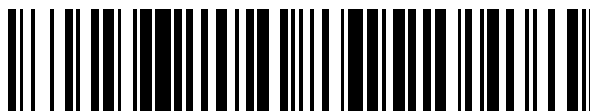


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 659 030**

51 Int. Cl.:

A61P 25/28 (2006.01)

A61K 31/5415 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.03.2007** E 14185157 (6)

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.11.2017** EP 2853293

54 Título: **Compuestos de tioninio y su uso**

30 Prioridad:

29.03.2006 US 786699 P

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

13.03.2018

73 Titular/es:

**WISTA LABORATORIES LTD. (100.0%)
25 Bukit Batok Crescent, The Elitist 06-13
Singapore 658066, SG**

72 Inventor/es:

**WISCHIK, CLAUDE MICHEL;
RICKARD, JANET ELIZABETH;
HARRINGTON, CHARLES ROBERT;
HORSLEY, DAVID;
STOREY, JOHN MERVYN DAVID;
MARSHALL, COLIN y
SINCLAIR, JAMES PETER**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 659 030 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

Compuestos de tioninio y su uso

5 Solicitud relacionada

Esta solicitud está relacionada con la solicitud de patente de los Estados Unidos número 60/786.699 presentada el 29 de marzo de 2006.

10 Campo técnico

Esta invención pertenece generalmente a procesos, usos, métodos y materiales que utilizan compuestos de diaminofenotiazinio particulares. Estos compuestos son útiles como fármacos, por ejemplo, en el tratamiento de tauopatías, tales como la enfermedad de Alzheimer.

15 Antecedentes

Varias patentes y publicaciones se citan en la presente memoria para describir más completamente y divulgar la invención y el estado de la técnica a la que pertenece la invención.

20 A lo largo de esta memoria descriptiva, incluyendo las reivindicaciones que siguen, a menos que el contexto requiera otra cosa, la palabra "comprenden" y variaciones tales como "comprende" y "que comprende", se entenderá que implican la inclusión de un número entero o paso o grupo de números enteros o pasos citados pero no la exclusión de cualquier otro número entero o paso o grupo de números enteros o pasos.

25 Cabe señalar que, tal como se utiliza en la memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una" y "el" incluyen referentes plurales a menos que el contexto dicte claramente lo contrario. Así, por ejemplo, la referencia a "un vehículo farmacéutico" incluye mezclas de dos o más de tales vehículos y similares.

30 Los intervalos se expresan a menudo en esta memoria como desde "aproximadamente" un valor particular y/o hasta "aproximadamente otro valor particular". Cuando se expresa dicho intervalo, otra realización incluye desde un valor particular y/o hasta el otro valor particular. Del mismo modo, cuando los valores se expresan como aproximaciones, mediante el uso del antecedente "aproximadamente" se entenderá que el valor particular constituye otra realización.

35 Los trastornos de demencia como la enfermedad de Alzheimer (EA) se caracterizan frecuentemente por una acumulación progresiva de depósitos intracelulares y/o extracelulares de estructuras proteínicas, tales como placas β -amiloides y ovillos neurofibrilares (ONF) en los cerebros de los pacientes afectados. La aparición de estas lesiones se correlaciona en gran medida con la degeneración neurofibrilar patológica y la atrofia cerebral, así como con el deterioro cognitivo (véase, por ejemplo, Mukaetova-Ladinska, EB, et al., 2000, Am. J. Pathol., Vol. 157, No. 2, pp. 623-636).

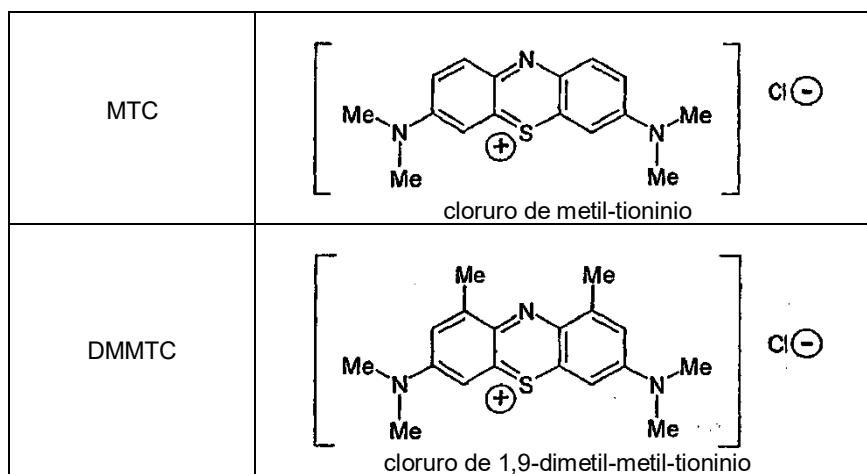
45 En la enfermedad de Alzheimer, tanto las placas neuríticas como los ovillos neurofibrilares contienen filamentos helicoidales emparejados (FHE), de los cuales un constituyente principal es la proteína tau asociada a microtúbulos (véase, por ejemplo, Wischik et al., 1988, PNAS USA, Vol. 85, pp. 4506 a 4510). Las placas también contienen fibrillas extracelulares de β -amiloide derivadas del procesado anormal de proteína precursora amiloide (PPA) (ver, por ejemplo, Kang et al., 1987, Nature, Vol. 325, p. 733). Un artículo de Wischik et al. (en 'Neurobiology of Alzheimer's Disease', segunda edición, 2000, Eds. Dawbarn, D. y Allen, S.J., The Molecular and Cellular Neurobiology Series, Bios Scientific Publishers, Oxford) describe en detalle el posible papel de la proteína tau en la patogenia de las demencias neurodegenerativas. La pérdida de la forma normal de tau, la acumulación de FHE patológicos y la pérdida de sinapsis en la corteza media frontal se correlacionan todos ellos con el deterioro cognitivo asociado. Además, la pérdida de sinapsis y la pérdida de células piramidales se correlacionan con medidas morfológicas de la patología neurofibrilar tau-reactiva, que es paralelo, a nivel molecular, a una redistribución casi total del acúmulo de proteína tau soluble en una forma polimerizada (es decir, FHE) en la enfermedad de Alzheimer.

55 Tau existe en isoformas empalmadas alternativamente, que contienen tres o cuatro copias de una secuencia de repetición correspondiente al dominio de unión a microtúbulos (véase, por ejemplo, Goedert, M., et al., 1989, EMBO J., vol. 8, pp. 393-399; Goedert, M., et al., 1989, Neuron, vol. 3, pp. 519-526). Tau en los FHE es procesada proteolíticamente en un dominio de núcleo (véase, por ejemplo, Wischik, CM., Et al., 1988, PNAS USA, Vol. 85, pp.4884-4888; Wischik et al., 1988, PNAS USA, Vol. 85, pp. 4506-4510; Novak, M., et al., 1993, EMBO J., vol. 12, pp 365-370) que se compone de una versión de fase desplazada del dominio de repetición.; sólo tres repeticiones están involucradas en la interacción tau-tau estable (véase, por ejemplo, Jakes, R., et al., 1991, EMBO J., Vol. 10, pp. 2725-2729). Una vez formados, los agregados de tau de tipo FHE actúan como semillas para la captura adicional y proporcionan una plantilla para el procesamiento proteolítico de la proteína tau de longitud completa (véase, por ejemplo, Wischik et al., 1996, PNAS USA, Vol. 93, pp. 11.213 a 11218).

El desplazamiento de fase que se observa en el dominio de repetición de tau incorporado en los FHE sugiere que el dominio de repetición sufre un cambio conformacional inducido durante la incorporación en el filamento. Durante el comienzo de la ES, se cree que este cambio conformacional podría iniciarse mediante la unión de tau a un sustrato patológico, tal como proteínas de membrana dañadas o mutadas (véase, por ejemplo, Wischik, CM., et al., 1997, en "Microtubule-associated proteins: modifications in disease", Eds. Avila, J., Brandt, R. y Kosik, K.S. (Harwood Academic Publishers, Amsterdam) pp.185-241).

Durante el transcurso de su formación y acumulación, los FHE primero se ensamblan para formar agregados amorfos dentro del citoplasma, probablemente de oligómeros tau tempranos que se truncan antes de, o durante el transcurso del ensamblaje de los FHE (véase, por ejemplo, Mena, R., et al., 1995, Acta Neuropathol., Vol. 89, pp. 50-56; Mena, R., et al., 1996, Acta Neuropathol., Vol. 91, pp. 633-641). Estos filamentos pasan a formar a continuación ONF intracelulares clásicos. En este estado, los FHE consisten en un núcleo de tau truncado y una capa externa desordenada que contiene tau de longitud completa (véase, por ejemplo, Wischik et al., 1996, PNAS USA., Vol. 93, pp. 11213-11218). El proceso de ensamblaje es exponencial, consumiendo las reservas celulares de tau funcional normal e induciendo nueva síntesis de tau para cubrir el déficit (véase, por ejemplo, Lai, R.Y.K., et al., 1995, Neurobiology of Ageing, Vol. 16, N° 3, pp. 433-445). Finalmente, el deterioro funcional de la neurona avanza hasta el punto de la muerte celular, dejando atrás un ONF extracelular. La muerte celular está altamente correlacionada con el número de ONF extracelulares (véase, por ejemplo, Wischik et al., En 'Neurobiology of Alzheimer's Disease', segunda edición, 2000, Eds. Dawbarn, D. y Allen, S.J., The Molecular and Cellular Neurobiology Series, Bios Scientific Publishers, Oxford). Como los ovillos son extrusionados al espacio extracelular, hay una pérdida progresiva de la capa externa desordenada de la neurona con la correspondiente pérdida de inmunorreactividad tau N-terminal, pero conservando la inmunorreactividad de tau asociada con el núcleo FHE (véase, por ejemplo, Bondareff, W. et al., 1994, J. Neuropath. Exper. Neurol., Vol., 53, No. 2, pp. 158-164).

Se ha demostrado con anterioridad que las diaminofenotiazinas inhiben la agregación de la proteína tau e interrumpen la estructura de los FHE y revierten la estabilidad proteolítica del núcleo de FHE (véase, por ejemplo, el documento WO 96/30766, F Hoffman-La Roche). Tales compuestos se describen para su uso en el tratamiento o profilaxis de diversas enfermedades, incluyendo la enfermedad de Alzheimer. Estos incluyen entre otros:



Además, el documento WO 02/055720 (The University Court of the University of Aberdeen) describe el uso de formas reducidas de diaminofenotiazinas específicamente para el tratamiento de varias enfermedades de agregación de proteína, aunque la divulgación se refiere principalmente a tauopatías.

El documento WO 2005/030676 (The University Court of the University of Aberdeen) describe fenotiazinas marcadas radiactivamente y su uso en el diagnóstico y tratamiento, por ejemplo, de tauopatías.

A pesar de estas divulgaciones, se apreciará que la disposición de uno o más compuestos adicionales, no específicamente identificados anteriormente como inhibidores eficaces de la agregación de la proteína tau, proporcionaría una contribución a la técnica.

El documento PCT/GB2005/003634 (TauRx Therapeutics Pte. Ltd) fue presentado, pero no publicado, antes de la presentación de la presente solicitud (WO 2006/032879 A2 se publicó el 30 de marzo de 2006). Esa solicitud se refiere entre otras cosas a los métodos de síntesis y purificación de ciertos compuestos 3,7-diamino-fenotiazin-5-io (denominados como "compuestos diaminofenotiazinio") incluyendo MTC y otros compuestos descritos en esta memoria. Se describe además los usos terapéuticos de estos compuestos.

El documento WO 02/075318 A2 (26 de septiembre de 2002) describe métodos que se refieren generalmente al marcador y detección de ovillos neurofibrilares, así como ligandos (tales como azul de toluidina O, tionina, Azure A,

Azure B, azul de 1,9-dimetilmetileno (DMMTC) y azul de metileno (MTC) para el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de enfermedades, tales como la enfermedad de Alzheimer.

5 El documento WO 2005/030676 A1 (7 de abril de 2005) describe métodos para preparar fenotiazinas marcadas radiactivamente (tales como azul de toluidina O, tionina, Azure A, Azure B y azul de metileno (MTC) y su uso en el diagnóstico y terapia, por ejemplo, de tauopatías.

10 El documento WO 96/30766 A1 (3 de octubre de 1996) describe métodos de selección de compuestos capaces de modular o inhibir la asociación patológica de proteínas tau-tau y la agregación patológica de neurofilamentos (tales como azul de toluidina O, tionina, Azure A, Azure B, azul de 1,9-dimetilmetileno (DMMTC), los cuales son útiles en el tratamiento de enfermedades, tales como la enfermedad de Alzheimer.

15 El documento WO 96/04915 A1 (22 de febrero de 1996) describe métodos para el tratamiento y/o prevención de la enfermedad de Alzheimer usando fenotiazinas y/o tioxantenos.

El documento US 2006/0287523 A1 (21 de diciembre de 2006) es una solicitud de los EE.UU. que en gran parte corresponde a la presente solicitud.

20 El documento WO 2006/032879 A2 (30 de marzo de 2006) describe métodos para la síntesis química y purificación de compuestos diaminofenotiazinio (incluyendo cloruro de etiltioninio (ETC), cloruro de 1,9-dietil-metiltioninio (DEMTC) y cloruro de etil-tioninio (ETC), cloruro de zinc (doble sal) y su uso para tratar, por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer.

25 Lillie R D et al: Zinc chloride methylene blue, ii. Preparation of giemsa and wright type low azure b blood stains from di chromate oxidized commercial dye (Stain Technology vol. 54, no. 1, 1979, páginas 41-46).

30 El documento JP 2000 344685 A (BF KENKYUSHO KK, 12 de diciembre de 2000) divulga una sonda de diagnóstico gráfico para la aceptación del amiloide acumulado mediante un compuesto análogo al azure A y una composición para el diagnóstico gráfico que contiene el mismo.

Descripción de la invención

35 Los presentes inventores han identificado ahora ciertos compuestos tioninio como inhibidores eficaces de la agregación de la proteína tau, y en formas preferidas que tienen otras ciertas propiedades deseables, por ejemplo, por comparación con los compuestos de la técnica anterior descritos anteriormente.

40 Como se discutió anteriormente, las proteínas tau se caracterizan por ser una de entre un número más grande de familias de proteínas que co-purifican con microtúbulos durante ciclos repetidos de ensamblaje y desensamblaje (Shelanski et al. (1973) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 70, 765-768) y que se conocen como proteínas asociadas a los microtúbulos (PAM). Los miembros de la familia tau comparten las características comunes de tener un segmento N-terminal característico, secuencias de aproximadamente 50 aminoácidos insertadas en el segmento N-terminal, que están reguladas a nivel de desarrollo en el cerebro, una región de repetición en tándem característica que consiste en 3 o 4 repeticiones en tándem de 31-32 aminoácidos y una cola C-terminal.

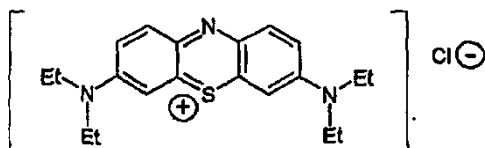
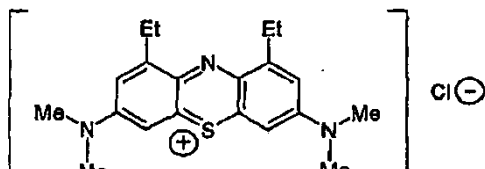
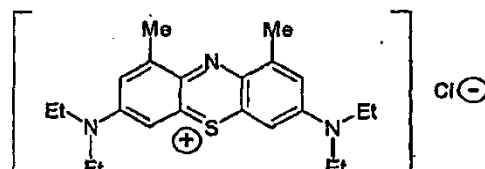
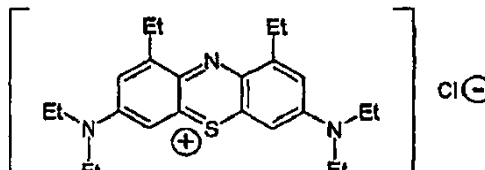
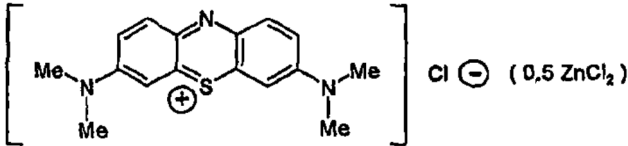
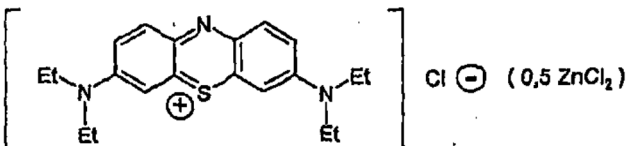
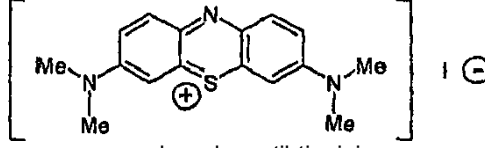
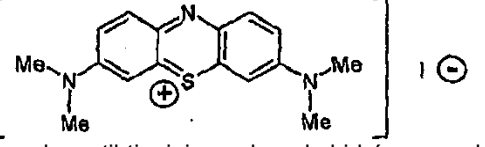
45 Uno o más de estos compuestos específicos son conocidos en la técnica, por ejemplo, MTZ se describe en Fierz-David y Blangley, 1949, "F. Oxazine and Thiazine Dyes" en: Fundamental Processes of Dye Chemistry, publicado por Interscience (Londres, Reino Unido), pp. 308-314. Sin embargo se cree que ninguno de estos ha sido previamente descritos en la técnica anterior como inhibidores de la agregación de la proteína tau.

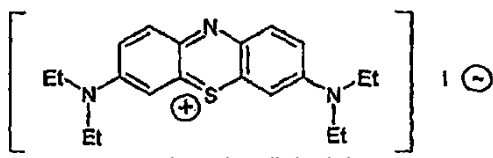
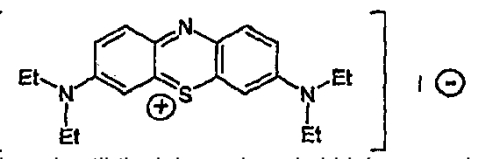
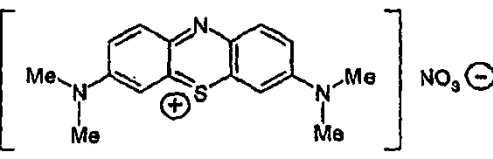
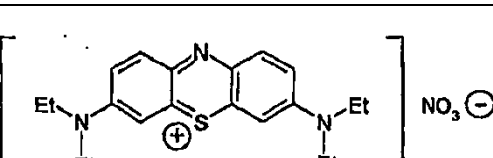
50 En la presente memoria se describen métodos, usos, composiciones y otros materiales que emplean estos compuestos como inhibidores de la agregación de la proteína tau y como agentes terapéuticos o profilácticos de enfermedades asociadas con la agregación de la proteína tau ("tauopatías"). También se describen en la presente memoria procesos para la fabricación de estos compuestos.

55 El ámbito de esta invención está definido por las reivindicaciones.

Compuestos

60 En general, la presente invención se refiere a uno o más compuestos seleccionados de los siguientes compuestos diaminofenotiazinio, en los que (*) indica un compuesto de referencia:

A	ETC	 <p>cloruro de etil-tioninio</p>
B	DEMTC	 <p>cloruro de 1,9-dietil-metil-tioninio</p>
C	DMETC	 <p>cloruro de 1,9-dimetil-etil-tioninio</p>
D	DEETC	 <p>cloruro de 1,9-dietil-etil-tioninio</p>
E (*)	MTZ	 <p>cloruro de metil-tioninio, cloruro de zinc, sal mixta</p>
F	ETZ	 <p>cloruro de etil-tioninio, cloruro de zinc, sal mixta</p>
G	MTI	 <p>yoduro de metil-tioninio</p>
H	MTI.HI	 <p>yoduro de metil-tioninio, yoduro de hidrógeno, sal mixta</p>

I	ETI	 <p>yoduro de etil-tioninio</p>
J	ETI.HI	 <p>yoduro de etil-tioninio, yoduro de hidrógeno, sal mixta</p>
K (*)	MTN	 <p>nitrato de metil-tioninio</p>
L	ETN	 <p>nitrato de etil-tioninio</p>

Estos compuestos se describen en la presente memoria como “compuestos “diaminofenotiazinio” o “compuestos DAFT” o “compuestos de la invención” o (salvo que el contexto lo exija de otra manera) “compuestos activos”.

5

Variación isotópica

En una realización, uno o más de los átomos de carbono del compuesto es ¹¹C o ¹³C o ¹⁴C.

En una realización, uno o más de los átomos de carbono del compuesto es ¹¹C.

10 En una realización, uno o más de los átomos de carbono del compuesto es ¹³C.

En una realización, uno o más de los átomos de carbono del compuesto es ¹⁴C.

En una realización, uno o más de los átomos de nitrógeno del compuesto es ¹⁵N.

15 En una realización, uno o más de todos los átomos de carbono de uno o más de todos los grupos -Me (o -Et) es ¹¹C.

En una realización, uno o más de todos los átomos de carbono de uno o más de todos los grupos -NMe₂ (o -NEt₂) es ¹¹C.

20 En una realización, los grupos -NMe₂ son -N(¹¹CH₃)₂.

Usos para revertir o inhibir la agregación de la proteína tau.

25 En la presente memoria se describe el uso de un compuesto de diaminofenotiazinio para revertir o inhibir la agregación de la proteína tau. Esta agregación puede ser *in vitro* o *in vivo* y puede estar asociada con un estado de la enfermedad de tipo tauopatía como se ha descrito en la presente memoria. También se describen métodos para revertir o inhibir la agregación de la proteína tau que comprende poner en contacto el agregado o proteína con un compuesto como se describe en la presente memoria.

30 *Compuestos preferidos*

En **este y todos los demás aspectos** de la invención, salvo que el contexto lo exija de otra manera, el compuesto se selecciona de la lista que consiste en A, B, C, D, F, I, K, y L (siendo en cada caso opcionalmente una variante isotópica del mismo como se ha descrito anteriormente).

35

- En una realización, es el compuesto A.
 En una realización, es el compuesto B.
 En una realización, es el compuesto C.
 En una realización, es el compuesto D.
 5 En una realización, es el compuesto F.
 En una realización, es el compuesto G.
 En una realización, es el compuesto H.
 En una realización, es el compuesto I.
 En una realización, es el compuesto J.
 10 En una realización, es el compuesto L.
- En una realización el compuesto de diaminofenotiazinio puede ser uno que se obtiene mediante, o se puede obtener mediante, un método como se describe en la presente memoria (véase "Métodos de síntesis" más adelante).
- 15 Los compuestos preferidos son aquellos que muestran una elevada actividad en los ensayos descritos en la presente memoria, particularmente el ensayo *in vitro* descrito más adelante. Los compuestos preferidos tienen una B50 de menos de 500, más preferiblemente menos de 300, 200, 100, 90, 80, 70, 60, 50,40, 30 o 20 μM , como se determina con referencia a los Ejemplos de la presente memoria.
- 20 En una realización el compuesto de diaminofenotiazinio tiene un valor Índice terapéutico (IT) obtenido como se determina con referencia a los Ejemplos de la presente memoria o mayor o igual a 150, más preferiblemente mayor o igual a 160, 170, 180, 190, 200, 500, 1000, 1500 o 2000.
- Métodos de tratamiento o profilaxis y 1º y 2º usos médicos*
- 25 En la presente memoria se describe un método de tratamiento o profilaxis de un trastorno de tipo tauopatía en un paciente, que comprende administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de diaminofenotiazinio, como se describe en la presente memoria.
- 30 Aspectos de la presente invención se refieren a "tauopatías". Así como la enfermedad de Alzheimer (EA), la patogénesis de trastornos neurodegenerativos tales como la enfermedad de Pick y la parálisis supranuclear progresiva (PSP) parece que se correlacionan con una acumulación de agregados de tau truncados patológicos en el giro dentado y en las células piramidales estrelladas de la neocorteza, respectivamente. Otras demencias incluyen la demencia frontotemporal (DFT), la demencia frontotemporal con parkinsonismo ligado al cromosoma 17 (DFTP-
 35 17), el complejo desinhibición-demencia-parkinsonismo-amiotrofia (CDDPA), degeneración palido-ponto-nigral (DPPN), síndrome de ELA de la isla de Guam, degeneración palido-nigro-luisiana (DPNL), degeneración cortico-basal (DCB) y otros (ver Wischik et al 2000, loc cit, para la discusión detallada – especialmente la Tabla 5.1). En la presente memoria se hace referencia a todas estas enfermedades, que se caracterizan principalmente o parcialmente por la agregación de tau anormal, como "tauopatías" o "enfermedades de la agregación de la proteína tau".
 40
- En este y en todos los demás aspectos de la invención en relación con las tauopatías, la tauopatía se selecciona preferentemente de la lista que consiste en las indicaciones anteriores, es decir, EA, enfermedad de Pick, PSP, DFT, DFTP-17, CDDPA, DPPN, síndrome de ELA de la isla de Guam, DPNL y DCB.
 45
- En una realización preferida, la tauopatía es la enfermedad de Alzheimer (EA).
- Un aspecto de la presente invención se refiere a un compuesto de diaminofenotiazinio, como se describe en la presente memoria, para su uso en un método de tratamiento o profilaxis (por ej., de un trastorno de tipo tauopatía) del cuerpo humano o animal mediante terapia.
 50
- Un aspecto de la presente invención se refiere al uso de un compuesto de diaminofenotiazinio, como se describe en la presente memoria, en la fabricación de un medicamento para uso en el tratamiento o profilaxis de un trastorno de tipo tauopatía.
 55
- También se describe en la presente memoria un método de tratamiento o profilaxis de una enfermedad de agregación de la proteína tau tal como se describe en la presente memoria, cuyo método comprende administrar a un sujeto un compuesto de diaminofenotiazinio, o composición terapéutica que comprende el mismo de tal manera que se inhiba la agregación de la proteína tau asociada con dicho estado patológico.
 60
- Otros métodos y usos*
- También se describe en la presente memoria un compuesto de diaminofenotiazinio, o composición terapéutica que comprende el mismo, para uso en un método de tratamiento o profilaxis de una enfermedad de agregación de la proteína tau como se describe anteriormente, método que comprende administrar a un sujeto el compuesto o composición diaminofenotiazinio de tal manera que se inhiba la agregación de la proteína tau asociada con dicho
 65

estado patológico.

5 También se describe en la presente memoria el uso de un compuesto de diaminofenotiazinio en la preparación de un medicamento para uso en un método de tratamiento o profilaxis de una enfermedad de agregación de la proteína tau como se describe anteriormente, método que comprende administrar a un sujeto el medicamento de tal manera que se inhiba la agregación de la proteína tau asociada a dicho estado patológico.

10 También se describe en la presente memoria un método para regular la agregación de una proteína tau en el cerebro de un mamífero, agregación que está asociada con un estado patológico como se ha descrito anteriormente, comprendiendo el tratamiento la etapa de administrar a dicho mamífero en necesidad de dicho tratamiento, una cantidad profilácticamente o terapéuticamente eficaz de un inhibidor de dicha agregación, en donde el inhibidor es un compuesto de diaminofenotiazinio.

15 También se describe en la presente memoria un método para inhibir la producción de agregados de proteína (por ej., en forma de filamentos helicoidales emparejados (FHE), opcionalmente en ovillos neurofibrilares (ONF)) en el cerebro de un mamífero, siendo el tratamiento como se describe en la presente memoria.

20 También se describe en la presente memoria un fármaco para el tratamiento de un estado patológico asociado con la agregación de la proteína tau en un mamífero que sufre de la misma, que comprende un envase etiquetado o acompañado por una etiqueta que indica que el fármaco es para el tratamiento de dicha enfermedad, conteniendo el envase una o más unidades de dosificación comprendiendo cada una al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable y, como principio activo, un compuesto de diaminofenotiazinio puro aislado como se describe en la presente invención.

25 *Composiciones, formulaciones y pureza*

Las composiciones y formulaciones se discuten en más detalle más adelante.

30 Sin embargo, en una realización, el compuesto de diaminofenotiazinio puede ser proporcionado o utilizado en una composición que tiene una pureza igual o menor que 100, 99, 98, 97, 96, 95, 94, 93, 92, 91 o 90 %. En una realización, el compuesto de la invención no es uno que se obtiene o que se puede obtener mediante los métodos de alta pureza divulgados en el documento PCT/GB2005/003634 (TauRx Therapeutics Pte. Ltd) que fue presentado, pero no publicado, antes de la presentación de la presente solicitud.

35 También se describe en la presente memoria una unidad de dosificación (por ej., un comprimido o cápsula farmacéutico) que comprende de 20 a 300 mg de un compuesto de diaminofenotiazinio como se describe en la presente memoria (por ej., obtenido por, o que se puede obtener mediante un método como se describe en esta memoria, que tiene una pureza como se describe en esta memoria; etc.).

40 Las unidades de dosificación (por ej., un comprimido o cápsula farmacéutico) que comprende de 20 a 300 mg de un compuesto de diaminofenotiazinio como se describe en la presente memoria y un vehículo, diluyente, o excipiente farmacéuticamente aceptable como se discuten en más detalle más adelante

45 En una realización, la cantidad es aproximadamente 25 mg.
En una realización, la cantidad es aproximadamente 35 mg.
En una realización, la cantidad es aproximadamente 50 mg.

50 En una realización, la cantidad es aproximadamente 70 mg.
En una realización, la cantidad es aproximadamente 125 mg.
En una realización, la cantidad es aproximadamente 175 mg.
En una realización, la cantidad es aproximadamente 250 mg.

Regímenes de administración preferidos

55 Los regímenes de administración se discuten con más detalle más adelante.

60 Sin embargo, en una realización, el compuesto de diaminofenotiazinio se administra a un paciente humano de acuerdo con el siguiente régimen de dosificación: aproximadamente 50 o aproximadamente 75 mg, 3 o 4 veces al día.

En una realización, el compuesto de diaminofenotiazinio se administra a un paciente humano de acuerdo con el siguiente régimen de dosificación: aproximadamente 100 o aproximadamente 125 mg, 2 veces al día

65 *Terapias de combinación preferidas*

Los tratamientos y terapias de combinación, en los que se combinan dos o más tratamientos o terapias, por ejemplo,

secuencialmente o simultáneamente, se discuten en más detalle más adelante. Por lo tanto, se entenderá que cualquiera de los usos médicos o métodos descritos en la presente memoria pueden usarse en una terapia de combinación.

5 En una realización, un tratamiento de la invención (por ej., el empleo de un compuesto de la invención) es en combinación con un inhibidor de la colinesterasa, tales como donepezilo (Aricept™), rivastigmina (Exelon™) o galantamina (Reminyl™).

10 En una realización, un tratamiento de la invención (por ej., empleando un compuesto de la invención) es en combinación con un antagonista del receptor de NMDA tales como memantina (Ebixa™, Namenda™).

En una realización, un tratamiento (por ej., el empleo de un compuesto de la invención) es en combinación con un agonista de receptor muscarínico.

15 En una realización, un tratamiento (por ej., empleando un compuesto de la invención) es en combinación con un inhibidor de la proteína precursora de amiloide en beta-amiloide (por ej., un inhibidor del procesamiento de la proteína precursora de amiloide que lleva a una mayor generación de beta-amiloide

Ligandos y marcadores

20 Los compuestos diaminofenotiazinio descritos en la presente memoria que son capaces de inhibir la agregación de la proteína tau también son capaces de actuar como ligandos o marcadores de la proteína tau (o proteína tau agregada). Por lo tanto, en una realización, el compuesto de diaminofenotiazinio es un ligando de la proteína tau (o proteína tau agregada).

25 Tales compuestos diaminofenotiazinio (ligandos) pueden incorporar, conjugarse a, ser quelados con, o de otra manera, estar asociados con otros grupos químicos, tales como isótopos detectables estables e inestables, radioisótopos, átomos emisores de positrones, marcadores de resonancia magnética, colorantes, marcadores fluorescentes, grupos antigénicos, restos terapéuticos o cualquier otro resto que pueda ayudar en una aplicación pronóstica, diagnóstica o terapéutica.

30 Por ejemplo, como se ha señalado anteriormente, en una realización, el compuesto de diaminofenotiazinio es como se define anteriormente, pero con la limitación adicional de que el compuesto incorpora, está conjugado a, está quelado con o está asociado de otro modo con uno o más (por ej., 1, 2, 3, 4, etc.) isótopos, radioisótopos, átomos emisores de positrones, marcadores de resonancia magnética, colorantes, marcadores fluorescentes, grupos antigénicos o restos terapéuticos.

35 En una realización, el compuesto de diaminofenotiazinio es un ligando, así como un marcador, por ejemplo, un marcador para la proteína tau (o proteína tau agregada), e incorpora, está conjugado a, está quelado con o está asociado de otro modo con, uno o más (por ej., 1, 2, 3, 4, etc.) marcadores detectables.

40 Por ejemplo, en una realización, el compuesto de diaminofenotiazinio es como se define anteriormente, pero con la limitación adicional de que el compuesto incorpora, está conjugado a, está quelado con o está asociado de otro modo con, uno o más (por ej., 1, 2, 3, 4, etc.) marcadores detectables.

45 Compuestos diaminofenotiazinio marcados (por ej., cuando se ligó a la proteína tau o la proteína tau agregada) pueden visualizarse o detectarse por cualquier medio adecuado, y la persona experta apreciará que se puede utilizar cualquier medio de detección adecuado como se conoce en la técnica.

50 Por ejemplo, el compuesto de diaminofenotiazinio (ligando-marcador) puede detectarse adecuadamente incorporando un átomo emisor de positrones (por ej., ¹¹C) (por ej., como un átomo de carbono de uno o más sustituyentes del grupo alquilo, por ejemplo, sustituyentes de grupos metilo) y detectando el compuesto usando tomografía de emisión de positrones (PET) como se conoce en la técnica.

55 Los métodos adecuados para la preparación de estos y similares diaminofenotiazinios marcados con ¹¹C se muestran, por ejemplo, en el documento WO 02/075318 (véanse las Figuras 11a, 11b, 12) y en el documento WO 2005/030676.

60 En la presente memoria se describe un método de marcaje de la proteína tau (o proteína tau agregada) que comprende la etapa de: poner en contacto la proteína tau (o proteína tau agregada) con un compuesto de diaminofenotiazinio que incorpora, está conjugado a, está quelado con o está asociado de otro modo con, uno o más (por ej., 1, 2, 3, 4, etc.) marcadores detectables.

65 En la presente memoria también se describe un método para detectar la proteína tau (o proteína tau agregada) que comprende las etapas de: poner en contacto la proteína tau (o proteína tau agregada) con un compuesto de diaminofenotiazinio que incorpora, está conjugado a, está quelado con, o está asociada de otro modo con, uno o

más (por ej., 1, 2, 3, 4, etc.) marcadores detectables y detectar la presencia y/o la cantidad de dicho compuesto unido a la proteína tau (o proteína tau agregada).

5 En la presente memoria también se describe un método de diagnóstico o pronóstico de una proteinopatía tau en un sujeto que se cree que padece la enfermedad, que comprende las etapas de:

- 10 (i) introducir en el sujeto un compuesto de diaminofenotiazinio capaz de marcar la proteína tau o la proteína tau agregada, particularmente la proteína tau (por ej., un compuesto de diaminofenotiazinio que incorpora, está conjugado a, está quelado con o está asociado de otro modo con, uno o más (por ej., 1, 2, 3, 4, etc.) marcadores detectables),
- (ii) determinar la presencia y/o cantidad de dicho compuesto unido a la proteína tau o la proteína tau agregada en el cerebro del sujeto,
- (iii) correlacionar el resultado de la determinación hecha en (ii) con el estado de enfermedad del sujeto.

15 También se describe en la presente memoria un compuesto de diaminofenotiazinio capaz de marcar la proteína tau o la proteína tau agregada (por ej., un compuesto de diaminofenotiazinio que incorpora, está conjugado a, está quelado con o está asociado de otro modo con, uno o más (por ej., 1, 2, 3, 4, etc.) marcadores detectables), para uso en un método de diagnóstico o pronóstico de una proteinopatía tau.

20 También se describe en la presente memoria un compuesto de diaminofenotiazinio capaz de marcar la proteína tau o la proteína tau agregada, particularmente la proteína tau (por ej., un compuesto de diaminofenotiazinio que incorpora, está conjugado a, está quelado con o está asociado de otro modo a uno o más (por ej., 1, 2, 3, 4, etc.) marcadores detectables), en un método de fabricación de un reactivo de diagnóstico o pronóstico para uso en el diagnóstico o pronóstico de una proteinopatía tau.

25 Los expertos en la materia apreciarán que en lugar de administrar directamente ligandos/marcadores de diaminofenotiazinio, podrían ser administrados en una forma precursora, para la conversión a la forma activa (por ej., forma ligando, forma de marcador) mediante un agente de activación presente en, o administrado al mismo sujeto.

30 Los ligandos divulgados en esta memoria pueden usarse como parte de un método de diagnóstico o pronóstico. Se pueden utilizar para seleccionar un paciente para tratamiento o para evaluar la eficacia de un tratamiento o un agente terapéutico (por ej., un inhibidor de la agregación de la proteína tau) administrado al sujeto.

35 *Métodos de síntesis*

Los métodos para la síntesis química de compuestos de la presente invención se describen en los Ejemplos de esta memoria. Estos y/u otros métodos bien conocidos pueden ser modificados y/o adaptados de maneras conocidas para facilitar la síntesis de otros compuestos de la presente invención.

40 En la presente memoria se describe un método para sintetizar un compuesto de la invención como se describe en la presente memoria, se describe, o sustancialmente como se describe, con referencia a cualquiera de los siguientes Ejemplos.

45 En la presente memoria también se describe un compuesto de diaminofenotiazinio de la invención que se *obtiene* o se *puede obtener mediante* un método como se describe en la presente memoria.

Algunos aspectos de la invención se explicarán ahora con más detalle

50 *Tratamiento*

El término "tratamiento", como se usa en la presente memoria en el contexto de tratar un trastorno, se refiere en general al tratamiento y terapia, ya sea de un humano o un animal (por ej., en aplicaciones veterinarias), en el que se logra algún efecto terapéutico deseado, por ejemplo, la inhibición del progreso del trastorno e incluye una reducción en la tasa de progreso, una detención en la tasa de progreso, regresión del trastorno, mejora del trastorno y cura del trastorno. El tratamiento como medida profiláctica (es decir, profilaxis, prevención) también se incluye.

60 El término "cantidad terapéuticamente eficaz", como se usa en la presente memoria, se refiere a aquella cantidad de un compuesto activo, o un material, composición o forma farmacéutica que comprende un compuesto activo, que es eficaz para producir algún efecto terapéutico deseado acorde con una relación beneficio/riesgo razonable, cuando se administra de acuerdo con un régimen de tratamiento deseado.

65 Del mismo modo, el término "cantidad profilácticamente eficaz", como se usa en la presente memoria, se refiere a aquella cantidad de un compuesto activo, o un material, composición o forma farmacéutica que comprende un compuesto activo, que es eficaz para producir algún efecto profiláctico deseado acorde con una relación beneficio/riesgo razonable, cuando se administra de acuerdo con un régimen de tratamiento deseado.

El término "tratamiento" incluye tratamientos y terapias de combinación, en los que se combinan dos o más tratamientos o terapias, por ejemplo, secuencialmente o simultáneamente. Ejemplos de tratamientos y terapias incluyen, pero no se limitan a, quimioterapia (la administración de agentes activos, incluyendo, por ejemplo, fármacos, anticuerpos (por ej., como en inmunoterapia), profármacos (por ej., como en terapia fotodinámica, GDEPT, ADEPT, etc.); cirugía; radioterapia y terapia génica

Vías de administración

El compuesto de diaminofenotiazinio, o una composición farmacéutica que lo comprende, se pueden administrar a un sujeto/paciente por cualquier vía de administración conveniente, ya sea sistémicamente/periféricamente o tópicamente (es decir, en el sitio de acción deseada).

Las vías de administración incluyen, pero no se limitan a, oral (por ej., por ingestión); bucal; sublingual; transdérmica (incluyendo, por ej., mediante un parche, apósito, etc.); transmucosal (incluyendo, por ej., mediante un parche, apósito, etc.); intranasal (por ej., mediante spray nasal); ocular (por ej., mediante gotas para los ojos); pulmonar (por ej., por terapia de inhalación o insuflación, por ej., por medio de un aerosol, por ej., a través de la boca o la nariz); rectal (por ej., mediante supositorio o enema); vaginal (por ej., mediante pesario); parenteral, por ej., mediante inyección, incluyendo subcutánea, intradérmica, intramuscular, intravenosa, intraarterial, intracardiaca, intratecal, intraespinal, intracapsular, subcapsular, intraorbital, intraperitoneal, intratraqueal, subcuticular, intraarticular, subaracnoidea e intraesternal (incluyendo, por ej., inyección intracatéter en el cerebro); por implante de un depósito o reservorio, por ej., por vía subcutánea o intramuscular

El sujeto/paciente

El sujeto/paciente puede ser un animal, mamífero, un mamífero placentario, un marsupial (por ej., canguro, wombat), un monotrema (por ej., ornitorrinco), un roedor (por ej., un conejillo de Indias, un hámster, una rata, un ratón), murino (por ej., un ratón), un lagomorfo (por ej., un conejo), aviar (por ej., un pájaro), canino (por ej., un perro), felino (por ej., un gato), equino (por ej., un caballo), porcino (por ej., un cerdo), ovino (por ej., una oveja), bovino (por ej., una vaca), un primate, simio (por ej., un mono o simio), un mono (por ej., tití, babuino), un mono (por ej., gorila, chimpancé, orangután, gibón) o un ser humano.

Además, el sujeto/paciente puede estar en cualquiera de sus formas de desarrollo, por ejemplo, un feto.

En una realización preferida, el sujeto/paciente es un ser humano.

Los sujetos adecuados para el método se pueden seleccionar sobre la base de factores convencionales. Así, la selección inicial de un paciente puede implicar uno cualquiera o más de: evaluación rigurosa por el médico experimentado; la exclusión del diagnóstico no EA en la medida de lo posible por el laboratorio complementario y otras investigaciones; evaluación objetiva del nivel de función cognitiva utilizando la batería neuropatológicamente validada.

En una realización, el sujeto/paciente no es un ser humano

Formulaciones

Si bien es posible usar (por ej., administrar) el compuesto de diaminofenotiazinio solo, a menudo es preferible presentarlo en forma de composición o formulación.

En una realización, la composición es una composición farmacéutica (por ej., formulación, preparación, medicamento) que comprende un compuesto de diaminofenotiazinio, como se describe en la presente memoria, y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

En una realización, la composición es una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de diaminofenotiazinio, como se describe en la presente memoria, junto con uno o más otros componentes farmacéuticamente aceptables bien conocidos por los expertos en la materia, incluyendo, pero sin limitarse a, vehículos farmacéuticamente aceptables, diluyentes, excipientes, adyuvantes, cargas, tampones, conservantes, antioxidantes, lubricantes, estabilizantes, solubilizantes, tensioactivos (por ej., agentes humectantes), agentes enmascarantes, agentes colorantes, agentes aromatizantes y agentes edulcorantes.

En una realización, la composición comprende además otros agentes activos, por ejemplo, otros agentes terapéuticos o profilácticos.

Los vehículos, diluyentes, excipientes, etc. adecuados pueden encontrarse en textos farmacéuticos estándar. Véase, por ejemplo, Handbook of Pharmaceutical Additives, segunda edición (eds. M. Ash e I. Ash), 2001 (Synapse Information Resources, Inc., Endicott, Nueva York, EE.UU.), Remington Pharmaceutical Sciences. 20ª edición, pub. Lippincott, Williams & Wilkins, 2000; y Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2ª edición, 1994.

En la presente memoria también se describen métodos de fabricación de una composición farmacéutica que comprende mezclar al menos un compuesto fenotiazina marcado radiactivamente con ¹¹C o un compuesto de tipo fenotiazina, tal como se define en la presente memoria, junto con uno o más otros componentes farmacéuticamente aceptables bien conocidos los expertos en la materia, por ejemplo, vehículo, diluyentes, excipientes, etc. Si se formula como unidades discretas (por ej., comprimidos, etc.), cada unidad contiene una cantidad predeterminada (dosis) del compuesto activo.

El término "farmacéuticamente aceptable", como se usa en la presente memoria, se refiere a compuestos, componentes, materiales, composiciones, formas farmacéuticas, etc., que son, dentro del alcance del juicio médico, adecuados para uso en contacto con los tejidos del sujeto en cuestión (por ej., ser humano) sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, acorde con una relación beneficio/riesgo razonable. Cada vehículo, diluyente, excipiente, etc. también debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros componentes de la formulación.

Las formulaciones se pueden preparar por cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de la farmacia. Tales métodos incluyen la etapa de poner en asociación el compuesto activo con un vehículo que constituye uno o más componentes accesorios. En general, las formulaciones se preparan asociando uniforme e íntimamente en el compuesto activo con vehículos (por ej., vehículos líquidos, vehículos sólidos finamente divididos, etc.), y luego dar forma al producto, si es necesario.

La formulación puede prepararse para proporcionar una liberación rápida o lenta; liberación inmediata, retrasada, cronometrada o sostenida; o una combinación de las mismas.

Las formulaciones adecuadas para la administración parenteral (por ej., por inyección), incluyen líquidos (por ej., soluciones, suspensiones) acuosos o no acuosos, isotónicos, libres de pirógenos, estériles, en los que se disuelve, suspende o se proporciona de otro modo el componente activo (por ej., en un liposoma u otro compuesto microparticulada). Tales líquidos pueden contener otros componentes adicionales farmacéuticamente aceptables, tales como antioxidantes, tampones, conservantes, estabilizantes, bacteriostáticos, agentes de suspensión, agentes espesantes y solutos que hacen la formulación isotónica con la sangre (u otro fluido corporal relevante) del receptor pretendido. Ejemplos de excipientes incluyen, por ejemplo, agua, alcoholes, polioles, glicerol, aceites vegetales, y similares. Los ejemplos de vehículos isotónicos adecuados para uso en tales formulaciones incluyen inyección de cloruro de sodio, solución de Ringer o inyección de lactato de Ringer. Generalmente, la concentración del componente activo en el líquido es de aproximadamente 1 ng/ml a aproximadamente 10 µg/ml, por ejemplo de aproximadamente 10 ng/ml a aproximadamente 1 µg/ml. Las formulaciones pueden presentarse en envases sellados de dosis unitarias o de dosis múltiples, por ejemplo, ampollas y viales, y pueden almacenarse en un estado secado por congelación (liofilizado) que requiere sólo la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo agua para inyecciones, inmediatamente antes de su uso. Soluciones y suspensiones inyectables extemporáneas se pueden preparar a partir de polvos, gránulos y comprimidos estériles.

Ejemplos de formulaciones

En la presente memoria también se describe una unidad de dosificación (por ej., un comprimido o cápsula farmacéutica) que comprende de 20 a 300 mg de un compuesto de diaminofenotiazinio como se describe en la presente memoria (por ej., obtenido o que se puede obtener mediante un método como se describe en esta memoria; que tiene una pureza como se describe en esta memoria; etc.), y un vehículo, diluyente, o excipiente farmacéuticamente aceptable.

En una realización, la unidad de dosificación es un comprimido.

En una realización, la unidad de dosificación es una cápsula.

En una realización, la cantidad es aproximadamente de 30 a 200 mg.

En una realización, la cantidad es aproximadamente 30 mg.

En una realización, la cantidad es aproximadamente 60 mg.

En una realización, la cantidad es aproximadamente 100 mg.

En una realización, la cantidad es aproximadamente 150 mg.

En una realización, la cantidad es aproximadamente 200 mg.

En una realización, el vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable es o comprende uno o ambos de un glicérido (por ej., Gelucire 44/14®; lauroil macrogol-32 glicéridos PhEur, USP) y dióxido de silicio coloidal (por ej., 2 % Aerosil 200®; Dióxido de silicio coloidal PhEur, USP).

Administración

Se apreciará por un experto en la materia que las dosificaciones apropiadas del compuesto de diaminofenotiazinio y las composiciones que comprenden el compuesto de diaminofenotiazinio, pueden variar de paciente a paciente. La determinación de la dosificación óptima implicará generalmente el equilibrio entre el nivel de beneficio terapéutico y

cualquier riesgo o efectos secundarios perjudiciales. El nivel de dosificación seleccionado dependerá de varios factores incluyendo, pero no limitado a, la actividad del compuesto particular, la vía de administración, el tiempo de administración, la velocidad de excreción del compuesto, la duración del tratamiento, otros fármacos, compuestos y/o materiales usados en combinación, la severidad del trastorno y la especie, sexo, edad, peso, trastorno, salud general y la historia médica previa del paciente. La cantidad de compuesto y la vía de administración será en última instancia a discreción del médico, veterinario, o clínico, aunque generalmente la dosis se seleccionará para conseguir concentraciones locales en el sitio de acción que alcanzan el efecto deseado sin causar efectos secundarios perjudiciales o deletéreos sustanciales.

La administración puede efectuarse en una dosis, continua o intermitentemente (por ej., en dosis divididas a intervalos apropiados) durante el curso del tratamiento. Los métodos para determinar los medios y dosis de administración más eficaces son bien conocidos por los expertos en la materia y variarán con la formulación utilizada para la terapia, el propósito de la terapia, la célula(s) diana que se está tratando y el sujeto que está siendo tratado. Las administraciones únicas o múltiples pueden llevarse a cabo con el nivel de dosis y patrón seleccionado por el médico, veterinario o clínico responsable del tratamiento.

En general, una dosis adecuada del compuesto activo está en el intervalo de aproximadamente 100 ng a aproximadamente 25 mg (más generalmente de aproximadamente 1 µg a aproximadamente 10 mg) por kilogramo de peso corporal del sujeto por día. Cuando el compuesto activo es una sal, un éster, una amida, un profármaco, o similar, la cantidad administrada se calcula sobre la base del compuesto original y así se incrementará proporcionalmente el peso real que debe utilizarse.

En una realización, el compuesto activo se administra a un paciente humano de acuerdo con el siguiente régimen de dosificación: aproximadamente 100 mg, 3 veces al día.

En una realización, el compuesto activo se administra a un paciente humano de acuerdo con el siguiente régimen de dosificación: aproximadamente 150 mg, 2 veces al día.

En una realización, el compuesto activo se administra a un paciente humano de acuerdo con el siguiente régimen de dosificación: aproximadamente 200 mg, 2 veces al día.

La invención se describirá ahora adicionalmente con referencia a los siguientes Ejemplos no limitantes. A la luz de estos, los expertos en la técnica considerarán otras realizaciones de la invención.

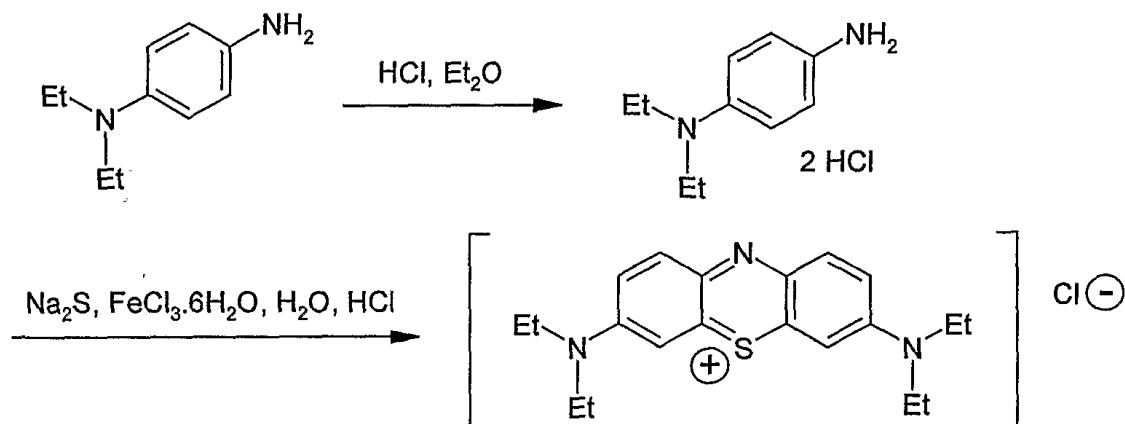
Ejemplos

Ejemplo 1 – Métodos de síntesis

Las siguientes síntesis se proporcionan exclusivamente para fines ilustrativos.

Síntesis 1

Cloruro de etil-tioninio (ETC)



Diclorhidrato de N,N-dietil-p-fenilendiamina

Se disolvió N,N-dietil-p-fenilendiamina (5 g, 30,4 mmol) en éter dietílico (25 cm³) y se añadió ácido clorhídrico (6 cm³, 10 M) y la mezcla se concentró dando el compuesto del título (7,22 g, 100 %) como un sólido rojo/marrón. δ_H (250 MHz; D₂O): 7,68 (4H, m, ArH), 3,69 (4H, c, 7,32, NCH₂), 1,11 (6H, t, 7,32, CH₃); δ_C (62,9 MHz; D₂O): 12,1 (CH₃),

56,4 (NCH₂), 126,8 (ArC), 127,6 (ArC), 135,5 (ArC), 139,1 (ArC).

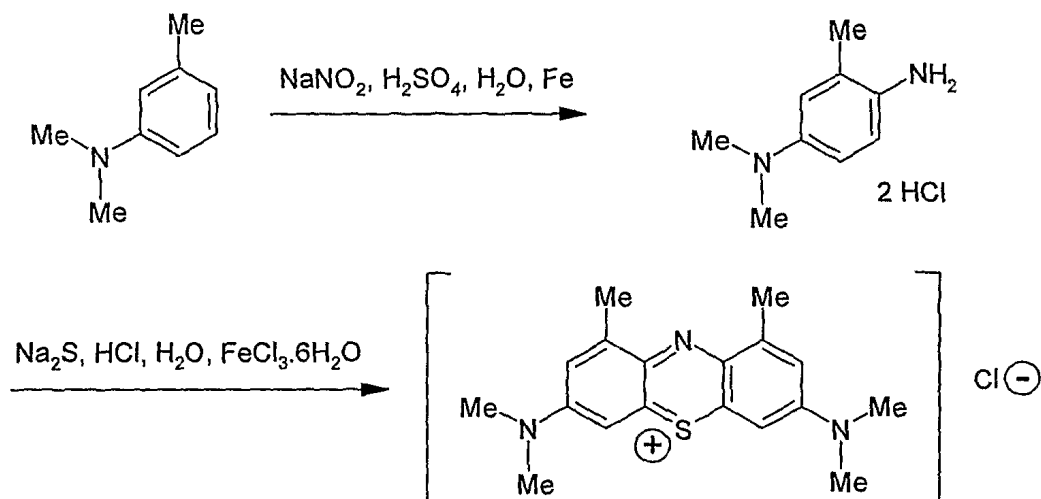
Cloruro de etil-tioninio

5 Se disolvió diclorhidrato de *N,N*-dietil-*p*-fenilendiamina (7,22 g, 30,4 mmol) en agua (250 cm³) y el pH se ajustó a 1,6 con HCl, al cual se añadió por partes sulfuro sódico (>60 %) (3,95 g, 30,4 mmol). La suspensión se agitó hasta que todo el sulfuro sódico se disolvió. Se preparó una solución de cloruro de hierro (III) (27,15 g, 100 mmol) en agua (200 cm³) y la mitad de la solución se añadió a la mezcla. Se produjo un cambio de color inmediato de amarillo claro a azul. La solución se aireó a continuación durante 1 hora antes de añadir la solución de cloruro de hierro (III) restante.
10 La mezcla se enfrió hasta 5 °C y se filtró para eliminar el lodo de color verde claro. Se añadió HCl acuoso (15 cm³, 6 M) al filtrado, seguido de cloruro sódico (60 g) y la suspensión se agitó durante 5 minutos antes de filtrar para dar un producto sólido, el cual se disolvió en DCN, se secó sobre sulfato magnésico, se filtró y se concentró para dar un sólido púrpura/verde (1,28 g, 22 %). Este sólido púrpura/verde se cargó en una columna en fase inversa C18 preparada y se lavó con agua (1 l) o hasta que desapareció el color amarillo.

15 El producto se lavó de la columna con MeOH/HCl (pH 2) y se concentró para dar el compuesto del título (0,64 g, 11 %) como un sólido púrpura pegajoso. δ_{H} (250 MHz; D₂O): 1,26 (12H, t, 6,5, CH₃), 3,56 (8H, c, 6,5, NCH₂), 7,01 (2H, s, ArH), 7,20 (2H, d, 9,25, ArH), 7,54 (2H, d, 9,25, ArH); m/z (ESI) 340,2 (100 %, [M-Cl]⁺).

20 Síntesis 2 (referencia)

Cloruro de 1,9-dimetil-metil-tioninio (DMMTC)



25 Diclorhidrato de 3-metil-*N,N*-dimetilfenilendiamina

A un matraz de fondo redondo de 250 cm³ se añadió agua (100 cm³) y la temperatura se redujo hasta 5 °C con un baño de hielo. A esta solución enfriada se añadió cuidadosamente ácido sulfúrico (98 %, 22,5 g). A esta solución se
30 añadió 3-metil-*N,N*-dimetilaniлина (10 g, 74 mmol) y a continuación nitrito sódico (5,6 g, 81,4 mmol) y la solución se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Se añadieron virutas de hierro (Fe) (12,8 g, 229 mmol) y la mezcla se agitó durante 2 horas más. La solución se filtró y a continuación neutralizó con una solución de hidrógeno carbonato sódico saturado y las fases orgánicas se extrajeron en acetato de etilo (3 x 100 cm³). Los extractos se secaron sobre sulfato magnésico, se filtraron y se concentraron para dar un aceite marrón. El aceite se disolvió en éter dietílico (100 cm³) y se añadió ácido clorhídrico concentrado (50 cm³). La solución se evaporó hasta sequedad para dar el
35 compuesto del título (10 g, 60 %) como un sólido tostado claro. V_{max} (KBr)/cm⁻¹: 2849 (CH), 2821 (CH), 2543 (CH), 2444 (CH), 1586 (C=N), 1487 (CH), 1445 (CH), 1415 (CH), 1138 (CH); δ_{H} (250 MHz; D₂O): 7,59 (1H, s, ArH), 7,50 (2H, s, ArH), 3,24 (6H, s, CH₃), 2,39 (3H, s, CH₃); δ_{C} (62,9 MHz; D₂O) 18,9 (CH₃), 48,8 (CH₃), 122,1 (ArC), 126,2 (ArC), 127,6 (ArC), 133,7 (ArC), 137,4 (ArC), 144,4 (ArC).

40 Cloruro de dimetilmetiltioninio

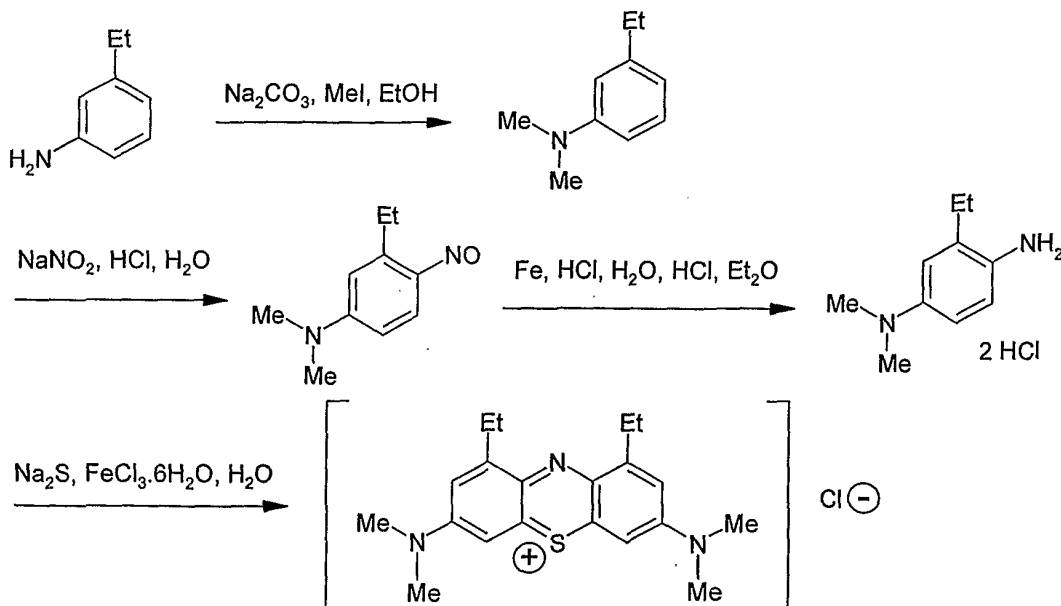
A un matraz de fondo redondo de 500 cm³ se añadió diclorhidrato de 3-metil-*N,N*-dimetilfenilendiamina (0,9 g, 4,03 mmol), la cual se disolvió en ácido clorhídrico acuoso (50 cm³, 3 M) antes de añadir sulfuro sódico (>60 %) (0,52 g, 4,03 mmol). Se disolvió cloruro de hierro (III) hexahidrato (7,26 g, 27 mmol) en agua (50 cm³) y la mitad de esta
45 solución se vertió en la mezcla de reacción, dando un color azul inmediato. La solución se aireó a continuación durante 2 horas antes de añadir la solución acuosa de cloruro de hierro (III). La mezcla se enfrió hasta 5 °C y se filtró; el precipitado se disolvió en agua hirviendo (60 cm³), se filtró y se enfrió. Se añadió ácido clorhídrico (10 cm³, 6 M) a la solución enfriada, la cual se filtró para dar el compuesto del título (0,22 g, 16 %) como un sólido púrpura/azul.

V_{\max} (KBr)/ cm^{-1} : 2926 (CH), 1604 (C=N), 1535, 1496, 1444 (CH), 1404 (CH), 1315 (CH), 1185 (CH); δ_{H} (250 MHz; DMSO): 7,29 (2H, s, ArH), 7,23 (2H, s, ArH), 3,29 (12H, s, CH₃), 2,55 (6H, s, CH₃); δ_{C} (62,9 MHz; DMSO): 18,9 (CH₃), 41,5 (CH₃), 105,7 (ArC), 118,7 (ArC), 133,6 (ArC), 134,5 (ArC), 147,2 (ArC), 154,2 (ArC); Anal. Calc. para C₁₈H₂₂N₃S₃H₂O: C, 51,98; H, 6,74; N, 10,11; S, 7,70. Hallado: C, 52,03; H, 6,59; N, 10,05; S, 7,66.

5

Síntesis 3

Cloruro de 1,9-dietil-metil-tioninio (DEMTC)



10

N,N-Dimetil-*m*-etilanilina

A un matraz de fondo redondo de 100 cm³ se añadió 3-etilanilina (10 g, 82,5 mmol), etanol (15 cm³), carbonato sódico (11,81 g, 111,4 mmol). Se añadió gota a gota yoduro de metilo (31,63 g, 222 mmol). La mezcla se calentó a continuación a 45 °C durante 10 horas antes de enfriar hasta temperatura ambiente y añadiendo agua (100 cm³). La mezcla se extrajo en éter dietílico (3 x 100 cm³) y los extractos se secaron sobre sulfato magnésico, se filtraron y se concentraron dando el compuesto del título (4,68 g, 38 %) como un aceite amarillo claro. V_{\max} (puro)/ cm^{-1} : 3045 (CH), 2960 (CH), 2920 (CH), 2891 (CH), 2797 (CH), 1597 (C=N), 1494 (CH), 1438 (CH), 1352 (CH), 1225 (CH); δ_{H} (250 MHz; CDCl₃): 7,22 (1H, t, 7,75, ArH), 6,63 (3H, m, ArH), 2,97 (6H, s, NCH₃), 2,63 (2H, c, 7,5, CH₂), 1,27 (3H, t, 7,5, CH₃); δ_{C} (62,9 MHz; CDCl₃): 15,8 (CH₃), 29,5 (NCH₂), 40,8 (NCH₃), 110,3 (ArC), 112,4 (ArC), 116,5 (ArC), 129,1 (ArC), 145,3 (ArC), 150,9 (ArC).

15

20

Diclorhidrato de *N,N*-dimetil-*m*-etil-*p*-fenilendiamina

A un matraz de fondo redondo de 250 cm³ se añadió *N,N*-dimetil-*m*-etilanilina (4,68 g, 31,3 mmol), agua (100 cm³) y ácido clorhídrico (8,5 cm³, 37 %) y la solución se enfrió hasta 5 °C. A continuación se añadió gota a gota una solución acuosa (80 cm³) de nitrito sódico (2,46 g, 3,57 mmol) a la mezcla de anilina y se agitó durante 3 horas a temperatura ambiente. Se añadieron virutas de (Fe) (5,24 g, 94 mmol) y ácido clorhídrico (8,5 cm³, 37 %) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. La suspensión se filtró y el filtrado se ajustó hasta pH 7 con una solución de bicarbonato sódico antes de la extracción en acetato de etilo (3 x 50 cm³). Los extractos combinados se secaron sobre sulfato magnésico, se filtraron y se concentraron para dar un aceite marrón. El aceite se disolvió en etanol (100 cm³) y éter dietílico (80 cm³) y se añadió cuidadosamente ácido clorhídrico (7 cm³, 37 %) dando el compuesto del título (7,42 g, 72 %) como un sólido tostado claro. V_{\max} (KBr)/ cm^{-1} : 2976 (CH), 2894 (CH), 2859 (CH), 2753 (CH), 1583 (C=N), 1508 (CH), 1486 (CH), 1459 (CH), 1183 (CH); δ_{H} (250 MHz; D₂O): 7,66 (1H, s, ArH), 7,56 (2H, s, ArH), 3,29 (6H, s, NCH₃), 2,74 (2H, c, 7,5, CH₂), 1,25 (3H, t, 7,5, CH₃); δ_{C} (62,9 MHz; CDCl₃): 15,5 (CH₃), 25,6 (NCH₂), 48,9 (NCH₃), 122,1 (ArC), 124,6 (ArC), 128,1 (ArC), 132,6 (ArC), 143,3 (ArC), 144,9 (ArC).

25

30

Cloruro de 1,9-dietil metiltioninio

Se disolvió diclorhidrato de *N,N*-Dimetil-metil-*p*-fenilendiamina (1,3 g, 5,5 mmol) en agua (50 cm³) y la solución se ajustó hasta pH 1,6. A continuación se añadió por partes sulfuro sódico >60 % (0,71g, 5,5 mmol) a la solución rosa. A la suspensión se añadió una solución acuosa de cloruro de hierro (III) (2,23 g, 8,2 mmol en 50 cm³ de agua) y se produjo un cambio de color inmediato a púrpura. La solución se aireó a continuación durante 1 hora antes de añadir una segunda porción de una solución de cloruro de hierro (II) (2,23 g, 8,2 mmol en 50 cm³ de agua). La solución se

35

40

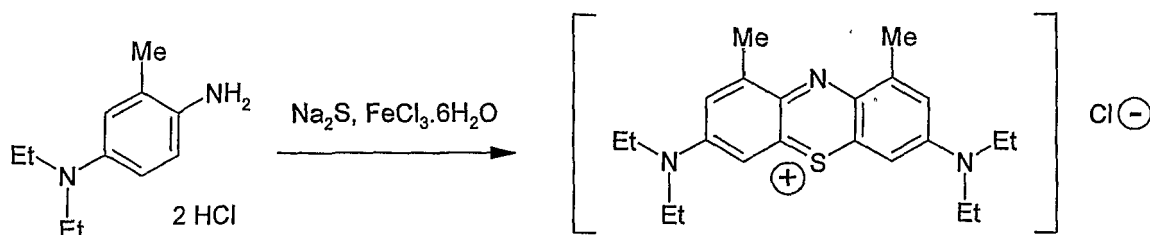
45

enfrió hasta 5 °C antes de filtrar y lavar el precipitado con agua. Al filtrado se añadió cloruro sódico (50 g) y la solución se agitó durante 10 minutos y el color cambió a rojo/púrpura ya que el producto cristalizó por precipitación. La suspensión se filtró y el sólido se disolvió en diclorometano (100 cm³) y metanol (10 cm³) antes de secar sobre sulfato magnésico. La filtración y la concentración dio el compuesto del título (0,15 g, 15 %) como un sólido verde.

5 V_{\max} (KBr)/cm⁻¹: 3408 (CH), 2613 (CH), 1606 (C=N), 1399 (CH), 1316 (CH); δ_{H} (250 MHz; D₂O): 6,55 (2H, s, ArH), 6,23 (2H, s, ArH), 2,92 (12H, s, NCH₃), 2,56 (4H, c, 7,5, CH₂), 0,99 (6H, t, 7,5, CH₃); (ESI), 340,4 (100 %, [M - Cl]⁺). Opcionalmente, se realizó una cromatografía en columna ultrarrápida para eliminar residuos de cloruro de hierro, con metanol 10 %:diclorometano 90 % como eluyente y usando sílice 40-63 μ 60Å.

10 Síntesis 4

Cloruro de 1,9-dimetil-etil-tioninio (DMETC)

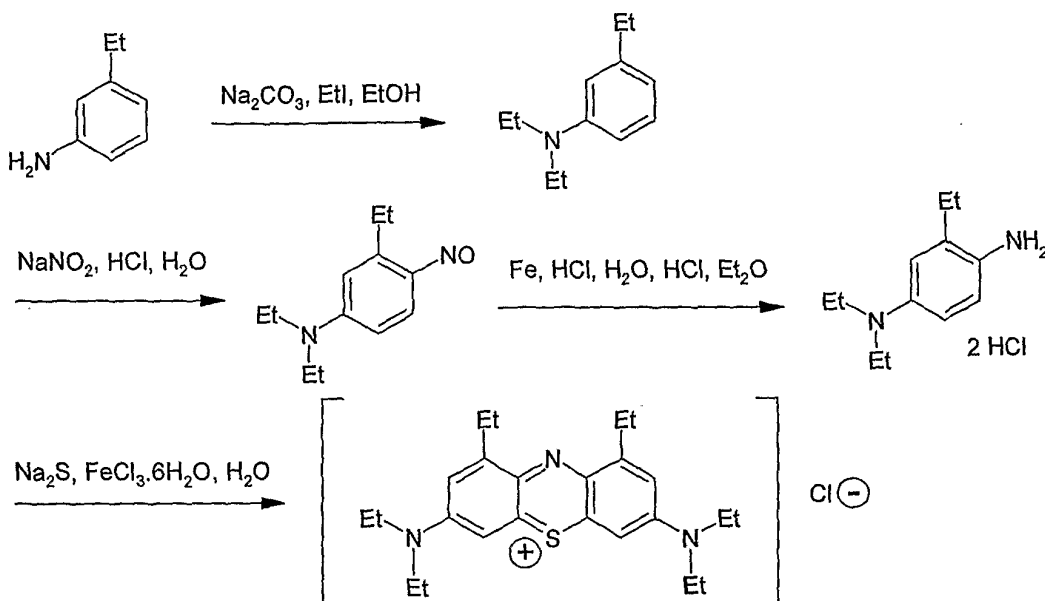


15 Se disolvió diclorhidrato de *N,N*-Dietil-3-metil-4-fenilendiamina (10,74 g, 50 mmol) en agua (400 cm³) y el pH se ajustó a 1,6, al cual se añadió a continuación sulfuro sódico (>60 %) (3,90 g, 50 mmol). Se añadió cloruro de hierro (III) (20,28 g, 75 mmol) como una solución acuosa (175 cm³) produciéndose un cambio inmediato de color de amarillo a azul oscuro. La mezcla se aireó durante 1 hora antes de añadir una segunda alícuota de cloruro de hierro (III) acuoso (20,28 g, 75 mmol en 175 cm³). La solución se filtró hasta 5 °C y se mantuvo a esa temperatura durante

20 1 hora antes de filtrar. Al filtrado se añadió cloruro sódico (200 g) y se filtró para dar el producto bruto como un sólido azul/púrpura. El sólido bruto se purificó mediante cromatografía en columna (siendo el eluyente MeOH 10 %, DCM 90 % usando sílice 40-63 μ 60Å) dando el compuesto del título (0,80 g, 4 %) como un sólido verde/púrpura. V_{\max} (KBr)/cm⁻¹: 2971 (CH), 2921 (CH), 2865 (CH), 1600 (C=N), 1412 (CH), 1326 (CH); δ_{H} (250 MHz; D₂O): 6,62 (2H, s, ArH), 6,39 (2H, s, ArH), 3,30 (8H, c, NCH₂), 1,89 (6H, s, ArCH₃), 1,09 (12H, t, CH₃); δ_{C} (62,9 MHz; D₂O) 12,6 (CH₃), 18,0 (CH₃), 46,2 (NCH₂), 103,6 (ArC), 117,1 (ArC), 132,3 (ArC), 133,9 (ArC), 147,3 (ArC), 151,9 (ArC); *m/z* (ESI) 368,1 (100 %, [M-Cl]⁺).

30 Síntesis 5

Cloruro de 1,9-dietil-etil-tioninio (DEETC)

35 *N,N*-dietil-*m*-etilaniлина

A un matraz de fondo redondo de 100 cm³ se añadió 3-etilanilina (5,0 g, 41,3 mmol), etanol (7,5 cm³), carbonato sódico (5,9 g, 55,7 mmol). Se añadió gota a gota yoduro de etilo (17,38 g, 111,4 mmol). La mezcla se calentó a

continuación a 45 °C durante 12 horas antes de enfriarse a temperatura ambiente y se añadió agua (50 cm³). La mezcla se extrajo en éter dietílico (3 x 50 cm³). Los extractos se secaron sobre sulfato magnésico, se filtraron y se concentraron para dar el compuesto del título (7,03 g, 96 %) como un aceite amarillo claro. δ_{H} (250 MHz; CDCl₃): 7,20 (1H, dd, 9, 7,25, ArH), 6,60 (3H, m, ArH), 3,43 (4H, c, 7, NCH₂), 2,69 (2H, c, 7,25, CH₂), 1,32 (3H, t, 7,5, CH₃), 1,23 (6H, t, 7, CH₃); δ_{C} (62,9 MHz; CDCl₃): 12,7 (CH₃), 15,8 (CH₃), 29,5 (CH₂), 44,4 (NCH₃), 109,4 (ArC), 111,4 (ArC), 115,1 (ArC), 129,2 (ArC), 145,4 (ArC), 147,9 (ArC).

Diclorhidrato de *N,N*-dietil-*m*-etil-*p*-fenilendiamina

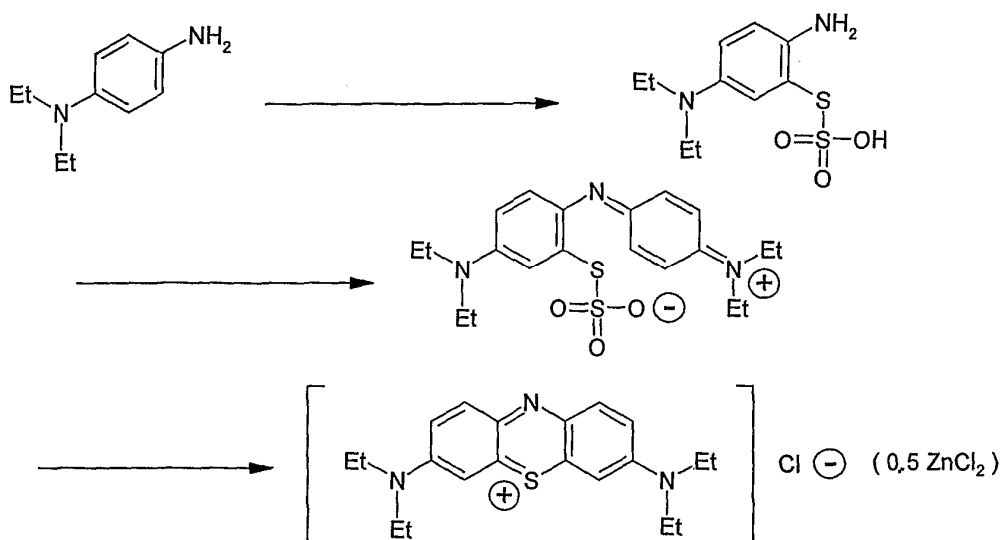
A un matraz de fondo redondo de 250 cm³ se añadió *N,N*-dietil-*m*-etil-anilina (5 g, 28,2 mmol), agua (50 cm³) y ácido clorhídrico (9 cm³, 37 %) y la solución se enfrió hasta 5 °C. A continuación se añadió gota a gota una solución acuosa (20 cm³) de nitrito sódico (2,14 g, 31,0 mmol) a la mezcla de anilina y se agitó durante 1 hora a temperatura baja. Se añadieron virutas de hierro (Fe) (4,72 g, 84,6 mmol) y ácido clorhídrico (9 cm³, 37 %) y la mezcla se agitó por debajo de 30 °C durante 2 horas. La suspensión se filtró y el filtrado se ajustó hasta pH 7 con una solución de bicarbonato sódico antes de la extracción en acetato de etilo (3 x 50 cm³). Los extractos combinados se secaron sobre sulfato magnésico, se filtraron y se concentraron para dar un aceite marrón. El aceite bruto se purificó por cromatografía en columna (siendo el eluyente acetato de etilo utilizando sílice 40-63 μ 60Å) dando la fenilendiamina como un aceite marrón (2,2 g, 41 %). El aceite se disolvió en éter dietílico (50 cm³) y se añadió ácido clorhídrico (2,5 cm³, 37 %) y la solución se concentró para dar el compuesto del título (2,76 g, 41 %) como un sólido marrón claro. δ_{H} (250 MHz; D₂O): 7,50 (3H, m, ArH), 3,59 (4H, c, 7,25, NCH₂), 2,69 (2H, c, 7,5, CH₂), 1,20 (3H, t, 7,5, CH₃), 1,03 (6H, t, 7,25, CH₃); δ_{C} (62,9 MHz; D₂O): 12,1 (CH₃), 15,5 (CH₃), 25,5 (CH₂), 56,3 (NCH₂), 123,9 (ArC), 126,0 (ArC), 127,9 (ArC), 133,1 (ArC), 139,4 (ArC), 143,3 (ArC).

Cloruro de 1,9-dietil etil-tioninio

Se disolvió diclorhidrato de *N,N*-dietil-*m*-etil-*p*-fenilendiamina (2 g, 7,5 mmol) en agua (75 cm³) y la solución se ajustó hasta pH 1,6. A la solución rosa se añadió a continuación por partes sulfuro sódico (>60 %) (1,35 g, 10,4 mmol). A la suspensión se añadió una solución acuosa de cloruro de hierro (III) (4,22 g, 15,6 mmol en 35 cm³ de agua) donde se produjo un cambio inmediato de color a púrpura. La solución se aireó durante 1 hora antes de añadir una segunda porción de cloruro de hierro (III) (4,22 g, 15,6 mmol en 35 cm³ de agua). La solución se enfrió hasta 5 °C antes de filtrar y lavar el precipitado con agua. El precipitado también se lavó con etanol y etanol concentrado dando un sólido púrpura pegajoso. Al filtrado acuoso se añadió cloruro sódico (50 g) y la solución se agitó durante 10 minutos, cambiando el color rojo/púrpura a medida que el producto cristalizaba por precipitación. La suspensión se filtró y el sólido se disolvió en diclorometano (100 cm³) y metanol (10 cm³) antes de secarse sobre sulfato magnésico. El filtrado y la concentración con el producto soluble en etanol dio el compuesto del título (0,06 g, 3 %) como un sólido púrpura. δ_{H} (250 MHz; D₂O): 6,73 (2H, s, ArH), 6,48 (2H, s, ArH), 3,45 (8H, dca, NCH₂), 2,46 (4H, c, 7,5, CH₂), 1,17 (12H, dta, CH₃), 0,93 (6H, t, 7,5, CH₃); *m/z* (ESI) 396,2 (100 %, [M-Cl]⁺). Opcionalmente, se llevó a cabo una cromatografía en columna para eliminar los residuos de cloruro de hierro, con 10 % de metanol:90 % de diclorometano y usando sílice 40-63 μ 60Å.

Síntesis 6

Cloruro de etil-tioninio, cloruro de zinc, doble sal (ETZ)

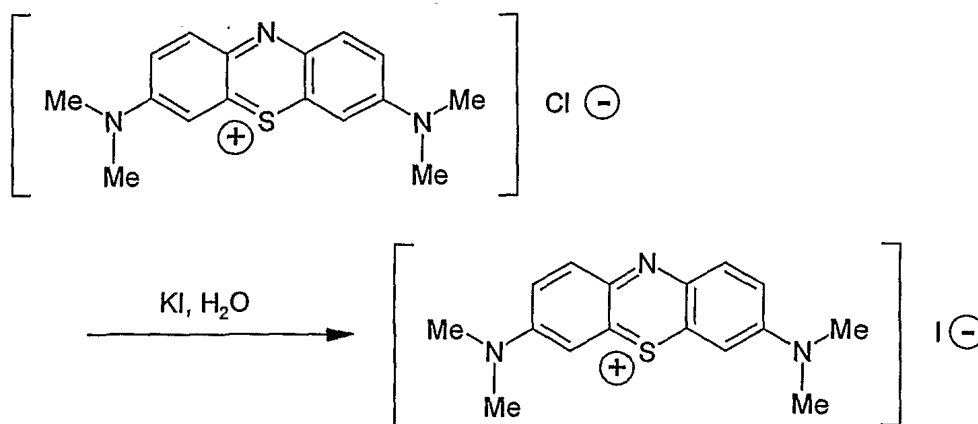


45

Una mezcla agitada de *N,N*-dietil-*p*-fenilendiamina (5,0 g, 30,4 mmol) en H₂O (100 cm³) y H₂SO₄ (conc., '98 %', 1 cm³) se trató con una solución de ZnCl₂ no reductora (ZnCl₂, 7,60 g, 55 mmol en 15 cm³ de H₂O con Na₂Cr₂O₇·2H₂O, 100 mg) para producir una mezcla de reacción rojiza. Las adiciones de Al₂(SO₄)₃, una solución de 16H₂O (5,80 g, 9,2 mmol en 10 cm³ de H₂O), solución de Na₂S₂O₃·5H₂O (8,0 g, 32,2 mmol en 10 cm³ de H₂O) y un tercio de una solución de Na₂Cr₂O₇·2H₂O (8,7 g, 29,2 mmol en 15 cm³ de H₂O) fueron seguidas de un rápido aumento de la temperatura hasta 40 °C. Se añadió una solución de *N,N*-dietilanilina (3,0 g, 20,1 mmol in HCl conc. 4 cm³) y seguido de la adición de la solución Na₂Cr₂O₇·2H₂O restante. Se observó un precipitado verde oscuro. La temperatura aumentó rápidamente hasta 75 °C, después de lo cual se añadió una suspensión de MnO₂ activado (3,80 g, 44,7 mmol en 5 cm³ de H₂O). La temperatura aumentó hasta 85 °C y se dejó agitar a esta temperatura durante 30 minutos. Se observó una solución de color azul con precipitado. La mezcla de reacción se enfrió hasta 50 °C y se añadió lentamente H₂SO₄ (conc., 11 cm³). La reacción se enfrió además hasta 20 °C y se filtró en vacío para recuperar el precipitado, el cual se lavó a continuación con salmuera (agua salada saturada). Este sólido negro se redisolvió en H₂O (250 cm³) a 100 °C y se enfrió, seguido de filtración en vacío para eliminar las sustancias insolubles. El filtrado se trató con ZnCl₂ (4 g) y NaCl (23 g) y se dejó en el refrigerador durante 16 horas, después de lo cual el precipitado resultante se recuperó por filtración en vacío, se lavó con salmuera (30 cm³) y se secó en un horno de vacío durante 3 horas, para dar el compuesto del título (5,7 g, 71 %) como un polvo rojo oxidado. δ_H (250 MHz, D₂O): 1,20 (12H, t a, CH₃), 3,50 (8H, c a, CH₂), 6,80 (2H, s, ArH), 7,05 (2H, d a, ArH) y 7,30 (2H, d a, ArH). Véase, por ejemplo, Fierz-David y Blangley, 1949, "F. Oxazine and Thiazine Dyes" en: Fundamental Processes of Dye Chemistry, publicado por Interscience (Londres, RU), págs. 308-314.

Síntesis 7 (Referencia)

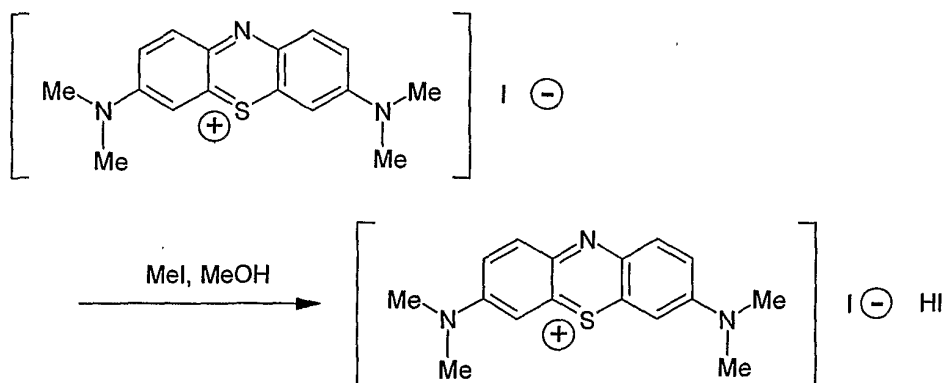
Yoduro de metil-tioninio (MTI)



Se disolvió cloruro de metil-tioninio (2,00 g, 6,25 mmol) en agua (50 cm³) y se añadió yoduro potásico (1,56 g, 9,4 mmol) con agitación. Se formó un precipitado, el cual se filtró y el sólido recristalizó en agua hirviendo (50 cm³) dando el compuesto del título (1,98 g, 77 %) como agujas verdes finas. δ_H (250 MHz; DMSO): 7,88 (2H, d a, ArH), 7,49 (4H, s a, ArH), 3,37 (12H, s, CH₃). El análisis para C₁₆H₁₈N₃SI: C, 46,72; H, 4,41; N, 10,22; S, 7,80; I, 30,85; Hallado: C, 46,30; H, 4,21; N, 10,14; S, 7,86; I, 29,34.

Síntesis 8 (Referencia)

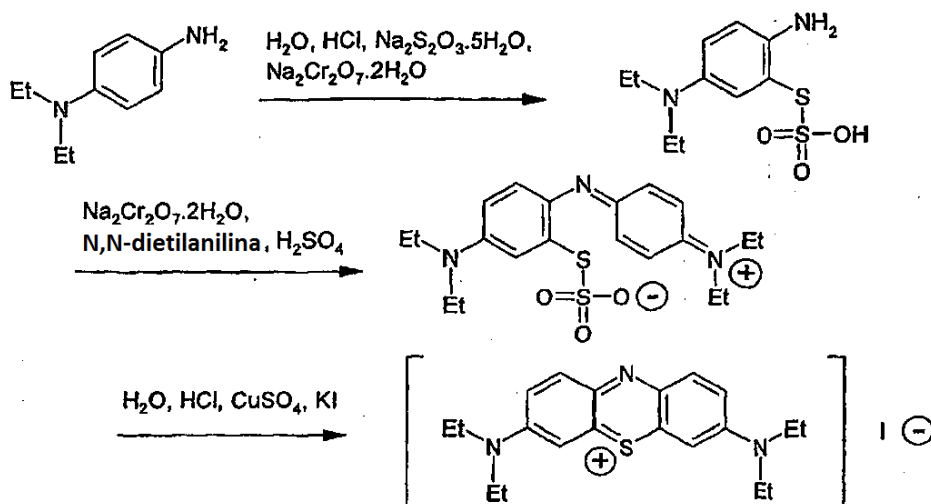
Yoduro de metil-tioninio, yoduro de hidrógeno, sal mixta (MTI.HI)



Se disolvió yoduro de metil-tioninio (0,50 g, 1,22 mmol) en metanol (20 cm³) y se añadió yoduro de metilo (1,90 g, 13,37 mmol) agitando. La mezcla se calentó a reflujo durante 18 horas antes de añadir yoduro de metilo (0,42 g, 6,69 mmol) y la mezcla se calentó de nuevo una vez hasta reflujo y se agitó durante 8 horas. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente, dando un sólido que se filtró y se lavó con metanol dando el compuesto del título (0,30 g, 46 %) como un sólido verde de color bronce. δ_H (250 MHz; DMSO): 7,82 (2H, d, $J = 8,5$, ArH), 7,42 (4H, s, ArH), 3,34 (12H, s, CH₃). δ_C (62,9 MHz; DMSO): 153,8 (ArC), 137,9 (ArC), 134,9 (ArC), 133,5 (ArC), 119,1 (ArC), 118,8 (ArC), 106,9 (ArC), 106,6 (ArC), 41,1 (NCH₃).

Síntesis 9

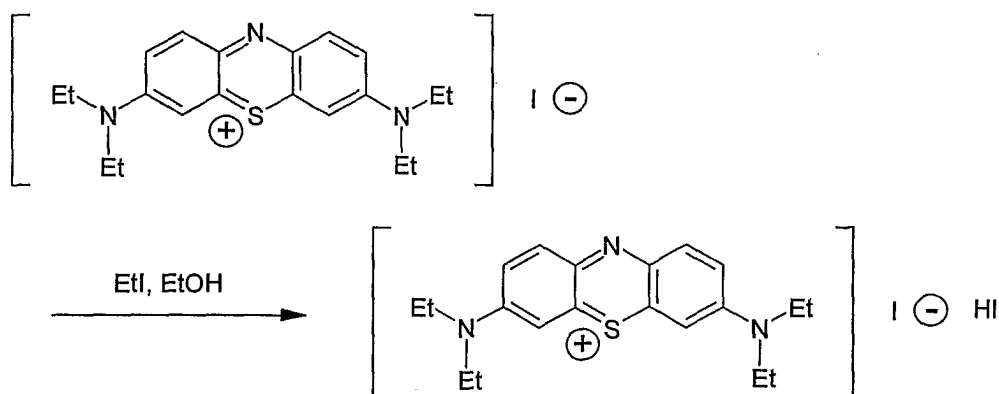
Yoduro de etil-tioninio (ETI)



Una mezcla ajustada de *N,N*-diethyl-*p*-fenilendiamina (10,0 g, 61 mmol) en ácido clorhídrico acuoso (0,5 M, 200 cm³) se ajustó hasta pH 2 con hidróxido sódico acuoso (10 %). La solución de diamina se enfrió hasta 5 °C antes de la adición de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ acuoso (16,65 g, 67 mmol en 20 cm³ de H₂O). Se añadió gota a gota una solución acuosa de $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (7,27 g, 24 mmol en 35 cm³ de H₂O) a la mezcla durante un período de 15 minutos dando una suspensión negra. La suspensión se agitó a 5 °C durante 1 hora (pH = 8,07, T = 3,7 °C). Una solución de *N,N*-diethylanilina (8,25 g, 61 mmol), H_2SO_4 (6 g) y agua (10 cm³) se enfrió hasta 5 °C antes de la adición a la suspensión. A continuación se añadió gota a gota una solución acuosa de $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (19,09 g, 64 mmol en 50 cm³ de H₂O) a la mezcla durante un período de 20 minutos dando una suspensión de color verde oscura. La mezcla se agitó a 5 °C durante 2 horas (pH = 6,75, T = 6 °C) antes de filtrar. El sólido púrpura verde obtenido se lavó con agua (2 x 50 cm³). El sólido se suspendió en ácido clorhídrico acuoso (300 cm³, pH 2) dando una suspensión con un pH = 6,37 a 22 °C. A la suspensión se añadió CuSO_4 (1,52 g, 6,1 mmol) y la mezcla se calentó hasta 90 °C formándose una solución de color azul oscuro. Después de agitar a esta temperatura durante 1 hora, la mezcla se enfrió hasta 25 °C y se filtró. El sólido se lavó con agua (2 x 50 cm³), el filtrado se ajustó desde pH 6,33 hasta pH 2,00, T = 25 °C con ácido clorhídrico (5 M). La solución de color azul oscuro se calentó hasta 80 °C y se añadió yoduro potásico (14 g) y se depositó un precipitado de color púrpura anaranjado. La filtración dio un polvo púrpura (8,8 g, 31 %), el cual se recrystalizó en etanol caliente (400 cm³) dando el compuesto del título en forma de agujas finas de color púrpura. Pf 211 °C; ν_{max} (KBr)/cm⁻¹: 3574 (CH), 3484 (CH), 3028 (CH), 2965 (CH), 1662 (C=C), 1539 (CH), 1474 (CH), 1346 (CH); δ_C (62,9 MHz, CDCl₃): 1,33 (12H, t, 7, CH₃), 3,72 (8H, c, 7, NCH₂), 7,23 (2H, d, 9,75, ArH), 7,41 (2H, s, ArH), 7,83 (2H, d, 9,75, ArH); δ_H (62,9 MHz, CDCl₃): 152,4, 138,8, 135,7, 135,2, 118,3, 106,4, 46,8, 13,2.

Síntesis 10

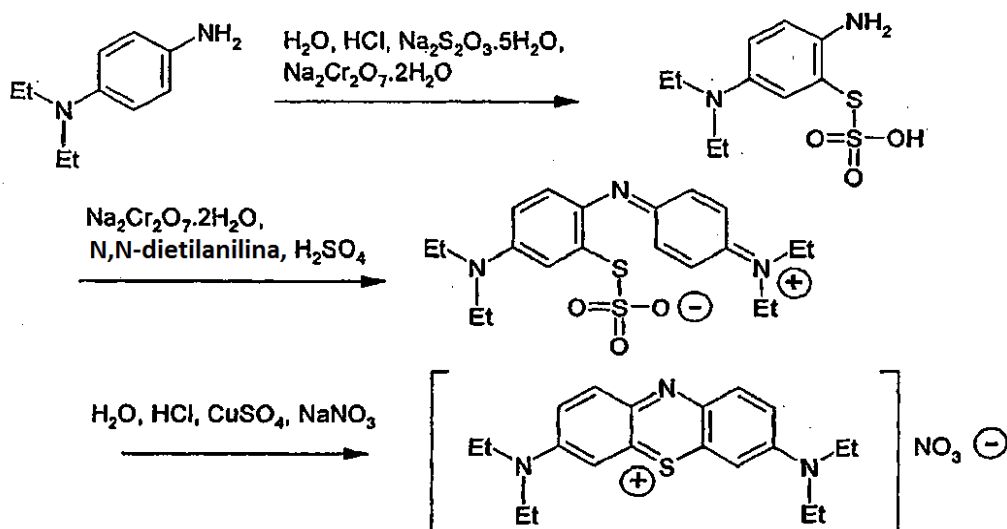
Yoduro de etil-tioninio, yoduro de hidrógeno, sal mixta (ETI.HI)



Se disolvió yoduro de etil-tioninio (2,00 g, 4,28 mmol) en etanol (100 cm³) y se añadió yoduro de etilo (27,35 g, 175 mmol) agitando. La mezcla se calentó a reflujo durante 18 horas y a continuación se calentó hasta temperatura ambiente, dando un precipitado que se filtró y se lavó con etanol dando el compuesto del título (1,02 g, 40 %) como un sólido de color bronce. δ_H (250 MHz; D₂O): 7,90 (2H, d a, ArH), 7,42 (4H, s, ArH), 2,45 (8H, c a, NCH₂), 1,23 (12H, t a, CH₃).

Síntesis 11

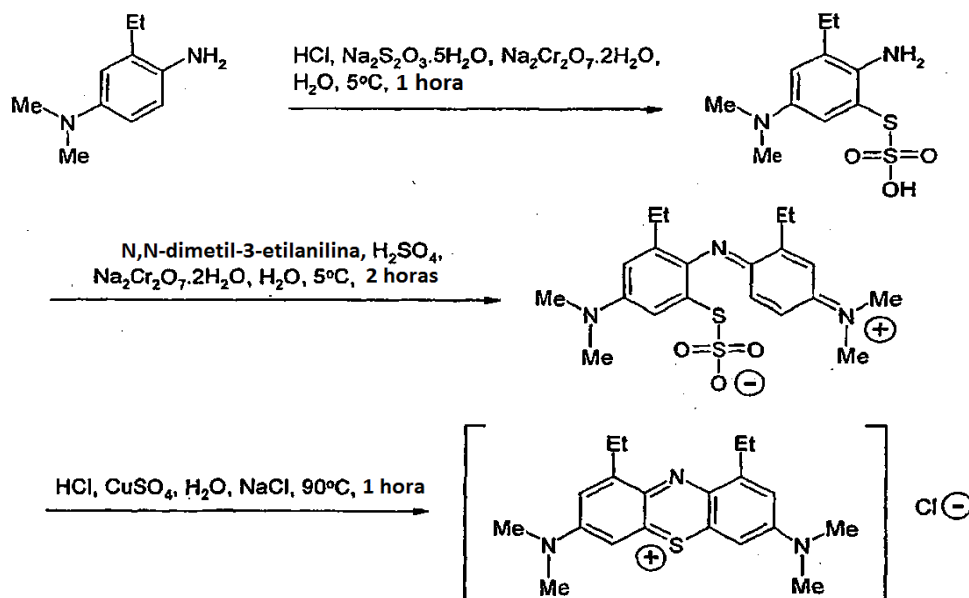
Nitrato de etil-tioninio (ETN)



Una mezcla agitada de *N,N*-dietil-*p*-fenilendiamina (10,0 g, 61 mmol) en ácido clorhídrico acuoso (0,5 M, 200 cm³) se ajustó hasta pH 2 con hidróxido sódico acuoso (10 %). La solución de diamina se enfrió hasta 5 °C antes de la adición de Na₂S₂O₃·5H₂O acuoso (16,65 g, 67 mmol en 20 cm³ de H₂O). Se añadió gota a gota una solución acuosa de Na₂Cr₂O₇·2H₂O (7,27 g, 24 mmol en 35 cm³ de H₂O) a la mezcla durante un período de 15 minutos dando una suspensión de color negro. La suspensión se agitó a 5 °C durante 1 hora (pH = 8,07, T = 3,7 °C). Una solución de *N,N*-dietilanilina (8,25 g, 61 mmol), H₂SO₄ (6 g) y agua (10 cm³) se enfrió hasta 5 °C antes de la adición a la suspensión. A continuación se añadió gota a gota una solución acuosa de Na₂Cr₂O₇·2H₂O (19,09 g, 64 mmol en 50 cm³ de H₂O) a la mezcla durante un período de 20 minutos dando una suspensión espesa de color verde oscuro. La mezcla se agitó a 5 °C durante 2 horas (pH = 6,75, T = 6 °C) antes de filtrar. El sólido púrpura verde obtenido se lavó con agua (2 x 50 cm³). El sólido se suspendió en ácido clorhídrico acuoso (300 cm³, pH 2) dando una suspensión con un pH = 6,37 a 22 °C. A la suspensión se añadió CuSO₄ (1,52 g, 6,1 mmol) y la mezcla se calentó hasta 90 °C formándose una solución de color azul oscuro. Después de agitar a esta temperatura durante 1 hora, la mezcla se enfrió hasta 25 °C y se filtró. El sólido se lavó con agua (2 x 50 cm³) y el filtrado se ajustó desde pH 6,33 hasta pH 2,00, T = 25 °C con ácido clorhídrico (5 M). La solución de color azul oscuro se calentó hasta 80 °C y se añadió nitrato sódico (50 g) y se dejó enfriar hasta 25 °C lentamente agitando suavemente. El producto se filtró como agujas verdes (6,80 g, 28 %). δ_H (250 MHz, CDCl₃): 1,36 (12H, t, 7, CH₃), 3,72 (8H, c, 7, NCH₂), 7,23 (2H, d, 9,5, ArH), 7,39 (2H, s, ArH), 7,89 (2H, d, 9,5, ArH); δ_H (62,9 MHz, CDCl₃): 152,5, 138,8, 135,7, 135,6, 118,1, 106,4, 46,6, 12,9.

Síntesis 12

Cloruro de 1,9-dietil-metiltioninio (DEMTC)



5

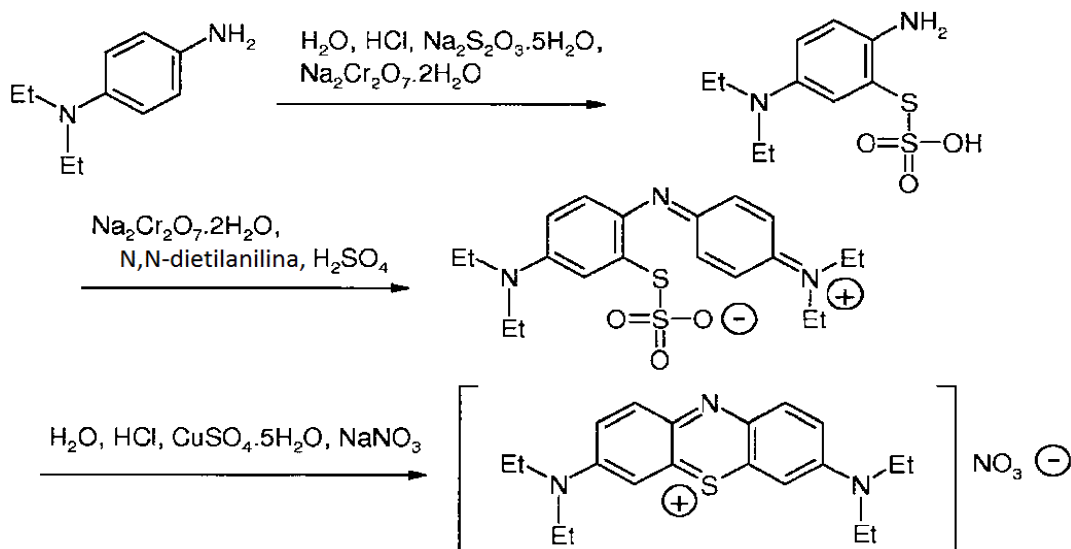
Se disolvió *N,N*-Dimetil-3-etil-p-fenilendiamina (5,15 g, 31,4 mmol) en ácido clorhídrico acuoso (0,5 M, 100 cm³). La solución resultante se ajustó hasta pH 2 con hidróxido sódico acuoso (10 %) y se enfrió hasta 5 °C. A la solución agitada se añadió una solución acuosa de Na₂S₂O₃·5H₂O (8,57 g, 34,6 mmol en 10 cm³ de agua). Se añadió una solución acuosa de Na₂Cr₂O₇·2H₂O (3,74 g, 12,6 mmol en 18 cm³ de agua) durante un período de 15 minutos dando una suspensión negra. La agitación continuó a 5 °C durante 1 hora. Se disolvió *N,N*-dimetil-3-etilanilina (4,68 g, 31,4 mmol) en ácido sulfúrico acuoso (3,00 g en 5 cm³ de agua) y la solución resultante se enfrió hasta 5 °C antes de la adición a la mezcla de reacción. Se añadió gota a gota una solución acuosa de Na₂Cr₂O₇·2H₂O (9,83 g, 33,0 mmol en 25 cm³ de agua) durante un período de 20 minutos dando una suspensión de color verde oscuro. La agitación se mantuvo a 5 °C durante otras 2 horas antes de recoger el sólido por filtración. El sólido se lavó con agua (3 x 30 cm³) antes de suspenderlo en ácido clorhídrico acuoso (150 cm³, pH 2). Se añadió CuSO₄ (785 mg, 3,14 mmol) a la suspensión y la mezcla se calentó hasta 90 °C durante 1 hora. La mezcla de color azul oscuro resultante se filtró y el sólido se lavó con agua (3 x 40 cm³). El filtrado se ajustó hasta pH 2 con ácido clorhídrico (1 M). La solución se calentó hasta 80 °C antes de añadir NaCl (2,00 g, 34,5 mmol). La solución se dejó enfriar hasta temperatura ambiente donde se depositó un precipitado. El sólido se recogió por filtración dando el compuesto del título como un sólido de color verde oscuro (1,89 g, 16 %). δ_H (250 MHz; D₂O): 6,65 (2H, s, ArH), 6,23 (2H, s, ArH), 2,92 (12H, s, NCH₃), 2,56 (4H, c, 7,5, CH₂), 0,99 (6H, t, 7,5, CH₃); ν_{max} (KBr)/cm⁻¹ 3408 (CH), 2613 (CH), 1606 (C=N), 1399 (CH), 1316 (CH). MS (ESI): 340,4 [100 % (M-Cl)⁺].

Esta síntesis representa una alternativa a la síntesis 3 anterior. Las principales ventajas de esta síntesis comparadas con la síntesis 3 anterior son: (a) un mayor rendimiento, (b) se puede realizar a concentraciones mayores lo que la hace más adecuada para su uso a escala industrial y (c) no produce H₂S, por lo que es más barata y más simple que cuando se realiza a escala industrial.

30

Síntesis 13

Nitrato de etil-tioninio (ETN)



5

A una solución de *N,N*-dietil-*p*-fenileno (6,61 g, 40 mmol) y ácido clorhídrico acuoso (0,5 M, 132 ml) enfriada previamente hasta 5 °C se añadió en una porción tiosulfato sódico acuoso (10,91 g, 44 mmol en 15 ml de H₂O). Se añadió gota a gota dicromato sódico (4,96 g, 15,75 mmol en 10 ml de H₂O) durante un período de 10 minutos y la solución negra se agitó durante 1 hora a 5 °C (pH = 8,22, Temp. = 1,8 °C). Mientras tanto se preparó una solución heterogénea que contiene *N,N*-dietilanilina (5,96 g, 40 mmol), ácido sulfúrico (3,96 g) y agua (6,60 ml), se enfrió hasta 5 °C y a continuación se añadió a la suspensión negra en agitación en una sola porción. Se añadió gota a gota una segunda solución de dicromato sódico (12,52 g, 42 mmol en 40 ml de H₂O) durante un período de 15 minutos y la suspensión de color verde oscuro que se formó se dejó agitando a 5 °C durante 2 horas (pH = 7,23, Temp. = 8,0 °C). Se añadió ditionito sódico (1,48 g, 8,44 mmol) como una solución acuosa en una porción y la mezcla se agitó durante 15 minutos calentando hasta temperatura ambiente (22 °C). La mezcla de reacción resultante se usó a continuación en una u otra de las siguientes dos alternativas.

En una alternativa (Filtración de BG (dos pasos)): El sólido verde oscuro que se formó se separó por filtración, se lavó con agua (2 x 50 ml) y se succionó hasta obtener una sequedad razonable (30 minutos). El sólido verde oscuro se agitó en agua, se acidificó hasta pH 2 con ácido clorhídrico y se añadió CuSO₄·5H₂O (0,99 g, 4,00 mmol). La solución se agitó hasta 90 °C y se agitó durante 1 hora a esta temperatura, dando lugar a la formación de una solución de color azul intenso. El calentamiento se detuvo y la mezcla de reacción se dejó enfriar hasta temperatura ambiente. La solución azul se filtró para eliminar las sustancias insolubles y el sólido se lavó con agua (2 x 50 ml). El filtrado se acidificó hasta pH 2 con ácido clorhídrico (5 M, 5 ml) y se añadió NaNO₃ (33 g, 388 mmol) en una porción. La solución se calentó hasta 80 °C y se dejó enfriar hasta temperatura ambiente agitando suavemente. Las agujas verdes resultantes se filtraron de la solución y se succionaron hasta sequedad para dar el compuesto del título (4,38 g; 28 %). Pf 178 °C; $\nu_{\text{max}}(\text{KBr})/\text{cm}^{-1}$ 3564 (CH), 3463 (CH), 3048 (CH), 2975 (CH), 1522 (C=C), 1489 (CH), 1370 (CH); δ_{H} (250 MHz, CDCl₃) 1,36 (12H, t, 7, CH₃), 3,72 (8H, c, 7 NCH₂), 7,23 (2H, d, 9,5, ArH), 7,39 (2H, s, ArH), 7,89 (2H, d, 9,5, ArH); δ_{C} (62,9MHz, CDCl₃) 152,5, 138,8, 135,7, 135,6, 118,1, 106,4, 46,6, 12,9.

En otra alternativa (sin filtración de BG (un paso)): Una vez que se calentó la solución, se añadió CuSO₄·5H₂O (0,99 g, 4,00 mmol). La solución se calentó a continuación hasta 90 °C y se agitó a esta temperatura durante 1 hora, después de lo cual la solución cambió a azul oscuro. La solución azul se dejó enfriar hasta temperatura ambiente y se filtró para eliminar insolubles. El filtrado se ajustó hasta pH 2 con ácido clorhídrico (5 M, 20 ml aprox.) y se añadió NaNO₃ (33 g, 388 mmol). La solución en agitación se calentó hasta 80 °C y se dejó enfriar durante la noche agitando suavemente. Las agujas verdes resultantes se filtraron de la solución y se succionaron hasta sequedad para dar el compuesto del título (1 g, 5 %). Pf 178 °C; $\nu_{\text{max}}(\text{KBr})/\text{cm}^{-1}$ 3564 (CH), 3463 (CH), 3048 (CH), 2975 (CH), 1522 (C=C), 1489 (CH), 1370 (CH); δ_{H} (250 MHz, CDCl₃) 1,36 (12H, t, 7, CH₃), 3,72 (8H, c, 7 NCH₂), 7,23 (2H, d, 9,5, ArH), 7,39 (2H, s, ArH), 7,89 (2H, d, 9,5, ArH); δ_{C} (62,9MHz, CDCl₃) 152,5, 138,8, 135,7, 135,6, 118,1, 106,4, 46,6, 12,9.

Ejemplo 2 – Actividad e índice terapéutico

Ensayo *in vitro* para establecer B50

45

Esto se describe en detalle en el documento WO 96/30766. Brevemente, un fragmento de tau correspondiente al dominio de repetición del núcleo, que ha sido adsorbido a un sustrato en fase sólida, es capaz de capturar tau de

longitud completa soluble y una tau con alta afinidad. Esta asociación confiere estabilidad contra la digestión proteolítica de las moléculas tau agregadas. El proceso es auto-propagante y puede ser bloqueado selectivamente por agentes farmacéuticos prototipo.

5 Más específicamente, tau truncada (residuos 297-390; dGA) diluida en tampón carbonato (pH 9,6) se unió a la placa de ensayo y se añadió tau de longitud completa (T40) en la fase acuosa. El tampón de unión fase acuosa contenía Tween-20 0,05 % y gelatina al 1 % en solución salina tamponada con fosfato (pH 7,4). Tau unida se detectó usando mAb 499 que reconoce un epítipo N-terminal dentro de la tau de longitud completa en fase acuosa, pero que no reconoce el fragmento de tau truncado unido a la fase sólida.

10 La concentración de compuesto requerida para inhibir la unión tau-tau en un 50 % se refiere como el valor B50.

Ensayo basado en células para el establecer CE50

15 El proceso se describe con más detalle en el documento WO 02/055720. En esencia, las células de fibroblastos (3T6) expresan tau de longitud completa ("T40") bajo el control de un promotor inducible, y bajos niveles constitutivos del fragmento de tau FHE-núcleo (fragmento 12 kD). Cuando se induce la expresión de T40, sufre truncación dependiente de la agregación dentro de la célula, N-terminalmente a $\sim \alpha\alpha$ 295 y C-terminalmente a $\sim \alpha\alpha$ 390, produciendo de ese modo los niveles más altos del fragmento de dominio FHE-núcleo de 12 kD. La producción del fragmento de 12 kD puede ser bloqueada de una manera dependiente de la dosis por inhibidores de la agregación de tau. De hecho, la cuantificación de la actividad inhibidora de los compuestos con respecto a la generación proteolítica del fragmento de 12 kD dentro de las células puede ser descrita completamente en términos de los mismos parámetros que describen la inhibición de la unión in vitro tau-tau. Es decir, el grado de generación proteolítica del fragmento de 12 kD dentro de las células se determina completamente por el grado de unión tau-tau a través del dominio de repetición. La disponibilidad de las proteasas relevantes dentro de la célula no es limitante.

Los resultados se expresan como la concentración a la que hay una inhibición del 50 % de la generación del fragmento de 12 kD. Esto se conoce como el valor CE50.

30 *Toxicidad en células – DL50 e índice terapéutico (IT)*

La toxicidad de los compuestos descritos en la presente memoria se evaluó en el ensayo basado en células usado para evaluar CE50. La toxicidad se midió por el número de células después de 24 horas de exposición al compuesto usando un kit de ensayo de lactato deshidrogenasa TOX-7 (Sigma Biosciences) según las instrucciones del fabricante después de la lisis de las células restantes. Alternativamente se usó un kit de Promega UK (CytoTox 96), de nuevo según las instrucciones del fabricante.

El índice terapéutico (IT) se calculó como sigue: $IT = DL50/CE50$.

	Compuesto	B50 (μ M)	CE50 (μ M)	DL50 (μ M)	IT
	MTC	218 \pm 20,1 (6)	0,59 \pm 0,04 (69)	65,0 \pm 5,0 (38)	110
	DMMTC	3,4 \pm 0,2 (2)	0,04 \pm 0,004 (22)	2,7 \pm 1,2 (6)	67
A	ETC	49,0 \pm 8,5 (10)	0,07 \pm 0,007 (53)	32,0 \pm 4,0 (26)	480
B	DEMTC	26,2 \pm 5,3 (6)	0,0016 \pm 0,0006 (13)	3,3 \pm 0,6 (22)	2,173
C	DMETC	4,5 \pm 0,3 (3)	0,004 \pm 0,001 (6)	4,2 \pm 2,2 (4)	1,048
D	DEETC	3,7 \pm 0,5 (3)	0,0006 \pm 0,0003 (3)	1,6 \pm 0,4 (13)	2,667
F	ETZ	145,4 \pm 5,7 (5)	0,06 \pm 0,01 (6)	39,0 \pm 7,0 (4)	670
G	MTI	382	0,72	120	168
H	MTI,HI	271	0,70	120	168
I	ETI	>500	0,06	-	-
J	ETI,HI	83	-	-	-
L	ETN	> 500 (2)	0,04 (1)	13,0 \pm 0,5, (2)	325

40 Los siguientes párrafos numerados exponen características preferidas y combinaciones preferidas de las características de la presente invención.

45 1. Un compuesto para uso en un método de tratamiento o profilaxis corporal de un ser humano o animal mediante terapia, en el que el compuesto se selecciona de los siguientes compuestos: ETC, DEMTC, DMETC, DEETC, MTZ, ETZ, MTI, MTI.HI, ETI, ETI.HI, MTN y ETN.

2. Un compuesto para uso en un método de tratamiento o profilaxis de un trastorno de tipo tauopatía en un paciente, en el que el compuesto se selecciona de los siguientes compuestos: ETC, DEMTC, DMETC, DEETC, MTZ, ETZ, MTI, MTI.HI, ETI, ETI.HI, MTN y ETN.
- 5 3. Un compuesto para uso en un método de tratamiento o profilaxis de una enfermedad de agregación de la proteína tau en un paciente, en el que el compuesto se selecciona de los siguientes compuestos: ETC, DEMTC, DMETC, DEETC, MTZ, ETZ, MTI, MTI.HI, ETI, ETI.HI, MTN y ETN.
- 10 4. Un compuesto para uso en un método de tratamiento o profilaxis de la enfermedad de Alzheimer (EA), enfermedad de Pick, parálisis supranuclear progresiva (PSP), demencia fronto-temporal (DFT), demencia fronto-temporal con parkinsonismo asociado al cromosoma 17 (FTDP- 17), complejo de desinhibición-demencia-parkinsonismo-amiotrofia (CDDPA), degeneración palido-ponto-nigral (DPPN), síndrome ELA de la isla de Guam, degeneración palido-nigro-luisiana (DPNL) o degeneración cortico-basal (CBD) en un paciente, en el que el compuesto se selecciona de los siguientes compuestos: ETC, DEMTC, DMETC, DEETC, MTZ, ETZ, MTI, MTI.HI, ETI, ETI.HI, MTN y ETN.
- 15 5. Un compuesto para uso en un método de tratamiento o profilaxis de la enfermedad de Alzheimer (EA), en un paciente, en el que el compuesto se selecciona de los siguientes compuestos: ETC, DEMTC, DMETC, DEETC, MTZ, ETZ, MTI, MTI.HI, ETI, ETI.HI, MTN y ETN.
- 20 6. Un compuesto de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 1 a 5, en el que el compuesto es ETC.
7. Un compuesto de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 1 a 5, en el que el compuesto es DEMTC.
- 25 8. Un compuesto de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 1 a 5, en el que el compuesto es DMETC.
9. Un compuesto de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 1 a 5, en el que el compuesto es DEETC.
- 30 10. Un compuesto de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 1 a 5, en el que el compuesto es MTZ.
11. Un compuesto de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 1 a 5, en el que el compuesto es ETZ.
12. Un compuesto de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 1 a 5, en el que el compuesto es MTI.
- 35 13. Un compuesto de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 1 a 5, en el que el compuesto es MTI.HI.
14. Un compuesto de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 1 a 5, en el que el compuesto es ETI.
- 40 15. Un compuesto de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 1 a 5, en el que el compuesto es ETI.HI.
16. Un compuesto de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 1 a 5, en el que el compuesto es MTN.
17. Un compuesto de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 1 a 5, en el que el compuesto es ETN.
- 45 18. Un compuesto de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 1 a 5, en el que el compuesto es ETC.
19. Un compuesto de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 1 a 18, en el que el compuesto se proporciona en la forma de una unidad de dosificación que comprende el compuesto en una cantidad de desde 20 hasta 300 mg y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 50 20. Un compuesto de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 1 a 19, en el que el tratamiento o profilaxis comprende la administración del compuesto de acuerdo con el siguiente régimen de administración: aproximadamente 50 o aproximadamente 75 mg, 3 o 4 veces al día.
- 55 21. Un compuesto de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 1 a 19, en el que el tratamiento o profilaxis comprende la administración del compuesto de acuerdo con el siguiente régimen de administración: aproximadamente 100 o aproximadamente 125 mg, 2 veces al día.
- 60 22. Un compuesto de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 1 a 21, en el que el tratamiento o profilaxis comprende la administración oral del compuesto.
23. Un compuesto de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 1 a 22, en el que el tratamiento o profilaxis comprende además el tratamiento con un inhibidor de la colinesterasa.
- 65 24. Un compuesto de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 1 a 22, en el que el tratamiento o profilaxis comprende además el tratamiento con donepezilo (Aricept™), rivastigmina (Exelon™) o galantamina

(Reminyl™).

- 5 25. Un compuesto de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 1 a 22, en el que el tratamiento o profilaxis comprende además el tratamiento con un antagonista del receptor NMDA.
26. Un compuesto de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 1 a 22, en el que el tratamiento o profilaxis comprende además el tratamiento con memantina (Ebixa™, Namenda™).
- 10 27. Un compuesto de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 1 a 22, en el que el tratamiento o profilaxis comprende además el tratamiento con un agonista del receptor muscarínico.
28. Un compuesto de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos a 22, en el que el tratamiento o profilaxis comprende además el tratamiento con un inhibidor de la proteína precursora de amiloide que la procesa a beta-amiloide
- 15 29. Uso de un compuesto en la fabricación de un medicamento para uso en un método de tratamiento o profilaxis de un trastorno de tipo tauopatía en un paciente, en el que el compuesto se selecciona de los siguientes compuestos: ETC, DEMTC, DMETC, DEETC, MTZ, ETZ, MTI, MTI.HI, ETI, ETI.HI, MTN y ETN.
- 20 30. Uso de un compuesto en la fabricación de un medicamento para uso en un método de tratamiento o profilaxis de una enfermedad de agregación de la proteína tau en un paciente, en el que el compuesto se selecciona de los siguientes compuestos: ETC, DEMTC, DMETC, DEETC, MTZ, ETZ, MTI, MTI.HI, ETI, ETI.HI, MTN y ETN.
- 25 31. Uso de un compuesto en la fabricación de un medicamento para uso en un método de tratamiento o profilaxis de la enfermedad de Alzheimer (EA), enfermedad de Pick, parálisis supranuclear progresiva (PSP), demencia fronto-temporal (DFT), demencia fronto-temporal con parkinsonismo asociado al cromosoma 17 (DFTP-17), complejo de desinhibición-demencia-parkinsonismo-amiotrofia (CDDPA), degeneración palido-ponto-nigral (DPPN), síndrome ELA de la isla de Guam, degeneración palido-nigro-luisiana (DPNL) o degeneración cortico-basal (CBD) en un paciente, en el que el compuesto se selecciona de los siguientes compuestos: ETC, DEMTC, DMETC, DEETC, MTZ, ETZ, MTI, MTI.HI, ETI, ETI.HI, MTN y ETN.
- 30 32. Uso de un compuesto en la fabricación de un medicamento para uso en un método de tratamiento o profilaxis de la enfermedad de Alzheimer (EA) en un paciente, en el que el compuesto se selecciona de los siguientes compuestos: ETC, DEMTC, DMETC, DEETC, MTZ, ETZ, MTI, MTI.HI, ETI, ETI.HI, MTN y ETN.
- 35 33. Uso de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 29 a 32, en el que el compuesto es ETC.
34. Uso de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 29 a 32, en el que el compuesto es DEMTC.
- 40 35. Uso de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 29 a 32, en el que el compuesto es DMETC.
36. Uso de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 29 a 32, en el que el compuesto es DEETC.
- 45 37. Uso de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 29 a 32, en el que el compuesto es MTZ.
38. Uso de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 29 a 32, en el que el compuesto es ETZ.
39. Uso de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 29 a 32, en el que el compuesto es MTI.
- 50 40. Uso de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 29 a 32, en el que el compuesto es MTI.HI.
41. Uso de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 29 a 32, en el que el compuesto es ETI.
- 55 42. Uso de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 29 a 32, en el que el compuesto es ETI.HI.
43. Uso de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 29 a 32, en el que el compuesto es MTN.
44. Uso de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 29 a 32, en el que el compuesto es ETN.
- 60 45. Uso de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 29 a 32, en el que el compuesto es ETC.
46. Uso de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 29 a 45, en el que el medicamento es una unidad de dosificación que comprende el compuesto en una cantidad de desde 20 hasta 300 mg y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 65 47. Uso de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 29 a 46, en el que el tratamiento o profilaxis comprende la

administración del compuesto de acuerdo con el siguiente régimen de administración: aproximadamente 50 o aproximadamente 75 mg, 3 o 4 veces al día.

5 48. Uso de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 29 a 46, en el que el tratamiento o profilaxis comprende la administración del compuesto de acuerdo con el siguiente régimen de administración: aproximadamente 100 o aproximadamente 125 mg, 2 veces al día.

10 49. Uso de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 29 a 48, en el que el tratamiento o profilaxis comprende la administración oral del compuesto.

50. Uso de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 29 a 49, en el que el tratamiento o profilaxis comprende además el tratamiento con un inhibidor de la colinesterasa.

15 51. Uso de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 29 a 49, en el que el tratamiento o profilaxis comprende además el tratamiento con donepezilo (Aricept™), rivastigmina (Exelon™) o galantamina (Reminyl™).

52. Uso de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 29 a 49, en el que el tratamiento o profilaxis comprende además el tratamiento con un antagonista del receptor NMDA.

20 53. Uso de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 29 a 49, en el que el tratamiento o profilaxis comprende además el tratamiento con memantina (Ebixa™, Namenda™).

54. Uso de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 29 a 49, en el que el tratamiento o profilaxis comprende además el tratamiento con un agonista del receptor muscarínico.

25 55. Uso de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos 29 a 49, en el que el tratamiento o profilaxis comprende además el tratamiento con un inhibidor de la proteína precursora de amiloide que la procesa a beta-amiloide.

30 56. Un método para revertir o inhibir la agregación de la proteína tau que comprende poner en contacto el agregado o proteína con un compuesto seleccionado de los siguientes compuestos: ETC, DEMTC, DMETC, DEETC, MTZ, ETZ, MTI, MTI.HI, ETI, ETI.HI, MTN y ETN.

35 57. Un método para regular la agregación de una proteína tau en el cerebro de un mamífero, agregación que está asociada con una enfermedad de la agregación de la proteína tau, que comprende la etapa de administrar a dicho mamífero una cantidad profilácticamente o terapéuticamente eficaz de un compuesto seleccionado de los siguientes compuestos: ETC, DEMTC, DMETC, DEETC, MTZ, ETZ, MTI, MTI.HI, ETI, ETI.HI, MTN y ETN.

40 58. Un método para inhibir la producción de agregados de proteína en el cerebro de un mamífero, que comprende la etapa de administrar a dicho mamífero una cantidad profilácticamente o terapéuticamente eficaz de un compuesto seleccionado de los siguientes compuestos: ETC, DEMTC, DMETC, DEETC, MTZ, ETZ, MTI, MTI.HI, ETI, ETI.HI, MTN y ETN.

45 59. Un método de tratamiento o profilaxis de un trastorno de tipo tauopatía en un paciente que comprende administrar a dicho paciente un compuesto seleccionado de los siguientes compuestos: ETC, DEMTC, DMETC, DEETC, MTZ, ETZ, MTI, MTI.HI, ETI, ETI.HI, MTN y ETN.

50 60. Un método de tratamiento o profilaxis de una enfermedad de agregación de la proteína tau en un paciente, que comprende administrar a dicho paciente un compuesto seleccionado de los siguientes compuestos: ETC, DEMTC, DMETC, DEETC, MTZ, ETZ, MTI, MTI.HI, ETI, ETI.HI, MTN y ETN.

55 61. Un método de tratamiento o profilaxis de la enfermedad de Alzheimer (EA), enfermedad de Pick, parálisis supranuclear progresiva (PSP), demencia fronto-temporal (DFT), demencia fronto-temporal con parkinsonismo asociado al cromosoma 17 (DFTP-17), complejo de desinhibición-demencia-parkinsonismo-amiotrofia (CDDPA), degeneración palido-ponto-nigral (DPPN), síndrome ELA de la isla de Guam, degeneración palido-nigro-luisiana (DPNL) o degeneración cortico-basal (CBD) en un paciente, que comprende administrar a dicho paciente un compuesto seleccionado de los siguientes compuestos: ETC, DEMTC, DMETC, DEETC, MTZ, ETZ, MTI, MTI.HI, ETI, ETI.HI, MTN y ETN.

60 62. Un método de tratamiento o profilaxis de la enfermedad de Alzheimer (EA) en un paciente, que comprende administrar a dicho paciente un compuesto seleccionado de los siguientes compuestos: ETC, DEMTC, DMETC, DEETC, MTZ, ETZ, MTI, MTI.HI, ETI, ETI.HI, MTN y ETN.

65 63. Un compuesto para uso en un método de diagnóstico o pronóstico de una proteinopatía tau, en el que el compuesto se selecciona de los siguientes compuestos: ETC, DEMTC, DMETC, DEETC, MTZ, ETZ, MTI, MTI.HI, ETI, ETI.HI, MTN y ETN; y en el que el compuesto incorpora, está conjugado a, está quelado con o está asociado de otro modo con uno o más marcadores detectables.

5 64. Uso de un compuesto en la fabricación de un reactivo de diagnóstico o pronóstico para uso en el diagnóstico o pronóstico de una proteinopatía tau de un paciente, en el que el compuesto se selecciona de los siguientes compuestos: ETC, DEMTC, DMETC, DEETC, MTZ, ETZ, MTI, MTI.HI, ETI, ETI.HI, MTN y ETN; y en el que el compuesto incorpora, está conjugado a, está quelado con o está asociado de otro modo con uno o más marcadores detectables.

65. Un método de marcaje de la proteína tau o proteína tau agregada que comprende la etapa de:

10 poner en contacto la proteína tau o proteína tau agregada con un compuesto seleccionado de los siguientes compuestos: ETC, DEMTC, DMETC, DEETC, MTZ, ETZ, MTI, MTI.HI, ETI, ETI.HI, MTN y ETN; en el que el compuesto incorpora, está conjugado a, está quelado con o está asociado de otro modo con uno o más marcadores detectables.

15 66. Un método para detectar la proteína tau o proteína tau agregada que comprende las etapas de:

20 poner en contacto la proteína tau o proteína tau agregada con un compuesto seleccionado de los siguientes compuestos: ETC, DEMTC, DMETC, DEETC, MTZ, ETZ, MTI, MTI.HI, ETI, ETI.HI, MTN y ETN; en el que el compuesto incorpora, está conjugado a, está quelado con o está asociado de otro modo con uno o más marcadores detectables; y detectar la presencia y/o la cantidad de dicho compuesto unido a la proteína tau (o proteína tau agregada).

67. Un método de diagnóstico o pronóstico de una proteinopatía tau en un sujeto que se cree que padece la enfermedad, que comprende las etapas de:

25 (i) introducir en el sujeto un compuesto seleccionado de los siguientes compuestos: ETC, DEMTC, DMETC, DEETC, MTZ, ETZ, MTI, MTI.HI, ETI, ETI.HI, MTN y ETN; en el que el compuesto incorpora, está conjugado a, está quelado con o está asociado de otro modo con uno o más marcadores detectables,

(ii) determinar la presencia y/o cantidad de dicho compuesto unido a la proteína tau o la proteína tau agregada en el cerebro del sujeto,

30 (iii) correlacionar el resultado de la determinación hecha en (ii) con el estado de enfermedad del sujeto.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de diaminofenotiazinio seleccionado de:

- 5 (H) yoduro de metil-tioninio, yoduro de hidrógeno, sal mixta (MTI.HI)
 (J) yoduro de etil-tioninio, yoduro de hidrógeno, sal mixta (ETI.HI),
 (L) nitrato de etil-tioninio (ETN).

2. Un compuesto de diaminofenotiazinio de acuerdo con la reivindicación 1, el cual se selecciona de:

- 10 (J) yoduro de etil-tioninio, yoduro de hidrógeno, sal mixta (ETI.HI) y
 (L) nitrato de etil-tioninio (ETN).

3. Una composición farmacéutica para uso en un método de tratamiento o profilaxis de un sujeto humano o animal mediante terapia, comprendiendo la composición farmacéutica un compuesto de diaminofenotiazinio seleccionado de:

- 15 (A) cloruro de etil-tioninio (ETC),
 20 (B) cloruro de 1,9-dietil-metil-tioninio (DEMTC),
 (C) cloruro de 1,9-dimetil-etil-tioninio (DMETC),
 (D) cloruro de 1,9-dietil-etil-tioninio (DEETC),
 (F) cloruro de etil-tioninio, cloruro de zinc, sal mixta (ETZ),
 (G) yoduro de metil-tioninio (MTI),
 25 (H) yoduro de metil-tioninio, yoduro de hidrógeno, sal mixta (MTI.HI)
 (I) yoduro de etil-tioninio (ETI),
 (J) yoduro de etil-tioninio, yoduro de hidrógeno, sal mixta (ETI.HI) o
 (L) nitrato de etil-tioninio (ETN)

y un vehículo, un diluyente o un excipiente farmacéuticamente aceptables.

30 4. La composición farmacéutica para uso de acuerdo con la reivindicación 3, en la que el sujeto se selecciona para el tratamiento tras una evaluación por un médico y/o después de la evaluación objetiva de la función cognitiva utilizando una batería neuropatológicamente validada.

35 5. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 3 o la reivindicación 4, que comprende además uno o más de otros ingredientes farmacéuticamente aceptables seleccionados de vehículos, diluyentes, excipientes, adyuvantes, cargas, tampones, conservantes, antioxidantes, lubricantes, estabilizantes, solubilizantes, tensioactivos, agentes enmascarantes, agentes colorantes, agentes aromatizantes y agentes edulcorantes farmacéuticamente aceptables.

40 6. Una composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 3-5, en la que el vehículo, el diluyente o el excipiente farmacéuticamente aceptables son o comprenden uno o ambos de un glicérido y dióxido de sílice coloidal.

45 7. Una unidad de dosificación que comprende de 20 a 300 mg de un compuesto de diaminofenotiazinio de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2 y un vehículo, un diluyente o un excipiente farmacéuticamente aceptables.

50 8. Una unidad de dosificación de acuerdo con la reivindicación 7, que es un comprimido o una cápsula.

9. Una unidad de dosificación de acuerdo con la reivindicación 7, en la que el compuesto de diaminofenotiazinio está presente en una cantidad de 30 a 200 mg.

55 10. Un fármaco para el tratamiento de un estado patológico asociado a la agregación de la proteína tau en un mamífero que padece la misma, que comprende un envase etiquetado o acompañado por una etiqueta que indica que el fármaco es para el tratamiento de dicha enfermedad, conteniendo el envase una o más unidades de dosificación comprendiendo cada una al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable y, como principio activo, un compuesto de diaminofenotiazinio puro aislado de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2.

60 11. Una composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 6:

65 para uso en un método de tratamiento o profilaxis de un trastorno de tipo tauopatía en un paciente o para uso en un método de tratamiento o profilaxis de la enfermedad de Alzheimer (EA), enfermedad de Pick, parálisis supranuclear progresiva (PSP), demencia fronto-temporal (DFT), demencia fronto-temporal con parkinsonismo asociado al cromosoma 17 (DFTP-17), complejo de desinhibición-demencia-parkinsonismo-amiotrofia (CDDPA), degeneración palido-ponto-nigral (DPPN), síndrome ELA de la isla de Guam, degeneración palido-nigro-luisiana

(DPNL) o degeneración cortico-basal (CBD) en un paciente;
o para uso en un método de diagnóstico o pronóstico de una proteinopatía tau, en donde el compuesto incorpora, está conjugado a, está quelado con o está asociado de otro modo a uno o más marcadores detectables.

5 12. Uso de un compuesto de diaminofenotiazinio en la fabricación de un medicamento para uso en un método de tratamiento o profilaxis de un trastorno de tipo tauopatía en un paciente, en donde el compuesto se selecciona de:

- 10 (A) cloruro de etil-tioninio (ETC),
(B) cloruro de 1,9-dietil-metil-tioninio (DEMTC),
(C) cloruro de 1,9-dimetil-etil-tioninio (DMETC),
(D) cloruro de 1,9-dietil-etil-tioninio (DEETC),
(F) cloruro de etil-tioninio, cloruro de zinc, sal mixta (ETZ),
(G) yoduro de metil-tioninio (MTI),
15 (H) yoduro de metil-tioninio, yoduro de hidrógeno, sal mixta (MTI.HI)
(I) yoduro de etil-tioninio (ETI),
(J) yoduro de etil-tioninio, yoduro de hidrógeno, sal mixta (ETI.HI) o
(L) nitrato de etil-tioninio (ETN).

20 13. El uso de acuerdo con la reivindicación 12, en el que el paciente se selecciona para el tratamiento tras una evaluación por un médico y/o después de la evaluación objetiva de la función cognitiva utilizando una batería neuropatológicamente validada.

25 14. Uso de un compuesto de diaminofenotiazinio de acuerdo con la reivindicación 11, en el tratamiento o la profilaxis de la enfermedad de Alzheimer (EA), enfermedad de Pick, parálisis supranuclear progresiva (PSP), demencia fronto-temporal (DFT), demencia fronto-temporal con parkinsonismo asociado al cromosoma 17 (DFTP-17), complejo de desinhibición-demencia-parkinsonismo-amiotrofia (CDDPA), degeneración palido-ponto-nigral (DPPN), síndrome ELA de la isla de Guam, degeneración palido-nigro-luisiana (DPNL) o degeneración cortico-basal (CBD) en un paciente;

30 o en la fabricación de un reactivo de diagnóstico o pronóstico para uso en el diagnóstico o el pronóstico de una proteinopatía tau de un paciente, en donde el compuesto incorpora, está conjugado a, está quelado con o está asociado de otro modo a uno o más marcadores detectables.