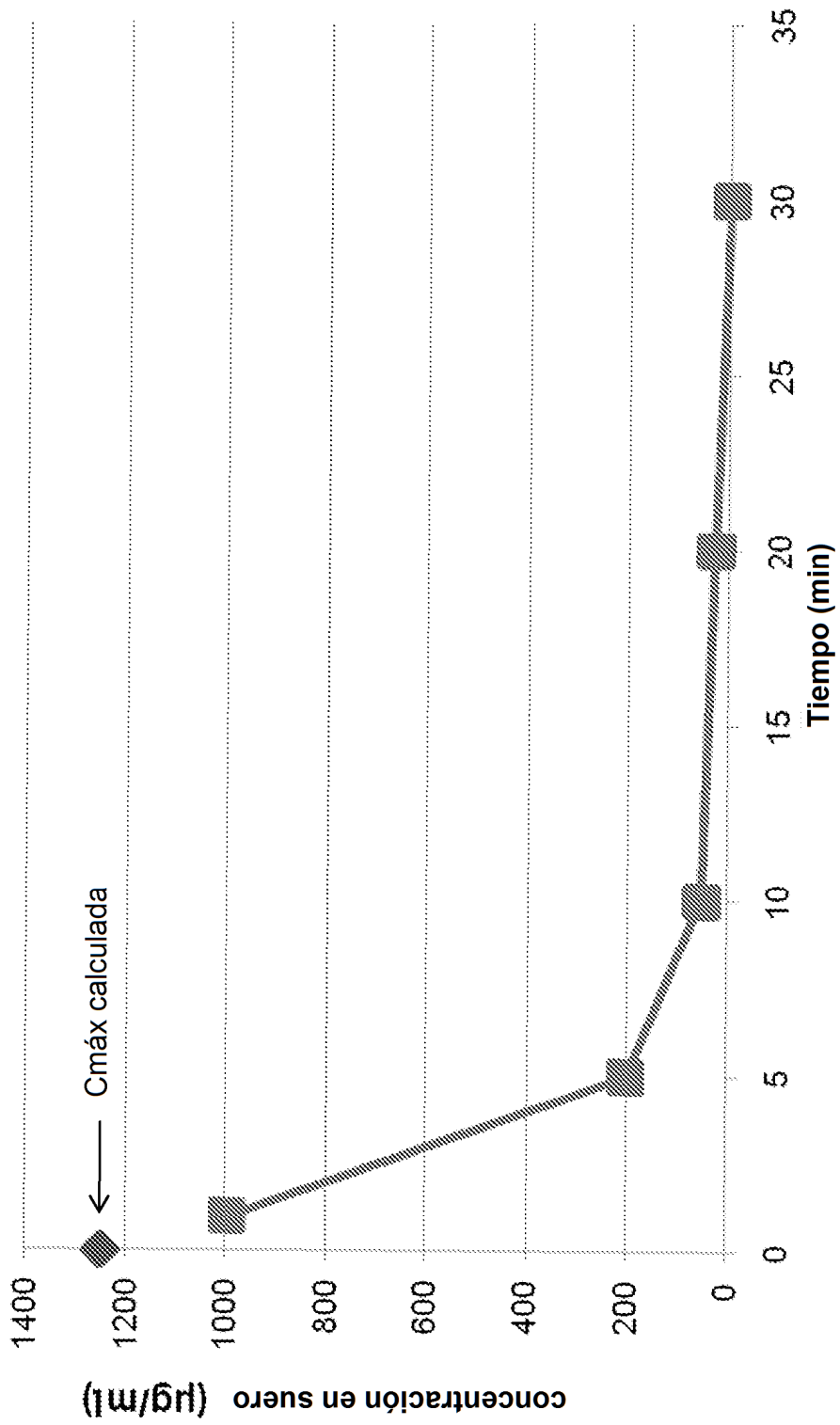


FIGURA 7

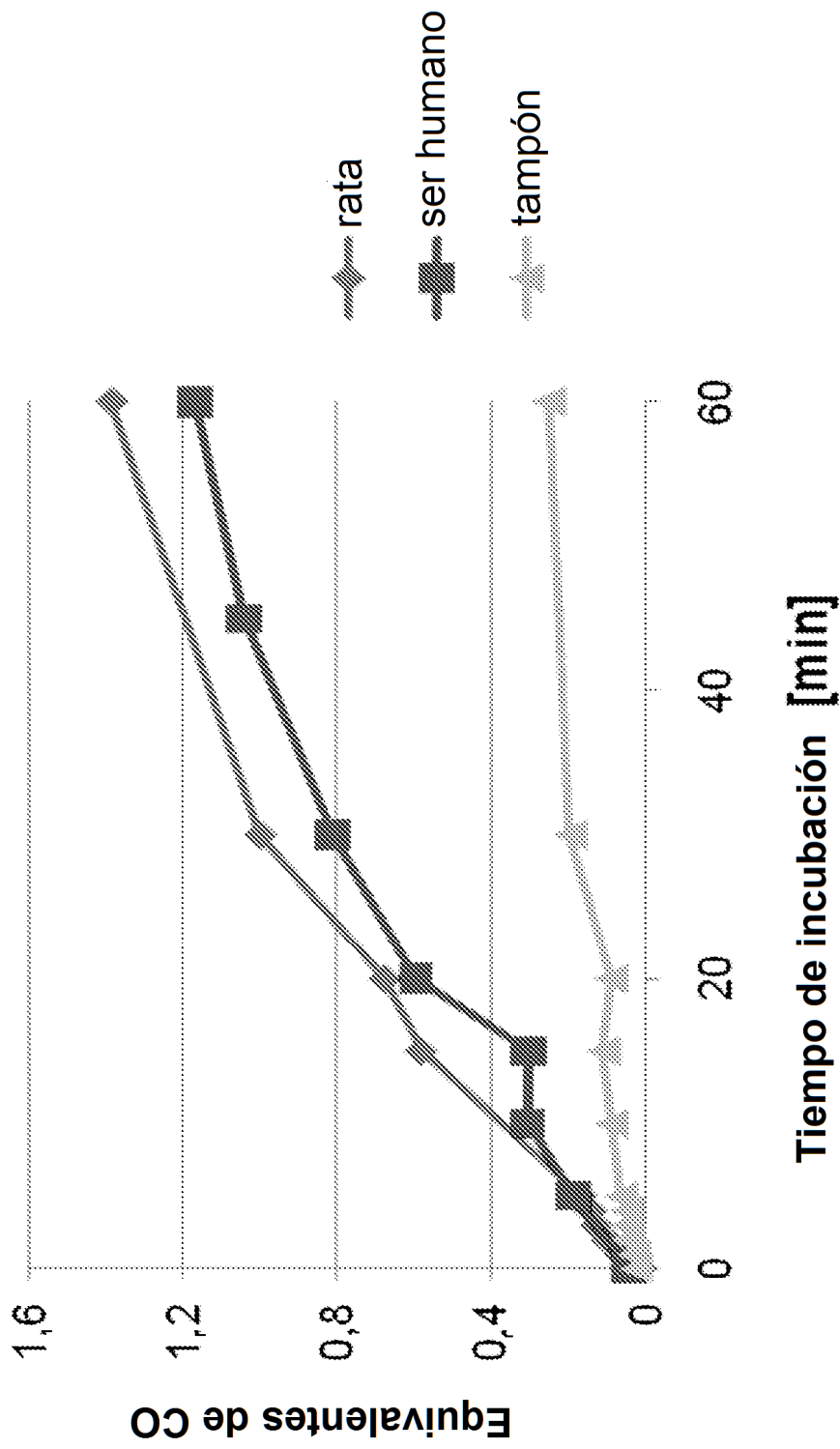


FIGURA 8



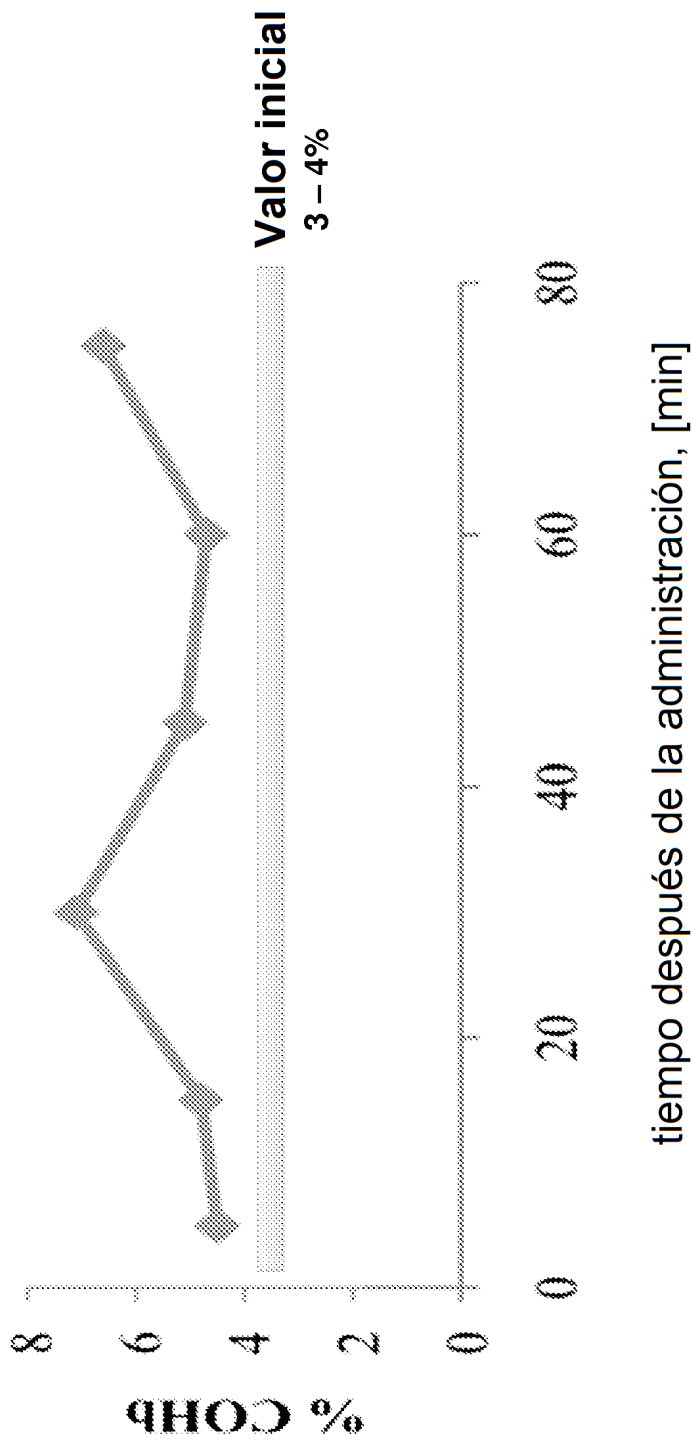
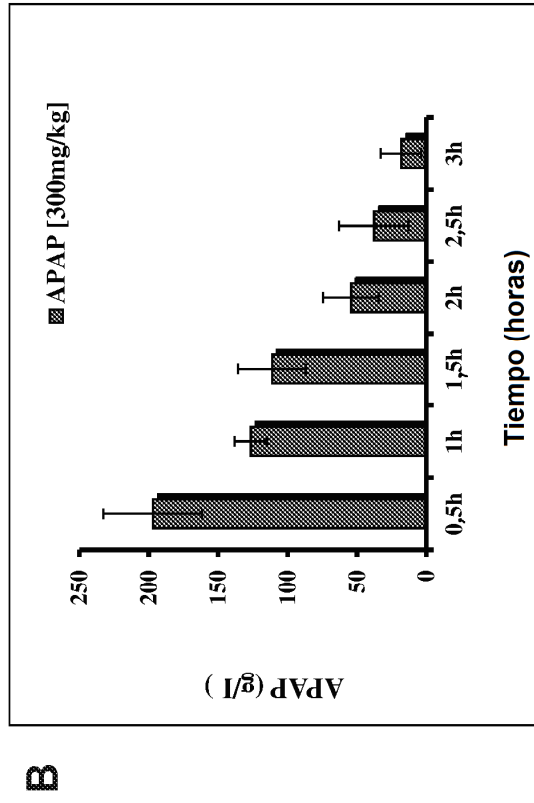
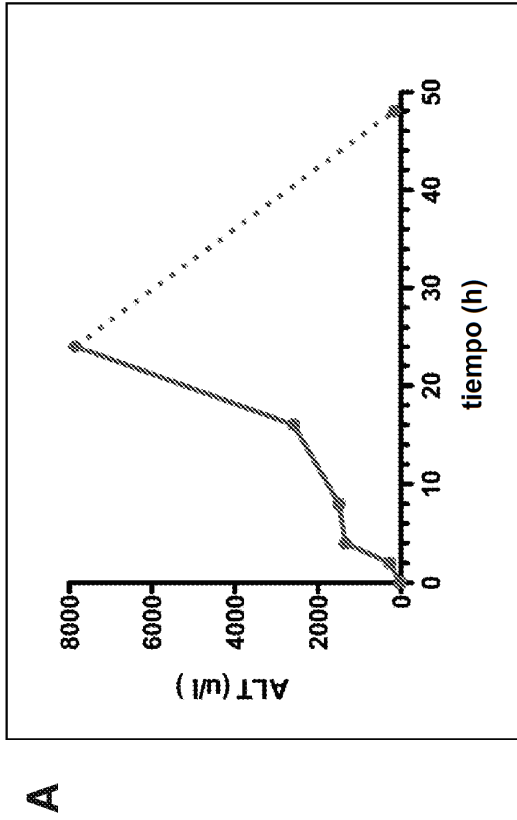
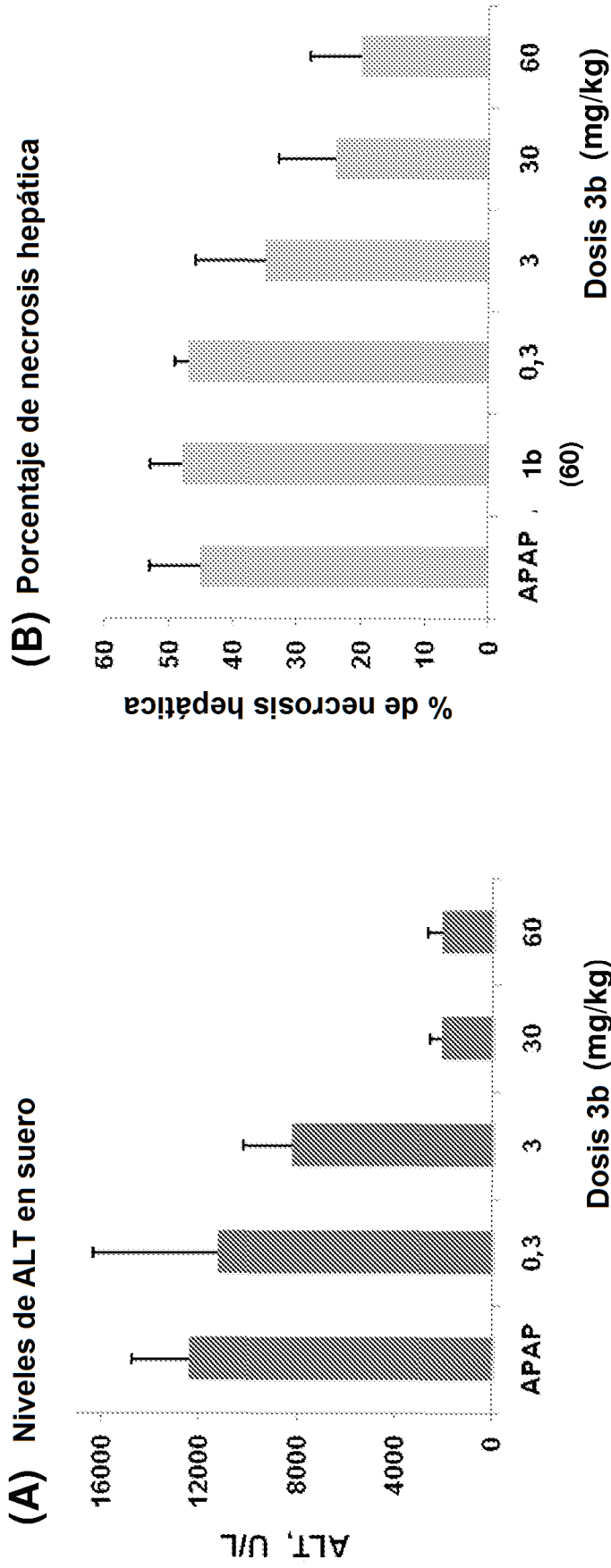


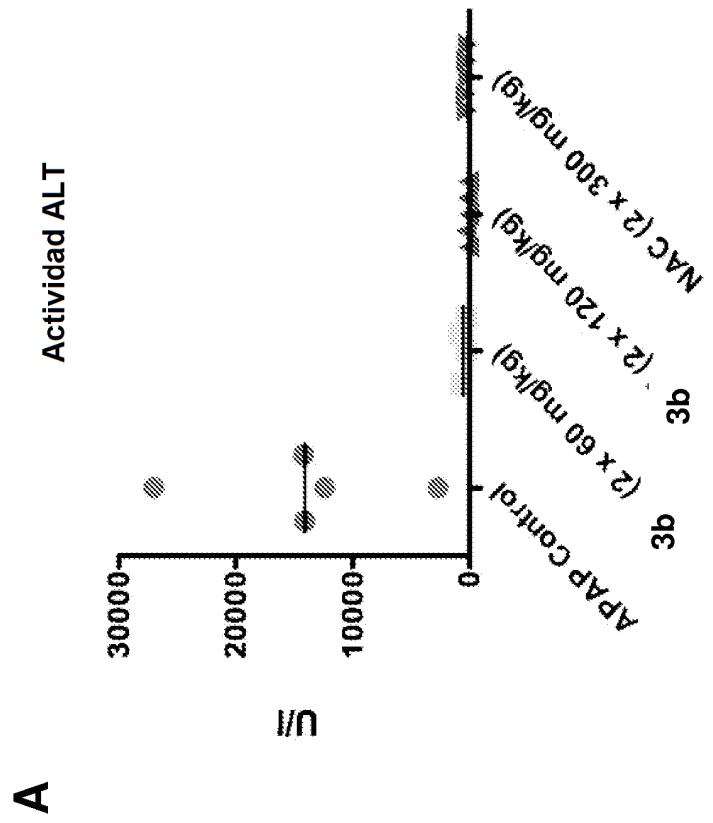
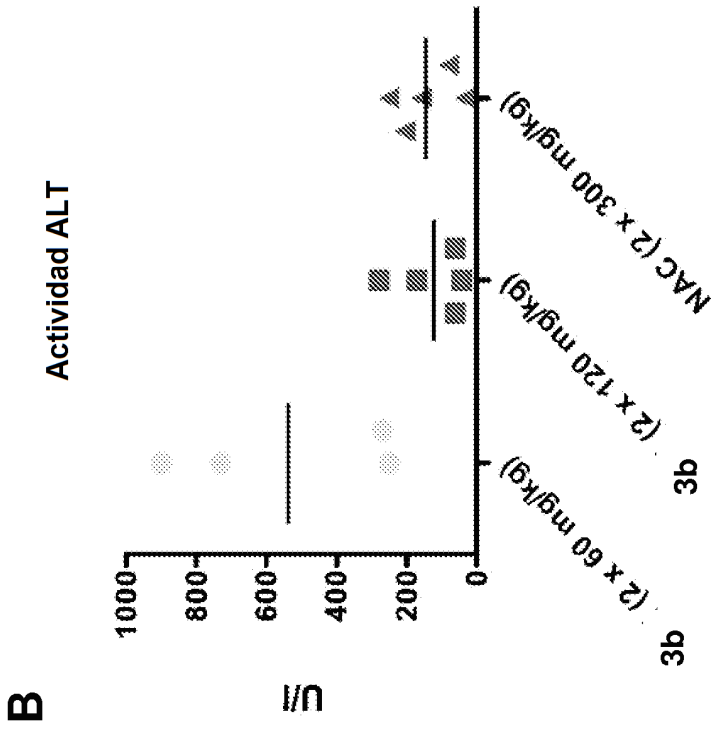
FIGURA 9



FIGURAS 10A-10B



FIGURAS 11A-11B



FIGURAS 12A-12B

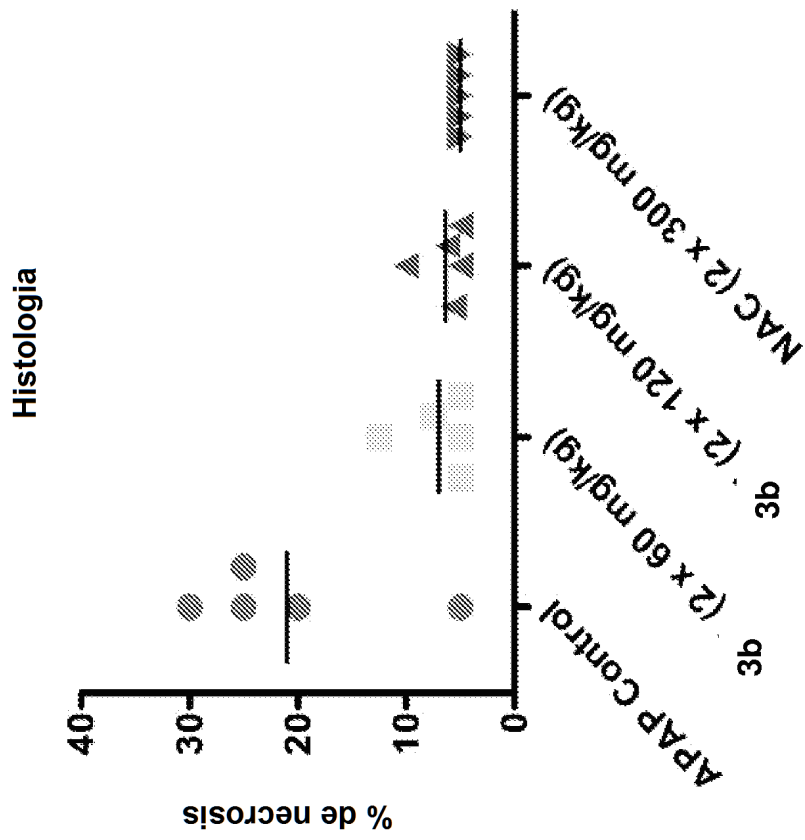


FIGURA 12C

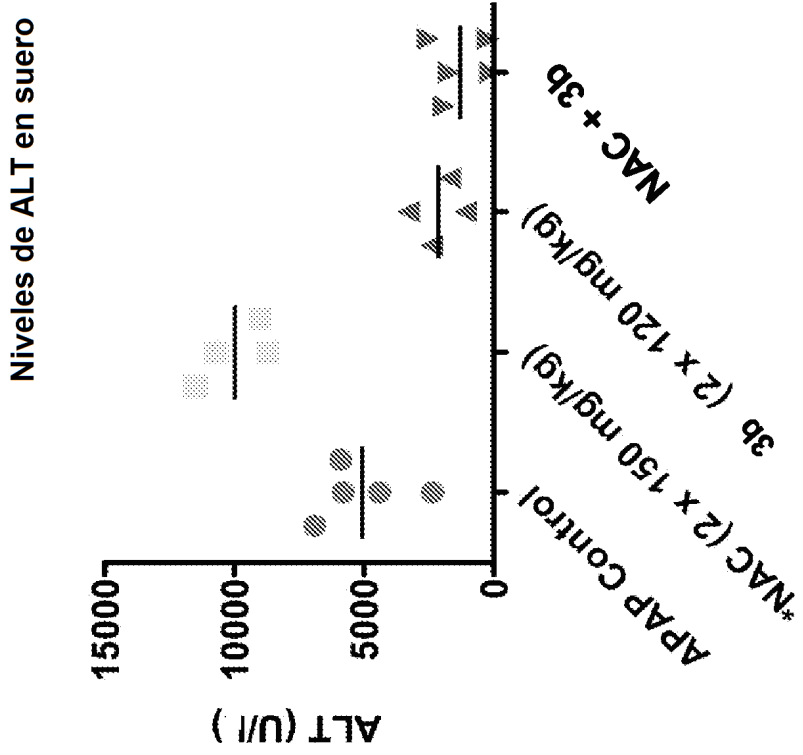


FIGURA 13

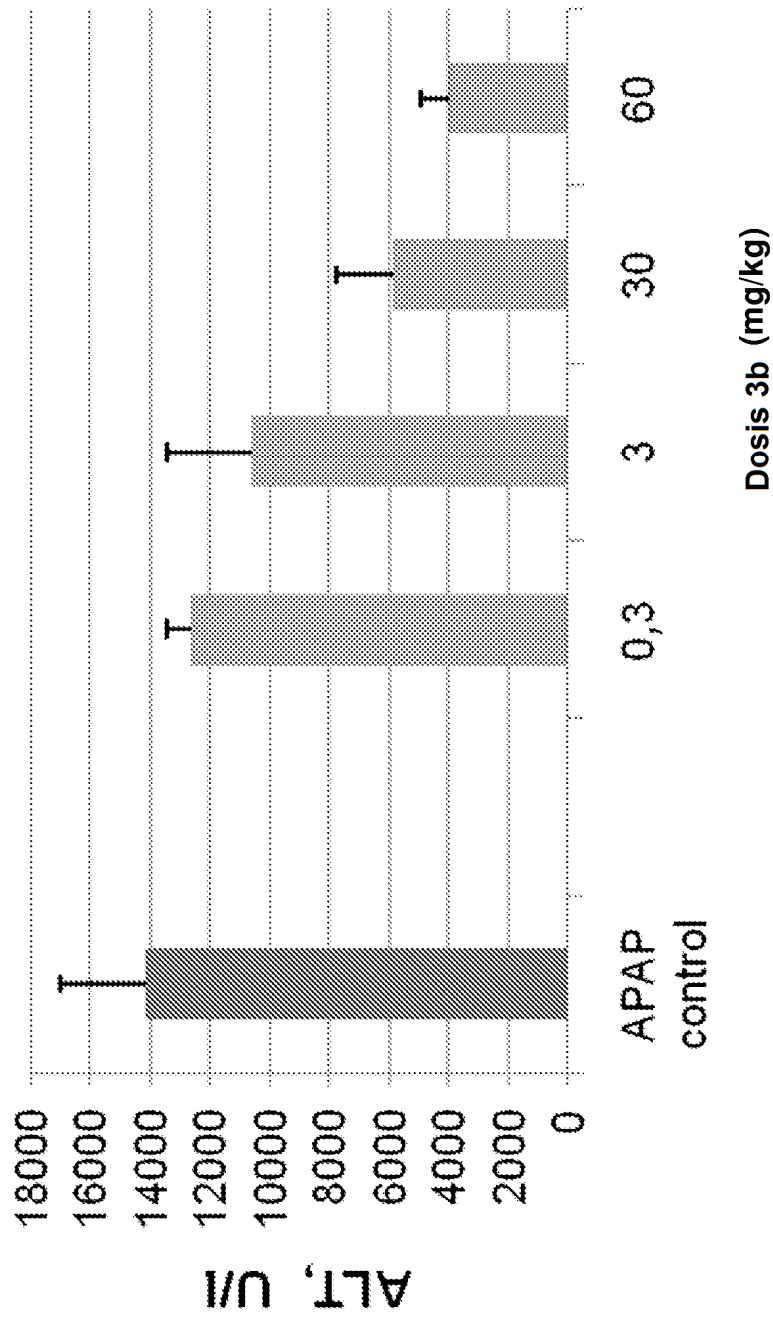
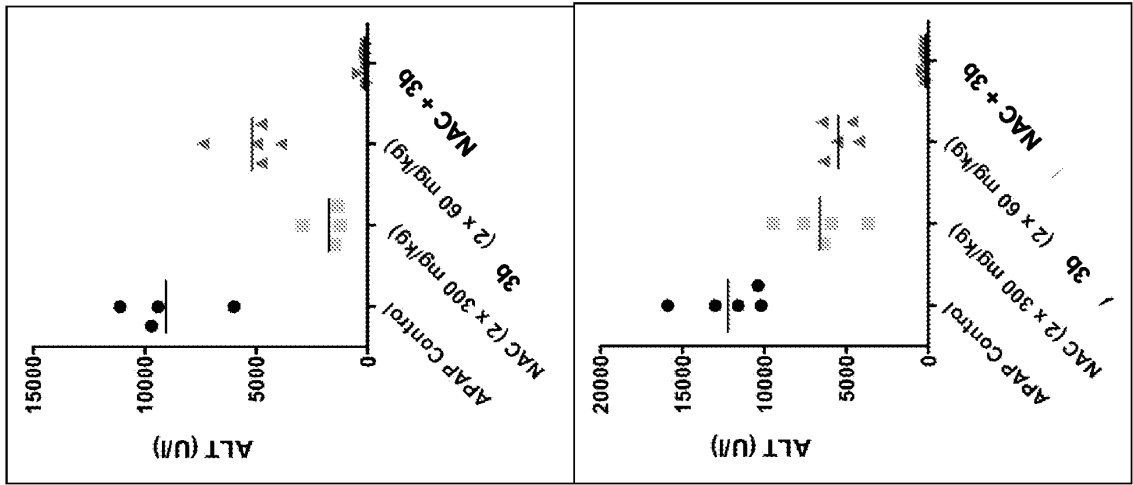
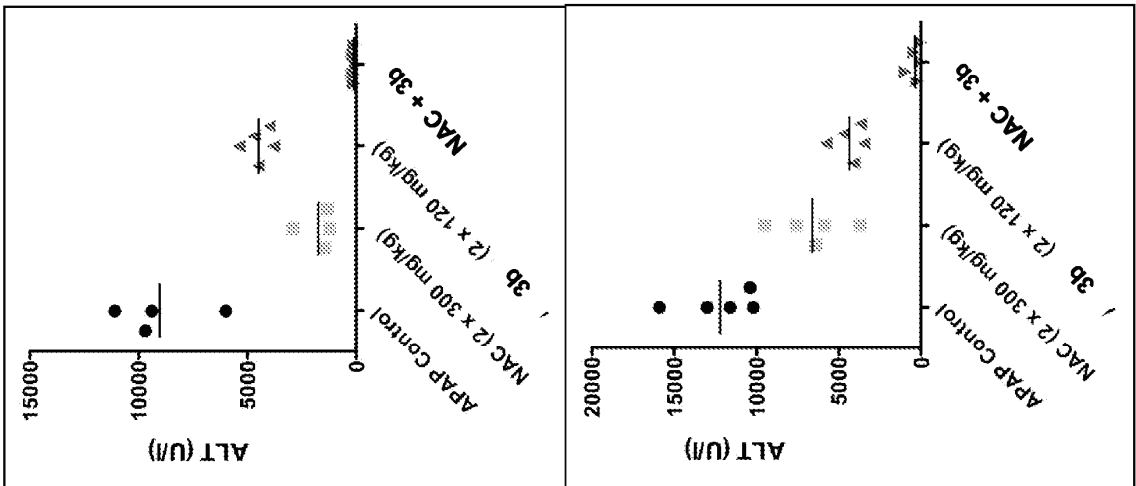


FIGURA 14

(B) 2 x 60 mg/kg



(A) 2 x 120 mg/kg



Experimento 1

Experimento 2

FIGURAS 15A-15B



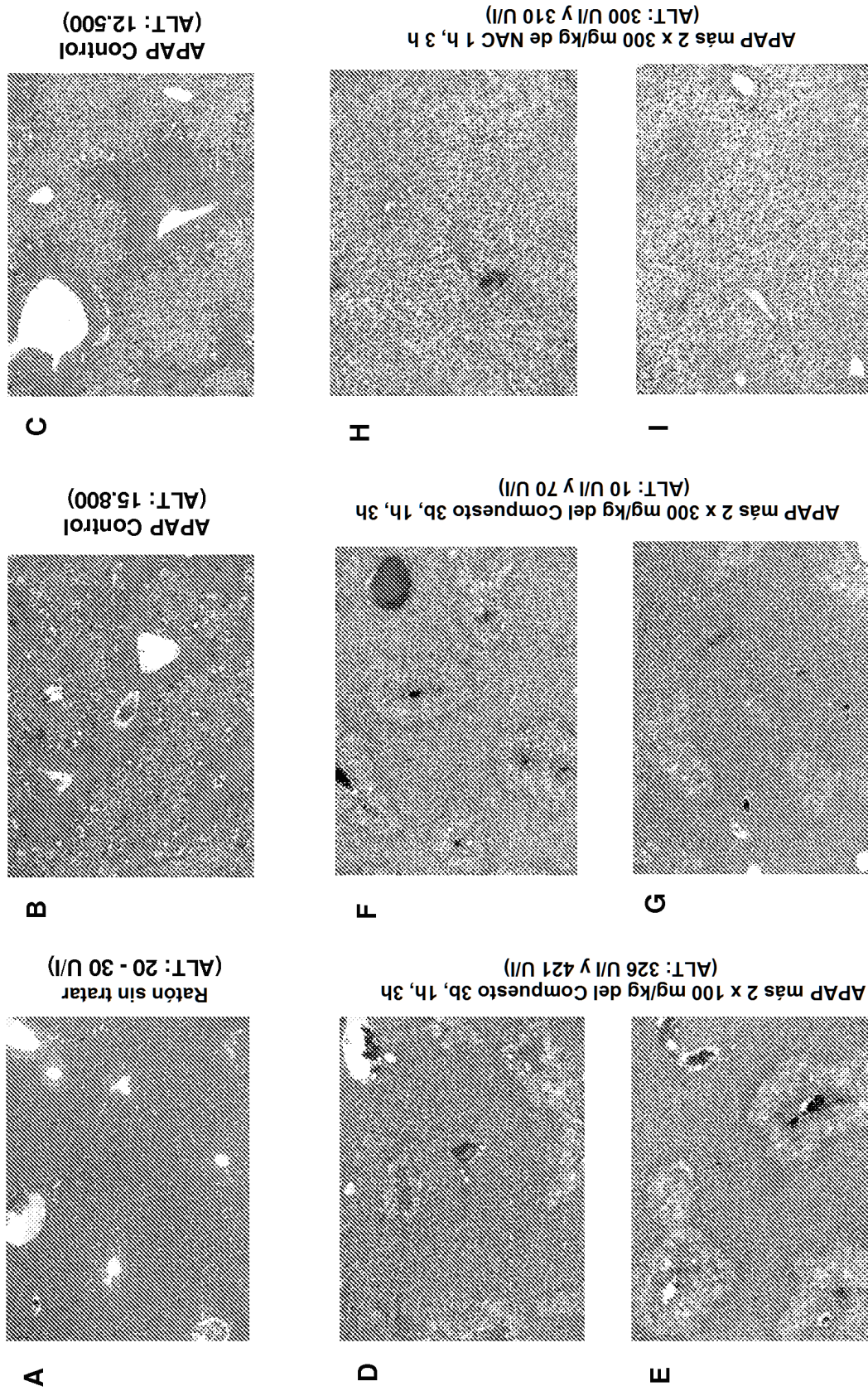
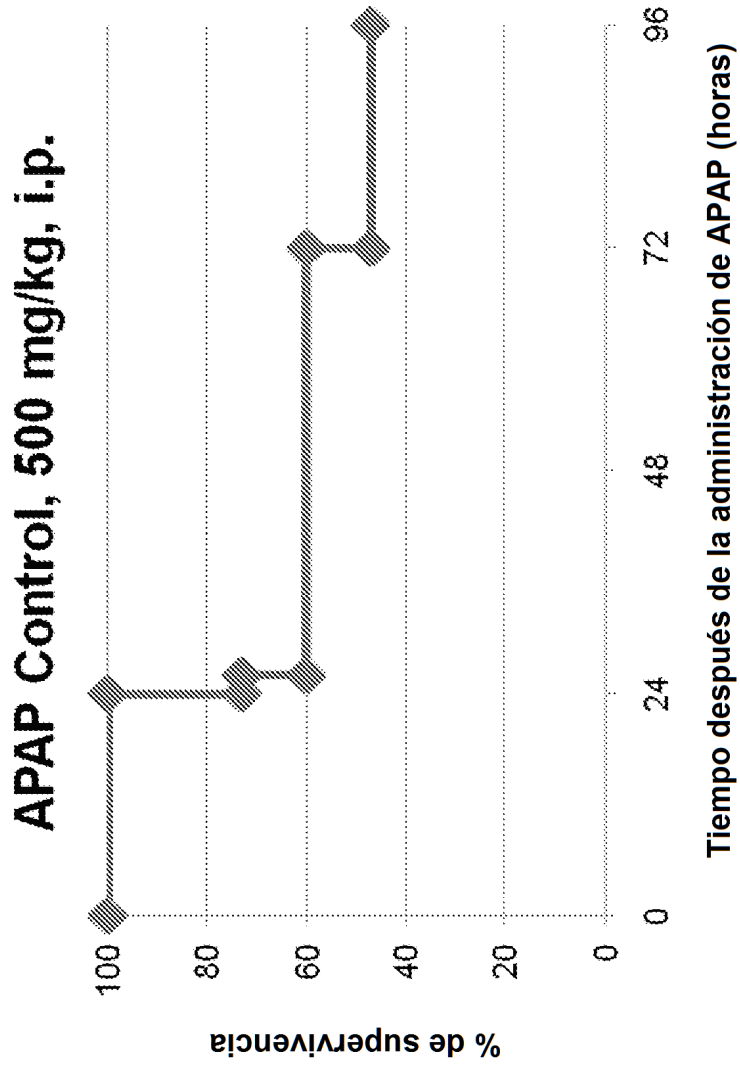
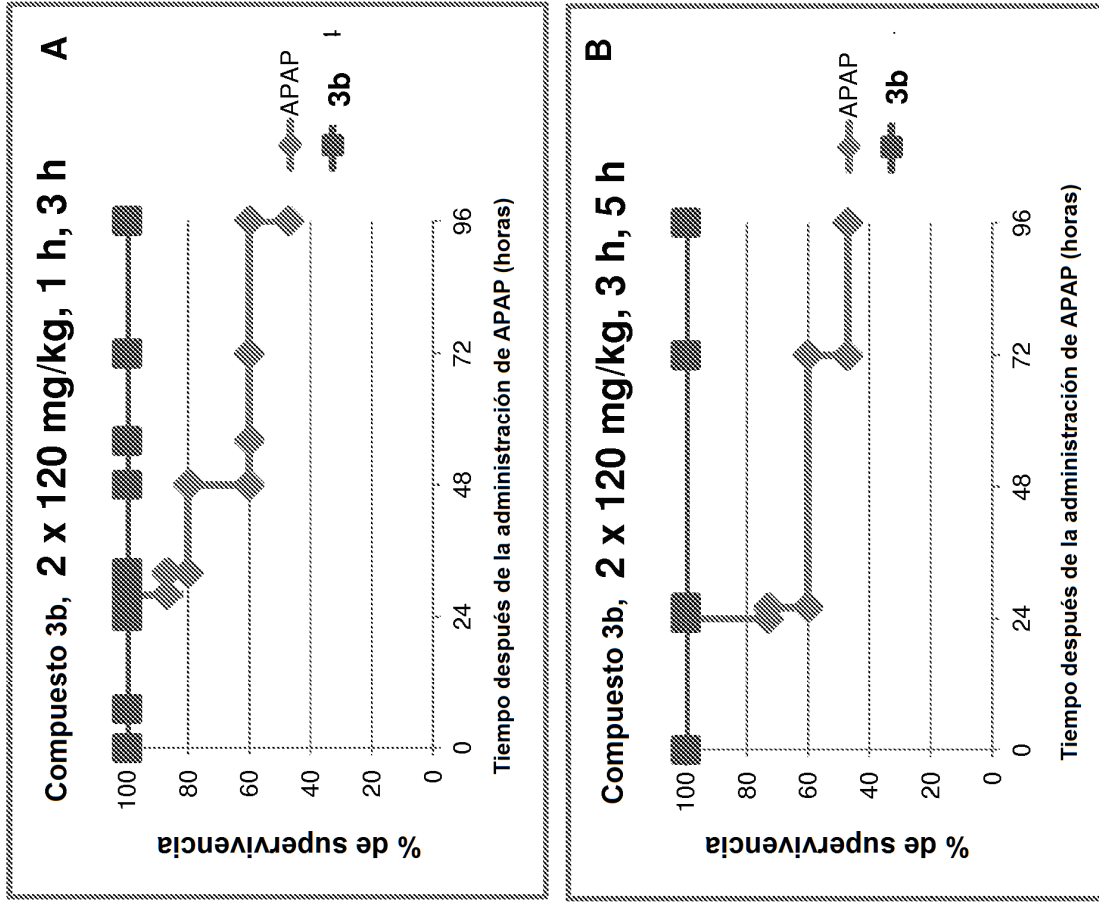


FIGURA 16



**FIGURA 17**



FIGURAS 18A-18B

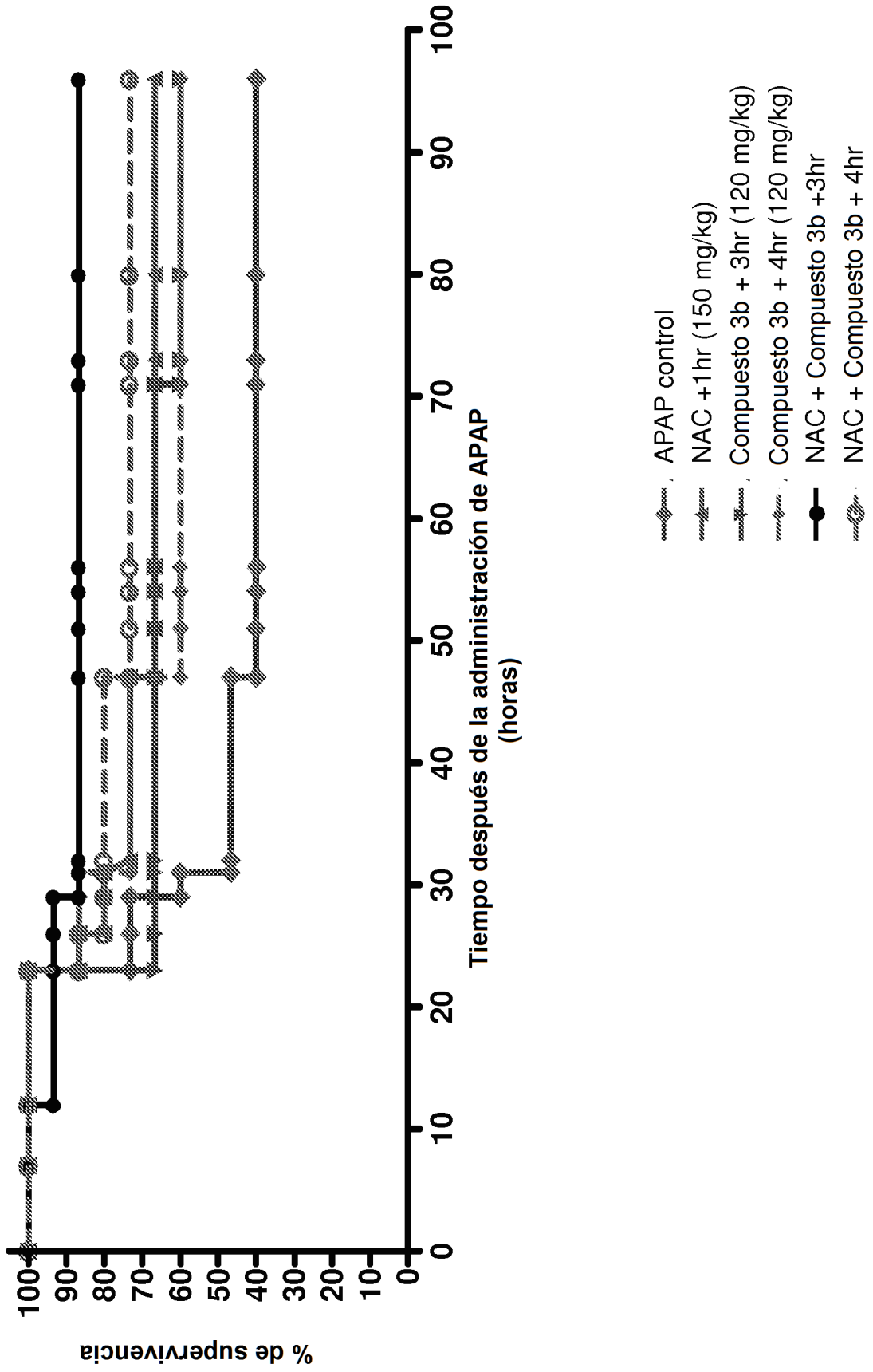


FIGURA 19

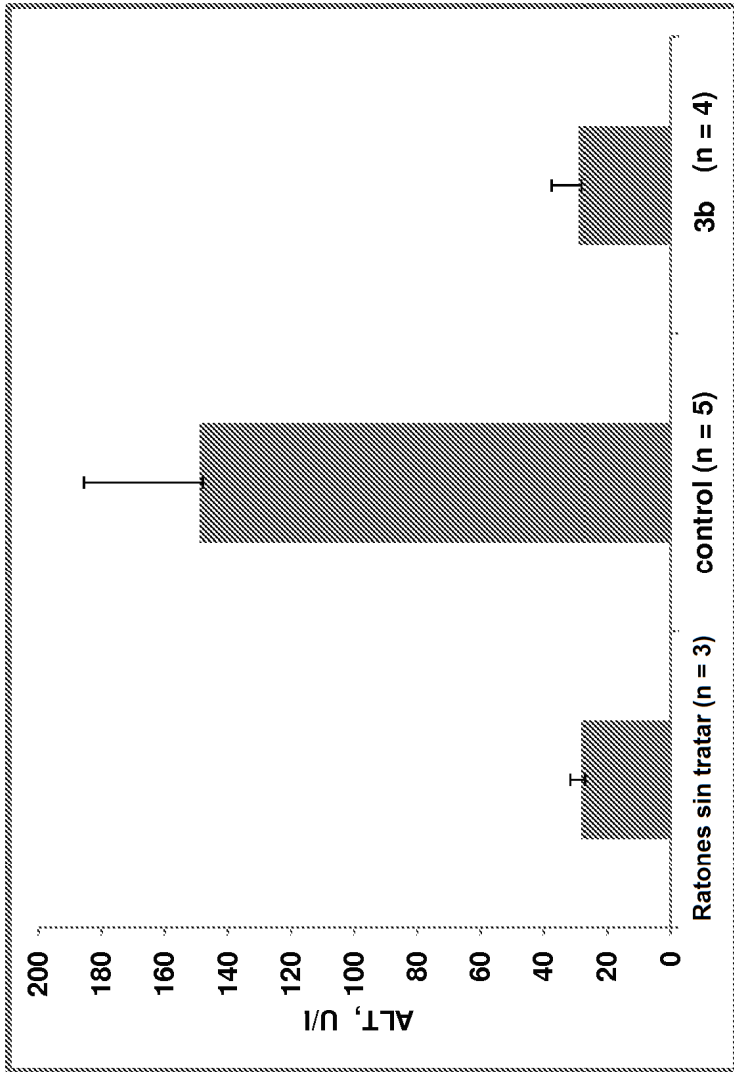
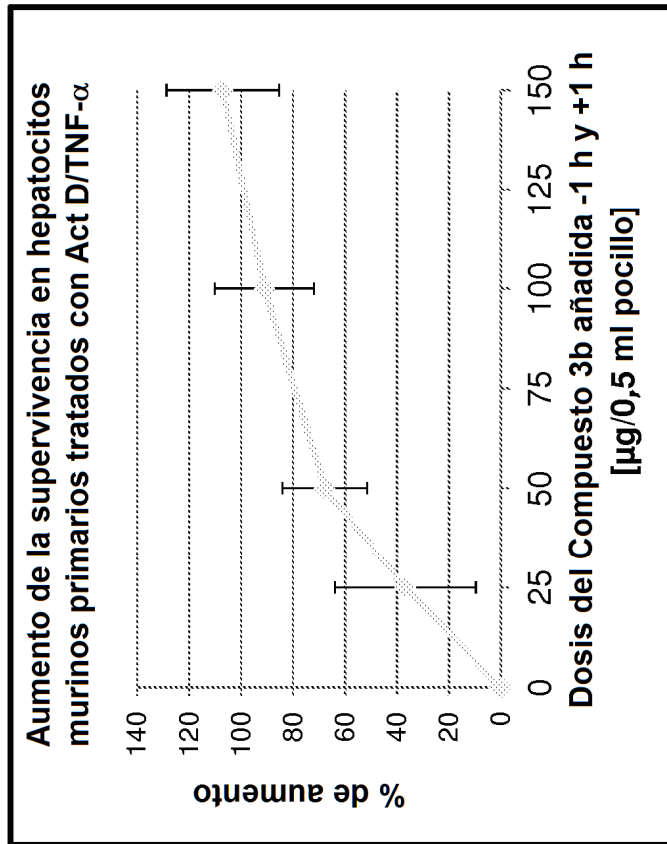
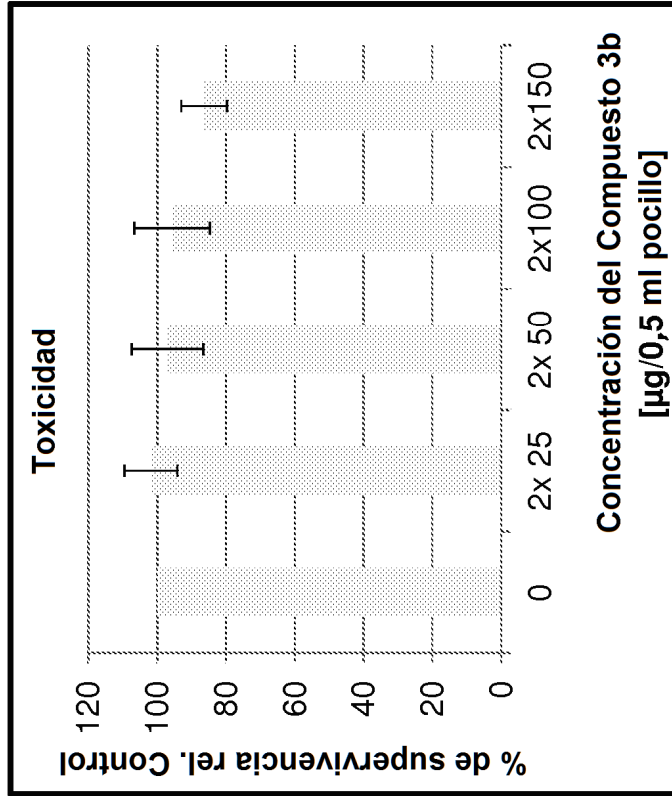


FIGURA 20

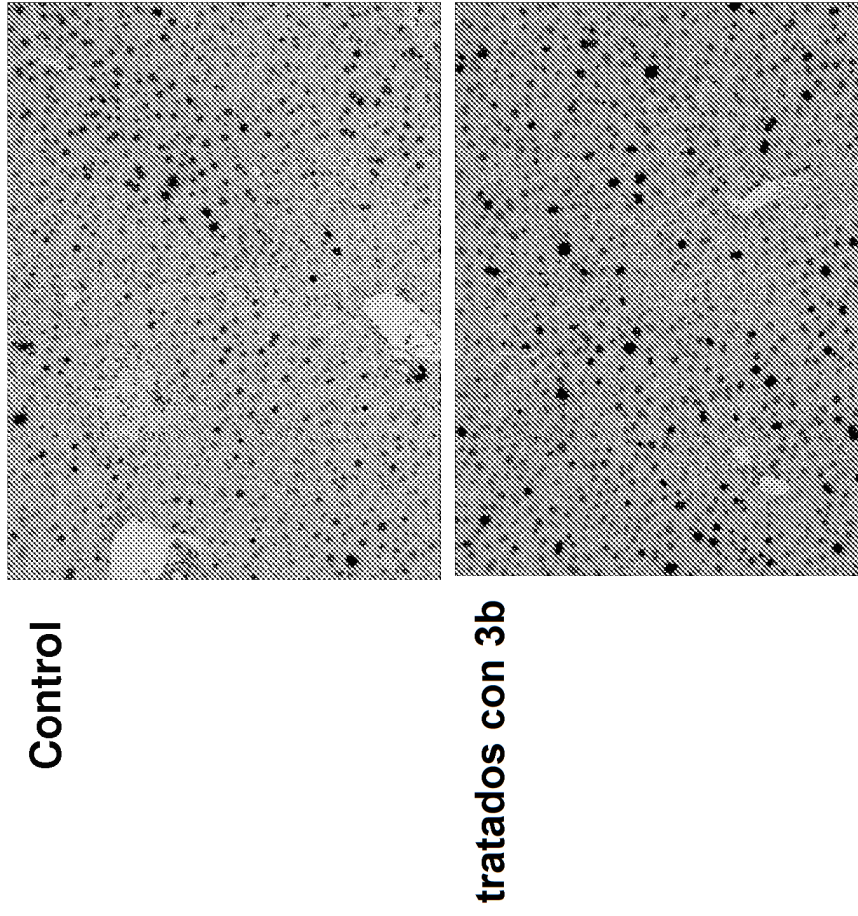
**A**



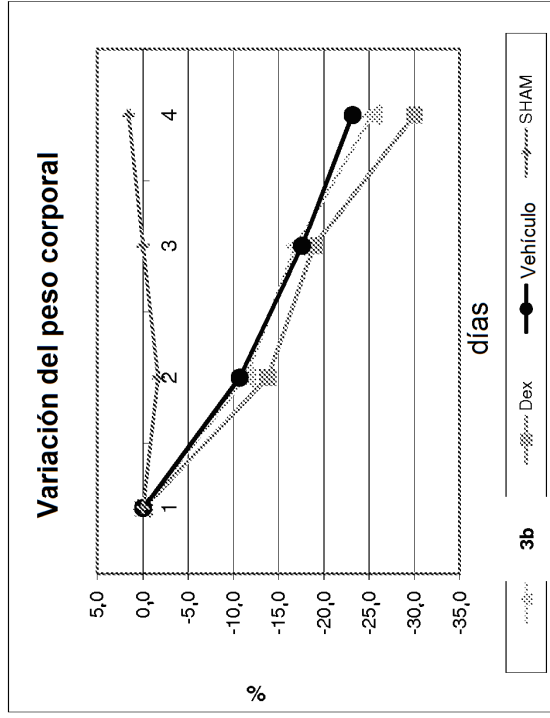
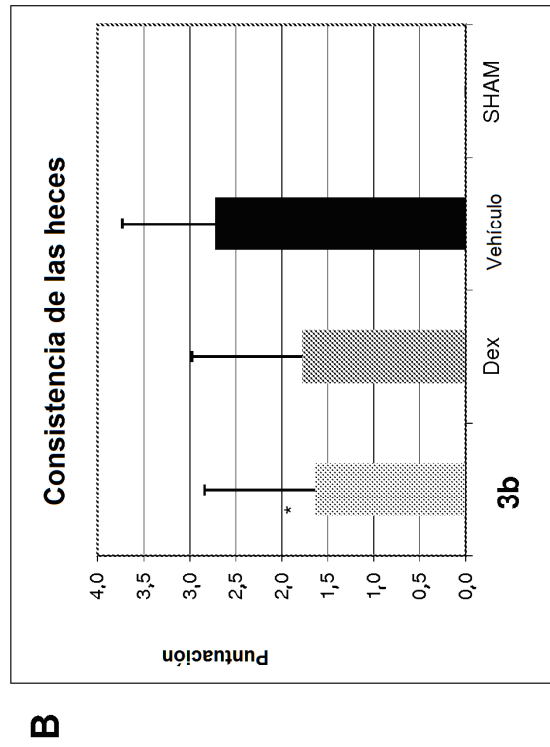
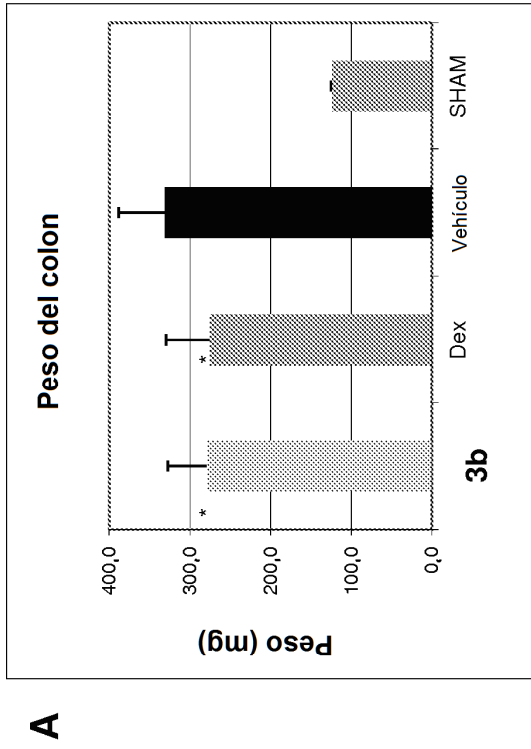
**B**



FIGURAS 21A-21B



**FIGURA 22**



FIGURAS 23A-23C



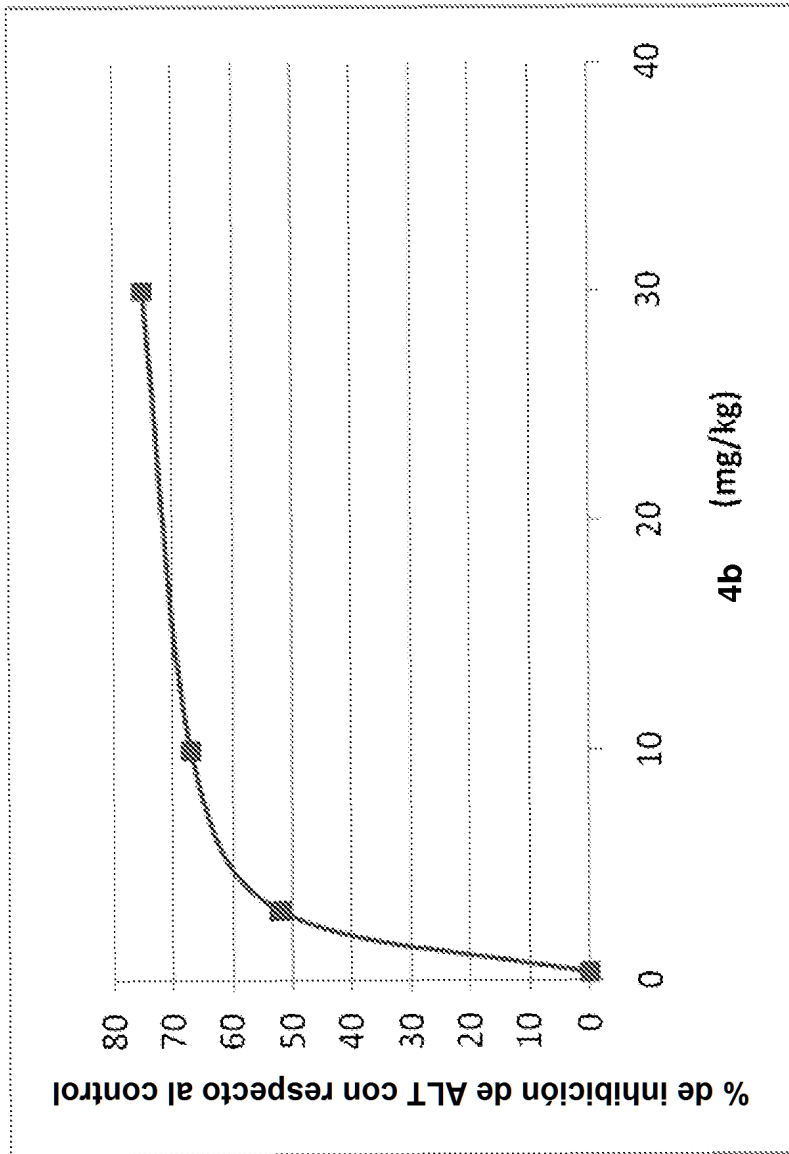


FIGURA 24

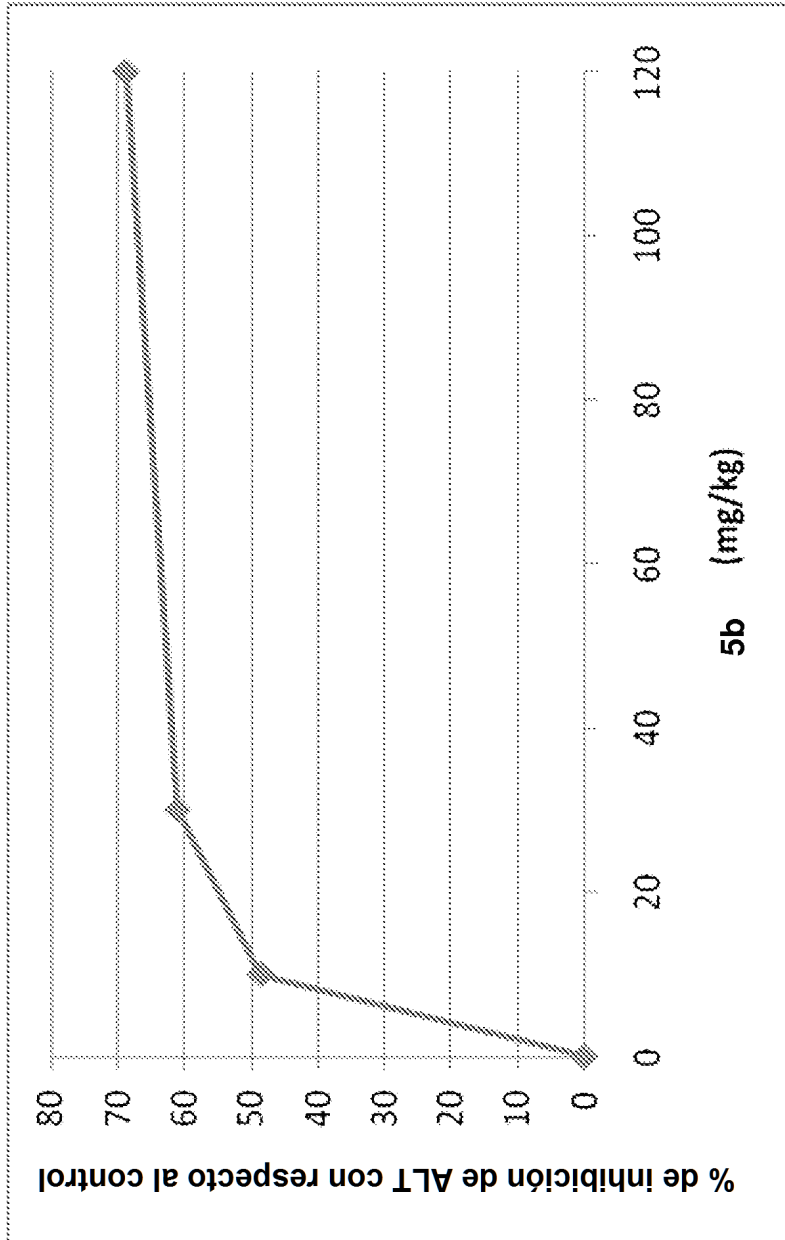


FIGURA 25