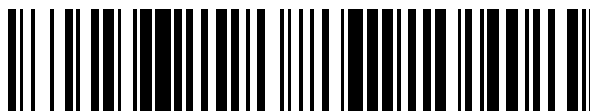


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 778 038**

51 Int. Cl.:

C07C 337/08	(2006.01)
A61K 47/54	(2007.01)
A61K 33/34	(2006.01)
A61K 51/04	(2006.01)
C07C 229/36	(2006.01)
C07C 323/58	(2006.01)
C07C 59/105	(2006.01)
C07C 59/265	(2006.01)
C07D 275/06	(2006.01)
G01N 33/53	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.11.2014 PCT/US2014/064879**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **14.05.2015 WO15070177**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.11.2014 E 14803023 (2)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.12.2019 EP 3068762**

54 Título: **Complejos metálicos y métodos de tratamiento**

30 Prioridad:

11.11.2013 US 201361902682 P
28.01.2014 US 201461932348 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
07.08.2020

73 Titular/es:

**COLLABORATIVE MEDICINAL DEVELOPMENT,
LLC (100.0%)
184 Bulkey Avenue
Sausalito, CA 94965, US**

72 Inventor/es:

**WARNER, JOHN C.;
CHERUKU, SRINIVASA, R.;
HARI, ANITHA y
NORMAN, JAMES, J.**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 778 038 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

Complejos metálicos y métodos de tratamiento

Antecedentes de la solicitud

5 La presente invención se refiere a complejos metálicos como agentes farmacéuticos, en particular para su uso en el tratamiento de afecciones en las que el suministro de metal puede prevenir, aliviar o mejorar la afección. Existen diversas afecciones clínicas que son causadas o asociadas con niveles anormales de metales (típicamente niveles bajos de metales). Las afecciones de este tipo incluyen cáncer y afecciones caracterizadas o asociadas con daño oxidativo, más específicamente afecciones o enfermedades neurodegenerativas tales como la enfermedad de Alzheimer (EA), la enfermedad de Parkinson (EP), la enfermedad de Huntington, la hipoxia y las enfermedades priónicas (EPr).

10 Los metales biodisponibles tienen un impacto significativo en el funcionamiento de los sistemas biológicos. Se sabe que los metales juegan un papel importante en los sistemas enzimáticos y en los mecanismos de señalización dentro de los sistemas biológicos. Por ejemplo, Zn juega un papel importante en las placas β -amiloides de la enfermedad de Alzheimer; el efecto de la enzima superóxido dismutasa (Cu, Zn) en la mediación del daño reactivo de las especies de oxígeno asociado con la esclerosis lateral amiotrófica; la participación de las hemoenzimas NO sintasa y guanilil ciclasa en la producción y detección, respectivamente, de óxido nítrico (NO), y el descubrimiento de un motivo de "dedo de zinc" en el gen de susceptibilidad al cáncer de mama y ovario, BRCA1, por ejemplo. Además, se ha demostrado que una proteína aberrante tiene una propensión a plegarse mal en presencia de ciertas concentraciones de iones metálicos.

15 Se han identificado diversas afecciones cardiovasculares que son el resultado del estrés oxidativo (EO). Otras afecciones asociadas con EO incluyen cáncer, cataratas, trastornos neurodegenerativos tales como la enfermedad de Alzheimer y enfermedades del corazón. También hay evidencia de que el EO desempeña un papel destacado en tres tipos de trastornos neuromusculares: esclerosis lateral amiotrófica (ELA), enfermedad mitocondrial/metabólica y ataxia de Friedreich. Las características comunes de estas enfermedades incluyen el depósito de proteínas mal plegadas y un daño celular sustancial como resultado del EO. Los datos sugieren que el EO es la causa principal de daño físico en una amplia gama de estados de enfermedad, incluidos los trastornos neurológicos amiloidogénicos tales como la enfermedad de Alzheimer (EA), la esclerosis lateral amiotrófica (ELA), las enfermedades priónicas, incluida la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (ECJ), las encefalopatías espongiiformes transmisibles (EET), las cataratas, los trastornos mitocondriales, la enfermedad de Menkes, la enfermedad de Parkinson (EP) y la enfermedad de Huntington (HD). El efecto del EO no se limita a ninguna parte del cuerpo humano, observándose ejemplos de los efectos negativos del EO que se observan en casi todos los órganos. Por ejemplo, el cerebro humano es un órgano que concentra iones metálicos y la evidencia reciente sugiere que un colapso en la homeostasis del metal juega un papel crítico en una variedad de enfermedades neurodegenerativas relacionadas con la edad.

20 Se han desarrollado varios agentes terapéuticos como terapias potenciales para las afecciones causadas o asociadas con el EO. Sin embargo, se descubrió que agentes tales como la vitamina E y la vitamina C no son eficaces, ya que no cruzan la barrera hematoencefálica y, en consecuencia, no se pueden usar de manera eficaz para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas de origen central.

25 Se ha informado sobre la deficiencia de iones metálicos de cobre como una afección asociada con la EA. Una consecuencia de la deficiencia de cobre es que las enzimas protectoras responsables de la desintoxicación de las especies reactivas de oxígeno (ROS) están cargadas inadecuadamente con cobre y, por lo tanto, no llevan a cabo de manera eficaz la función enzimática normal. La carga inadecuada de tales enzimas protectoras, por ejemplo, en el cerebro, conduce a un aumento general de EO (como se observa en la EA) que se reflejará en un aumento de la oxidación de proteínas, tal como el aumento de proteínas carboniladas.

30 El documento WO 2008/061306 describe complejos metálicos, procedimientos para su preparación y su uso como agentes farmacéuticos o veterinarios, en particular para el tratamiento de afecciones en las que el suministro de metales puede prevenir, aliviar o mejorar la afección. Los ejemplos de las afecciones incluyen cáncer y afecciones caracterizadas o asociadas con daño oxidativo, más específicamente afecciones neurodegenerativas tales como la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson o la enfermedad de Huntington.

35 Por consiguiente, existe la necesidad de agentes altamente eficaces para el tratamiento de enfermedades asociadas con daño oxidativo y particularmente trastornos neurodegenerativos del sistema nervioso central tales como EP, EA y ECJ. Además, existe la necesidad de nuevos agentes para el tratamiento de afecciones asociadas con tejidos periféricos, disfunción gastrointestinal tal como estreñimiento y síndrome de dificultad respiratoria aguda, ELA, enfermedad cardiovascular aterosclerótica y disfunción de múltiples órganos.

40 Además de la disfunción motora que experimentan los pacientes con ciertas enfermedades neurológicas, tales como la enfermedad de Parkinson, los pacientes con enfermedades neurológicas suelen experimentar síntomas no

5 motores, incluyendo dolencias gastrointestinales, tales como el estreñimiento. Estos síntomas tienen un impacto significativo y adverso en la calidad de vida del paciente. En un aspecto de la presente solicitud, se proporciona un método para tratar o reducir enfermedades o dolencias gastrointestinales asociadas con pacientes con enfermedades neurológicas, incluyendo el método la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de los DNC del complejo metálico como se describe en la presente memoria.

10 Los pacientes con ciertas enfermedades neurodegenerativas, tales como la EP, por ejemplo, también adolecen de aspectos no motores de la enfermedad en los que se observan alteraciones dentro del sistema nervioso autónomo y los controles de estas funciones corporales automáticas, tales como la frecuencia cardíaca, la presión arterial, la sudoración y la función gastrointestinal y urinaria se ven afectadas negativamente. La disfunción gastrointestinal asociada con enfermedades neurodegenerativas tales como la EP, puede incluir estreñimiento.

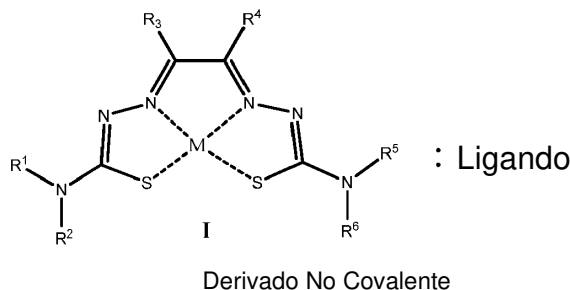
Los ejemplos anteriores de la técnica y las limitaciones relacionadas son ilustrativas y no excluyentes. Otras limitaciones de la técnica relacionada serán evidentes para los expertos en la técnica tras una lectura de la memoria descriptiva y un estudio de los dibujos o figuras según se proporciona en la presente memoria.

Compendio de la solicitud

15 Existe una necesidad continua de agentes novedosos y eficaces que sean agentes neuroactivos selectivos para el tratamiento de enfermedades del sistema nervioso central (SNC). En un aspecto, los agentes neuroactivos son quelantes de iones, incluidos el cobre y el zinc. Las siguientes realizaciones, aspectos y variaciones de las mismas son ejemplares e ilustrativas y no se pretende que limiten el alcance.

20 En una primera realización, la presente invención se basa en el descubrimiento de que los derivados no covalentes (DNC) de ciertos complejos metálicos son eficaces en el suministro de metales biodisponibles y se pueden utilizar en el tratamiento de afecciones que se pueden prevenir, tratar o mejorar mediante suministro de metal. En particular, estos DNC de complejos metálicos son eficaces para suministrar metal a las células en una forma que conduce a un efecto antioxidante significativo que se observa en la célula. En un aspecto, ciertos DNC de complejos metálicos demostraron una capacidad para mediar el EO. En otra realización, el DNC de complejos metálicos y sus derivados también se puede utilizar para herramientas de diagnóstico in vivo que implican cobre(II) y otros metales divalentes.

25 En una segunda realización, la presente solicitud describe un derivado no covalente (DNC) de un compuesto de Fórmula I con un Ligando:



en donde:

30 M es Fe, Zn o Cu;

35 R¹ y R² se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido, alqueno C₂-C₆ sustituido o no sustituido, alquino C₂-C₆ sustituido o no sustituido, arilo C₅-C₁₀ sustituido o no sustituido, heteroarilo C₅-C₁₀ sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)arilo C₆-C₁₀ sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, heterociclilo sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)heterociclilo, alquil(C₁-C₆)-C(O)- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-S(O)₁₋₂- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-NR'⁷C(O)- sustituido o no sustituido y alcoxi(C₁-C₆)-C(NR'⁷)- sustituido o no sustituido, hidroxilo, hidroxialquilo, alcoxi, -NH(R'⁷), -N(R'⁷)₂, -COOH, -COR⁷, -COOR⁷, -CONHR⁷, -CSNHR⁷, -S(O)R⁷, -S(O)₂R⁷, -C(O)N(R'⁷)₂, -SO₂N(R'⁷)₂ y -(CH₂)_mR⁸, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido; o

40 R¹ y R² cuando se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están anclados forman un grupo heterocicloalquilo o heteroarilo opcionalmente sustituido;

45 R³ y R⁴ son cada uno independientemente H, alquilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido, alqueno C₂-C₆ sustituido o no sustituido, alquino C₁-C₆ sustituido o no sustituido, heteroalquilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido, cicloalquilo C₃-C₁₀ sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo C₃-C₁₀ sustituido o no sustituido, arilo C₅-C₁₀ sustituido o no sustituido, heteroarilo C₅-C₁₀ sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)arilo C₆-C₁₀ sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-C(O)- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-S(O)₁₋₂- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-NR'⁷C(O)- sustituido o no sustituido y alcoxi(C₁-C₆)-C(NR'⁷)- sustituido o no sustituido, o R³ y R⁴ junto con los átomos

de carbono a los que están anclados forman un anillo carbocíclico de 5 o 6 miembros;

R^5 y R^6 se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en H, alquilo C_1-C_6 sustituido o no sustituido, alqueno C_2-C_6 sustituido o no sustituido, alquino C_2-C_6 sustituido o no sustituido, arilo C_5-C_{10} sustituido o no sustituido, heteroarilo C_5-C_{10} sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, alquil(C_1-C_6)arilo C_6-C_{10} sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, heterociclilo sustituido o no sustituido, alquil(C_1-C_6)heterociclilo, alquil(C_1-C_6)-C(O)- sustituido o no sustituido, alquil(C_1-C_6)-S(O)₁₋₂- sustituido o no sustituido, alquil(C_1-C_6)-NR'C(O)- sustituido o no sustituido y alcoxi(C_1-C_6)-C(NR'')- sustituido o no sustituido, hidroxilo, hidroxialquilo, alcoxi, -NH(R^7), -N(R^7)₂, -COOH, -COR⁷, -COOR⁷, -CONHR⁷, -CSNHR⁷, -S(O)R⁷, -S(O)₂R⁷, -C(O)N(R^7)₂, -SO₂N(R^7)₂ y -(CH₂)_mR⁸, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido; o

R^5 y R^6 cuando se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están anclados forman un grupo heterocicloalquilo o heteroarilo opcionalmente sustituido;

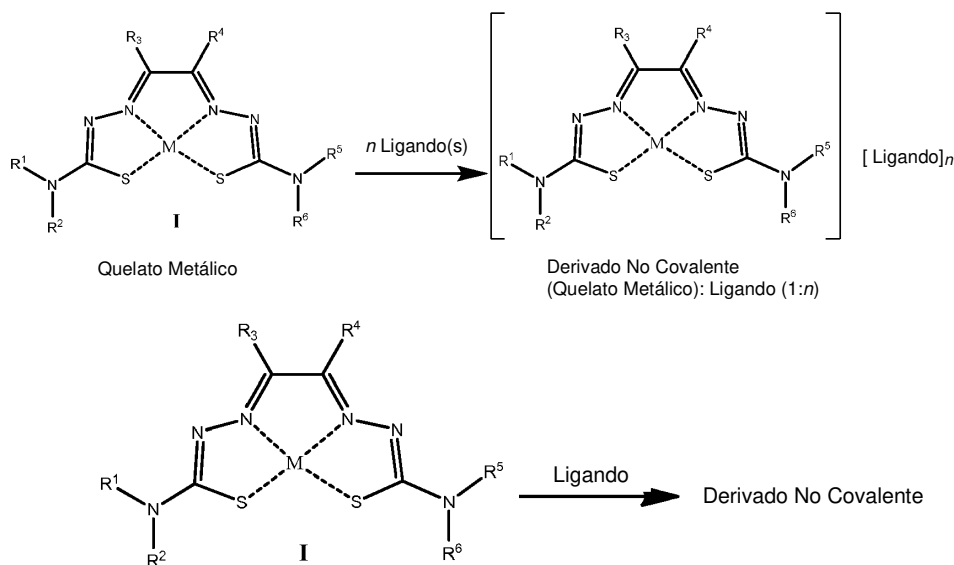
cada R^7 se selecciona independientemente del grupo que consiste en H, alquilo, alqueno, alquino, haloalquilo, heteroalquilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo, heteroarilo, cicloalquilalquilo, heterocicloalquilalquilo, arilalquilo, heteroarilalquilo y acilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido;

cada R^8 se selecciona independientemente del grupo que consiste en cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo y heteroarilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido; R' y R'' se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en H y alquilo C_1-C_6 ; y m es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 1, 2, 3, 4, 5 y 6;

El ligando se selecciona del grupo que consiste en: a) un aminoácido, tal como los seleccionados del grupo que consiste en alanina, arginina, asparragina, ácido aspártico, cisteína, ácido glutámico, glutamina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, ornitina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina y valina; b) un éster de un aminoácido, tal como los seleccionados del grupo que consiste en éster etílico de alanina, éster etílico de arginina, éster metílico de arginina, éster etílico de cisteína etil, éster dimetílico de cistina, éster etílico de glicina, éster etílico de fenilalanina, éster etílico de tirosina, éster metílico de L-tirosina, éster metílico de tirosina y éster etílico de triptófano; c) un dipéptido, tal como Ala-Gly, Gly-Ala, L-alanil-L-glutamina, Ala-Tyr, Tyr-Ala, Ala-Gln, Gln-Ala, Gly-Tyr, Tyr-Gly, Ile-Tyr, Tyr-Ile, Ile-Trp, Lys-Trp, Lys-Glu, Glu-Tyr, Ile-Leu y Leu-Ile; d) un ácido carboxílico, ácido dicarboxílico o ácido policarboxílico orgánicos, tales como los seleccionados del grupo que consiste en ácido cítrico, ácido tiodipropiónico, ácido glucónico, ácido glucurónico, ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido succínico, ácido láctico, ácido málico, ácido adípico, ácido transconítico, ácido benzoico, ácido caprílico, ácido úrico, ácido cólico, ácido tartárico, ácido linoleico, ácido nicotínico, ácido oleico, ácido pectínico, ácido propiónico, ácido salicílico, ácido sórbico, ácido esteárico; e) un monosacárido o un disacárido, tales como los seleccionados del grupo que consiste en glucosa, lactosa, maltosa, sacarosa, fructosa, manitol, sorbitol, ribosa y sorbosa; y f) un compuesto orgánico, tal como los seleccionados del grupo que consiste en 2-pirrolidinona, cafeína, sacarina, N,N,N',N'-tetrabutiltereftalamida, N,N,N',N'-tetraetiltereftalamida, N,N,N',N'-tetrapropiltereftalamida, urea, propilenglicol, niacinamida (nicotinamida), piridoxina, riboflavina, tiamina (tiamina) y acetato de alfa-tocoferol (acetato de Vitamina E). En un aspecto de lo anterior, el ligando se selecciona del grupo que consiste en ácido cítrico, ácido tiodipropiónico, ácido glucónico, ácido glucurónico, ácido ascórbico, cafeína, glucosa, glutatión, lactosa, ácido láctico, ácido málico, maltosa, ácido succínico, ácido úrico, ácido cítrico, éster metílico de L-tirosina, éster dimetílico de cistina y sacarina. En una variación, el ligando se selecciona del grupo que consiste en un aminoácido, ácido cítrico, ácido tiodipropiónico, ácido glucónico, ácido glucurónico, ácido ascórbico, cafeína, glucosa, glutatión, lactosa, ácido láctico, ácido málico, maltosa, ácido succínico, ácido úrico, ácido cítrico, éster metílico de L-tirosina, éster dimetílico de cistina y sacarina. En un aspecto, el DNC se prepara a partir del compuesto de Fórmula I y un ligando como se describe en la presente memoria. En un aspecto del compuesto anterior, M es Zn o Cu.

Como se describe en la presente solicitud, los DNC se representan o describen, por ejemplo, como una estequiometría 1:1 simplemente para representar los DNC independientemente de la estequiometría. Es decir, los DNC se pueden formar o preparar independientemente de la estequiometría. Por ejemplo, los DNC se pueden formar a partir del compuesto de Fórmula I con 1, 2 o 3 ligandos, dependiendo de la naturaleza del metal, el agente quelante y la estequiometría relativa de los reactivos añadidos para formar el DNC. De manera similar, los DNC pueden comprender 1, 2 o 3 quelatos metálicos con uno o más ligandos como se describe en la presente memoria.

Los DNC de la presente solicitud, tales como los preparados a partir del compuesto de Fórmula I anterior, se pueden preparar como se describe generalmente a continuación:



En un aspecto del DNC anterior; R³ y R⁴ son cada uno independientemente H, alquilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido, arilo C₅-C₁₀ sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)arilo C₆-C₁₀ sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-C(O)- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-S(O)₁₋₂- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-NR'C(O)- sustituido o no sustituido y alcoxi(C₁-C₆)-C(NR'')- sustituido o no sustituido, o R¹ y R² junto con los átomos de carbono a los que están anclados forman un anillo carbocíclico de 5 o 6 miembros;

R¹ es H y R² se selecciona del grupo que consiste en alquilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido, arilo C₅-C₁₀ sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)arilo C₆-C₁₀ sustituido o no sustituido, heterociclilo sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)heterociclilo, alquil(C₁-C₆)-C(O)- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-S(O)₁₋₂- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-NR'C(O)- sustituido o no sustituido y alcoxi(C₁-C₆)-C(NR'')- sustituido o no sustituido y

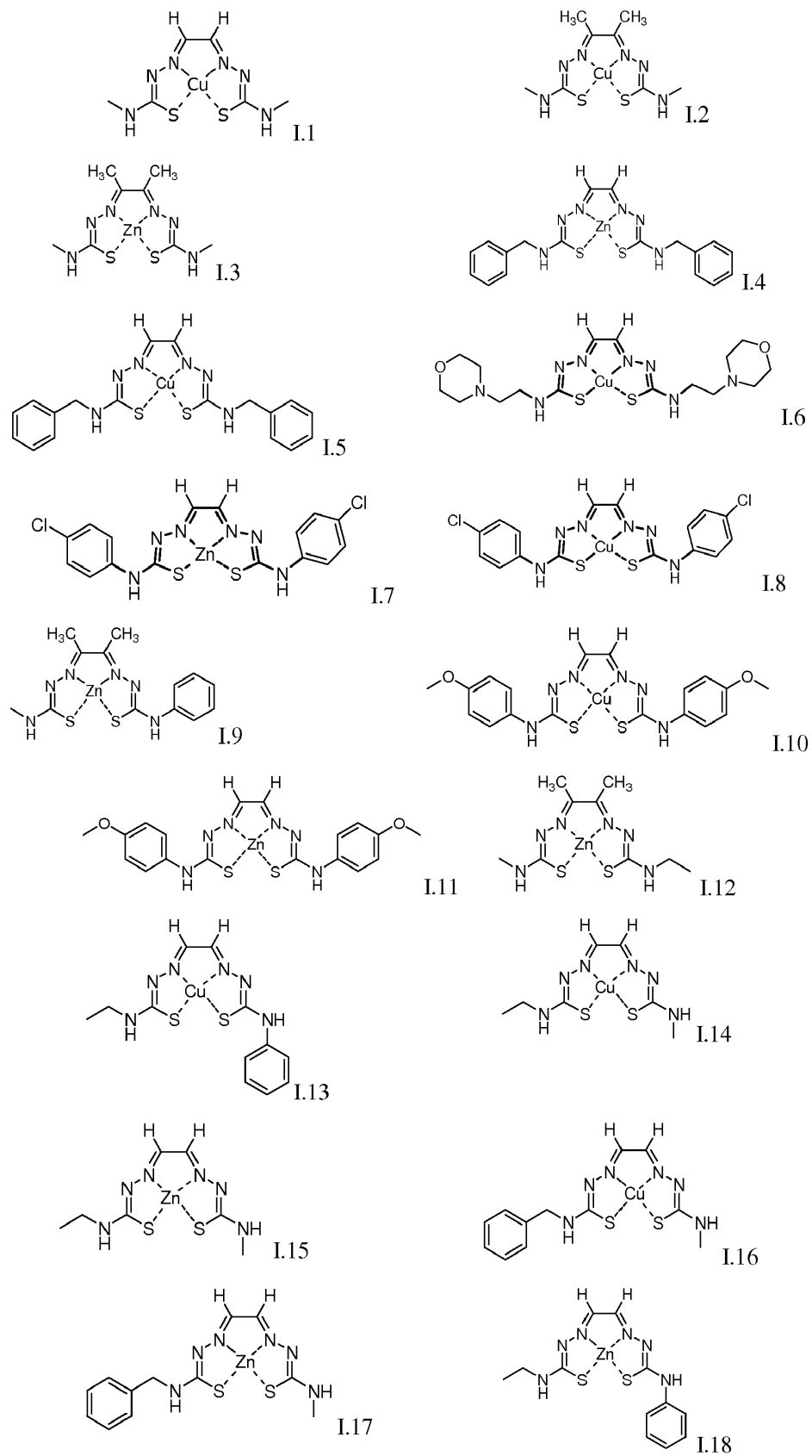
R⁵ es H y R⁶ se selecciona del grupo que consiste en alquilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido, arilo C₅-C₁₀ sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)arilo C₆-C₁₀ sustituido o no sustituido, heterociclilo sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)heterociclilo, alquil(C₁-C₆)-C(O)- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-S(O)₁₋₂- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-NR'C(O)- sustituido o no sustituido y alcoxi(C₁-C₆)-C(NR'')- sustituido o no sustituido.

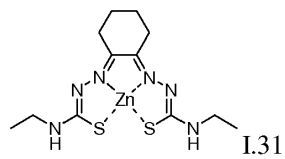
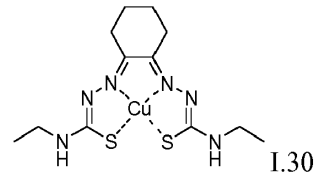
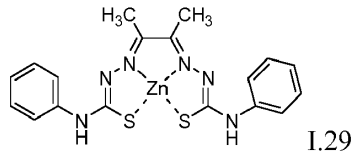
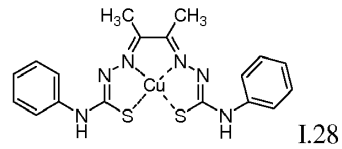
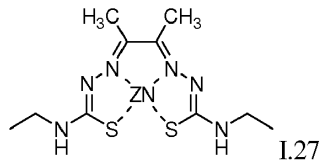
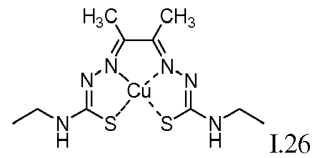
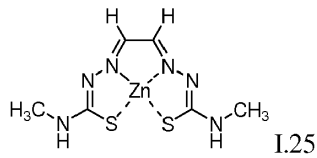
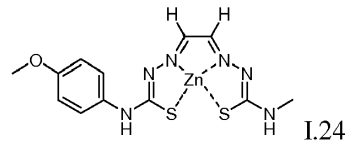
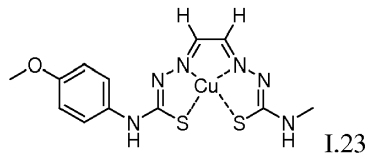
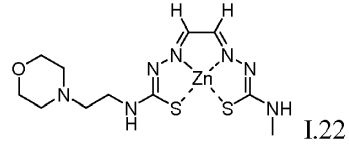
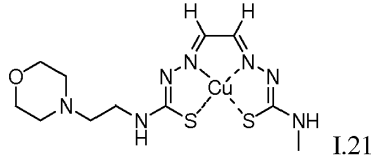
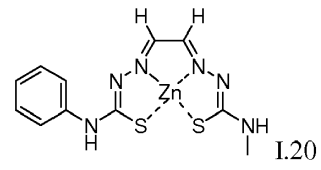
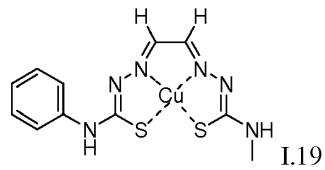
En otro aspecto del DNC, R³ y R⁴ son cada uno independientemente H, alquilo C₁₋₃ o R³ y R⁴ junto con los átomos de carbono a los que están anclados forman un grupo ciclohexilo C₆; y R⁵ y R⁶ se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en alquilo C₁₋₃, -C₆H₅, p-C₁-C₆H₄, p-MeO-C₆H₄, alquil(C₁₋₂)-C₆H₅, alquil(C₁₋₂)-p-Cl-C₆H₄, alquil(C₁₋₂)-p-MeO-C₆H₄ y alquil(C₁₋₂)-morfolino. En una variación de lo anterior, R³ y R⁴ se seleccionan cada uno independientemente entre H, metilo o etilo. En otra variación, cada R⁵ y R⁶ es independientemente metilo, etilo, -C₆H₅, -CH₂-C₆H₅, p-MeO-C₆H₄- y -CH₂CH₂-N-morfolino. En una variación del compuesto anterior, R¹ y R⁵ son hidrógeno y R² y R⁶ son iguales. En otra variación de lo anterior, el compuesto está sustituido simétricamente. En una variación, el compuesto se sustituye simétricamente para formar un eje C₂ de simetría rotacional.

En un aspecto de lo anterior, el ligando se selecciona del grupo que consiste en ácido cítrico, ácido tiodipropiónico, ácido glucónico, ácido glucurónico, ácido ascórbico, cafeína, glucosa, glutatión, lactosa, ácido láctico, ácido málico, maltosa, ácido succínico, ácido úrico, ácido cítrico, éster metílico de L-tirosina, éster dimetílico de cistina y sacarina. En una variación, el ligando se selecciona del grupo que consiste en un aminoácido, ácido cítrico, ácido tiodipropiónico, ácido glucónico, ácido glucurónico, ácido ascórbico, cafeína, glucosa, glutatión, lactosa, ácido láctico, ácido málico, maltosa, ácido succínico., ácido úrico, ácido cítrico, éster metílico de L-tirosina, éster dimetílico de cistina y sacarina. En una variación del DNC, el ligando se selecciona del grupo que consiste en ácido glucónico, ácido cítrico, éster metílico de L-tirosina, éster di-metílico de cistina y sacarina. En una variación del DNC, el ligando es ácido glucónico.

En otro aspecto de lo anterior, R³ y R⁴ son cada uno independientemente H, alquilo C₁₋₃ o junto con los átomos de carbono a los que están anclados forman un grupo ciclohexilo C₆; y R⁵ y R⁶ se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en alquilo C₁₋₃, -C₆H₅, p-Cl-C₆H₄, p-MeO-C₆H₄, alquil(C₁₋₂)-C₆H₅, alquil(C₁₋₂)-p-Cl-C₆H₄, alquil(C₁₋₂)-p-MeO-C₆H₄ y alquil(C₁₋₂)-morfolino.

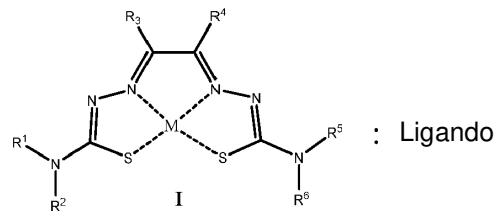
En otro aspecto del DNC anterior, el compuesto de la Fórmula I se selecciona del grupo que consiste en I.1 a I.31:





5

En una tercera realización, la solicitud describe un derivado no covalente (DNC) de un compuesto de Fórmula Ia con un ligando metalado:

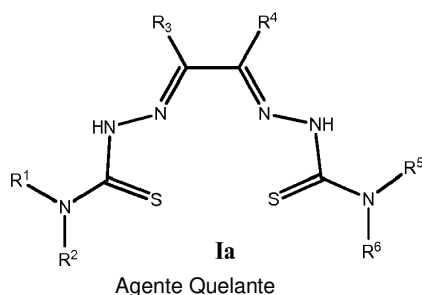


Derivado No Covalente

en donde el DNC se forma a partir de un compuesto de fórmula Ia y un ligando metalado, en donde:

El compuesto de la Fórmula Ia es:

10



El ligando se selecciona del grupo que consiste en: a) un aminoácido, tal como los seleccionados del grupo que consiste en alanina, arginina, asparragina, ácido aspártico, cisteína, ácido glutámico, glutamina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, ornitina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina y valina; b) un éster de un aminoácido, tal como los seleccionados del grupo que consiste en éster etílico de alanina, éster etílico de arginina, éster metílico de arginina, éster etílico de cisteína, éster dimetílico de cistina, éster etílico de glicina, éster etílico de fenilalanina, éster etílico de tirosina, éster metílico de L-tirosina, éster metílico de tirosina y éster etílico de triptófano; c) un dipéptido, tal como Ala-Gly, Gly-Ala, L-alanil-L-glutamina, Ala-Tyr, Tyr-Ala, Ala-Gln, Gln-Ala, Gly-Tyr, Tyr-Gly, Ile-Tyr, Tyr-Ile, Ile-Trp, Lys-Trp, Lys-Glu, Glu-Tyr, Ile-Leu y Leu-Ile; d) un ácido carboxílico, ácido dicarboxílico o ácido policarboxílico orgánico, tales como los seleccionados del grupo que consiste en ácido cítrico, ácido tiodipropiónico, ácido glucónico, ácido glucurónico, ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido succínico, ácido láctico, ácido málico, ácido adípico, ácido transconítico, ácido benzoico, ácido caprílico, ácido úrico, ácido cólico, ácido tartárico, ácido linoleico, ácido nicotínico, ácido oleico, ácido pectínico, ácido propiónico, ácido salicílico, ácido sórbico, ácido esteárico; e) un monosacárido o un disacárido, como los seleccionados del grupo que consiste en glucosa, lactosa, maltosa, sacarosa, fructosa, manitol, sorbitol, ribosa y sorbosa; y f) un compuesto orgánico, tal como los seleccionados del grupo que consiste en 2-pirrolidinona, cafeína, sacarina, N,N,N',N'-tetrabutiltereftalamida, N,N,N',N'-tetraetiltereftalamida, N,N,N',N'-tetrapropiltereftalamida, urea, propilenglicol, niacinamida (nicotinamida), piridoxina, riboflavina, tiamina (tiamina) y acetato de alfa-tocoferol (acetato de Vitamina E). En un aspecto de lo anterior, el ligando se selecciona del grupo que consiste en ácido cítrico, ácido tiodipropiónico, ácido glucónico, ácido glucurónico, ácido ascórbico, cafeína, glucosa, glutatión, lactosa, ácido láctico, ácido málico, maltosa, ácido succínico, ácido úrico, ácido cítrico, éster metílico de L-tirosina, éster dimetílico de cistina y sacarina. En una variación, el ligando se selecciona del grupo que consiste en un aminoácido, ácido cítrico, ácido tiodipropiónico, ácido glucónico, ácido glucurónico, ácido ascórbico, cafeína, glucosa, glutatión, lactosa, ácido láctico, ácido málico, maltosa, ácido succínico, ácido úrico, ácido cítrico, éster metílico de L-tirosina, éster dimetílico de cistina y sacarina. El ligando metalado es una sal metálica del ligando en donde el metal se selecciona del grupo que consiste en Fe, Zn y Cu;

R¹ y R² se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido, alquenilo C₂-C₆ sustituido o no sustituido, alquinilo C₂-C₆ sustituido o no sustituido, arilo C₅-C₁₀ sustituido o no sustituido, heteroarilo C₅-C₁₀ sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)arilo C₆-C₁₀ sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, heterociclilo sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)heterociclilo, alquil(C₁-C₆)-C(O)- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-S(O)₁₋₂- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-NR'(O)- sustituido o no sustituido y alcoxi(C₁-C₆)-C(NR'')- sustituido o no sustituido, hidroxí, hidroxialquilo, alcoxi, -NH(R⁷), -N(R⁷)₂, -COOH, -COR⁷, -COOR⁷, -CONHR⁷, -CSNHR⁷, -S(O)R⁷, -S(O)₂R⁷, -C(O)N(R⁷)₂, -SO₂N(R⁷)₂ y -(CH₂)_mR⁸, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido; o

R¹ y R² cuando se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están anclados forman un grupo heterocicloalquilo o heteroarilo opcionalmente sustituido;

R³ y R⁴ son cada uno independientemente H, alquilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido, alquenilo C₂-C₆ sustituido o no sustituido, alquinilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido, heteroalquilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido, cicloalquilo C₃-C₁₀ sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo C₃-C₁₀ sustituido o no sustituido, arilo C₅-C₁₀ sustituido o no sustituido, heteroarilo C₅-C₁₀ sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)arilo C₆-C₁₀ sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-C(O)- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-S(O)₁₋₂- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-NR'(O)- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-NR'(O)- sustituido o no sustituido y alcoxi(C₁-C₆)-C(NR'')- sustituido o no sustituido, o

R³ y R⁴ junto con los átomos de carbono a los que están anclados forman un anillo carbocíclico de 5 o 6 miembros;

R⁵ y R⁶ se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido, alquenilo C₂-C₆ sustituido o no sustituido, alquinilo C₂-C₆ sustituido o no sustituido, arilo C₅-C₁₀ sustituido o no sustituido, heteroarilo C₅-C₁₀ sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)arilo C₆-C₁₀ sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, heterociclilo sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)heterociclilo, alquil(C₁-C₆)-C(O)- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-S(O)₁₋₂- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-NR'(O)- sustituido o no sustituido y alcoxi(C₁-C₆)-C(NR'')- sustituido o no sustituido, hidroxí, hidroxialquilo, alcoxi, -NH(R⁷), -N(R⁷)₂, -COOH, -COR⁷,

$-\text{COOR}^7$, $-\text{CONHR}^7$, $-\text{CSNHR}^7$, $-\text{S(O)R}^7$, $-\text{S(O)}_2\text{R}^7$, $-\text{C(O)N(R}^7)_2$, $-\text{SO}_2\text{N(R}^7)_2$ y $-(\text{CH}_2)_m\text{R}^8$, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido; o

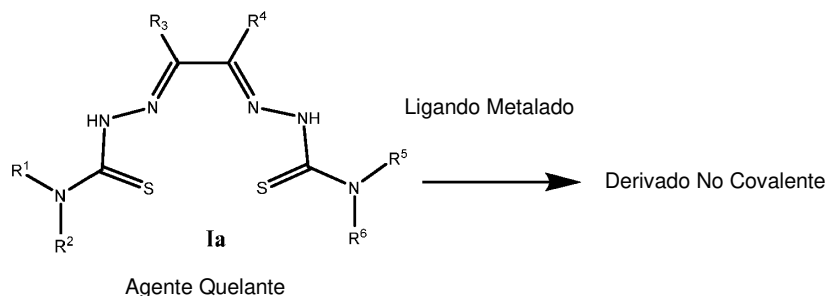
R^5 y R^6 cuando se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están anclados forman un grupo heterocicloalquilo o heteroarilo opcionalmente sustituido;

5 cada R^7 se selecciona independientemente del grupo que consiste en H, alquilo, alquenoilo, alquinilo, haloalquilo, heteroalquilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo, heteroarilo, cicloalquilalquilo, heterocicloalquilalquilo, arilalquilo, heteroarilalquilo y acilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido;

cada R^8 se selecciona independientemente del grupo que consiste en cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo y heteroarilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido;

10 R' y R'' se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en H y alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$; y m es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 1, 2, 3, 4, 5 y 6; y una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una cuarta realización, la solicitud describe un método para preparar el derivado no covalente (DNC) anterior haciendo reaccionar un agente quelante Ia con un ligando metalado:



15 En un aspecto, el ligando metalado es gluconato metálico en donde el metal se selecciona del grupo que consiste en Fe, Cu o Zn. En un aspecto del DNC anterior, R^3 y R^4 son cada uno independientemente H, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$ sustituido o no sustituido, arilo $\text{C}_5\text{-C}_{10}$ sustituido o no sustituido, alquil($\text{C}_1\text{-C}_6$)arilo $\text{C}_6\text{-C}_{10}$ sustituido o no sustituido, alquil($\text{C}_1\text{-C}_6$)- C(O)- sustituido o no sustituido, alquil($\text{C}_1\text{-C}_6$)- S(O)_{1-2} - sustituido o no sustituido, alquil($\text{C}_1\text{-C}_6$)- $\text{NR}'\text{C(O)-}$ sustituido o no sustituido y alcoxi($\text{C}_1\text{-C}_6$)- $\text{C(NR}'')$ - sustituido o no sustituido, o R^1 y R^2 junto con los átomos de carbono a los que están anclados forman un anillo carbocíclico de 5 o 6 miembros; R^1 es H y R^2 se selecciona del grupo que consiste en alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$ sustituido o no sustituido, arilo $\text{C}_5\text{-C}_{10}$ sustituido o no sustituido, alquil($\text{C}_1\text{-C}_6$)arilo $\text{C}_6\text{-C}_{10}$ sustituido o no sustituido, heterociclilo sustituido o no sustituido, alquil($\text{C}_1\text{-C}_6$)heterociclilo, alquil($\text{C}_1\text{-C}_6$)- C(O)- sustituido o no sustituido, alquil($\text{C}_1\text{-C}_6$)- S(O)_{1-2} - sustituido o no sustituido, alquil($\text{C}_1\text{-C}_6$)- $\text{NR}'\text{C(O)-}$ sustituido o no sustituido y alcoxi($\text{C}_1\text{-C}_6$)- $\text{C(NR}'')$ - sustituido o no sustituido y R^5 es H y R^6 se selecciona del grupo que consiste en alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$ sustituido o no sustituido, arilo $\text{C}_5\text{-C}_{10}$ sustituido o no sustituido, alquil($\text{C}_1\text{-C}_6$)arilo $\text{C}_6\text{-C}_{10}$ sustituido o no sustituido, heterociclilo sustituido o no sustituido, alquil($\text{C}_1\text{-C}_6$)heterociclilo, alquil($\text{C}_1\text{-C}_6$)- C(O)- sustituido o no sustituido, alquil($\text{C}_1\text{-C}_6$)- S(O)_{1-2} - sustituido o no sustituido, alquil($\text{C}_1\text{-C}_6$)- $\text{NR}'\text{C(O)-}$ sustituido o no sustituido y alcoxi($\text{C}_1\text{-C}_6$)- $\text{C(NR}'')$ - sustituido o no sustituido.

20 En otro aspecto del DNC, R^1 es H; R^2 es alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$ sustituido o no sustituido; R^3 y R^4 son metilo; R^5 es alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$ sustituido o no sustituido; y R^6 es alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$ sustituido o no sustituido. En un aspecto del DNC, el compuesto de la Fórmula Ia es ATSMH_2 y el ligando metalado es gluconato de cobre. En una variación de lo anterior, el DNC es un DNC de ácido glucónico en estado sólido preparado por la reacción entre un compuesto de Fórmula Ia y un gluconato metálico, en donde el metal se selecciona entre Fe, Cu y Zn. En una variación, el metal es cobre o zinc.

25 En otro aspecto del DNC anterior, el compuesto de la Fórmula Ia es ATSMH_2 y el gluconato metálico es gluconato de cobre(II) o gluconato de zinc (II).

30 En otro aspecto de cada uno de los anteriores, la solicitud describe el DNC anterior, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, opcionalmente en forma de un estereoisómero único o una mezcla de estereoisómeros del mismo. En otro aspecto más, se proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un DNC de cada uno de los anteriores, y un excipiente o sal farmacéuticamente aceptable.

35 En una quinta realización, la solicitud describe un DNC o una composición farmacéutica del mismo de cualquiera de las realizaciones, aspectos y variaciones anteriores para su uso en el tratamiento o profilaxis de una afección en un mamífero en la que el suministro de metal puede prevenir, aliviar o mejorar la afección. En una variación, la afección se selecciona del grupo que consiste en trastornos relacionados con tau, trastornos causados por o asociados con estrés oxidativo y trastornos relacionados con Abeta. En otra variación, la condición está causada o asociada con el estrés oxidativo en el sujeto. En otra variación, la afección es un trastorno relacionado con tau o un trastorno relacionado con Abeta. En otra variación, la afección se selecciona del grupo que consiste en enfermedad

cardiovascular, trastornos del sistema nervioso central, cánceres y enfermedades o trastornos neurológicos. En otra variación, la enfermedad neurológica es una enfermedad neurodegenerativa.

Se ha demostrado que la administración oral de un complejo metálico, tal como CuI-ATSM (o Cu-ATSM, o CuATSM) o un DNC del complejo metálico, es neuroprotectora y restaura el rendimiento motor y la función cognitiva a los ratones lesionados con MPTP (1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina). Además, el tratamiento de Cu-ATSM o el DNC de Cu-ATSM también mejoró la frecuencia de deposición y se correlacionó con la restauración de subpoblaciones neuronales en el plexo mientérico de ratones con lesiones por MPTP. En consecuencia, los pacientes con enfermedades neurológicas, tales como la enfermedad de Parkinson, que experimentan disfunción gastrointestinal tal como estreñimiento, se pueden asociar a la pérdida de poblaciones neuronales junto con la reactividad de las células gliales entéricas dentro del plexo mientérico del tracto gastrointestinal. El tratamiento de estos pacientes con agentes tales como los complejos metálicos, tales como Cu-ATSM, o el DNC de complejos metálicos, tal como el DNC de Cu-ATSM, que son neuroprotectores en el sistema nervioso central, proporciona alivio de síntomas y también da como resultado modificación de la enfermedad en el tracto gastrointestinal.

Como se describe en la presente memoria, varios modelos de roedores de la enfermedad de Parkinson han mostrado disfunción gastrointestinal, que se ha correlacionado con la pérdida de subpoblaciones neuronales dentro del sistema nervioso entérico. Se ha determinado que la administración de MPTP (1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina) causó una reducción significativa en el número de neuronas dopaminérgicas dentro de la sustancia negra pars compacta de ratones C₅₇BL/6. Además, también se detectó una reducción en las subpoblaciones neuronales dentro del plexo mientérico del íleon 21 días después de la lesión y fue concomitante a una reducción en la frecuencia de deposición, indicativa de disfunción digestiva.

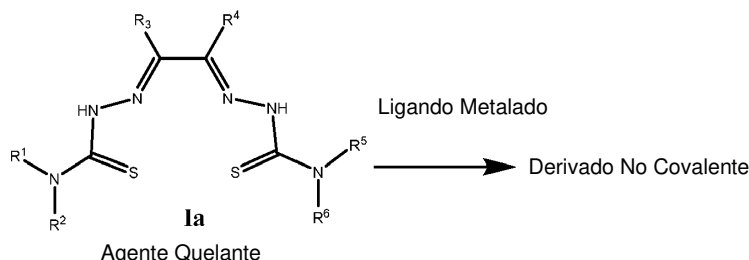
En otro aspecto, la afección es una enfermedad o trastorno gastrointestinales asociados con la afección seleccionada del grupo que consiste en cardiomiopatía inducida por adriamicina; demencia por SIDA y neurotoxicidad inducida por VIH-1; enfermedad de Alzheimer; porfiria aguda intermitente; enfermedad de Alzheimer (EA); esclerosis lateral amiotrófica (ELA); aterosclerosis; catarata; isquemia cerebral; parálisis cerebral; tumor cerebral; daño a órganos inducido por quimioterapia; nefrotoxicidad inducida por cisplatino; cirugía de bypass de la arteria coronaria; enfermedad de Creutzfeldt-Jacob y su nueva variante asociada con la enfermedad de las "vacas locas"; neuropatía diabética; síndrome de Down; ahogo; epilepsia y epilepsia postraumática; ataxia de Friedrich; demencia frontotemporal; glaucoma; glomerulopatía; hemocromatosis; hemodiálisis; hemólisis; síndrome hemolítico urémico (enfermedad de Weil); enfermedad de Menkes; accidente cerebrovascular hemorrágico; enfermedad de Hallerboden-Spatz; ataque al corazón y lesión por reperfusión; enfermedad de Huntington; enfermedad de cuerpos de Lewy; claudicación intermitente; accidente cerebrovascular isquémico; enfermedad inflamatoria intestinal; degeneración macular; malaria; toxicidad inducida por metanol; meningitis (aséptica y tuberculosa); enfermedad de la neuronas motoras; esclerosis múltiple; atrofia multisistémica; isquemia miocárdica; neoplasia; enfermedad de Parkinson; asfisia perinatal; enfermedad de Pick; parálisis supranuclear progresiva (PSP); daño en órganos inducido por radioterapia; reestenosis después de angioplastia; retinopatía; demencia senil; esquizofrenia; septicemia; choque séptico; encefalopatías espongiiformes; hemorragia subaracnoidea/vasoespasma cerebral; hematoma subdural; trauma quirúrgico, neurocirugía incluida; talasemia; ataque isquémico transitorio (AIT); trasplante; demencia vascular; meningitis viral; encefalitis viral; Neuropatías, acrodermatitis enteropática; demencia con cuerpos de Lewy; tauopatías; deterioro cognitivo leve (DCL); enfermedad de la neurona motora (ENM) y enfermedad por priones.

En una variación, la afección es una enfermedad o trastorno gastrointestinal asociados con la afección seleccionada del grupo que consiste en enfermedad cardiovascular, trastornos del sistema nervioso central y trastornos neurológicos. En otra variación, la afección es una enfermedad o trastorno gastrointestinal asociados con un trastorno neurológico. En otra variación, el trastorno neurológico es una enfermedad o trastorno gastrointestinales asociados con la afección seleccionada del grupo que consiste en enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, esclerosis múltiple, neuropatías, enfermedad de Huntington, enfermedad Priónica, enfermedad de la neurona motora, esclerosis lateral amiotrófica (ELA) y enfermedad de Menkes. En otra variación, el trastorno es una enfermedad o trastorno gastrointestinales asociados con la enfermedad de Alzheimer. En otra variación, el trastorno es una enfermedad o trastorno gastrointestinales asociados con la enfermedad de Parkinson. En otra variación, el trastorno es una enfermedad o trastorno gastrointestinales asociados con la esclerosis lateral amiotrófica (ELA). En un aspecto, la afección se selecciona del grupo que consiste en una enfermedad neurológica o una enfermedad neurodegenerativa se selecciona del grupo que consiste en la enfermedad de Alzheimer (EA), esclerosis lateral amiotrófica (ELA), enfermedad de Menkes, esclerosis múltiple, neuropatías, enfermedad de la neurona motora, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, demencia frontotemporal, acrodermatitis enteropática, demencia con cuerpos de Lewy, tauopatías, deterioro cognitivo leve (DCL), parálisis supranuclear progresiva (PSP), enfermedad de la neurona motora (ENM) y enfermedad priónica.

En una variación, R² se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo, arilo y -(CH₂)_mR⁸, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido. En otra variación, m es 1 o 2. En otra variación, R⁸ es arilo o heterocicloalquilo. En otra variación, R⁸ es fenilo o morfolin-4-ilo. En otra variación, R² se selecciona del grupo que consiste en H, metilo, etilo, fenil-metilo, 2-morfolin-4-il-etilo, fenilo, 4-cloro-fenilo y 4-metoxi-fenilo. En otra variación, R⁵ se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo y arilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido. En otra variación, R⁵ es H. En otra variación más, R⁶ se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo, arilo y -(CH₂)_mR⁸, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido. En otra variación, m es 1 o 2. En

otra variación, R⁸ es fenilo o morfolin-4-ilo. En otra variación, R⁶ se selecciona del grupo que consiste en H, metilo, etilo, fenil-metilo, 2-morfolin-4-il-etilo, fenilo, 4-cloro-fenilo y 4-metoxi-fenilo.

En una sexta realización, se proporciona un complejo que comprende un derivado no covalente (DNC) de un quelato metálico, en donde el DNC se forma mediante reacción de un compuesto de Fórmula Ia, el agente quelante, con un Ligando Metalado:



en donde:

El ligando metalado es una sal metálica de un ligando en donde el metal se selecciona del grupo que consiste en Fe, Zn y Cu;

10 El ligando se selecciona del grupo que consiste en: a) un aminoácido, tal como los seleccionados del grupo que consiste en alanina, arginina, asparragina, ácido aspártico, cisteína, ácido glutámico, glutamina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, ornitina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina y valina; b) un éster de un aminoácido, tal como los seleccionados del grupo que consiste en éster etílico de alanina, éster etílico de arginina, éster metílico de arginina, éster etílico de cisteína, éster dimetílico de cistina, éster etílico de glicina, éster etílico de fenilalanina, éster etílico de tirosina, éster metílico de L-tirosina, éster metílico de tirosina y éster etílico de triptófano; c) un dipéptido, tal como Ala-Gly, Gly-Ala, L-alanil-L-glutamina, Ala-Tyr, Tyr-Ala, Ala-Gln, Gln-Ala, Gly-Tyr, Tyr-Gly, Ile-Tyr, Tyr-Ile, Ile-Trp, Lys-Trp, Lys-Glu, Glu-Tyr, Ile-Leu y Leu-Ile; d) un ácido carboxílico, ácido dicarboxílico o ácido policarboxílico orgánico, tal como los seleccionados del grupo que consiste en ácido cítrico, ácido tiodipropiónico, ácido glucónico, ácido glucurónico, ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido succínico, ácido láctico, ácido málico, adípico ácido, ácido transconítico, ácido benzoico, ácido caprílico, ácido úrico, ácido cólico, ácido tartárico, ácido linoleico, ácido nicotínico, ácido oleico, ácido pectínico, ácido propiónico, ácido salicílico, ácido sórbico, ácido esteárico; e) un monosacárido o un disacárido, tales como los seleccionados del grupo que consiste en glucosa, lactosa, maltosa, sacarosa, fructosa, manitol, sorbitol, ribosa y sorbosa; y f) un compuesto orgánico, tal como los seleccionados del grupo que consiste en 2-pirrolidinona, cafeína, sacarina, N,N,N',N'-tetrabutiltereftalamida, N,N,N',N'-tetraetiltereftalamida, N,N,N',N'-tetrapropiltereftalamida, urea, propilenglicol, niacinamida (nicotinamida), piridoxina, riboflavina, tiamina (tiamina) y acetato de alfa-tocoferol (acetato de Vitamina E). En un aspecto de lo anterior, el ligando se selecciona del grupo que consiste en ácido cítrico, ácido tiodipropiónico, ácido glucónico, ácido glucurónico, ácido ascórbico, cafeína, glucosa, glutatión, lactosa, ácido láctico, ácido málico, maltosa, ácido succínico, ácido úrico, ácido cítrico, éster metílico de L-tirosina, éster dimetílico de cistina y sacarina. En una variación, el ligando se selecciona del grupo que consiste en un aminoácido, ácido cítrico, ácido tiodipropiónico, ácido glucónico, ácido glucurónico, ácido ascórbico, cafeína, glucosa, glutatión, lactosa, ácido láctico, ácido málico, maltosa, ácido succínico, ácido úrico, ácido cítrico, éster metílico de L-tirosina, éster dimetílico de cistina y sacarina.

35 R¹ y R² se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido, alqueno C₂-C₆ sustituido o no sustituido, alquino C₂-C₆ sustituido o no sustituido, arilo C₅-C₁₀ sustituido o no sustituido, heteroarilo C₅-C₁₀ sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)arilo C₆-C₁₀ sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, heterociclilo sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)heterociclilo, alquil(C₁-C₆)-C(O)- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-S(O)₁₋₂- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-NR'⁷C(O)- sustituido o no sustituido y alcoxi(C₁-C₆)-C(NR'')- sustituido o no sustituido, hidroxí, hidroxialquilo, alcoxi, -NH(R⁷), -N(R⁷)₂, -COOH, -COR⁷, -COOR⁷, -CONHR⁷, -CSNHR⁷, -S(O)R⁷, -S(O)₂R⁷, -C(O)N(R⁷)₂, -SO₂N(R⁷)₂ y -(CH₂)_mR⁸, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido; o

R¹ y R² cuando se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están anclados forman un grupo heterocicloalquilo o heteroarilo opcionalmente sustituido;

45 R³ y R⁴ son cada uno independientemente H, alquilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido, alqueno C₂-C₆ sustituido o no sustituido, alquino C₁-C₆ sustituido o no sustituido, heteroalquilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido, cicloalquilo C₃-C₁₀ sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo C₃-C₁₀ sustituido o no sustituido, arilo C₅-C₁₀ sustituido o no sustituido, heteroarilo C₅-C₁₀ sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)arilo C₆-C₁₀ sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-C(O)- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-S(O)₁₋₂- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-NR'⁷C(O)- sustituido o no sustituido, o R³ y R⁴ junto con los átomos de carbono a los que están anclados forman un anillo carbocíclico de 5 o 6 miembros;

R⁵ y R⁶ se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido, alqueno C₂-C₆ sustituido o no sustituido, alquino C₂-C₆ sustituido o no sustituido, arilo C₅-C₁₀ sustituido o no sustituido, heteroarilo C₅-C₁₀ sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)arilo C₆-C₁₀ sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, heterociclilo sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)heterociclilo, alquil(C₁-C₆)-C(O)- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-S(O)₁₋₂- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-NR'C(O)- sustituido o no sustituido y alcoxi(C₁-C₆)-C(NR'')- sustituido o no sustituido, hidroxilo, hidroxialquilo, alcoxi, -NH(R⁷), -N(R⁷)₂, -COOH, -COR⁷, -COOR⁷, -CONHR⁷, -CSNHR⁷, -S(O)R⁷, -S(O)₂R⁷, -C(O)N(R⁷)₂, -SO₂N(R⁷)₂ y -(CH₂)_mR⁸, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido; o

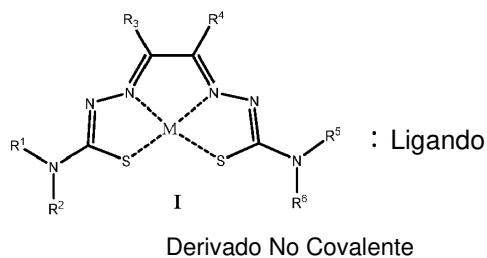
R⁵ y R⁶ cuando se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están anclados forman un grupo heterocicloalquilo o heteroarilo opcionalmente sustituido;

cada R⁷ se selecciona independientemente del grupo que consiste en H, alquilo, alqueno, alquino, haloalquilo, heteroalquilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo, heteroarilo, cicloalquilalquilo, heterocicloalquilalquilo, arilalquilo, heteroarilalquilo y acilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido;

cada R⁸ se selecciona independientemente del grupo que consiste en cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo y heteroarilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido;

R' y R'' se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en H y alquilo C₁-C₆;

m es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 1, 2, 3, 4, 5 y 6; y una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento o la profilaxis de una afección en un sujeto en el que el suministro de metal puede prevenir, aliviar o mejorar la afección, en donde la afección se selecciona del grupo que consiste en trastornos relacionados con tau, trastornos causados por o asociados con el estrés oxidativo y los trastornos relacionados con Abeta. También se proporciona un DNC representada de la siguiente manera:



En un aspecto de lo anterior, la afección es una enfermedad o trastorno gastrointestinal asociados con la afección.

En una variación de lo anterior, el compuesto tiene la Fórmula la en donde: R³ y R⁴ son cada uno independientemente H, alquilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido, arilo C₅-C₁₀ sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)arilo C₆-C₁₀ sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-C(O)- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-S(O)₁₋₂- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-NR'C(O)- sustituido o no sustituido y alcoxi(C₁-C₆)-C(NR'')- sustituido o no sustituido, o R¹ y R² junto con los átomos de carbono a los que están anclados forman un anillo carbocíclico de 5 o 6 miembros; R¹ es H y R² se selecciona del grupo que consiste en alquilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido, arilo C₅-C₁₀ sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)arilo C₆-C₁₀ sustituido o no sustituido, heterociclilo sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)heterociclilo, alquil(C₁-C₆)-C(O)- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-S(O)₁₋₂- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-NR'C(O)- sustituido o no sustituido y alcoxi(C₁-C₆)-C(NR'')- sustituido o no sustituido y R⁵ es H y R⁶ se selecciona del grupo que consiste en alquilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido, arilo C₅-C₁₀ sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)arilo C₆-C₁₀ sustituido o no sustituido, heterociclilo sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)heterociclilo, alquil(C₁-C₆)-C(O)- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-S(O)₁₋₂- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-NR'C(O)- sustituido o no sustituido y alcoxi(C₁-C₆)-C(NR'')- sustituido o no sustituido. En otro aspecto del método, el compuesto tiene la Fórmula la en donde: R¹ es H; R² es alquilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido; R³ y R⁴ son metilo; R⁵ es alquilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido; y R⁶ es alquilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido.

En otro aspecto, el Ligando se selecciona del grupo que consiste en un aminoácido, ácido cítrico, ácido tioldipropiónico, ácido glucónico, ácido glucurónico, ácido ascórbico, cafeína, glucosa, glutatión, lactosa, ácido láctico, ácido málico, maltosa, ácido succínico, ácido úrico, ácido cítrico, éster metílico de L-tirosina, éster dimetílico de cistina y sacarina. En un aspecto de lo anterior, el compuesto de Fórmula la es ATSMH₂ y el Ligando Metalado es gluconato de cobre. En una variación de lo anterior, el DNC es un DNC de ácido glucónico en estado sólido preparado mediante la reacción entre un compuesto de Fórmula la y un gluconato metálico, en donde el metal se selecciona entre Fe, Cu y Zn. En otra variación, el metal es cobre. En una variación, el DNC se prepara a partir del compuesto de Fórmula la y un ligando como se describe en la presente memoria. En una variación del compuesto anterior, el metal es Zn o Cu.

En otro aspecto, la enfermedad neurodegenerativa se selecciona del grupo que consiste en enfermedad de Alzheimer (EA), esclerosis lateral amiotrófica (ELA), enfermedad de Menkes, esclerosis múltiple, neuropatías,

XRPD de los materiales de partida gluconato de cobre(II) y ATSMH₂, y al espectro XRPD de CuATSM. Los espectros se equilibran verticalmente entre sí mediante 10000 recuentos.

La **Figura 6** es una descripción representativa de un DSC de CuATSM: producto de ácido glucónico (1:2) de molienda con bolas de 90 minutos de ASTMH₂ con gluconato de Cu(II).

5 La **Figura 7** es una descripción representativa de un análisis termogravimétrico (TGA) de CuATSM: producto de ácido glucónico (1:2) de molienda de bolas de 90 minutos de ASTMH₂ con gluconato de Cu(II).

La **Figura 8** es una descripción representativa de las solubilidades de los derivados no covalentes de CuATSM en diversos tampones, determinados a partir de los espectros de solución después de 20 horas de incubación del tampón con el compuesto sólido.

10 La **Figura 9** es una descripción representativa de los tiempos promedio de elevación hasta alambre de ratones tratados, lesionados con MPTP.

La **Figura 10** es una descripción representativa del recuento de células positivas para rojo neutro en sustancia negra de ratones tratados, lesionados con MPTP.

15 La **Figura 11** es una descripción representativa de la concentración cerebral promedio de Cu-63 en ratones tratados, lesionados con MPTP.

La **Figura 12** es una descripción representativa de la concentración plasmática promedio de Cu-63 en ratones tratados, lesionados con MPTP.

La **Figura 13** es una descripción representativa de ciertos resultados para una comparación de la frecuencia de deposición entre el vehículo y el tratamiento con Cu-ATSM.

20 Descripción detallada de la solicitud

La presente solicitud describe el uso de DNC de complejos metálicos que son capaces de suministrar metal a sitios biológicos, tejidos o células en los que el metal se agota en un paciente. Varios procesos biológicos importantes mediados por metales, tales como las enzimas mediadas por metales, se producen en las células en lugar de en la matriz extracelular. En una realización, los metales se suministran en forma de DNC de complejos metálicos que pueden penetrar en la célula para garantizar que el metal actúe en la célula en lugar de en el entorno extracelular. Además, los DNC estables de la presente solicitud suministran el metal a la célula de manera que, tras la administración a un paciente, el metal no se libera en el entorno extracelular. Una ventaja adicional del uso de los DNC de complejos metálicos sobre el ion metálico libre o "desnudo" es que el suministro del metal puede ser dirigido, lo que reduce la posibilidad de que se observen efectos secundarios no deseados (por ejemplo, toxicidad por cobre). Varios DNC de complejos metálicos cumplen estos criterios.

Las propiedades de los complejos metálicos como sus complejos que no son DNC se conservan típicamente en la disolución del DNC de complejos metálicos, de modo que se mantienen las propiedades inherentes de los complejos metálicos que no son DNC, que incluyen, pero no se limitan a la captación celular, la biodisponibilidad, la capacidad de cruzar la barrera hematoencefálica, el potencial redox o la eficacia terapéutica. En un aspecto, el DNC de complejos metálicos se puede administrar como un sólido o un sólido disperso en agua, sin la necesidad de una formulación adicional.

Métodos de tratamiento, mejora y/o profilaxis:

Se ha demostrado que los DNC de complejos metálicos de la presente solicitud son eficaces como agentes de suministro de metales, particularmente agentes para el suministro de metales a las células. El DNC de complejos metálicos se puede utilizar en el tratamiento o la profilaxis de una serie de afecciones en las que el suministro de metal puede prevenir, aliviar o mejorar la afección. Existe una serie de afecciones de este tipo. Un ejemplo de afecciones de este tipo son las afecciones asociadas o causadas por el estrés oxidativo. Se sabe que muchos de los mecanismos antioxidantes biológicos protectores implican enzimas catalizadas por metales y, por lo tanto, el suministro de metales puede servir para estimular o reiniciar la actividad de los mecanismos antioxidantes biológicos que conducen a un efecto antioxidante global que se logra. En una realización, la afección asociada o causada por el estrés oxidativo se selecciona del grupo que consiste en afecciones cardiovasculares, cánceres, cataratas, trastornos neurológicos tales como la enfermedad de Alzheimer, enfermedades priónicas, incluida la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (ECJ) y enfermedades cardíacas amiloidogénicas, esclerosis lateral amiotrófica (ELA), encefalopatías espongiiformes transmisibles por priones (EET), cataratas, trastornos mitocondriales, enfermedad de Menkes, enfermedad de Parkinson y enfermedad de Huntington.

En otra realización, el trastorno es un trastorno neuromuscular seleccionado del grupo que consiste en esclerosis lateral amiotrófica (ELA), enfermedad mitocondrial/metabólica y ataxia de Friedreich. En una realización, la afección es una afección neurológica o un trastorno neurodegenerativo.

Además, el DNC de complejos metálicos también se puede utilizar para potenciar los efectos de otros tratamientos,

por ejemplo, para potenciar los efectos neuroprotectores del factor de crecimiento nervioso derivado de cerebro. El DNC de complejos metálicos también se puede utilizar para tratar la Anemia, la Neutropenia, la Mielopatía por deficiencia de Cobre, el Síndrome de deficiencia de Cobre y la Hiperzinquemia. Asimismo, el tratamiento también se dirige a afecciones que inducen daño oxidativo del sistema nervioso central, incluidos trastornos neurológicos agudos y crónicos tales como isquemia cerebral, accidente cerebrovascular (isquémico y hemorrágico), hemorragia subaracnoidea/vasoespasmo cerebral, tumor cerebral, EA, ECJ y su nueva variante asociada con la enfermedad de las "vacas locas", EH, EP, ataxia de Friedrich, cataratas, demencia con formación de cuerpos de Lewy, atrofia multisistémica, enfermedad de Hallerboden-Spatz, enfermedad de cuerpos de Lewy difusa, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de las neuronas motoras, esclerosis múltiple, insomnio familiar fatal, enfermedad de Gertsmann Straussler Sheinker y hemorragia cerebral hereditaria con amiloidosis tipo holandés.

El tratamiento también se dirige al tratamiento de la amiloidosis neurodegenerativa. La amiloidosis neurodegenerativa puede ser cualquier afección en la cual el daño neurológico resulta del depósito de amiloide. El amiloide se puede formar a partir de una variedad de precursores de proteínas o polipéptidos, que incluyen, pero no se limitan a A β , sinucleína, proteína de huntington o priónica. En una realización, la afección se selecciona del grupo que consiste en EA esporádica o familiar, ELA, enfermedad de la neurona motora, catarata, EP, enfermedad de Creutzfeldt-Jacob y su nueva variante asociada con la enfermedad de las "vacas locas", EH, demencia con formación de cuerpos de Lewy, atrofia multisistémica, enfermedad de Hallerboden-Spatz y enfermedad difusa con cuerpos de Lewy.

En otra realización, la amiloidosis neurodegenerativa es una afección relacionada con A β , tal como EA o demencia asociada con síndrome de Down o una de varias formas de formas autosómicas dominantes de EA familiar (revisado en St George-Hyslop, 2000). Lo más preferiblemente, la afección relacionada con A β es la EA. En otra realización, antes del tratamiento, el paciente puede tener una función cognitiva moderada o severamente deteriorada, según lo evaluado mediante la prueba de Escala de Evaluación de EA (ADAS)-cog, por ejemplo, un valor de ADAS-cog de 25 o mayor. Además de ralentizar o detener el deterioro cognitivo de un sujeto, el DNC de complejos metálicos y los métodos de la invención también pueden ser adecuados para su uso en el tratamiento o prevención de afecciones neurodegenerativas, o pueden ser adecuados para aliviar los síntomas de afecciones neurodegenerativas. Si se administra a un paciente que se ha identificado que tiene un mayor riesgo de predisposición a afecciones neurodegenerativas, o a un sujeto que exhibe manifestaciones preclínicas de deterioro cognitivo, tal como deterioro cognitivo leve o deterioro cognitivo progresivo mínimo, estos DNC de complejos metálicos y su uso puede prevenir o retrasar la aparición de síntomas clínicos, además del efecto de ralentizar o reducir la tasa de deterioro cognitivo.

Otra afección que puede ser tratada mediante suministro de metal utilizando el DNC de complejos metálicos de la presente solicitud, es el cáncer. El término "cáncer" describe cualquier conjunto de enfermedades diferentes ligadas a mutaciones genéticas múltiples acumulativas, que dan como resultado la activación de oncogenes y/o la inactivación de genes supresores de tumores y/o ligadas a proliferación celular descontrolada. La causa y el origen de estas mutaciones difiere entre los diferentes tipos de cáncer de órganos del cuerpo humano.

En una realización, la presente solicitud está dirigida al cáncer de cerebro, que incluye un tumor cerebral. Un cáncer o tumor cerebral puede ser un tumor cerebral de tipo glioma o no glioma. Como se emplea en la presente memoria, el término "cáncer" y "tumor" se pueden utilizar indistintamente en la presente memoria. "Cáncer" puede incluir cualquiera de los siguientes estados: glioma, adenoma, blastoma, carcinoma, sarcoma e incluir cualquiera de meduloblastoma, ependimoma, astrocitoma, glioma del nervio óptico, glioma del tronco encefálico, oligodendroglioma, gangliogliomas, craneofaringioma o tumores de la región pineal. La referencia a un "glioma" incluye GMB, astrocitoma y astrocitoma anaplásico o cánceres cerebrales relacionados.

El DNC de complejos metálicos de la presente solicitud también se puede utilizar para tratar trastornos relacionados con tau. La proteína Tau es una proteína importante ya que es la proteína expresada en el sistema nervioso central y juega un papel crítico en la arquitectura neuronal al estabilizar la red de microtúbulos intracelulares. Por lo tanto, cualquier deterioro del papel fisiológico de la proteína tau, ya sea por truncamiento, hiperfosforilación o alteración del equilibrio entre las seis isoformas de tau que se producen naturalmente, es perjudicial para el sujeto y conduce a la formación de ovillos neurofibrilares (NFT), neuritas distróficas e hilos del neuropilo. La subunidad proteica principal de estas estructuras es la proteína tau asociada a microtúbulos. La cantidad de NFT que se encuentra en las autopsias de pacientes con EA se correlaciona con síntomas clínicos, incluido el deterioro intelectual. En consecuencia, la proteína tau juega un papel crítico en la patología de la EA.

Se cree que la actividad de los DNC de complejos metálicos de la presente solicitud que reducen los niveles de fosforilación de tau es el resultado de su capacidad para suministrar metal a las células y, por lo tanto, de su actividad antioxidante. Los complejos que actúan como antioxidantes pueden significar que brindan protección contra el EO, lo cual es deseable ya que el EO puede conducir a una hiperfosforilación de tau y disfunción celular. Como consecuencia, la capacidad de estos complejos para suministrar metales biológicamente importantes a las células les permite funcionar como antioxidantes (especialmente cuando el estrés oxidativo es causado por la deficiencia de metales), lo que a su vez significa que los complejos metálicos pueden tener la capacidad de prevenir (o tratar) tauopatías. Existe una serie de trastornos o afecciones que se reconocen como trastornos de tau o, más coloquialmente Tauopatías. Los trastornos de este tipo incluyen el síndrome de Richardson, la Parálisis Supranuclear Progresiva, la enfermedad de granos Argirófilos, la degeneración corticobasal, la enfermedad de Pick,

la demencia frontotemporal relacionada con el parkinsonismo ligado al cromosoma 17 9FTDP-17), el parkinsonismo post encefalítico (PEP), la demencia pugilística, el síndrome de Down, la enfermedad de Alzheimer, la demencia Familiar Británica, la demencia Familiar Danesa, la enfermedad de Parkinson, el Complejo de la enfermedad de Parkinson de Guam (PDC), la distrofia miotónica, la enfermedad de Hallevorden-Spatz y Niemann-Pick tipo C.

5 El DNC de complejos metálicos también se puede utilizar en el tratamiento de un trastorno relacionado con Abeta. Se conocen varios trastornos de Abeta, incluidos trastornos seleccionados del grupo que consiste en enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, esclerosis múltiple, neuropatías, enfermedad de Huntington, enfermedad Priónica, enfermedad de neurona motora, esclerosis lateral amiotrófica (ELA), enfermedad de Menkes y amiloidosis.

10 Puesto que también se ha demostrado que los DNC de complejos metálicos son capaces de suministra metal a las células, tienen la capacidad de influir en las metaloproteinasas de la matriz (MMP). Las metaloproteinasas de la matriz (MMP) son una familia de endopeptidasas secretadas o ancladas a la membrana dependientes de zinc y calcio que desempeñan varias funciones biológicas importantes. Las MMP están implicadas en muchos procedimientos fisiológicos, pero también participan en los mecanismos fisiopatológicos responsables de una amplia gama de enfermedades. La expresión patológica y la activación de las MMP están asociadas con el cáncer, la aterosclerosis, el accidente cerebrovascular, la artritis, la enfermedad periodontal, la esclerosis múltiple y la fibrosis hepática.

15 Además de ralentizar o detener el deterioro cognitivo de un sujeto, el DNC de complejos metálicos y los métodos de la invención también pueden ser adecuados para su uso en el tratamiento, prevención o alivio de enfermedades o trastornos gastrointestinales (GI), tales como el estreñimiento. Si se administra a un paciente que se ha identificado que tiene un mayor riesgo de predisposición a afecciones neurodegenerativas y enfermedad o trastorno gastrointestinal, o a un sujeto que exhibe manifestaciones preclínicas de deterioro cognitivo y enfermedad o trastorno gastrointestinal asociado, estos complejos metálicos y su uso pueden ser capaces de prevenir o retrasar la aparición de síntomas clínicos, además del efecto de ralentizar o reducir la tasa de deterioro cognitivo, junto con la prevención del tratamiento o el alivio de la enfermedad o trastorno gastrointestinal. Si bien se señalan ciertos mecanismos de acción propuestos en la presente memoria, los autores de la presente invención no desean estar limitados por ningún mecanismo de acción propuesto o sugerido en la presente invención.

20 En un aspecto, los DNC se pueden administrar mediante métodos orales o no orales, a un mamífero sin requerir la formulación con excipientes, solubilizantes y similares que no son aceptables para uso humano.

Administración de DNC de complejos metálicos:

30 La administración de DNC de complejos metálicos de Fórmula I, o Ib a seres humanos puede realizarse por cualquiera de los modos de administración aceptados bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, se pueden administrar mediante administración enteral, tal como oral o rectal, o mediante administración parenteral, tal como las vías subcutánea, intramuscular, intravenosa e intradérmica. La inyección puede ser en bolo o por infusión constante o intermitente. El DNC de un complejo metálico se incluye típicamente en un portador o diluyente farmacéuticamente aceptables y en una cantidad suficiente para administrar al sujeto una dosis terapéuticamente eficaz.

35 El DNC de complejos metálicos se puede administrar en cualquier forma o modo que haga que el complejo esté biodisponible. Un experto en la técnica de preparación de formulaciones puede seleccionar fácilmente la forma y el modo de administración apropiados dependiendo de las características concretas del complejo seleccionado, la afección que se vaya a tratar, el estadio de la afección que se vaya a tratar y otras circunstancias relevantes. Véase Remington's Pharmaceutical Sciences, 19ª edición, Mack Publishing Co. (1995). En un aspecto, el DNC de complejos metálicos se puede administrar solo o en forma de una composición farmacéutica combinada con un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptables.

40 Las composiciones farmacéuticas del DNC de complejos metálicos para inyección parenteral comprenden soluciones, dispersiones, suspensiones o emulsiones acuosas o no acuosas estériles farmacéuticamente aceptables, así como polvos estériles para su reconstitución en soluciones o dispersiones inyectables estériles inmediatamente antes de su uso. Los ejemplos de portadores, diluyentes, disolventes o vehículos acuosos y no acuosos adecuados incluyen agua, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol y similares) y mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales (tales como aceite de oliva) y ésteres orgánicos inyectables tales como oleato de etilo. Estas composiciones que comprenden el DNC de complejos metálicos también pueden contener coadyuvantes tales como conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes dispersantes.

45 Las formas de dosificación sólidas para administración oral incluyen cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos y gránulos. En tales formas de dosificación sólidas, el complejo activo se mezcla con al menos un excipiente o portador inerte, farmacéuticamente aceptable, tal como citrato de sodio o fosfato dicálcico y/o a) cargas o expansores tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y ácido silícico, b) aglutinantes tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y acacia, c) humectantes tales como glicerol, d) agentes disgregantes tales como agar-agar, carbonato cálcico, almidón de patata o tapioca, ácido

algúnico, ciertos silicatos y carbonato de sodio, e) agentes retardadores de la solución tales como parafina, f) aceleradores de la absorción como compuestos de amonio cuaternario, g) agentes humectantes como, por ejemplo, alcohol cetílico y monoestearato de glicerol, h) absorbentes como caolín y arcilla de bentonita, e i) lubricantes tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato de sodio y mezclas de los mismos. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, la forma de dosificación también puede comprender agentes tamponadores.

En otro aspecto, los DNC de complejos metálicos que están marcados con isótopos radiactivos, tales como los isótopos de cobre, incluidos Cu-60, Cu-61 Cu-62 o Cu-64, se pueden utilizar como radiofármacos para la generación de imágenes de hipoxia y la generación de imágenes de flujo sanguíneo. El DNC radiomarcado de los complejos metálicos de la presente solicitud se puede utilizar en estudios de tomografía por imagen de positrones (PET) ya que los complejos tienen una mayor retención en las células hipóxicas. Los DNC radiomarcados de complejos metálicos se pueden utilizar como agentes en estudios clínicos de cáncer de pulmón, cáncer de cuello uterino, gliomas y otros tipos de cáncer ((Zeglis, Houghton, Evans, Viola-Villegas y Lewis, 2014) (Lopci et al., 2014) (Anderson y Ferdani, 2009; Dearling y Packard, 2014; Dunphy y Lewis, 2009; Grassi et al., 2014; Jacobson y Chen, 2013; Lewis et al., 2008; Mees, Dierckx, Vangestel y Van de Wiele, 2009; Wadas, Wong, Weisman y Anderson, 2010; Zhu y Shim, 2011)).

Los exámenes no exclusivos y representativos de ciertos quelantes de bis (tiosemicarbazona) (XTSC) se muestran en la Tabla a continuación.

Tabla: Ejemplos no exclusivos de quelante de bis(tiosemicarbazona), "XTSC".

Quelante	R ² = R ⁶	R ¹ = R ⁵	R ³	R ⁴
ATS	H	H	CH ₃	CH ₃
ATSM	H	CH ₃	CH ₃	CH ₃
ATSE	H	C ₂ H ₅	CH ₃	CH ₃
GTS	H	H	H	H
GTSM	H	CH ₃	H	H
PTS	H	H	CH ₃	H
PTSM	H	CH ₃	CH ₃	H
PTSM ₂	CH ₃	CH ₃	CH ₃	H
PTSE	H	C ₂ H ₅	CH ₃	H
PTSP	H	C ₆ H ₅	CH ₃	H
DTS	H	H	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅
DTSM	H	CH ₃	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅
CTS	H	H	C ₂ H ₅	CH ₃
CTSM	H	CH ₃	C ₂ H ₅	CH ₃
ETS	H	H	H	C ₂ H ₅
C ^y TSM (también denominado ChexTSM)	H	CH ₃	-C ₄ H ₆ -	

Definiciones:

A menos que se indique específicamente lo contrario en la presente memoria, las definiciones de los términos utilizados son definiciones convencionales utilizadas en la técnica de síntesis orgánica y ciencias farmacéuticas. Las realizaciones, aspectos y variaciones ilustrativas se muestran en las figuras y dibujos, y se pretende que las realizaciones, aspectos y variaciones, y las figuras y dibujos descritos en la presente memoria se consideren ilustrativos y no limitantes.

Como se emplea en la presente memoria, el término "no sustituido" significa que no hay sustituyente o que los únicos sustituyentes son hidrógeno.

El término "opcionalmente sustituido" tal como se emplea en toda la memoria descriptiva indica que el grupo puede estar o no sustituido o fusionado adicionalmente, con uno o más grupos sustituyentes. Los grupos sustituyentes pueden ser uno o más grupos seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, =O, =S, -CN,

-NO₂, -CF₃, -OCF₃, alquilo, alqueno, alquino, haloalquilo, cicloalquilo, cicloalqueno, arilo, heteroarilo, cicloalquilalquilo, arilalquilo, hidroxilo, hidroxialquilo, alcoxi, alcoxialquilo, alcoxiarilo, fenoxi, benciloxi y arilalquilo.

5 "Alquilo" como grupo o parte de un grupo se refiere a un grupo hidrocarbonado alifático lineal o ramificado, tal como un alquilo C₁-C₁₄ (o alquilo C₁₋₁₄), alquilo C₁-C₁₀ o alquilo C₁-C₆, a menos que se indique lo contrario. Los ejemplos de sustituyentes alquilo C₁-C₆ lineales o ramificados incluyen metilo, etilo, n-propilo, 2-propilo, n-butilo, sec-butilo, t-butilo, hexilo y similares.

"Acilo" significa un grupo alquil-CO- o HC(O)- en donde el grupo alquilo se ha descrito en la presente memoria. Los ejemplos de acilo incluyen acetilo y benzoilo. El grupo alquilo es preferiblemente un grupo alquilo C₁-C₆.

10 "Alqueno" como grupo o parte de un grupo denota un grupo hidrocarbonado alifático que contiene al menos un doble enlace carbono-carbono y que puede ser lineal o ramificado con 2-14 átomos de carbono, 2-12 átomos de carbono o 2-6 átomos de carbono en la cadena normal. El grupo puede contener una pluralidad de enlaces dobles en la cadena normal y la orientación alrededor de cada uno es independientemente E o Z. Los grupos alqueno ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, etenilo, propeno, buteno, penteno, hexeno, hepteno, octeno y noneno.

15 "Alcoxi" se refiere a un grupo -O-alquilo en donde alquilo se define en la presente memoria. Preferiblemente el alcoxi es un alcoxi C₁-C₆. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a metoxi y etoxi.

20 "Alquino" como grupo o parte de un grupo significa un grupo hidrocarbonado alifático que contiene un triple enlace carbono-carbono y que puede ser lineal o ramificado, preferiblemente con 2-14 átomos de carbono, más preferiblemente 2-12 átomos de carbono, más preferiblemente 2-6 átomos de carbono en la cadena normal. Las estructuras ilustrativas incluyen, pero no se limitan a, etino y propino.

25 "Aminoácidos" significa los compuestos aminoácidos convencionales que poseen un grupo amino y una función carboxi unidos al mismo carbono e incluyen aminoácidos naturales y no naturales, que incluyen alanina, arginina, asparragina, ácido aspártico, cisteína, ácido glutámico, glutamina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, ornitina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina y valina; y como se describe en la presente memoria.

"Arilo" como grupo o parte de un grupo denota (i) un carbociclo aromático monocíclico o policíclico condensado opcionalmente sustituido (estructura anular que tiene átomos en el anillo que son todos de carbono) y puede tener de 5 a 12 átomos por anillo. Los ejemplos de grupos arilo incluyen fenilo, naftilo y similares.

30 "Cicloalquilo" significa un radical hidrocarbonado cíclico saturado o parcialmente insaturado que tiene de tres a doce átomos de carbono. El cicloalquilo puede incluir grupos cicloalquilo de 5 a 6 miembros, grupos cicloalquilo C₃-C₆, un grupo cicloalquilo de 5 miembros o cicloalquilo de 6 miembros. El término "cicloalquilo" incluye estructuras de cicloalquilo monocíclicas y policíclicas (p. ej., bicíclicas y tricíclicas), en donde las estructuras policíclicas incluyen opcionalmente un anillo de cicloalquilo saturado o parcialmente insaturado fusionado a un anillo de cicloalquilo o heterocíclico saturado, parcialmente insaturado o aromático. El cicloalquilo puede estar opcionalmente sustituido independientemente con uno o más sustituyentes descritos en la presente memoria. Los ejemplos de grupos cicloalquilo incluyen, pero no se limitan a, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, ciclohexadieno, ciclooctilo, decalina y adamantano.

40 "Heteroalquilo" se refiere a un grupo alquilo de cadena lineal o ramificada que puede tener de 2 a 14 carbonos o de 2 a 10 átomos en la cadena, uno o más de los cuales es un heteroátomo seleccionado entre S, O y N. Los heteroalquilos ilustrativos incluyen éteres de alquilo, alquilaminas secundarias y terciarias, sulfuros de alquilo y similares.

45 "Heteroarilo" significa un sistema anular aromático que incluye al menos un N, O, S o P. "Heteroarilo" ya sea solo o como parte de un grupo se refiere a grupos que contienen un anillo aromático (tal como un anillo aromático de 5 o 6 miembros) que tiene uno o más heteroátomos como átomos anulares en el anillo aromático, siendo el resto de los átomos del anillo átomos de carbono. Los heteroátomos adecuados incluyen nitrógeno, oxígeno y azufre. Los ejemplos de heteroarilo incluyen, pero no se limitan a, tiofeno, benzotiofeno, benzofurano, benzimidazol, benzoxazol, benzotiazol, benzisotiazol, piridilo, dihidropiridilo, piridazino, pirimidino, pirazino, s-triazino, oxazolilo, imidazolilo, tiazolilo, isoxazolilo, pirazolilo, isotiazolilo, furanilo, tiofuranilo, tienilo y pirrolilo.

50 Un grupo "heterociclo" o "heterociclilo" o "heterocicloalquilo" significa un radical carbocíclico saturado o parcialmente insaturado de 3 a 8 átomos en el anillo en donde al menos un átomo del anillo es un heteroátomo seleccionado independientemente entre N, O y S, siendo el C el resto de los átomos anulares, donde uno o más átomos anulares pueden estar opcionalmente sustituidos independientemente con uno o más sustituyentes descritos en la presente memoria. En una realización, el heterociclo es un heterociclo de 4-6 miembros, un heterociclo de 5-6 miembros, un heterociclo de 5 miembros o un heterociclo de 6 miembros. Los ejemplos de grupos heterociclilo incluyen, pero no se limitan a, pirrolidilo, tetrahidrotiofuranilo, morfolino, 1,3-diazapano, 1,4-diazapano, 1,4-oxazepano, 1,4-oxatiapano, aziridinilo, azetidino, oxetanilo, piperidinilo, morfolinilo, piperazino, dihidropirano, dihidrofuranilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidropirano, 1-pirrolinilo, 2-pirrolinilo, 3-pirrolinilo, indolinilo, 2H-pirano, 4H-pirano, dioxanilo, 1,3-dioxolanilo,

pirazolinilo, pirazolinilo y pirazolidinilo e imidazolidinilo.

El término "Ligando" o "ligando" se refiere a un radical co-aditivo, co-formador, coordinador, o un compuesto orgánico, como se define en la presente memoria. El compuesto orgánico puede tener un peso molecular de menos de 500.

5 El término "ligando metalado" se refiere a una sal metálica de un ligando, tal como un ligando desprotonado. Los ejemplos representativos no exclusivos pueden incluir un gluconato metálico tal como gluconato de cobre(II) o gluconato de zinc (II); lactato de metal tal como lactato de cobre; citrato de cobre, succinato de cobre, etc., como se describe en la presente memoria.

10 El término "trastorno neurodegenerativo" se refiere a una anomalía en la cual la integridad neuronal está amenazada. La integridad neuronal se puede ver amenazada cuando las células neuronales muestran una menor supervivencia o cuando las neuronas ya no pueden propagar una señal. Las afecciones neurológicas que se pueden tratar con el DNC de complejos metálicos de la presente solicitud incluyen las afecciones que se mencionan en la presente memoria.

15 El término "afección neurológica" se refiere a afecciones en las que diversos tipos de células del sistema nervioso están degenerados y/o han sido dañados como resultado de trastornos o lesiones o riesgos neurodegenerativos. En particular, el DNC de complejos metálicos de la presente solicitud se puede utilizar para el tratamiento de afecciones resultantes, en las que se ha producido daño a las células del sistema nervioso debido a intervenciones quirúrgicas, infecciones, exposición a agentes tóxicos, tumores, déficits nutricionales o trastornos metabólicos. Además, el DNC del complejo metálico se puede utilizar para el tratamiento de las secuelas de trastornos neurodegenerativos, tales como la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, la esclerosis múltiple, la esclerosis lateral
20 amiotrófica, la epilepsia, el abuso de fármacos o la drogadicción (alcohol, cocaína, heroína, anfetaminas o similares), trastornos de la médula espinal, distrofia o degeneración de la retina neural (retinopatías) y neuropatías periféricas, como neuropatía diabética y/o las neuropatías periféricas inducidas por toxinas.

25 "Derivado no covalente" ("DNC", "complejo DNC", "DNC de complejo metálico" o "co-cristal") significa el derivado, complejo o co-cristal derivado del complejo metálico de Fórmula I, Ib como se describe en la presente memoria, y un ligando (un co-aditivo, co-formador, radical de coordinación, compuesto o co-cristal formador) que da como resultado un compuesto, complejo o derivado en donde el complejo metálico y el ligando están coordinados por interacciones intermoleculares no covalentes que dan como resultado la estabilización del derivado no covalente. Tales interacciones a menudo se asocian con la estabilización de proteínas, complejos de enzimas farmacológicas, complejos de ADN y proteínas, etc. Véase, por ejemplo, Meyer, Emmanuel A. et al., *Angewandte Chemie*, Edición internacional (2003), 42(11), 1210-1250; 1433-7851. Inglés. Como se describe en la presente memoria, el producto o resultado de la combinación del compuesto de Fórmula I o Ib con un Ligando es un DNC, co-cristal o complejo que se estabiliza mediante interacciones intermoleculares no covalentes en comparación con derivados o mezclas que carecen de interacciones intermoleculares covalentes. Tales DNC tienen propiedades físicas significativamente diferentes (tales como solubilidad, actividad, etc.) y propiedades electrónicas que una combinación de dos o más compuestos que no forman DNC. Los DNC representativos son descritos por Warner JC. En: Anastas P, Williamson T, editores. *Green chemistry: frontiers in benign chemical synthesis and processes*. London: Oxford University Press; 1998. pág. 336-46. Los DNC de la presente solicitud se pueden representar generalmente, por ejemplo, como "X:Y", lo que significa que es un DNC de X con Y, tal como "I: Ligando", "Ib: Ligando", etc...

35
40 "Derivado no covalente" o "no DNC" o "complejo que no es DNC" o "complejo metálico que no es DNC" significa el complejo metálico como se describe en la presente memoria que no se obtiene o prepara a partir de una combinación del complejo metálico con un ligando como se define en la presente memoria.

"Opcionalmente sustituido" significa que un sustituyente puede no estar sustituido o puede estar sustituido adicionalmente con un sustituyente como se define en la presente memoria.

45 El término "paciente", como se emplea en la presente memoria, se refiere a cualquier animal que tenga una enfermedad o afección que requiera tratamiento o profilaxis con un agente biológicamente activo. El paciente puede ser un mamífero, tal como un ser humano, o puede ser un primate o un no primate no humano, tal como se emplea en las pruebas con modelos animales. Si bien los compuestos son adecuados para su uso en el tratamiento médico de seres humanos, también es aplicable al tratamiento veterinario.

50 La frase "farmacéuticamente aceptable" significa que el compuesto, sustancia o composición son compatibles química y/o toxicológicamente con los otros ingredientes que comprenden una formulación, y/o con el paciente que está siendo tratado.

55 El término "cantidad terapéuticamente eficaz" o "cantidad eficaz" es una cantidad suficiente para efectuar resultados clínicos beneficiosos o deseados. Se puede administrar una cantidad eficaz en una o más administraciones. Una cantidad eficaz suele ser suficiente para paliar, mejorar, estabilizar, revertir, ralentizar o retrasar la progresión del estado de la enfermedad.

En general, los términos "tratamiento" y "profilaxis" significan que afecta a un sujeto, tejido o célula para obtener un

efecto farmacológico y/o fisiológico deseado e incluye: (a) evitar que la afección se produzca en un sujeto que pueda estar predispuesto a la afección, pero aún no se le ha diagnosticado que la tiene; (b) inhibir la afección, es decir, detener su desarrollo; o (c) aliviar o mejorar los efectos de la afección, es decir, causar la regresión de los efectos de la afección.

- 5 El grupo "sustituido", como en "alquilo sustituido o no sustituido", por ejemplo, significa que el grupo alquilo puede estar no sustituido, o sustituido (cuando uno o más hidrógenos en el átomo o grupo se reemplazan por uno o más grupos) con un grupo seleccionado del grupo que consiste en halo (F-, Cl-, Br- o I-), -CN, -NO₂, -OH, -SH, -OCH₃, alquilo C₁-C₆ (p. ej., metilo, etilo, propilo, etc.) o fenilo.

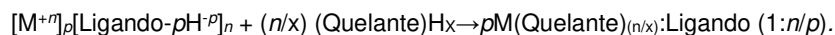
Sección Experimental

- 10 Los métodos para la preparación de los complejos metálicos y sus métodos para el tratamiento de diversas enfermedades y trastornos neurodegenerativos se describen en el documento PCT/AU2007/001792, publicado como documento WO2008/061306. En la presente memoria se proporcionan ejemplos representativos.

Preparación de los complejos metálicos:

- 15 Los complejos de las diversas realizaciones se pueden preparar utilizando las rutas de reacción y los esquemas de síntesis como se describe a continuación, empleando los mecanismos disponibles en la técnica para cada una de las etapas/reacciones individuales y utilizando materiales de partida que están fácilmente disponibles. La síntesis de complejos no ejemplificados se puede realizar mediante modificaciones evidentes para los expertos en la técnica. Se pueden encontrar grupos protectores adecuados en Protective Groups in Organic Synthesis, de T.W. Greene, John Wiley & Sons, 1981.

- 20 Los DNC que consisten en un quelato metálico "M(Quelante)_(n/x)" con un ligando, donde el DNC tiene la fórmula M(Quelante)_(n/x):Ligando (p:n), se pueden preparar mediante mezcla física con presión aplicada, tal como mediante molienda de bolas, molienda con mortero y mano de mortero, u otros procedimientos de mezcla física, un agente quelante, que consiste en el quelante protonado (Quelante)H_x (x = 1, 2, 3, 4, 5, ...), con una cantidad estequiométrica del ligando metalado, típicamente la sal metálica del ligando desprotonado de fórmula
- 25 [M⁺ⁿ]_p[(Ligando-pH)^{-p}]_n, para formar el DNC M(Quelante)_(n/x):Ligando (p:n) del quelato metálico M(quelante)_(n/x) y el Ligando.



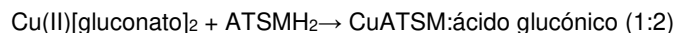
- 30 En un aspecto de la presente solicitud, los DNC se pueden preparar como se describe en las diversas representaciones de la presente memoria independientemente de la estequiometría del quelato metálico:ligando o del agente quelante:ligando metalado. En consecuencia, las razones representativas de p:n pueden incluir 1:1, 1:2, 1:3, 2:1 y 3:1. En un aspecto, las razones de p:n son 1:1 o 1:2.

- 35 Por ejemplo, el método de preparación de co-cristales de complejos de bis(N-alquil-hidrazinocarbotioamida) metal(II) con un ligando que consiste en mezclar físicamente con presión aplicada, tal como molienda de bolas, molienda con un mortero y una mano de mortero, u otros procedimientos de mezcla física, el agente quelante neutro y protonado XTSC₂ con un equivalente de la sal metálica divalente del ligando desprotonado para formar el co-cristal M(II)XTSC: Ligando (1:2) del complejo de bis(N-alquil-hidrazinocarbotioamida) metal(II), M(II)XTSC y el Ligando:



También se proporcionan métodos para formar DNC de complejos metálicos divalentes con ácido glucónico: M(II)[gluconato]₂ + XTSC₂ → MXTSC: ácido glucónico (1:2).

- 40 También se describen métodos para formar CuATSM:ácido glucónico (1:2), mediante la combinación de gluconato de cobre(II) con un equivalente de ATSMH₂ para formar CuATSM:ácido glucónico (1:2), tal como mediante molienda de bolas o molienda con un mortero y una mano de mortero.

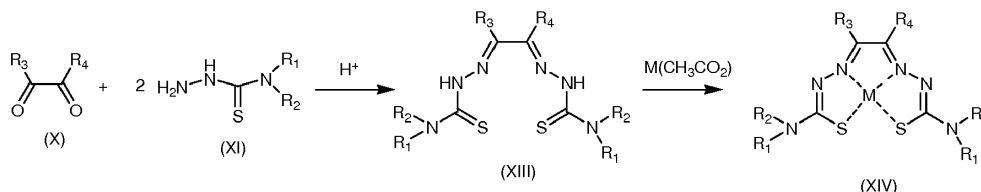


- 45 También se describen métodos para formar CuGTSM:ácido glucónico (1:2), CuPTSM:ácido glucónico (1:2), CuDTSM: ácido glucónico (1:2) y ZnATSM:ácido glucónico (1:2) mediante combinación de gluconato metálico(II) con un equivalente de XTSMH₂: Cu(II) [gluconato]₂ + GTSMH₂ → CuGTSM:ácido glucónico (1:2); Cu(II)[gluconato]₂ + PTSMH₂ → CuPTSM:ácido glucónico (1:2); Cu(II)[gluconato]₂ + DTSMH₂ → CuDTSM:ácido glucónico (1:2); Zn(II)[gluconato]₂ + ATSMH₂ → CuATSM:ácido glucónico (1:2).

- 50 La reacción de la sal metálica (II) del ligando se puede utilizar para formar un DNC con un Ligando para el que el Ligando no se puede aislar fácilmente como un compuesto puro. Se observa que el ácido glucónico no puede aislarse en forma lineal, sino que el ácido glucónico se cicla a δ-lactona de ácido glucónico durante el aislamiento como un compuesto puro, lo que impide la formación de los DNC mediante reacción de M(II)XTSC con ácido glucónico de anillo abierto.

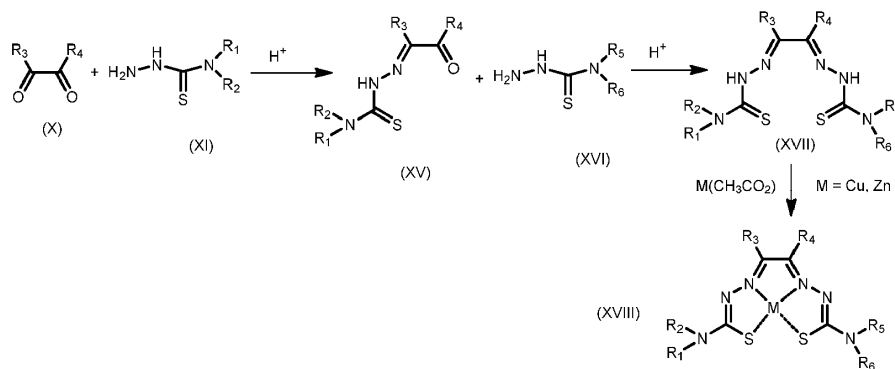
La preparación de ciertos complejos se muestra a continuación en el Esquema 1.

Esquema 1: Formación de bis(tiosemicarbazonas) Simétricas



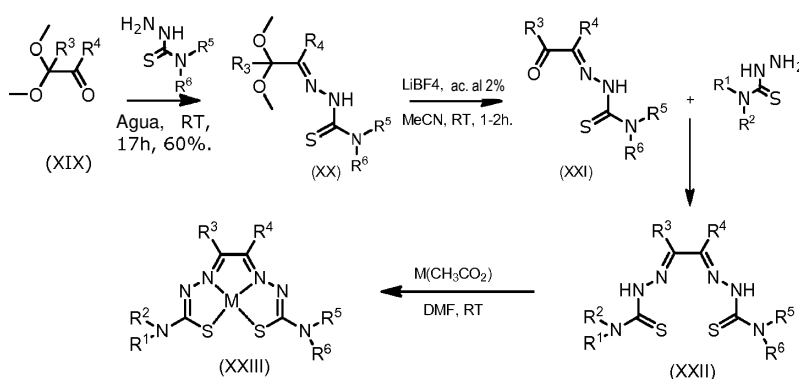
5 La condensación de la diona (X) con dos equivalentes de una tiosemicarbazida (XI) funcionalizada adecuadamente en condiciones ácidas conduce a la formación de bis(tiosemicarbazona) (XIII). La bis(tiosemicarbazona) se puede hacer reaccionar con una sal metálica adecuada, tal como el acetato metálico, para producir el complejo metálico deseado (XIV) y ácido acético. Se puede producir una amplia variedad de tiosemicarbazonas variando los sustituyentes en el radical aldehído o en la semicarbazida.

En el Esquema 2 se muestra un procedimiento alternativo para la preparación no simétrica (bis semicarbazonas):



10 Una diona (X) con un equivalente de tiosemi-carbazida (XI) en condiciones ácidas conduce a la formación del derivado de monotiosemicarbazona (XV). La condensación con un segundo radical tiosemicarbazida (XVI) produce una bis(tiosemicarbazona) (XVII) que se puede hacer reaccionar con una sal metálica tal como el acetato metálico para producir el complejo asimétrico deseado (XVIII).

15 Esquema 3: Formación Alternativa de bis(tiosemicarbazonas) asimétricas.



20 (XIX) se hizo reaccionar con una tiosemicarbazida para proporcionar el mono-aducto, acetal (XX). El acetal se puede escindir oxidativamente para proporcionar el aldehído (XXI) utilizando tetrafluoroborato de litio. La reacción del aldehído (XXI) con una tiosemicarbazida diferente, proporcionó el agente quelante asimétrico deseado (XXII) que a continuación podría convertirse en el complejo metálico (XXIII) utilizando las condiciones convencionales.

Ejemplos

25 Varios materiales de partida y otros reactivos se adquieren de proveedores comerciales, tales como Aldrich Chemical Company o Lancaster Synthesis Ltd. ATSMH₂, [Cu(ATSM)], [Zn(ATSM)], ATSPH₂, [Cu(ATSP)], [Zn(ATSP)]. Otros complejos metálicos se preparan por medio de variaciones de los procedimientos referidos, véanse: 1) P. J. Blower et al., Dalton Trans., 2003, 4416-4425 y sus referencias; 2) J. L. J. Dearling et al., J. Biol. Inorg Chem., 2002,

7, 249 y sus referencias; 3) P. McQuade, K. E. et al., Nucl. Medicina. Biol., 2005, 32, 147.

Las reacciones se llevaron a cabo en aire a menos que se indique lo contrario. Los espectros de RMN H^1 a 400 MHz se obtuvieron en un espectrómetro JEOL AS 400. La HPLC se obtuvo en una HPLC Agilent 1100. Las LC-MS se obtuvieron en un LC-MS Agilent 1260 equipado con detectores UV y MS. El análisis termogravimétrico (TGA) se realizó utilizando un modelo TGA 5000-00228 de TA Instruments con la muestra en nitrógeno. La Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) se realizó en un Q2000-0984 de TA Instruments, con la muestra mantenida bajo nitrógeno y utilizando una sola rampa de temperatura de calentamiento. Los espectros de FTIR se obtuvieron en un aparato Nicolet 6700 FT-IR que funciona en modo de absorbancia, para muestras preparadas en pastillas de KBr, o en modo de reflexión total atenuada (ATR) para muestras sólidas limpias.

Síntesis de ATSMH₂ (quelante libre, también denominado agente quelante). La (2E)-2,2'-(butano-2,3-diilideno)bis-(N-metilhidrazinocarbotoamida), ATSMH₂, se preparó de manera similar a los métodos referidos. A una solución tibia bien agitada de ácido (*Z*)-*n*-metilcarbomohidrazonotioico 1 (0,08 moles) en HCl etanólico al 10% (200 mL), se le añadió gota a gota una solución de diacetilo 2 (0,04 mol) en etanol (25 mL) durante 45 minutos a temperatura ambiente. Una vez completada la adición, se observó una dispersión de color amarillo claro que se calentó a reflujo durante 12 h. Se permitió que la mezcla de reacción alcanzara la temperatura ambiente y el precipitado de color amarillo claro resultante se filtró a vacío, se lavó con agua (3 x 50 mL) seguido de etanol frío (3 x 10 mL) y a continuación se secó a vacío para proporcionar el producto de ATSMH₂ deseado 3, (2E)-2,2'-(butano-2,3-diilideno)bis-(N-metilhidrazinocarbotoamida) en forma de un sólido blanquecino con 84% de rendimiento. La identidad del producto fue confirmada mediante RMN- H^1 (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,56 (s, 1H), 7,80 (s, 1H), 4,41 (s, 2H), 2,86 (d, 3H), 2,20 (s, 3H); LRMS: 261,10 (M+H)⁺.

Los siguientes agentes quelantes libres de XTSMH₂ se prepararon de manera similar: GTSMH₂, PTSMH₂, DTSMH₂ y C^yTSMH₂.

Los compuestos de Fórmula I, la y Ib se prepararon de manera similar a los métodos conocidos como se informa en Inorg. Chem. 2007, 46, 465 (Holland et al., 2007) y J. Biol. Inorg. Chem. 2002, 7, 249 (Dearling, 2002).

Síntesis de diacetil-di(N4-metil)tiosemicarbazona de cobre(II), "CuATSM": a una solución de color amarillo pálido de ATSMH₂ (0,01 moles, 2,60 g) en etanol seco (5 mL) se le añadieron [Cu(OAc)₂] H₂O (0,013 mol, 2,60 g) en porciones durante 10 minutos, cuando la mezcla de reacción comenzó a convertirse en una suspensión de color tostado. La reacción se agitó durante la noche a 60°C. La mezcla de color rojo oscuro resultante se dejó enfriar a temperatura ambiente y el producto sólido se recogió mediante filtración a vacío de la dispersión. El precipitado iridiscente se lavó sucesivamente con etanol (10 mL), agua desionizada (10 mL) y éter dietílico (20 mL), y a continuación se secó a vacío para proporcionar CuATSM como un polvo fino de color pardo rojizo con un rendimiento del 45%. LRMS: 322.01 (M+H)⁺.

La difracción de rayos X de un solo cristal confirmó la identidad del producto como CuATSM sin moléculas disolventes co-cristalizadas. La estructura estaba de acuerdo con la publicada (J. Am. Chem. Soc. 2002, 124, 5270-5271) (Andrew R. Cowley, Dilworth, Donnelly, Labisbal y Sousa, 2002). El CuATSM también se caracterizó por difracción de rayos X de polvo (XRPD).

El CuATSM se caracteriza por una sola exoterma en la DSC a una temperatura de aproximadamente 228°C. La temperatura de la exoterma depende de la velocidad de calentamiento y también muestra alguna variación de lote a lote. El análisis termogravimétrico (TGA) de CuATSM muestra el inicio de la descomposición en aproximadamente 240-245°C, con aproximadamente 34% de sólidos restantes a 600°C. La temperatura de descomposición de TGA depende de la velocidad de calentamiento y también muestra alguna variación de lote a lote. El FTIR de CuATSM de 650 a 4000 cm⁻¹ muestra la absorbancia máxima a 3321,9, 3016,9, 2978,8, 2925,9, 2892,2, 2844,5, 1650,6, 1614,6, 1523,8, 1494,2, 1467,7, 1364,7, 1364,7, 1325,5, 1264,2, 1243,1, 1222,4, 1188,5, 1156,9, 1116,9, 1076,3, 1054,6, 1033,3, 945,6, 888,1, 869,1, 840,7, 728,7, 690,5 y 659,1 cm⁻¹.

La cromatografía (HPLC y LC/MS) de CuATSM se ejecutó utilizando una columna Poroshell 120 EC-C₁₈ 4,6 X 50 mm 2,7 μ m. La fase móvil fue un gradiente de 5% a 100% durante 3 minutos y a continuación se mantuvo en acetonitrilo al 100% durante 1,5 minutos. Los disolventes fueron TFA al 0,05% en acetonitrilo y TFA al 0,05% en agua. La velocidad de flujo fue de 0,75 mL/min y la detección se realizó con un detector UV a 254 nm, 230 nm y un detector de espectrometría de masas de baja resolución. Solo se observa un único pico en la HPLC (detección UV) con un tiempo de elución de aproximadamente 3,3 min. El espectro de masas en el tiempo de elución de 3,3 min muestra un pico base en m/z 322,0, correspondiente a (M+1)⁺ de los iones isotópicos más abundantes posibles de fórmula C₈H₁₅CuN₆S₂⁺, CuATSMH⁺.

La síntesis de CuGTSM: CuGTSM se realizó de manera similar mediante reacción de GTSMH₂ y [Cu(OAc)₂] H₂O. El CuGTSM se caracteriza por una sola exoterma aguda en la DSC a una temperatura de aproximadamente 209°C.

La síntesis de CuDTSM: CuDTSM se realizó de manera similar mediante reacción de DTSMH₂ y [Cu(OAc)₂]H₂O. La síntesis de CuPTSM: CuPTSM se realizó de manera similar mediante reacción de PTSMH₂ y [Cu(OAc)₂]H₂O. La síntesis de CuC^yTSM: CuC^yTSM se realizó de manera similar mediante reacción de C^yTSMH₂ y [Cu(OAc)₂] H₂O.

Síntesis de [Zn(ATSE)]

Se añaden ATSEH₂ (0,134 g) y Zn(CH₃CO₂)₂·H₂O (0,102 g) a etanol (5 mL). La mezcla se calienta a reflujo durante 2 horas bajo nitrógeno y a continuación se enfría a temperatura ambiente. El sólido amarillo que se forma se recoge por filtración y se lava con etanol y éter dietílico para proporcionar [Zn(ATSE)] en forma de un polvo de color amarillo (0,122 g, 76%). El RMN H¹ muestra que el espectro es compatible con el producto deseado.

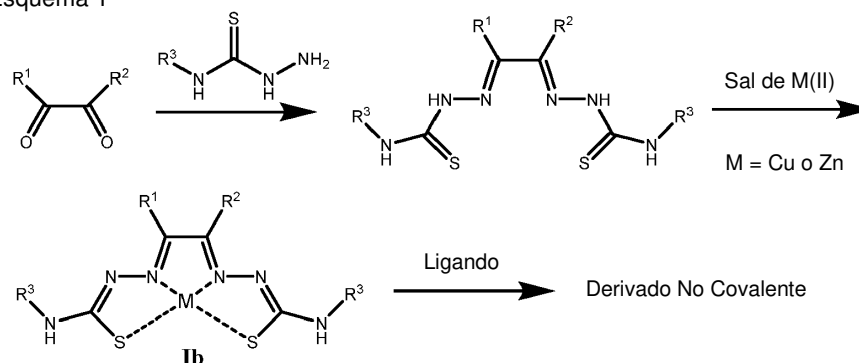
Síntesis de ChexTSE

Se añade 1,2-ciclohexanodiona (0,439 g) a etanol (25 mL) seguido de N4-etil-3-tiosemicarbazida (0,933 g) y unas gotas de H₂SO₄ (conc.). La mezcla se calienta a reflujo bajo una atmósfera de nitrógeno durante 3 horas y a continuación se deja enfriar a temperatura ambiente. Se recoge un precipitado de color amarillo por filtración y se lava con etanol y éter dietílico para obtener ChexTSE en forma de un sólido de color amarillo (0,945 g, 76%). El RMN H¹ muestra que el espectro es compatible con el producto.

Preparación de complejos de DNC, caracterización analítica y evaluación de la Biodisponibilidad, Captación por la Barrera Hematoencefálica, Eficacia en Modelos de Ratón de EP y Pruebas en Animales:

En otro aspecto de esta descripción, los compuestos de Fórmula I y Ib forman materiales de carácter distinto cuando se tratan con un ligando para formar un derivado no covalente, como se representa con Ib, a continuación.

Esquema 1

**Generación sintética de derivados organo-cúpricos no covalentes:**

Los compuestos de Fórmula Ib cuando R¹, R² y R³ son -H y/o metilo se prepararon según Inorg. Chem. 2007, 46, 465 y J. Biol. Inorg. Chem. 2002, 7, 249.

Tabla 1. Compuestos sintetizados.

Compuesto	Síntesis (Número de ejemplo)
CuATSM	Quelato metálico
CuATSM: ácido cítrico (1:1)	EJEMPLO 4
CuATSM: sacarina (1:2)	EJEMPLO 3
CuATSM: ácido glucónico (1:2)	EJEMPLO 7
CuATSM: éster metílico de L-tirosina (1:1)	EJEMPLO 4
CuATSM: éster etílico de alanina (1:1)	EJEMPLO 2
CuATSM: éster di-metílico de L-cistina (1:2)	EJEMPLO 6
CuATSM: ácido tiodipropiónico (1:1)	EJEMPLO 2
CuATSM: ácido málico (1:1)	EJEMPLO 1
CuGTSM	Quelato metálico
CuGTSM: sacarina (1:2)	EJEMPLO 5
CuGTSM: ácido glucónico (1:2)	EJEMPLO 9, EJEMPLO 10
CuGTSM: éster etílico de alanina (1:1)	EJEMPLO 2
CuGTSM: N-tetraetilreftalamida (1:1)	EJEMPLO 2

Compuesto	Síntesis (Número de ejemplo)
CuGTSM: ácido cítrico (1:1)	EJEMPLO 2
CuPTSM	Quelato metálico
CuPTSM: sacarina (1:2)	EJEMPLO 4
CuPTSM: ácido glucónico (1:2)	EJEMPLO 11
CuDTSM	Quelato metálico
CuDTSM: sacarina (1:2)	EJEMPLO 4
CuDTSM: ácido glucónico (1:2)	EJEMPLO 12
CuC ^y TSM	Quelato metálico
ZnATSE	Quelato metálico
ZnATSM: ácido glucónico (1:2)	EJEMPLO 8

Ejemplo 1

Método a pequeña escala de preparación de derivados no covalentes de M-XTSM como un DNC con un radical de coordinación por co-cristalización de una solución estequiométrica en disolvente caliente. A un vial de 30 mL se le añadieron 50 mg de CuATSM (0,155 mmoles), 0,155 mmoles de uno de los ligandos seleccionados y 15 mL de acetona o acetonitrilo. Esta mezcla se sacudió a mano mientras se calentaba el vial en un baño de agua a 74°C hasta que se disolvieron todos los sólidos. La solución se filtró rápidamente mientras todavía estaba caliente a través de un filtro de jeringa de 45 µ en un vial de vidrio limpio. A continuación, el vial se tapó sin apretar y se dejó enfriar a temperatura ambiente. A continuación, se dejó que el disolvente se evaporara lentamente durante varias semanas a temperatura ambiente hasta que se observaron cristales. Los cristales (derivados no covalentes) se aislaron eliminando el líquido restante a través de una pipeta y secando los cristales resultantes a vacío a temperatura ambiente. Los compuestos que se prepararon de esta manera incluyen CuATSM:ácido málico (1:1).

La Figura 1 representa el análisis termogravimétrico (TGA) de un lote concreto de CuATSM cuya estructura tiene la Fórmula I (R^1 y $R^6 = H$; R^2 , R^3 , R^4 y $R^5 = Me$) utilizado para preparar el CuATSM:ácido málico (1:1), y para el cual se muestra el TGA del DNC en la Figura 2.

El análisis termogravimétrico (TGA) de un ligando, Ácido Málico, muestra el inicio de la pérdida de peso a una temperatura más baja, en o a aproximadamente 201°C, con más de 99% de pérdida antes de una temperatura de 250°C.

La Figura 2 representa el análisis de análisis termogravimétrico (TGA) de un derivado no covalente (DNC) (1:1) de CuATSM, CuATSM:ácido málico (1:1).

La pérdida de peso en TGA en función de la temperatura para el derivado no covalente,

La Figura 2 es notable porque la pérdida de peso a una temperatura más baja, es decir, la primera temperatura de descomposición, aproximadamente 236°C, Figura 2, está a una temperatura intermedia entre y claramente diferente de la primera temperatura de descomposición de CuATSM, aproximadamente 259°C, Figura 1, o de ácido málico, 201°C.

Ejemplo 2

Método de preparación de derivados no covalentes de M-XTSM como un DNC con un radical de coordinación por co-cristalización a partir de acetona a temperatura ambiente:

La preparación de derivados no covalentes de M-XTSM de Fórmula I se lleva a cabo mezclando soluciones a temperatura ambiente de MXTSM y el ligando y dejando reposar. En un matraz de fondo redondo de 500 mL equipado con una barra de agitación se disolvió CuATSM (0,166 g, 0,516 mmoles) en 200 mL de acetona a temperatura ambiente, agitando, dando como resultado una solución de CuATSM 0,00258M. Por separado, se preparó una solución de un compuesto coordinador seleccionado en acetona y a continuación se añadió a 20 mL de solución de CuATSM 0,00258 M (0,0516 mmoles de CuATSM) en una bandeja de cristalización. Las soluciones se mezclaron suavemente y a continuación la bandeja de cristalización se cubrió ligeramente con papel de aluminio y se dejó evaporar lentamente durante el transcurso de varias semanas hasta que se observaron cristales. A continuación, se aislaron los cristales eliminando cualquier líquido restante mediante una pipeta y secando los cristales resultantes al vacío. Se preparó un DNC de CuATSM y sacarina disolviendo 22,7 mg (0,124 mmoles) de sacarina en 2 mL de acetona y añadiendo la solución resultante a 20 mL de CuATSM 0,00258 M (0,0516 mmoles)

en acetona. Se obtuvo un polvo de color marrón (26,2 mg) después de la evaporación lenta del disolvente y el secado de los cristales aislados.

Los compuestos preparados de una manera similar incluyen: CuATSM:Éster Etilico de Alanina (1:1), CuATSM: Ácido tioldipropiónico (1:1), CuGTSM: Éster etílico de alanina (1:1), CuGTSM: N-tetraetil tereftalamida (1:1) y CuGTSM: Ácido cítrico (1:1).

Ejemplo 3

Preparación a gran escala con disolvente caliente de derivados no covalentes de M(II)XTSM. A una suspensión de CuXTSM (1,0 mmoles) de Fórmula I ($M = \text{Cu}$; R^1 y $R^6 = \text{H}$; R^2 y $R^5 = \text{Me}$) en acetona (3 L) se le añadió el ligando a la razón estequiométrica apropiada de 1:1 o 1:2 dependiendo del ligando. La dispersión resultante se mezcló vigorosamente mientras se calentaba en un baño de agua mantenido a 70°C hasta que esencialmente todos los sólidos se hubieron disueltos en la acetona. La solución caliente se filtró rápidamente a través de un filtro de jeringa de $45\ \mu$ en un matraz de fondo redondo. El volumen del disolvente se redujo a aproximadamente la mitad. La solución restante se transfirió a una bandeja de cristalización, se tapó sin apretar y se dejó enfriar y evaporar lentamente hasta que se observaron cristales. Los cristales se filtraron, se lavaron varias veces con acetona y se secaron a vacío para proporcionar los DNC. El CuATSM:sacarina (1:2) se preparó de acuerdo con este procedimiento, mediante reacción de 0,322 g (1,0 mmoles) de CuATSM con 0,366 g (2,0 mmoles) de sacarina.

El DSC del CuATSM:sacarina (1:2) así formado, el CuATSM y la sacarina se muestran en la Figura 3. El DSC del CuATSM:sacarina (1:2) así formado muestra una endotermya aguda a aproximadamente 149°C , que es diferente de la fuerte exotermya de CuATSM en o a aproximadamente 228°C , y también es distinta de la de sacarina que consiste en una serie de endotermyas mucho más pequeñas en la región de aproximadamente $120\text{-}160^\circ\text{C}$.

Ejemplo 4

El CuATSM:ácido cítrico (1:1), el CuATSM:éster metílico de L-tirosina (1:1), el CuDTSM:sacarina (1:2) y el CuPTSM:sacarina (1:2) se prepararon de manera similar a los métodos del Ejemplo 3.

El CuDTSM:sacarina (1:2) y el CuPTSM:sacarina (1:2) se caracterizaron mediante LC/MS. Cada uno mostró dos picos en el cromatograma, compatibles con su disociación en las moléculas constituyentes, la sacarina y el complejo metálico, al disolverse en el disolvente portador.

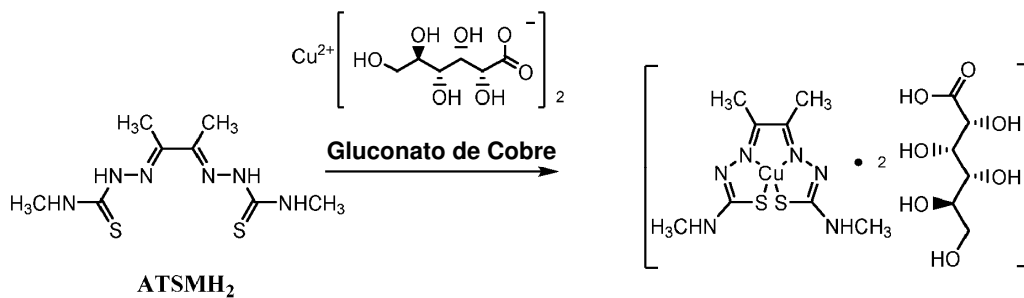
Ejemplo 5

El CuGTSM:sacarina (1:2) se preparó a partir de CuGTSM y sacarina de manera similar a los métodos del Ejemplo 3. El DSC del CuGTSM:sacarina (1:2) así formado, el CuGTSM y la sacarina se muestran en la Figura 4. El DSC del CuGTSM:la sacarina (1:2) así formado muestra una amplia exotermya a aproximadamente 178°C , con un hombro a aproximadamente 165°C que es distinto de la fuerte exotermya de CuGTSM a aproximadamente 209°C . El DSC de CuGTSM:sacarina (1:2) también es distinto del de la sacarina, que tiene una serie de endotermyas mucho más pequeñas en la región de aproximadamente $120\text{-}160^\circ\text{C}$.

Ejemplo 6

Método de formación de DNC por disolución de CuATSM y un ligando en agua.

Se añadió CuATSM (20 mg, 0,0621 mmoles) a un tubo de ensayo, y a continuación se añadieron 10 mL de agua a la muestra en el tubo de ensayo. La mezcla se sacudió brevemente y a continuación se añadieron 2 equivalentes (84,8 mg, 0,1243 mmoles) del ligando éster dimetílico de L-cistina a en forma de dihidrocloruro al tubo de ensayo, y la mezcla se agitó hasta que el ligando se disolvió completamente. La mezcla se dejó reposar. A continuación, la mezcla se filtró, y el producto filtrado se recogió y se secó mediante liofilización, produciendo 22,4 mg de sólido de color rojo-pardo.



Ejemplo 7:

Método de preparación de derivados no covalentes de M-XTSM mediante molienda de bolas sin disolvente de una mezcla de XTSMH₂ y sal M(II) del ligando desprotonado:

5 En un mortero seco se colocaron sólidos previamente pesados de ATSMH₂ (259 mg, 1 mmoles) de color blanquecino y D-gluconato de cobre(II) anhidro (453 mg, 1 mmoles) de color azul. Los sólidos se mezclaron lentamente con una espátula hasta que se obtuvo una mezcla uniforme de los dos componentes cristalinos. El polvo mezclado resultante se transfirió a un vial de molienda de poliestireno SPEX de 5 mL con tapón deslizante, seguido de la adición cuidadosa de una bola de molienda de metacrilato SPEX de 0,95 cm (3/8 pulgada) de diámetro, y a continuación el vial se cerró herméticamente. Se cargó un vial separado con ATSMH₂, y otro vial separado se cargó con gluconato de cobre(II). Los tres viales se colocaron en un pequeño molino de bolas de alta energía, SPEX 5100 Mixer/Mill, que funcionaba a 3000 rpm. Se comenzó la molienda y se verificó el contenido de cada uno de los tres viales después de 30 min, 60 min y 90 min de molienda mediante HPLC y FTIR, DSC y TGA.

15 No hay evidencia de descomposición del gluconato de cobre(II) molido por separado o ATSMH₂ fue evidente en el transcurso de la molienda con bolas de 90 minutos, según lo determinado por la falta de cambio en DSC, FTIR, HPLC y TGA tomados del gluconato de cobre(II) molido por separado y ATSMH₂. Después de 90 minutos de molienda, la mezcla de ATSMH₂ y el gluconato de cobre(II) (1:1) dio como resultado un producto de color tostado claro. El producto CuATSM:ácido glucónico (1:2) se retiró del vial, se secó a vacío y se almacenó en un vial cerrado herméticamente.

20 Análisis elemental: Calculado para C₂₀H₃₈CuN₆O₁₄S₂: C, 33,63; H 5,36; Cu, 8,90; N 11,77; O, 31,36; S, 8,98. Encontrado: C, 33,94; H, 5,09; Cu, 8,65; N 11,12.

25 El producto CuATSM:ácido glucónico (1:2) se caracterizó mediante difracción de rayos X de polvo XRPD, y se comparó con el XRPD de los materiales de partida gluconato de cobre(II) y ATSMH₂, y con la XRPD de CuATSM en la Figura 5. El producto CuATSM:ácido glucónico (1:2) tiene una endotermia aguda en la DSC en o a aproximadamente 157°C, Figura 6. La temperatura de transición observada de la endotermia varía, dependiendo de la velocidad de calentamiento y la variación de lote a lote. La temperatura de transición observada se produce típicamente en el intervalo de 150°C a 160°C. La endotermia no se observa en la DSC de CuATSM, Figura 3.

30 El análisis termogravimétrico (TGA) del producto CuATSM:ácido glucónico (1:2) se proporciona en la Figura 7. Existe una pérdida inicial de peso de aproximadamente 5% que se puede atribuir a la desorción de agua de la muestra. Se observa una rápida pérdida de peso que comienza aproximadamente a 190°C, y permanece aproximadamente 26% de sólidos a 600°C. En comparación, el TGA de CuATSM indica que CuATSM se descompone rápidamente a una temperatura más alta de aproximadamente 240-245°C, y aproximadamente permanecen 34% de sólidos a 600°C. La FTIR del producto CuATSM:ácido glucónico (1:2) de 650 a 4000 cm⁻¹ muestra la absorbancia máxima a 3356,9, 3232,3, 2935,4, 2898,3, 1650,5, 1613,4, 1544,3, 1487,0, 1434,3, 1415,3, 1390,9, 1350,7, 1218,4, 1170,1, 1129,4, 1073,1, 1054,2, 1026,5, 955,9, 887,1, 868,6, 817,1, 797,4, 727,1 y 688,2 cm⁻¹.

35 El producto CuATSM:ácido glucónico (1:2) se cromatografió (HPLC y LC/MS) utilizando la misma metodología que se utilizó para CuATSM, utilizando una columna Poroshell 120 EC-C₁₈ 4,6 X 50 mm 2,7 um. La fase móvil fue un gradiente de 5% a 100% durante 3 minutos y a continuación se mantuvo en acetonitrilo al 100% durante 1,5 minutos. Los disolventes fueron TFA al 0,05% en acetonitrilo y TFA al 0,05% en agua. La velocidad de flujo fue de 0,75 mL/min y la detección se realizó con un detector UV a 254 nm, 230 nm y un detector de espectrometría de masas de baja resolución. Solo se observa un pico único con un tiempo de elución de aproximadamente 3,3 min. La LC/MS de baja resolución de CuATSM:ácido glucónico (1:2) es similar a la LC/MS de baja resolución de CuATSM. Como se encuentra para la LC/MS de CuATSM, el pico base se encuentra en m/z 322,0, que corresponde a (M+1)⁺ de los más abundantes de los iones isotópicos posibles de fórmula C₈H₁₅CuN₆S₂ es decir, CuATSMH⁺.

Ejemplo 8**45 Preparación de Zn-ATSM:ácido glucónico (1:2)**

Se sintetizó Zn-ATSM:ácido glucónico (1:2) mediante molienda de bolas de 0,5 mmoles de ATSMH₂ (130 mg) con gluconato de zinc(II) anhidro (227 mg) durante 90 minutos, de manera similar al método descrito en el Ejemplo 7 para la síntesis de CuATSM:ácido glucónico (1:2). La identidad del producto ZnATSM:ácido glucónico (1:2) fue confirmada mediante RMN H¹: (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,18 (s ancho, 2H), 4,53 (s muy ancho, 1H), 4,31 (s muy ancho, 1H), 4,08 (m, 2H), 3,91 (d, 2H), 3,57 (s, 2H), 3,33 (ancho/m, 14H), 2,82 (d, 6H), 2,19 (s, 6H); los 2H restantes (se supone que son los protones ácidos del ácido carboxílico en el ácido glucónico) no se localizaron. Los picos en δ 7,18 (s ancho, 1H), 2,82 (d, 3H), 2,19 (s, 3H) en el RMN H¹ de ZnATSM:ácido glucónico (1:2) no se distingue de los observados para una muestra auténtica de ZnATSM preparada a partir de acetato de zinc (II) y ATSMH₂.

Ejemplo 9

55 Se preparó CuGTSM:ácido glucónico (1:2) mediante molienda de bolas de 90 minutos de GTSMH₂ con gluconato de cobre(II), de manera similar a los métodos del Ejemplo 7. El producto exhibe una endotermia aguda en la DSC a

aproximadamente 125°C.

Ejemplo 10

5 Se preparó CuGTSM:ácido glucónico (1:2) mediante molienda de bolas de 120 minutos de GTSMH₂ con gluconato de cobre(II), de manera similar a los métodos del Ejemplo 7 y el Ejemplo 9. El producto tiene una endotermia aguda en la DSC a aproximadamente 134°C, y una segunda endotermia más aguda en la DSC a aproximadamente 152°C.

Ejemplo 11

Se preparó CuPTSM:ácido glucónico (1:2) mediante molienda de bolas de 120 minutos de PTSMH₂ con gluconato de cobre(II), de manera similar a los métodos del Ejemplo 7. El producto tiene una endotermia aguda en la DSC a aproximadamente 165°C.

10 Ejemplo 12

Se preparó CuDTSM:ácido glucónico (1:2) mediante molienda de bolas de 90 minutos de DTSMH₂ con gluconato de cobre(II), de manera similar a los métodos del Ejemplo 7. El producto tiene una endotermia aguda en la DSC a aproximadamente 147°C, y una segunda endotermia más aguda en la DSC a aproximadamente 172°C.

Ejemplo 13

15 Determinación de la solubilidad cinética de CuATSM; Ejemplo Comparativo y Método.

Los ensayos de solubilidad se realizaron en viales de vidrio de 25 mL. Se utilizaron viales de vidrio (4 mL, tapados, VWR) para preparar soluciones de partida. Todos los experimentos se llevaron a cabo utilizando μ DISS Profiler™ operado mediante μ DISS Command Software (versión 5.0,1.0). Se utilizó un mini-baño de agua MB-8 con dispositivo de agitación incorporado para proporcionar agitación durante las mediciones de solubilidad. La temperatura durante los experimentos se mantuvo a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ y se realizaron por duplicado.

20 Se prepararon un tampón basado en HCl/KCl a pH 1,2 y un fluido intestinal simulado a pH 6,8 (sin pancreatina) de acuerdo con los protocolos de la USP (Vol 35/NF30). Los valores de pH de las soluciones se confirmaron con un medidor de pH (Thermo Scientific Orion®, Benchtop Modelo 420 equipado con electrodo de pH 9157BN Triode™) y se encontró que todos estaban dentro de $\pm 0,05$ unidad de pH de los valores esperados. Las mediciones de concentración se realizan directamente en los medios de disolución, con los resultados procesados trazados en tiempo real utilizando el aparato μ DISS Profiler™ (Pion). El generador de perfiles utiliza un Aparato UV de sonda de inmersión de fibra óptica *in situ*, con la sonda colocada en el centro en el vial que contiene los compuestos estudiados y 10-20 mL de medio. La interferencia debida a la turbidez de fondo se minimizó cuando fue necesario mediante un método de segunda derivada del espectro (Avdeef, A; Tsinman, O. "Miniaturized Rotating Disk Intrinsic Dissolution Rate Measurement: Effects of Buffer Capacity in Comparisons to Traditional Wood's Apparatus", Pharm. Res., 2008, DOI:10.1007/s11095-008-96-79-z).

35 Se seleccionaron puntas de longitud de trayectoria de 2 y 20 mm para detectar la concentración de CuATSM a pH 1,2 y pH 6,8 respectivamente. Se disolvió un polvo de CuATSM seco en DMSO dando como resultado una solución de partida a una concentración conocida, y a continuación la solución se utilizó para generar curvas patrón por adición en serie. Las curvas patrón se determinaron a partir del área bajo la segunda curva derivada en el intervalo de longitud de onda de 340-366 nm (para pH 1,2) y 445-465 nm (para pH 6,8) para evitar la saturación excesiva de la señal UV. La linealidad de las curvas patrón en la región de longitud de onda seleccionada fue $r^2 \geq 0,998$ para los intervalos de concentración seleccionados.

40 La solubilidad de CuATSM se determinó en tampón de pH 6,8. Se introdujeron muestras de CuATSM en tampón de pH 6,8 en forma de polvo, por lo que, a diferencia de los patrones, las soluciones finales no contenían disolventes en el fondo. Se seleccionó la punta de longitud de trayectoria de 20 mm (a pH 6,8) para detectar la concentración de CuATSM en solución. Todos los experimentos se realizaron a temperatura ambiente $25 \pm 3^\circ\text{C}$. Se añadió CuATSM al vial de ensayo para limitar el límite de concentración superior de CuATSM en el ensayo de solubilidad a aproximadamente 0,15 mg/ml. La concentración de CuATSM puro alcanzó su máximo a aproximadamente 0,45 $\mu\text{g/ml}$ después de aproximadamente 8 horas y permaneció a esa concentración durante el período de verificación de 12 horas.

Ejemplo 14

Determinación de la solubilidad cinética de CuATSM:ácido cítrico (1:1).

Se preparó CuATSM:ácido cítrico (1:1) de acuerdo con los métodos del Ejemplo 4.

50 Las muestras del derivado no covalente CuATSM:ácido cítrico (1:1) se introdujeron en tampón de pH 6,8 en forma de polvo, por lo que, a diferencia de los patrones, las soluciones finales no contenían disolventes en el fondo. Se seleccionó la punta de longitud de trayectoria de 20 mm para detectar la concentración de los compuestos en solución tampón de pH 6,8. Todos los experimentos se realizaron a temperatura ambiente, $25 \pm 3^\circ\text{C}$, y se realizaron

por duplicado.

Los patrones generados para CuATSM se utilizaron para calcular la concentración de CuATSM en los ensayos de solubilidad para CuATSM:ácido cítrico (1:1) ya que los datos espectrales no mostraron diferencias significativas entre la forma de los perfiles UV de CuATSM y CuATSM:ácido cítrico (1:1). Se añadió CuATSM:ácido cítrico (1:1) al vial de ensayo para limitar el límite superior de concentración de CuATSM:ácido cítrico (1:1) en el ensayo de solubilidad a aproximadamente 0,15 mg/ml. Después de la adición de CuATSM:ácido cítrico (1:1) a tampón de pH 6,8, se alcanzó una concentración máxima de CuATSM de aproximadamente 0,9 µg/ml en 0,3 horas. Comenzando aproximadamente a las 0,3 h, la concentración de CuATSM en solución disminuye, de tal manera que al final del período de verificación de 12 horas, la concentración de CuATSM había disminuido a aproximadamente 0,6 µg/mL, y la concentración de CuATSM aún continúa disminuyendo lentamente con el tiempo. El nivel de CuATSM disuelto fue inferior a 1% del máximo de 0,15 mg/ml disponible en el ensayo.

Ejemplo 15

Determinación de la solubilidad cinética de CuATSM:sacarina (1:2). Se preparó CuATSM:sacarina (1:2) de acuerdo con los métodos del Ejemplo 3. El perfil de solubilidad cinética de CuATSM:sacarina (1:2) se determinó en tampón pH 6,8 de manera similar a los métodos proporcionados en el Ejemplo 13 y el Ejemplo 14. Se generaron curvas patrón de CuATSM:sacarina (1:2) y sacarina y se compararon con las curvas patrón de CuATSM. Las concentraciones de sacarina en la solución tampón se determinaron a partir de las curvas patrón de la sacarina en la región de longitud de onda de 292-310 nm, utilizando el Método de Intercepción Cero para minimizar la interferencia espectral de CuATSM. Las concentraciones de CuATSM se determinaron a partir de las curvas patrón de CuATSM (puro) en la región de 445-465 nm, donde las absorbancias de la sacarina no interfieren. El límite de concentración superior del ensayo fue de aproximadamente 0,12 mg/ml de CuATSM:sacarina (1:2), lo que dio como resultado límites de concentraciones superiores para CuATSM y para sacarina en solución, aproximadamente 60 µg/ml cada uno. Todos los experimentos se realizaron a aproximadamente $25 \pm 3^\circ\text{C}$, y se realizaron por duplicado.

Después de la adición de CuATSM:sacarina (1:2) a tampón de pH 6,8, se alcanzó una concentración máxima de aproximadamente 2 µg/ml de CuATSM en 0,8 horas. A partir de aproximadamente 0,8 h, la concentración de CuATSM en solución disminuyó, de modo que al final del período de verificación de 12 horas, la concentración de CuATSM había disminuido a aproximadamente 1 µg/ml, disminuyendo aún la concentración de CuATSM con el tiempo.

La cantidad de CuATSM disuelto permaneció menos del 1% de la cantidad total de CuATSM en la muestra de CuATSM:sacarina (1:2).

Al mismo tiempo, se verificó la concentración de sacarina. Tras la adición de CuATSM:sacarina (1:2) a tampón de pH 6,8, se alcanzó aproximadamente 60 µg/ml de concentración máxima de sacarina en 0,3 horas, permaneciendo esencialmente sin cambios durante el período de verificación de 12 horas. Esta concentración de sacarina es equivalente a, dentro de los límites de error, la disolución completa de la sacarina disponible en la muestra introducida.

Ejemplo 16

Solubilidad cinética de CuATSM:ácido glucónico (1:2) a pH 6,8. Se preparó CuATSM:ácido glucónico (1:2) de acuerdo con el método del Ejemplo 7. El perfil de solubilidad cinética de CuATSM:ácido glucónico (1:2) se determinó en un tampón de pH 6,8 de manera similar a los métodos proporcionados en el Ejemplo 13 y el Ejemplo 14. Se encontró que el CuATSM:ácido glucónico (1:2) no se disolvió completamente a 0,4 mg/ml en DMSO. Por lo tanto, se generaron curvas patrón para CuATSM:ácido glucónico (1:2) a partir de la dilución seriada de una solución de partida en DMSO a una concentración nominal de aproximadamente 0,4 mg/ml, y se compararon con las curvas patrón de CuATSM. El límite de concentración superior del ensayo de solubilidad fue de aproximadamente 0,2 mg/ml de CuATSM:ácido glucónico (1:2) dando como resultado límites de concentraciones superiores de aproximadamente 0,09 mg/ml de CuATSM y aproximadamente 0,11 mg/ml de ácido glucónico.

Tras la adición de CuATSM:ácido glucónico (1:2) al tampón de pH 6,8, la absorción de CuATSM a 450 nm se desplazó a 415 nm en las primeras 0,3 horas. Aproximadamente 0,5 horas después de la adición de CuATSM:ácido glucónico (1:2) al tampón, también se desplazaron la longitud de onda e intensidad de las características espectrales en la región de 280 nm a 360 nm. Estos desplazamientos espectrales son indicativos de un cambio en la identidad química-reacción o descomposición del CuATSM después de la disolución de CuATSM:ácido glucónico (1:2) en tampón de pH 6,8. Por lo tanto, solo se utilizaron los datos espectrales obtenidos dentro del intervalo de tiempo de 0 a 0,3 horas para estimar la concentración de CuATSM resultante de la disolución de CuATSM:ácido glucónico (1:2). Las curvas patrón generadas para CuATSM se utilizaron para la determinación de la concentración de CuATSM resultante de la disolución de CuATSM:ácido glucónico (1:2) en tampón de pH 6,8, utilizando el área bajo la segunda curva derivada en el intervalo de longitud de onda de 300-310 nm. Después de la adición de CuATSM:ácido glucónico (1:2) a un tampón de pH 6,8, se alcanzó una concentración máxima de CuATSM de aproximadamente 3 µg/ml en 0,11 horas.

La cantidad de CuATSM disuelto en solución en el punto de tiempo de 0,3 horas fue inferior a 1% del CuATSM total

disponible contenido en la muestra de CuATSM:ácido glucónico (1:2).

Ejemplo 17

5 Solubilidad cinética de CuATSM:ácido glucónico (1:2) a pH 1,2, tampón KCl/HCl. Se utilizó una porción de la misma muestra de CuATSM:ácido glucónico (1:2), preparada de acuerdo con el método del Ejemplo 7, y que se empleó para determinar la solubilidad a pH 6,8, para determinar la solubilidad cinética a pH 1,2. El límite de concentración superior del ensayo fue de aproximadamente 0,7 mg/ml, lo que dio como resultado que los límites de concentración superior de CuATSM fueran de aproximadamente 0,3 mg/ml y el de ácido glucónico de aproximadamente 0,4 mg/ml. Los patrones recolectados para CuATSM a pH 1,2 se utilizaron para determinar la concentración de CuATSM:ácido glucónico (1:2) en tampón de pH 1,2, utilizando el área bajo la segunda curva derivada en el intervalo de longitud de onda de 340-366 nm.

10 Después de la adición de CuATSM:ácido glucónico (1:2) a un tampón de pH 1,2, se alcanzó una concentración máxima de CuATSM de aproximadamente 195 µg/ml en aproximadamente 0,3 horas (18-20 minutos). La concentración de CuATSM en la solución permaneció sin cambios durante el período de verificación de 3 horas (180 minutos) restante.

15 La cantidad de CuATSM disuelto aumentó en paralelo a la concentración, aumentando a 33% de la cantidad total de CuATSM en la muestra de CuATSM:ácido glucónico (1:2) en 0,3 horas (18-20 minutos), y permaneciendo en ese nivel durante la duración del período de verificación de 3 horas (180 minutos).

Ejemplo 18

20 Determinación de solubilidad: Se midieron las solubilidades de CuATSM y los derivados no covalentes CuATSM:ácido cítrico (1:1), CuATSM:éster metílico de L-tirosina (1:1), CuATSM:éster dimetílico de cistina (1:2) y CuATSM:sacarina (1:2) utilizando un método diseñado para permitir la determinación de las solubilidades en equilibrio.

25 Se preparó CuATSM:sacarina (1:2) de acuerdo con los métodos del Ejemplo 3. Se prepararon CuATSM:ácido cítrico (1:1) y CuATSM:éster metílico de L-tirosina (1:1) de acuerdo con los métodos del Ejemplo 4. Se preparó CuATSM:éster dimetílico de cistina (1:2) de acuerdo con los métodos del Ejemplo 6.

30 Las muestras de polvos de CuATSM y derivados no covalentes seleccionados de CuATSM se pesaron (2,5 mg) en viales de vidrio limpios. Se añadió a cada vial tampón (2,5 mL) correspondiente a uno de los valores de pH seleccionados 1,2, 4,0, 6,8, 7,4 y 9,0. El límite superior de solubilidad del ensayo es de 1,0 mg/ml, según lo determinado por la cantidad de CuATSM y de tampón. Los viales se taparon, se sellaron con Parafilm y se sometieron a agitación vorticial durante 10 segundos a la velocidad máxima utilizando un aparato Vortex Genie-2. Las muestras se incubaron a continuación durante aproximadamente 20 horas a temperatura ambiente agitando.

35 A continuación, se filtraron las soluciones que contenían suspensiones del sólido (microfiltro de poro de 0,2 µm), y se analizó la cantidad de CuATSM presente en las soluciones sobrenadantes, en comparación con los espectros UV (230 a 500 nm) obtenidos a partir de los patrones de referencia de CuATSM. El método se describe en la Patente de Estados Unidos Núm. 6.569.686.

40 Se encontró mediante este método que la solubilidad en agua medida de este modo de los derivados no covalentes de Fórmula I estaba en el intervalo de 22 µg/ml a más de 1.000 µg/ml, como se muestra en la Figura 8. Se esperaría que las solubilidades determinadas mediante este método, en donde se dejó que las soluciones reposaran durante un período prolongado de tiempo con la expectativa de lograr el equilibrio entre el DNC y la fase de solución, correspondieran a las solubilidades en equilibrio. Se ha encontrado que las solubilidades determinadas por este método fueron confundidas por cambios en la forma espectral de UV antes y después de la incubación. Tales cambios generalmente indican posible impureza o descomposición, solapamiento del espectro de absorción UV-visible del ligando con el de CuATSM u otros mecanismos de confusión tales como la re-precipitación del CuATSM con o sin un ligando en el precipitado. Los datos de solubilidad presentados aquí en el Ejemplo 18 reflejan el aumento observado en las solubilidades de los DNC en comparación con la solubilidad de CuATSM sin ligando, y reflejan el aumento en la solubilidad a pH 1,2 en comparación con los pH más bajos estudiados, habiendo sido respaldadas ambas conclusiones por el Ejemplo 13 al Ejemplo 17, pero las solubilidades presentadas en la Figura 8 probablemente no sean cuantitativamente precisas. Las solubilidades se caracterizan mejor por la medición de las solubilidades cinéticas, determinadas para CuATSM y un grupo seleccionado de DNC, como se presenta en el

Ejemplo 19

45 Determinación de la farmacocinética de CuATSM (dosificado como CuATSM, CuATSM:ácido glucónico (1:2), CuATSM:sacarina (1:2) y CuATSM:ácido cítrico (1:1)), CuDTSM (dosificado como CuDTSM:sacarina (1:2)) y CuPTSM (dosificado como CuPTSM:sacarina (1:2)) en ratones.

55 Se preparó CuATSM:ácido glucónico (1:2) de acuerdo con el método del Ejemplo 7. Se preparó CuATSM:sacarina

(1:2) de acuerdo con los métodos del Ejemplo 3. Se prepararon CuATSM:ácido cítrico (1:1), CuDTSM:sacarina (1:2) y CuPTSM:sacarina (1:2) de acuerdo con los métodos del Ejemplo 4. Se estudiaron las farmacocinéticas de CuATSM (dosificado como CuATSM, CuATSM:ácido glucónico (1:2) CuATSM:sacarina (1:2) y CuATSM:ácido cítrico (1:1)), CuDTSM (dosificado como CuDTSM:sacarina (1:2)) y CuPTSM (dosificado como CuPTSM:sacarina (1:2)) en ratones después de la administración oral con dosificación del ingrediente farmacéutico activo CuXTSM (API) a 30 mg/kg.

Se suspendió CuATSM en "Vehículo de Suspensión Convencional" (VSC), que consistía en NaCl al 0,9% (p/v), carboximetilcelulosa de sodio al 0,5% (p/v), alcohol bencílico al 0,5% (v/v) y Tween 80 al 0,4% (v/v) en agua desionizada. Todos los demás compuestos de prueba se suspendieron en agua estéril. Las muestras se prepararon añadiendo uno de los compuestos al vehículo líquido (agua o VSC) en un vial y a continuación sometiendo a agitación vorticial la mezcla durante 3 minutos con una barra de agitación en el interior. Si la muestra en polvo no estaba completamente humedecida o no estaba completamente suspendida, la muestra se sometió a agitación vorticial durante otro minuto. Si la humectación aún estaba incompleta, el vial se sometió a sonicación hasta que se obtuvo una suspensión completamente humedecida. Entre dosis, la muestra se agitó a velocidad media y a continuación se sometió a agitación vorticial durante 20 s adicionales inmediatamente antes de que se retirara la siguiente dosis del vial. Toda la dosificación se completó a partir de una sola preparación de la suspensión en el plazo de los 60 minutos posteriores a la adición del compuesto al agua o VSC.

Los ratones se vieron privados de alimentos granulados durante la noche, durante los cuales se proporcionó dextrosa al 10%, como Dextroput, en agua corriente, después de lo cual los elementos de prueba se administraron oralmente mediante sonda en agua o VSC. Después de la administración, los ratones fueron sometidos a muestreo de sangre a los 15 min, 30 min, 60 min, 2 h, 4 h, 8 h y 24 h mientras estaban anestesiados con isoflurano. Las muestras de sangre se mantuvieron en hielo después del muestreo y se centrifugaron a +4°C, 1800 × g durante 5 minutos para preparar plasma. Se extrajeron muestras de plasma y se transfirieron a tubos de ensayo Eppendorf pre-etiquetados (50 µl exactos en un vial y el resto en un segundo vial) y se congelaron a -20°C. Las muestras fueron transportadas en hielo seco al sitio de análisis. Después del muestreo de sangre, los ratones fueron sacrificados por dislocación cervical, y a continuación los cerebros se recolectaron a través de cráneos abiertos. Se pesaron los cerebros y se colocaron en tubos de ensayo y se colocaron en agua helada. Se añadió solución salina tamponada con fosfato (PBS, pH 7,4), 4 mL por 1 g de tejido cerebral, al tubo de ensayo y los cerebros se homogeneizaron utilizando un homogenizador Ultra-Turrax T25/S25N-10G (Configuración 2, 9500 rpm, aproximadamente 10 s). El producto homogeneizado se congeló a -20°C inmediatamente después de la homogeneización. Las muestras fueron transportadas en hielo seco al sitio de análisis.

Los ratones a los que se habían administrado las dosis se estudiaron por triplicado para cada uno de los siete puntos de tiempo, totalizando 21 ratones a los que se habían administrado las dosis para cada compuesto estudiado. También se obtuvieron muestras de plasma y productos homogeneizados cerebrales de cuatro animales no tratados. Las muestras de plasma se descongelaron a temperatura ambiente (RT), se mezclaron con un volumen doble de acetonitrilo, se agitaron y se centrifugaron durante 10 minutos a 13 000 × g (centrífuga Heraeus Pico 17), después de lo cual los sobrenadantes se transfirieron a viales de vidrio. Las muestras de producto homogeneizado cerebral se mezclaron con un volumen doble de acetonitrilo:metanol, se agitaron, se sometieron a ultrasonificación durante 20 minutos y se centrifugaron durante 10 minutos a 13 000 × g (centrífuga Heraeus Pico 17), después de lo cual los sobrenadantes se transfirieron a viales de vidrio. Las muestras patrón se incorporaron a concentraciones de 0,5, 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100, 200, 500, 1000 y 2000 ng/ml del compuesto activo (API) en plasma y en producto homogeneizado de cerebro de ratón como blanco y fueron tratadas de otro modo como muestras de estudio. Se prepararon muestras de control de calidad (CC) para concentraciones de 10, 100 y 1000 ng/ml en productos homogeneizados de plasma o cerebro.

Se analizaron tanto la exposición plasmática como la cerebral 0 - 24 h después de la dosificación utilizando LC/MS/MS, con datos de LC-MS obtenidos en un Waters Acquity UPLC + MS de triple cuadrupolo Thermo TSQ Endura equipado con una columna Waters Acquity HSS T3 (2,1 × 50 mm, 1,8 µm) con filtro precolumna. La elución fue con un gradiente de ácido fórmico/acetonitrilo al 0,5% (99:1) incrementado por etapas a (5:95).

Los parámetros farmacocinéticos para los compuestos de estudio en plasma y cerebro se calcularon utilizando métodos convencionales no compartimentales. La semivida de la fase de eliminación ($t_{1/2}$) se calculó mediante análisis de regresión de mínimos cuadrados de la parte lineal terminal de la curva logarítmica de concentración-tiempo. El área bajo la curva de concentración-tiempo (AUC) se determinó mediante el uso de la regla trapezoidal lineal hasta la última concentración medible para determinar AUC_{0-24h}, y a continuación utilizando la extrapolación de la fase de eliminación terminal al infinito para determinar AUC_{0-inf}. La concentración máxima (C_{max}) y el tiempo hasta la C_{max} (T_{max}) se obtuvieron directamente de los datos de concentración. El tiempo medio de residencia, MRT y la constante de la tasa de eliminación, K_e , también se calcularon a partir de los datos de concentración frente a tiempo de las muestras de plasma. Los resultados de los estudios PK se proporcionan en la Tabla 2 para CuATSM y los DNC, y en la Tabla 3 para los DNC CuDTSM y CuPTSM.

Tabla 2. Parámetros farmacocinéticos (PK) en ratones, basados en las concentraciones plasmáticas y cerebrales medias después de la administración oral de 30 mg/kg de CuATSM como CuATSM, CuATSM:ácido glucónico (1:2), CuATSM:sacarina (1:2) o CuATSM:ácido cítrico (1:1).

ES 2 778 038 T3

Compuesto activo (API) (dosificado a 30 mg/kg)	CuATSM	CuATSM	CuATSM	CuATSM
Compuesto dosificado/medio	CuATSM/VSC	CuATSM:ácido glucónico (1:2)/agua	CuATSM:sacarina (1:2)/agua	CuATSM:cítrico (1:1)/agua
Plasma				
AUC0-24h (min*ng/mL)	9637	25163	20333	8292
AUCO-inf (min*ng/mL)	9698	25696	20436	8366
Cmax (ng/mL)	22,2	36,5	29,0	14,5
Tmáx (min)	120	240	120	60
t½ (min) (número de puntos de tiempo)	196 (4)	252 (3)	170 (2)	204 (3)
MRT (min)	315	357	375	315
Ke (1/min)	0,0035	0,0028	0,0040	0,0034
Cerebro				
AUC0-24h (min*ng/g)	10944	71554	30643	15435
AUCO-inf (min*ng/g)	13843	73544	30979	15563
Cmax (ng/g)	28,4	133	71,8	77,0
Tmáx (min)	60	240	15	60
t½ (min) (número de puntos de tiempo)	199 (3)	261 (3)	202(2)	218 (4)
Razón cerebro:plasma (basada en AUC)	1,1	2,8	1,5	1,9
Razón cerebro:plasma (basada en Cmax)	1,3	3,6	2,5	5,3

5 Después de una dosis oral de 30 mg/kg de CuATSM en diferentes formas, se observaron los valores más altos de AUC con la dosificación como CuATSM:ácido glucónico (1:2) (AUC0-24h 25163 min*ng/ml) y CuATSM:sacarina (1:2) (AUCO-24h 20 333 min*ng/ml), mientras que la dosificación como CuATSM:ácido cítrico (1:1) o como CuATSM condujo a menos de 50% de estos valores de AUC. El valor de C_{máx} después de la dosificación de CuATSM:ácido glucónico (1:2) fue de 36,5 ng/ml a 240 minutos, mientras que los valores de C_{máx} después de la dosificación de CuATSM:ácido cítrico (1:1), CuATSM y CuATSM:sacarina (1:2) fueron 14,5 ng/ml (a los 60 min), 22,2 ng/ml (a los 120 min) y 29,0 ng/ml (a los 120 min), respectivamente.

10 Tabla 3. Parámetros farmacocinéticos (PK) en ratones, basados en las concentraciones plasmáticas y cerebrales medias después de la administración oral de 30 mg/kg de CuDTSM como CuDTSM:sacarina (1:2) o de CuPTSM como CuPTSM:sacarina (1:2).

Compuesto activo (30 mg/kg)	CuDTSM	CuPTSM
Compuesto dosificado	CuDTSM:sacarina (1:2)/agua	CuPTSM:sacarina (1:2)/agua
Plasma		
AUC0-24h (min*ng/mL)	7474	60004
AUCO-inf (min*ng/mL)	7632	68278
Cmax (ng/mL)	27,5	91,5
Tmáx (min)	60	60
t½ (min) (número de puntos de tiempo)	372 (2)	439 (2)
MRT (min)	224	474
Ke (1/min)	0,0019	0,0016
Cerebro		

Compuesto activo (30 mg/kg)	CuDTSM	CuPTSM
AUC0-24h (min*ng/g)	72364	62832
AUC0-inf (min*ng/g)	73438	72025
Cmax (ng/g)	206	189
Tm _{ax} (min)	60	30
t _{1/2} (min) (número de puntos de tiempo)	239 (3)	487 (2)
Razón cerebro:plasma (basada en AUC)	9,7	1.0
Razón cerebro:plasma (basada en Cmax)	7,5	2,1

La mayor razón cerebro-plasma basada en AUC se observó para CuDTSM (después de la dosificación como CuDTSM:sacarina (1:2)), es decir, 9,7. La razón cerebro: plasma basada en Cmax también fue alta, es decir, 7,5. Se observó la razón cerebro:plasma más baja basada en AUC para CuPTSM:sacarina (1:2), es decir, aproximadamente 1,0 (razón Cmax 2,1). Las correspondientes razones cerebro:plasma basadas en AUC para otros compuestos estaban en el intervalo de 1,0 - 2,8.

Ejemplo 20

Efectos de recuperación neuroprotectora y sintomática de CuATSM administrado por vía oral, CuATSM:ácido glucónico (1:2) y CuATSM:sacarina (1:2) en modelos de ratón lesionado con metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP) de EP. Se preparó CuATSM:ácido glucónico (1:2) de acuerdo con el método del Ejemplo 7. Se preparó CuATSM:sacarina (1:2) de acuerdo con los métodos del Ejemplo 3. Se suspendió CuATSM en "Vehículo de Suspensión Convencional" (VSC), que consistía en NaCl al 0,9% (p/v), carboximetilcelulosa de sodio al 0,5% (p/v), alcohol bencílico al 0,5% (v/v) y Tween 80 al 0,4% (v/v) en agua desionizada. Se suspendieron CuATSM:ácido glucónico (1:2) y CuATSM:sacarina (1:2) en agua estéril. Las muestras se prepararon añadiendo uno de los compuestos al vehículo líquido (agua o VSC) en un vial y a continuación sometiendo a agitación vorticial la mezcla durante 3 minutos con una barra de agitación en el interior.

Los modelos de ratón MPTP de EP son descritos por (Przedborski y Vila, 2003). Los ratones fueron lesionados el Día 0 con cuatro dosis de 10 mg/kg de MPTP inyectadas intraperitonealmente (Giasson et al., 2002) a intervalos de dos horas, lo que produce una reducción de aproximadamente 50% de las neuronas nigrales. A partir del día 1, los ratones se tratan con un agente de prueba a la dosis equivalente de 30 mg/kg de ingrediente farmacéutico activo CuATSM (API), o control negativo de VSC, mediante sonda oral durante 21 días. A continuación, se realizaron pruebas de comportamiento a través de la prueba del alambre y la recolección de tejido.

Prueba de alambre de tracción: los ratones se trasladan a la sala de pruebas de comportamiento 1 hora antes de la administración de la prueba. El agua y la comida permanecen accesibles para los ratones, y se utiliza un "ruido blanco" de fondo de una radio durante la hora y el período de prueba. Cada ratón levanta por la cola en una mano, y el ratón se sujeta por la cola sobre el alambre hasta que agarra al alambre con las dos patas delanteras. A continuación, se baja la cola hasta que el ratón se suspende del alambre por sus dos patas delanteras. El tiempo se inicia tan pronto como el ratón se suspende de forma independiente, sin asistencia del administrador de la prueba. El tiempo que tarda el ratón en agarrar el alambre con una de las patas traseras, de modo que dos patas delanteras y una pata trasera estén agarrando el alambre, se registra como "tiempo de elevación". La prueba se repite para cada ratón, tres veces seguidas con un intervalo de prueba de 5 minutos entre cada suspensión en el alambre. Los ratones son devueltos a sus jaulas compartidas entre las pruebas. Si un ratón cae, cuenta como una prueba, y se registra el tiempo hasta la caída, y se inicia el intervalo de tiempo entre pruebas. Si el ratón no ha completado la tarea y no se ha caído en el plazo de 60 segundos, se quita el ratón del alambre y el tiempo de prueba se registra como 60 segundos.

Un total de 47 ratones recibieron MPTP. De estos, se trataron a continuación un total de 14 ratones con control negativo de VSC. Un total de 14 ratones se trataron con CuATSM en VSC, de los cuales un ratón se retiró del estudio de elevación hasta el alambre debido a una pata lesionada. Un total de 9 ratones se trataron con CuATSM:sacarina (1:2) en agua. Un total de 9 ratones se trataron con CuATSM:ácido glucónico (1:2) en agua. Normalmente hay 4-5 ratones por jaula a los que se administra un tratamiento común. Los ensayos en los que el ratón cayó durante el ensayo no se incluyeron en los promedios. Estos incluyen una caída (un ratón) para ratones tratados con VSC; sin caídas para los ratones tratados con CuATSM/VSC; una caída para un ratón tratado con CuATSM:sacarina (1:2)/agua, y una caída para cada uno para dos ratones tratados con CuATSM:ácido glucónico (1:2)/agua. En todos los casos, los ratones completaron los otros dos ensayos con éxito, de modo que se calculó un tiempo promedio para el ratón individual y, posteriormente, para la población. El tiempo promedio de elevación para el control y cada una de las tres poblaciones de tratamiento se proporciona en la Tabla 4 y la Figura 9.

Los tratamientos con CuATSM y CuATSM:sacarina (1:2) dan como resultado una disminución significativa (ambos $p < 0,01$ o menos) de los tiempos promedio de elevación en comparación con el control de VSC. El tratamiento con CuATSM:ácido glucónico (1:2) dio como resultado una disminución del tiempo promedio de elevación, pero con una gran variación en el rendimiento individual del ratón que dio como resultado un gran error típico de la media, por lo que $p = 0,07$ simplemente pierde un criterio de significación $p = 0,05$ entre CuATSM:ácido glucónico (1:2) y el control de VSC.

No hay diferencia significativa (todos $p \geq 0,30$) en tiempos de elevación promedio entre tratamientos CuATSM, CuATSM:sacarina (1:2) o CuATSM:ácido glucónico (1:2).

Tabla 4. Tiempos promedio de elevación hasta el alambre de ratones tratados, lesionados con MPTP.

Tratamiento (Compuesto/medio)	Tiempo de elevación (segundos)	Desviación típica (segundos)	Error típico de la media (segundos)
VSC (n = 13)	8,45	4,10	1,10
CuATSM/VSC (n = 14)	4,22	1,79	0,50
CuATSM:sacarina (1:2)/agua (n = 9)	3,11	2,68	0,89
CuATSM:ácido glucónico (1:2)/agua (n = 9)	4,62	4,76	1,59

Los efectos neuroprotectores del CuATSM y los DNC se determinaron mediante recuento celular.

Después de las pruebas de tiempo de elevación hasta el alambre, los ratones fueron anestesiados, a continuación, se obtuvieron muestras de sangre para estudios de plasma, y los ratones fueron sacrificados mediante una sobredosis de anestésico. Los ratones se perfundieron inmediatamente con PBS frío. El hemisferio derecho del cerebro se colocó en 5 mL de paraformaldehído al 4% p/v (Sigma-Aldrich) enfriado en tampón fosfato 0,1 M durante la noche a 4°C y pH 7,4. A continuación, se extrajeron los cerebros y se dejaron a 4°C durante la noche en sacarosa al 30% p/v (grado doméstico) en PBS antes de congelarlos y seccionarlos en un criostato. Los cerebros se cortaron coronalmente en secciones de 30 μm en una serie 1:3 para determinar la sustancia negra pars compacta (SNpc).

Las secciones resultantes se tiñeron con rojo neutro (tinción de Nissl; Sigma-Aldrich). Inmediatamente antes de la inmunotinción, las secciones congeladas se vuelven a fijar durante 5 minutos para garantizar que las secciones del cerebro se fijen correctamente al portaobjetos de vidrio. Se examinaron los núcleos de la SNpc de animales normales y lesionados. En cada una de las secciones muestreadas, se realizaron recuentos de neuronas de la SNpc utilizando reglas de disector óptico (Gundersen et al., 1988) y los núcleos de células de la SNpc teñidas fueron la unidad de recuento (Finkelstein et al., 2000).

El número total de neuronas en la sustancia negra se estimó mediante muestreo fraccionador (Finkelstein et al., 2000; Stanic et al., 2003; West & Gundersen, 1990). Los recuentos se realizaron a intervalos regulares predeterminados (x, 140 μm ; y, 140 μm). La SNpc completa se muestreó en cada tercera sección y se analizó en una serie que tenía una compensación aleatoria para cada cerebro. La estereología se realizó en una serie que consistía en 7-9 secciones de SNpc utilizando una primera sección aleatoria para comenzar. Los recuentos de células nigrales se generaron a partir de 8 secciones con un área media muestreada de $2,48 \times 10^8 \mu\text{m}^3$. Se tomaron muestras sistemáticas del área ocupada por los núcleos desde un punto de partida aleatorio, fotografiando la SNpc en la misma ubicación en todas las imágenes, con las imágenes tomadas en el tercer radical nervioso. La ligera variación en la apariencia del VTA podría deberse a ligeras diferencias en el ángulo de corte y la variación en la intensidad de la mancha. Se superpuso un marco de recuento no sesgado de área conocida (45 $\mu\text{m} \times 35 \mu\text{m}$) en la imagen de las secciones de tejido utilizando un paquete de soporte lógico estereológico (Stereology Investigator 7; MBF Bioscience) utilizando un microscopio DMLB (Leica).

Las células de tinción positiva al Rojo Neutro promedio observadas en la sustancia negra de los ratones que siguen a los ratones control y cada uno de los tres tratamientos se proporcionan en la Tabla 5 y se muestran en la Figura 10. Los tres tratamientos dan como resultado una recuperación significativa (todos $p < 0,01$ o menos) de las neuronas de la sustancia negra en comparación con el control de VSC. No hay diferencia significativa (todos $p > 0,25$) entre los tratamientos con CuATSM, CuATSM:sacarina (1:2) o CuATSM:ácido glucónico (1:2).

Tabla 5. Promedio de células positivas al Rojo Neutro en la sustancia negra de ratones tratados, lesionados con MPTP.

Tratamiento (Compuesto/medio)	Tiempo de pull-up (segundos)	Desviación típica (segundos)	Error típico de la media (segundos)
VSC (n = 14)	3949	488	130
CuATSM/VSC (n = 14)	4988	474	131
CuATSM:sacarina (1:2)/agua (n = 9)	5231	515	182
CuATSM:ácido glucónico (1:2)/agua (n = 9)	5376	867	289

5 La captación de cobre en el cerebro y el plasma se midió mediante determinación por espectrometría de masas por plasma acoplado inductivamente (ICPMS) del isótopo de cobre Cu-63 de origen natural. El tejido cerebral se obtuvo del hemisferio izquierdo del cerebro. Los resultados para las concentraciones medias de Cu-63 en el tejido cerebral y en el plasma de los ratones lesionados con MPTP y tratados se muestran en la Tabla 6, y los resultados se presentan en la Figura 11 y la Figura 12. Todos los tratamientos dan como resultado un aumento significativo (todos $p < 0,001$) en las concentraciones de Cu-63 en el tejido cerebral en comparación con el control de VSC. No hay diferencia significativa (todos $p > 0,25$) entre los tratamientos con CuATSM, CuATSM:sacarina (1:2) o CuATSM:ácido glucónico (1:2) en la captación cerebral de Cu-63. Ningún tratamiento dio como resultado un cambio significativo (todos $p > 0,05$) en las concentraciones de Cu-63 en plasma en comparación con el control de VSC. Hay una pequeña diferencia ($p = 0,045$) entre los tratamientos con CuATSM:sacarina (1:2) en comparación con CuATSM:ácido glucónico (1:2); CuATSM:sacarina (1:2), tiene la mayor concentración en plasma de Cu-63.

Tabla 6. Concentraciones cerebrales y plasmáticas de Cu-63 en ratones tratados, lesionados con MPTP.

Tratamiento (Compuesto/medio)	Cu-63 en cerebro			Cu-63 en plasma		
	Promedio ($\mu\text{g/g}$)	Desviación típica ($\mu\text{g/g}$)	Error típico de la media ($\mu\text{g/g}$)	Promedio ($\mu\text{moles/l}$)	Desviación típica ($\mu\text{moles/litro}$)	Error típico de la media ($\mu\text{moles/litro}$)
VSC (n = 14)	4,72	0,65	0,17	5,82	0,72	0,19
CuATSM/VSC (n = 14)	18,48	11,01	2,94	5,40	0,98	0,26
CuATSM:sacarina (1:2)/agua (n = 9)	14,66	2,56	0,85	6,13	0,99	0,33
CuATSM:ácido glucónico (1:2)/agua (n = 9)	22,20	12,55	4,18	5,27	0,59	0,20

15 **Ejemplo 21**

Tratamiento con DNC de Cu-ATSM y mejora de la frecuencia de deposición:

Los experimentos demuestran que el tratamiento de ratones lesionados con MPTP como modelos de roedores de la enfermedad de Parkinson da como resultado la restauración del rendimiento motor y la función cognitiva de los ratones lesionados con MPTP.

20 De acuerdo con esto, ciertos complejos metálicos, incluido el DNC de complejos metálicos de la solicitud, son eficaces para suministrar metal biodisponible y se pueden utilizar en el tratamiento de afecciones que se pueden evitar, tratar o mejorar mediante el suministro de metal. En particular, se encuentra que estos complejos metálicos son eficaces para suministrar metal a las células en una forma que conduce a un efecto antioxidante significativo que se observa en la célula. En un aspecto, ciertos complejos metálicos demostraron una capacidad para mediar el EO.

25 Además de la disfunción motora experimentada por pacientes con ciertas enfermedades neurológicas, tales como la enfermedad de Parkinson, los pacientes con enfermedades neurológicas suelen experimentar síntomas no motores, que incluyen dolencias gastrointestinales, tales como el estreñimiento. Estos síntomas tienen un impacto significativo y adverso sobre la calidad de vida de los pacientes. En un aspecto de la presente solicitud, se proporciona un método para tratar o reducir enfermedades o dolencias gastrointestinales asociadas a pacientes con enfermedades neurológicas, el método incluye la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz del complejo metálico como se describe en la presente memoria.

30

Varios modelos de roedores de enfermedad de Parkinson han demostrado disfunción gastrointestinal, que se ha correlacionado con la pérdida de subpoblaciones neuronales dentro del sistema nervioso entérico. La administración intraperitoneal de MPTP (1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina) causó una reducción significativa en el número de neuronas dopaminérgicas dentro de la sustancia negra de la pars compacta de ratones C57BL/6. También se detectó una reducción en las subpoblaciones neuronales dentro del plexo mientérico del íleon 21 días después de la lesión y fue concomitante con una reducción en la frecuencia de deposición, indicativa de disfunción digestiva.

Se ha demostrado que la administración oral de DNC de CuATSM es neuroprotectora y restablece el rendimiento motor y la función cognitiva en ratones lesionados con MPTP. Además, el tratamiento de los complejos metálicos, como CuATSM, también mejoró la frecuencia de deposición y se correlacionó con la restauración de subpoblaciones neuronales en el plexo mientérico de ratones lesionados con MPTP. Los pacientes con enfermedades neurológicas, tales como la Enfermedad de Parkinson que experimentan disfunción gastrointestinal tal como el estreñimiento, pueden estar asociados con la pérdida de poblaciones neuronales junto con la reactividad de las células gliales entéricas dentro del plexo mientérico del tracto gastrointestinal. El tratamiento de estos pacientes con complejos metálicos, tales como CuATSM, que son neuroprotectores en el sistema nervioso central proporciona alivio de los síntomas y también da como resultado la modificación de la enfermedad en el tracto gastrointestinal.

Los ratones lesionados con MPTP se pueden tratar con el DNC de CuATSM, y los resultados se comparan con los ratones no tratados. Los ratones tratados con DNC muestran un incremento de la frecuencia de deposición y los resultados están correlacionados con la restauración de subpoblaciones neuronales en el plexo mientérico de ratones lesionados con MPTP. Estas observaciones sugieren que el estreñimiento experimentado por los pacientes con enfermedad de Parkinson puede ser una consecuencia de la pérdida de poblaciones de células neuronales junto con la reactividad de las células gliales entéricas dentro del plexo mientérico del tracto gastrointestinal y que los tratamientos que utilizan agentes tales como los DNC de CuATSM son neuroprotectores en el sistema nervioso central, y también pueden proporcionar alivio de los síntomas y modificar la enfermedad en el tracto gastrointestinal. La Figura 13 muestra resultados representativos para una comparación de la frecuencia de deposición entre el vehículo y el tratamiento con Cu-ATSM.

Ejemplo 22

Reducción de los niveles de beta amiloide extracelular:

Utilizando Cu-ATSM:

El tratamiento de las células APP-CHO con el DNC Cu-ATSM da como resultado un aumento de los niveles de cobre intracelular como se esperaba del Cu-ATSM que penetra en las células. Se utilizan cinco regímenes de tratamiento, a saber, un control, 1 μ M, 5 μ M, 10 μ M, 25 μ M y 50 μ M. Las células CHO transfectadas con APP se tratan con cada una de las dosis del complejo de DNC durante 6 horas en medio sin suero y a continuación se recoge el medio acondicionado y se analiza el péptido A β 1-40 mediante ELISA A β de rutina. El complejo de DNC inhibe significativamente los niveles de A β 1-40 en el medio en todas las concentraciones probadas en comparación con ATSMH₂ no complejo.

Ejemplo 23

Reducción de Abeta Celular:

Generación de ovario de hámster chino transfectado con APP (CHO):

Las células APP-CHO se generan expresando el ADNc de APP de 695 aminoácidos en el vector de expresión pRESpuo2 (Clontech, Mountain View, California, EE. UU.). Las células se transfectan utilizando Lipofectamine 2000 y se cultivan en medio RPMI-1640 con un suplemento de glutamina 1 mM y suero bovino fetal al 10% (de Invitrogen, Mount Waverley, Australia). Las células transfectadas se seleccionan y mantienen utilizando 7,5 μ g/ml de puromicina (Sigma-Aldrich).

Tratamiento de células con DNC de complejos metálicos:

Las células APP-CHO se pasan a una razón de 1:5 y se cultivan en placas de 6 pocillos durante 3 días antes de los experimentos. Los DNC de complejos metálicos se preparan como una solución madre 10 mM en DMSO y se añaden al medio RPMI sin suero con un suplemento de puromicina. El medio se mezcla brevemente por aspiración antes de la adición a las células. Los cultivos de control se tratan con vehículo (DMSO) solo. Los cultivos se incuban durante 6 horas y los medios acondicionados se toman para medir los niveles de A β 1-40 mediante ELISA.

Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas de captura de anticuerpos dobles (ELISA) para la detección de A β :

Los niveles de A β se determinan en medio de cultivo utilizando el protocolo ELISA A β 1-40 de 384 pocillos. Las placas de 384 pocillos se recubren con anticuerpo monoclonal (mAb) G2-10 en tampón de recubrimiento de carbonato-bicarbonato (pH 9,6) para la detección de A β 1-40. Las placas se dejan incubando durante la noche a 4°C

con balanceo. Las placas se lavan tres veces con PBST a temperatura ambiente con balanceo y la solución se desecha después de cada lavado. A continuación, se añaden a cada pocillo 100 µl de caseína hidrolizada al 0,5% (p/v) en PBS (pH 7,4) y se deja incubando durante 2 horas a 37°C para evitar la unión no específica. Las placas se lavan tres veces con PBST a temperatura ambiente con balanceo. Se añaden a cada pocillo de las placas (10 µL/pocillo a 2 ng/µL) 20 ng de mAb WO2 (epítipo en Aβ₅₋₈) biotinilado. Se añaden 50 µL/pocillo de muestras péptido convencional Aβ₁₋₄₀ (MHRI, Melbourne, Australia), muestras de medio de cultivo celular y blancos. Las placas se dejan incubando durante la noche a 4°C con balanceo.

Las placas se lavan nueve veces con PBST a temperatura ambiente con balanceo. Se añaden 25 µl de estreptavidina marcada con europio con una dilución de 1:1000. Las placas se lavan diez veces con PBST donde el 9º y 10º lavados se dejaron durante 5 minutos antes de desecharlos. Para desarrollar las placas, se añaden 80 µL de solución de mejora a cada pocillo y las placas se leen en un lector de placas WALLAC Victor² con excitación (Ex) a 340 nm y emisión (Em) a 613 nm. Los patrones de péptidos Aβ₁₋₄₀ y las muestras se analizan por triplicado. Los valores obtenidos de los pocillos por triplicado se utilizan para calcular la concentración de Aβ (expresada como ng/ml) basándose en la curva patrón generada en cada placa.

Ejemplo 24

Ensayo de ionóforos:

Las células de neuroblastoma humano M17 se colocan en placas de 6 pocillos y se dejan durante la noche. Se añaden suficientes células para dar aproximadamente un 70% de confluencia al día siguiente del experimento. Las células de prueba se incuban en 1 mL de medio y la mezcla de compuestos durante 5 horas a 37°C. Al final de la incubación, los medios se eliminan con un aspirador de vacío y se agrega 1 mL de PBS para desalojar las células. Las células se colocan en tubos Eppendorf y se granulan. El PBS se elimina y los sedimentos celulares restantes se congelan a -20°C.

Los sedimentos celulares de niveles similares se colocan en tubos de microcentrífuga de 1,5 mL. A cada tubo se le añaden 50 µl de ácido nítrico concentrado (Aristar, BDH) a cada sedimento celular y se deja que cada sedimento celular se digiera durante la noche. Las muestras se calientan durante 20 minutos a 90°C para completar la digestión. El volumen de cada muestra se reduce a -45 µl después de la digestión. A cada uno se le añade 1 mL del diluyente Ácido Nítrico al 1%. Las mediciones se realizan utilizando un aparato Varian UltraMass ICPMS en condiciones de funcionamiento adecuadas para el análisis rutinario de elementos múltiples.

El aparato se calibra utilizando el Blanco, 10, 50 y 100 ppb de una solución patrón ICPMS multielemento certificada (ICP-MS-CA12-1, Accustandard) para Cu y Zn en ácido nítrico al 1%. Se utiliza una solución de patrón interno certificada que contiene 100 ppb de itrio (Y 89) como control interno (ICP-MS-IS-MIX1-1, Accustandard).

Se informa sobre los datos frente al nivel de un control interno conocido (Clioquinol). Los datos demuestran que los complejos de la invención son eficaces en el suministro del metal a la célula.

Ejemplo 25

Prueba de citotoxicidad -Células de neuroblastoma M17:

Día 1. Las células de prueba se cultivan a 37°C/5% de CO₂ casi hasta la confluencia en un matraz de 75 cm². El medio se retira y las células se incuban con 5 mL de PBS durante aproximadamente 5 minutos para desalojar las células de la superficie de plástico. Se utiliza una pipeta para resuspender las células y se añaden 5 mL de medio de crecimiento. La suspensión celular se retira y se añade a un tubo Falcon de 15 mL. La suspensión se mezcló bien mediante inversión y se transfirieron aproximadamente 100 µl a un tubo Eppendorf.

Un ensayo típico que evalúa 15 compuestos utiliza cinco placas de 48 pocillos. Los 24 pocillos internos son los únicos que se utilizan para reducir la cantidad de evaporación a lo largo de 48 horas. Se añaden 200 µl de medio a cada uno de los 24 pocillos internos. Las suspensiones celulares se mezclan mediante inversión y se añade el número deseado de células a cada pocillo. La adición de células continúa a través de cada placa y la suspensión celular se mezcla en el tubo Falcon mediante inversión entre cada placa. Las placas se agitan ligeramente y se devuelven a una incubadora a 37°C. Las placas se dejan durante la noche para que las células se depositen en los pocillos.

Día 2. Los compuestos que se deben analizar se seleccionan para el ensayo. Se calcula a partir del peso molecular y los mg de complejo de DNC en el tubo Eppendorf, la cantidad de mL de DMSO que se añadirá para preparar una solución de partida 10 mM. En el caso del CQ (Clioquinol) se requiere una solución de partida 1 mM debido a la precipitación de una solución más concentrada cuando se diluye en los medios.

Se añade DMSO a tubos Eppendorf (típicamente 200-500 µl), se agita mediante agitación vorticial hasta que se disuelve y se incuba con los compuestos a 37°C durante 60 minutos para ayudar a la solubilización. Los complejos de DNC se eliminan y se vuelven a mezclar mediante agitación vorticial y se verifica si hay complejos no disueltos. A continuación, las soluciones de partida 10 mM se deben diluir 1:10 para obtener una concentración final 1 mM. Se

añaden 180 µl de DMSO al tubo de ensayo y se añaden 20 µl de cada una de las soluciones de compuesto a cada uno de los tubos de ensayo para crear las soluciones de prueba que a continuación se vuelven a mezclar para asegurar una homogeneización completa de la mezcla de prueba. A continuación, cada compuesto se diluye a concentraciones finales 10 µM y 1 µM.

5 La cantidad deseada de la solución de prueba y la muestra de control se añade a las placas que a continuación se devuelven a la incubadora durante un período de 48 horas a 37°C. Al finalizar el período de 48 horas, las placas se retiran de la incubadora y se utiliza un aspirador para eliminar los medios de la primera placa. A continuación, se añaden a cada pocillo 220 µl de MTT (una sal de tetrazolio utilizada para ensayos mitocondriales)/solución de medios. Las placas se devuelven a 37°C y se incuban durante 1 hora. Después de 1 hora, las placas se retiran de la incubadora y la solución de medios/MTT se elimina con la bomba de vacío aspiradora.

10 Se añaden 200 µl de DMSO a cada pocillo y la placa se agita suavemente para que el DMSO disuelva los cristales de MTT y los restos celulares restantes. Después de aproximadamente 10 minutos, el DMSO ahora de color púrpura en los pocillos debería ser transparente. MTT es una sal de tetrazolio que se convierte de amarillo a púrpura por las mitocondrias activas. Cuantas más células estén presentes, y por lo tanto, más mitocondrias, se obtendrá un color púrpura más intenso. Las placas ahora se pueden leer en un lector de placas a 570 nm.

15 **Ejemplo 26**

Efecto del DNC de complejos metálicos tal como el complejo DNC de Cu-ATSM como antioxidantes en un modelo de enfermedad de Parkinson. Se lleva a cabo una serie de ensayos en los que el efecto del DNC de Cu-ATSM sobre la inhibición de la muerte celular inducida por dopamina se realiza en células WT y células A30P. El protocolo que se puede utilizar es el que se indica a continuación.

20 **Cultivo celular:**

La línea celular se mantiene en OPTI-MEM (Gibco) con un suplemento de suero de ternera fetal al 10% (FCS), aminoácidos no esenciales, piruvato de sodio y Penn/Strep. Las células se incuban a 37°C en una atmósfera humidificada de 95% de aire y 5% de CO₂. Los ensayos de células se colocan en placas de cultivo de 48 pocillos a 4 x 10⁴ células por pocillo. Las células se dejan sedimentar durante la noche y a continuación se incuban con fármacos durante 24 h antes de someterlas a ensayos de MTT para determinar la viabilidad celular.

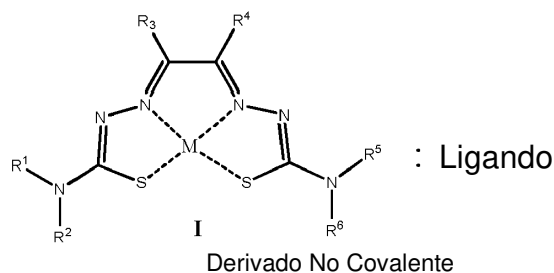
25 El procedimiento para la preparación de los complejos metálicos de la presente solicitud, junto con sus métodos de tratamiento, se describen en la Solicitud de Patente Internacional PCT/AU2007/001792, publicada como documento WO 2008/061306.

30 Si bien se han proporcionado una serie de realizaciones, aspectos y variaciones ilustrativos en la presente memoria, los expertos en la técnica reconocerán ciertas modificaciones, permutaciones, adiciones y combinaciones y ciertas subcombinaciones de las realizaciones, aspectos y variaciones. Se pretende que las siguientes reivindicaciones se interpreten para incluir todas esas modificaciones, permutaciones, adiciones y combinaciones y ciertas subcombinaciones de las realizaciones, aspectos y variaciones están dentro de su alcance.

35

REIVINDICACIONES

1. Un derivado no covalente (DNC) de un compuesto de Fórmula I con un ligando:



en donde:

5 M es Fe, Zn o Cu;

R¹ y R² se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido, alquenilo C₂-C₆ sustituido o no sustituido, alquinilo C₂-C₆ sustituido o no sustituido, arilo C₅-C₁₀ sustituido o no sustituido, heteroarilo C₅-C₁₀ sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)arilo C₆-C₁₀ sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, heterociclilo sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)heterociclilo, alquil(C₁-C₆)-C(O)- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-S(O)₁₋₂- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-NR'(O)- sustituido o no sustituido y alcoxi(C₁-C₆)-C(NR'')- sustituido o no sustituido, hidroxil, hidroxialquilo, alcoxi, -NH(R⁷), -N(R⁷)₂, -COOH, -COR⁷, -COOR⁷, -CONHR⁷, -CSNHR⁷, -S(O)R⁷, -S(O)₂R⁷, -C(O)N(R⁷)₂, -S(O₂N(R⁷)₂) y -(CH₂)_mR⁸, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido; o

15 R¹ y R² cuando se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están anclados forman un grupo heterocicloalquilo o heteroarilo opcionalmente sustituido;

20 R³ y R⁴ son cada uno independientemente H, alquilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido, alquenilo C₂-C₆ sustituido o no sustituido, alquinilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido, heteroalquilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido, cicloalquilo C₃-C₁₀ sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo C₃-C₁₀ sustituido o no sustituido, arilo C₅-C₁₀ sustituido o no sustituido, heteroarilo C₅-C₁₀ sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)arilo C₆-C₁₀ sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-C(O)- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-S(O)₁₋₂- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-NR'(O)- sustituido o no sustituido y alcoxi(C₁-C₆)-C(NR'')- sustituido o no sustituido, o R³ y R⁴ junto con los átomos de carbono a los que están anclados forman un anillo carbocíclico de 5 o 6 miembros;

25 R⁵ y R⁶ se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido, alquenilo C₂-C₆ sustituido o no sustituido, alquinilo C₂-C₆ sustituido o no sustituido, arilo C₅-C₁₀ sustituido o no sustituido, heteroarilo C₅-C₁₀ sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)arilo C₆-C₁₀ sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, heterociclilo sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)heterociclilo, alquil(C₁-C₆)-C(O)- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-S(O)₁₋₂- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-NR'(O)- sustituido o no sustituido y alcoxi(C₁-C₆)-C(NR'')- sustituido o no sustituido, hidroxil, hidroxialquilo, alcoxi, -NH(R⁷), -N(R⁷)₂, -COOH, -COR⁷, -COOR⁷, -CONHR⁷, -CSNHR⁷, -S(O)R⁷, -S(O)₂R⁷, -C(O)N(R⁷)₂, -S(O₂N(R⁷)₂) y -(CH₂)_mR⁸, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido; o

35 R⁵ y R⁶ cuando se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están anclados forman un grupo heterocicloalquilo o heteroarilo opcionalmente sustituido;

35 cada R⁷ se selecciona independientemente del grupo que consiste en H, alquilo, alquenilo, alquinilo, haloalquilo, heteroalquilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo, heteroarilo, cicloalquilalquilo, heterocicloalquilalquilo, arilalquilo, heteroarilalquilo y acilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido;

cada R⁸ se selecciona independientemente del grupo que consiste en cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo y heteroarilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido;

40 R' y R'' se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en H y alquilo C₁-C₆; y

m es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 1, 2, 3, 4, 5 y 6;

el Ligando se selecciona del grupo que consiste en:

45 a) un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en alanina, arginina, asparragina, ácido aspártico, cisteína, ácido glutámico, glutamina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, ornitina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina y valina;

b) un éster de un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en éster etílico de alanina, éster etílico de arginina, éster metílico de arginina, éster etílico de cisteína, éster dimetílico de cistina, éster etílico de glicina, éster etílico de fenilalanina, éster etílico de tirosina, éster metílico de L-tirosina, éster metílico de tirosina y éster etílico de triptófano;

5 c) un dipéptido;

d) un ácido carboxílico, ácido dicarboxílico o ácido policarboxílico orgánicos seleccionados del grupo que consiste en ácido cítrico, ácido tioldipropiónico, ácido glucónico, ácido glucurónico, ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido succínico, ácido láctico, ácido málico, ácido adípico, ácido trans-aconítico, ácido benzoico, ácido caprílico, ácido úrico, ácido cólico, ácido tartárico, ácido linoleico, ácido nicotínico, ácido oleico, ácido pectínico, ácido propiónico, ácido salicílico, ácido sórbico, ácido esteárico

10

e) un monosacárido o un disacárido seleccionados del grupo que consiste en glucosa, lactosa, maltosa, sacarosa, fructosa, manitol, sorbitol, ribosa y sorbosa; y

f) un compuesto orgánico seleccionado del grupo que consiste en 2-pirrolidiona, cafeína, sacarina, N,N,N',N'-tetrabutiltereftalamida, N,N,N',N'-tetraetiltereftalamida, N,N,N',N'-tetrapropiltereftalamida, urea, propilenglicol, niacinamida (nicotinamida), piridoxina, riboflavina, tiamina (tiamina) y acetato de alfa-tocoferol (acetato de vitamina E); y

15

una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. El DNC de la reivindicación 1 en donde:

R³ y R⁴ son cada uno independientemente H, alquilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido, arilo C₅-C₁₀ sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)arilo C₆-C₁₀ sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-C(O)- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-S(O)₁₋₂- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-NR'³C(O)- sustituido o no sustituido y alcoxi(C₁-C₆)-C(NR'')- sustituido o no sustituido, o R¹ y R² junto con los átomos de carbono a los que están anclados forman un anillo carbocíclico de 5 o 6 miembros;

20

R¹ es H y R² se selecciona del grupo que consiste en alquilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido, arilo C₅-C₁₀ sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)arilo C₆-C₁₀ sustituido o no sustituido, heterociclilo sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)heterociclilo, alquil(C₁-C₆)-C(O)- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-S(O)₁₋₂- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-NR'¹C(O)- sustituido o no sustituido y alcoxi(C₁-C₆)-C(NR'')- sustituido o no sustituido y

25

R⁵ es H y R⁶ se selecciona del grupo que consiste en alquilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido, arilo C₅-C₁₀ sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)arilo C₆-C₁₀ sustituido o no sustituido, heterociclilo sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)heterociclilo, alquil(C₁-C₆)-C(O)- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-S(O)₁₋₂- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-NR'⁵C(O)- sustituido o no sustituido y alcoxi(C₁-C₆)-C(NR'')- sustituido o no sustituido.

30

3. El DNC de la reivindicación 1, en donde R³ y R⁴ son cada uno independientemente H, alquilo C₁₋₃ o R³ y R⁴ junto con los átomos de carbono a los que están anclados forman un grupo ciclohexilo C₆; y R⁵ y R⁶ se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en alquilo C₁₋₃, -C₆H₅, p-Cl-C₆H₄, p-MeO-C₆H₄, alquil(C₁₋₂)-C₆H₅, alquil(C₁₋₂)-p-Cl-C₆H₄, alquil(C₁₋₂)-p-MeO-C₆H₄ y alquil(C₁₋₂)-morfolino.

35

4. El DNC de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde el ligando se selecciona del grupo que consiste en un aminoácido, ácido cítrico, ácido tioldipropiónico, ácido glucónico, ácido glucurónico, ácido ascórbico, cafeína, glucosa, glutatión, lactosa, ácido láctico, ácido málico, maltosa, ácido succínico, ácido úrico, ácido cítrico, éster metílico de L-tirosina, éster di-metílico de cistina y sacarina.

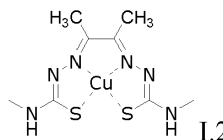
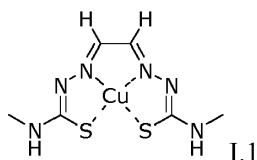
5. El DNC de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde:

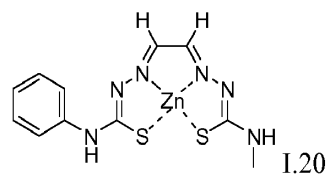
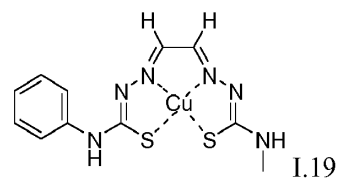
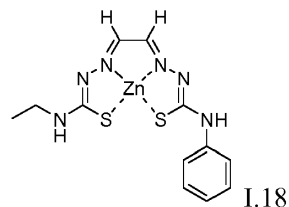
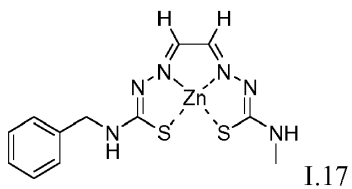
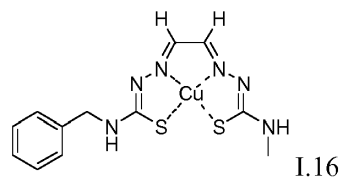
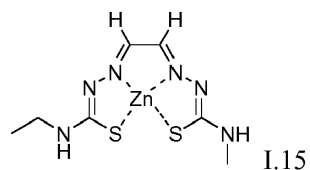
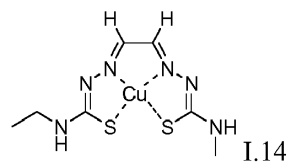
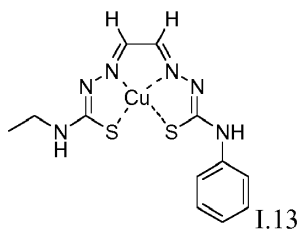
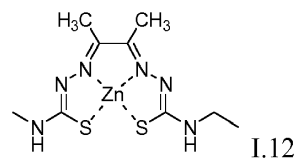
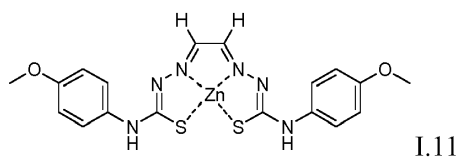
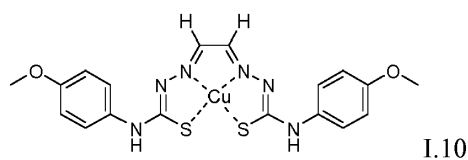
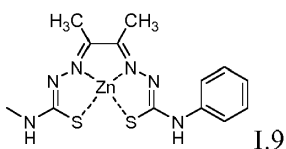
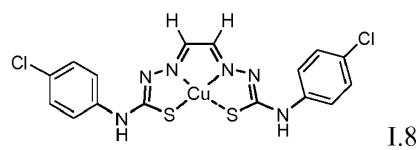
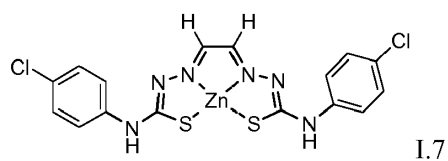
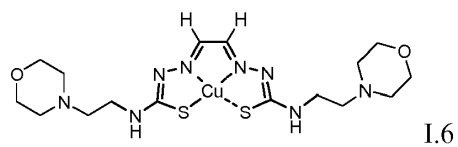
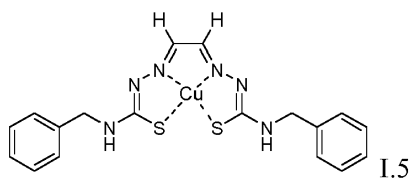
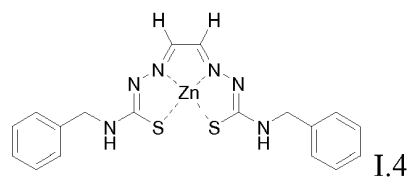
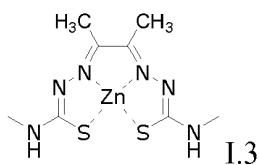
R³ y R⁴ son cada uno independientemente H, alquilo C₁₋₃ o junto con los átomos de carbono a los que están anclados forman un grupo ciclohexilo C₆; y

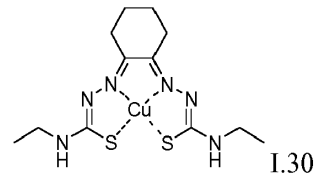
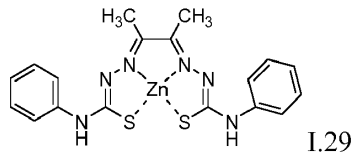
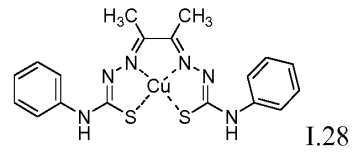
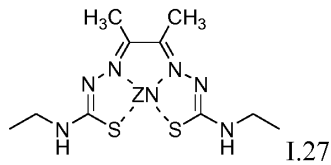
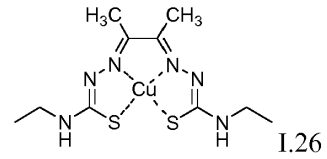
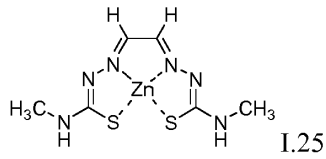
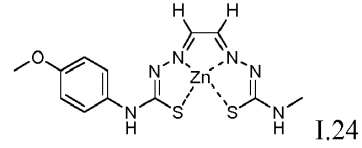
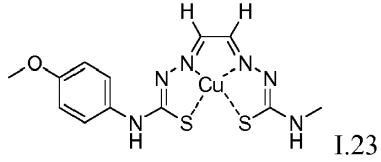
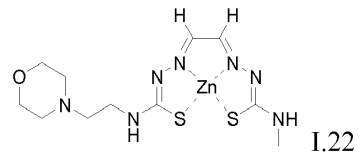
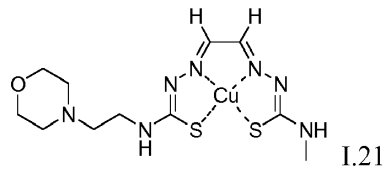
R⁵ y R⁶ se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en alquilo C₁₋₃, -C₆H₅, p-Cl-C₆H₄, p-MeO-C₆H₄, alquil(C₁₋₂)-C₆H₅, alquil(C₁₋₂)-p-Cl-C₆H₄, alquil(C₁₋₂)-p-MeO-C₆H₄ y alquil(C₁₋₂)-morfolino.

45

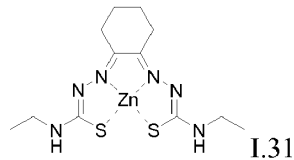
6. El DNC de la reivindicación 1, en donde el compuesto de Fórmula I se selecciona del grupo que consiste en I.1 a I.31:



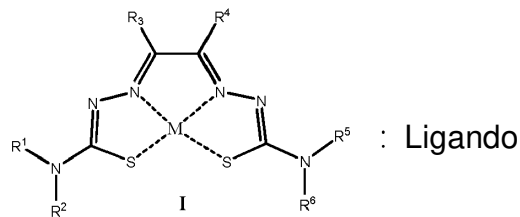




5



7. Un derivado no covalente (DNC) de un compuesto de fórmula I con un ligando:

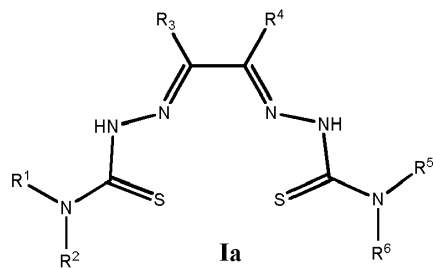


Derivado No Covalente

en donde el DNC se forma a partir de un compuesto de Fórmula Ia y un ligando metalado, en donde

10

el compuesto de la Fórmula Ia es:



Agente Quelante

El Ligando Metalado es una sal metálica de un ligando en donde el metal se selecciona del grupo que consiste en Fe, Zn y Cu;

El Ligando se selecciona del grupo que consiste en:

5 a) un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en alanina, arginina, asparragina, ácido aspártico, cisteína, ácido glutámico, glutamina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, ornitina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina y valina;

10 b) un éster de un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en éster etílico de alanina, éster etílico de arginina, éster metílico de arginina, éster etílico de cisteína, éster dimetílico de cistina, éster etílico de glicina, éster etílico de fenilalanina, éster etílico de tirosina, éster metílico de L-tirosina, éster metílico de tirosina y éster etílico de triptófano;

c) un dipéptido;

15 d) un ácido carboxílico, ácido dicarboxílico o ácido policarboxílico orgánicos seleccionados del grupo que consiste en ácido cítrico, ácido tioldipropiónico, ácido glucónico, ácido glucurónico, ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido succínico, ácido láctico, ácido málico, ácido adípico, ácido trans-aconítico, ácido benzoico, ácido caprílico, ácido úrico, ácido cólico, ácido tartárico, ácido linoleico, ácido nicotínico, ácido oleico, ácido pectínico, ácido propiónico, ácido salicílico, ácido sórbico, ácido esteárico;

e) un monosacárido o un disacárido seleccionado del grupo que consiste en glucosa, lactosa, maltosa, sacarosa, fructosa, manitol, sorbitol, ribosa y sorbosa; y

20 f) un compuesto orgánico seleccionado del grupo que consiste en 2-pirrolidinona, cafeína, sacarina, N,N,N',N'-tetrabutiltereftalamida, N,N,N',N'-tetraetiltereftalamida, N,N,N',N'-tetrapropiltereftalamida, urea, propilenglicol, niacinamida (nicotinamida), piridoxina, riboflavina, tiamina (tiamina) y acetato de alfa-tocoferol (acetato de vitamina E);

25 R¹ y R² se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido, alquenilo C₂-C₆ sustituido o no sustituido, alquinilo C₂-C₆ sustituido o no sustituido, arilo C₅-C₁₀ sustituido o no sustituido, heteroarilo C₅-C₁₀ sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)arilo C₆-C₁₀ sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, heterociclilo sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)heterociclilo, alquil(C₁-C₆)-C(O)- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-S(O)₁₋₂ sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-NR'⁷C(O)- sustituido o no sustituido y alcoxi(C₁-C₆)-C(NR'')- sustituido o no sustituido, hidroxil, hidroxialquilo, alcoxi, -NH(R⁷), -N(R⁷)₂, -COOH, -COR⁷, -COOR⁷, -CONHR⁷, -CSNHR⁷, -S(O)R⁷, -S(O)₂R⁷, -C(O)N(R⁷)₂, -SO₂N(R⁷)₂ y -(CH₂)_mR⁸, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido; o

30 R¹ y R² cuando se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están anclados forman un grupo heterocicloalquilo o heteroarilo opcionalmente sustituido;

35 R³ y R⁴ son cada uno independientemente H, alquilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido, alquenilo C₂-C₆ sustituido o no sustituido, alquinilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido, heteroalquilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido, cicloalquilo C₃-C₁₀ sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo C₃-C₁₀ sustituido o no sustituido, arilo C₅-C₁₀ sustituido o no sustituido, heteroarilo C₅-C₁₀ sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)arilo C₆-C₁₀ sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-C(O)- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-S(O)₁₋₂ sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-NR'⁷C(O)- sustituido o no sustituido y alcoxi(C₁-C₆)-C(NR'')- sustituido o no sustituido, o R³ y R⁴ junto con los átomos de carbono a los que están anclados forman un anillo carbocíclico de 5 o 6 miembros;

40 R⁵ y R⁶ se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido, alquenilo C₂-C₆ sustituido o no sustituido, alquinilo C₂-C₆ sustituido o no sustituido, arilo C₅-C₁₀ sustituido o no sustituido, heteroarilo C₅-C₁₀ sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)arilo C₆-C₁₀ sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, heterociclilo sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)heterociclilo, alquil(C₁-C₆)-C(O)- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-S(O)₁₋₂ sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-NR'⁷C(O)- sustituido o no sustituido y alcoxi(C₁-C₆)-C(NR'')- sustituido o no sustituido, hidroxil, hidroxialquilo, alcoxi, -NH(R⁷), -N(R⁷)₂, -COOH, -COR⁷, -COOR⁷, -CONHR⁷, -CSNHR⁷, -S(O)R⁷, -S(O)₂R⁷, -C(O)N(R⁷)₂, -SO₂N(R⁷)₂ y -(CH₂)_mR⁸, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido; o

50 R⁵ y R⁶ cuando se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están anclados forman un grupo heterocicloalquilo o heteroarilo opcionalmente sustituido;

cada R⁷ se selecciona independientemente del grupo que consiste en H, alquilo, alquenilo, alquinilo, haloalquilo, heteroalquilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo, heteroarilo, cicloalquilalquilo, heterocicloalquilalquilo, arilalquilo, heteroarilalquilo y acilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido;

cada R⁸ se selecciona independientemente del grupo que consiste en cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo y heteroarilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido;

R' y R'' se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en H y alquilo C₁-C₆; y

m es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 1, 2, 3, 4, 5 y 6; y/o

5 una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

8. El DNC de la reivindicación 7, en donde el ligando metalado es gluconato metálico en donde el metal se selecciona del grupo que consiste en Fe, Cu o Zn.

9. El DNC de la reivindicación 8, en donde:

10 R³ y R⁴ son cada uno independientemente H, alquilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido, arilo C₅-C₁₀ sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)arilo C₆-C₁₀ sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-C(O)- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-S(O)₁₋₂- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-NR'C(O)- sustituido o no sustituido y alcoxi(C₁-C₆)-C(NR'')- sustituido o no sustituido, o R¹ y R² junto con los átomos de carbono a los que están anclados forman un anillo carbocíclico de 5 o 6 miembros;

15 R¹ es H y R² se selecciona del grupo que consiste en alquilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido, arilo C₅-C₁₀ sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)arilo C₆-C₁₀ sustituido o no sustituido, heterociclilo sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)heterociclilo, alquil(C₁-C₆)-C(O)- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-S(O)₁₋₂- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-NR'C(O)- sustituido o no sustituido y alcoxi(C₁-C₆)-C(NR'')- sustituido o no sustituido y

20 R⁵ es H y R⁶ se selecciona del grupo que consiste en alquilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido, arilo C₅-C₁₀ sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)arilo C₆-C₁₀ sustituido o no sustituido, heterociclilo sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)heterociclilo, alquil(C₁-C₆)-C(O)- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-S(O)₁₋₂- sustituido o no sustituido, alquil(C₁-C₆)-NR'C(O)- sustituido o no sustituido y alcoxi(C₁-C₆)-C(NR'')- sustituido o no sustituido.

10. El DNC de la reivindicación 9, en donde:

25 R¹ es H;
R² es alquilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido;
R³ y R⁴ son metilo;
R⁵ es alquilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido; y
R⁶ es alquilo C₁-C₆ sustituido o no sustituido.

11. El DNC de la reivindicación 9, en donde el compuesto de la Fórmula la es ATSMH₂ y el gluconato metálico es gluconato de cobre(II) o gluconato de zinc(II).

30 12. El DNC de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, opcionalmente en forma de un estereoisómero único o una mezcla de estereoisómeros del mismo.

13. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un DNC de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, y un excipiente o sal farmacéuticamente aceptable.

35 14. El DNC o una composición farmacéutica del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, para su uso en el tratamiento o la profilaxis de una afección en un mamífero, en donde el suministro de metal puede prevenir, aliviar o mejorar la afección.

40 15. El DNC o una composición farmacéutica del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, para su uso de acuerdo con la reivindicación 14, en donde la afección se selecciona del grupo que consiste en miocardiopatía inducida por adriamicina; demencia por SIDA y neurotoxicidad inducida por VIH-1; enfermedad de Alzheimer; porfiria aguda intermitente; enfermedad de Alzheimer (EA); esclerosis lateral amiotrófica (ELA); aterosclerosis; catarata; isquemia cerebral; parálisis cerebral; tumor cerebral; daño a órganos inducido por quimioterapia; nefrotoxicidad inducida por cisplatino; cirugía de bypass de la arteria coronaria; enfermedad de Creutzfeldt-Jacob y su nueva variante asociada a la enfermedad de las "vacas locas"; neuropatía diabética; síndrome de Down; ahogo; epilepsia y epilepsia postraumática; ataxia de Friedrich; demencia frontotemporal; glaucoma; glomerulopatía; hemocromatosis; hemodiálisis; hemólisis; síndrome hemolítico urémico (enfermedad de Weil); enfermedad de Menkes; accidente cerebrovascular hemorrágico; enfermedad de Hallerboden-Spatz; ataque al corazón y lesión por reperfusión; enfermedad de Huntington; enfermedad de cuerpos de Lewy; claudicación intermitente; accidente cerebrovascular isquémico; enfermedad inflamatoria intestinal; degeneración macular; malaria; toxicidad inducida por metanol; meningitis (aséptica y tuberculosa); enfermedad de la neurona motora; esclerosis múltiple; atrofia multisistémica; isquemia miocárdica; neoplasia; enfermedad de Parkinson; asfixia perinatal; enfermedad de Pick; parálisis supranuclear progresiva (PSP); daño en órganos inducido por radioterapia; reestenosis después de angioplastia; retinopatía; demencia senil; esquizofrenia; septicemia; choque séptico; encefalopatías espongiiformes; hemorragia subaracnoidea/vasoespasmio cerebral; hematoma subdural; trauma quirúrgico, neurocirugía incluida; talasemia; ataque isquémico transitorio (AIT); trasplante; demencia vascular;

meningitis viral; encefalitis viral; Neuropatías, acrodermatitis enteropática; demencia con cuerpos de Lewy; tauopatías; deterioro cognitivo leve (DCL); enfermedad de la neurona motora (EMN) y enfermedad priónica.

5 16. El DNC o una composición farmacéutica del mismo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, para su uso según la reivindicación 14, en donde la afección es una enfermedad neurodegenerativa seleccionada del grupo que consiste en enfermedad de Alzheimer (EA), esclerosis lateral amiotrófica (ELA), enfermedad de Menkes, esclerosis múltiple, neuropatías, enfermedad de la neurona motora, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, demencia frontotemporal, acrodermatitis enteropática, demencia con cuerpos de Lewy, tauopatías, deterioro cognitivo leve (DCL), parálisis supranuclear progresiva (PSP) y enfermedad de la neurona motora (MND) y enfermedad priónica.

10

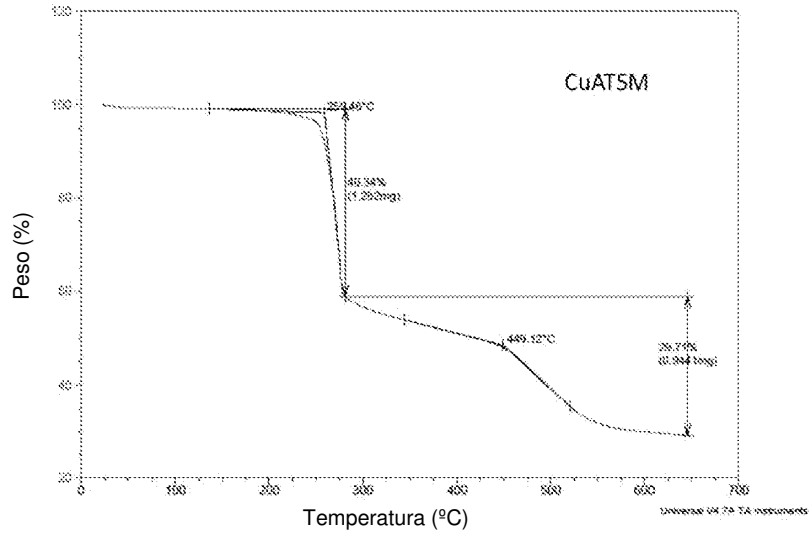


Figura 1. Análisis termogravimétrico de muestra de CuATSM (Estructura I, R¹ y R⁶ = H; R², R³, R⁴ y R⁵ = Me) utilizado para la preparación del DNC de ácido málico de la Figura 2

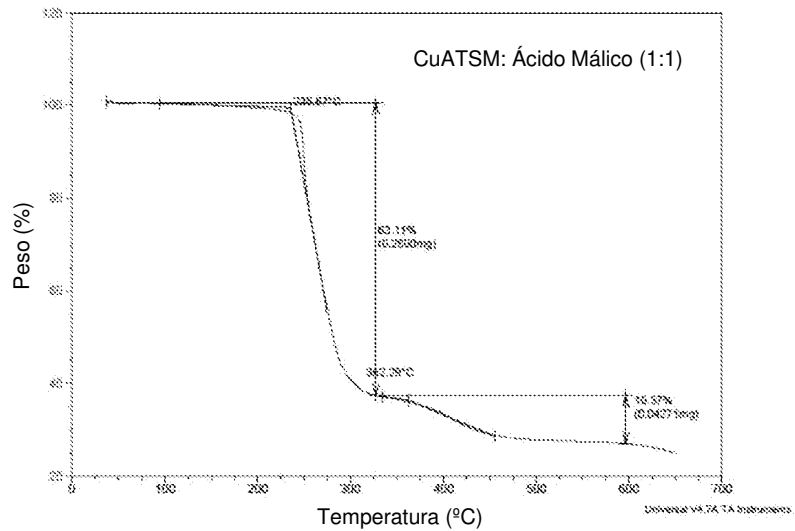


Figura 2. Análisis termogravimétrico de un derivado no covalente de CuATSM con Ácido Málico (1:1).

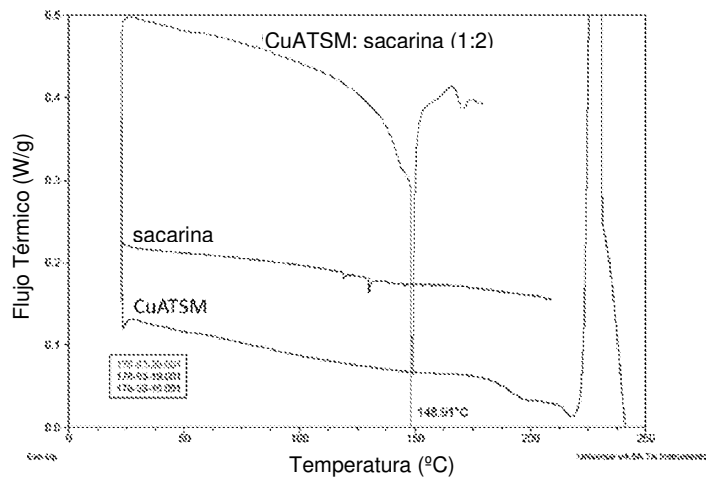


Figura 3. DSC de CuATSM: sacarina (1:2) en comparación con el DSC de CuATSM y sacarina

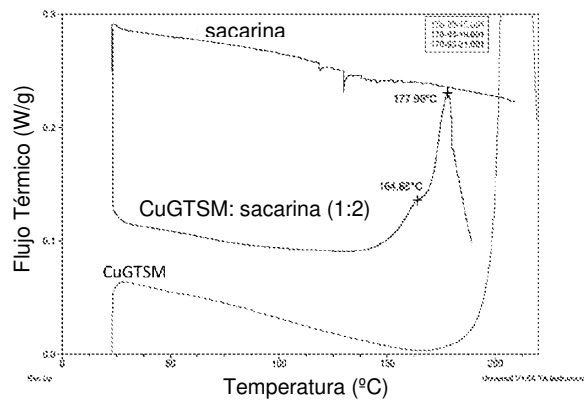


Figura 4. DSC de CuGTSM: sacarina (1:2) en comparación con el DSC de sacarina y CuGTSM.

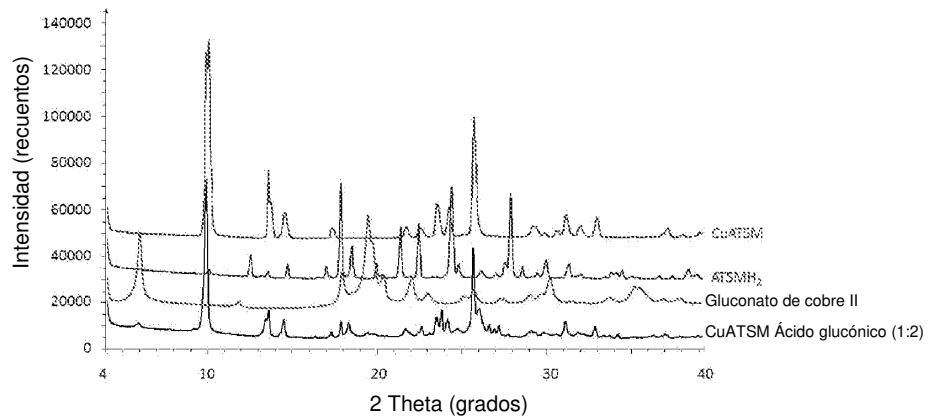


Figura 5. Espectro de difracción de rayos X de polvo (XRPD) de CuATSM: ácido glucónico (1:2) preparado mediante molienda con bolas, en comparación con espectros XRPD de gluconato de cobre(II) y materiales de partida de ATSMH₂, y con un espectro XRPD de CuATSM. Los espectros se equilibran verticalmente entre sí mediante 10000 recuentos.

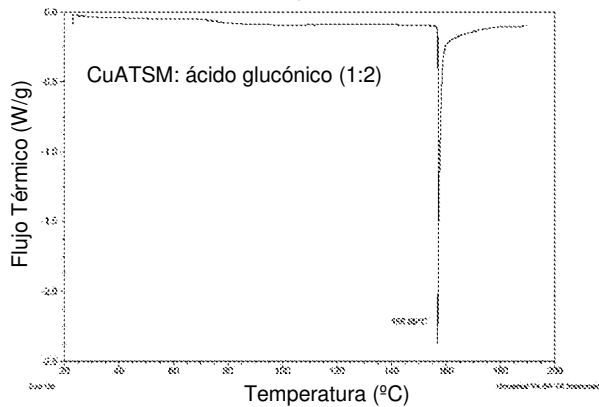


Figura 6. DSC de CuATSM: ácido glucónico (1:2) producto de molienda con bolas durante 90 minutos de ATSMH₂ con gluconato de Cu(II).

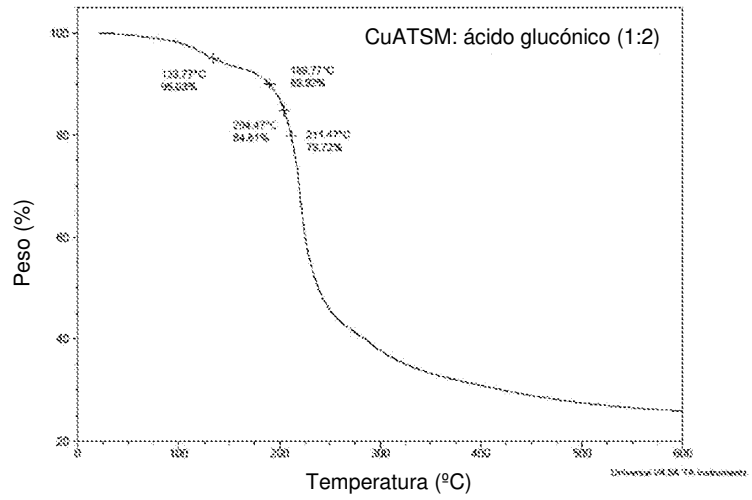


Figura 7. Análisis termogravimétrico (TGA) de CuATSM: ácido glucónico (1:2) producto de molienda con bolas durante 90 minutos de ASTMH2 con gluconato de Cu(II).

Los Derivados No Covalentes Mejoran la Solubilidad de Cu²⁺ (ATSM)
 (Nota: Límite Superior de Detección = 1000 µg/ml)

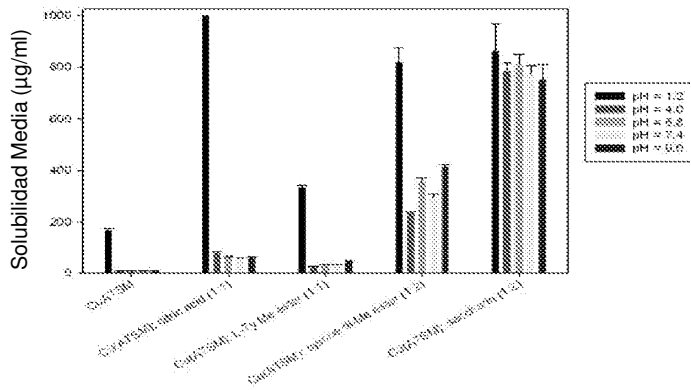


Figura 8. Solubilidades de derivados no covalentes de CuATSM en diversos tampones, determinadas a partir de espectros en disolución después de una incubación de 20 horas del tampón con compuesto sólido.

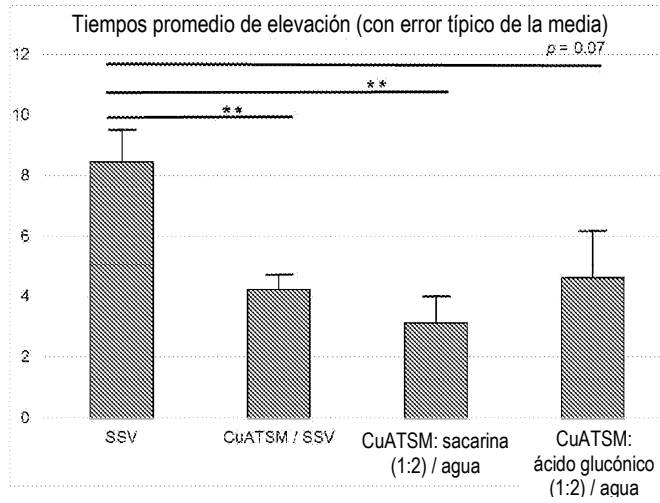


Figura 9. Tiempos medios de elevación hasta el alambre de ratones lesionados con MPTP, tratados, que muestran un error típico de la media de las muestras en cada población de tratamiento; **, $p < 0,01$;

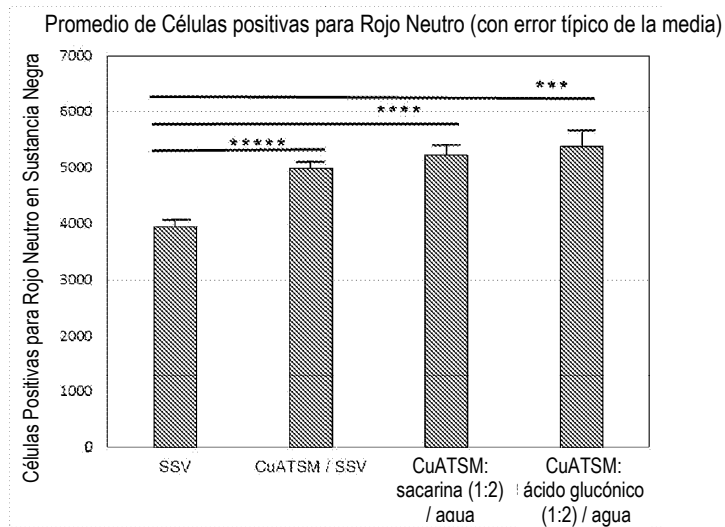


Figura 10. Recuento de células positivas para Rojo Neutro en sustancia negra de ratones lesionados con MPTP, tratados, que muestra un error típico de la media de las muestras en cada población de tratamiento; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$; ***** $p < 0,00001$.

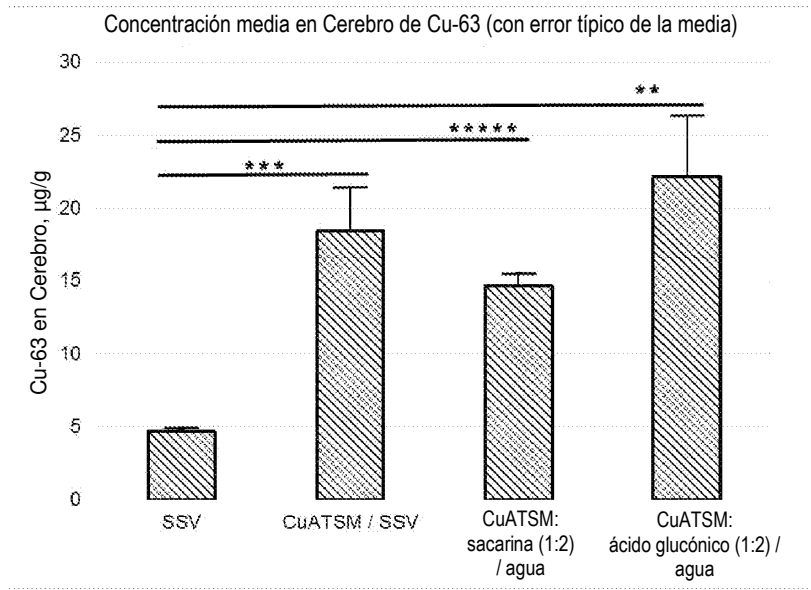


Figura 11. Concentración media en Cerebro de Cu-63 en ratones lesionados con MPTP, tratados; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,00001$.

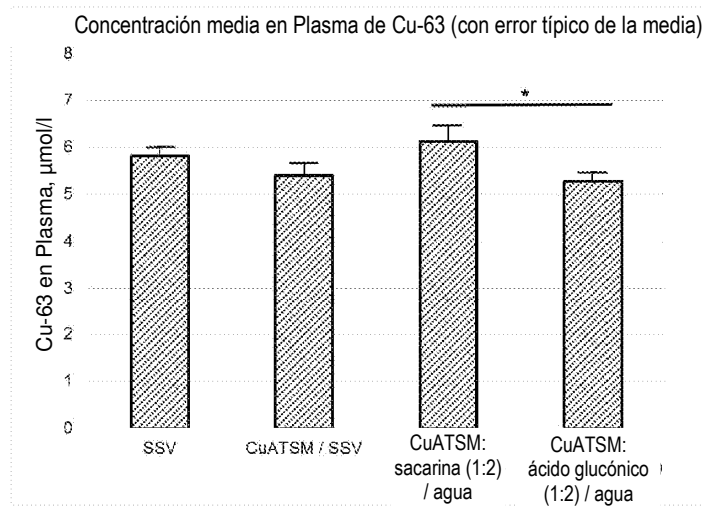


Figura 12. Concentración media en Plasma de Cu-63 en ratones lesionados con MPTP, tratados; * $p < 0,05$.

Resultados preliminares sobre el efecto de Cu^{II} (atasm) sobre la motilidad intestinal

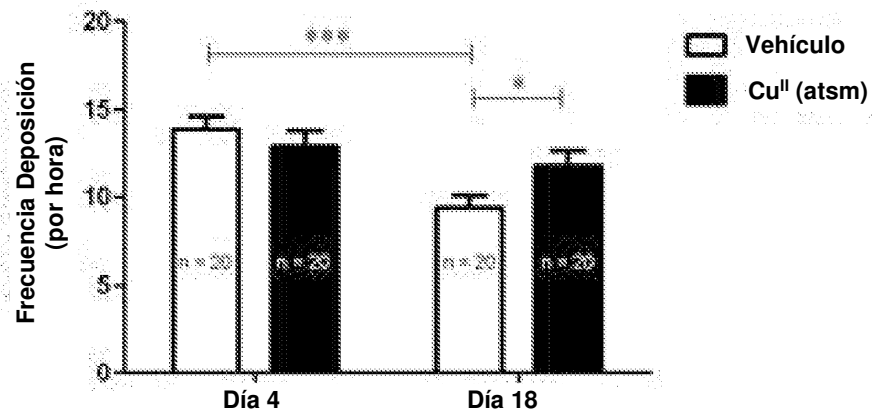


Figura 13. Resultados representativos para una comparación de la frecuencia de deposición entre vehículo y tratamiento con CuATSM.