



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 293 106**

51 Int. Cl.:
C07D 487/22 (2006.01)
A61K 31/44 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **04003746 .7**
86 Fecha de presentación : **14.09.2000**
87 Número de publicación de la solicitud: **1420022**
87 Fecha de publicación de la solicitud: **19.05.2004**

54 Título: **Utilización de complejos piridino pentaazamacrocíclicos sustituidos que tienen actividad superóxido dismutasa.**

30 Prioridad: **16.09.1999 US 398120**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.03.2008

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.03.2008

73 Titular/es: **Monsanto Company**
800 North Lindbergh Boulevard
St. Louis, Missouri 63167, US

72 Inventor/es: **Riley, Dennis;**
Neumann, William L.;
Henke, Susan L.;
Lennon, Patrick;
Ashton, Karl W.;
Sikorski, James A.;
Salvemini, Daniela;
Foblan, Yvette;
Grapperhaus, Lanahan y
Kusturin, Carrie L.

74 Agente: **Ponti Sales, Adelaida**

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

Utilización de complejos piridino pentaazamacrocíclicos sustituidos que tienen actividad superóxido dismutasa.

5 Antecedentes de la invención

Campo de la invención

La presente invención está relacionada con el uso y con un procedimiento para sintetizar compuestos que son
 10 eficaces como catalizadores para la dismutación de superóxido y, más particularmente, los complejos de hierro o
 manganeso de ligandos pentaazaciclopentadecano heterocíclicos no saturados, sustituidos, los cuales catalíticamente
 dismutan al superóxido, tal y como se define en las reivindicaciones independientes.

Técnica relacionada

15 El enzima superóxido dismutasa cataliza la conversión de superóxido en oxígeno y peróxido de hidrógeno, según
 la ecuación (1) (en adelante identificada como dismutación).



20

se ha demostrado que los metabolitos de oxígeno reactivo derivados de superóxido contribuyen a la patología tisular
 en un determinado número de enfermedades y trastornos inflamatorios, tales como la lesión por repercusión en el mio-
 cardio isquémico, la enfermedad de intestino inflamado, artritis reumatoide, osteoartritis, aterosclerosis, hipertensión,
 25 metástasis, psoriasis, rechazo por trasplante de órganos, lesión inducida por radiación, asma, gripe, ictus, quemaduras
 y traumatismos. Ver, por ejemplo, Simic, M.G., *et al.*, Oxygen Radicals in Biology and Medicine, Basic Life Scien-
 ces, Vol. 49, Plenum Press, New York and London, 1988; Weiss J.Cell. Biochem., 1991 Supple. 15C, 216 Abstract
 C110 (1991); Petkau, A. Cancer Treat. Rev. 13, 17 (1986); McCord, J. Free Radicals Biol. Med., 2 307 (1986); and
 Bannister, JV., *et al.*, Crit. Rev. Biochem., 22 111 (1987).

30

Resulta también conocido que el superóxido está involucrado en la rotura del factor relajante vascular procedente
 del endotelio (EDRF), el cual ha sido identificado como óxido nítrico (NO), y que el EDRF está protegido frente
 a la rotura a través de la superóxido dismutasa. Esto sugiere un papel central para las especies de oxígeno activado
 procedentes de superóxido en la patogénesis de la hipertensión, el vasoespasmo, la trombosis y la aterosclerosis.
 35 Ver, por ejemplo, Gryglewski, R.J. *et al.*, "Superoxide Anion is Involved in the Breakdown of Endothelium-derived
 Vascular Relaxing Factor", Nature, Vol. 320, pp. 454-56 (1986) and Palmer, R.M.J. *et al.*, "Nitric Oxide Release
 Accounts for the Biological Activity of Endothelium Derived Relaxing Factor", Nature, Vol. 327, pp. 523-26 (1987).

35

La publicación de patente Internacional WO 98/58636 describe catalizadores sintéticos de bajo peso molecular
 40 que tienen diferentes estructuras, para la dismutación de superóxido, los cuales pueden ser utilizados como potentes
 analgésicos.

40

Udipi K. *et al.*, "Modification of Inflammatory Response to Implanted Biomedical Materials *in vivo* by Surface
 Bound Soperoxide Dismutase Mimics", Journal of Biomedical Materials Research, Wiley, New Cork, USA, Volume
 45 51, N° 4, 2000, páginas 549 a 560, publicado después de la fecha de prioridad de la presente invención, es un artículo
 que describe procedimientos de síntesis y resultados *in vivo* de un tratamiento superficial para materiales biomédicos,
 que conlleva la conjugación covalente de un imitador superóxido dismutasa de bajo peso molecular, el cual imparte
 características anti-inflamatorias al material.

45

Salvemini D. *et al.*, "A Nonpeptidyl Mimic Superoxide Dismutase with Therapeutic Activity in Rats", Science,
 1999, Volumen 286, páginas 304-306, publicado después de la fecha de prioridad de la presente invención, describe
 complejos de manganeso (III) con un ligando macrocíclico sustituido por una bis(ciclohexilpiridina), designados para
 ser imitadores funcionales de los enzimas superóxido dismutasa que normalmente eliminan estos radicales.

50

Se han completado, o están en curso de hacerlo, ensayos clínicos y estudios animales con enzimas superóxido
 dismutasa de origen natural, recombinantes y modificados, para demostrar la eficacia terapéutica de la reducción de
 niveles de superóxido en los estados de enfermedad descritos anteriormente. No obstante, han surgido numerosos
 problemas con la utilización de los enzimas como potenciales agentes terapéuticos, incluyendo la falta de actividad
 oral, semividas cortas *in vivo*, inmunogenicidad de enzimas derivados de no humanos y pobre distribución en tejido.

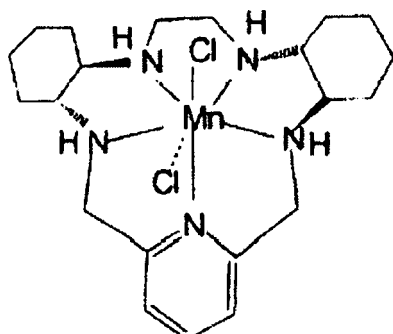
55

En un esfuerzo para superar los problemas asociados con los enzimas superóxido dismutasa, se han llevado a cabo
 diversas investigaciones en relación con el diseño de catalizadores no proteínicos para la dismutación de superó-
 xido y su uso en el tratamiento de diversas enfermedades relacionadas con superóxido. Un grupo de catalizadores
 que ha demostrado ser casi tan eficaces como los enzimas superóxido dismutasa de origen natural son los complejos
 65 de hierro y manganeso de ligandos pentaazaciclopentadecano, descritos en las patentes de EE.UU. Nos. 5.610.293,
 5.637.578 y 5.874.421. Estos ligandos son descritos como macrociclos pentaazaciclopentadecano, con diversos sus-
 tituyentes sobre los carbonos del macrociclo, o con estructuras cíclicas o heterocíclicas unidas a los carbonos del
 macrociclo. Se ha demostrado que estos compuestos poseen actividad catalítica dismutante de superóxido, al igual

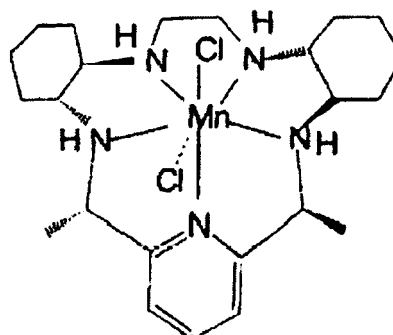
60

65

que actividad antiinflamatoria y para la prevención del daño oxidativo. Además, se ha demostrado que estos compuestos poseen actividad analgésica en el modelo de hiperplasia de carragenina en pata de rata, tal como se indica en la solicitud de patente de EE.UU N° 09/057831. Dos de los citados compuestos imitadores SOD son el Compuesto A y el Compuesto B:



Compuesto A



Compuesto B

Resumen de la invención

Los solicitantes de la presente han averiguado que, de forma sorprendente, la adición de sustituyentes a un resto heterocíclico no saturado que contiene nitrógeno sobre el macrociclo de pentaazaciclopentadecano de los compuestos descritos anteriormente, puede alterar drásticamente tanto la actividad catalítica de la superóxido dismutasa, como incrementar la eficacia de estos complejos como agentes farmacéuticos. Los solicitantes han averiguado que los compuestos de la presente invención que comprenden restos heterociclo sustituidos, no saturados, que contienen nitrógeno, muestran, de forma sorprendente, un marcado incremento en la potencia para la prevención o inversión de la tolerancia a opioides, en comparación con la de los complejos descritos previamente con restos heterociclo no sustituidos que contienen nitrógeno. Además, estos compuestos heterociclo sustituidos, no saturados, que contienen nitrógeno son hasta diez veces más potentes como agentes farmacéuticos para composiciones antiinflamatorias y analgésicas y son tan buenos como o, a menudo, mejores que, los compuestos no sustituidos de partida en aplicaciones tales como el tratamiento de la hipotensión rebelde provocada por endotoxina. Por lo tanto, los compuestos de la presente invención muestran mejoras no anticipadas en importantes características para productos farmacéuticos, en relación con los complejos pentaazaciclopentadecano descritos con anterioridad, con restos heterociclo piridino no sustituidos que contienen nitrógeno.

La presente invención describe catalizadores de bajo peso molecular para la dismutación de radicales superóxido (imitadores SOD), útiles como agentes terapéuticos para el tratamiento de dolencias y enfermedades inflamatorias, en las cuales se encuentran involucrados aniones superóxido. Los imitadores SOD de la presente invención son complejos de manganeso o de hierro de ligandos macrocíclicos de quince componentes que contienen nitrógeno, los cuales comprenden un resto heterociclo sustituido, no saturado, que contiene nitrógeno, muy preferiblemente aquellos con sustituyentes ciclohexilo, hidroxialquiltio, éster alquílico (ácido 2-tioacético), benciloxi, metoxiariltio, alcóxicarbonilartio y éster arilo (ácido 2-tioacético). El resto heterociclo que contiene nitrógeno es un resto piridino sustituido.

La presente invención va también dirigida a procedimientos para la preparación de los imitadores SOD descritos anteriormente, especialmente a nuevos procedimientos para modificar los sustituyentes sobre el resto heterociclo después de quelación con el ión metálico de transición.

Otros objetivos y características resultarán en parte evidentes y en parte sugeridos, de ahora en adelante.

Breve descripción de los dibujos y definiciones

Dibujos

Figura 1: un gráfico de datos de presión arterial promedio, obtenidos a partir de ratas endotoxémicas, Ejemplo 16. ♦ Grupo que recibió solución salina (control); Grupo que recibió tan solo LPS; Δ Grupo que recibió LPS y una infusión de 0,25 mg/kg/hr de Compuesto A, una vez transcurrida 1 hora; ▲ Grupo que recibió LPS y una infusión de 0,25 mg/kg/hr de Compuesto A, una vez transcurridas 5 horas.

Figura 2: un gráfico de datos de presión arterial promedio, obtenidos a partir de ratas endotoxémicas, Ejemplo 16. ♦ Grupo que recibió solución salina (control); Grupo que recibió tan solo LPS; Δ Grupo que recibió LPS y una infusión de 0,075 mg/kg/hr de Compuesto 25, una vez transcurridas 3 horas.

Figura 3: un gráfico de datos de presión arterial promedio, obtenidos a partir de ratas endotoxémicas, Ejemplo 16. ♦ Grupo que recibió solución salina (control); Grupo que recibió tan solo LPS; Δ Grupo que recibió LPS y una infusión de 0,075 mg/kg/hr de Compuesto 31, una vez transcurridas 3 horas.

Figura 4: un gráfico de las modificaciones en el volumen de pata en modelo de carragenina en pata de rata, Ejemplo 14. ■ Grupo que recibió únicamente inyección de carragenina; ● Grupo que recibió una infusión de 6 mg/kg/hora de Compuesto A, 15 minutos antes de la inyección de carragenina.

Figura 5: un gráfico de las modificaciones en el volumen de pata en modelo de carragenina en pata de rata, Ejemplo 14. ■ Grupo que recibió únicamente inyección de carragenina; ● Grupo que recibió una infusión de 10 mg/kg/hora de Compuesto 13, 15 minutos antes de la inyección de carragenina.

Figura 6: un gráfico de las modificaciones en el volumen de pata en modelo de carragenina en pata de rata, Ejemplo 14. ■ Grupo que recibió únicamente inyección de carragenina; ● Grupo que recibió una infusión de 1 mg/kg/hora de Compuesto 14, 15 minutos antes de la inyección de carragenina. ▲ Grupo que recibió una infusión de 10 mg/kg/hora de Compuesto 14, 15 minutos antes de la inyección de carragenina.

Figura 7: un gráfico de las modificaciones en el volumen de pata en modelo de carragenina en pata de rata, Ejemplo 14. ■ Grupo que recibió únicamente inyección de carragenina; ● Grupo que recibió una infusión de 10 mg/kg/hora de Compuesto 25, 15 minutos antes de la inyección de carragenina.

Figura 8: un gráfico de las modificaciones en el volumen de pata en modelo de carragenina en pata de rata, Ejemplo 14. ■ Grupo que recibió únicamente inyección de carragenina; ● Grupo que recibió una infusión de 10 mg/kg/hora de Compuesto 31, 15 minutos antes de la inyección de carragenina.

Figura 9: un gráfico que representa los efectos protectores del Compuesto A, en un modelo de shock inducido por *E. Coli* vivo. La Figura 9a describe el efecto protector del Compuesto A, a la hora de evitar una caída en la MAP. La Figura 9B describe el efecto protector del Compuesto A, a la hora de evitar una caída en la frecuencia cardíaca.

Figura 10: representa la estructura molecular del Compuesto 25 de la presente invención.

Definiciones

Tal como se utiliza en el presente documento, la expresión “imitador SOD” significa un catalizador de bajo peso molecular para la conversión de aniones superóxido en peróxido de hidrógeno y oxígeno molecular. Estos catalizadores comprenden un ligando orgánico que tiene una parte pentaazaciclopentadecano y un ión metal de transición quelado, preferiblemente manganeso o hierro. El término puede incluir catalizadores que contienen polipéptidos de cadena corta (menos de 15 aminoácidos) o estructuras macrolíticas procedentes de aminoácidos, como el ligando orgánico. El término explícitamente excluye un enzima superóxido dismutasa obtenido a partir de cualquier tipo de fuente de origen natural.

El término “ligando precursor” significa el ligando orgánico de un imitador SOD, sin el catión de metal de transición quelado y aniones neutralizadores de carga.

El término “sustituido” significa que el resto descrito tiene uno o más sustituyentes que comprenden al menos 1 carbono o heteroátomo y comprende, además, entre 0 y 22 átomos de carbono, más preferiblemente entre 1 y 15 átomos de carbono y comprende entre 0 y 22, más preferiblemente entre 0 y 15, heteroátomos seleccionados de entre el grupo que comprende: O, S, N, P, Si, B, F, Cl, Br, o I. Estos átomos pueden estar dispuestos en un determinado número de configuraciones, creando grupos sustituyentes que son insaturados, saturados, o aromáticos. Entre los ejemplos de los citados sustituyentes se incluyen alquilo, alquenilo, o alquinilo, lineales o ramificados, ciclos, heterociclos, arilo, heteroarilo, alilo, policicloalquilo, policicloarilo, policicloheteroarilo, iminas, aminoalquilo, hidroxialquilo, hidroxilo, fenol, óxidos de amina, tioalquilo, carboalcoxialquilo, ácidos carboxílicos y sus derivados ceto, éter, aldehído, amina, amida, nitrilo, halo, tiol, sulfóxido, sulfona, ácido sulfónico, sulfuro, disulfuro, ácido fosfónico, ácido fosfínico, ácido acrílico, sulfonamidas, aminoácidos, péptidos, proteínas, carbohidratos, ácidos nucleicos, ácidos grasos, lípidos, nitro, hidroxilaminas, ácidos hidroxámicos, tiocarbonilos, boratos, boranos, boraza, sililo, silaza, siloxi y combinaciones de los mismos.

El término “alquilo”, solo o en combinación, significa un radical alquilo de cadena lineal o de cadena ramificada, que contiene entre 1 y aproximadamente 22 átomos de carbono, preferiblemente entre 1 y aproximadamente 18 átomos de carbono y, muy preferiblemente, entre aproximadamente 1 y aproximadamente 12 átomos de carbono. Entre los ejemplos de los citados radicales se incluyen, sin que ello suponga ninguna limitación, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, pentilo, iso-amilo, hexilo, octilo, nonilo, decilo, dodecilo, tetradecilo, hexadecilo, octadecilo y eicosilo.

El término “alquenilo”, solo o en combinación, significa un radical alquilo que tiene uno o más dobles enlaces. Entre los ejemplos de los citados radicales alquenilo se incluyen, sin que ellos supongan ninguna limitación, etenilo, propenilo, 1-butenilo, cis-2-butenilo, trans-2-butenilo, isobutenilo, cis-2-pentenilo, trans-2-pentenilo, 3-metil-1-

butenilo, 2,3-dimetil-2-butenilo, 1-pentenilo, 1-hexenilo, 1-octenilo, decenilo, dodecenilo, tetradecenilo, hexadecenilo, cis y trans-9-octadecenilo, 1,3-pentadienilo, 2,4-pentadienilo, 2,3-pentadienilo, 1,3-hexadienilo, 2,4-hexadienilo, 5,8,11,14-eicosatetraenilo y 9,12,15-octadecatrienilo.

5 El término “alquinilo”, solo o en combinación, significa un radical alquilo que tiene uno o más triples enlaces. Entre los ejemplos de tales grupos alquinilo se incluyen, sin que ello suponga ninguna limitación, etinilo, propinilo (propargilo), 1-butenilo, 1-octinilo, 9-octadecinilo, 1,3-pentadiinilo, 2,4-pentadiinilo, 1,3-hexadiinilo, y 2,4-hexadiinilo.

10 El término “cicloalquilo”, solo o en combinación, significa un radical cicloalquilo que contiene entre 3 y aproximadamente 10, preferiblemente entre 3 y aproximadamente 8, y muy preferiblemente entre 3 y aproximadamente 6, átomos de carbono. Entre los ejemplos de los citados radicales cicloalquilo se incluyen, sin que ello suponga ninguna limitación, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo y peridronaftilo.

15 El término “cicloalquilalquilo” significa un radical alquilo, tal como se ha definido anteriormente, que está sustituido por un radical cicloalquilo, tal y como se ha definido anteriormente. Entre los ejemplos de radicales cicloalquilalquilo se incluyen, sin que ello suponga ninguna limitación, ciclohexilmetilo, ciclopentilmetilo, (4-isopropilciclohexil)metilo, (4-t-butil-ciclohexil)metilo, 3-ciclohexilpropilo, 2-ciclohexilmetilpentilo, 3-ciclopentilmetilhexilo, 1-(4-neopentilciclohexil)metilhexilo y 1-(4-isopropilciclohexil)metilheptilo.

20 El término “cicloalquilocicloalquilo” significa un radical cicloalquilo, tal como se ha definido anteriormente, que está sustituido por otro radical cicloalquilo, tal como se ha definido anteriormente. Entre los ejemplos de radicales cicloalquilocicloalquilo se incluyen, sin que ello suponga ninguna limitación, ciclohexilciclopentilo y ciclohexilciclohexilo.

25 El término “cicloalquenilo”, solo o en combinación, significa un radical cicloalquilo que tiene uno o más dobles enlaces. Entre los ejemplos de radicales cicloalquenilo se incluyen, sin que ello suponga ninguna limitación, ciclopentenilo, ciclohexenilo, ciclooctenilo, ciclopentadienilo, ciclohexadienilo y ciclooctadienilo.

30 El término “cicloalquenilalquilo” significa un radical alquilo, tal como se ha definido anteriormente, que está sustituido por un radical cicloalquenilo, tal como se ha definido anteriormente. Entre los ejemplos de radicales cicloalquenilalquilo se incluye, sin que ello suponga ninguna limitación, 2-ciclohexen-1-ilmetilo, 1-ciclopenten-1-ilmetilo, 2-(1-ciclohexen-1-il)etilo, 3-(1-ciclopenten-1-il)propilo, 1-(1-ciclohexen-1-il)metilpentilo, 1-(1-ciclopenten-1-il)hexilo, 6-(1-ciclohexen-1-il)hexilo, 1-(1-ciclopenten-1-il)nonilo y 1-(1-ciclohexen-1-il)nonilo.

35 Los términos “alquilocicloalquilo” y “alquenilocicloalquilo” significan un radical cicloalquilo, tal como se ha definido anteriormente, que está sustituido por un radical alquilo o alquenilo, tal como se ha definido anteriormente. Entre los ejemplos de radicales alquilocicloalquilo y alquenilocicloalquilo se incluyen, sin que ellos suponga ninguna limitación, 2-etilciclobutilo, 1-metilciclopentilo, 1-hexilciclopentilo, 1-metilciclohexilo, 1-(9-octadecenil)ciclopentilo y 1-(9-octadecenil)ciclohexilo.

40 Los términos “alquilocicloalquenilo” y “alquenilocicloalquenilo” significan un radical cicloalquenilo, tal como se ha definido anteriormente, que está sustituido por un radical alquilo o alquenilo, tales como los definidos anteriormente. Entre los ejemplos de radicales alquilocicloalquenilo y alquenilocicloalquenilo se incluyen, sin que ello suponga ninguna limitación, 1-metil-2-ciclopentilo, 1-hexil-2-ciclopentenilo, 1-etil-2-ciclohexenilo, 1-butil-2-ciclohexenilo, 1-(9-octadecenil)-2-ciclohexenilo y 1-(2-pentenil)-2-ciclohexenilo.

50 El término “arilo”, solo o en combinación, significa un radical fenilo o naftilo, el cual soporta opcionalmente uno o más sustituyentes seleccionados de entre alquilo, cicloalquilo, cicloalquenilo, arilo, heterociclo, alcoxiarilo, alquilarilo, alcoxi, halógeno, hidroxilo, amino, ciano, nitro, alquiltio, fenoxi, éter, trifluorometilo y similares, tales como fenilo, p-tolilo, 4-metoxifenilo, 4-(terc-butoxi)fenilo, 4-fluorofenilo, 4-clorofenilo, 4-hidroxifenilo, 1-naftilo, 2-naftilo y similares.

55 El término “aralquilo”, solo o en combinación, significa un radical alquilo o cicloalquilo, tal como se ha definido anteriormente, en el cual un átomo de hidrógeno está sustituido por un radical arilo, tal como se ha definido anteriormente, tal como bencilo, 2-feniletilo y similares.

60 El término “heterociclo” significa estructuras de anillo que contienen al menos otro tipo de átomos, además de carbono, en el anillo. Entre los tipos de átomos más habituales se incluyen nitrógeno, azufre y oxígeno. Entre los ejemplos de heterociclos se incluyen, sin que ello suponga ninguna limitación, grupos pirrolidinilo, piperidilo, imidazolidinilo, tetrahidrofurilo, tetrahidrotienilo, furilo, tienilo, piridilo, quinolilo, isoquinolilo, piridazinilo, indolilo, imidazolilo, oxazolilo, tiazolilo, pirazolilo, piridinilo, benzoxadiazolilo, benzotiadiazolilo, triazolilo y tetrazolilo.

65 El término “ciclo saturado, parcialmente saturado o no saturado” significa estructuras de anillo fusionadas en las cuales dos átomos de carbono del anillo forman también parte del ligando macrocíclico de quince componentes. La estructura de anillo puede contener entre 3 y 20 átomos de carbono, preferiblemente entre 5 y 10 átomos de carbono y puede también contener uno o más tipos diferentes de átomos además de carbono. Entre los más habituales de estos tipos de átomos se incluyen nitrógeno, oxígeno y azufre. La estructura de anillo puede también contener más de un anillo.

El término “estructura de anillo saturado, parcialmente saturado o no saturado” significa una estructura de anillo en la cual un carbono del anillo forma también parte del ligando macrocíclico de quince componentes. La estructura de anillo puede contener de 3 a 20, preferiblemente entre 5 y 10, átomos de carbono y puede también contener átomos de nitrógeno, oxígeno y/o de azufre.

El término “heterociclo que contiene nitrógeno” significa estructuras de anillo en las cuales 2 carbonos y un nitrógeno del anillo forman también parte del ligando macrocíclico de 15 componentes. La estructura del anillo puede contener entre 2 y 20, preferiblemente entre 4 y 10, átomos de carbono, puede estar sustituida o no sustituida, parcial o completamente no saturada o saturada y puede también contener nitrógeno, oxígeno y/o átomos de azufre en las partes del anillo que no forman parte del ligando macrocíclico de quince componentes.

El término “estados de enfermedad y trastornos en los cuales están involucrados los aniones superóxido” significa cualquier estado de enfermedad o trastorno acerca de cual se sabe o se sospecha que los aniones superóxido o los productos de reacción que involucran aniones superóxido (tales como peroxinitrato), son un factor en el avance del estado de la enfermedad o trastorno. Entre los ejemplos de los citados estados de enfermedad, se incluyen la inflamación y la lesión por reperusión isquémica.

El término “anión ácido orgánico” se refiere a aniones ácido carboxílico que tienen aproximadamente entre 1 y aproximadamente 18 átomos de carbono.

El término “haluro” significa cloruro, fluoruro, yoduro o bromuro.

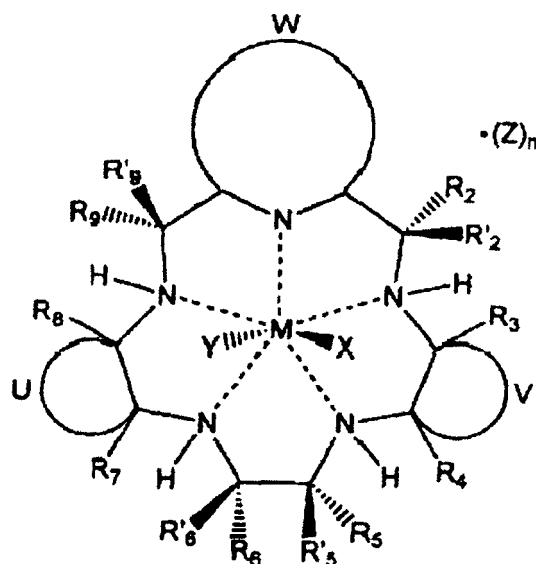
Tal como se utiliza en el presente documento, grupos “R” significan la totalidad de grupos R unidos a los átomos de carbono del macrociclo, a saber, R, R', R1, R'1, R2, R'2, R3, R'3, R4, R'4, R5, R'5, R6, R'6, R7, R'7, R8, R'8, R9.

Todas las referencias citadas en el presente documento son expresamente incorporadas por medio de referencia.

Los caracteres de referencia correspondientes indican las partes correspondientes a lo largo de los dibujos.

Descripción detallada de la invención

La presente invención va dirigida al uso y fabricación de ligandos macrocíclicos de quince componentes que contienen nitrógeno, y a sus complejos con metales de transición, los cuales se describen a través de la fórmula:



para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o trastorno en el que están involucrados aniones superóxido, que comprende la administración a un sujeto que precisa de la citada prevención o tratamiento, de una cantidad eficaz desde el punto de vista terapéutico, profiláctico, patológico o de reanimación, de al menos uno de los citados compuestos y en donde W es un resto piridino sustituido que comprende al menos un sustituyente seleccionado de entre el grupo que comprende alquilo de cadena lineal o ramificada, alquenilo, alquinilo, heterociclo, arilo, heteroarilo, alilo, policicloalquilo, policicloarilo, policicloheteroarilo, imino, aminoalquilo, hidroxialquilo, hidroxilo, fenol, óxidos de amina, tioalquilo, carboalcoxialquilo, ácidos carboxílicos y sus derivados, ceto, éter, aldehído, amina, amida, nitrilo, halo, tiol, sulfóxido, sulfona, ácido sulfónico, sulfuro, disulfuro, ácido fosfónico, ácido fosfínico, ácido acrílico, sulfonamidas, aminoácidos, péptidos, proteínas, carbohidratos, ácidos nucleicos, ácidos grasos, lípidos, nitró, hidroxilamino, ácidos hidroxámicos, tiocarbonilos, boratos, boranos, boraza, sililo, silaza, siloxi y sus combinaciones;

ES 2 293 106 T3

en donde U y V son estructuras cíclicas saturadas que contienen entre 3 y 20 átomos de carbono y forman un anillo cicloalquilo con los átomos de carbono del macrociclo al cual están unidos; y

5 en donde R₂, R'₂, R₃, R'₄, R₅, R'₅, R₆, R'₆, R₇, R₈, R₉ y R'₉ representan, independientemente, hidrógeno o radicales sustituidos o no sustituidos, de alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, cicloalquenilo, cicloalquilalquilo, cicloalquilcicloalquilo, cicloalquenilalquilo, alquilcicloalquilo, alquilcicloalquenilo, alquenilcicloalquilo, alquenilcicloalquenilo, heterociclo, arilo y aralquilo y, opcionalmente, uno o más de R₂ ó R'₂ y R₃, R₄ ó R'₄ y R₅ ó R'₅, R₆ ó R'₆ y R₇ ó R₈ y R₉ ó R'₉, conjuntamente con los átomos de carbono a los cuales están independientemente unidos, forman un heterociclo sustituido o no sustituido que tiene entre 2 y 20 átomos de carbono que contiene nitrógeno, el cual puede ser un heterociclo aromático, en cuyo caso el hidrógeno unido al nitrógeno que forma parte a la vez del heterociclo y del macrociclo y los grupos R unidos a los átomos de carbono que forman a la vez parte del heterociclo y del macrociclo, están ausentes; y

15 opcionalmente, uno o más de R₂ y R'₂, R₅ y R'₅, R₆ y R'₆, R₉ y R'₉, conjuntamente con el átomo de carbono al que están unidos forman, independientemente, un ciclo o heterociclo saturado, parcialmente saturado o no saturado, que tiene entre 3 y 20 átomos de carbono; y

20 opcionalmente, uno de R₂, R'₂, R₃, R₄, R₅, R'₅, R₆, R'₆, R₇, R₈, R₉ y R'₉, conjuntamente con uno diferente de R₂, R'₂, R₃, R₄, R₅, R'₅, R₆, R'₆, R₇, R₈, R₉ y R'₉, que está unido a un átomo de carbono diferente en el ligando macrocíclico, pueden estar unidos para formar una banda representada a través de la fórmula



25 en donde w, x, y y z son, independientemente, números enteros entre 0 y 10 y M, L y J son seleccionados independientemente de entre el grupo que comprende alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, cicloalquilo, heteroarilo, alquilarilo, alquilheteroarilo, aza, amida, amonio, oxa, tia, sulfonilo, sulfínilo, sulfonamida, fosforilo, fosfinilo, fosfino, fosfonio, ceto, éster, carbamato, urea, tiocarbonilo, boratos, boranos, boraza, sililo, siloxi, silaza y combinaciones de los mismos; y

30 combinaciones de cualquiera de los indicados anteriormente;

en donde M es un catión de un metal de transición seleccionado de entre el grupo que comprende manganeso y hierro; y

35 en donde X, Y y Z representan ligandos adecuados o aniones neutralizadores de carga que proceden de cualquier ligando de coordinación monodentado o polidentado o sistema de ligandos o el anión correspondiente de los mismos; y n es un número entero comprendido entre 0 y 3.

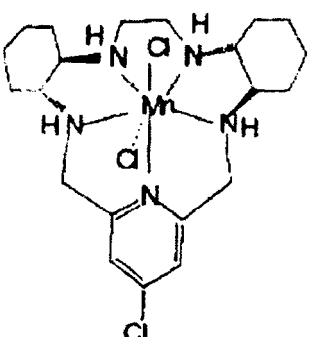
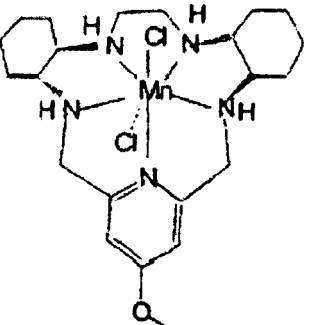
40 X, Y y Z pueden ser seleccionados, independientemente, de entre el grupo que comprende haluro, oxo, aquo, hidroxilo, alcohol, fenol, dióxígeno, peroxo, hidropoxo, alquilperoxo, arilperoxo, amonio, alquilamino, arilamino, heterocicloalquilamino, óxidos de amina, hidrazina, alquilhidrazina, arilhidrazina, óxido nítrico, cianuro, cianato, tiocianato, isocianato, isotiocianato, alquilnitrilo, arilnitrilo, alquilisnitrilo, arilisnitrilo, nitrato, nitrito, azido, ácido alquilsulfónico, ácido aril sulfónico, alquilsulfóxido, arilsulfóxido, alquilaril sulfóxido, ácido alquilsulfénico, ácido arilsulfénico, ácido alquilsulfínico, ácido arilsulfínico, ácido alquiltiolcarboxílico, ácido ariltiolcarboxílico, ácido alquiltiolcarboxílico, ácido ariltiolcarboxílico, ácido alquilcarboxílico (tal como ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido oxálico), ácido arilcarboxílico, (tal como ácido benzoico, ácido ftálico), urea, alquilurea, arilurea, alquilarilurea, tiourea, alquiltiourea, ariltiourea, alquilariltiourea, sulfato, sulfito, bisulfato, bisulfito, tiosulfato, tiosulfito, hidrosulfito, alquilfosfina, arilfosfina, óxido de alquilfosfina, óxido de arilfosfina, óxido de alquilaril fosfina, sulfuro de alquilfosfina, sulfuro de arilfosfina, sulfuro de alquilarilfosfina, ácido alquilfosfónico, ácido arilfosfónico, ácido alquilfosfínico, ácido arilfosfínico, ácido alquilfosfino, ácido arilfosfino, fosfato, tiofosfato, fosfito, pirofosfito, tiofosfato, hidrógeno fosfato, dihidrógeno fosfato, alquilguanidino, arilguanidino, alquilarilguanidino, alquilcarbamato, arilcarbamato, alquilarilcarbamato, alquiltiocarbamato, ariltiocarbamato, alquilariltiocarbamato, alquilditocarbamato, arilditocarbamato, alquilarilditocarbamato, bicarbonato, carbonato, perclorato, clorato clorito, hipoclorito, perbromato, bromato, bromito, hipobromito, tetrahalomanganato, tetrafluoroborato, hexafluorofosfato, hexafluoroantimonato, hipofosfito, yodato, peryodato, metaborato, tetraarilborato, tetraalquilborato, tartrato, salicilato, succinato, citrato, lactato, gluconato, ascorbato, sacarinato, aminoácido, ácido hidroxámico, tiotosilato y aniones de resinas de intercambio iónico. Entre los ligandos preferidos, a partir de los cuales se seleccionan X, Y y Z, se incluyen haluro, ácido orgánico, nitrato y aniones bicarbonato.

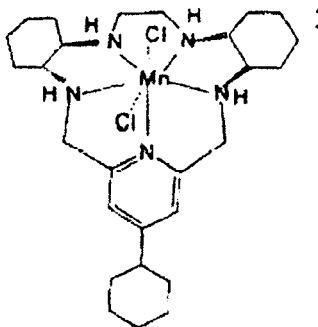
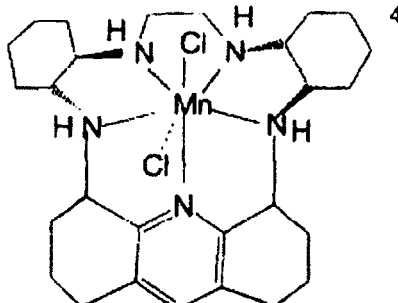
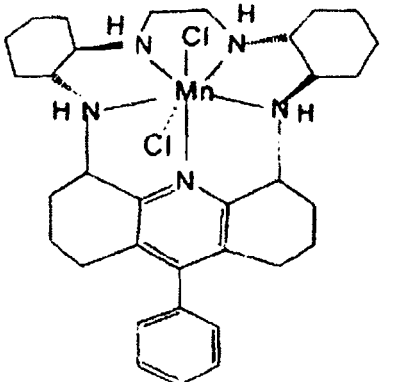
60 Por consiguiente, los imitadores SOD de la presente invención pueden tener cualquier tipo de combinación de grupos R sustituidos o no sustituidos, ciclos no saturados, parcialmente saturados o saturados, estructuras en forma de anillo, heterociclos conteniendo nitrógeno, o bandas tal como se ha definido anteriormente.

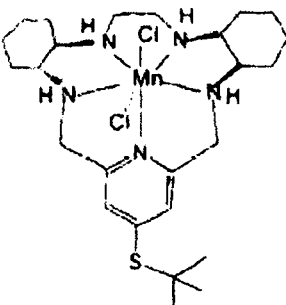
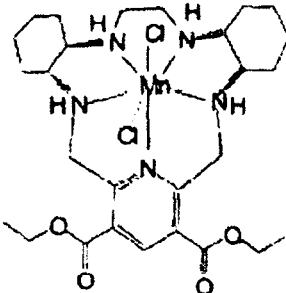
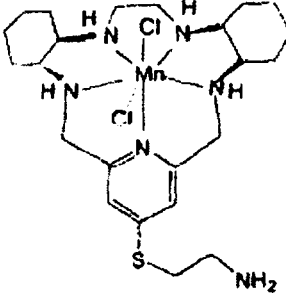
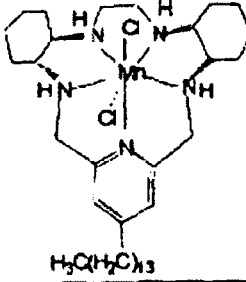
65 En realizaciones más preferidas de la invención, U y V son dos anillos fusionados de trans-ciclohexano. En realizaciones más preferidas de la invención, W es una piridina sustituida y R, R1 y el H sobre el nitrógeno del macrociclo dentro de W están ausentes. En realizaciones particularmente preferidas de la presente invención, W es una piridina sustituida y U y V son anillos fusionados de trans-ciclohexano. Las sustituciones preferidas sobre W son aquellas que

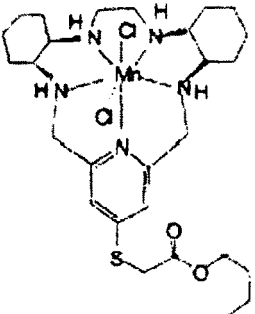
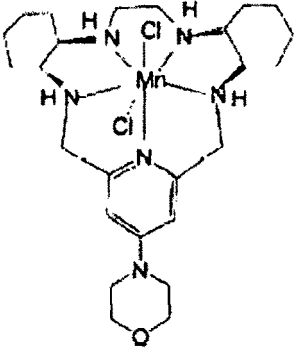
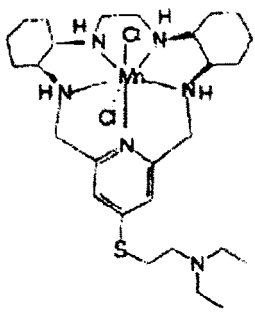
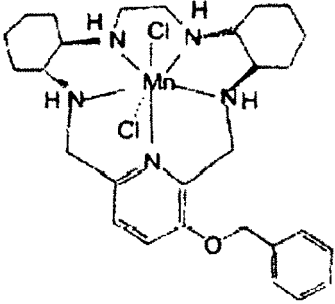
incrementan la potencia del catalizador para aplicaciones farmacéuticas. Por ejemplo, cuando el objetivo del catalizador es un tejido hidrófobo del paciente, resultan preferidos los sustituyentes lipofílicos. Además de alterar la actividad catalítica o log P y los efectos concomitantes de dirección a objetivo/farmacocinética, los solicitantes han descubierto que determinados sustituyentes incrementan generalmente la potencia del catalizador que tiene que ser utilizado en composiciones farmacéuticas. Entre estos sustituyentes preferidos se encuentran ciclohexilo, hidroxilalquiltio, ésteres de alquilo (ácido 2-tioacético), benciloxi, metoxiariltio, alcóxicarbonilariltio y ésteres de arilo (ácido 2-tioacético). Entre los ejemplos de complejos de la invención se incluyen, sin que ello suponga ninguna limitación, compuestos que tiene las siguientes fórmulas:

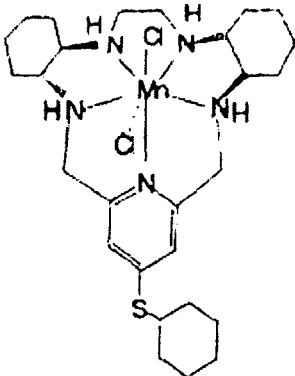
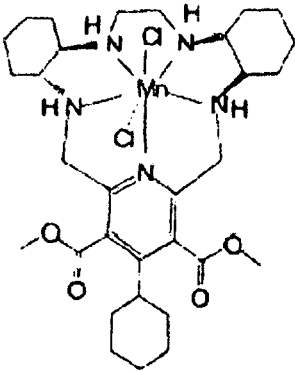
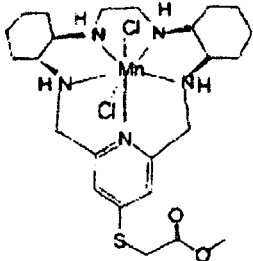
TABLA DE COMPUESTOS

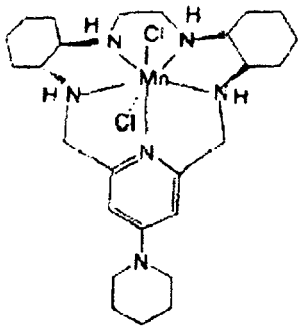
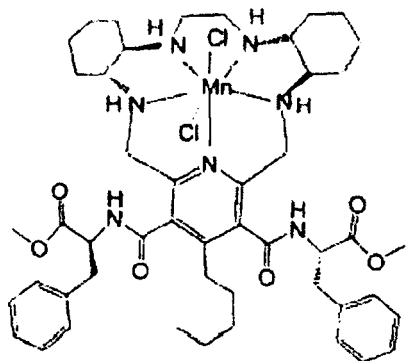
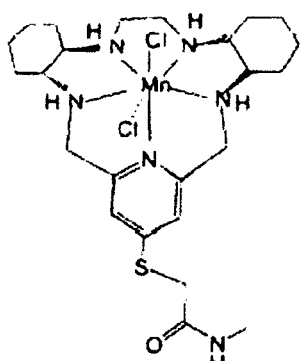
COMPOUND	MOL. WT.	k_{cat} pH 7.4 $\times 10^{-7} M^{-1} s^{-1}$	Log P
	517.83	1.18	0.46
	512.00	1.90	-0.02

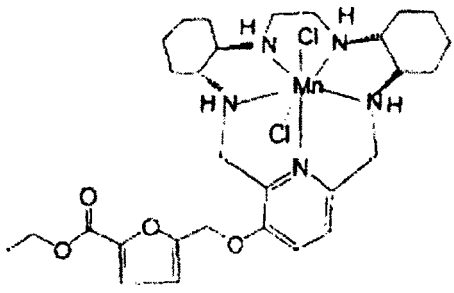
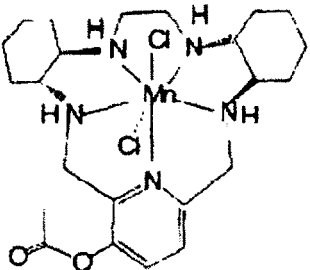
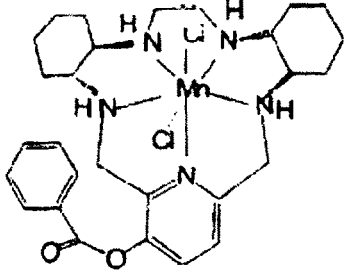
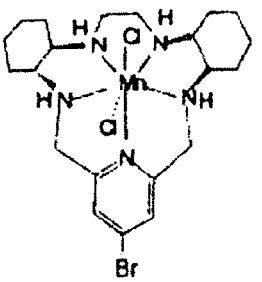
COMPOUND	MOL. WT.	k_{cat} pH 7.4 $\times 10^{-3} M^{-1} s^{-1}$	Log P
 3	457.37	3.75	2.27
 4 <i>excluded from the claims</i>	563.50	0.74	1.56
 5	639.61	0.29	1.94

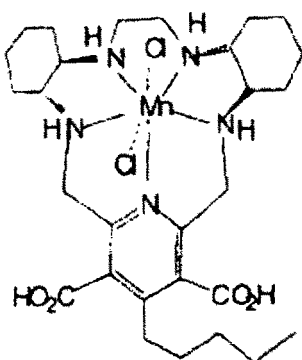
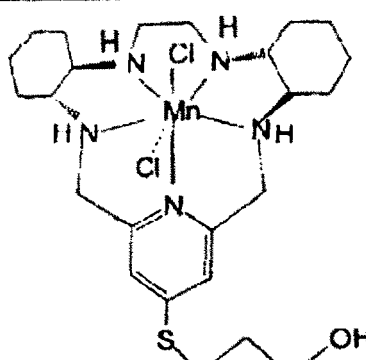
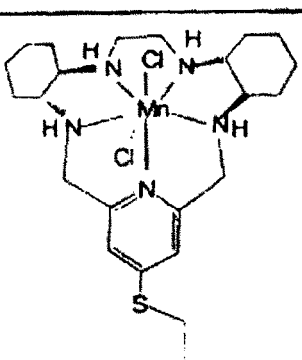
COMPOUND	MOL. WT.	k_{cat} pH 7.4 $\times 10^{-7} M^{-1} s^{-1}$	Log P
 6	571.55	0.80	1.48
 7	627.00	0.53	1.05
 8	584.00	2.85	
 9 $H_3C(H_2C)_3$	679.76	1.02	2.53

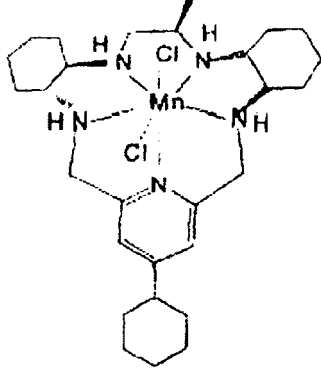
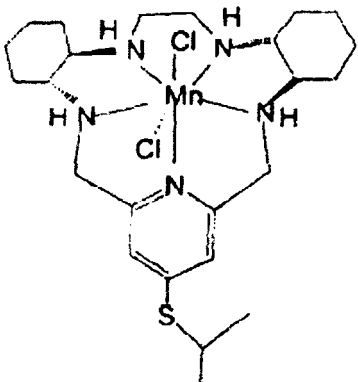
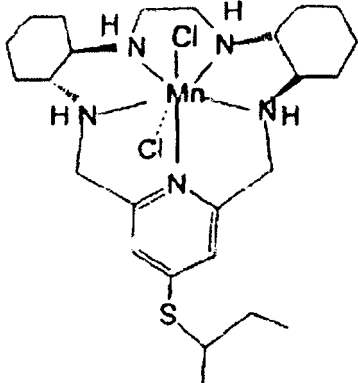
COMPOUND	MOL. WT.	k_{cat} pH 7.4 $\times 10^3 M^{-1}s^{-1}$	Log P
 10	629.59	2.12	1.59
 11	568.50	6.24	0.00
 12	614.52		0.14
 13	589.51	1.08	1.27

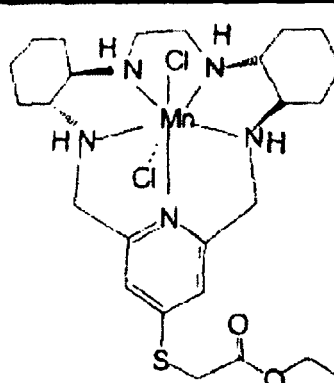
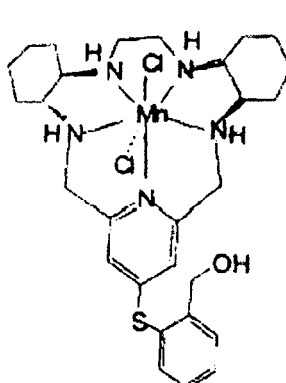
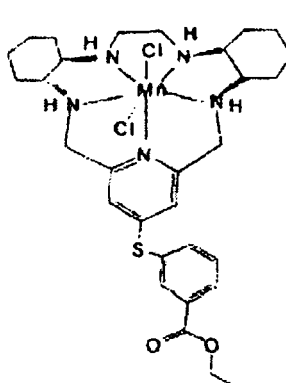
COMPOUND	MOL. WT.	k_{cat} pH 7.4 $\times 10^7 M^{-1} s^{-1}$	Log P
14 	597.60	2.41	2.55
15 	681.61	1.39	1.88
16 	587.51	2.99	0.11

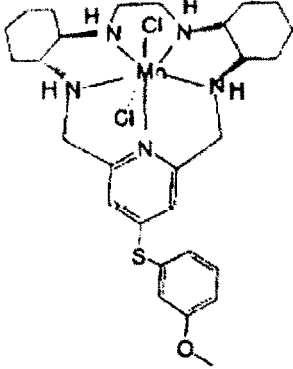
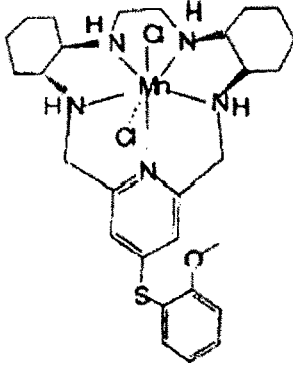
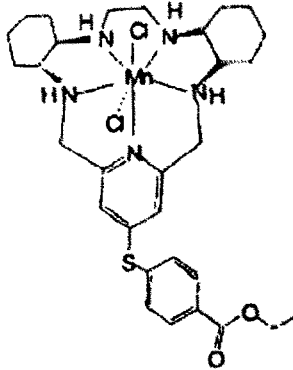
COMPOUND	MOL. WT.	k_{cat} : pH 7.4 $\times 10^{-3} M^{-1} s^{-1}$	Log P
 17	566.52	7.32	
 18	963.95	0.93	1.94
 19	586.53	0.80	-0.50

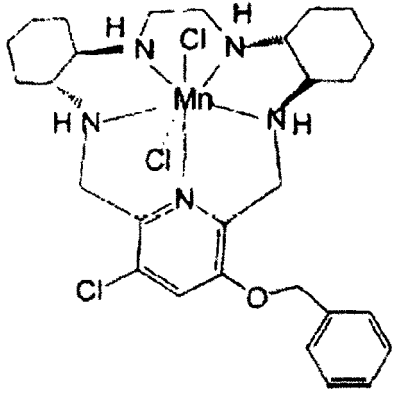
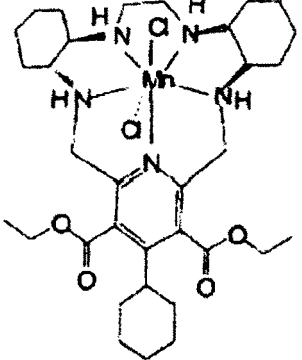
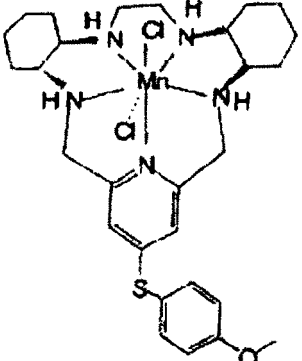
COMPOUND	MOL. WT.	k_{cat} pH 7.4 $\times 10^{-7} M^{-1} s^{-1}$	Log P
 20	651.54	1.82	1.57
 21	541.43	1.93	-0.43
 22	603.49	0.95	0.87
 23	562.28	1.68	0.63

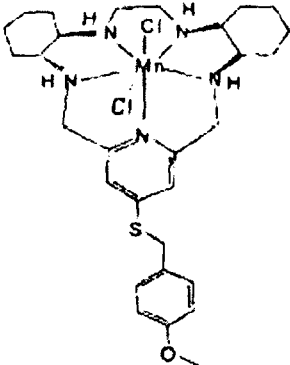
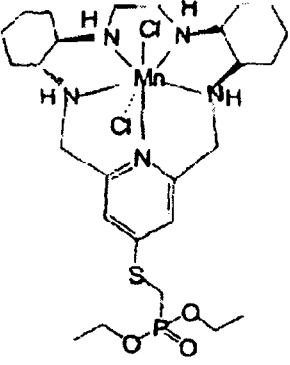
COMPOUND	MOL. WT.	k_{cat} pH 7.4 $\times 10^{-7} M^{-1} s^{-1}$	Log P
 24	641.50	1.31	0.31
 25	573.53	3.97	0.19
 26	537.02	3.01	-0.04

COMPOUND	MOL. WT.	k_{cat} pH 7.4 $\times 10^{-7} \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$	Log P
28 	579.56	2.68	2.29
29 	557.55	1.86	1.44
30 	571.56		1.85

COMPOUND	MOL. WT.	k_{cat} pH 7.4 $\times 10^{-7} M^{-1} s^{-1}$	Log P
31 	601.53	3.32	0.57
33 	620.00		
37 	634.00	2.16	2.05

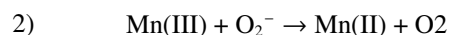
COMPOUND	MOL. WT.	k_{cat} pH 7.4 $\times 10^{-2} M^{-1} s^{-1}$	Log P
38 	620.00	2.32	
39 	620.00	2.12	1.56
40 	634.00		

COMPOUND	MOL. WT.	k_{cat} pH 7.4 $\times 10^{-7} M^{-1} s^{-1}$	Log P
41 	624.51	0.70	2.41
42 	705.61	0.80	2.77
43 	639.60	1.89	1.42

COMPOUND	MOI. WT.	k_{cat} , pH 7.4 $\times 10^{-3} M^{-1} s^{-1}$	Log P
44 	645.61	1.45	2.17
45 	683.58	2.40	0.28

La actividad de estos catalizadores para la dismutación de superóxido puede ser demostrada utilizando la técnica de análisis cinético a flujo parado descrita en el Ejemplo 3 y en Riley, D.P., Rivers, W.J. and Weiss, R. H. "Stopped-Flow Kinetic Analysis for Monitoring Superoxide Decay in Aqueous Systems", Anal. Biochem., 196, 344-349 (1991), que es incorporado en el presente documento a título de referencia. El análisis cinético a flujo parado constituye un procedimiento correcto y directo para monitorizar las velocidades de desintegración de superóxido en agua. Las constantes catalíticas proporcionadas para los compuestos ejemplarizados en la tabla indicada anteriormente fueron determinadas utilizando este procedimiento.

Tal como puede ser observado a partir de la tabla, por medio de la actividad dismutante del superóxido, pueden sintetizarse, de forma rápida, una amplia variedad de complejos heterocíclicos sustituidos, no saturados. El mecanismo de acción comúnmente aceptado para los enzimas SOD basados en manganeso conlleva la ciclación del centro manganeso entre los dos estados de oxidación (II, III). Ver J.V. Bannister, W.H. Bannister and G. Rotilio, Crit. Rev. Bioche. 22 111-180 (1987).

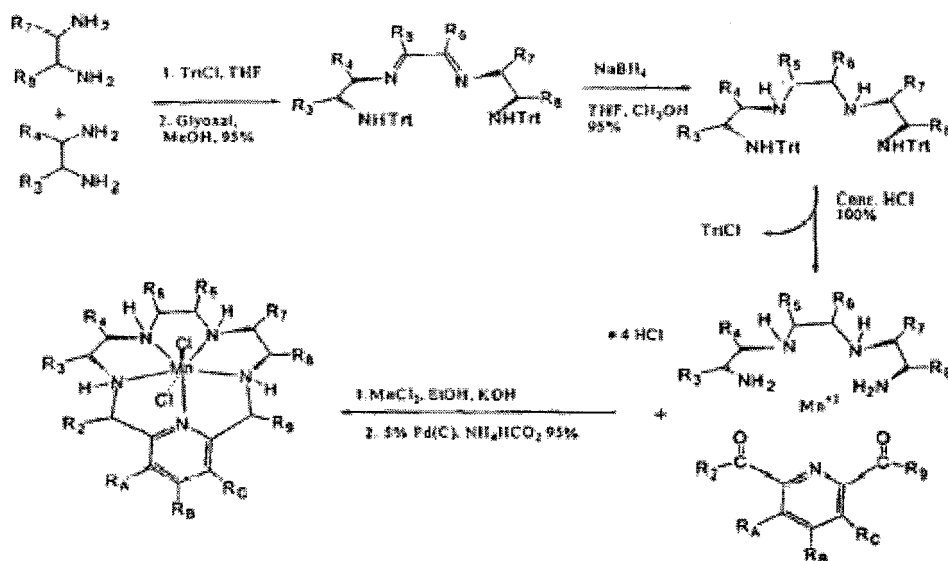


Los potenciales redox formales para los pares O_2^-/O_2 y $\text{HO}_2/\text{HO}_2^-$ a pH 7 son -0,33v y 0,87v, respectivamente. Ver A.E.G. Cass, in Metalloproteins: Part 1, Metal Proteins with Redox Roles, ed. P. Harrison, P. 121. Verlag Chemie (Weinheim, GDR)(1985). Para el mecanismo descrito anteriormente, estos potenciales requieren que un catalizador SOD putativo sea capaz de sufrir cambios en el estado de oxidación en la banda de -0,33 v a 0,87 v. Por lo tanto, en la medida en que el potencial redox del ión se encuentre en la banda en la cual el anión superóxido pueda reducir el metal oxidado y el superóxido protonado pueda oxidar al metal reducido y el impedimento estérico del planteamiento de anión superóxido sea mínimo, el catalizador funcionará con una K_{cat} de aproximadamente 10^{-6} a 10^{-8} .

Los complejos derivados de Mn(II) y la clase general de ligandos [15]anoN₅ sustituidos en el átomo de C, descritos en el presente documento, han sido caracterizados utilizando voltametría cíclica para medir sus potenciales redox. Los complejos sustituidos en el C descritos en el presente documento presentan oxidaciones reversibles de aproximadamente +0,7v (SHE). La culometría indica que esta oxidación es un proceso de un electrón, a saber, es la oxidación del complejo Mn(II) al complejo Mn(III). Por consiguiente, para que estos complejos puedan funcionar como catalizadores SOD, el estado de oxidación Mn(III) se ve involucrado en el ciclo catalítico. Esto significa que los complejos Mn(III) de todos estos ligandos son igualmente competentes como catalizadores SOD, dado que no importa que forma de Mn(II) o Mn(III) se encuentra presente cuando está presente el superóxido, dado que el superóxido simplemente reducirá el Mn (III) a Mn(II), liberando oxígeno.

Si pretender quedar limitados a ninguna teoría en particular, los solicitante proponen que el mecanismo descrito en Riley *et al.*, 1999, constituye una aproximación razonable a como estos catalizadores dismutan al superóxido. Con vistas a que el complejo muestre actividad superóxido dismutasa, el ligando debe ser capaz de doblarse en una configuración que permita la estabilización del complejo octaédrico entre un ligando axial y los cinco nitrógenos del anillo ligando. Si un compuesto contiene diversos dobles enlaces conjugados dentro del anillo de 15 componentes principal, del ligando, el cual mantiene al anillo en una conformación rígida, no se espera del compuesto que muestre actividad catalítica. De los grupos R unidos al ligando macrocíclico que lo cierran en una conformación plana, se espera que se comporten como catalizadores pobres. Un experto ordinario en la materia no se vería sorprendido por el hecho de que este tipo de derivados carecieran de actividad superóxido dismutasa. Específicamente, un experto en la materia evitaría utilizar materiales que modificasen la flexibilidad del macrociclo mediante la adición de muchos grupos grandes, lo cual provocaría impedimento estérico o colocar demasiados dobles enlaces en el anillo principal. Este efecto se encontraría también presente en determinadas disposiciones geométricas de grupos R más pequeños, los cuales restringen el complejo a una geometría plana, rígida. Teniendo en cuenta estos ejemplos y orientaciones, un experto en la materia sería capaz de reconocer cuales de los complejos pentaazaciclopentadecano de la presente invención conservarían actividad superóxido dismutante.

Los catalizadores de la presente invención pueden ser producidos a través de los procedimientos descritos en la patente de EE.UU N°. 5.610.293. No obstante, resulta preferido que los catalizadores de la presente invención sean sintetizados a través del procedimiento plantilla, esquematizado más adelante. Este procedimiento de síntesis presenta ventajas en relación con los procedimientos descritos con anterioridad, en el sentido de que los rendimientos de ciclación que utilizan el procedimiento de plantilla representan habitualmente aproximadamente el 90%, en comparación con el 20% proporcionado por los procedimientos anteriores. Como productos de partida se dispone de diversas diaminas comercialmente disponibles, o puede sintetizarse una diamina. Las diaminas se hacen reaccionar con cloruro de titrilo en cloruro de metileno anhidro, a 0°C, y se dejan calentar a temperatura ambiente durante el transcurso de una noche, con agitación. El producto es combinado posteriormente con glioxal en metanol y sometido a agitación durante un período de 16 horas. El producto glioxal bisimina es entonces reducido con un borohidruro en THF. Si se desea obtener un producto simétrico, puede utilizarse una diamina como producto de partida. Además, si se desea disponer de grupos que cuelguen del macrociclo, en posición opuesta a la piridina (R₅ y R₆), puede utilizarse glioxal sustituido. En lugar de la glioxal bisimina reducida pueden utilizarse también tetraaminas que sean comercialmente disponibles. Después de la reducción de la glioxal bismimina, el producto se combina con piridina sustituida por dicarbonilo en posiciones 2,6, tal como la 2,6-dicarboxaldehídopiridina o la 2,6-diacetilpiridina y una sal de manganeso o de hierro, en condiciones básicas. El ión de metal de transición sirve como plantilla para favorecer la ciclación de la piridina sustituida y la tetraamina. En el comercio se encuentran disponibles diversas piridinas sustituidas en las posiciones 2,6 por dicarbonilo, circunstancia esta que permite la fácil producción de una diversidad de ligandos con grupos que cuelgan del macrociclo, próximos a la piridina (R₂ y R₉). Cuando se sintetizan los catalizadores de la presente invención con vistas a obtener el resto heterocíclico sustituido, no saturado, se utilizan piridinas con uno o más sustituyentes (R_A, R_B y R_C). Una vez concluida la ciclación, el producto es reducido con formiato amónico y con un catalizador de paladio, durante un período de entre 3 y 4 horas. Alternativamente, en una realización que resulta menos preferida de este procedimiento de preparación de los compuestos de la presente invención, la bisimina puede ser reducida con un reductor hidruro, tal como NaBH₄, o con gas hidrógeno y un catalizador metálico. Además de las sustituciones "R", los grupos "R" pueden también estar también sustituidos en los mismos carbonos. Los grupos "R" y "R'" pueden ser cualquiera de los que se han indicado anteriormente. El procedimiento puede ser modificado según principios bien conocidos por un experto en la materia, con vistas a alojar diversos materiales de partida.



Si bien la bisimina producida en el paso de reacción de ciclación con plantilla indicado anteriormente puede ser reducida a través de medios más convencionales utilizando gas hidrógeno, resulta preferido que la bismina sea reducida con formiato amónico en presencia de un catalizador, tal como se ilustra en el Ejemplo 2. El catalizador preferido para ser utilizado en este procedimiento comprende paladio, si bien podría ser también potencialmente utilizable un catalizador que comprendiera otros metales catalíticos, tales como níquel, rodio, platino, óxido de platino, y rutenio, serían también potencialmente utilizables. Este procedimiento ofrece las ventajas de una seguridad incrementada y una elevada eficacia de reducción de los enlaces imina, al tiempo que conserva los dobles enlaces de los grupos piridina en el resto heterocíclico de los compuestos preferidos. Además, este procedimiento puede ser llevado a la práctica en un medio más concentrado, en comparación con la reducción con hidrógeno o con borohidruro, permitiendo como consecuencia la obtención de tiempos de reacción más rápidos.

Otro procedimiento de análisis que resulta de utilidad a la hora de preparar diversos catalizadores de la presente invención, es el esquema de sustitución nucleófila posterior a la quelación mostrado en el Ejemplo 7. Al utilizar el procedimiento de la presente invención se adquieren diversas ventajas. En primer lugar, se adquiere la capacidad de usar reactivos disponibles comercialmente, o sintetizados de una forma relativamente fácil, los reactivos sintetizados en la síntesis de ciclación con plantilla indicado anteriormente, tales como la 4-cloro-2,6-dicarboxialdehidopiridina y de modificar después el ligando macrocíclico quelado resultante, sin reacciones laterales con el grupo sustituido. En segundo lugar, dado que este procedimiento permite la modificación del ligando quelado, no resulta necesaria ninguna reacción de modificación posterior con cloruro de manganeso, simplificándose de este modo el procedimiento de síntesis. Como material de partida en la reacción de modificación se utiliza un ligando pentaazaciclopentadecano piridina quelado sustituido por un grupo saliente. Los sustituyentes nucleofílicos 4-piridino preferidos que son buenos grupos salientes, son los haluros. Cl, Br y I son los sustituyentes más preferidos. Al catalizador imitador SOD en DMF (o en otro disolvente adecuado), a temperatura reducida, se le añade un nucleófilo (1 eq.), gota a gota, y la mezcla de reacción es sometida a agitación durante el transcurso de una noche. El disolvente es extraído después al vacío. El catalizador imitador SOD puede ser después purificado por medio de cromatografía en columna flash. Los nucleófilos que tienen que ser utilizados en esta reacción de modificación pueden ser cualquiera de los nucleófilos fuertes. Los solicitantes han averiguado que los tiolatos han proporcionado una amplia variedad de reactivos de modificación posterior a la quelación, los cuales resultan útiles para obtener los compuestos de la presente invención. Si bien este procedimiento ha sido utilizado principalmente con los compuestos piridino preferidos, el mismo procedimiento de síntesis podría ser utilizado con otros imitadores SOD que tengan restos arilo que contienen nitrógenos sustituidos por nucleófilo, tales como un complejo 4-cloropirimidino.

Si bien el manganeso es habitualmente utilizado como ión metal de transición quelado en los ejemplos de esta descripción, debe darse por entendido que los ligandos descritos pueden ser fácilmente complejados con cationes hierro (II) o hierro (III), obtenidos a partir de sales tales como FeCl_3 . En general, se ha observado una actividad catalítica mejorada con la utilización de manganeso como ión metálico de transición quelado, si bien K_{cat} 's que son tan elevadas como 10^{-7} son todavía observadas con la utilización de hierro. Por lo tanto, el manganeso resulta preferido como ión metálico de transición quelado en los complejos de la presente invención.

Los pentaazamacrociclos de la presente invención pueden poseer uno o más átomos de carbono asimétricos y resultan por tanto capaces de existir en forma de isómeros ópticos, al igual que en forma de mezclas racémicas o no racémicas de los mismos. Los isómeros ópticos pueden ser obtenidos por medio de resolución de mezclas racémicas, según procedimientos convencionales, por ejemplo, mediante la formación de sales de diastereoisómeros, por medio de tratamiento con un ácido ópticamente activo. Constituyen ejemplos de ácidos apropiados, los ácidos tartárico,

diacetiltartárico, dibenzoiltartárico, ditoluoiltartárico y canforsulfónico y la posterior separación de la mezcla de diastereoisómeros por recristalización, seguida de liberación de las bases ópticamente activas a partir de estas sales. Un procedimiento diferente para la separación de isómeros ópticos conlleva la utilización de una columna de cromatografía quiral, ópticamente elegida para maximizar la separación de los enantiómeros. Todavía otro procedimiento disponible conlleva la síntesis de moléculas de diastereoisómeros covalentes, haciendo reaccionar uno o más grupos amino secundarios de los compuestos de la invención con un ácido ópticamente activo, en una forma activada o con un isocianato ópticamente puro. Los diastereoisómeros sintetizados pueden ser separados a través de medios convencionales, tales como cromatografía, destilación, cristalización o sublimación y después hidrolizados para proporcionar el ligando enantioméricamente puro. Los compuestos ópticamente activos de la invención pueden, de forma similar, ser obtenidos mediante la utilización de materiales de partida ópticamente activos, tales como aminoácidos de origen natural.

Se ha demostrado que los compuestos de la presente invención presentan una potencia y utilidad remarcables en diversos modelos de enfermedad. En el Ejemplo 14, se demuestra la utilidad de los presentes compuestos para el tratamiento del dolor y de la inflamación, en el modelo de carragenina en pata de rata. Los compuestos heterocíclicos que contienen nitrógeno, sustituidos, no saturados, difieren a veces de forma remarcable del compuesto base (Compuesto A), en términos de su potencia, inicio de analgesia y duración del efecto. Tal como puede ser observado, la sustitución de diversos grupos éster pequeños en el resto heterocíclico que contiene nitrógeno genera un inicio muy rápido de la acción analgésica. Además, el complejo sustituido por éter bencílico resulta particularmente potente en este modelo, si lo comparamos con el Compuesto A o con el Compuesto B, los cuales presentan velocidades de dismutación de superóxido más elevadas. Debido a los diferentes perfiles de duración de analgesia de estos compuestos, los mismos pueden ser utilizados para aplicaciones especiales en diferentes áreas de tratamiento de dolor. O, varios de los mismos pueden ser combinados, con vistas a proporcionar un nivel estable de alivio del dolor. En términos globales, los compuestos muestran una remarcable variedad de efectos, en comparación con el Compuesto A de origen.

En el Ejemplo 15, se muestra la eficacia de los compuestos en un modelo murino de inversión de tolerancia a opioides, tanto a través de la vía de administración iv como a través de la administración subcutánea. En comparación con los Compuestos A y B descritos anteriormente, varios de los compuestos de la presente invención muestran una eficacia sorprendente en la prevención de la tolerancia a la morfina en este modelo. Por ejemplo, en la administración por vía iv., los compuestos 13 y 14 muestran una inversión muy significativa de la tolerancia a la morfina, a una concentración 1/30 de la concentración necesaria para alcanzar alrededor de 1/2 del efecto con el Compuesto A. Se muestra que el compuesto 28 presenta una inversión del 100% en la tolerancia a la morfina, a una concentración 1/100 de la necesaria para lograr el mismo efecto con el Compuesto A, por vía de administración iv. Similares resultados se obtuvieron mediante la administración subcutánea, en la cual el Compuesto 3 mostraba el 100% de inversión de la tolerancia a la morfina, a 1/100 de la dosis necesaria para alcanzar el mismo efecto con el Compuesto A. Por consiguiente, los compuestos de la presente invención muestran una actividad remarcable para prevenir o invertir la tolerancia a los opioides.

Además, los Compuestos 25 y 31 fueron también objeto de comprobación para determinar su capacidad de prevenir la hipotensión rebelde en un modelo de rata endotoxémico, Ejemplo 16. Ambos compuestos resultaron eficaces a la hora de prevenir la hipotensión en animales endotoxémicos, a un 1/3 de la dosis utilizada para alcanzar un efecto similar con el Compuesto A.

Tal y como se demuestra en los Ejemplos 14, 15 y 16, los complejos o compuestos de la presente invención pueden ser utilizados para tratar numerosos estados y trastornos de enfermedad en un paciente que precise de los mismos. Los términos "paciente" y "sujeto" incluyen animales humanos y no humanos que precisen tratamiento. Entre los citados estados de enfermedad o trastornos se incluyen, sin que ello suponga ninguna limitación: la lesión por reperusión a un órgano isquémico, tal como la lesión por reperusión al miocardio isquémico, la inflamación en general, la enfermedad de inflamación del intestino, la artritis reumatoide, la osteoartritis, la hipertensión, la psoriasis, los rechazos por trasplante de órganos, la hipotensión rebelde, la conservación de órganos, las lesiones provocadas por radiación, la agregación plaquetaria, el ictus, los trastornos autoinmunes, la dificultad respiratoria en adultos, la carcinogénesis, el dolor crónico agudo, la hiperalgesia y la septicemia. Los complejos de esta invención son excelentes analgésicos y pueden ser utilizados para tratar o prevenir el dolor en un sujeto, que se origina como consecuencia de cualquier estado hiperalgésico. Los complejos presentan adicionalmente actividad para prevenir o reducir la tolerancia a los opiáceos y para potenciar la actividad analgésica de los opiáceos, sin favorecer la depresión respiratoria asociada con estos compuestos. Además, los complejos resultan útiles para el tratamiento de los síntomas de retirada asociados con la adicción a opiáceos, a la nicotina, o a otros fármacos. Los complejos de esta invención pueden ser también utilizados de forma generalizada o tópica para prevenir o invertir los síntomas de envejecimiento mediados por radical oxígeno libre, tales como el arrugamiento de la piel, y para prevenir o invertir el daño medioambiental provocado por la exposición a luz ultravioleta o a los agentes químicos.

La dosis total diaria administrada a un sujeto, a dosis única o dividida, puede expresarse en cantidades, por ejemplo entre aproximadamente 0,00025 y aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal por día, más preferiblemente entre aproximadamente 0,001 y aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal por día y, más habitualmente, entre aproximadamente 0,01 y aproximadamente 3 mg/kg de peso corporal, por día, cuando se aplican por medio de inyección parenteral o infusión continua. Las composiciones unitarias de dosificación pueden contener las cantidades submúltiples de las mismas que resulten necesarias para componer las dosis diarias. La cantidad de ingrediente activo que puede ser combinada con los materiales soporte para producir una forma de dosificación única variará en función del sujeto tratado y del particular modo de administración. Por ejemplo, sistemas tales como la administración transdérmica

ca o administración oral, los cuales resultan sistemas de suministro sustancialmente menos eficaces, pueden requerir dosis de al menos un orden de magnitud por encima de las requeridas para la administración parenteral. El régimen de dosificación para el tratamiento de una enfermedad con los compuestos y/o las composiciones de esta invención es seleccionado según una diversidad de factores, incluyendo el tipo, la edad, el peso, el sexo, la alimentación y la condición médica del paciente, la gravedad de la enfermedad, la vía de administración, las consideraciones farmacológicas tales como la actividad, la eficacia, la farmacocinética y los perfiles toxicológicos del compuesto particular utilizado, si se utiliza un sistema de suministro de fármaco o de si el compuesto se administra como formando parte de una combinación de fármacos. Por lo tanto, el régimen de dosificación realmente utilizado puede variar ampliamente y, por consiguiente, desviarse del régimen de dosificación preferido expuesto anteriormente. Los expertos en la materia podrán determinar de forma rápida las dosis apropiadas para cualquier sujeto, basadas en las indicaciones de esta memoria y el análisis rutinario del sujeto.

Los compuestos de la presente invención pueden ser administrados a través de cualquier técnica que resulte conocida por los expertos en la materia, incluyendo, sin que ellos suponga ninguna limitación, la administración oral, parenteral, mediante inhalación por rociado, rectal, tópica, nasal, vaginal u ocular, en formulaciones unitarias de dosificación que contienen soportes farmacéuticamente aceptables no tóxicos, adyuvantes, y vehículos, si así se desea. La administración tópica puede también conllevar la utilización de administración transdérmica, tal como los parches transdérmicos o los dispositivos de iontoporesis. El término parenteral, tal como se utiliza en el presente documento, incluye las inyecciones subcutáneas, las intravenosas, las intramusculares, las inyecciones intrasternales, técnicas de infusión o intratecales. Las preparaciones inyectables, por ejemplo, las suspensiones oleaginosas o acuosas inyectables estériles, pueden ser formuladas según la técnica conocida, utilizando agentes dispersantes o humectantes y agentes para suspensión. La preparación inyectable estéril puede ser también una solución estéril inyectable o una suspensión en un diluyente o disolvente no tóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo, como una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos aceptables y disolventes que pueden ser utilizados se encuentra el agua, la solución e Ringer y la solución de cloruro sódico isotónica. Además, como medios de suspensión o disolventes se utilizan convencionalmente aceites fijos, estériles. A este propósito, puede utilizarse cualquier aceite fijo blando, incluyendo mono o diglicéridos sintéticos. Además, en la preparación de inyectables pueden utilizarse ácidos grasos, tales como el ácido oleico.

Para la administración del fármaco por vía rectal pueden prepararse supositorios, mezclando el fármaco con un excipiente no irritante adecuado, tal como manteca de cacao y polietilenglicoles, los cuales son sólidos a temperatura ambiente pero líquidos a la temperatura rectal y se funden por tanto en el recto, liberando el fármaco. Entre las formas de dosificación sólida para administración oral se pueden incluir cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos, gránulos y geles. En las citadas formas de dosificación sólida, el compuesto activo puede encontrarse mezclado con al menos un diluyente inerte, tal como sacarosa, lactosa o almidón. Las citadas formas de dosificación pueden también comprender, tal como ocurre en la práctica normal, sustancias adicionales diferentes a diluyentes inertes, por ejemplo, agentes lubricantes tales como estearato de magnesio. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las formas de dosificación pueden también comprender agentes tamponantes. Los comprimidos y las píldoras pueden ser preparados adicionalmente con revestimientos entéricos. Entre las formas de dosificación líquidas para administración oral se pueden incluir emulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables, que contienen diluyentes inertes habitualmente utilizados en la técnica, tales como agua. Las citadas composiciones pueden también comprender adyuvantes, tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y para suspensión y edulcorantes, aromatizantes y perfumantes.

Si bien los compuestos de la invención pueden ser administrados en forma de agentes farmacéuticos únicos, los mismos pueden ser también utilizados en combinación con uno o más compuestos que resultan conocidos por ser eficaces frente al estado específico de enfermedad que constituye el objetivo del tratamiento.

Tal como se muestra en la Tabla 1, los compuestos de la presente invención constituyen catalizadores excepcionales para la dismutación de superóxido. Por lo tanto, los mismos pueden ser utilizados en esta capacidad catalítica en una variedad de aplicaciones *in vivo* o *in vitro*, cuando se desee una reducción en la concentración de superóxido.

Los compuestos imitadores SOD de la presente invención pueden ser también añadidos para enjuagar o almacenar soluciones para órganos y tejidos, tales como para trasplante de órganos o para enjuagues quirúrgicos. Por ejemplo, los órganos extirpados son habitualmente colocados en una solución de conservación con anterioridad a que se produzca su trasplante al receptor. La inclusión de al menos una especie de imitador de SOD en la solución de conservación, habitualmente a una concentración de aproximadamente 0,01 mM a 10 mM, resulta deseable para reducir el daño debido a isquemia durante el almacenamiento y lesión por reperfusión subsiguiente a la reimplantación en el receptor. Para la inclusión de estos compuestos de la invención, resultan adecuadas diversas soluciones descritas en el estado de la técnica, incluyendo, sin que ello signifique ninguna imitación, las descritas en las patentes de EE.UU. N° 5.145.771; Bayerdsdorf (1990) Chem. Abst. 113: 84849w; patente de EE.UU. N° 4.879.283; patente de EE.UU. N° 4.873.230; y patente de EE.UU. N° 4.798.824, incorporadas aquí a título de referencia. Los compuestos de la presente invención pueden ser también añadidos a sangre extravasada para transfusión, con vistas a inhibir el daño causado por oxiradical a las células sanguíneas y a los componentes durante el almacenaje; de forma similar, estos compuestos pueden también reducir el daño por oxiradical a las células sanguíneas *in vivo*.

Habitualmente, el imitador SOD de la presente invención se encuentra presente en la solución de enjuague o almacenamiento a una concentración de entre aproximadamente 0,001 mM hasta aproximadamente 10 mM y, muy habitualmente se encuentra presente a 1 mM. Por ejemplo, pero no para limitar la invención, una solución para enjuague

adecuada comprende solución de Ringer (NaCl 102 mM, KCl 4mM, CaCl₂ 3 mM, lactato sódico 28 mM, pH 7,0) o solución de Ringer con adenosina 0,1mM y Compuesto 1, a una concentración final de 1 mM. La solución de enjuague puede comprender adicionalmente antioxidantes (por ejemplo, glutatona, alopurinol). Las soluciones para conservación o las soluciones para enjuague que contiene un imitador SOD de la presente invención pueden ser

- 5 utilizadas para proporcionar un almacenaje reforzado o irrigación de órganos (por ejemplo, riñón, hígado, páncreas, pulmón, tejido neural fetal, corazón, injertos vasculares, hueso, ligamento, tendón, piel), lo cual se considera que refuerza la viabilidad del tejido e incrementa la resistencia al daño oxidativo (por ejemplo, al que se origina como consecuencia de isquemia/reperfusión).
- 10 Alternativamente, la capacidad de los compuestos de la presente invención para catalizar la descomposición de especies de oxígeno reactivas puede ser utilizada con ventaja para inhibir o reducir el daño a los tejidos biológicos y a las células. Por ejemplo, el daño a los tejidos conjuntivos inducido por oxiradical (por ejemplo, colágeno) relacionado con la exposición a luz UV, el fumar cigarrillos, y el envejecimiento puede ser reducido mediante la administración de un compuesto imitador SOD de la presente invención coincidiendo aproximadamente con la exposición a luz UV, el
- 15 fumar cigarrillos u otros procedimientos generadores de oxiradical (por ejemplo, envejecimiento celular).

- Los imitadores SOD de la presente invención pueden ser también formulados en una base lipófila (o, si se desea, un soporte acuoso) para aplicación tópica en cosméticos o cremas y lociones para prevención de las quemaduras solares. Una crema o loción típica para cosmética o prevención de quemaduras solares comprenderá aproximadamente
- 20 entre 1 mg y 50 mg de compuesto imitador SOD, por gramo de crema o de loción cosmética o para la prevención de quemaduras solares. Los compuestos de la presente invención pueden ser formulados en una base cosmética a través de oxígeno molecular y oxiradicales. Las composiciones farmacéuticas/cosméticas formuladas como soluciones incluyen, habitualmente, un disolvente orgánico farmacéutica o cosméticamente aceptable. Los términos “disolvente orgánico farmacéuticamente aceptable” y “disolvente orgánico cosméticamente aceptable” se refieren a un disolvente
- 25 orgánico, el cual, además de ser capaz de tener dispersado o disuelto en el mismo al compuesto salen-metal y opcionalmente también un agente antiinflamatorio, posee también una seguridad aceptable (por ejemplo, características de irritación y de sensibilización), al igual que buenas propiedades estéticas (por ejemplo, no tiene apariencia grasienta o pegajosa). El ejemplo más típico del citado disolvente es isopropanol. Entre los ejemplos de otros disolventes orgánicos adecuados se incluyen: propilenglicol, polietilenglicol (200-600), polipropilenglicol (425-2025), glicerol, 1,2,4-butanotriol, ésters de sorbitol, 1,2,6-hexanotriol, etanol, butanodiol, agua y mezclas de los mismos. Estas soluciones contienen entre aproximadamente el 0,001 y aproximadamente el 20%, preferiblemente entre aproximadamente el 0,1 y aproximadamente el 10%, de complejo antioxidante salen-metal, entre aproximadamente el 0,01 y aproximadamente el 5%, preferiblemente entre aproximadamente el 0,5 y aproximadamente el 2% de un agente antiinflamatorio y entre
- 30 aproximadamente el 80 y aproximadamente el 99%, preferiblemente entre aproximadamente el 90 y aproximadamente el 98% de un disolvente orgánico aceptable.

- Tal como se usa en el presente documento, “emolientes” hace referencia a materiales utilizados para la prevención o el alivio de la sequedad, al igual que para la protección de la piel. Se conocen una amplia variedad de emolientes adecuados, los cuales pueden ser utilizados aquí. Sagarin, Cosmetics, Science and Technology, 2nd Edition, Vol. 1, pp
- 40 32-43 (1972), incorporado aquí a título de referencia, contiene numerosos ejemplos de materiales adecuados. Entre los emolientes particularmente útiles que proporcionan suavizantes de la piel se incluyen glicerol, hexanotriol, butanotriol, ácido láctico y sus sales, urea, ácido pirrolidon carboxílico y sus sales, aminoácidos, guanidina, diglicerol y triglicerol. Los derivados propoxilados de glicerol son los agentes suavizantes de la piel preferidos.

- La invención proporciona también procedimientos para prevenir el deterioro alimenticio y la oxidación, mediante la aplicación a los alimentos de una cantidad eficaz de al menos un compuesto imitador SOD de la presente invención, opcionalmente en combinación con al menos un agente conservante adicional (por ejemplo, hidroxitolueno butilado, hidroxianisol butilado, sulfatos, nitrito sódico, nitrato sódico). En otro aspecto, la invención está relacionada con composiciones antioxidantes y con procedimientos de utilización para inhibir la formación de polímeros hidrocarbonados
- 50 no deseados, generados a través de mecanismos de polimerización mediados por radicales libres, especialmente polimerización mediada por oxiradical y/o rancidificación mediada por oxiradical o formación de goma mediada por oxiradical. Los compuestos imitadores SOD de la invención pueden ser aplicados a una diversidad de hidrocarburos para reducir la oxidación y/o la polimerización no deseadas, o para apagar una reacción de polimerización en un momento determinado de la formación de polímero (por ejemplo, a una determinada longitud de cadena promedio). Por ejemplo, y para no limitar la invención, entre los ejemplos de los citados hidrocarburos saturados y no saturados se incluyen: destilados de petróleo y productos petroquímicos, aguarrás, pintura, caucho de origen natural y sintético, aceites vegetales y ceras, grasas animales, resinas polimerizables, poliolefinas y similares.
- 55

- Los compuestos de la presente invención pueden también ser utilizados para proteger células y tejidos de agentes productores de radicales libres, tales como radiación ionizante y agentes de quimioterapia (por ejemplo, la bleomicina). Preferiblemente, una dosis protectora que comprende al menos aproximadamente 0,001 mg de imitador SOD/kg de peso corporal es administrada a través de una o diversas rutas (por ejemplo, oral, intravenosa, intraperitoneal, lavado intragástrico, enema, infusión en vena portal, tópica, o inhalación de pulverizado) para proteger células normales, por
- 60 ejemplo, frente a toxicidad generada por radicales libres asociada con quimioterapia o radioterapia de un neoplasma. Los compuestos de la presente invención son preferiblemente pre-administrados a un paciente con anterioridad al inicio de la quimioterapia y/o de la radioterapia, habitualmente dentro de aproximadamente 24 horas del inicio y preferiblemente dentro de aproximadamente 3-6 horas del inicio de la quimioterapia y/o radioterapia. Los compuestos pueden ser administrados de manera continua al paciente durante el transcurso de la terapia.
- 65

Los imitadores SOD de la presente invención pueden ser también administrados a individuos para prevenir la lesión por radiación o la lesión química imputable a agentes generadores de radicales libres. Los compuestos de la presente invención pueden ser administrados profilácticamente a personal militar y a personal que trabaje en las industrias nucleares, de medicina nuclear y/o químicas. Los mismos pueden ser también utilizados como agentes quimioprotectores para prevenir la carcinogénesis química; particularmente por medio de carcinógenos que forman intermedios epoxi reactivos (por ejemplo, benzo-alfa-pireno, benzoantraceno) y por agentes carcinógenos o favorecedores que forman, directa o indirectamente, radicales libres (por ejemplo, fenobarbital, TPA, proliferadores de benzoilperoxiprolieoxisoma: ciprofibrato, clofibrato). Las personas expuestas a los citados carcinógenos químicos son tratadas previamente con los compuestos de la presente invención para reducir la incidencia de riesgo de desarrollar neoplasia.

Las reacciones químicas descritas anteriormente están generalmente descritas en términos de su aplicación más amplia para la preparación de los compuestos de la invención. Ocasionalmente, las reacciones pueden no resultar aplicables, tal como se describe para cada uno de los compuestos incluidos dentro del campo descrito. Los compuestos para los cuales ocurre esto serán rápidamente reconocidos por los expertos en la materia. En todos estos casos, o bien la reacción puede ser llevada a cabo por medio de modificaciones convencionales, conocidas por los expertos en la materia, por ejemplo, mediante la protección adecuada de los grupos que interfieren, cambiando a reactivos convencionales alternativos, mediante modificación rutinaria de las condiciones de reacción y similares, o resultarán aplicables otras reacciones descritas en el presente documento o de alguna forma convencionales, para la preparación de los compuestos correspondientes de esta invención. En todos los procedimientos preparativos, la totalidad de materiales de partida resulta conocida o puede ser preparada rápidamente a partir de materiales de partida conocidos.

Sin posterior elaboración, se considera que un experto en la materia puede, utilizando la presente descripción, llevar a cabo la presente invención en su extensión más amplia. Por consiguiente, las siguientes realizaciones preferidas tienen, por lo tanto, que ser construidas como meramente ilustrativas y no limitativas del resto de la descripción, en modo alguno.

Ejemplos

Parte experimental general

Se efectuó una cromatografía de capa fina analítica (TLC) sobre placas 60-GF de gel de sílice de 0,15 mm Analtech. Se consiguió la visualización con luz UV, exposición a yoduro o por medio de oxidación con ácido fosfomolibdico. Los disolventes para extracciones eran de grado HPLC o ACS. La cromatografía se llevó a cabo a través del procedimiento de Still con gel de sílice 60 de Merck (tamiz 230-400), con el sistema de disolventes indicado. Las reacciones se llevaron a cabo bajo una presión positiva de argón. Los espectros de NMR se recogieron sobre espectrómetros Varian Unity 400, VXR-400 y VXR-300. Los espectros de ^1H NMR fueron reportados en ppm a partir de tetrametilsilano, en la escala δ . Los datos fueron reportados del siguiente modo: desplazamiento químico, multiplicidad (s= singulete, d= doblete; t= triplete; q= cuartete; m= multiplete; br= ampliado; obs= obscurecido); constantes de acoplamiento (Hz) e integración relativa. Los espectros ^{13}C NMR son reportados en ppm desde el pico de disolvente deuterado central (por ejemplo, 39,0 ppm para DMSO- d_6). Los datos se facilitan del siguiente modo: desplazamiento químico, multiplicidad.

Ejemplo 1

Síntesis de tetrahidrocloruro de dicitclohexiltetraamina

A. Síntesis de N-(trifenilmetil)-(1R,2R)-diamino-ciclohexano

A una solución de (1R,2R)-diaminociclohexano (250 g, 2,19 mol) en CH_2Cl_2 anhidro (3,5 L) a 0°C se le añadió una solución de cloruro de tritilo (254 g, 912 mol) en CH_2Cl_2 (2L), gota a gota, durante un período de 4 horas. La mezcla resultante se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se mantuvo en agitación durante el transcurso de una noche. La mezcla de reacción fue lavada con agua hasta que el pH de los lavados acuosos estuvo por debajo de 8,0 (4 x 2000 ml) y se secó sobre Na_2SO_4 . La filtración y la concentración del disolvente proporcionó 322,5 g (rendimiento del 99%) de N-(trifenilmetil)-(1R,2R)-diaminociclohexano, en forma de cristal: ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 7,50 (d, J=7,45 Hz, 6H); 7,26 (app t, J = 7,45 Hz, 6H); 7,16 (app t, J= 7,25 Hz, 3H); 2,41 (dt, J= 10,3; 2,62 Hz; 1H); 1,70 (m, 1H); 1,54-0,60 (complejo m, 8H). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ 147,2 (s); 128,4 (d); 127,3(d); 69,9 (s); 59,0 (d); 54,4(d); 36,6(t); 32,5(t); 24,6(t); 24,3(t); MS (LR-FAB)m/z= 363 [M + Li] $^+$.

B. Glioxal-bisimina de N-(trifenilmetil)-(1R,2R)-diaminociclohexano

A una solución de N-(trifenilmetil)-(1R,2R)-diaminociclohexano (322,5 g; 905 mmol) en metanol (4L) se le añadió glioxal (51,9 ml de una solución al 40% en agua, 452,3 mmol), gota a gota, durante un período de 30 minutos. Seguidamente, la mezcla resultante fue sometida a agitación durante un período de 16 horas. El producto precipitado fue aislado por medio de filtración y secado al vacío para proporcionar 322,1 g (rendimiento 97%) de bisimina, en forma de sólido de color blanco: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,87 (s, 2H); 7,51 (d, J=8,1 Hz, 12H); 7,16-7,05 (m, 18H); 2,95 (bm, 2H); 2,42 (bm, 2H); 1,98-0,81 (complejo m, 18H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 161,67 (d), 147,24 (s); 147,22 (s); 128,90 (d); 128,81 (d); 127,73 (d); 127,61 (d); 126,14 (d); 73,66 (s); 70,86 (d); 70,84 (d); 56,74 (d); 32,45 (t); 31,77 (t); 24,02 (t); 23,62 (t). MS (LR-ESI) m/z 757 [M + Na] $^+$.

C. N,N'-Bis[(1R,2R)-[2-trifenilmetilamino]]ciclohexil]-1,2-diaminoetano

La glioxalbisimina de N-(trifenilmetil)-(1R,2R)-diaminociclohexano (586 g, 798 mmol) fue disuelta en THF (6L) y tratada con LiBH₄ (86,9 g, 4,00 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla fue sometida a agitación durante un período de 12 horas a temperatura ambiente y calentada seguidamente hasta 40°C durante un período de 4 horas. La reacción fue apagada cuidadosamente con agua (1 L) y se extrajo el THF a presión reducida. La suspensión residual fue dividida entre CH₂Cl₂ (3 L) y agua (1 L adicional). Las capas fueron separadas y la capa acuosa fue extraída de nuevo con CH₂Cl₂ (1L). Las capas de CH₂Cl₂ combinadas fueron secadas (MgSO₄), filtradas y concentradas para proporcionar 590 g (rendimiento 100%) de N,N'-bis[(1R,2R)-[2-trifenilmetilamino]]ciclohexil]-1,2-diaminoetano, en forma de espuma de color blanco: MS (LR-ESI) m/z 739[M+H]⁺.

D. Tetrahidrocloruro de N,N'-Bis[(1R,2R)-[2-(amino) ciclohexil]-1,2-diaminoetano

A una solución de N,N'-bis[(1R,2R)-[2-(trifenilmetilamino)]ciclohexil]-1,2-diaminoetano (590 g; 798 mmol) en acetona (3L) se le añadió HCl concentrado (1,5 L). La reacción fue agitada durante un período de 2 horas y se concentró. El resto fue dividido entre agua (2L) y CH₂Cl₂ (1L). Las capas fueron separadas y se concentró la capa acuosa, secándose al vacío para producir 257 g (rendimiento 80%) del tetrahidrocloruro, en forma de sólido granular de color blanco apagado: ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 3,82-3,57 (complejo m, 8H); 2,42 (d, J=9,9 Hz, 2H); 2,29 (d, J=9,3 Hz, 2H); 2,02-1,86 (complejo m, 4H); 1,79-1,60 (complejo m, 4H); 1,58-1,42 (complejo m, 4H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 59,1 (d); 51,3 (d); 40,8(t); 29,2 (t); 26,0 (t); 22,3 (t); 22,2 (t). MS (LR-FAB) m/z 255 [M+H]⁺.

Ejemplo 2

Uso de reducción catalítica con formiato amónico en la síntesis de los compuestos de la invención

El precursor de bisimina purificado para el compuesto B (15,0 g; 29,6 mmol) fue disuelto en 1,5 L de MeOH anhidro y el matraz tratado con nitrógeno durante unos pocos minutos, añadiéndose después 3% de Pd/C (7,5 g; 50% en peso). A medida que se calentaba la suspensión se le añadía con cuidado formiato amónico sódico (7,5 g; 118,9 mmol, 4 equiv.). Transcurrida una hora desde que se alcanzó el reflujo, se añadió una segunda parte de formiato (3,75 g; 59,5 mmol, 2 equiv.). La suspensión de color negro fue dejada enfriar hasta temperatura ambiente después de 2,5 horas de reflujo (en este punto, el sobrenadante era virtualmente incoloro) y se filtró a través de un lecho de ½ pulgada de alúmina Al₂O₃, grado Brockmann, neutra, lavándose previamente con MeOH). El lecho de catalizador y de la alúmina se lavó con MeOH (2x100 mL) y se eliminó el disolvente combinado a presión reducida. Tras secado al vacío a temperatura ambiente durante el transcurso de una noche, la espuma de color amarillo claro residual fue sometida a agitación con CH₂Cl₂ (500 mL) durante un período de 15-20 minutos, después se filtró a través de un filtro de 10μ. Tras la extracción del disolvente, se aislaron 14,7 g de una espuma de color amarillo claro. La espuma fue disuelta en 600 mL de agua desionizada y el pH de la solución de color verde fue elevado desde el valor inicial 4,9 hasta 7,5 ca. con NaOH acuoso 0,5N. Posteriormente, se añadieron 90 g de NaCl para elevar el contenido en NaCl hasta el 15%. Una vez constituida la solución, se procedió a la extracción con CH₂Cl₂ (4 x 250 mL), las capas orgánicas combinadas fueron secadas sobre Na₂SO₄ por espacio de 15 minutos, posteriormente filtradas y se eliminó el disolvente a presión reducida para proporcionar una espuma de color amarillo claro-verde (14,5 g; rendimiento 96%). La HPLC efectuada sobre este material indicaba una relación de isómeros S,S a S,R de 3,8:1 y una pureza combinada ≥ 98%.

(Tabla pasa a página siguiente)

ES 2 293 106 T3

Resultados de transferencia de hidrógeno

Concen- tración (mM) ^a	Catali- Zador (%Pd/C) ^b	% en peso	Tiempo (horas) ^c	HCO ₂ ⁻ (eq.)	% area por HPLC ^d				
					Ligan- do Libre	Mono- imina	Isómero SS	Isómero SR	Rela- ción
20	10	50	2	25	-	-	68	32	2,13
20	5	50	2	25	2	-	75	23	3,26
20	5	10	4	25	2	7	64	27	2,37
20	3	50	2	25	2	2	75	21	3,57
20	1	50	4 ^e	16	-	55	26	21	1,24
20 ^f	3	50	2	16	1	-	70	28	2,50
20	3	50	3	6	-	<1	79	21	3,76
28 ^g	3/5	50	2,5	8	3	-	72	23	3,13
20 ^h	3	50	2	6	3	-	76	21	3,62
50	3	50	2	16	4	-	70	25	2,80
100	3	50	2	16	9	<1	64	26	2,46
a. el disolvente es MeOH anhidro. b. disponible en Aldrich c. tiempo de reflujo d. condiciones: 3 mL/min. 10-50% B durante 9 minutos. B es (8:2 v/v) MeCN: agua, A es NaCl acuoso 0,5N. Detección UV a 265 nm. e. el sobrenadante conservaba todavía el color amarillo después de 4 horas. F. el disolvente era DtoH anhidro y se utilizó bisimina cruda. G. se utilizó bisimina cruda. H. la escala era 15 gramos de bisimina purificada									

Ejemplo 3

Evaluación de la actividad superóxido dismutasa por medio de análisis cinético a flujo parado

Para determinar si un compuesto puede catalizar la dismutación de superóxido se ha utilizado el análisis cinético a flujo parado (Riley, D.P., Rivers, W.J. and Weiss, R.H., "Stopped-Flow Kinetic Analysis for Monitoring Superoxide Decay in Aqueous Systems", Anal. Biochem, 196: 344-349 1991). Para la obtención de mediciones consistentes y ajustadas, la totalidad de los reactivos eran biológicamente limpios y estaban exentos de metal. Para conseguir esto, todos los tampones (Calbiochem) eran de grado biológico, estaban exentos de metal y se manipulaban con utensilios que habían sido lavados primeramente con HCl 0,1N, y después con agua purificada, seguido de un enjuague en un baño de EDTA 10⁻⁴ M, a pH 8, seguido de un enjuague con agua purificada a 65°C, por espacio de varias horas. Se prepararon soluciones de DMSO anhidro de superóxido potásico (Aldrich) en atmósfera seca, inerte de argón, en una guantera Vacuum Atmospheres, utilizando objetos de cristal secados. Las soluciones de DMSO fueron preparadas inmediatamente antes de cada experimento de parada de flujo. Para triturar el superóxido potásico de color amarillo (aproximadamente 100 mg) se utilizó un mortero y una mano. El polvo fue después molido con unas pocas gotas de DMSO y la suspensión transferida a un matraz que contenía 25 mL adicionales de DMSO. La suspensión resultante fue sometida a agitación por espacio de ½ hora y después fue filtrada. Este procedimiento proporcionó reproduciblemente concentraciones 2 mM de superóxido en DMSO. Estas soluciones fueron transferidas a una bolsa para guantes en atmósfera de nitrógeno en viales sellados, con anterioridad al cargado de la jeringa con nitrógeno. Debe destacarse que las soluciones DMSO/supróxido son extremadamente sensibles al agua, al calor, al aire y a los metales extraños. Una solución pura, fresca, tiene una tonalidad muy ligeramente amarillenta.

Se suministro agua para soluciones tampón desde un sistema de agua desionizada propia hacia un sistema de agua Barnstead Nanopure Ultrapure Series 550 y, seguidamente, se procedió a destilar por partida doble, primeramente a partir de permanganato potásico alcalino y después a partir de una solución de EDTA diluida. Por ejemplo, una solución que contenía 1,0 g de permanganato potásico, 2 litros de agua y el hidróxido sódico adicional necesario para elevar el pH hasta 9,0, fueron añadidos a un matraz de 2 litros equipado con una cabeza de destilación de disolvente. Esta destilación oxidará cualquier traza de componente orgánico en el agua. La destilación final fue llevada a cabo en atmósfera de nitrógeno en un matraz de 2,5 litros que contenía 1500 ml de agua procedente del primer alambique. Este paso elimina las trazas remanentes de metal en el agua pura. Para evitar que la neblina de EDTA se volatilice sobre el brazo de reflujo hacia la cabeza del alambique, el brazo vertical de 40 cm se rellenó con bolitas de vidrio y se envolvió con aislamiento. Este sistema produce agua desoxigenada que puede ser medida para que tenga una conductividad por debajo de 2,0 nanoohms/cm².

El sistema de espectrómetro a flujo parado fue diseñado y fabricado por Kinetic Instruments Inc. (Ann Arbor, Mich.) y se interconectó a un ordenador personal MAC IICX. El software para el análisis de flujo parado fue proporcionado por Kinetics Instrument Inc. y estaba escrito en QuickBasic, para controladores MacAdios. Volúmenes de inyector habituales (0,10 ml de tampón y 0,006 ml de DMSO) fueron calibrados a los efectos de que se mezclaran conjuntamente un gran exceso de agua en relación con la solución de DMSO. La relación real era de aproximadamente 19/1, por lo que la concentración inicial de superóxido en la solución acuosa estaba comprendida en la banda de 60-120 μ M. Dado que el coeficiente de extinción publicado para el superóxido en H₂O a 245 nm es de aproximadamente 2250 M⁻¹cm⁻¹, cabía esperar un valor de absorbancia inicial de aproximadamente 0,3-0,5 para una célula de longitud de recorrido de 2 cm, y esto fue observado experimentalmente. Las soluciones acuosas que tenían que ser mezcladas con la solución de DMSO de superóxido se prepararon utilizando concentraciones 80 mM del tampón Hepes, pH 8,1 (ácido libre + forma Na). Una de las jeringas reservorio fue rellenada con 5 ml de solución de DMSO, mientras la otra era rellenada con 5 ml de la solución tampón acuosa. El bloque entero de inyección y la celda de espectrómetro fueron sumergidos en un baño de agua circulante con termostato de 21,0 $\pm$ 0,5°C. Con anterioridad a la recogida de datos para la descomposición del superóxido, se obtuvo un valor de base mediante el inyectado de diversas dosis de tampón y de soluciones DMSO en el interior de la cámara de mezclado. Estas dosis fueron promediadas y se almacenaron como base. Las primeras dosis que se recogieron durante una serie de pruebas lo fueron con soluciones acuosas que no contenían catalizador. Esto aseguraba el que cada una de las series de ensayos estaba exenta de contaminación capaz de generar perfiles de descomposición de superóxido de primer orden. Si las descomposiciones observadas para diversas dosis de la solución tampón eran de segundo orden, podían utilizarse soluciones de complejos de manganeso (II). En general, el catalizador SOD potencial fue cribado sobre una amplia banda de concentraciones. Dado que la concentración inicial de superóxido tras mezclado de DMSO con el tampón acuoso era de aproximadamente 1,2 veces 10⁻⁴ M, quisimos usar una concentración de complejo manganeso (II) que fuera al menos 20 veces inferior a la del sustrato superóxido. Consecuentemente, sometimos generalmente a cribado compuestos con actividad dismutante de superóxido utilizando concentraciones oscilantes entre 5 x 10⁻⁷ y 8 x 10⁻⁶M. Los datos obtenidos a partir del experimento fueron importados a un programa matemático adecuado (por ejemplo, Cricket Graph), a los efectos de que pudieran llevarse a cabo análisis cinéticos estándar. Las constantes de velocidad catalítica para la dismutación de superóxido por medio de complejos de manganeso (II) fueron determinadas a partir de gráficos lineales de constantes de velocidad observadas (Kobs), frente a la concentración de complejos de manganeso (II). Los valores Kobs fueron obtenidos a partir de gráficos lineales de absorbancia ln a 245 nm frente a tiempo de dismutación de superóxido mediante complejos de manganeso (II).

Ejemplo 4

Síntesis del complejo 3

A. Síntesis de 4-cloro-2,6-piridinodicarboxilato de dimetilo

A una suspensión agitada de ácido quelidámico (200 g; 1,10 mol) en CHCl₃ (2,00 L) se le añadió PCl₅ (1,00 kg; 4,80 mol), por partes, durante un período de 2 horas, a temperatura ambiente y en atmósfera de nitrógeno. La mezcla fue luego sometida a reflujo por espacio de 3 horas y la solución de color marrón claro resultante fue enfriada a 0°C, añadiéndose, gota a gota, una solución de trietilamina (215 mL; 1,54 mol) en MeOH (2,30 L) durante un período de 5-6 horas, manteniéndose la temperatura a entre 0 y -10°C. Después ser sometida a agitación durante un período adicional de 1,5 horas, la mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente durante el transcurso de una noche. La concentración de la solución al vacío proporcionó por cristalización un sólido de color blanco, el cual fue filtrado y secado para proporcionar 110 g (rendimiento 43%) del producto en forma de agujas incoloras: pf 141-2°C; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz); δ 8,31 (s, 2H); 4,05 (s, 6H); ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ 164,09; 149,44; 146,79; 128,29; 53,48; espectro de masas FAB (NBA-Li) m/z (intensidad relativa) 252 (30)[M+Na]⁺, 236 (91) [M+Li]⁺, 230(100) [M+H]⁺.

B. Síntesis de 4-ciclohexil-2,6-piridinodicarboxilato de dimetilo

A una solución agitada de cloruro de ciclohexilmagnesio (78,5 mL de 2M en éter etílico, 157 mmol) a -78°C se le añadió una solución de ZnBr₂ (35,5 g, 157 mmol) en THF anhidro (150 mL) a -78°C. La mezcla fue sometida a agitación por espacio de 1 hora a -78°C y luego se dejó calentar hasta la temperatura ambiente. Se añadió entonces una solución de tetrakis-(trifenilfosfina)paladio (0) (7,50 g; 6,47 mmol) en THF anhidro (100 mL) a temperatura ambiente, seguido de 4-cloro-2,6-piridinodicarboxilato de dimetilo (30,0 g; 131 mmol) en THF anhidro (150 mL). La mezcla fue después calentada a 50°C por espacio de 3 horas y se dejó en reposo a temperatura ambiente durante el transcurso

de una noche. La reacción fue después apagada con NH_4Cl saturado (250 mL) y H_2O (50 mL). Las capas fueron separadas y la capa acuosa extraída con acetato de etilo (3 x 80 mL). Las capas orgánicas combinadas fueron lavadas con NaCl saturado (2 x 50 mL) y secadas sobre MgSO_4 . La filtración y extracción al vacío del disolvente proporcionó 41 g de un producto sólido de color marrón oscuro. El material impuro fue purificado por medio de cromatografía flash (gel de sílice, 60:40 a 50:50 gradiente hexano- CH_2Cl_2), seguido de cristalización a partir de acetato de etilo-hexano, para dar 17,9 g (rendimiento 49,3%) del producto sólido de un color blanco apagado: pf 113-115°C; ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) δ 8,16 (s, 2H); 4,02 (s, 6H); 2,64-2,73 (m, 1H); 1,88-1,96 (m, 4H); 1,77-1,81 (m, 1H); 1,22-1,56 (m, 5H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ 165,44; 159,72; 148,24; 126,79; 53,13; 44,88; 33,23; 26,35; 25,72; espectro de masas (NBA-Li) m/z (intensidad relativa) 561 (13) $[\text{M}+\text{Li}]^+$; 284(27) $[\text{M}+\text{Li}]^+$; 278(100) $[\text{M}+\text{H}]^+$; 218(18) $[\text{M}-\text{HCO}_2\text{CH}_3]^+$; Anal. Calcd, para $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{NO}_4$; C 64,97; H 6,91; N, 5,05. Encontrado C 64,98; H 6,84; N 5,05.

C. Síntesis de 4-ciclohexil-2,6-piridinodimetamol

A una solución agitada de 4-ciclohexil-2,6-piridinocarboxilato de dimetilo (6,50 g; 22,5 mmol) en THF anhidro (225 mL) se le añadió LiBH_4 (1,96 g; 90,2 mmol) a temperatura ambiente, moderando la temperatura con un baño de hielo. La solución de color naranja fue sometida a agitación durante un período de 1,5 horas en atmósfera de argón y después apagada mediante la adición lenta de H_2O (100 mL). El disolvente fue eliminado al vacío y el resto disuelto en una mezcla de acetato de etilo (500 mL) y H_2O (250 mL). Las capas fueron separadas y la capa de acetato de etilo lavada con NaHCO_3 saturado (2 x 250 mL), NaCl saturado (250 mL) y después secado sobre Na_2SO_4 . La filtración y extracción del disolvente al vacío proporcionó un producto sólido cristalino de color blanco, el cual fue purificado por medio de recristalización con acetato de etilo-hexano para dar 4,65 g (rendimiento 92,7%) del producto, en forma de agujas incoloras: pf 106-8°C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,04 (s, 2H); 4,73 (s, 4H); 3,85 (s, 2H); 2,52 (m, 1H); 1,74-1,87 (m, 5H); 1,19-1,47 (m, 5H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 158,89; 158,32; 118,13; 64,35; 44,06; 33,50; 26,48; 25,89; espectro de masas FAB (NBA-Li) m/z 228 $[\text{M}+\text{Li}]^+$.

D. Síntesis de 4-ciclohexil-2,6-piridinodicarboxaldehído

A una solución agitada de cloruro de oxalilo (11,1 g; 87,2 mmol) en CH_2Cl_2 anhidro (50 mL) a -60°C se le añadió una solución de DMSO anhidro (14,9 g; 190 mmol) en CH_2Cl_2 (25 mL), gota a gota y por espacio de 5 minutos. Después de aplicarse agitación durante un período de 10 minutos a -60°C, se añadió, gota a gota y durante un período de 5 minutos) una solución de 4-ciclohexil-2,6-piridinometanol (4,39 g; 19,8 mmol) en DMSO anhidro (25 mL) y la mezcla resultante fue sometida a agitación durante un período de 20 minutos a -60°C. Después, se añadió trietilamina (111 mL, 796 mmol) durante 5 minutos y después de someter la mezcla a agitación durante un período de 5 minutos a -60°C, se dejó calentar la misma hasta alcanzar la temperatura ambiente. Una vez transcurridas 2 horas, se añadió H_2O (300 mL) y se extrajo la mezcla con CH_2Cl_2 (3 x 250 mL). Los extractos se combinaron, se lavaron con NaCl saturado (250 mL) y se secaron sobre Na_2SO_4 . La filtración y la extracción del disolvente al vacío proporcionaron 5,38 g de un producto sólido de color canela, el cual fue purificado por medio de cromatografía flash (gel de sílice 98:2 CH_2Cl_2 :MeOH) para proporcionar 3,86 g (rendimiento del 89,7%) de un producto sólido cristalino de color canela: ^1H NMR (400 MHz, C_6D_6) δ 10,05 (s, 2H); 7,72 (s, 2H); 1,97 (d(t), J=9,7; 3,5 Hz, 1H); 1,50-1,54 (m, 3H); 1,33-1,37 (m, 2H); 0,83-1,08 (m, 5H); ^{13}C NMR (100MHz, C_6D_6) δ 192,32; 159,31; 153,55; 123,31; 43,49; 33,00; 26,38; 25,64; espectro de masas FAB (NBA-Li) m/z 224 $[\text{M}+\text{Li}]^+$; espectro de masas HR (ESI) m/z 218,1124 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (218,1181 calculd. Para $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{NO}_2$).

E. Síntesis de Manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R-3,10,13,20,26,pentaaza-24-ciclohexiltetraciclo-[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(25),22(26),23-trieno

A una suspensión agitada de tetrahidrocloruro de tetraamina, preparada tal como se indica en el Ejemplo 1 (2,80 g; 7,00 mmol) en etanol absoluto (70 mL) se le añadió KOH (1,79 g, 88%; 28,0 mmol) y la mezcla fue objeto de agitación a temperatura ambiente, en atmósfera de argón. Una vez transcurridos 30 minutos, se añadió MnCl_2 (881 mg; 7,00 mmol) y la suspensión fue sometida a agitación durante un período adicional de 30 minutos. A la mezcla de color verde oscuro se le añadió entonces 4-ciclohexil-2,6-piridinodicarboxaldehído (1,52 g; 7,00 mmol) y se sometió a reflujo. Una vez transcurridas 65 horas, la reacción se había completado; tan solo se observaba la bis(imina): espectro de masas (ESI) m/z (intensidad relativa) 525 (100) $[\text{M}-\text{Cl}]^+$, 245(73) $[\text{M}-2\text{Cl}]^{++}$. A la solución de color naranja se le añadió entonces metanol (35 mL) y, tras enfriamiento a 0°C, se le añadió NaBH_4 (1,06 g; 28 mmol). La mezcla fue sometida a agitación durante 1 hora a 0°C y después se dejó calentar hasta alcanzar la temperatura ambiente. Una vez transcurridas 5 horas, se le añadió NaBH_4 adicional (1,06 g; 28,0 mmol) y la mezcla fue sometida a agitación durante un período de 18 horas. La mezcla fue enfriada de nuevo a 0°C, se le añadió NaBH_4 adicional (1,06 g; 28,0 mmol) y se sometió de nuevo a agitación durante un período adicional de 3 días. Se extrajo el disolvente al vacío y se disolvió el resto en una mezcla de H_2O (50 mL), NaCl saturado (250 mL) y CH_2Cl_2 (250 mL). Las capas fueron separadas y se extrajo la solución acuosa con CH_2Cl_2 (250 mL). Los extractos fueron combinados, se lavaron con NaCl saturado (250 mL) y fueron secados sobre MgSO_4 . La filtración y extracción del disolvente al vacío proporcionó un producto sólido de color marrón. El producto crudo fue purificado por medio de cromatografía de flash (gel de sílice, 98:2 CH_2Cl_2 :MeOH), para proporcionar 2,22 g (rendimiento del 56,1%) de un producto sólido de color blanco apagado: espectro de masa ESI m/z (intensidades relativas) 529 (78) $[\text{M}-\text{Cl}]^+$, 247(100) $[\text{M}-\text{Cl}]^{++}$; espectro de masa (ESI) MHz (intensidad relativa) 531,2738 (31)/529,2748 (100) $[\text{M}-\text{Cl}]^+$ (531,2714/529,2744 calculd. Para $\text{C}_{27}\text{H}_{45}\text{N}_5\text{MnCl}$). HPLC (Vydac 218TP54 proteína y péptido C18; 82% H_2O con 0,1% TFA/20% CH_3CN hasta 100% H_2O con 0,1% TFA durante 10 minutos; flujo= 2mL/min; 5 μL iny. vol.) T_r =15,2 (pureza 100%).

Ejemplo 5

Síntesis del compuesto 28

5 A. Síntesis de N,N'-bis{(1R,2R)-2-[(trifenilmetil)-amino]ciclohexil}-(1R)-metil-1,2-diiminoetano

A una solución agitada de N-(trifenilmetil)-(1R,2R)-diaminociclohexano, sintetizado tal como se indica en el Ejemplo 1 (224 g, 628 mmol) en 1,50 L de MeOH, se le añadió una solución de aldehído pirúvico (48,0 mL -40% en H₂O, 314 mmol), a temperatura ambiente y en atmósfera de argón. El precipitado que se formó dentro de los siguientes
 10 30 minutos fue triturado y se dejó en reposo durante 16 horas. Se filtró el producto sólido, se lavó con MeOH y se secó al vacío para proporcionar 170 g (rendimiento del 72,3%) de producto, en forma de polvo de color blanco: espectro de masa (ESI) m/z (intensidad relativa) 755 (1) [M+Li]⁺, 243 (100) [(C₆H₅)₃C]⁺; espectro de masas (ESI) m/z 749,4597 [M+H]⁺ (749,4583 calculado para C₅₃H₅₇N₄).

15 B. Síntesis de N,N'-Bis{(1R,2R)-2-[(trifenilmetil)-amino]ciclohexil}-(1R)-metil-1,2-diaminoetano

A una solución agitada de N,N'-Bis{(1R,2R)-2-[(trifenilmetil)amino]ciclohexil}-(1R)-metil-1,2-diiminoetano (170 g; 227 mmol) en una mezcla de THF anhidro (1,50L) y MeOH (1,50 L) se le añadió NaBH₄ (85,8 g; 2,27 mol) a -10°C y la mezcla fue dejada calentar hasta alcanzar la temperatura ambiente. Una vez transcurridos 5 días, se extrajeron
 20 los disolventes al vacío, el resto fue disuelto en una mezcla de H₂O (500 mL) y CH₂Cl₂ (1,00 L) y las capas fueron separadas. La capa de CH₂Cl₂ fue lavada con H₂O (500 mL), NaCl saturado (250 mL) y secada sobre MgSO₄. La filtración y extracción del disolvente al vacío proporcionó 178 g del producto, con el rendimiento cuantitativo esperado, en forma un producto sólido de color amarillo: ¹H NMR (C₆D₆, 300 MHz) δ 7,66-7,80 (m, 12H); 6,97-7,17 (m, 18H); 3,88 (br s, 1H); 3,28 (br s, 1H); 2,43-2,63 (m, 2H); 2,10-2,38 (m, 6H); 1,64-1,90 (m, 5H); 1,32-1,55 (m, 5H);
 25 0,94-1,21 (m, 7H); 0,52-0,85 (m, 6H); ¹³C NMR (C₆D₆, 75 MHz) δ 148,23; 147,99; 129,43; 129,35; 127,88; 127,82; 126,36; 71,19; 71,13; 61,31; 58,88; 57,61; 50,90; 33,72; 33,31; 32,43; 31,14; 25,72; 24,92; 24,84; 24,61; 20,20; espectro de masas/ESI m/z (intensidad relativa) 753 (3) [M+H]⁺, 243 (100) [(C₆H₅)₃C]⁺; espectro de masas HR (ESI) m/z 753,4900 [M+H]⁺ (753,4896 calculado para C₅₃H₆₁N₄).

30 C. Síntesis de tetrahidrocloruro de N,N'-Bis{(1R,2R)-2-aminociclohexil}-(1R)-metil-1,2-diaminoetano

A un matraz que contenía N,N'-Bis{(1R,2R)-2-[(trifenilmetil)amino]ciclohexil}-(1R)-metil-1,2-diaminoetano, preparado tal como se indica en el Ejemplo 2B (40,0 g; 53,1 mmol), se le añadió solución de HCl concn. (250 mL), se sometió la suspensión a agitación durante un período de 1 hora y se dejó después en reposo durante un período de
 35 16 horas, a temperatura ambiente. Después de la adición de H₂O (250 mL), se extrajo el producto sólido por filtración y se extrajo el disolvente al vacío. El agua remanente fue extraída mediante la formación de un azeótropo con etanol absoluto (2 x 250 mL), para dar 17,9 g (rendimiento del 81,1%) del producto en forma de sólido de color canela: ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 10,22 (br s, 4H); 8,94 (br s, 3H); 8,81 (br s, 3H); 3,07-3,75 (m, 7H); 1,06-2,17 (m, 19H); ¹³C NMR (DMSO-d₆, 100 MHz) δ 58,50; 54,95; 50,73; 50,09 br; 48,37 br; 47,16; 29,11 br; 28,87; 28,69;
 40 28,58; 25,67 br; 22,65; 22,49; 22,37; 22,09; 14,28; espectro de masas HR (ESI) 269,2692 [M+H]⁺ (269,2705 calculado para C₁₅H₃₃N₄).

45 D. Síntesis de manganeso(II)dicloro(4R,9R,11R,14R,19R)-3,10,13,20,26-pentaaza-24-clohexil-11-metiltetraciclo [20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(25),22(26),23-trieno

A una solución agitada de tetrahidrocloruro de bis-ciclohexiltetramina (4,29 g; 10,4 mmol) en etanol absoluto (100 mL) se le añadió KOH (2,64 g; 88%, 41,4 mmol) y la mezcla fue sometida a agitación a temperatura ambiente durante 30 minutos en atmósfera de argón. Se añadió entonces MnCl₂ (1,30 g; 10,4 mmol) y después de someter la suspensión a un período adicional de agitación de 30 minutos, se añadió 4-ciclohexil-2,6-piridinodicarboxaldehído (2,25 g; 10,4
 50 mmol) a la mezcla de color marrón, la cual fue después sometida a reflujo. Una vez transcurridas 24 horas, la reacción se había completado; únicamente se observaba la bis(imina): espectro de masa (ESI) m/z (intensidad relativa) 539(25) [M-Cl]⁺, 252(100) [M-2Cl]⁺⁺. Después de la adición de MeOH (50 mL) se enfrió la mezcla a 0°C, se añadió NaBH₄ (1,57 g, 41,4 mol) y se sometió la mezcla a agitación por espacio de 30 minutos. Se añadió entonces NaBH₄ adicional (1,57 g, 41,4 mmol) a 0°C y se dejó calentar la mezcla hasta alcanzar la temperatura ambiente, mientras se continuaba
 55 con la agitación durante un período adicional de 60 horas. Se extrajo el disolvente al vacío y el aceite residual fue disuelto en la mezcla de CH₂Cl₂ (250 mL) y H₂O (250 mL). La mezcla fue filtrada para extraer una pequeña cantidad de producto sólido de color marrón, se añadió NaCl saturado (250 mL) y se separaron las capas. La capa acuosa fue extraída con CH₂Cl₂ (250 mL) y los extractos fueron combinados. Los extractos combinados fueron lavados con NaCl saturado (250 mL) y se secaron sobre MgSO₄. La filtración y extracción del disolvente al vacío proporcionó 5,86 g
 60 de una espuma de color marrón. El producto crudo fue purificado a través de cromatografía flash (gel de sílice, 98:2 CH₂Cl₂-MeOH) para dar 1,78 g (rendimiento del 29,7%) del producto en forma de sólido de color amarillo pálido: espectro de masa HR (ESI)m/z (intensidad relativa) 543,2902(100)/545,2892 (35) [M-Cl]⁺ (543,2901/545,2871 calculado para C₂₈H₄₇N₅MnCl); Anal. Calcd. Para C₂₈H₄₇N₅MnCl₂: C 58,03; H 8,17; N 12,08; Cl 12,23. Encontrado C 57,11; H 8,12; N 11,85; Cl 11,95. HPLC (Vydac 218TP54 proteína y péptido C18; 65% H₂O con 0,1% TFA/35%CH₃CN; flujo= 2 mL/min; 5 μL iny. vol.) T_r= 7,58 min (pureza del 99,9%).

Ejemplo 6

*Síntesis del compuesto 1*5 A. *Síntesis de 4-cloro-2,6-dihidroximetilpiridina*

4-cloro-2,6-piridinodicarboxilato de dimetilo, preparado tal como se indica en el Ejemplo 4, (85,0 g; 370 mmol) fue disuelto en MeOH (2,3 L). La solución fue enfriada a 0°C. A la solución enfriada se le añadió NaBH₄ (63,0 g; 167 mmol), en pequeñas porciones. La mezcla de reacción fue agitada a 0°C durante 1 hora, se mantuvo a temperatura ambiente por espacio de entre 2-3 horas. Una vez transcurridas aproximadamente 3 horas, la mezcla fue dejada en reflujo durante el transcurso de una noche. Se le añadió acetona (425 mL) a la mezcla de reacción. La solución fue calentada a reflujo por espacio de 1 hora, y posteriormente fue concentrada al vacío. Se le añadió al concentrado solución de Na₂CO₃ saturada (650 mL) y se aplicó reflujo durante un período de 45 minutos. Se dejó que el matraz alcanzase la temperatura ambiente y se mantuvo a esta temperatura por espacio de 16 horas. El matraz contenía un precipitado de color blanco, el cual fue filtrado y lavado con cloroformo (30 mL). El producto sólido de color blanco fue disuelto en THF caliente (300 mL), se seco sobre sulfato de magnesio y se filtró, concentrándose después in vacuo para proporcionar 32,1 g de 4-cloro-2,6-dihidroximetilpiridina, en forma de sólido de color blanco. El filtrado fue concentrado. El producto sólido de color blanco resultante fue calentado en THF (500 mL), secado sobre sulfato de magnesio y filtrado. Este procedimiento se repitió después de que el sólido fuese agitado en 200 mL de CHCl₃ y filtrado, para proporcionar 23,6 g adicionales de 4-cloro-2,6-dihidroximetilpiridina pura (rendimiento global del 87%), en forma de sólido de color blanco: ¹H NMR/CD₃OD, 400 MHz) δ 7,62 (s, 2H) 5,02 (s, 2H) 4,83 (s, 4H). ¹³C NMR (CD₃OD, 100 MHz) δ 162,57; 145,75; 118,76; 63,74.

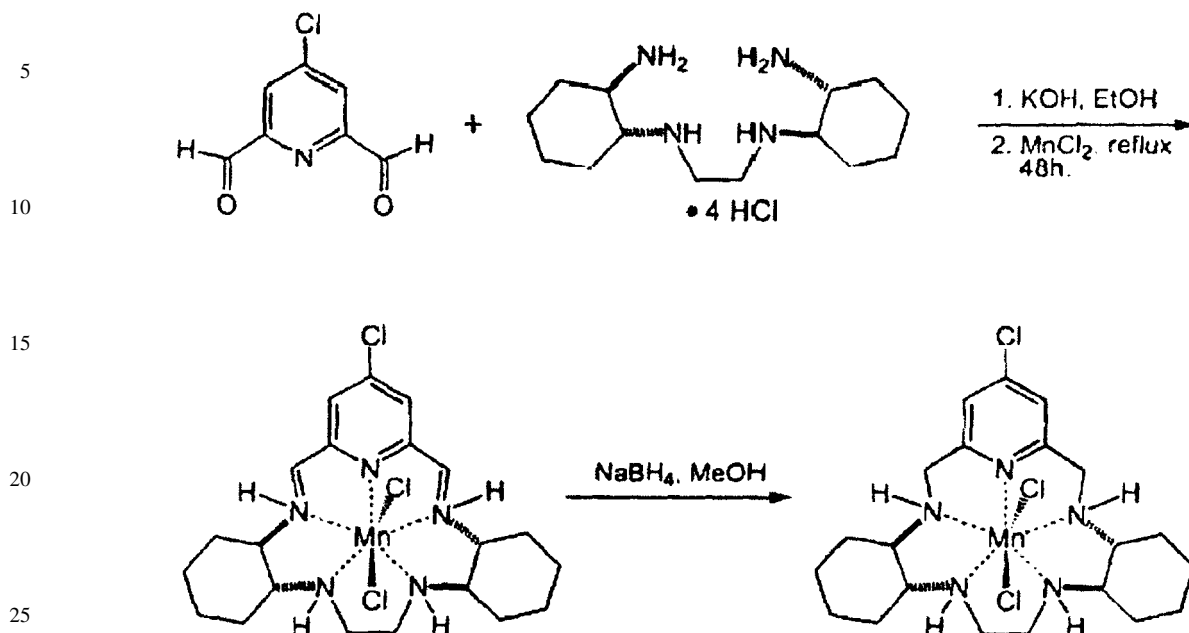
25 B. *Síntesis de 4-cloropiridino-2,6-dicarboxaldehído*

En un matraz de tres bocas de fondo redondo, de 1 L de capacidad, se colocaron cloruro de oxalilo (126,93 g; 154 mmol) y CH₂Cl₂ (80 mL). La solución se enfrió a -60°C. A la solución enfriada se le añadió DMSO (24 mL) en CH₂Cl₂ (80 mL), durante un período de 5 minutos, por medio de un embudo de goteo. Una vez transcurridos 10 minutos, se añadió 4-cloro-2,6-dihidroximetilpiridina (12,13 g; 69,9 mmol) en DMSO (40 mL), también a través de embudo de goteo. Una vez transcurridos 20 minutos, se añadió trietilamina (200 mL) y se sometió la reacción a agitación a -60°C durante un período adicional de 5 minutos. Se permitió entonces que la mezcla de reacción alcanzase la temperatura ambiente. Se añadió agua (400 mL) al matraz. La mezcla acuosa fue extraída con diversas partes de CH₂Cl₂ y las fracciones orgánicas se añadieron conjuntamente, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y concentraron. El producto crudo fue eluido a través de una columna de gel de sílice (Aldrich, tamiz 200-400, 60 Å) con CH₂Cl₂, para proporcionar 8,20 g (rendimiento del 69%) de 4-cloropiridino-2,6-dicarboxaldehído puro, en forma de sólido de color amarillo brillante. ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ 10,12 (s); 8,1 (s). ¹³C NMR (CD₃OD, 100 MHz) δ 191,26; 154,24; 147,55; 125,53. pf= 163°C.

40 C. *Síntesis de manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R,-24-cloro-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo-[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]-hexacosa-1(26),22(23),24(trieno)*

Tetrahidrocloruro de N,N'-bis{(1R,2R)-[2-(amino)ciclohexil]-1,2-diaminoetano, preparado tal como se ha indicado en el Ejemplo 1, (29,98 g; 72,4 mmol) fue colocado en un matraz con EtOH (750 mL). A la suspensión agitada se le añadió KOH (18,90 g; 289,7 mmol). El KOH se disolvió y precipitó KCl finamente dividido. Una vez transcurridos 30 minutos, se añadió MnCl₂ (9,18 g; 72,4 mmol). El MnCl₂ se disolvió lentamente y proporcionó una suspensión de color verde. Una vez disuelto el MnCl₂, se añadió 4-cloropiridino-dicarboxaldehído, preparado tal como se indica en el Ejemplo 3B (12,28; 72,4 mmol). La mezcla de reacción fue sometida a agitación por espacio de una hora a temperatura ambiente, después fue calentada a reflujo durante varios días. La mezcla de reacción fue enfriada a temperatura ambiente y se añadió MeOH (350 mL). El matraz fue enfriado hasta 0°C en un baño de agua-hielo. A la mezcla de reacción se le añadió NaBH₄ (5,57 g; 144,8 mmol), en pequeñas porciones. Se dejó que el matraz llegase a temperatura ambiente. Se añadió agua y se concentró la mezcla de reacción. El material crudo fue extraído con cantidades iguales (500 mL cada una de ellas) de CH₂Cl₂ y salmuera. La capa acuosa fue lavada con diversas partes de CH₂Cl₂. Las fracciones orgánicas fueron acumuladas conjuntamente, secadas sobre Na₂SO₄, filtradas y concentradas. El material crudo fue disuelto en CHCl₃ y se purificó mediante cromatografía de gel de sílice (Aldrich tamiz 200-400, 60 Å). El producto fue eluido a través de la columna con 1% MeOH/CHCl₃, incrementando hasta 2% MeOH/CHCl₃. La purificación proporcionó 32,71 g (rendimiento del 90%) de manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R,-24-cloro-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo-[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]-hexacosa-1(26),22(23),24-trieno)]. MS(LR-ESI)m/z 481 (M-Cl)⁺, 445 (M-Cl-HCl)⁺, 223 (M-2Cl)⁺⁺. And. Cal. Para C₂₁H₃₄N₅MnCl₃.CH₃OH: C 48,06; H 6,87; N 12,74; Cl 19,34. Encontrado C 47,62; H 6,79; N 12,97; Cl 19,77.

La síntesis se esquematiza seguidamente:



Ejemplo 7

30 *Síntesis de diversos catalizadores a partir del compuesto 1 por medio de reacciones de sustitución de post-quelación*

A. *Síntesis del Compuesto 8 [manganeso(II)dicloro-(4R,9R,14R,19R)-24-(2-aminoetiltilio)-3,10,13,20,26-pentaa-zatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno]*

35 A una solución de 1,2% (peso/volumen) de 2-mercaptoetilamina (1 eq.) en etanol a 0°C se le añadió etóxido sódico (1,1 eq.) para generar el tiolato. Una vez sometida a agitación durante un período de 1,75 h, la solución de tiolato fue añadida, gota a gota, a una solución de 1,3% (peso/volumen) de Compuesto 1 (1 eq.) en DMF a 0°C. La mezcla de reacción se dejó en agitación durante el transcurso de una noche. Se extrajo el disolvente al vacío, siendo extraída la mezcla de producto con cloruro de metileno y concentrada al vacío. Para llevar a cabo la purificación se utilizó cromatografía en columna flash, utilizando cloruro de metileno:metanol (9:1) como eluyente. Se monitorizó el proceso a través de HPLC.

B. *Síntesis del Compuesto 12 [manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R)-24-(N,N'-dietil-2-aminoetiltilio)-3,10,13,20,26-pentaa-zatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26), 22(23),24-trieno]*

45 El manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R-24-cloro-3,10,13,20,26-pentaa-zatetraciclo-[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno), preparado tal como se indica en el Ejemplo 6, (1,00 g; 1,94 mmol) fue colocado en un matraz y disuelto en DMF (80 mL). En un matraz separado se disolvió 2-dietilaminoetanotiol. HCl (314 mg, 2,14 mmol) en DMF (20 mL). El matraz fue enfriado a 0°C en un baño con agua-hielo. Al matraz se le añadió NaH (102 mg, 8,5 mmol). Después de someterse a agitación durante un período de 30 minutos, la solución de 2-dietilaminoetanotiolato fue añadida a la solución de manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R-24-cloro-3,10,13,20,26-pentaa-zatetraciclo [20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno), a través de una cánula. Se obtuvieron muestras de la mezcla de reacción después de un período de 2 horas de agitación, para ser analizadas por medio de HPLC. Los análisis de HPLC confirmaron la presencia de tan solo material de partida. El matraz fue equipado con condensador de reflujo y calentado a 80°C en un baño de aceite, durante el transcurso de una noche. La mezcla de reacción fue enfriada a temperatura ambiente y se tomaron muestras para efectuar análisis por medio de HPLC. Los análisis mediante HPLC confirmaron únicamente la presencia de material de partida. El matraz fue enfriado a 0°C en un baño con agua-hielo. A un matraz separado se le añadió 2-dietilaminoetanotiol.HCl (725 mg; 4,27 mmol). El 2-dietilaminoetanotiol.HCl fue disuelto en etanol (45 mL). El matraz se enfrió a 0°C en un baño de agua helada. A la solución se le añadió NaOEt (3 mL, 21% en peso, 8,54 mmol). A la solución enfriada de manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R-24-dietilamino-mercapto-3,10,13,20,26-pentaa-zatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno) se le añadió la solución de 2-dietilaminoetanotiolato, a través de una cánula. El matraz fue calentado a 80°C, mientras se sometía a agitación durante el transcurso de una noche. Se obtuvieron muestras de la mezcla de reacción para su análisis mediante HPLC. El análisis de HPLC confirmó la presencia de únicamente material de partida. Se añadió agua (50 mL) al matraz de reacción. La DMF, el agua y el EtOH fueron extraídos al vacío. El concentrado fue extraído con solución saturada de NaCl (250 mL), agua (250 mL) y CH₂Cl₂ (250 mL). La capa acuosa fue lavada con diversas partes de CH₂Cl₂. Las fracciones orgánicas fueron combinadas, secadas sobre Na₂SO₄ y concentradas al vacío.

El material crudo fue purificado por medio de cromatografía de gel de sílice (Aldrich , tamiz 200-400, 60 Å). El producto fue eluido a través de columna con 1% de MeOH/CH₂Cl₂, incrementando lentamente hasta el 6% MeOH/CH₂Cl₂. Las fracciones fueron analizadas mediante HPLC y combinadas para proporcionar 504 mg (rendimiento del 43%) de manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R-24-(N,N'-dietilaminoetil)-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno). MS (LR-FAB) m/z 578(M-Cl)⁺. HRMS, calculado para C₂₄H₄₈ClMnN₆S: 578,2730. Encontrado:578,2764.

10 *C. Síntesis de Compuesto 29 [manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R-24-S-(2-tiopropano)-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo-[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno)]*

Manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R-24-cloro-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno), preparado tal como se describe en el Ejemplo 6 (1,01 g; 1,96 mmol) fue colocado en un matraz y disuelto en DMF (60 mL). En un matraz separado, se disolvió 2-mercaptopropano (165 mg; 2,15 mmol) en DMF (60 mL). El matraz fue enfriado a 0°C en un baño de agua-hielo. Al matraz se le añadió NaH (51 mg; 2,13 mmol). Después de someterse a agitación durante un período de 30 minutos, la solución de 2-tiopropano fue añadida a la solución de manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R-24-cloro-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno), a través de una cánula. El matraz estaba equipado con un condensador de reflujo y se calentó a 80°C en un baño de aceite, por espacio de 2 días. La mezcla de reacción fue enfriada a temperatura ambiente y se tomaron muestras para el análisis de HPLC. El análisis de HPLC confirmó la presencia de únicamente material de partida. El matraz fue enfriado a 0°C en un baño de agua-hielo. A un matraz conteniendo EtOH (10 mL) se le añadió 2-mercaptopropano (328 mg; 4,31 mmol). El matraz fue enfriado a 0°C en un baño de agua-hielo. A la solución se le añadió NaOEt (3 mL, 21% en peso, 8,62 mmol). A la solución de manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R-24-cloro-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno) se le añadió la solución de 2-tiopropano, a través de una cánula. El matraz fue calentado a 80°C, con agitación durante el transcurso de toda una noche. Se tomaron muestras de la mezcla de reacción para ser analizadas por medio de HPLC. El análisis mediante HPLC confirmó la presencia de producto y la ausencia de material de partida. Se añadió agua (50 mL) al matraz de reacción. La DMF, el agua y el EtOH fueron extraídos al vacío. El concentrado fue extraído con solución de NaCl saturada (250 mL) y agua (250 mL), extrayéndose después con CH₂Cl₂. Se combinaron las fracciones orgánicas, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron al vacío. El material crudo fue purificado por medio de cromatografía de gel de sílice (Aldrich tamiz 200-400, 60 Å). El producto fue eluido a través de la columna con 1% MeOH/CH₂Cl₂, incrementándose lentamente hasta 2% MeOH/CH₂Cl₂. Las fracciones fueron analizadas mediante HPLC y combinadas para proporcionar 504 mg (rendimiento del 46,6%) de manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R-24-S-(2-tiopropano)-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno) puro. HRMS. Calcd. Para C₂₄H₄₁N₅SMnCl: 521,2152. Encontrado: 521,2136.

40 *D. Síntesis del Compuesto 30 [manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R-24-S-(2-tiobutano)cloro-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno)]*

Manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R-24-cloro-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno), preparado tal como se indica en el Ejemplo 6 (1,01 g; 1,96 mmol) fue colocado en un matraz y disuelto en DMF (80 mL). En un matraz separado, se disolvió 2-mercaptobutano (191 mg; 2,12 mmol) en DMF (20 mL). El matraz fue enfriado a 0°C en un baño de agua-hielo. Al matraz se le añadió NaH (51 mg; 2,13 mmol). Una vez sometida a agitación durante un periodo de 30 minutos, la solución de 2-tiobutano fue añadida a la solución de manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R-24-cloro-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno), por medio de una cánula. El matraz fue equipado con un condensador de reflujo y calentado a 80°C en un baño de aceite, durante el transcurso de una noche. La mezcla de reacción fue enfriada a temperatura ambiente y se tomaron muestras para análisis mediante HPLC. Los análisis de HPLC confirmaron la presencia de únicamente una pequeña cantidad de producto. El matraz fue enfriado a 0°C en un baño de agua-hielo. A un matraz que contenía EtOH (20 mL) se le añadió 2-mercaptobutano (415 mg; 4,27 mmol). El matraz fue enfriado a 0°C en un baño de agua-hielo. A la solución se le añadió NaOEt (3 mL, 21% en peso, 8,62 mmol). A la solución de manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R-24-cloro-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno) enfriada se le añadió la solución de 2-mercaptobutano, a través de una cánula. El matraz fue calentado a 80°C, manteniéndose la agitación durante el transcurso de una noche. Se tomaron muestras de la mezcla de reacción para ser analizadas mediante HPLC. El análisis mediante HPLC confirmó la presencia de producto y la ausencia de material de partida. Al matraz de reacción se le añadió agua (50 mL). La DMF, el agua y el EtOH fueron extraídos al vacío. El concentrado fue extraído con solución saturada de NaCl (250 mL), agua (250 mL) y CH₂Cl₂ (250 mL). La capa acuosa fue lavada con diversas porciones de CH₂Cl₂. Las fracciones orgánicas fueron combinadas, secadas sobre Na₂SO₄ y concentradas al vacío. El material crudo fue purificado por medio de cromatografía de gel de sílice (Aldrich tamiz 200-400, 60 Å). El producto fue eluido a través de columna con 1% de MeOH/CH₂Cl₂, incrementándose lentamente hasta 2% MeOH/CH₂Cl₂. Las fracciones fueron analizadas por medio de HPLC y se combinaron para proporcionar 680 mg (rendimiento del 61%) de manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R-24-(2-butanotio)-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno) puro. MS (LR-FAB) m/z 535 (M-Cl)⁺. HRMS. Calculado para C₂₅H₄₃ClMnN₅S: 535,2308. Encontrado:535,2312.

E. Síntesis del Compuesto 14 [manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R-24-S-(ciclohexiltio)-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno)]

Manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R-24-cloro-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno), preparado tal como se indica en el Ejemplo 6 (1,00 g; 1,93 mmol) fue colocado en un matraz y disuelto en DMF (80 mL). En un matraz separado se disolvió ciclohexilmercaptano (247 mg; 2,12 mmol) en DMF (20 mL). El matraz fue enfriado a 0°C en un baño de agua-hielo. Al matraz se le añadió NaH (51 mg; 2,13 mmol). Una vez aplicada agitación durante un período de 30 minutos, se añadió la solución de ciclohexiltiolato a la solución de manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R-24-cloro-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno), a través de una cánula. El matraz fue dejado en agitación a temperatura ambiente durante el transcurso de una noche. Se tomaron muestras de la mezcla de reacción para análisis de HPLC. Los análisis de HPLC confirmaron la presencia de únicamente una pequeña cantidad de producto. El matraz fue enfriado a 0°C en un baño de agua-hielo. A un matraz que contenía EtOH (10 mL) se le añadió ciclohexilmercaptano (475 mg; 4,25 mmol). El matraz fue enfriado a 0°C en un baño de agua-hielo. A la solución se le añadió NaOEt (3 mL, 21% en peso; 8,62 mmol). A la solución enfriada de manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R-24-cloro-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno) se le añadió la solución de 2-mercaptobutano, a través de una cánula. Se tomaron muestras de la mezcla de reacción para ser analizadas mediante HPLC. El análisis mediante HPLC confirmó la presencia de producto y la ausencia de material de partida. Al matraz de reacción se le añadió agua (50 mL). La DMF, el agua y el EtOH fueron extraídos al vacío. El concentrado fue diluido con CH₂Cl₂ (250 mL), después lavado con solución de NaCl saturado combinada (250 mL) y agua (250 mL). La capa acuosa fue lavada con varias porciones de CH₂Cl₂. Las fracciones orgánicas fueron combinadas, secadas sobre Na₂SO₄ y concentradas al vacío. El material crudo fue purificado mediante cromatografía de gel de sílice (Aldrich, tamiz 200-400 Å). El producto fue eluido a través de columna con 1% de MeOH/CH₂Cl₂, incrementándose ligeramente hasta 2% MeOH/CH₂Cl₂. Las fracciones fueron analizadas por medio de HPLC y se combinaron para proporcionar 675 mg (rendimiento del 59%) de manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R-24-(ciclohexiltio)-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno). MS (LR-ESI) m/z 561 (M-Cl)⁺; 263 (M-2Cl)⁺⁺; 222 (M-2Cl-ciclohexeno)⁺⁺. HRMS. Calc. Para C₂₇H₄₅ClMnN₅S. 561,2465. Encontrado: 561,2477.

F. Síntesis del Compuesto 31 [Manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R-24-S-(etil-2-tioacetato)-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno)]

Manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R-24-cloro-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno), preparado tal como se indica en el Ejemplo 6 (22,26 g; 42,99 mmol) fue colocado en un matraz de cuatro bocas de fondo redondo, de 5 L de capacidad, equipado con una barra de agitación magnética y en atmósfera de argón. Al matraz se le añadió DMF anhidra (2L) y se disolvió el sólido. El matraz fue colocado en un baño de agua-hielo. Se depositó hidruro sódico (3,40 g; 142 mmol) en el interior de un matraz de 500 mL, equipado con una barra de agitación, en atmósfera inerte. Al hidruro sódico se le añadió DMF anhidra (230 mL) y se creó una suspensión. El matraz fue enfriado en un baño de agua-hielo y a la suspensión se le añadió, de forma gradual, tioglicolato de etilo (16,97 mL; 155 mmol). Una vez hubo cesado la emanación de gas, se eliminó el baño de hielo y 120 mL de la solución de tiolato fueron añadidos a la solución de complejo de manganeso. Se eliminó el baño de enfriamiento. Una vez transcurridas 4,6 horas, se le añadieron a la reacción 100 mL adicionales de la solución de tiolato. La mezcla de reacción fue dejada en agitación durante el transcurso de una noche. Los análisis de HPLC indicaron que la reacción se había completado. Se extrajo la DMF al vacío para obtener un resto que fue disuelto en 850 mL de cloruro de metileno, 250 mL de agua y 250 mL de NaCl saturada. Las capas fueron mezcladas y separadas. La capa acuosa fue extraída tres veces con 250 mL de cloruro de metileno. Las capas de cloruro de metileno fueron combinadas, secadas sobre Na₂SO₄, filtradas y concentradas, hasta obtener una mezcla aceitosa, cruda, con un peso de 40 g. El material crudo fue purificado mediante cromatografía de gel de sílice, utilizando CHCl₃, seguido de 1-2% de EtOH en CHCl₃ para eluir el producto. Las fracciones impuras fueron combinadas y concentradas formando un material sólido, el cual fue triturado con éter en CH₂Cl₂ para proporcionar el producto puro, el cual fue combinado con las fracciones puras procedentes de la columna y concentrado para generar un rendimiento de 15,61 g (60%) de manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R-24-S-(etil-2-tioacetato)-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno), en forma de sólido de color blanco. Se obtuvo una estructura cristalina por rayos X, la cual confirmó la estructura del producto. MS ESI: m/z 565 (M-Cl)⁺; 265 (M-Cl₂)⁺⁺; 251 (M-C₂H₅-Cl₂)⁺⁺; 222 (M-SCH₂C₂H₅-Cl₂)⁺⁺; Anal. Calc. para C₂₅H₄₁N₅O₂SMnCl₂ 0,5(C₂H₅OH): C 50,00; H 7,10; N 11,21; S 5,13; Cl 11,35. Encontrado, C 50,19; H 7,14; N 11,17; S 5,29; Cl 11,14.

G. Síntesis del compuesto 16 [manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R-24-S-(metil-2-tioacetato)-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno)]

A una suspensión de NaH (50,9 mg; 2,12 mmol) en 10 mL de DMF anhidra se le añadió metiltioglicolato (190 µL, 2,12 mmol), enfriándose en un baño de agua-hielo. Se permitió que la mezcla se calentase hasta alcanzar la temperatura ambiente. Manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R-24-cloro-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno), preparado tal como se indica en el Ejemplo 6, (1,00 g; 1,93 mmol) fue añadido, como suspensión en 10 mL de DMF, a la solución de tiolato. La mezcla fue sometida a agitación a temperatura ambiente y después calentada a 80°C en un baño de aceite por espacio de 2 horas. A la reacción se le añadió DMF adicional (100 mL) y se sometió a agitación a temperatura ambiente durante un período de 4 días. A la mezcla de reacción se le añadió salmuera (20 mL) y se recogió un precipitado sólido. El filtrado fue concentrado y extraído con éter para proporcionar 962 mg de producto crudo. El producto crudo fue purificado a través de cromatografía de columna

sobre gel de sílice, eluyendo con 1% MeOH en CHCl₃. El rendimiento fue de 627 mg (55% de 97% puro mediante HPLC). MS ESI: m/z 551 (M-Cl)⁺, 258 (M-Cl₂)⁺⁺. HRMS, calcd. para C₂₄H₃₉N₅O₂SMnCl: 551,1894. Encontrado: 551,1886.

5 *H. Síntesis del Compuesto 25 [manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R-24-S-(3-hidroxiopropanotio)-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno)]*

A una solución enfriada de 3-mercapto-1-propanol (600 µL; 6,95 mmol) en DMF (150 mL) se le añadió hidruro
sódico (153 mg; 6,37 mmol). El baño de hielo fue eliminado y al cabo de transcurridos 10 minutos, se añadió a la sus-
pensión manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R-24-cloro-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-
1(26),22(23),24-trieno), preparado tal como se indica en el Ejemplo 6 (3,00 g; 5,79 mmol). La solución se volvió
de un color amarillo canela. Después de estar sometida a agitación durante el transcurso de una noche, la reacción
adquirió una tonalidad marrón púrpura. Según la HPLC y MS, se encontraban presentes los productos de partida y el
producto. Se la añadieron 200 µL adicionales de 3-mercapto-1-propanol y 51 mg de NaH en 40 mL de DMF, seguido
de 20 mL adicionales de DMF. Transcurridas varias horas, se llevó a cabo otra adición de tiolato, consistente en 125
µL de 3-mercapto-1-propanol y 34 mg de NaH en DMF. Se demostró que la reacción se había completado mediante
HPLC. La mezcla de reacción fue concentrada al vacío y tratada con cloruro de metileno y salmuera. La capa acuosa
fue extraída diversas veces con cloruro de metileno. Las capas de CH₂Cl₂ fueron combinadas, secadas sobre Na₂SO₄,
filtradas y concentradas. El material crudo fue purificado mediante cromatografía de columna, utilizando gel de sílice
y eluyendo con CH₂Cl₂, seguido de 1-3% de MeOH en CH₂Cl₂. Las fracciones puras fueron combinadas para generar
manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R-24-S-(3-hidroxiopropanotio)-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]
hexacosa-1(26),22(23),24-trieno), en forma de polvo de color blanco apagado, peso 2,17 g (65%). La HPLC indica
una pureza del 99%. MS ESI: m/z 537 (M-Cl)⁺; 501 (M-HCl-Cl)⁺; 251 (M-2Cl)⁺⁺; 222 (M-2Cl-C₃H₆OH)⁺⁺. Una
estructura cristalina por rayos X confirmó la estructura del producto.

25 *I. Síntesis del Compuesto 19 [Manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R-24-S-(N-metil-2-tioacetamina)-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno)]*

Según el procedimiento de preparación de manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R-24-S-(3-hidroxiopropanotio)-3,10,
13,20,26-pentaazatetraciclo-[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno), (Ejemplo 7H), se formó una solución
de tiolato utilizando N-Me mercaptoacetamida (196 µL; 2,22 mmol) e hidruro sódico (51 mg; 2,12 mmol). Manganeso
(II)dicloro(4R,9R,14R,19R-24-cloro-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-
trieno), preparado tal como se indica en el Ejemplo 6 (1,00 g; 1,93 mmol) fue añadido a la solución de tiolato. La
reacción fue llevada a cabo y purificada para proporcionar 372 mg de manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R-24-S-(N-
metil-2-tioacetamida)-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno) (33%, 99%
de pureza por medio de HPLC), en forma de un producto sólido de color blanco apagado. MS ESI: m/z 550 (M-Cl)⁺;
258 (M-2Cl)⁺⁺. HRMS. Calcd. Para C₂₄H₄₀N₆OSMnCl: 550,2053. Encontrado: 550,2062.

40 *J. Síntesis del Compuesto 26 [manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno-24-S-(ácido 2-tioacético)]*

Manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R-24-S-(2-tioacetato de etilo)-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]
hexacosa-1(26),22(23),24-trieno), preparado tal como se indica en el Ejemplo 7F (1,16 g; 1,93 mmol) fue disuel-
to en THF (25 mL), NaHCO₃ sat. (50 mL) y agua (50 mL). La mezcla fue sometida a agitación durante el transcurso
de varios días, hasta que la HPLC indicó que se había producido la completa hidrólisis del éster. El THF fue extraído
al vacío, se añadió salmuera (50 mL) y la mezcla acuosa fue extraída con cloruro de metileno. La capa de cloruro
de metileno fue secada sobre Na₂SO₄, se filtró y concentró para proporcionar el producto crudo. El material crudo
fue purificado mediante cromatografía de gel de sílice, eluyendo con 2-3% de MeOH en CHCl₃. Rendimiento, 820
mg de manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R-24-S-(2-tioacetato)-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo-[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]
hexacosa-1(26),22(23),24-trieno), en forma de sólido de color blanco apagado. Anal. Calcd. para C₂₃H₃₆N₅SO₂MnCl
H₂O: C 49,77; H 6,90; N 12,62; S 5,78; Cl 6,39. Encontrado C 49,63; H 6,91; N 12,49; S 5,78; Cl 6,47.

55 *K. Síntesis del Compuesto 32 [manganeso(II)dicloro[(4R,9R,14R,19R-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(25),22(26),23-trien-24-iltio)metil]dietoxifosfin-1-ona]]*

A una suspensión de NaH (0,26 g; 11 mmol) en 5 mL de DMF a 0°C, se le añadió lentamente una solución
de mercaptometilfosfonato de dietilo (2,2 g; 12 mmol) en 15 mL de DMF. La suspensión resultante fue sometida
a agitación durante un período de 1 hora a temperatura ambiente y transferida, mediante una cánula, a una solu-
ción de manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R-24-cloro-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo-[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-
1(26),22(23),24-trieno), preparada tal como se indica en el Ejemplo 6, (2,84 g; 5,50 mmol) en 100 mL de DMF, en
atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante fue sometida a agitación a temperatura ambiente por espacio de 48 horas.
A la mezcla de reacción se le añadió tiolato adicional, preparado tal como se ha indicado anteriormente a partir de
mercaptometilfosfonato de dietilo (0,43 g; 2,3 mmol) y NaH (53 mg; 2,2 mmol), en 4 mL de DMF y la suspensión fue
calentada a 60°C durante un periodo de 18 horas, en cuyo momento, el análisis espectral de masas confirmó que com-
plejo de material de partida 4-cloropiridina se había consumido completamente. Se evaporó el disolvente, y se dividió
el resto entre CH₂Cl₂ (100 mL) y salmuera (50 mL). La capa acuosa fue separada y extraída con CH₂Cl₂ (3 x 50 mL).
Las capas orgánicas fueron combinadas, secadas sobre sulfato de magnesio y evaporadas hasta formar un aceite de
color marrón. La purificación del producto crudo se alcanzó a través de cromatografía en columna flash, sobre 100 g de

gel de sílice preparado en etanol al 100%. El producto eluyó en cloroformo al 100%. Las fracciones fueron analizadas a través de HPLC de fase inversa. Las fracciones puras fueron combinadas y concentradas para proporcionar un aceite de color amarillo. El aceite fue tratado con 5 mL de CH_2Cl_2 y cristalizado mediante la adición lenta de éter dietílico (75 mL). El precipitado fue aislado por medio de filtración, lavado con éter dietílico y secado al vacío por espacio de 18 horas a temperatura ambiente, para proporcionar el producto deseado en forma de sólido de color blanco apagado, 0,55 g (15%), p.f. > 300°C (d), FABMS m/z = 664, 629 $[\text{M}-\text{Cl}]^+$. Anal. Alc. para $\text{C}_{26}\text{H}_{46}\text{N}_5\text{Cl}_2\text{SO}_3\text{Mn}$. 1,0 H_2O : C 45,68; H 7,08; N 10,25; S 4,69; Cl 10,37; Encontrado: C 45,69; H 7,01; N 10,10; S 4,68 Cl 10,41.

L. *Síntesis del Compuesto 33 [manganeso(II)diclورو[2-(4R,9R,14R,19R-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(25),22(26),23-trien-24-il(tio)fenil]metan-1-ol]]*

A una suspensión agitada, enfriada, de hidruro sódico (0,27 g; 6,75 mmol), en atmósfera de nitrógeno, en 15 mL de DMF a 0°C se le añadió lentamente alcohol 2-mercaptobencílico (1,04 g; 7,44 mmol) disuelto en 5 mL de DMF. La solución resultante fue dejada calentar a temperatura ambiente y sometida a agitación por espacio de 30 minutos. Fue transferida después, a través de una cánula, hacia el interior de una solución de manganeso(II)diclورو(4R,9R,14R,19R-24-cloro-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno), preparada tal como se indica en el Ejemplo 6, (1,5 g; 2,89 mmol) en 80 mL de DMF, en atmósfera de nitrógeno, a presión reducida. Durante la adición se formó un precipitado sólido. La reacción fue después sometida a agitación a 58°C durante un período de tres días, en cuyo momento el análisis de espectroscopia de masas reveló que el producto de partida, el complejo 4-cloropiridina, se había consumido completamente. El disolvente fue extraído al vacío y el aceite resultante lavado con 100 mL de salmuera y extraído con diclorometano (3 x 50 mL). Los extractos fueron combinados, secados sobre sulfato de magnesio y filtrados. La purificación del producto crudo fue realizada mediante cromatografía en columna flash sobre 100 mL de gel de sílice, eluyendo en primer lugar con diclorometano al 100% y después con metanol al 2% en diclorometano. Las fracciones fueron analizadas mediante HPLC de fase inversa. Fracciones similares fueron combinadas y concentradas para proporcionar un aceite de color naranja. Este aceite fue tratado con cloruro de metileno/éter dietílico (60/40, v/v), decantado y después se le añadió éter dietílico a la solución hasta que el producto precipitó completamente. El precipitado resultante fue recogido por medio de filtración y secado al vacío a temperatura ambiente durante el transcurso de una noche, proporcionando 330 mg (18%) del producto deseado en forma de un sólido amorfo de color amarillo claro (aprox. 87% de pureza, según HPLC). FABMS m/z = 620,585 $[\text{M}-\text{Cl}]^+$, ESMS m/z = 585 $[\text{M}-\text{Cl}]^+$, 275 $[\text{M}-2\text{Cl}]^{+2}$.

M. *Síntesis de los Compuestos 34 y 35 [manganeso(II)diclورو[dietil](4R,9R,14R,19R-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(25),22(26),23-trieno-24-fosfato] y Manganeso(II)diclورو[(ácido 4R,9R,14R,19R-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(25),22(26),23-trien-24-il)etoxifosfínico]]*

A una solución de NaH (78 mg de una dispersión al 60% en aceite, 2,0 mmol) en DMF (4 ml) a 0°C se le añadió fosfito de dietilo (0,27 ml de una pureza del 98%, 2,1 mmol). La mezcla de reacción fue dejada calentar a temperatura ambiente y, después de transcurridos aproximadamente 45 minutos, la emanación de gas ya no resultaba evidente. El anión resultante fue entonces añadido a una mezcla del complejo del Ejemplo 6 (503 mg; 0,97 mmol) en DMF (30 mL). La mezcla de reacción fue sometida a agitación durante el transcurso de una noche a temperatura ambiente. En este momento, el análisis de espectrometría de masas indicaba la presencia del fosfato éster dietílico, sustituido en la posición 4, m/z = 599 $[\text{M}-\text{Cl}]^+$, al igual que el 4-fosfonato deseado, en forma de producto éster monoetílico, m/z = 555 $[\text{M}-\text{Cl}]^+$ y algo del producto de partida complejo de manganeso no reaccionado m/z = 481 ($[\text{M}-\text{Cl}]^+$ y 223 ($[\text{M}-2\text{Cl}]^{+2}$).

N. *Síntesis del Compuesto 37 [manganeso(II)diclورو[(4R,9R,14R,19R-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(25),22(26),23-trien-24-iltio)benzoato de etilo]]*

A una suspensión enfriada, sometida a agitación, de hidruro sódico (0,32 g; 8,11 mmol) en atmósfera de nitrógeno en 10 mL de DMF a 0°C se le añadió lentamente 3-mercaptobenzoato de etilo (1,62 g; 8,88 mmol), disuelto en 5 mL de DMF. La solución de color amarillo claro resultante fue dejada calentar a temperatura ambiente y se sometió a agitación por espacio de 60 minutos. La misma fue después transferida, a través de una cánula, a una solución sometida a agitación de manganeso(II)diclورو(4R,9R,14R,19R-24-cloro-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno), preparada tal como se indica en el Ejemplo 6, (2,0 g; 3,86 mmol), en 100 mL de DMF, en atmósfera de nitrógeno, a temperatura ambiente. Durante la adición se formó un precipitado sólido. La reacción fue después sometida a agitación a 58°C durante un período de tres días, en cuyo momento la MS confirmó que el complejo de partida se había consumido completamente. El disolvente fue extraído al vacío. El aceite resultante fue lavado con 100 mL de salmuera y extraído con cloroformo (3 x 50 mL). Los extractos fueron combinados, secados sobre sulfato de magnesio y filtrados. La purificación del producto crudo se logró mediante cromatografía en columna flash, sobre 200 mL de gel de sílice preparado en etanol al 100%. El producto fue eluido en cloroformo al 100%. Las fracciones fueron analizadas mediante HPLC de fase inversa. Las fracciones puras fueron combinadas y concentradas para proporcionar un aceite de color naranja. Este aceite fue tratado con 6 mL de THF, se añadieron 0,5 mL de agua y después se le añadió t-butil-metil-éter a la solución, hasta que el producto precipitó completamente. El producto sólido de color amarillo claro resultante fue recogido mediante filtración y secado al vacío a temperatura ambiente durante el transcurso de una noche, proporcionando el producto puro deseado en forma de sólido de color amarillo pálido, 835 mg (32%), p.f. >300°C (d). ESMS m/z = 662,627 $[\text{M}-\text{Cl}]^+$; 296 $[\text{M}-2\text{Cl}]^{+2}$. Anal. Calcl. para $\text{C}_{30}\text{H}_{43}\text{N}_5\text{Cl}_2\text{SO}_2\text{Mn}$. 0,5 H_2O : C 53,57; H 6,59; N 10,41; S 4,77; Cl 10,54; Encontrado: C 53,64; H 6,62; N 10,23; S 4,82; Cl 10,52.

O. *Síntesis del Compuesto 38 [manganeso(II)dicloro[1-(4R,9R,14R,19R-3,10,13,20,26-pentaaza-tetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(25),22(26),23-trien-24-iltio)]-3-metoxibenceno]*

A una suspensión enfriada, sometida a agitación, de hidruro sódico (0,27 g; 6,75 mmol) en atmósfera de nitrógeno, en 10 mL de DMF, a 0°C, se le añadió lentamente 3-metoxitiofenol (1,03 g; 7,34 mmol) disuelto en 5 mL de DMF. La solución incolora, clara, resultante se dejó calentar a temperatura ambiente y se sometió a agitación por espacio de 30 minutos. La misma fue transferida después, a través de una cánula, a una solución agitada de manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R-24-cloro-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno), preparada tal como se indica en el Ejemplo 6, (1,51 g; 2,89 mmol), en 80 mL de DMF, en atmósfera de nitrógeno, a temperatura ambiente. Durante la adición se formó un precipitado sólido. La reacción fue entonces sometida a agitación a 58°C durante un período de tres días, en cuyo momento la MS confirmó que el complejo de partida 4-cloropiridina se había consumido completamente. El disolvente fue extraído al vacío. El aceite resultante fue lavado con 100 mL de salmuera y extraído con cloroformo (3 x 50 mL). Los extractos fueron combinados, secados sobre sulfato de magnesio y filtrados. La purificación del producto crudo se alcanzó mediante cromatografía en columna flash, sobre 100 mL de gel de sílice, eluyendo primero con cloroformo al 100% y después con 2% de metanol en cloroformo. Se analizaron fracciones mediante HPLC en fase inversa. Las fracciones puras fueron combinadas y concentradas para proporcionar un aceite de color naranja. Esta aceite fue disuelto en cloroformo/éter dietílico (72/25, v/v), decantado y a la solución se le añadió después éter dietílico, hasta que el producto hubo precipitado completamente. Los cristales resultantes de color amarillo claro fueron recogidos por filtración y secados al vacío a temperatura ambiente durante el transcurso de una noche, proporcionando el producto deseado en forma de cristales de color amarillo claro, 555 mg (31%), p.f. > 300°C(d). ESMS m/z = 620, 585 [M-Cl]⁺, 275[M-2Cl]⁺². Anal. Calc. para C₂₈H₄₁N₅Cl₂SOMn: C 54,11; H 6,65; N 11,27; S 5,16; Cl 11,41. Encontrado: C 54,11; H 6,70; N 11,15; S 5,06; Cl 11,47.

P. *Síntesis del Compuesto 39 [manganeso(II)dicloro[1-(4R,9R,14R,19R-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(25),22(26),23-trien-24-iltio)]-3-metoxibenceno]*

A una suspensión agitada, sometida a agitación, de hidruro sódico (0,27 g; 6,75 mmol) en atmósfera de nitrógeno, en 10 mL de DMF, a 0°C, se le añadió lentamente 3-metoxitiofenol (1,04 g; 7,44 mmol) disuelto en 5 mL de DMF. La solución incolora, clara, resultante se dejó calentar a temperatura ambiente y se sometió a agitación por espacio de 30 minutos. La misma fue transferida después, a través de una cánula, a una solución agitada de manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R-24-cloro-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno), preparada tal como se indica en el Ejemplo 6, (1,5 g; 2,89 mmol), en 80 mL de DMF, en atmósfera de nitrógeno, a temperatura ambiente. Durante la adición se formó un precipitado sólido. La reacción fue entonces sometida a agitación a 58°C durante un período de tres días, en cuyo momento la MS confirmó que el complejo de partida se había consumido completamente. El disolvente fue extraído al vacío. El aceite resultante fue lavado con 100 mL de salmuera y extraído con cloroformo (3 x 50 mL). Los extractos fueron combinados, secados sobre sulfato de magnesio y filtrados. La purificación del producto crudo se alcanzó mediante cromatografía en columna flash, sobre 100 mL de gel de sílice, eluyendo en primer lugar con cloroformo al 100% y después con 2% de metanol en cloroformo. Se analizaron fracciones mediante HPLC en fase inversa. Las fracciones puras fueron combinadas y concentradas para proporcionar un aceite de color naranja. Esta aceite fue disuelto en cloroformo/éter dietílico (60/40, v/v), decantado y a la solución se le añadió después éter dietílico, hasta que el producto hubo precipitado completamente. El producto sólido resultante, de color amarillo claro, fue recogido por medio de filtración y secado al vacío a temperatura ambiente durante el transcurso de una noche, proporcionando el producto deseado en forma de sólido amorfo de color amarillo claro, 240 mg (13%), p.f. > 300°C(d). ESMS m/z = 620, 585 [M-Cl]⁺, 275[M-2Cl]⁺². Anal. Calc. para C₂₈H₄₁N₅Cl₂SOMn.2H₂O: C 51,14; H 6,90; N 10,65; S 4,88; Cl 10,78. Encontrado: C 51,41; H 6,82; N 10,46; S 4,88; Cl 10,62.

Q. *Síntesis de los Compuestos 36 y 35 [manganeso(II)dicloro[(4R,9R,14R,19R-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(25),22(26),23-trien-24-il)dióxifosfin-1-ona]] y manganeso(II)dicloro[ácido(4R,9R,14R,19R-3,10,13,20,26-pentaaza-tetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(25),22(26),23-trien-24-il)etoxifosfínico]]*

A una solución de bis(acetonitrilo)-dicloropaladio (II) (17 mg; 0,05 mmol) y cloruro de tetrafenilfosfonio (111 mg; 0,3 mmol) en DMF (5 mL), a temperatura ambiente, se le añadió trietilamina (170 µL de una pureza del 99%; 1,2 mmol), seguido de fosfito de dietilo (160 µL de una pureza del 98%; 1,2 mmol). A esta mezcla se le añadió una solución de manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R-24-cloro-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno), preparada tal como se indica en el Ejemplo 6, (500 mg; 1,0 mmol) en DMF (30 mL). La mezcla de reacción fue calentada a 90°C y sometida a agitación durante el transcurso de toda una noche. En este momento, el análisis espectral indicaba la presencia del producto 4-dietilfosfonato deseado, m/z = 583 [M-Cl]⁺, al igual que el producto parcialmente hidrolizado, m/z = 555 [M-Cl]⁺, junto con algo de complejo de partida no reaccionado, MS (LRFAB) m/z = 481[M-Cl]⁺.

R. *Síntesis del Compuesto 40 [manganeso(II)dicloro[4-(4R,9R,14R,19R-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(25),22(26),3-trien-24-iltio)benzoato de etilo]]*

A una suspensión enfriada, sometida a agitación, de hidruro sódico (0,65 g; 16,22 mmol), en atmósfera de nitrógeno, en 15 mL de DMF, a 0°C, se le añadió lentamente 4-mercaptobenzoato de etilo (3,2 g; 17,76 mmol) disueltos en 5 mL de DMF. La solución resultante fue dejada calentar a temperatura ambiente y sometida a agitación durante un período de 60 minutos. Posteriormente fue transferida, a través de una cánula, a una solución agitada de manganeso(II)dicloro(4R,9R,14R,19R-24-cloro-3,10,13,20,26-pentaazatetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22

(23),24-trieno), preparada tal como se indica en el Ejemplo 6, (4,0 g; 7,72 mmol) en 80 mL de DMF, en atmósfera de nitrógeno, a temperatura ambiente. Durante la adición se formó un precipitado sólido. La reacción fue después sometida a agitación a 58°C durante un período de tres días, en cuyo momento el análisis de espectroscopia de masas confirmó que el complejo de partida 4-cloropiridina se había consumido por completo. El disolvente fue extraído al vacío y el aceite resultante lavado con 100 mL de salmuera y extraído con cloroformo (3 x 50 mL). Los extractos fueron combinados, secados sobre sulfato de magnesio y filtrados. La purificación del producto crudo fue lograda por medio de cromatografía en columna flash, sobre 40 mL de gel de sílice preparado en etanol al 100% y eluyendo con cloroformo al 100%. Se analizaron fracciones a través de HPLC de fase inversa. Fracciones similares fueron combinadas y concentradas para dar 1,8 g (35%) del producto deseado, en forma de aceite de color naranja (con una pureza en torno al 87%, mediante HPLC). FABMS m/z = 662,627 $[M-Cl]^+$.

Ejemplo 8

15 Síntesis del compuesto 7

A. 2,6-bis[(dimetoxi)metil]-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato de dietilo

A una solución de acetato amónico al 10% agua (31,0 mL; 3,10 g; 39,2 mmol) se le añadió, de forma rápida, formaldehído (394 mg; 13,1 mmol) y 4,4-dimetoxi-3-oxo-butirato de etilo (5,00 g; 26,3 mmol). Esta mezcla fue diluida con etanol (30 mL) y sometida a reflujo durante un período de 16 horas. El etanol fue evaporado y la mezcla acuosa extraída con CH_2Cl_2 (3 x 100 mL). Los extractos combinados fueron secados ($MgSO_4$), filtrados y concentrados para proporcionar 3,8 g (rendimiento 78%) del producto en forma de aceite de color amarillo: 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,41 (bs, 1H); 5,99 (s, 2H); 4,25 (q, J = 7,20 Hz, 4H); 3,48 (s, 12H); 3,42 (d, J = 11,7 Hz, 2H); 1,36 (t, J = 7,2 Hz, 6H). ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 166,64 (s); 144,39(s); 100,39 (s); 98,43 (d); 60,02 (t); 54,98 (q); 24,99 (t); 14,29(q). MS (LR-ESI) m/z 374 $[M+H]^+$.

B. 2,6-bis[(dimetoxi)metil]-3,5-piridinodicarboxilato de dimetilo

A una solución de 2,6-bis-[(dimetoxi)metil]-1,4-dihidroxipiridino-3,5-dicarboxilato de dietilo (3,40 g; 9,10 mmol) en tolueno (200 mL) se le añadió dióxido de manganeso activado (3,96 g; 45,5 mmol) y la mezcla resultante fue calentada a reflujo por espacio de dos horas. En este momento, se añadieron otros 3,96 g (45,5 mmol) de dióxido de manganeso activado y se continuó con el reflujo durante un período adicional de 2 horas. Se dejó enfriar la reacción a temperatura ambiente, se filtró a través de celita y se concentró para proporcionar 3,10 g (92% de rendimiento) de 2,6-bis[(dimetoxi)metil]-3,5-piridinodicarboxilato de dietilo, en forma de aceite incoloro: 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,29 s, 1H); 5,93 (s, 2H); 4,40 (q, J = 7,2 Hz, 4H); 3,48 (s, 12H); 1,41 (t, J = 7,2 Hz, 6H). ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 165,68(s); 156,25(s); 138,52(d); 126,59(d); 101,26(d); 61,50(t); 54,08(q); 13,75(q). MS (LR-CI) m/z 372 $[M+H]^+$.

C. 3,5-Bis(etoxicarbonil)-2,6-piridinodicarboxialdehído

A una solución de 2,6-bis[(dimetoxi)metil]-3,5-piridinodicarboxilato de dietilo (4,40 g; 11,9 mmol) en THF (80 mL) se le añadió HCl 2N (80 mL) y la mezcla resultante fue calentada a reflujo a 50°C durante 30 minutos. En este momento, la mezcla de reacción fue tratada de nuevo con THF (80 mL) y HCl 2N (80 mL). Una vez transcurridas un total de 1,5 horas, la TLC indicaba que la reacción se había completado (10/1 $CHCl_3/MeOH$). La mezcla fue enfriada y diluida con agua (1L). El pH era de 0,94 y fue por tanto ajustado a 4,5 con $NaHCO_3$. La mezcla fue extraída con EtOAc (2 x 300 mL) y los extractos combinados secados ($MgSO_4$), filtrados y concentrados para proporcionar 1,78 g de 3,5-bis(etoxicarbonil)-2,6-piridinodicarboxialdehído, en forma de aceite de color amarillo: 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 10,42 (s, 2H); 8,49 (s, 1H); 4,57 (q, J = 7,2 Hz, 4H); 1,51 (t, J = 7,2 Hz, 6H). ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 189,83(s); 164,67(s); 152,17; 138,75; 130,64; 63,11(t); 13,90(q); MS(LR-CI) m/z 280 $[M+H]^+$.

50 D. Manganeso(II)dicloro(3,10,13,20,26-pentaaza-25-(etoxicarbonil)tetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),2,20,22(23),24-pentaeno-23-carboxilato de etilo)

En un matraz de 500 mL se suspendió tetrahidrocloreuro de N,N'-Bis{(1R,2R)-[2-(amino)]ciclohexil}-1,2-diaminonotano (860 mg; 2,15 mmol) en etanol(30 mL) y se trató con KOH sólido (502 mg de 89%, 8,00 mmol) y la mezcla resultante fue sometida a agitación a 52°C (temperatura del baño) durante 20 minutos. En este momento, se añadió $MnCl_2$ (264 mg; 2,10 mmol), de una sola vez. Una vez transcurridos 5 minutos, se añadió 3,5-bis(etoxicarbonil)-2,6-piridinodicarboxialdehído (930 mg de material que fue estimado ser puro en un 65%, aproximadamente 2,10 mmol) y la mezcla resultante fue sometida a reflujo por espacio de 16 horas. Una vez transcurrido este período, el producto de plantilla manganeso(II)dicloro(3,10,13,20,26-pentaaza-25-(etoxicarbonil)tetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),2,20,22(23),24-pentaeno-23-carboxilato de etilo) de color rojo-naranja fue observado en la mezcla de reacción etanolica, como el único producto significativo: MS (LR-FAB) m/z 443 $[M-Cl]^+$. HPLC (Vydac proteína 218TP54 y péptido C18; 80% H_2O con 0,1%TFA/20%Acetonitrilo; flujo=1ml/min; 5 mL iny. vol.) TR=3,19 min. Esta mezcla fue utilizada directamente en el siguiente paso.

E. Manganeso(II)dicloro(3,10,13,20,26-pentaaza-25-(etoxicarbonil)tetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trien-23-carboxilato de etilo]

La mezcla de reacción etanólica procedente del paso D anterior fue tratada (con precaución), en atmósfera de argón, con Pd (negro) (500 mg), 10% de Pd(C) (350 mg) y formiato amónico (1,6 g). La mezcla resultante fue calentada a reflujo, en atmósfera de argón, durante un período de 2 horas. La HPLC (Vydac proteína 218TP54 y péptido C18; 70% H₂O con 0,1%TFA/30% Acetonitrilo; flujo= 2 ml/min; 5 ml iny. vol.), efectuada en este momento mostraba únicamente producto. La mezcla de reacción fue enfriada y filtrada a través de un filtro de celita de 1 pulgada, cuidadosamente bajo una protección de argón. El filtrado fue concentrado y purificado mediante cromatografía en columna flash (SiO₂, 210:1 CHCl₃/metanol seguido de 100:1 CHCl₃/metanol), para proporcionar 450 mg de manganeso(II)dicloro(3,10,13,20,26-pentaaza-25-(etoxicarbonil)tetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trien-23-carboxilato de etilo), en forma de espuma de color amarillo: MS (HR-ESI) m/z 591,2386 [M-Cl]⁺ (591,2384 calc. para C₂₇H₄₃N₅O₄Cl). La HPLC (Vydac proteína 218TP54 y péptido C18; 70% H₂O con 0,1% TFA/30% acetonitrilo; flujo= 2 ml/min; 5 ml iny. vol.) TR= 5,05 min (pureza del 97,3%).

Ejemplo 9

Síntesis del compuesto 42

A. 4-ciclohexil-2,6-bis(dimetoximetil)-1,4-dihidropiridin-3,5-dicarboxilato de dietilo

Ciclohexanocarboxaldehído (11,22 g; 100 ml) y 4,4-dimetoxi-3-oxo-butirato de etilo (38,04 g; 200 mmol) fueron rápidamente añadidos a acetato amónico acuoso (310 mL- solución 10%, 30,83 g, 400 mmol). Se añadió etanol (60 mL) y la reacción fue calentada a 80°C en un baño de aceite por espacio de 16 horas. La mezcla fue extraída con cloruro de metileno (3 x 500 mL). La fase orgánica fue secada sobre MgSO₄, filtrada y evaporada para proporcionar 41,1 g de 4-ciclohexil-2,6-bis(dimetoximetil)-1,4-dihidropiridin-3,5-dicarboxilato de dietilo, en forma de aceite. ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,71 (s, 1H); 5,93 (s, 2H); 4,20-3,27 (m, 17H) 1,60-0,80 (m, 16H); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 167,58; 143,62; 103,43; 98,75; 60,00; 54,70; 51,21; 44,57; 3,20; 28,88; 26,62; 14,32.

B. 4-ciclohexil-2,6-bis(dimetoximetil)piridino-3,5-dicarboxilato de dietilo

A una solución de 4-ciclohexil-2,6-bis(dimetoximetil)-1,4-dihidropiridino-3,5-dicarboxilato de dietilo (30,7 g; 67,54 mmol) en acetona (450 mL) se le añadió una solución de nitrato amónico cérico (75,05 g; 135,08 mmol) en agua (125 mL), de forma bastante rápida, a temperatura ambiente. Después de ser sometida a agitación durante un período de 10 minutos, la solución resultante fue concentrada para extraer la acetona. Se añadió agua (300 mL) y la mezcla fue extraída con CH₂Cl₂ (3x500 mL). La fase orgánica fue lavada con salmuera (600 mL), secada (MgSO₄) y evaporada, para proporcionar 29,23 g de 4-ciclohexil-2,6-bis(dimetoximetil)piridino-3,5-dicarboxilato de dietilo, en forma de aceite. El aceite fue sometido a cromatografía sobre gel de sílice, utilizando mezclas de hexano/acetato de etilo, para proporcionar material en forma de manchas únicas: ¹H NMR (CDCl₃) δ 5,37 (s, 2H) 4,32 (q, J=7,2 Hz, 4H) 3,33 (s, 12H); 2,4-2,6 (m, 1H) 1,0-1,8 (m, 16H); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 167,79; 153,25; 151,44; 128,68; 104,01; 61,51; 54,41; 52,18; 44,41; 31,10; 27,19; 25,85; 14,04; MS (HR-ESI) m/z 460,2534 [M+Li]⁺ (460,2523 calc. para C₂₃H₃₅NO₈Li). Anal. Calcd. Para C₂₃H₃₅NO₈: C 60,91; H 7,78; N 3,09; Encontrado: C 60,34; H 7,60; N 3,04.

C. 8-aza-6,10-dihidroxi-5,11-dioxatriciclo[7.3.0.0^{3,7}]dodeca-1(9),2,7(8)-trien-4,12-diona

Una solución de 4-ciclohexil-2,6-bis(dimetoximetil)piridino-3,5-dicarboxilato de dietilo (4,8 g; 10,58 mmol) en 1:4 HCl concentrado:ácido acético (1,5L) fue sometida a agitación durante un período de 16 horas, a temperatura ambiente. La reacción fue evaporada y coevaporada con agua (500 mL) para proporcionar 3,21 g de 8-aza-6,10-dihidroxi-5,11-dioxatriciclo[7.3.0.0^{3,7}]dodeca-1(9),2,7(8)-trien-4,12-diona, en forma de producto sólido de color canela. ¹H NMR (DMSO) δ 8,8 (bs, 2H); 6,75 (m, 2H); 4,16-4,24 (m, 1H); 1,2-2,37 (m, 10H). ¹³C NMR (DMSO) δ 172,70; 166,14; 160,27; 120,48; 96,75; 36,84; 28,87; 28,80; 28,74; 26,45; 25,41. MS m/z (intensidad relativa) 306 [(M+H)⁺, 100]. MS (HR-ESI, ión negativo) m/z 304,0830 [M-H]⁻ (304,0821 calc. para C₁₅H₁₄NO₆).

D. Manganeso(II)dicloro(3,10,13,20,26-pentaaza-24-ciclohexiltetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26)2,20,22(23),24-pentaeno-23,25-diamonio carboxilato)

A una suspensión de tetrahidrocloreuro de N,N'-Bis{(1R,2R)-[2-amino]ciclohexil}-1,2-diaminoetano (4,01 g; 10,01 mmol) en etanol (100 mL) se le añadió hidróxido potásico (2,83 g; 50,54 mmol). La reacción fue sometida a agitación durante un período de 30 minutos a temperatura ambiente y se le añadió MnCl₂ (1,26 g; 10,01 mmol). La reacción fue sometida a agitación durante período de 30 minutos adicionales a temperatura ambiente. Se le añadió una solución de 8-aza-6,10-dihidroxi-5,11-dioxatriciclo[7.3.0.0^{3,7}]dodeca-1(9),2,7(8)-trien-4,12-diona (3,21 g; 10,51 mmol) en etanol (90 mL) y la reacción fue sometida a reflujo durante un período de 16 horas. En este momento, los análisis mediante HPLC mostraban únicamente el producto plantilla Manganeso(II)dicloro(3,10,13,20,26-pentaaza-24-ciclohexiltetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26)2,20,22(23),24-pentaeno-23,25-diamonio carboxilato): HPLC (proteína 218TP54 Vydac y péptido C18; 80% H₂O con 0,1%TFA/20% acetonitrilo; flujo=2 ml/min; 10 ml iny. vol.) TR= 3,85 min. La reacción fue enfriada a temperatura ambiente, pasando directamente al siguiente paso.

E. Manganese(II)dicloro(3,10,13,20,26-pentaaza-24-ciclohexiltetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22,(23),24-trieno-23,25-diamonio carboxilato)

La solución etanólica de color rojo naranja procedente el paso D fue diluida con agua (200 mL). Se le añadió paladio negro (5 g) y formiato amónico (10 g) y la reacción fue sometida a reflujo durante un período de 3 horas. La reacción fue enfriada a temperatura ambiente, filtrada a través de celita y el pastel lavado con agua (500 mL) y etanol (500 mL). El filtrado fue evaporado para proporcionar 10 g de Manganese(II)dicloro(3,10,13,20,26-pentaaza-24-ciclohexiltetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno-23,25-diamonio carboxilato). HPLCMS, m/z 695,4 [M-2Cl+TFA+.

F. Manganese(II)dicloro(3,10,13,20,26-pentaaza-24-ciclohexil-25-etoxicarbonil)tetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno-23-carboxilato de etilo)

A una suspensión de manganese(II)dicloro(3,10,13,20,26-pentaaza-24-ciclohexiltetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno-23,25-diamonio carboxilato) (0,65 g; 0,93 mmol) en DMF (15 mL) se le añadió yoduro de etilo (1,49 g; 9,3 mmol) y la reacción fue sometida a agitación durante 16 horas a temperatura ambiente. La reacción fue concentrada y el resto dividido entre salmuera (50 mL) y acetato de etilo (50 mL). La capa orgánica se secó (MgSO₄), filtró y evaporó para proporcionar 0,7 g del material crudo, el cual fue sometido a cromatografía sobre gel de sílice utilizando 100:1 CHCl₃/etanol para purificar el manganese(II)dicloro(3,10,13,20,26-pentaaza-24-ciclohexil-25-etoxicarbonil)tetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno-23-carboxilato de etilo]: MS (HR-ESI) m/z 673,3176 [M-Cl]⁺ (673,3167 calculado para C₃₃H₅₃N₅O₄MnCl). Una muestra fue recristalizada como hidrato a partir de THF acuoso/t-butil-metil-éter. Anal. Calculado para C₃₃H₅₃N₅O₄MnCl₂ [H₂O] 1,5: C 53,80; H 7,66; N 9,51; Cl 9,62. Encontrado: C 53,90; H 7,68; N 9,30; Cl 9,40.

Ejemplo 10

Síntesis del compuesto 15

Manganese(II)dicloro(3,10,13,20,26-pentaaza-24-ciclohexil-25-metoxicarbonil)tetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno-23-carboxilato de metilo)

A una suspensión de Manganese(II)dicloro(3,10,13,20,26-pentaaza-24-ciclohexiltetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno-23,25-diamonio carboxilato), descrita en el Ejemplo 9, (6,62 g; 9,49 mmol) en DMF (132 mL) se le añadió yoduro de metilo (13,47 g; 94,9 mmol) y la reacción fue sometida a agitación a temperatura ambiente durante un período de 16 horas. La reacción fue concentrada y el resto dividido entre salmuera (150 mL) y acetato de etilo (150 mL). La capa orgánica fue secada (MgSO₄), filtrada y evaporada para proporcionar 1,1 g de material crudo, el cual fue cromatografiado sobre gel de sílice utilizando 100:1 CHCl₃:metanol para dar manganese(II)dicloro(3,10,13,20,26-pentaaza-24-ciclohexil-25-tetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno-23-carboxilato de metilo)] puro. MS (HR-ESI) m/z 645,2896 [M-Cl]⁺ (645,2896 calculado para C₃₁H₄₉N₅O₄MnCl).

Ejemplo 11

Síntesis del compuesto 17

Manganese(II)dicloro-(4R,9R,14R,19R)-(3,10,13,20,26-pentaaza-24-ciclohexiltetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(25),22(26),23-trieno]

A un matraz de fondo redondo (200 mL) se le añadió manganese(II)dicloro-(4R,9R,14R,19R)-(3,10,13,20,26-pentaaza-24-bromotetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno) (2,09 g; 3,56 mmol) (Compuesto 23) y carbonato de cesio (1,62 g; 0,267 mmol), acetato de paladio (0,060 g; 0,267 mmol) y S-2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftilo (0,155 g; 0,249 mmol), seguido de dioxano (30 mL). Se añadió piridina (0,36 g; 4,26 mmol), se inertizó el sistema (nitrógeno) y se calentó la mezcla de reacción a 105°C. Una vez sometida a agitación durante el transcurso de una noche, se añadió acetato de paladio adicional (0,028 g; 0,124 mmol) y S-2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftilo (0,080 g; 0,124 mmol). Al término de la reacción, determinada por medio de la ausencia de complejo bromo de partida, la mezcla de reacción fue enfriada a temperatura ambiente, filtrada y se extrajo el disolvente a presión reducida. El resto fue dividido entre agua (60 mL) y diclorometano (150 mL). Las capas fueron separadas y la capa acuosa lavada con diclorometano (50 mL). Las capas de diclorometano combinadas fueron sometidas a agitación con solución de cloruro sódico saturada (50 mL), se separó la capa orgánica y fue sometida de nuevo a agitación con otro volumen de solución de cloruro sódico. Después de secado (sulfato magnésico) y filtración, se extrajo el disolvente a presión reducida. La cromatografía fue realizada sobre gel de sílice, eluyendo con entre 2% y 4% de metanol en diclorometano. Las fracciones 77 a 100 fueron combinadas y tratadas con dicloruro de manganeso en tres partes (0,053 g; 0,152 g y 0,53 g) en dioxano, durante tres días a 45°C, debido a la existencia de evidencias de que se encontraba presente el ligando libre. Después de la última adición, la mezcla de reacción fue sometida a reflujo durante el transcurso de una noche. Tras enfriar a temperatura ambiente y filtrar, se extrajo el disolvente en condiciones de presión reducida. El resto fue disuelto en diclorometano (50 mL) y sometido a agitación con cloruro sódico acuoso saturado. Las capas

ES 2 293 106 T3

fueron separadas y se extrajo el disolvente en condiciones de presión reducida, purificándose el resto por medio de cromatografía sobre gel de sílice, eluyendo con 99/1 diclorometano/etanol, 0,073 g, (0,129 mmol, rendimiento 3,6%). HRMS ((electrospray) ($M^+ - Cl$), calculado para $C_{26}H_{44}O_{35}ClN_6Mn$, 530,2697; encontrado 530,2709; calcul. Para $C_{26}H_{44}O_{37}ClN_6Mn$, 532,2667; encontrado, 532,2679.

Ejemplo 12

Síntesis del compuesto 41

[Manganeso(II) dicloro-(4R,9R,14R,19R)-(3,10,13,20,26-pentaaza-23-benciloxi-25-clorotetraciclo[20.3.1.0^{4,9}.0^{14,19}]hexacosa-1(26),22(23),24-trieno]

En un matraz de fondo redondo de cuatro bocas, de dos litros de capacidad, se suspendió N,N'-bis{(1R,2R)-[2-(amino)ciclohexil]-1,2-diaminoetanotetrahidrocloruro (10,88 g; 27,22 mmol) en etanol absoluto (500 mL) y se sometió a agitación a temperatura ambiente mientras se añadía hidróxido potásico en polvo (6,94 g; 123,65 mmol). Transcurrida una hora, se añadió dicloruro de manganeso (3,42 g; 27,2 mmol) y se sometió la mezcla de reacción a agitación por espacio de 0,5 horas, a temperatura ambiente. Se añadió 3-benciloxi-5-cloropiridino-dicarboxaldehído (7,5 g; 27,2 mmol) junto con etanol (200 mL) y la mezcla de reacción fue sometida a reflujo durante el transcurso de una noche. Tras enfriar a temperatura ambiente, se añadió metanol (175 mL). La mezcla de reacción fue enfriada hasta aproximadamente -5°C y se añadió borohidruro sódico (3,30 g; 87,2 mmol) en pequeñas porciones, para controlar la formación de espuma. La mezcla de reacción fue dejada calentar lentamente hasta temperatura ambiente durante el transcurso de una noche. Después de la eliminación del disolvente en condiciones de presión reducida, se dividió el producto crudo entre agua (100 mL) y diclorometano (300 mL). La capa orgánica fue lavada con cloruro sódico saturado (2 x 80 mL). La capa acuosa fue lavada con diclorometano (2 x 100 mL). Las capas orgánicas combinadas fueron secadas sobre sulfato magnésico y filtradas. El disolvente fue extraído en condiciones de presión reducida. La cromatografía sobre sílice, eluyendo con diclorometano puro, variando gradualmente (en incrementos del 0,1%) hasta el 96% diclorometano/4% metanol, proporcionó el producto puro, 6,95 g; 11,13 mmol, rendimiento 41,0%. HRMS (electrospray) ($M^+ - Cl$) calc. para $C_{28}H_{40}MnN_5O^{35}Cl_2$, 587,1990; encontrado 587,2000; calcul. Para $C_{28}H_{40}MnN_5O^{37}Cl_2$, 589,1961; encontrado 589,1983.

Ejemplo 13

Ejemplo de formulación para aplicación tópica

Emulsión aceite en agua, porcentajes en peso.

Imitador SOD	0,25
Polietilenglicol polioxietilenado	
con 50 moles de óxido de etileno	1,50
Monoestearato de diglicerilo	1,50
Parafina líquida	24,00
Alcohol cetilo	2,50
Trietanolamina	Hasta pH 7,0
Agua	Equilibrio 100%

ES 2 293 106 T3

Emulsión agua en aceite, porcentajes en peso

	Imitador SOD	0,25
5	Sesquiesoestearato de poliglicerilo	4,0
	Cera de abaja blanca	0,5
	Estearato de magnesio	1,5
10	Estearato de aluminio	1,0
	Aceite de ricino hidrogenado,	
15	polioxietilenado (con 7 moles de	
	Óxido de etileno)	3,0
	Palmitato de isopropilo	10,0
20	Perhidroescualeno	15,0
	Agua	Equilibrio 100%

Ejemplo 14

Uso de los imitadores SOD de la invención como analgésicos en el modelo de carragenina en pata de rata

Ratas Sprague-Dawley macho (175-200 g, Harlan Sprague Dawley, Indianápolis, IN, USA) fueron alojadas y cuidadas según las indicaciones del Institutional Animal Care and Use Committee y según las guías del NHI relativas al bienestar de los animales de laboratorio. Las ratas recibieron una inyección subplanar de carragenina (0,1 ml de suspensión al 1% en solución salina 0,85%) en la pata trasera. El volumen de la pata fue medido utilizando un ple-tismómetro (Ugo-Basile, Varese, Italia), inmediatamente antes de la inyección de la carragenina y con posterioridad a intervalos horarios de hasta 6 horas. Se expresó el edema como el incremento en el volumen de la pata (ml) posterior a la inyección de carragenina, en relación con el valor anterior a la inyección para cada uno de los animales. Los fármacos fueron administrados por vía intravenosa (iv), en un volumen de 2,5 ml/kg, 30 min. antes o al menos 3 horas después de la inyección de carragenina. Una respuesta hiperalgésica al calor fue determinada en los mismos animales a través del procedimiento de Hargreaves (Hargreaves *et al.*, 1988). Las ratas fueron confinadas y aclimatadas individualmente en cámaras de plexiglás por espacio de 30 minutos. Una unidad móvil, consistente en un bulbo proyector de elevada intensidad fue ubicado para suministrar un estímulo térmico directo en una pata trasera individual, desde debajo de la cámara. El período de latencia de retirada de las patas traseras inyectadas y de las patas contralaterales fue determinado como el más próximo a 0,1 seg, con un circuito de reloj electrónico y un termopar. Si el animal no respondía a los 20 seg., la prueba se daba por finalizada. Cada uno de los puntos representa la modificación en la latencia de retirada, en comparación con las mediciones control efectuadas con anterioridad a la inyección de carragenina.

La inyección intraplanar de carragenina en ratas se traducían en un incremento en el volumen de pata en función del tiempo y en hiperalgesia, que resultaba máximo una vez transcurridas 3-6 horas. Tal como se muestra en las Figuras 4-8, diversos imitadores SOD de la presente invención administrados por vía iv 15 minutos antes de la inyección de carragenina, inhibían el edema. Cuando los imitadores SOD de la presente invención fueron suministrados terapéuticamente en el momento de máxima hiperalgesia (es decir, tres horas después de la administración de carragenina), los mismos inhibieron la respuesta hiperalgésica de forma máxima, con un inicio de acción muy rápido (inicio de acción 5 min.), tal como se muestra en las siguientes tablas (SE= efectos adversos cardiovasculares observados, ND= no determinado):

COMPUESTO A						
% de inhibición de dolor						
Mg/kg	5 min.	15 min.	30 min.	60 min.	120 min.	180 min.
1	9	11	7	21	6	0
3	8	63	51	88	85	51
6	117	148	139	138	145	152
10	SE					

ES 2 293 106 T3

COMPUESTO 1						
% de inhibición de dolor						
Mg/kg	5 min.	15 min.	30 min.	60 min.	120 min.	180 min.
1	SE		30	14	25	13
3						
6	SE		49	127	108	63
10	SE					

COMPUESTO 3						
% de inhibición de dolor						
Mg/kg	5 min.	15 min.	30 min.	60 min.	120 min.	180 min.
1		5	20	0	2	19
3		74	49	21	53	0
6						
10		130	114	99	109	89

COMPUESTO 6						
% de inhibición de dolor						
Mg/kg	5 min.	15 min.	30 min.	60 min.	120 min.	180 min.
1		35	10	7	23	0
3						
6						
10	ND	68	70	81	94	94

COMPUESTO 16						
% de inhibición de dolor						
Mg/kg	5 min.	15 min.	30 min.	60 min.	120 min.	180 min.
1		103	44	54	27	0
3						
10	ND	110	31	25	47	0
20		84	28	1	17	8

ES 2 293 106 T3

5

10

15

COMPUESTO 7						
% de inhibición de dolor						
Mg/kg	5 min.	15 min.	30 min.	60 min.	120 min.	180 min.
1						
3		48	68	16	0	0
6						
10		84	89	108	74	80

20

25

30

COMPUESTO 11						
% de inhibición de dolor						
Mg/kg	5 min.	15 min.	30 min.	60 min.	120 min.	180 min.
1						
3						
6						
10		42	39	0	33	0

35

40

45

50

COMPUESTO 31						
% de inhibición de dolor						
Mg/kg	5 min.	15 min.	30 min.	60 min.	120 min.	180 min.
1		67	31	0	0	0
3		85	63	8	0	0
6						
10		74	58	52	63	40

55

60

65

COMPUESTO 28						
% de inhibición de dolor						
Mg/kg	5 min.	15 min.	30 min.	60 min.	120 min.	180 min.
1		44	35	24	59	21
3						
6						
10		53	64	84	99	73

ES 2 293 106 T3

COMPUESTO 30						
% de inhibición de dolor						
Mg/kg	5 min.	15 min.	30 min.	60 min.	120 min.	180 min.
1		56	67	0	10	0
3						
6						
10		78	104	89	143	102

COMPUESTO 25						
% de inhibición de dolor						
Mg/kg	5 min.	15 min.	30 min.	60 min.	120 min.	180 min.
1		68	31	19	8	0
3						
6						
10		77	7	23	42	8

COMPUESTO 13						
% de inhibición de dolor						
Mg/kg	5 min.	15 min.	30 min.	60 min.	120 min.	180 min.
1		109	76	34	120	101
3						
6						
10		86	93	93	80	110

COMPUESTO 14						
% de inhibición de dolor						
Mg/kg	5 min.	15 min.	30 min.	60 min.	120 min.	180 min.
1						
3						
6						
10		93	103	93	110	141

ES 2 293 106 T3

COMPUESTO 21						
% de inhibición de dolor						
Mg/kg	5 min.	15 min.	30 min.	60 min.	120 min.	180 min.
1						
3						
6						
10		117	47	46	57	11

Ejemplo 15

Uso de los imitadores SOD de la invención para la prevención de la tolerancia a opiáceos en ratones

Se permitió que ratones CD-1 macho (Charles River, 28-35 gm) se alimentaran a voluntad. Los ratones fueron alojados 5-7 por caja en una habitación con temperatura controlada, con un ciclo de luz-oscuridad de 12 horas. Los umbrales nocirreceptores fueron medidos estableciendo una comparación las latencias de retirada de pata trasera sobre una placa caliente (Modelo 35, IITC Inc, Woodland Hills, CA) se mantuvo a 57°C. Los ratones fueron colocados sobre la superficie calentada, acompañada de un cilindro de vidrio transparente de 25 cm de altura y 15 cm de diámetro. Las respuestas de latencia fueron notificadas en función del número de veces de levantamiento intermitente o de lamedura de las patas traseras. Para evitar daños en el tejido en animales que no ofrecían respuesta, se utilizó una latencia de corte de 20 segundos. La determinación de la nocirrecepción fue valorada entre las 7:00 y las 10:00 AM. Los grupos consistían en 7-14 ratones y cada uno de los animales fue utilizado para una dolencia experimental. Los ratones fueron convertidos en tolerantes mediante inyecciones subcutáneas de morfina dos veces al día (2 x 10 mg/kg día), durante un período de cuatro días, tal como se pone de evidencia por una disminución en la respuesta antinocirreptora a una dosis de provocación de 3 mg/kg de morfina al quinto día. La latencia a los 3,0 mg/kg de morfina en ratones no sometidos a experimentación anteriormente oscilaba entre 11-13 seg., 50 segundos después de la inyección y se le asignó una señal antinocirreptora máxima del 100%. La morfina fue obtenida en Mallinckrodt (St. Louis). Los fármacos fueron disueltos en solución salina con la excepción del imitador SOD, el cual fue disuelto en bicarbonato sódico (26 mM, pH 8,3). Los volúmenes de inyección eran de 0,01 mL/gm de peso corporal.

A la latencia para los ratones no sometidos a experimentación con anterioridad ($5,4 \pm 0,7$ seg.) se la denominó como 0% de analgesia. La latencia para los ratones no sometidos anteriormente a experimentación después de la administración de 3 mg/kg de morfina ($10,4 \pm 0,8$ seg.) se la denominó del 100%. Ver las tablas que se indican seguidamente IV Administración y Administración Subcutánea. Los ratones tolerantes mostraban latencias de $6,8 \pm 0,7$ seg, tras la administración de 3 mg/kg de morfina, según medición efectuada al quinto día (momento en el que fue observada a tolerancia). En el quinto día, los imitadores SOD (mg/kg) fueron inyectados 5 min (estudios iv) y 40 min. (estudios sc) antes de la administración de la morfina y la antinocirrecepción se midió 5 minutos más tarde. Para cada una de las dosis se utilizaron entre 9 y 20 ratones. Tal como puede observarse en las tablas que siguen a continuación, los imitadores SOD atenuaban el desarrollo de la tolerancia a la analgesia por morfina de una forma que dependía de la dosis (ver tabla mostrada más adelante). Los imitadores SOD no provocaban antinocirrecepción en ratones no sometidos a experimentación con anterioridad, indicando que, a las dosis utilizadas, no se comportaban como analgésicos de tipo opioide.

ES 2 293 106 T3

IV Administración (Imitador SOD, mg/Kg)

Comp.	.0001	.0003	.001	.003	.01	.03	.1	.3	1	3	10
A				0	10	40			100		
3		20		56	70	88	94	134			
7			0		42		73		100		
13	27		75		73		90				
14	55		71		73		92		69		
16			2,5		7,5		30	58		102	165
25			58		70		97		95		
28			0		106			94		120	
31			35		82	74					

Administración Subcutánea [Imitador SOD, mg/kg]

Comp.	.05	.1	.3	1	3	5	10	30	100
A				58	65		94	102	
3	55		122	106	122	100	108		
6						38	74		
7			17	112	114				
10				90			73		
16			0	30	76		66	91	
31				85			123		

Ejemplo 16

Uso de los imitadores SOD de la invención para el tratamiento de la hipotensión rebelde en ratas endotoxémicas

Ratas Sprague-Dawley macho (175-200 g, Harlan Spraguey Dawley, Indianapolis, IN, USA) fueron alojadas y cuidadas según las guías del Institutional Animal Care y Use Committee y según las guías NIH sobre el bienestar de los animales de laboratorio. Las ratas fueron anestesiadas con inactina (100 mg/kg, intraperitonealmente). La tráquea fue canulada para facilitar la respiración y la temperatura corporal se mantuvo a 37°C por medio de una almohadilla de calentamiento durante la duración total del experimento (9 horas). La vena femoral izquierda fue canulada para la administración de fármacos. Después de un período de estabilización de 30 minutos, se administró lipopolisacárido procedente de *E. Coli* (LPS; 4 mg/kg, serotipo 0111:B4) en forma de bolus de inyección intravenosa (i.v.), a un volumen de 0,3 ml y se monitorizó la presión arterial promedio/frecuencia cardíaca por espacio de 9 horas. Los animales control recibieron solución salina isotónica con el mismo volumen y a través de la misma ruta. 1,3 ó 5 horas después del LPS, el imitador SOD o el vehículo (tampón bicarbonato sódico 26 mM; pH 8,3) fueron administrados por infusión durante un período de 6 horas.

El LPS (4 mg/kg, serotipo 0,111:B4) condujo a una profunda caída en la presión sanguínea asociada con una elevada tasa de mortalidad (mortalidad $99 \pm 5\%$ a las 9 horas, n=10). La administración del Compuesto A a 0,25 mg/kg/h

evitó el desarrollo de la hipotensión (Ver Fig. 1) y reducía enormemente la mortalidad (mortalidad del 20% a las 9h, n= 10). Cuando el Compuesto 25 (0,07 mg/kg/h) fue administrado como infusión iv, tres horas después del LPS, a lo largo de la duración del protocolo experimental, se evitaron completamente el desarrollo posterior de la hipotensión (Ver Fig. 2) y la tasa de mortalidad (mortalidad del 0% a las 9 h, n= 10). Se obtuvieron resultados similares con el Compuesto 31 (Ver Fig 3). Por lo tanto, con menos imitador SOD se obtuvieron resultados mejorados cuando se utilizan los compuestos de la presente invención.

Ejemplo 17

10 *Uso de los imitadores SOD de la invención como agentes antiinflamatorios en el modelo de inflamación de pleura inducida por carragenina*

Ratas Sprague-Dawley macho (300-350 g; Charles River; Milan; Italia) fueron alojadas en un entorno controlado y se les proporcionó alimento y agua habitual para roedores. El cuidado de los animales estaba de acuerdo con la normativa italiana sobre protección de animales utilizados para fines experimentales y otros fines científicos (D.M. 116192), al igual que con los reglamentos CEE (O.J. de E.C. L 358/1 12/18/1986). Las ratas fueron anestesiadas con isoflurano y se les practicó una incisión en la piel al nivel del espacio intercostal sexto izquierdo. El músculo subyacente fue diseccionado y se inyectó solución salina (0,2 ml) o solución salina conteniendo 1% de λ -carragenina (0,2 ml), inyectada en el interior de la cavidad pleural. La incisión en la piel fue cerrada con sutura y se permitió que el animal se recuperase. El compuesto 16, el compuesto 31 y el compuesto 25, (0,5-20 mg/kg, según lo indicado), o un volumen equivalente (0,3 ml) de vehículo (tampón bicarbonato sódico 26 mM, pH 8,1-8,3), fue inyectado intraperitonealmente (i.p.), 15 minutos antes que la carragenina. Cuatro horas antes de la inyección de la carragenina, los animales fueron sacrificados por inhalación de CO₂. El tórax fue cuidadosamente abierto y la cavidad pleural enjuagada con 2 ml de solución salina que contenía heparina (5 U/ml) e indometacina (10 μ g/ml). El exudado y la solución de lavado fueron extraídas por medio de aspiración y se midió el volumen total. Se descartó el exudado que estuviera contaminado con sangre. La cantidad de exudado fue calculada sustrayendo el volumen inyectado (2 ml) del volumen total recuperado. Los leucocitos en el exudado fueron suspendidos en solución salina tampón fosfato (PBS) y sometidos a conteo con un microscopio óptico en una cámara Burkner, tras teñido vital con Trypan Blue. La medición de la actividad mieloperoxidasa en tejido pulmonar y malondialdehído. La actividad de la mieloperoxidasa (MPO), una hemoproteína localizada en gránulos azurófilos de neutrófilos, ha sido utilizada como un marcador bioquímico para infiltración neutrófila en tejidos (Bradley *et al.*, 1982). En el presente estudio, la MPO fue medida fotométricamente a través de un procedimiento similar al descrito anteriormente (Laight *et al.*, 1994). A las cuatro horas de la aplicación de la inyección intrapleural de carragenina, se obtuvieron y pesaron los tejidos pulmonares. Cada uno de los trozos de tejido fue homogeneizado en una solución que contenía 0,5% de bromuro de hexadecil-trimetil-amonio, disueltos en tampón fosfato potásico 10 mM (pH 7) y se centrifugó por espacio de 30 min. A 20,000 x g a 4°C. Se dejó que una alícuota de sobrenadante reaccionase con una solución de tetrametilbencidina (1,6 mM) y H₂O₂ 0,1 mM.

La velocidad de cambio en la absorbancia fue medida espectrofotométricamente a 650 nm. Se definió la actividad de la MPO como la cantidad de enzima que degradaba 1 μ mol de peróxido/min a 37°C y se expresó en miliunidades por 100 mg en peso de tejido húmedo. Los niveles de malonaldehído (MDA) en el tejido pulmonar fueron determinados como indicador de peroxidación de lípidos (Okhawa *et al.*, 1979). El tejido pulmonar, recogido en el momento especificado, fue homogeneizado en una solución de KCl 1,15%. A una mezcla de reacción que contenía 200 μ l de (8,1% de SDS; 1500 μ l de ácido acético al 20% (pH 3,5); 1500 μ l de ácido tiobarbitúrico al 0,8% y 700 μ l de agua destilada, se le añadió una alícuota (100 μ l) del homogenado. Las muestras fueron después hervidas por espacio de 1 hora a 95°C y se centrifugaron a 3000 x g, durante 10 minutos. Se midió la absorbancia del sobrenadante a través de espectrofotometría, a 650 nm.

La inyección de carragenina en la actividad pleural de las ratas provocó una respuesta inflamatoria aguda caracterizada por: acumulación de fluido en la actividad pleural que contenía un gran número de neutrófilos (PMNs), infiltración de PMNs en tejidos pulmonares (midiendo la mieloperoxidasa en el tejido pulmonar, MPO) y la peroxidación de lípidos de membranas en el tejido pulmonar (midiendo los niveles de malonaldehído en el tejido pulmonar, MDA) y la inducción de la forma inducible de la sintasa de óxido nítrico. El tratamiento de las ratas con el Compuesto 16, el Compuesto 31 y el Compuesto 25, (0,5-20 mg/kg proporcionada por inyección intraperitoneal, i.p. 15 min. Antes que la carragenina, según se ha indicado), atenuaba todos los parámetros de la inflamación. Los resultados se indican en la tabla que se indica seguidamente.

ES 2 293 106 T3

Compuesto 16 en pleuritis	Exudado pleural (ml)	Infil-tracción PMN (10 ⁶ /rata)	MPO Pulmón (mU/100 mg tejido húmedo)	MDA pulmón (µM/mg tejido húmedo)	TNFα (pg/ml)	IL-1β (pg/ml)	IL-6 U/ml
Ficticio	0,11±0,06	2±0,8	13±1,1	126±3,8	13±1,6	2,9±0,7	5,2±1,3
Carragenina	1,314±0,13	88±3,4	88±2,3	291±5,4	725±9,13	255±8,4	55±3,1
Compuesto 16 (0,5 mg/kg)	0,71±0,16	38±2,2	53±3,9	226±8,2	82±6,5	123±7,9	54±6,0
Compuesto 16 (1,5 mg/kg)	0,65±0,13	32±3,2	49±4,5	210±7,2	75±7,0	115±8,5	43±6,0
Compuesto 16 (5 mg/kg)	0,6±0,15	28±3,2	38±2,0	190±6,0	62±5,0	100±9,0	32±2,0
Compuesto 16 (20 mg/kg)	0,63±0,03	25±1,8	36±1,6	66±8,0	66±8,0	83±10,0	18±0,2

Compuesto 31 en pleuritis	Exudado pleural (ml)	Infil- tracción PMN (10 ⁶ /rata)	MPO Pulmón (mU/100 mg tejido húmedo)	MDA pulmón (µM/mg tejido húmedo)	TNFα (pg/ml)	IL-1β (pg/ml)	IL-6 U/ml
Ficticio	0,11±0,06	2±0,8	13±1,1	126±3,8	13±1,6	2,9±0,7	5,2±1,3
Carragenina	1,314±0,13	88±3,4	88±2,3	291±5,4	725±9,13	255±8,4	55±3,1
Compuesto 31 (0,5 mg/kg)	0,32±0,11	25±3,2	35±4,2	162±4,2	64±4,0	125±9,2	32±2,2
Compuesto 31 (1,5 mg/kg)	0,28±0,13	19±1,8	25±1,7	155±3,8	60±8,0	119±18,0	28±1,15
Compuesto 31 (5 mg/kg)	0,12±0,08	12±1,2	16±2,2	138±7,2	71±11,0	112±12,0	21±2,3
Compuesto 31 (20 mg/kg)	0,1±0,05	11±0,9	18±1,2	141±6,2	66±8,0	83±10,9	18±0,2

ES 2 293 106 T3

Compuesto	Exudado pleural (ml)	Infiltración PMN (10 ⁶ /rata)	MPO Pulmón (mU/100 mg tejido húmedo)	MDA pulmón (μM/mg tejido húmedo)	TNFα (pg/ml)	IL-1β (pg/ml)	IL-6 U/ml
25 en pleuritis							
Ficticio	0,11±0,06	2±0,8	13±1,1	126±3,8	13±1,6	2,9±0,7	5,2±1,3
Carragenina	1,314±0,13	88±3,4	88±2,3	291±5,4	725±9,13	255±8,4	55±3,1
Compuesto 25 (0,5 mg/kg)	0,26±0,1	26±1,2	48±3,2	155±3,0	66±8,0	126±12,0	35±2,0
Compuesto 25 (1,5 mg/kg)	0,24±0,12	21±0,9	42±2,9	150±1,9	55±9,0	111±9,0	28±2,0
Compuesto 25 (5 mg/kg)	0,33±0,09	25±3,0	35±3,0	154±9,0	53±9,0	85±10,0	16±2,9
Compuesto 25 (20 mg/kg)	0,25±0,13	19±2,9	30±3,0	147±8,0	48±6,0	79±9,0	12±0,8

Adicionalmente, los resultados expuestos en la tabla que sigue a continuación fueron obtenidos cuando el Compuesto A fue administrado a las ratas a las dosificaciones indicadas. El Compuesto A, tal como se ha indicado anteriormente, es el compuesto de partida, no sustituido de los imitadores SOD comprobados en este modelo de inflamación de pleuritis. Estos datos demuestran claramente que los tres imitadores SOD de la presente invención muestran mejor comportamiento antiinflamatorio que el compuesto de partida A, no sustituido.

Compuesto	Exudado pleural (ml)	Infiltración PMN (10 ⁶ /rata)	MPO Pulmón (mU/100 mg tejido húmedo)	MDA pulmón (μM/mg tejido húmedo)	TNFα (pg/ml)	IL-1β /pg/ml)	IL-6 U/ml	IL10 (U/ml)
A en pleuritis								
Ficticio	0,12±0,06	2,5±0,8	15±3,5	121±3,5	10±1	5±1,0	5±0,0	0
Carragenina	1,42±0,13	73±4,4	94±5,4	276±6,8	500±10	230±10	49±5	420±10
Compuesto A (5 mg/kg)	0,88±0,09	59±2,3	66±3,5	201±2,5	ND	ND	ND	ND
Compuesto A (10 mg/kg)	0,61±0,11	49±1,9	53±3,2	178±3,2	ND	ND	ND	ND
Compuesto A (20 mg/kg)	0,32±0,12	28±3,1	31±3,6	149±2,6	200±10	40±5	20±7	650±10

Ejemplo 18

Uso de los imitadores SOD de la invención en la prevención de la hipotensión asociada con shock septicémico en un modelo de rata de shock inducido por E. coli viva

- 5 Se indujo un shock septicémico a través de la inyección de bacterias *E. Coli* vivas (10^{10}) en ratas crónicamente instrumentadas. Esto provoca una caída progresiva y dependiente del tiempo en la presión arterial media (MAP), que conduce a una mortalidad >90% de los animales dentro de las 24 horas siguientes (Caída de la MAP desde un valor base de 125 mmHg pre-bacteria a 75 mmHg a las 6 horas y a 25 mmHg a las 24 horas). El Compuesto 25, el Compuesto 3 y el Compuesto 28 fueron administrados mediante infusión durante un período de 6 horas, a razón de 0,25 mg/kg (dosis total= 1,5 mg/kg); la infusión dió inicio a las 3 horas después de la inyección de *E. Coli* viva, un momento en el que la totalidad de las ratas mostraba señales de shock. Además, el Compuesto A fue sometido a infusión a razón de 0,075 mg/kg/h ó 0,25 mg/kg/h, tres horas después de la inyección de *E. Coli* viva, durante un período total de 6 horas. La solución salina fue administrada a las ratas como control tres horas después de la inyección con *E. Coli* viva, durante un período total de 6 horas. Las ratas fueron monitorizadas por espacio de 24 horas, durante el cual se midió el MAP. Adicionalmente, se monitorizó también la frecuencia cardíaca en ratas tratadas con el Compuesto A. A la totalidad de animales se les proporcionó antibióticos 30 minutos y 9 horas después de la administración de *E. Coli* viva.
- 20 El Compuesto 25, el Compuesto 3 y el Compuesto 28 evitaban completamente la caída de la MAP a lo largo del transcurso del experimento (la MAP a las 24 horas era de aproximadamente 125 mmHg, es decir, similar a los valores de base). Adicionalmente, las Figuras 9a y 9b muestran que la reanimación fluida de la infusión salina resultaba suficiente para evitar la caída de la MAP de las ratas control durante el transcurso de las 9 primeras horas de experimento. No obstante, poco después de la parada de esta infusión, la MAP de estas ratas cayó drásticamente dando como resultado una tasa de mortalidad del 77% a las 24 horas. Por el contrario, aquellas ratas tratadas con el Compuesto A a razón de 25 mg/Kg/h (Figura 9a) quedaron protegidas frente a esta caída en la MAP y redujeron de manera significativa la tasa de mortalidad a las 24 horas. Por consiguiente, el tratamiento de las ratas con los imitadores SOD de la invención evitaba completamente la hipotensión asociada con el shock septicémico.
- 30 En vista de lo anterior, se observará que se logran los diversos objetivos de la presente invención y se alcanzan otros resultados ventajosos.

Referencias citadas en la descripción

- 35 Esta lista de referencias citadas por el solicitante se proporciona únicamente para la conveniencia del lector. La misma no forma parte del documento de patente europea. A pesar de que se he empleado gran esmero en la compilación de la misma, no pueden excluirse errores u omisiones y la EPO no acepta ninguna responsabilidad en tal sentido.

40 Documentos citados en la descripción

- WO 9858636 A [0004]
- US 5610293 A [0008][0056]
- 45 • US 5637578 A [0008]
- US 5874421 A [0008]
- 50 • US 057831 A [0008]
- US 5145771 A [0070]
- US 4879283 A [0070]
- 55 • US 4873230 A [0070]
- US 4798824 A [0070]

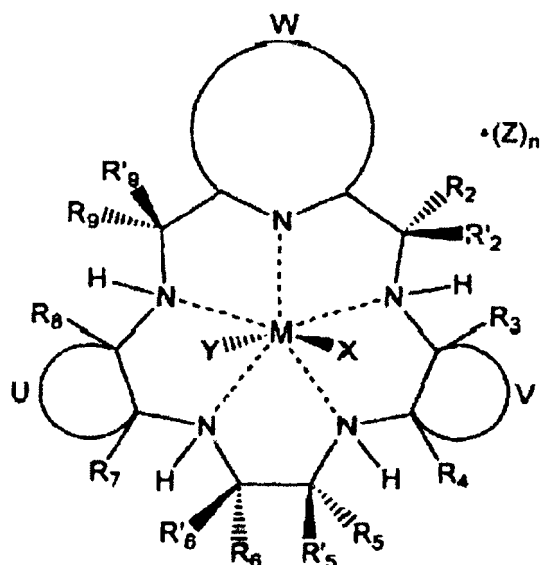
60 Literatura no patente citada en la descripción

- SIMIC, M.G. *et al.*, Oxygen Radicals in Biology and Medicine, Basic Life Sciences. Plenum Press, 1988, vol. 49 [0002]
- 65 • WEISS, J. *Cell Biochem.* 1991, vol 216, C110 [0002]
- PETKAU, A. *Cancer Treat. Rev.*, 1986, vol. 13, 17 [0002]

- **MCCORD**, J. *Free Radicals Biol. Med.*, 1986, vol 2, 307 [0002]
- **BANNISTER**, JV *et al.*, *Crit. Rev. Biochem.*, 1987, vol 22, 111 [0002]
- 5 • **GRYGLEWSKI**, R.J. *et al.*, Superoxide Anion is Involved in the Breakdown of Endothelium-derived Vascular Relaxing Factor. *Nature*, 1986, vol 320, 454-56 [0003]
- **PALMER**, R.M.J. *et al.*, Nitric Oxide Release Accounts for the Biological Activity of Endothelium-derived Relaxing Factor. *Nature*, 1987, vol. 327, 523-26 [0003]
- 10 • Modification of Inflammatory Response to Implanted Biomedical Materials *in vivo* by Surface Bound Superoxide Dismutase Mimics. UDIPI K. *et al. Journal of Biomedical Materials Research*. Wiley, 2000. vol. 51, 549-560 [0005]
- **SALVEMINI** D., *et al.* A Nonpetidyl Mimic of Superoxide Dismutase with Therapeutic Activity in Rats. *Science*, 1999, vol 286, 304-306 [0006].
- 15 • **RILEY**, D.P.; **RIVERS**, W.J.; **WEISS**, R.H. Stopped-Flow Kinetic Analysis for Monitoring Superoxide Decay in Aqueous Systems. *Anal. Biochem.*, 1991, vol. 196, 344- 349 [0052]
- 20 • **J.V. BANNISTER**; **H. BANNISTER**; **G. ROTILIO**. *Crit Rev. Biochem*, 1987, vol 22, 111-180 [0053]
- A.E.G. **CASS**. Metalloproteins: Part 1, Metal Proteins with Redox Roles. Verlag Chemie, 1985, 121 [0053]
- **BEYERSDORF**. *Chem. Abst.* 1990, vol 113, 84849w [0070]
- 25 • **SAGARIN**. Cosmetics, *Science an Technology*, 972, vol 1, 32-43 [0074]
- **RILEY**, D.P.; **RIVERS**, W.J.; **WEISS**, R.H. Stopped-Flow Kinetic Analysis for Monitoring Superoxide Decay in Aqueous Systems. *Anal. Biochem*, 1991, vol. 196, 344-349 [0086]
- 30

REIVINDICACIONES

1. Uso de un compuesto que tiene la fórmula:



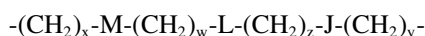
para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o trastorno en el que están involucrados aniones superóxido, que comprende la administración a un sujeto que precisa de la citada prevención o tratamiento, de una cantidad eficaz desde el punto de vista terapéutico, profiláctico, patológico o de reanimación, de al menos uno de los citados compuestos y en donde W es un resto piridino sustituido que comprende al menos un sustituyente seleccionado de entre el grupo que comprende alquilo de cadena lineal o ramificada, alqueno, alquino, heterociclo, arilo, heteroarilo, alilo, policicloalquilo, policicloarilo, policicloheteroarilo, imino, aminoalquilo, hidroxialquilo, hidroxilo, fenol, óxidos de amina, tioalquilo, carboalcoxialquilo, ácidos carboxílicos y sus derivados, ceto, éter, aldehído, amina, amida, nitrilo, halo, tiol, sulfóxido, sulfona, ácido sulfónico, sulfuro, disulfuro, ácido fosfónico, ácido fosfínico, ácido acrílico, sulfonamidas, aminoácidos, péptidos, proteínas, carbohidratos, ácidos nucleicos, ácidos grasos, lípidos, nitro, hidroxilamino, ácidos hidroxámicos, tiocarbonilos, boratos, boranos, boraza, sililo, silaza, siloxi y sus combinaciones; y

en donde U y V son estructuras cíclicas saturadas que contienen entre 3 y 20 átomos de carbono y forman un anillo cicloalquilo con los átomos de carbono del macrociclo al cual están unidos; y

en donde R₂, R'₂, R₃, R'₃, R₄, R'₄, R₅, R'₅, R₆, R'₆, R₇, R₈, R₉ y R'₉ representan, independientemente, hidrógeno o radicales sustituidos o no sustituidos, de alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, cicloalqueno, cicloalquilalquilo, cicloalquilcicloalquilo, cicloalquenalquilo, alquilcicloalquilo, alquencilcicloalquilo, alquencilcicloalqueno, heterociclo, arilo y aralquilo y, opcionalmente, uno o más de R₂ ó R'₂ y R₃, R₄ ó R'₄ y R₅ ó R'₅, R₆ ó R'₆ y R₇ ó R₈ y R₉ ó R'₉, conjuntamente con los átomos de carbono a los cuales están independientemente unidos, forman un heterociclo sustituido o no sustituido que tiene entre 2 y 20 átomos de carbono que contiene nitrógeno, el cual puede ser un heterociclo aromático, en cuyo caso el hidrógeno unido al nitrógeno que forma parte a la vez del heterociclo y del macrociclo y los grupos R unidos a los átomos de carbono que forman a la vez parte del heterociclo y del macrociclo, están ausentes; y

opcionalmente, uno o más de R₂ y R'₂, R₅ y R'₅, R₆ y R'₆, R₉ y R'₉, conjuntamente con el átomo de carbono al que están unidos forman, independientemente, un ciclo o heterociclo saturado, parcialmente saturado o no saturado, que tiene entre 3 y 20 átomos de carbono; y

opcionalmente, uno de R₂, R'₂, R₃, R₄, R₅, R'₅, R₆, R'₆, R₇, R₈, R₉ y R'₉, conjuntamente con uno diferente de R₂, R'₂, R₃, R₄, R₅, R'₅, R₆, R'₆, R₇, R₈, R₉ y R'₉, que está unido a un átomo de carbono diferente en el ligando macrocíclico, pueden estar unidos para formar una banda representada a través de la fórmula



en donde w, x, y y z son, independientemente, números enteros entre 0 y 10 y M, L y J son seleccionados independientemente de entre el grupo que comprende alquilo, alqueno, alquino, arilo, cicloalquilo, heteroarilo, alquilarilo, alquilheteroarilo, aza, amida, amonio, oxa, tia, sulfonilo, sulfínilo, sulfonamida, fosforilo, fosfínilo, fosfino, fosfonio, ceto, éster, carbamato, urea, tiocarbonilo, boratos, boranos, boraza, sililo, siloxi, silaza y combinaciones de los mismos; y

combinaciones de cualquiera de los indicados anteriormente;

en donde M es un catión de un metal de transición seleccionado de entre el grupo que comprende manganeso y hierro; y

en donde X, Y y Z representan ligandos adecuados o aniones neutralizadores de carga que proceden de cualquier ligando de coordinación monodentado o polidentado o sistema de ligandos o el anión correspondiente de los mismos; y n es un número entero comprendido entre 0 y 3.

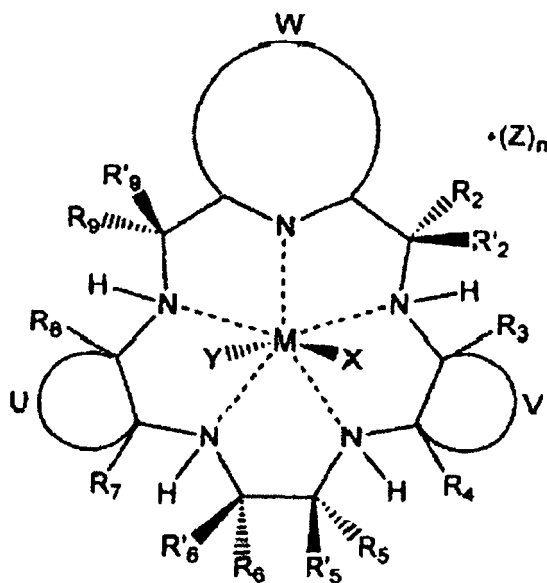
2. Uso de la reivindicación 1, en donde la citada enfermedad o trastorno es seleccionado de entre el grupo que comprende la lesión por reperfusión del miocardio isquémico, la inflamación en general, la enfermedad de inflamación del intestino, la colitis ulcerosa, la enfermedad de Crohn, la artritis reumatoide, la osteoartritis, la hipertensión, la psoriasis, los rechazos por trasplante de órganos, la conservación de órganos, la lesión inducida por radiación, la agregación plaquetaria, el ictus, las enfermedades autoinmunes, la hipotensión rebelde, la dificultad respiratoria en adultos, la carcinogénesis, la acción antitumoral, la acción anti-metastásis, la uveitis, el dolor crónico agudo, la inversión de tolerancia opioide, la hiperalgesia y la septicemia.

3. Uso de un compuesto como el definido en la reivindicación 1, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la radiación o la lesión química, en la que se encuentran involucrados aniones superóxido, que comprende la administración a un sujeto que precise de la citada prevención o tratamiento, de una cantidad eficaz desde el punto de vista terapéutico, profiláctico, patológico y de reanimación, de al menos uno de los citados compuestos.

4. Uso de la reivindicación 3, en donde la citada lesión es provocada por la exposición a un grupo de agentes seleccionados de entre el grupo que comprende luz UV, partículas alfa, radiación gamma, radiación protonica y agentes químicos.

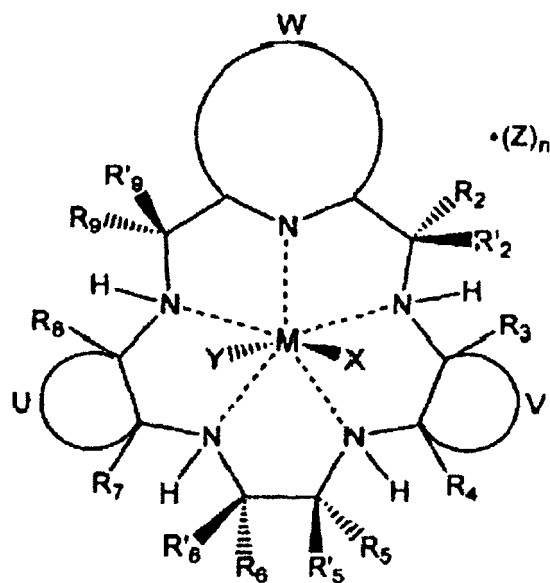
5. Uso de la reivindicación 3, en donde la citada lesión en la que están involucrados aniones superóxidos seleccionados de entre el grupo que comprende lesión por repercusión isquémica, inflamación, hiperalgesia, septicemia, hipotensión rebelde, ictus, inversión de tolerancia opioide e hipertensión.

6. Procedimiento para sintetizar un compuesto que tiene la fórmula:



en donde W es un resto piridino sustituido, tal y como se ha definido en la reivindicación 1 y sustituido en la posición opuesta a la del nitrógeno, que es un componente del macrociclo, por un nucleófilo y en donde U, V, M, X, Y, Z, R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉ y R'₁, R'₂, R'₃, R'₄, R'₅, R'₆, R'₇, R'₈, R'₉ son tal y como se han definido en la reivindicación 1, manteniendo el complejo que lado del ión de metal de transición y el ligando, comprendiendo el procedimiento:

a) proporcionar un compuesto de fórmula:



en donde W es un resto piridino sustituido y sustituido en la posición opuesta a la del nitrógeno, que es un componente del macrociclo, por un haluro y en donde U, V, M, X, Y, Z, R₁, R'₁, R₂, R'₂, R₃, R₄, R₅, R'₅, R₆, R'₆, R₇, R₈, R₉ y R'₉ son tal y como se han definido en la reivindicación 1

b) añadir un nucleófilo al compuesto en a); y

c) agitar la mezcla de reacción hasta completar la reacción.

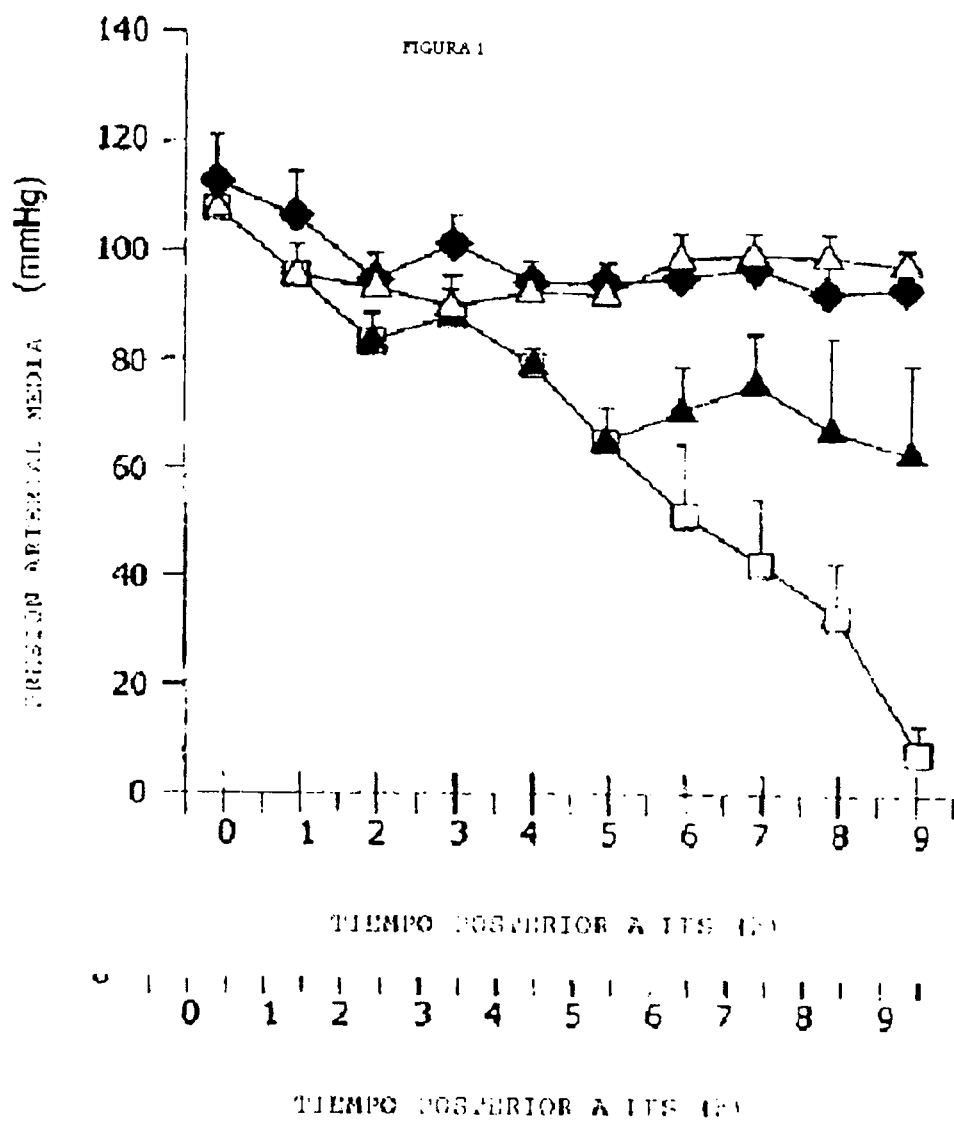


FIGURA 2

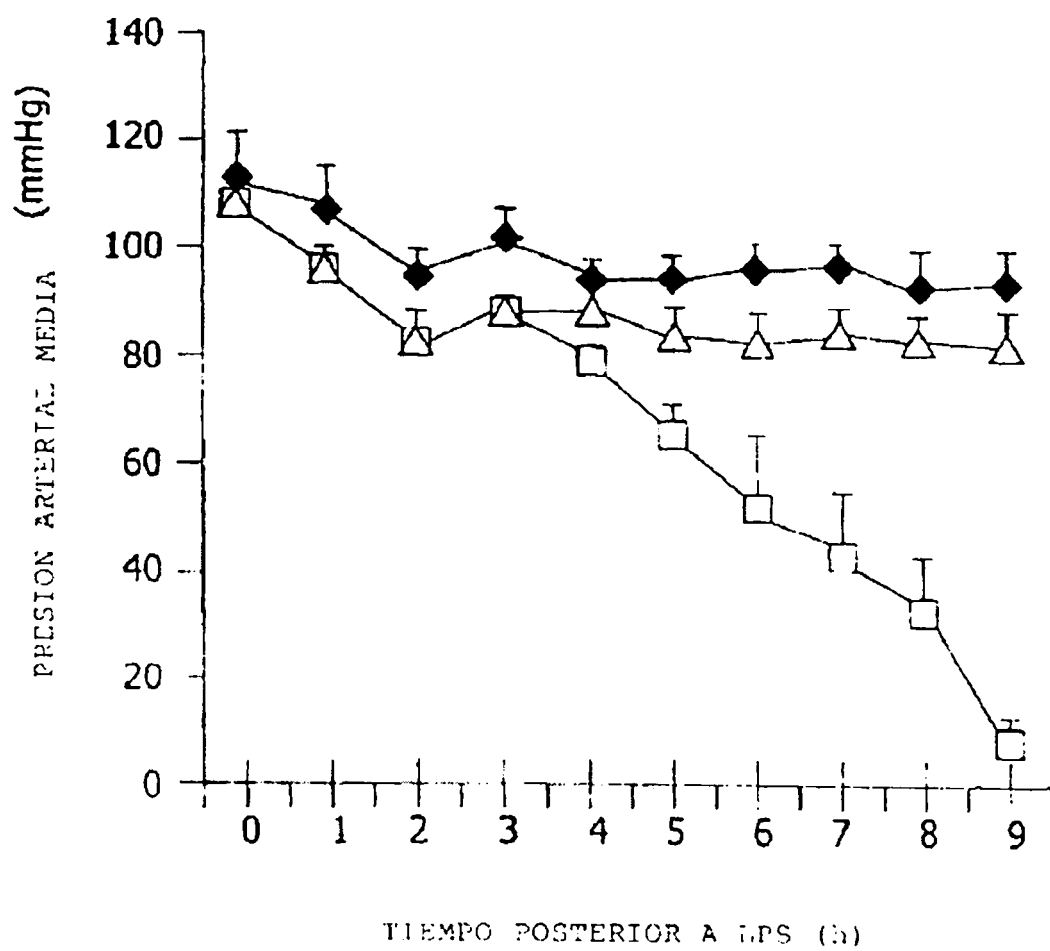


FIGURA 3

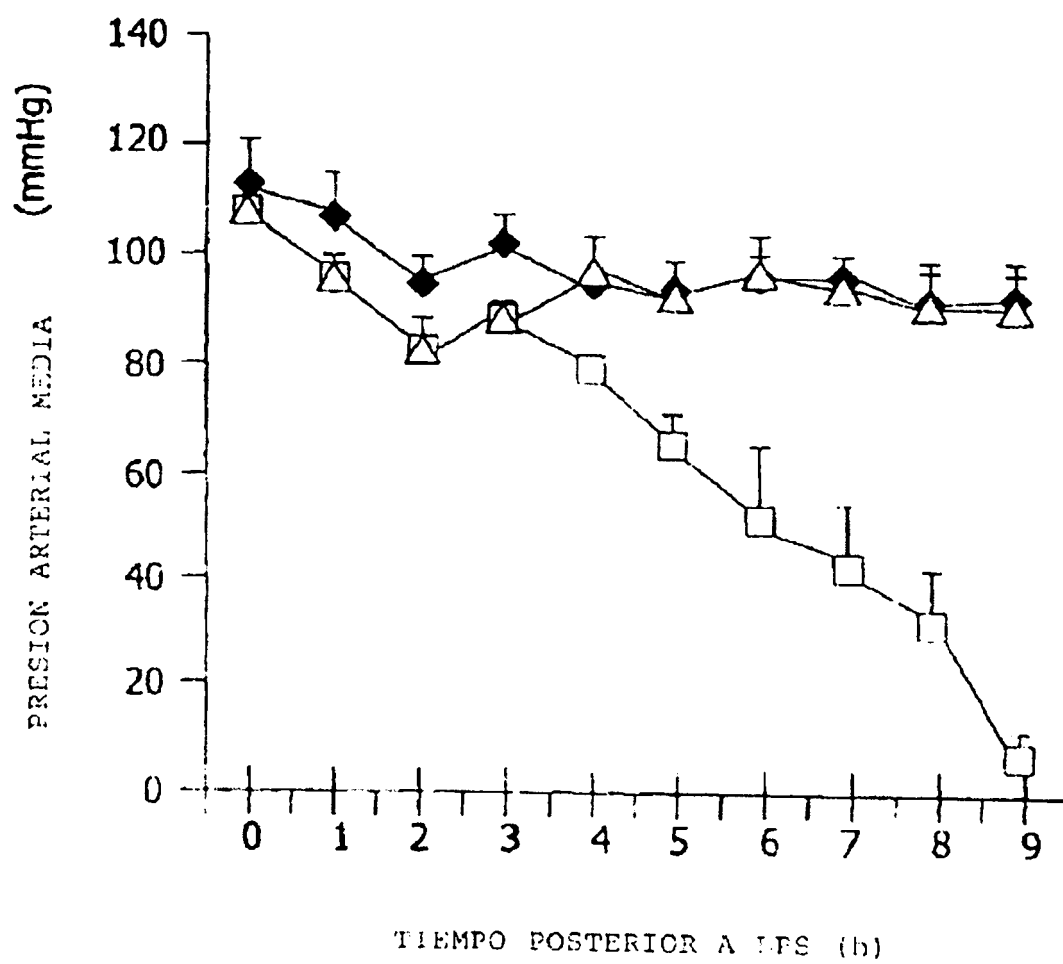


FIGURA 4

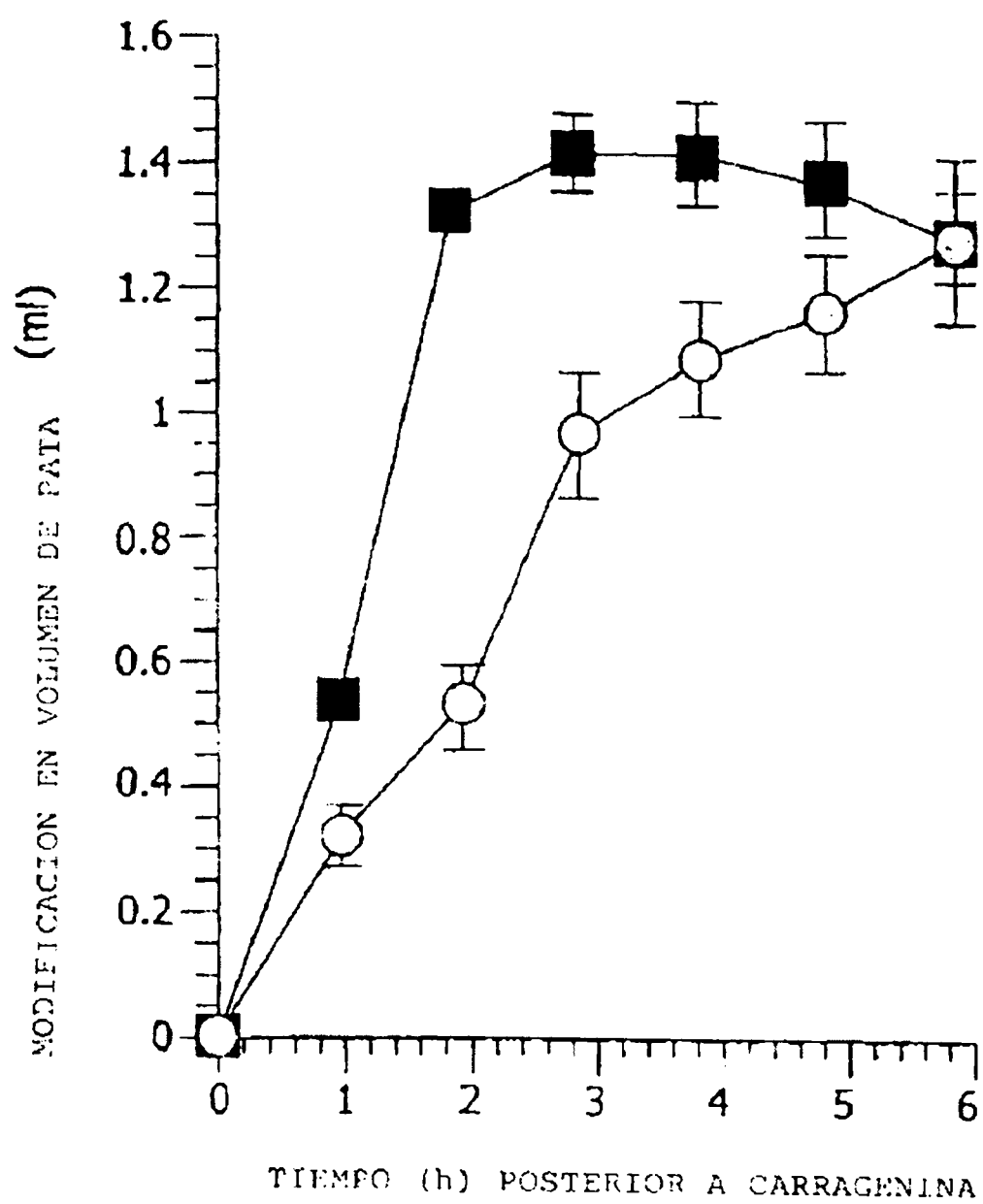


FIGURA 5

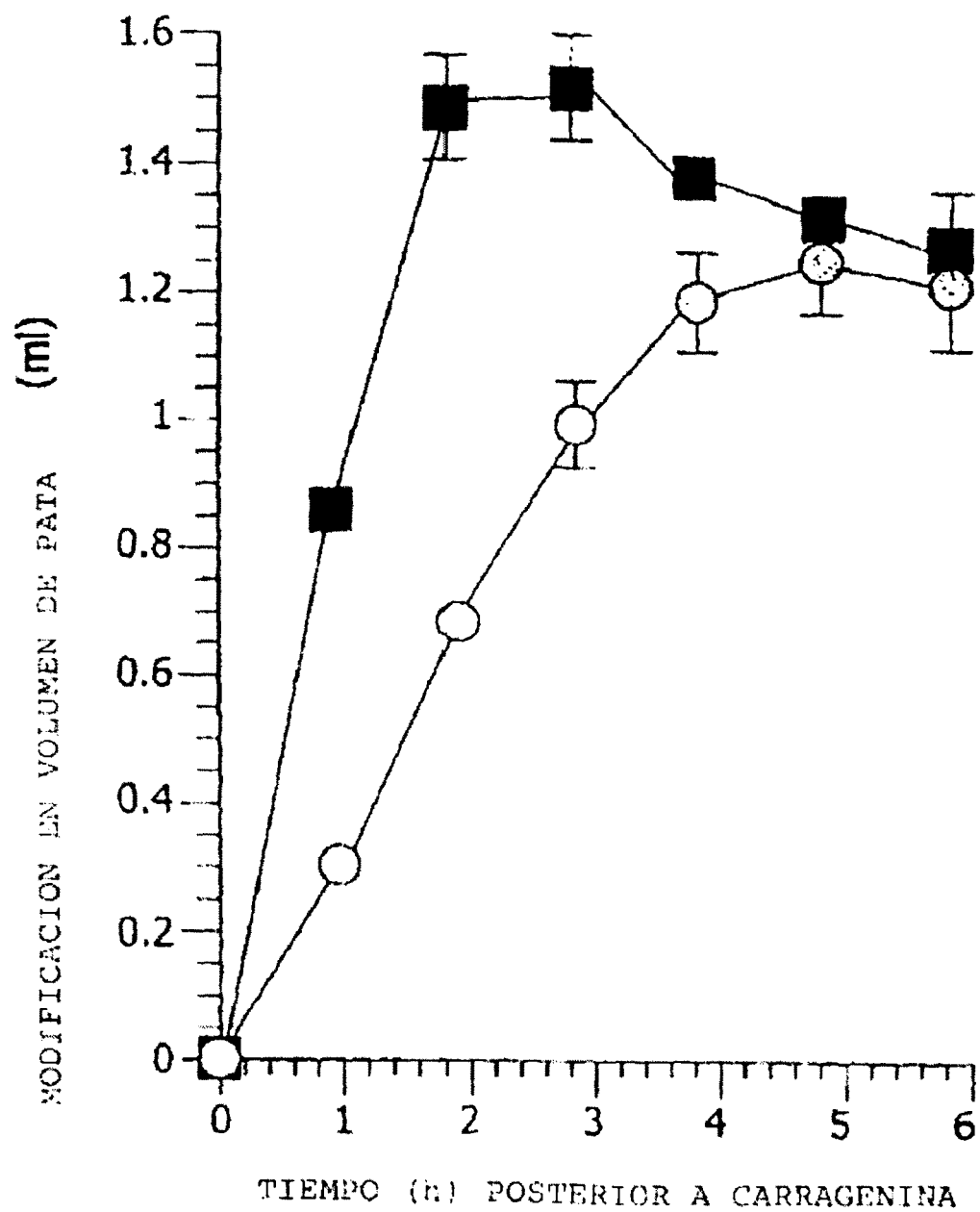


FIGURA 6

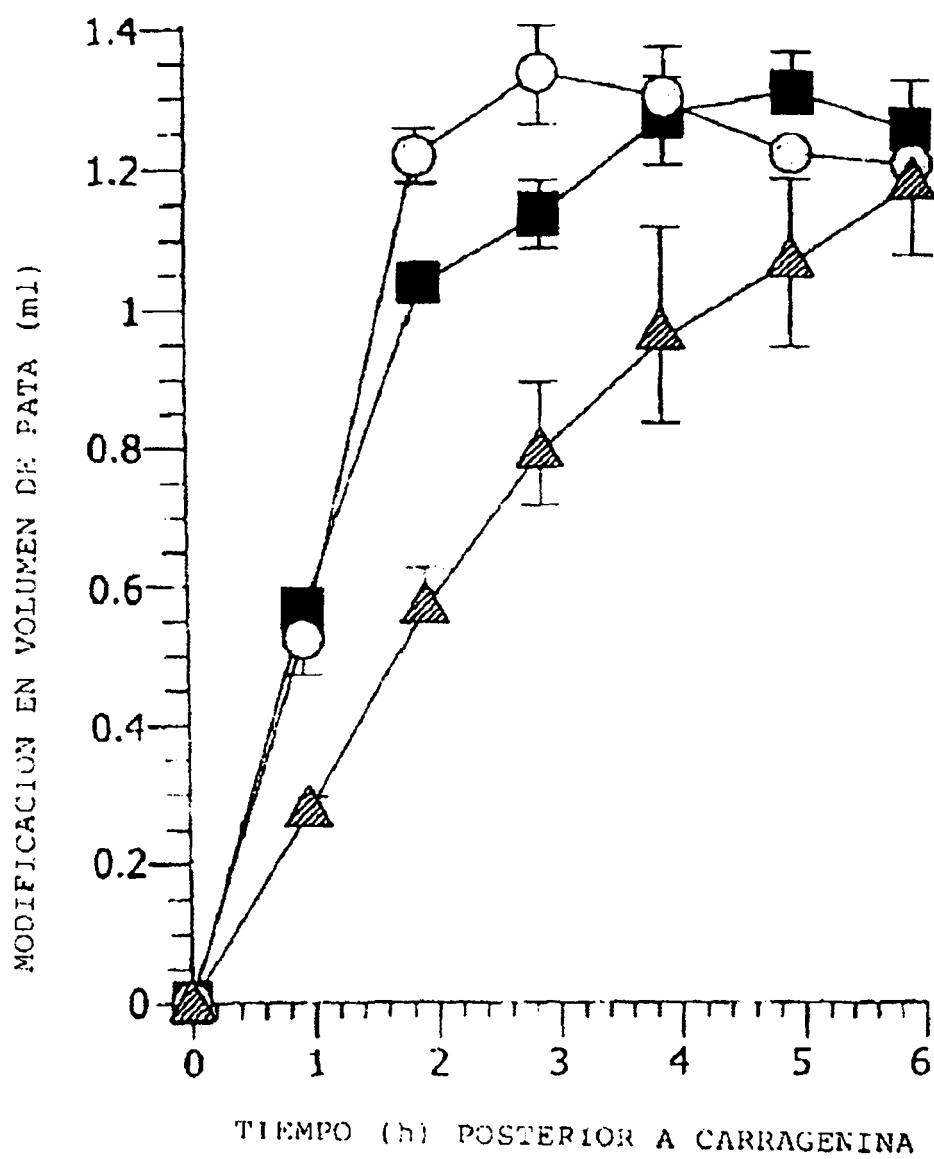


FIGURA 7

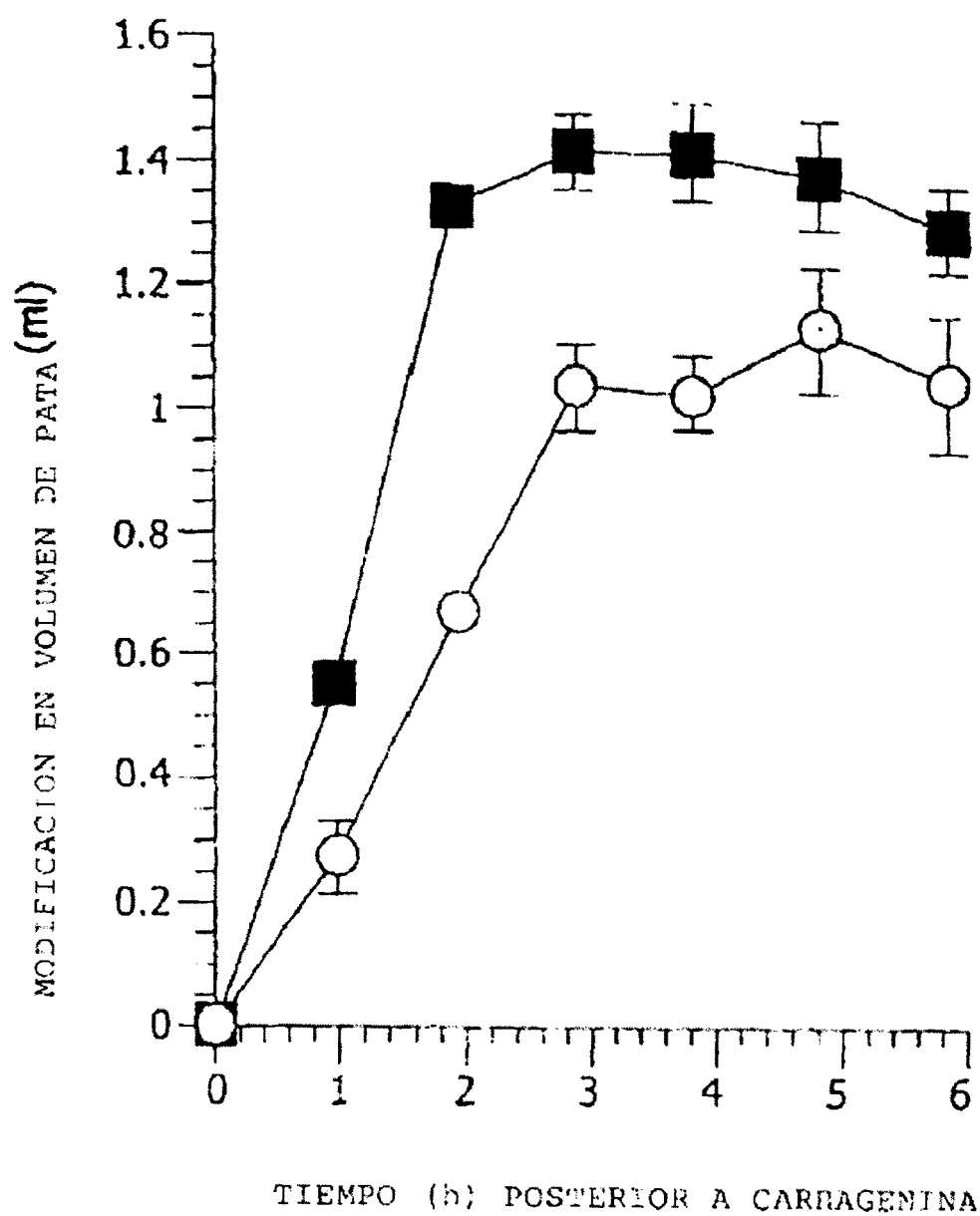
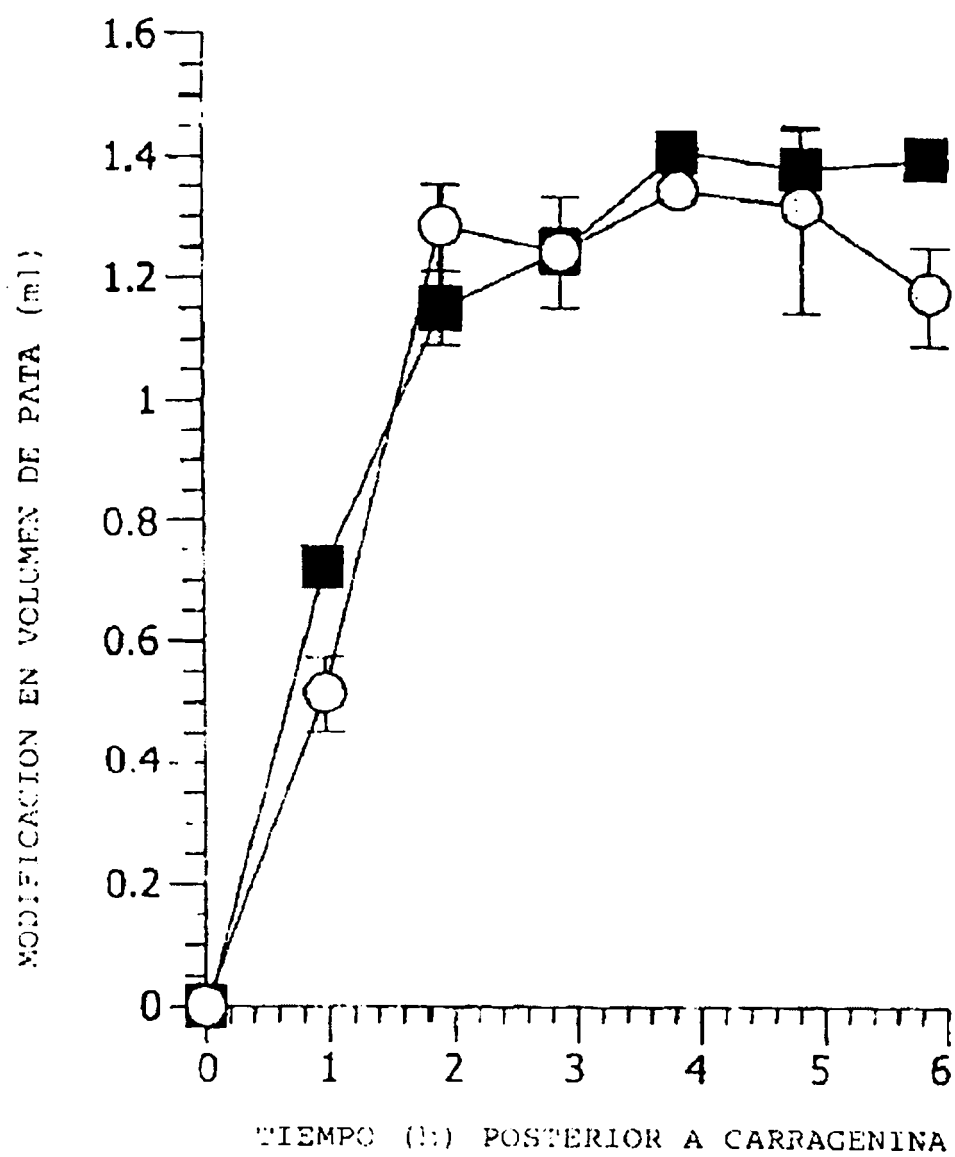


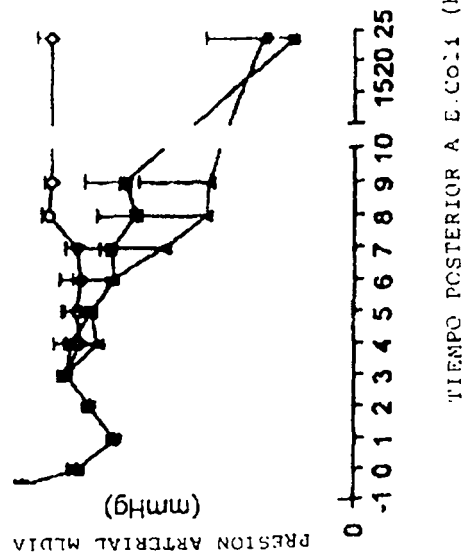
FIGURA 8



Efectos protectores de M40403 en un modelo de rata de shock
inducido por E. Coli viva

—■— CONTROL, E.Coli 10¹⁰ (n=13; 10 MUERTES)
—●— 0.075 mg/Kg/h (n=6; 4 MUERTES)
—◇— 0.25 mg/Kg/h (n=6; 0 MUERTES)

a



b

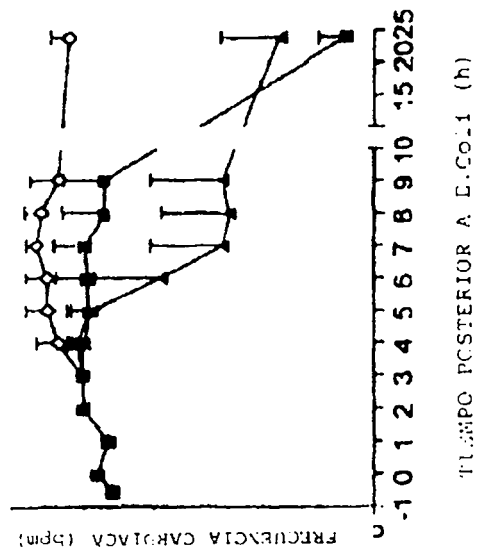


FIGURA 9

Fármaco administrado a las
3 horas posteriores a E.
Coli durante 6 horas

FIG. 10

