

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 992 641**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/5415** (2006.01)

**A61K 33/00** (2006.01)

**A61P 7/00** (2006.01)

**A61P 11/00** (2006.01)

**A61P 43/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.04.2021 PCT/EP2021/061485**

87 Fecha y número de publicación internacional: **11.11.2021 WO21224146**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.04.2021 E 21724580 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.10.2024 EP 4146225**

54 Título: **Compuestos de metiltioninio para su uso en el tratamiento de la hipoxemia**

30 Prioridad:

**05.05.2020 GB 202006659**

**26.10.2020 GB 202016957**

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

**16.12.2024**

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**ARASTOO, MOHAMMAD;  
MAZANETZ, MICHAEL PHILIP y  
WISCHIK, CLAUDE MICHEL**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

ES 2 992 641 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

**DESCRIPCIÓN**

Compuestos de metiltioninio para su uso en el tratamiento de la hipoxemia

**5 Campo técnico**

La presente invención se refiere a materiales para su uso en el alivio de la hipoxemia o el tratamiento de la hipoxia en un sujeto.

**10 Antecedentes de la técnica**

Una de las principales funciones del sistema cardiorrespiratorio, incluida la sangre, es garantizar que todos los tejidos estén adecuadamente oxigenados en todo momento, es decir, que la pO<sub>2</sub> en el entorno inmediato de una célula supera la pO<sub>2</sub> crítica necesaria para el consumo normal de oxígeno mitocondrial y la producción de ATP (véase el capítulo 7, Pittman RN. Regulation of Tissue Oxygenation. San Rafael (CA): Morgan & Claypool Life Sciences; 2011)

El papel de los diversos mecanismos reguladores en el sistema cardiovascular, el sistema respiratorio y la sangre es garantizar la correcta oxigenación de los tejidos. Desviaciones de los valores normales de las variables clave del transporte de oxígeno, por causas muy diversas, pueden dar lugar a entornos tisulares hipóxicos y provocar daños tisulares o morbilidad.

Por lo tanto, puede verse que proporcionar compuestos que puedan utilizarse de forma segura para aumentar la capacidad de transporte (saturación) de oxígeno de la sangre supone una contribución útil a la técnica.

**25 Divulgación de la invención**

Tenga en cuenta que las referencias a métodos de tratamiento en la descripción de la invención deben interpretarse como referencias a los compuestos, las composiciones farmacéuticas y los medicamentos de la presente invención para su uso en un método para el tratamiento del cuerpo humano (o animal) mediante terapia.

La presente invención prevé el uso de ciertas sales de hidrametiltionina (denominadas "LMTX" a continuación) como compuestos terapéuticos para aliviar la hipoxemia en sujetos. Esto a su vez puede utilizarse para aliviar la hipoxia y tratar patologías u otras causas de hipoxia.

El MTC (cloruro de metiltionio, azul de metileno) es un fármaco aprobado por la FDA y la EMA con un largo historial de uso clínico.

La LMTX administra la misma fracción de MT (metiltionina) por vía sistémica, pero es más adecuada para uso oral e intravenoso que el MTC, ya que tiene una mejor absorción, penetración en glóbulos rojos y distribución en compartimentos profundos (Baddeley *et al.*, 2015). La LMTX puede utilizarse a una dosis sustancialmente menor que el MTC y, por tanto, se tolera mejor.

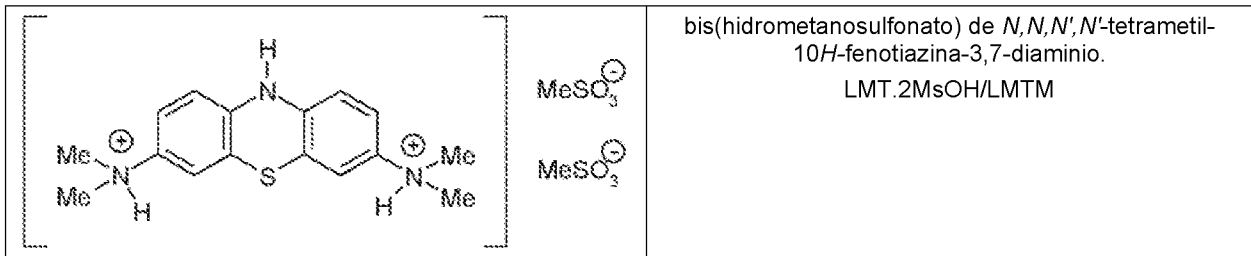
Se ha informado recientemente (Alamdari, Daryoush Hamidi, *et al.* "Application of methylene blue-vitamin C-N-acetyl cysteine for treatment of critically ill COVID-19 patients, report of a phase-I clinical trial." European Journal of Pharmacology 885 (2020): 173494 que el azul de metileno-vitamina C-N-acetil cisteína (MCN) proporcionaba beneficios a los pacientes gravemente enfermos por COVID-19, siendo la reducción de la metahemoglobina (metHb) uno de los presumibles mecanismos de este agente y de su dosificación (véanse las Conclusiones al respecto).

Akiko Miyamoto *et al.*; Hepatology Research, 2010, 40: 622-632; divulga el efecto de la administración crónica de azul de metileno sobre la hipoxemia en ratas con ligadura del conducto biliar común.

Basado en pruebas *in vivo* procedentes de ensayos clínicos controlados, los presentes inventores demuestran que las sales LMTX pueden aumentar la saturación de oxígeno incluso a dosis relativamente bajas, y sin relación con ningún efecto conocido sobre la metHb.

Sin desear quedar ligados a teoría alguna, los inventores proponen que la unión de la fracción LMT a la hemoglobina supera la barrera energética inicial para la unión del oxígeno, que de este modo facilita la posterior unión y oxigenación de los cuatro grupos hemo de la hemoglobina.

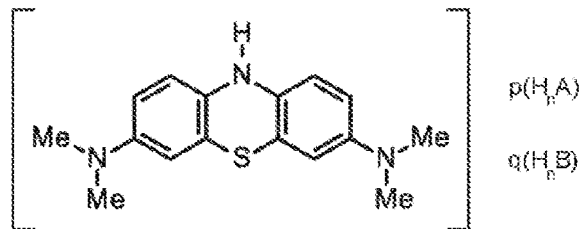
El documento WO2007/110627 divulgó determinadas sales de 3,7-diamino-10H-fenotiazinio, eficaces como fármacos o profármacos para el tratamiento de enfermedades, incluyendo la enfermedad de Alzheimer y otras enfermedades tales como la demencia frontotemporal (DFT), así como las enfermedades víricas en general. Estos compuestos también están en forma "reducida" o "leuco" cuando se consideran con respecto al MTC. Estos compuestos de leucometiltioninio se denominan sales "LMTX". El documento WO2012/107706 describió otras sales LMTX que tienen propiedades superiores a las sales LMTX enumeradas anteriormente, incluido el bis(hidrometanosulfonato) de leucometiltioninio (LMTM) (designación DCI de la OMS: hidrametiltionina):



No se han divulgado anteriormente LMTX para el tratamiento de la hipoxemia.

5 Así, en un aspecto se divulga un compuesto que contiene MT para usar en un método de tratamiento (o alivio) de la hipoxemia en un sujeto,

método que comprende administrar por vía oral a dicho sujeto un compuesto que contiene metiltioninio (MT), en donde dicha administración proporciona al sujeto una dosis oral diaria total de 0,5 mg a 250 mg de MT al día, opcionalmente dividido en 2 o más dosis,  
10 en donde el compuesto que contiene MT es un compuesto LMTX de la siguiente fórmula:



15 en donde cada uno de  $H_nA$  y  $H_nB$  (cuando están presentes) son ácidos próticos que pueden ser iguales o diferentes,  
y en donde  $p = 1$  o  $2$ ;  $q = 0$  o  $1$ ;  $n = 1$  o  $2$ ;  $(p + q) \times n = 2$ ,  
o un hidrato o solvato del mismo.

20 En algunas realizaciones, dicha administración proporciona al sujeto una dosis oral diaria total superior a 0,5, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50 o 60 mg e inferior o igual a 100, 150, 200 o 250 mg de MT al día, opcionalmente dividido en 2 o más dosis.

25 En una realización, dicha administración proporciona al sujeto una dosis oral diaria total superior a 35, 40, 50 o 60 mg e inferior o igual a 100, 150, 200 o 250 mg de MT al día, opcionalmente dividido en 2 o más dosis.

La dosis oral diaria total puede ser superior o igual a 30,5, 30,6, 31, 35, 37,5, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 200, 210, 220, 230, 240 o 250 mg.

30 La dosis oral diaria total puede ser de 60, 75 o 120 mg.

En algunas realizaciones puede preferirse utilizar una dosis relativamente baja, para minimizar cualquier riesgo de provocar Met-Hb al aliviar la hipoxemia. Como se explica en los ejemplos a continuación, incluso dosis tan bajas como 4 mg de MT suministrados como LMTX han mostrado beneficios clínicos.

35 Por tanto, la dosis total puede ser de aproximadamente cualquiera de 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4 mg a aproximadamente cualquiera de 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 mg.

Una dosis ilustrativa es de 1 a 20 mg.

40 Un ejemplo de dosis diaria total puede ser de aproximadamente 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, o 20 mg.

Una dosis ilustrativa adicional es de 2 a 15 mg.

45 La dosis total puede ser de aproximadamente cualquiera de 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4 mg a aproximadamente cualquiera de 5, 6, 7, 8, 9 o 10 mg.

Una dosis ilustrativa adicional es de 3 a 10 mg.

Una dosis preferida adicional es de 3,5 a 7 mg.

Una dosis preferida adicional es de 4 a 6 mg.

5 La dosis diaria total del compuesto puede administrarse como una dosis dividida dos veces al día o tres veces al día.

10 Tal como se explica a continuación, cuando se administra la dosis de MT dividida en un mayor número de dosis/día, se puede desear utilizar una cantidad total menor dentro del intervalo mencionado, en comparación con una sola dosis diaria, o una menor cantidad de dosis por día.

El sujeto a tratar puede caracterizarse o seleccionarse de acuerdo con determinados criterios.

15 Para la presente invención, el sujeto debe poder respirar y tragar si el tratamiento se va a administrar por vía oral.

Niveles de saturación de oxígeno en sangre ( $SpO_2$ ) en torno al 94 % o 95 % o superiores suelen considerarse normales.  $SpO_2 < 94$  % sugiere hipoxemia. Es probable que los pacientes con disnea con una saturación de  $\leq 92$  % al aire ambiente se encuentren en insuficiencia respiratoria. Para pacientes con enfermedades respiratorias leves, la  $SpO_2$  debe ser del 90 % o superior y preferentemente del 95 %.

20 Por lo tanto, el sujeto se caracteriza por que tiene una  $SpO_2$  inferior al 95 % en el aire ambiente, es decir, inferior o igual al 94 %, 93 %, 92 %, 91 % o del 90 %.

25 La invención comprende la etapa de seleccionar al sujeto según uno o más de estos criterios, por ejemplo, que tenga un valor de  $SpO_2$  como se ha descrito anteriormente. Así, el método de la invención puede comprender la determinación de la  $SpO_2$ , por ejemplo, mediante pulsioximetría. Así, en algunas realizaciones, el sujeto puede ser un ser humano al que se le ha diagnosticado hipoxemia ("confirmada"), o en donde dicho método comprende hacer dicho diagnóstico.

30 El paciente puede ser un ser humano adulto y las dosis basadas en la población descritas en el presente documento se basan en esa premisa (peso típico de 50 a 70 kg). Si se desea, las dosis correspondientes se pueden utilizar para sujetos que están fuera de este intervalo utilizando un factor de peso del sujeto mediante el cual el peso del sujeto se divide por 60 kg para proporcionar el factor multiplicativo para ese sujeto individual.

35 Como se ha indicado anteriormente, la  $SpO_2$  puede medirse convenientemente mediante pulsioximetría.

40 El principio de la pulsioximetría reside en las características de absorción de la luz roja e infrarroja de la hemoglobina oxigenada y desoxigenada. La sangre oxigenada absorbe más luz infrarroja y deja pasar más luz roja, mientras que la hemoglobina desoxigenada absorbe más luz roja y deja pasar más luz infrarroja.

Un pulsioxímetro tiene un transmisor que transmite luz roja e infrarroja a través de la parte del cuerpo (normalmente el dedo de la mano o del pie o el lóbulo de la oreja) y un fotodetector que detecta el porcentaje de hemoglobina oxigenada frente a la desoxigenada a través de la cual pasa la luz.

45 El dispositivo mide la variación de la absorbancia a cada una de las longitudes de onda, permitiéndole determinar la absorbancia debida únicamente a la sangre arterial pulsante, excluyendo la sangre venosa. El porcentaje de saturación de oxígeno calculado se denomina porcentaje  $SpO_2$ .

50 La principal indicación de la pulsioximetría es la evaluación de los pacientes con disnea, ya que proporciona información valiosa acerca de la gravedad de la dolencia.

55 La presente invención se refiere a métodos para tratar (aliviar) la hipoxemia en un sujeto, es decir, niveles bajos de oxígeno en sangre. Los métodos están previstos para mejorar la capacidad de transporte de oxígeno de la sangre y aumentar la saturación de oxígeno en la sangre. En algunas realizaciones, los métodos aumentan la saturación de oxígeno en las 4 horas siguientes a la administración. Como se divulga en el presente documento, el LMTM es capaz de aumentar la saturación de oxígeno en la sangre, aparentemente por un mecanismo nuevo no relacionado con sus efectos conocidos sobre la metHb.

60 Esto, a su vez, puede usarse para tratar afecciones que causan o resultan de la hipoxia (oxígeno disponible insuficiente para usar por los tejidos) o la anoxia (ausencia de oxígeno que llega al tejido).

Dado que se ha demostrado que la LMTX mejora directamente la hipoxemia, su causa patológica o medioambiental precisa no limita el alcance de la invención.

65 Por ejemplo, la hipoxemia puede ser anémica, en la que se ha reducido la capacidad de transporte de oxígeno de la sangre. Como alternativa puede ser hipoxemia hipóxica o hipoxemia estancada (ver Pittman RN. Regulation of Tissue

Oxygenation. San Rafael (CA): Morgan & Claypool Life Sciences; 2011).

5 Así pues, la hipoxemia o hipoxia puede deberse a otras causas distintas de la anemia, por ejemplo, causas pulmonares, causas cardiovasculares o causas ambientales (por ejemplo, neumonía, altitud elevada, enfermedad pulmonar crónica, aumento de la derivación por cardiopatía congénita, etc.).

Los métodos descritos en el presente documento pueden utilizarse para tratar enfermedades derivadas o resultantes de, hipoxemia, y en particular para tratar la hipoxemia en estas enfermedades.

10 Los métodos descritos en el presente documento pueden utilizarse para tratar a un sujeto diagnosticado con enfermedades derivadas o resultantes de, hipoxemia, y en particular para tratar la hipoxemia en estos sujetos.

15 Los métodos descritos en el presente documento pueden utilizarse para tratar a sujetos hipoxémicos que se seleccionan de acuerdo con el diagnóstico de enfermedades resultantes o derivadas de, hipoxemia, para aumentar la SpO<sub>2</sub>.

20 Los métodos descritos en el presente documento pueden utilizarse para tratar enfermedades que requieren oxigenoterapia a largo plazo. Entre los ejemplos se incluye la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, la fibrosis pulmonar, la insuficiencia cardíaca, el asma grave de larga duración, la hipertensión pulmonar y la fibrosis quística.

25 Los métodos descritos en el presente documento pueden utilizarse para tratar una enfermedad aguda, enfermedades pulmonares crónicas subyacentes, o enfermedades en las que el aporte tisular de oxígeno está alterado, por ejemplo, enfermedades cardiovasculares, y en particular para tratar la hipoxemia en estas enfermedades. Los ejemplos se muestran a continuación:

1. Enfermedad aguda	Lesión pulmonar: causada por un traumatismo o una infección, que puede ser bacteriana (por ejemplo, tuberculosis), vírica (gripe) o fúngica
	Disminución de la ventilación por lesión no pulmonar, por ejemplo, traumatismo craneal
2. Enfermedad pulmonar crónica subyacente	Enfisema
	Enfermedad pulmonar obstructiva crónica
	Asbestosis
	Enfermedad pulmonar intersticial (incluyendo la fibrosis pulmonar idiopática)
	Fibrosis quística
	Asma
3. Aporte en tejidos	Insuficiencia cardíaca congestiva
	Edema pulmonar
	Accidente cerebrovascular (fallo localizado del aporte de O <sub>2</sub> en el cerebro)
	Hipertensión pulmonar

30 En algunas realizaciones, los métodos de la invención se usan para tratar una o más de las siguientes enfermedades en las que está presente la hipoxemia: anemia (incluida la carencia de hierro); SDRA (síndrome de dificultad respiratoria aguda); asbestosis; asma; bronquitis; intoxicación por monóxido de carbono; hipoxia cerebral; hipoxia cerebral inducida por fuerzas G excesivas (G-LOC); defectos cardíacos congénitos en niños; cardiopatías congénitas en adultos; insuficiencia cardíaca congestiva; exacerbación de la EPOC (enfermedad pulmonar obstructiva crónica): empeoramiento de los síntomas; COVID-19; envenenamiento por cianuro; fibrosis quística; buceo en alta mar; enfisema; hipoxia histotóxica; entrenamiento en hipoventilación; insomnio; angioedema intermitente; enfermedad pulmonar intersticial; hipoxia intrauterina; hipoxia isquémica; lesión pulmonar, causada por un traumatismo o una infección, que pueden ser de origen bacteriano, vírico o fúngico; medicaciones, tales como ciertos narcóticos y anestésicos, que deprimen la respiración; neumonía; neumotórax (colapso pulmonar); edema pulmonar (exceso de líquido en los pulmones); embolia pulmonar (coágulo de sangre en una arteria del pulmón); fibrosis pulmonar (pulmones cicatrizados y dañados); hipertensión pulmonar; alcalosis respiratoria; apnea del sueño; accidentes isquémicos transitorios; tuberculosis; hipoxia tumoral.

La enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) es una enfermedad pulmonar inflamatoria crónica que provoca la obstrucción del flujo de aire de los pulmones (véase, por ejemplo, Halbert, R. J., *et al.* "Global burden of COPD: systematic review and meta-analysis." *European Respiratory Journal* 28.3 (2006): 523-532).

Algunos síntomas incluyen dificultad para respirar, tos, producción de mucosidad (esputo) y sibilancias. Normalmente está causada por la exposición prolongada a gases irritantes o partículas de materia, la mayoría de las veces por el humo de los cigarrillos. Las personas con EPOC corren un mayor riesgo de desarrollar enfermedades cardíacas, cáncer de pulmón y otras enfermedades.

El enfisema y la bronquitis crónica son las dos afecciones más comunes que contribuyen a la EPOC. Estas dos afecciones suelen presentarse juntas y pueden variar en gravedad entre las personas con EPOC.

La bronquitis crónica es la inflamación del revestimiento de los bronquios, que transportan el aire hacia y desde los alvéolos pulmonares. Se caracteriza por tos diaria y producción de mucosidad (esputo).

El enfisema es una afección en la que los alvéolos situados en el extremo de los conductos de aire más pequeños (bronquiolos) de los pulmones se destruyen como consecuencia de la exposición perjudicial al humo del tabaco y otros gases y partículas irritantes.

En una realización el sujeto es un ser humano al que se le ha diagnosticado que tiene COVID-19. El método puede comprender la realización de dicho diagnóstico.

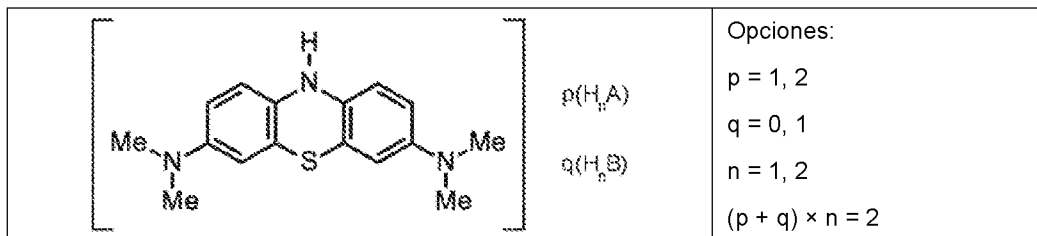
El diagnóstico de COVID-19 puede realizarse mediante cualquier método conocido en la técnica. Los ejemplos incluyen pruebas de laboratorio para detectar la presencia del virus SARS-CoV-2, por ejemplo, directamente basadas en la presencia del propio virus (por ejemplo, mediante RT-PCR y amplificación isotérmica del ácido nucleico, o la presencia de proteínas antigénicas) o indirectamente a través de anticuerpos producidos en respuesta a la infección. Otros métodos de diagnóstico incluyen la radiografía de tórax, opcionalmente junto con síntomas característicos como se describe a continuación (véase, por ejemplo, Li, Xiaowei, *et al.* "Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19." *Journal of Pharmaceutical Analysis* (2020); Fang, Yicheng, *et al.* "Sensitivity of chest CT for COVID-19: comparison to RT-PCR." *Radiology* (2020): 200432; Chan, Jasper Fuk-Woo, *et al.* "Improved Molecular Diagnosis of COVID-19 by the Novel, Highly Sensitive and Specific COVID-19-RdRp/HeI Real-Time Reverse Transcription-PCR Assay Validated *In Vitro* and with Clinical Specimens." *Journal of Clinical Microbiology* 58.5 (2020); Tang, Yi-Wei, *et al.* "The laboratory diagnosis of COVID-19 infection: current issues and challenges." *Journal of Clinical Microbiology* (2020).

En algunas realizaciones, la hipoxemia puede darse en un sujeto que no sufre deficiencia de alfa1-antitripsina (que puede provocar enfisema o cirrosis).

En algunas realizaciones, la hipoxemia puede producirse en un sujeto que no padece COVID-19, o, como alternativa, en dichos sujetos la dosis de MT puede ser al menos de 30 o 31 mg al día por vía oral.

Preferentemente, el compuesto de LMT es un compuesto de "LMTX" del tipo descrito en el documento WO2007/110627 o el documento WO2012/107706.

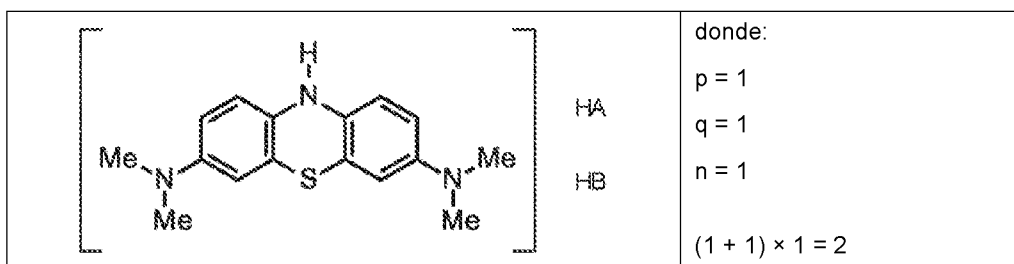
Por tanto, el compuesto puede seleccionarse entre compuestos de la siguiente fórmula, o hidratos o solvatos de los mismos:



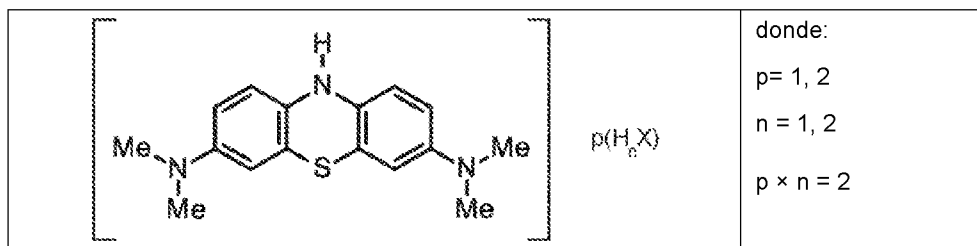
Cada uno de  $H_nA$  y  $H_nB$  (cuando están presentes) son ácidos próticos que pueden ser iguales o diferentes.

Por "ácido prótico" se entiende un donante de protones ( $H^+$ ) en solución acuosa. Dentro del ácido prótico A- o B- es, por tanto, una base conjugada. Por tanto, los ácidos próticos tienen un pH inferior a 7 en el agua (es decir, la concentración de iones de oxonio es superior que  $10^{-7}$  moles por litro).

En una realización, la sal es una sal mixta que tiene la siguiente fórmula, donde HA y HB son ácidos monopróticos diferentes:

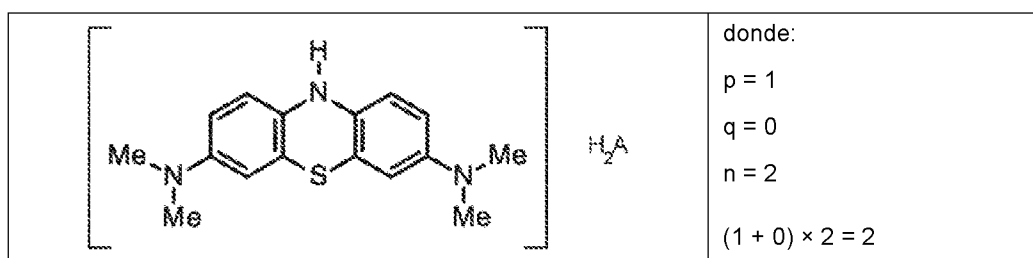


Sin embargo, preferentemente la sal no es una sal mixta y tiene la siguiente fórmula:

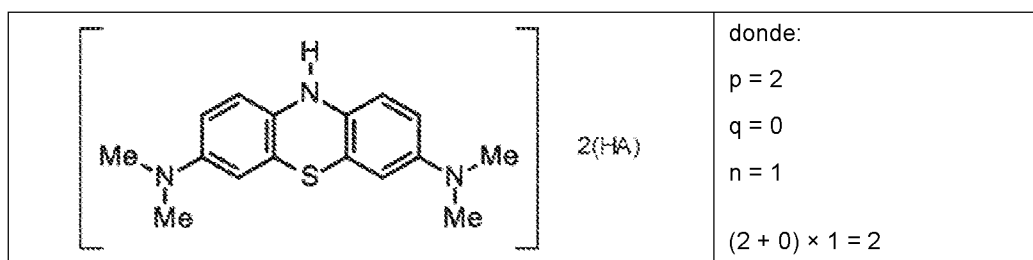


5 en donde cada uno de  $H_nX$  es un ácido prótico, tal como un ácido diprótico o ácido monoprótico.

En una realización, la sal tiene la siguiente fórmula, donde  $H_2A$  es un ácido diprótico:



10 Preferentemente, la sal tiene la siguiente fórmula que es un ácido bis monoprótico:



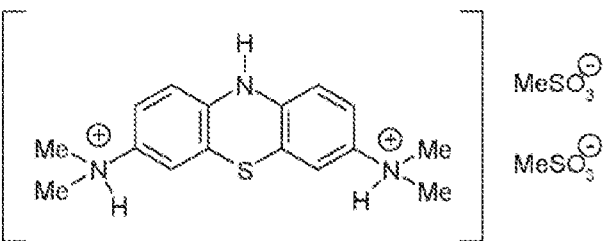
Ejemplos de ácidos próticos que pueden estar presentes en los compuestos de LMTX usados en el presente documento incluyen:

15 Ácidos inorgánicos: ácidos hidroháluros (por ejemplo, HCl, HBr), ácido nítrico ( $HNO_3$ ), ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ )

Ácidos orgánicos: ácido carbónico ( $H_2CO_3$ ), ácido acético ( $CH_3COOH$ ), ácido metanosulfónico, ácido 1,2-etanodisulfónico, ácido etanosulfónico, ácido naftalenodisulfónico, ácido p-toluenosulfónico,

20 Ácidos preferidos son el ácido monoprótico y la sal es una sal bis(ácido monoprótico).

Un compuesto de MT preferido es LMTM:

1		LMT.2MsOH (LMTM)	477,6 (1,67)
---	---	------------------	-----------------

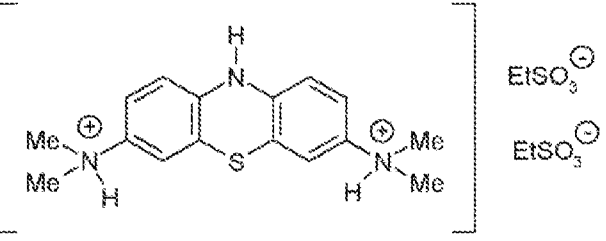
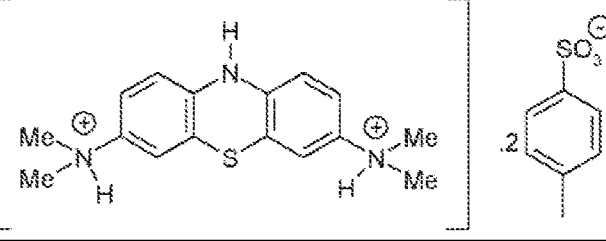
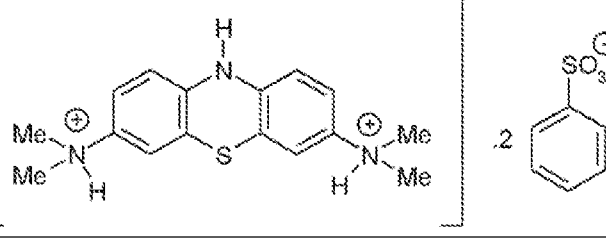
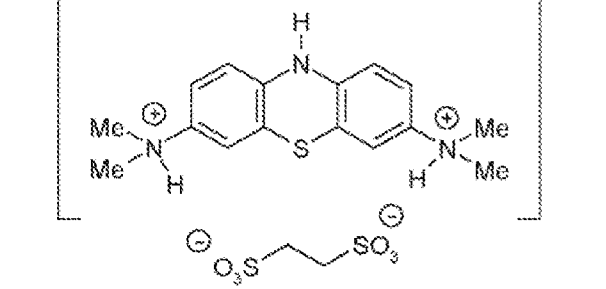
*Factores de peso*

5 La sal anhidra tiene un peso molecular de alrededor de 477,6. Basado en un peso molecular de 285,1 para el núcleo de LMT, el factor de peso para usar este compuesto de MT en la invención es 1,67. Por "factor de peso" se entiende el peso relativo del compuesto que contiene MT puro frente al peso de MT que contiene.

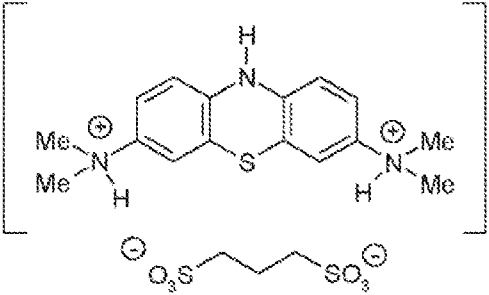
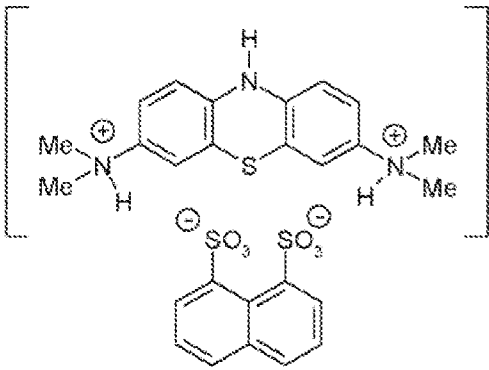
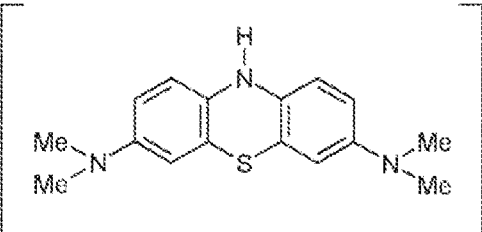
Se pueden calcular otros factores de peso, por ejemplo, para los compuestos de MT ilustrativos en el presente documento y a partir de ellos se pueden calcular los intervalos de dosificación correspondientes.

10

Otros ejemplos de compuestos de LMTX son los siguientes. También se muestra su peso molecular (anhidro) y factor de peso:

2		LMT.2EsOH	505,7 (1,77)
3		LMT.2TsOH	629,9 (2,20)
4		LMT.2BSA	601,8 (2,11)
5		LMT.EDSA	475,6 (1,66)

(continuación)

6		LMT.PDSA	489,6 (1,72)
7		LMT.NDSA	573,7 (2,01)
8		HCl HCl	358,33 (1,25)

Las dosis descritas en el presente documento con respecto a MT se aplican, por tanto, con los cambios que correspondan, para estos compuestos que contienen MT, ajustados por su peso molecular.

5

*Factores de acumulación*

Como apreciarán los expertos en la materia, para una dosis diaria dada, una dosificación más frecuente puede conducir a una mayor acumulación de un fármaco.

10

Por lo tanto, en determinadas realizaciones de la invención reivindicada, la cantidad total diaria dosificada del compuesto MT puede ser relativamente menor, cuando se administra con mayor frecuencia (por ejemplo, dos veces al día [bid] o tres veces al día [tid]), o mayor cuando se administra una vez al día [qd].

15 *Tratamiento y profilaxis*

El término "tratamiento", como se usa en el presente documento en el contexto del tratamiento de una afección, se refiere en general al tratamiento y la terapia, ya sea de un ser humano o de un animal (por ejemplo, en aplicaciones veterinarias), en el que se consigue algún efecto terapéutico deseado, por ejemplo, la inhibición del progreso de la afección, e incluye una reducción de la velocidad de progreso, una detención de la velocidad de progreso, la regresión de la afección, la mejora de la afección y la curación de la afección.

20

La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz", como se usa en el presente documento, se refiere a esa cantidad de un compuesto de la invención, o un material, composición o dosificación que comprende dicho compuesto, que es eficaz para producir algún efecto terapéutico deseado, acorde con una relación beneficio/riesgo razonable, cuando se administra de acuerdo con un régimen de tratamiento deseado. Los presentes inventores han demostrado que una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto MT con respecto a las enfermedades de la invención puede ser mucho menor de lo que se entendía hasta ahora en la técnica.

25

30 La invención también abarca el tratamiento como medida profiláctica.

La expresión "cantidad profilácticamente eficaz", como se usa en el presente documento, se refiere a esa cantidad de

un compuesto de la invención, o un material, composición o dosificación que comprende dicho compuesto, que es eficaz para producir algún efecto profiláctico deseado, acorde con una relación beneficio/riesgo razonable, cuando se administra de acuerdo con un régimen de tratamiento deseado.

5 "Profilaxis" en el contexto de la presente memoria descriptiva no se entenderá que circunscribe un éxito completo, es decir, protección completa o prevención completa. En el presente contexto, la profilaxis se refiere más bien a una medida que se administra con antelación a una afección o antes de que empeore, con el objetivo de preservar la salud ayudando a retrasar, mitigar o evitar esa afección particular.

#### 10 *Tratamientos combinados y monoterapia*

El término "tratamiento" incluye tratamientos y terapias combinados, en las que se combinan dos o más tratamientos o terapias, por ejemplo, de forma secuencial o simultánea. Estos pueden ser tratamientos sintomáticos o modificadores de la enfermedad.

15 La combinación particular quedaría a criterio del médico.

En tratamientos combinados, los agentes (es decir, un compuesto MT como se describe en el presente documento, más uno o más agentes adicionales) pueden administrarse simultánea o secuencialmente, y pueden administrarse en pautas de dosis que varían de forma individual, y a través de vías distintas. Por ejemplo, cuando se administran secuencialmente, los agentes pueden administrarse a intervalos estrechamente espaciados (por ejemplo, durante un periodo de 5-10 minutos) o a intervalos más largos (por ejemplo, separados 1, 2, 3, 4 o más horas, o incluso, cuando sea necesario, separados por períodos más largos), siendo la pauta posológica precisa proporcional a las propiedades del agente terapéutico (o agentes terapéuticos).

25 En algunas realizaciones la presente invención puede usarse junto con oxigenoterapia.

En algunas realizaciones la presente invención puede usarse junto con otro agente activador apropiado para una enfermedad o patología causante o resultante de hipoxemia o hipoxia.

30 En otras realizaciones el tratamiento es una "monoterapia", es decir, que el compuesto que contiene MT no se usa junto con otro agente activo (en el sentido antes expuesto).

#### 35 *Duración del tratamiento*

Para el tratamiento de la hipoxemia, un régimen de tratamiento basado en los compuestos MT descritos en el presente documento se prolongará preferentemente durante un periodo de tiempo sostenido adecuado a la enfermedad y los síntomas. La duración particular quedaría a criterio del médico.

40 Por ejemplo, la duración del tratamiento puede ser:

de 1 a 14, por ejemplo, de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 o 14 días.

De 1 a 4, por ejemplo, de 1, 2, 3 o 4 semanas.

45 En todos los casos, la duración del tratamiento generalmente estará sujeta al consejo y revisión del médico.

#### *Formas de dosificación farmacéutica*

50 El compuesto MT de la invención, o la composición farmacéutica que lo comprende, puede administrarse en el estómago de un sujeto/paciente por vía oral (o a través de una sonda nasogástrica).

Normalmente, en la práctica de la invención el compuesto se administrará como una composición que comprende el compuesto, y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

55 En algunas realizaciones, la composición es una composición farmacéutica (por ejemplo, formulación, preparación, medicamento) que comprende un compuesto como se describe en el presente documento, y un vehículo farmacéuticamente aceptable, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

60 La expresión "farmacéuticamente aceptable", como se usa en el presente documento, se refiere a compuestos, ingrediente, materiales, composiciones, las formas farmacéuticas, etc., que son, dentro del alcance de un buen criterio médico, adecuados para su uso en contacto con los tejidos del sujeto en cuestión (por ejemplo, un ser humano) sin una excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, acorde con una relación beneficio/riesgo razonable. Cada vehículo, diluyente, excipiente, etc. también debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la formulación.

65

En algunas realizaciones, la composición es una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto, como se describe en el presente documento, junto con uno o más de otros ingredientes farmacéuticamente aceptables bien conocidos por los expertos en la técnica, que incluyen, pero sin limitación, vehículos, diluyentes, excipientes, adyuvantes, cargas, tampones, conservantes, antioxidantes, lubricantes, estabilizantes, solubilizantes, tensioactivos (por ejemplo, agentes humectantes), agentes de enmascaramiento, agentes colorantes, agentes aromatizantes y agentes edulcorantes farmacéuticamente aceptables.

En algunas realizaciones, la composición comprende además otros agentes activos, por ejemplo, otros agentes terapéuticos o profilácticos.

Los vehículos, diluyentes, excipientes, etc. adecuados se pueden encontrar en textos farmacéuticos convencionales. Véase, por ejemplo, Handbook of Pharmaceutical Additives, 2.<sup>a</sup> edición (eds. M. Ash e I. Ash), 2001 (Synapse Information Resources, Inc., Endicott, New York, EE.UU.), Remington's Pharmaceutical Sciences, 20.<sup>a</sup> edición, pub. Lippincott, Williams & Wilkins, 2000; y Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2.<sup>a</sup> edición, 1994.

Un aspecto de la presente invención utiliza una unidad de dosificación (por ejemplo, un comprimido o cápsula farmacéutica) que comprende un compuesto MT como se describe en el presente documento (por ejemplo, obtenido por, u obtenible por, un método como se describe en el presente documento; que tiene una pureza como la descrita en el presente documento; etc.), y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

El "compuesto MT", aunque puede estar presente en cantidades relativamente bajas, es el agente activo de la unidad de dosificación, es decir, está previsto que tenga un efecto terapéutico o profiláctico con respecto a la hipoxemia. En su lugar, los demás ingredientes de la unidad de dosificación serán terapéuticamente inactivos, por ejemplo, vehículos, diluyentes o excipientes.

Por tanto, preferentemente, no habrá ningún otro principio activo en la unidad de dosificación, ni ningún otro agente destinado a tener un efecto terapéutico o profiláctico con respecto a un trastorno para el que se pretende utilizar la unidad de dosificación, que no sea en relación con los tratamientos combinados descritos en el presente documento.

En algunas realizaciones, la unidad de dosificación es un comprimido.

En algunas realizaciones, la unidad de dosificación es una cápsula.

En algunas realizaciones, dichas cápsulas son cápsulas de gelatina.

En algunas realizaciones, dichas cápsulas son cápsulas de HPMC (hidroxipropilmetilcelulosa).

La cantidad adecuada de MT en la composición dependerá de la frecuencia con que el sujeto la tome al día, o de cuántas unidades se tomen de una sola vez. Por lo tanto, las unidades de dosificación pueden contener individualmente menos de la dosis diaria total.

Una unidad de dosificación ilustrativa puede contener de 0,5 a 250 mg de MT.

En algunas realizaciones, la cantidad es de aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120 mg de MT.

Usando los factores de peso descritos o explicados en el presente documento, un experto en la materia puede seleccionar cantidades apropiadas de un compuesto que contiene MT para su uso en formulaciones orales.

Como se ha explicado anteriormente, el factor de peso de MT para LMTM es 1,67. Dado que es conveniente utilizar cantidades unitarias o fraccionarias simples de principios activos, las unidades de dosificación de LMTM ilustrativas no limitantes pueden incluir 17 mg, etc.

En una realización, se proporciona una composición farmacéutica unitaria de dosificación que comprende aproximadamente 17, 27, 34, 51 mg, etc. de LMTM.

#### *Etiquetas, instrucciones y kits de piezas*

Las composiciones de la presente memoria (compuesto LMTX más opcionalmente otros ingredientes) pueden suministrarse en un envase etiquetado junto con instrucciones de uso.

En una realización, el paquete es un frasco, como son bien conocidos en la materia farmacéutica. Una botella típica puede estar hecha de HDPE (polietileno de alta densidad) de calidad farmacopeica con un cierre a prueba de niños, cierre de pulsador de HDPE y contiene desecante de gel de sílice, que está presente en sobres o botes. El frasco en sí puede comprender una etiqueta y estar empaquetado en un recipiente de cartón con instrucciones para usar y, opcionalmente, una copia adicional de la etiqueta.

En una realización, el envase o envoltura es un blíster (preferentemente uno que tenga una cavidad de aluminio y una hoja de aluminio) que, por tanto, es sustancialmente impermeable a la humedad. En este caso, el envase puede ser empaquetado en un recipiente de cartón con instrucciones para usar y etiqueta en el recipiente.

5 Dicha etiqueta o instrucciones pueden proporcionar información relativa al tratamiento de la hipoxemia.

*Métodos de tratamiento*

10 Otro aspecto de la presente invención, como se ha explicado anteriormente, se refiere a un método de tratamiento de la hipoxemia que comprende administrar a un paciente que necesita tratamiento una cantidad profiláctica o terapéuticamente eficaz de un compuesto como se describe en el presente documento, preferentemente en forma de una composición farmacéutica.

15 *Uso en métodos de terapia*

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un compuesto o composición como se describe en el presente documento, para su uso en un método de tratamiento de la hipoxemia del cuerpo humano o animal mediante terapia.

20 *Uso en la fabricación de medicamentos*

Otro aspecto de la presente invención se refiere al uso de un compuesto o composición de MT como se describe en el presente documento, en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de la hipoxemia.

25 En algunas realizaciones, el medicamento es una composición, por ejemplo, una composición dosificadora, como se describe en el presente documento.

*Mezclas de compuestos de MT oxidados y reducidos*

30 Los compuestos que contienen LMT utilizados en la presente invención pueden incluir compuestos oxidados (MT<sup>+</sup>) como "impurezas" durante la síntesis, y también pueden oxidarse (por ejemplo, autooxidarse) después de la síntesis para dar las formas oxidadas correspondientes. Por tanto, es probable, si no es inevitable, que las composiciones que comprenden los compuestos de la presente invención contendrán, como impureza, al menos algo del correspondiente compuesto oxidado. Por ejemplo, una sal de "LMT" puede incluir hasta un 15 %, por ejemplo, de un 10 a un 15 % de sal de MT<sup>+</sup>.

Al usar compuestos MT mixtos, la dosis de MT puede calcularse fácilmente utilizando los factores de peso molecular de los compuestos presentes.

40 *Sales y solvatos*

Aunque los compuestos que contienen MT descritos en el presente documento son en sí mismos sales, también se pueden proporcionar en forma de una sal mixta (es decir, el compuesto de la invención en combinación con otra sal). Se pretende que dichas sales mixtas estén abarcadas por la expresión "y sales farmacéuticamente aceptables del mismo". Salvo que se indique lo contrario, una referencia a un compuesto particular también incluye las sales del mismo.

50 Los compuestos de la invención también se pueden proporcionar en forma de solvato o hidrato. El término "solvato" se usa en el presente documento en el sentido convencional para referirse a un complejo de soluto (por ejemplo, compuesto, sal del compuesto) y disolvente. Si el disolvente es agua, el solvato puede denominarse convenientemente como un hidrato, por ejemplo, un monohidrato, un dihidrato, un trihidrato, un pentahidrato, etc. Salvo que se indique lo contrario, cualquier referencia a un compuesto también incluye solvato y cualquier forma hidrato del mismo.

Naturalmente, los solvatos o hidratos de sales de los compuestos también están abarcados por la presente invención.

55 A lo largo de la presente memoria descriptiva, incluyendo las reivindicaciones a continuación, a menos que el contexto requiera otra cosa, la palabra "comprenden", y variaciones tales como "comprende" y "que comprende", se entenderá que implica la inclusión de un elemento integrante o etapa, o grupo de elementos integrantes o etapas, pero no la exclusión de ningún otro elemento integrante o etapa, o grupo de elementos integrantes o etapas.

60 Cabe señalar que, como se usa en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular "un", "una", "el" y "la" incluyen las referencias en plural a menos que el contexto dicte claramente otra cosa. Por tanto, por ejemplo, la referencia a "un vehículo farmacéutico" incluye mezclas de dos o más de dichos vehículos y similares.

65 En el presente documento los intervalos se expresan con frecuencia como desde "aproximadamente" un valor particular y/o hasta "aproximadamente" otro valor particular. Cuando se expresa un intervalo de este tipo, otra

realización incluye desde un valor particular y/o hasta el otro valor particular. De forma similar, cuando los valores se expresan como aproximaciones, mediante el uso del antecedente "aproximadamente", se entenderá que el valor particular constituye otra realización.

5 Todos los subtítulos en el presente documento se incluyen solo por comodidad, y no deben interpretarse como que limitan la divulgación de ninguna manera.

La invención se describirá ahora adicionalmente con referencia a las siguientes figuras y ejemplos no limitantes. Otras realizaciones de la invención se les ocurrirán a los expertos en la materia a la luz de estas.

10 **Figuras**

Figura 1: niveles de saturación de oxígeno en pacientes que reciben LMTX comparados antes de la dosis y después de 4 horas en fase clínica tras la administración de una dosis única de LMT de 4 mg y ~100 mg (medias de 75 mg, 100 mg, 125 mg). Los niveles se midieron antes de la dosis y 4 horas después de la dosis (posdosis).

Figura 2: los efectos del LMTM sobre los niveles de SpO<sub>2</sub> durante 4 horas fueron independientes de cualquier efecto correspondiente sobre la metHb

20 Figura 3: el LMTM a dosis elevadas durante un periodo de tiempo aumenta sistemáticamente los niveles de metHb.

Figura 4: modelización química computacional de la interacción de alta afinidad LMT/MT<sup>+</sup>-hemo.

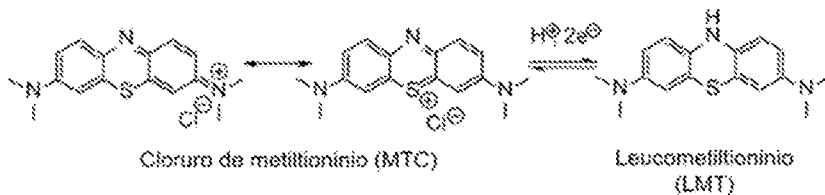
Figuras 5-9: ilustra el mecanismo de acción propuesto para el LMT en la mejora de la unión de O<sub>2</sub> por la hemoglobina, como se explica a continuación en el Ejemplo 4 en el presente documento.

**Ejemplo 1 - Cloruro de metiltioninio (MTC) y LMTX**

30 El MTC (cloruro de metiltioninio, azul de metileno) está disponible como medicamento desde 1876. Figura en la lista de medicamentos esenciales de la Organización Mundial de la Salud, que es una lista de los medicamentos más seguros y eficaces de un sistema sanitario.

35 El MTC se ha aplicado anteriormente en muchas áreas de la medicina clínica, incluido el tratamiento de la metahemoglobinemia, paludismo, nefrolitiasis, trastorno bipolar, encefalopatía por ifosfamida y, más recientemente, en la enfermedad de Alzheimer (EA; Wischik *et al.*, 2015; Nedu *et al.* 2020).

La fracción MT puede existir en la forma oxidada MT<sup>+</sup> y en la forma reducida LMT (Harrington *et al.*, 2015;).



40 El MTC es la sal de cloruro de la forma oxidada MT<sup>+</sup>. Es necesario convertirla en la forma leuco-MT reducida (LMT; denominación común internacional: hidrametiltionina) por una actividad tiazina colorante reductasa en el intestino para permitir su absorción y distribución a compartimentos profundos, incluidos los glóbulos rojos y el cerebro (Baddeley *et al.*, 2015). De manera análoga, en preparaciones de eritrocitos aislados, el MT<sup>+</sup> debe convertirse en LMT para permitir su captación tanto en los glóbulos rojos (May *et al.*, 2004) como en las células endoteliales pulmonares (Merker *et al.*, 1997).

45 Dado que el MTC es en realidad un profármaco del LMT, la forma predominante en el organismo, TauRx desarrolló una forma reducida estabilizada de MT como LMTM (bis(hidrometanosulfonato) de leuco-metiltioninio); mesilato de hidrametiltionina) para permitir la administración directa de la forma LMT.

La síntesis de los compuestos LMTX y LMTM puede realizarse según los métodos descritos en la técnica (véanse, por ejemplo, los documentos WO2007/110627 y WO2012/107706).

55 **Ejemplo 2 - LMTX mejora la saturación de oxígeno en un ensayo clínico**

Los presentes inventores han utilizado los datos disponibles de los pacientes que participan en ensayos clínicos para determinar si la LMT mejora la saturación de oxígeno de la sangre. Se disponía de datos de 18 sujetos con una saturación de oxígeno <94 % al inicio del estudio (el límite inferior del intervalo normal es del 95 %).

60

Estos pacientes registraban diversas afecciones respiratorias o de otro tipo de diversa gravedad que se sospechaba podían haber contribuido a la hipoxemia detectada, incluida la apnea del sueño, insomnio (que puede ser indicativo de disnea paroxística nocturna o disnea paroxística nocturna), asbestosis, edema, asma, bronquitis, alergias, angioedema, neumonía, infarto agudo de miocardio/hipertensión, enfermedad arterial coronaria con angioplastia e inserción de stent, ataques isquémicos transitorios (AIT), hipotiroidismo, diabetes, síncope, taquicardia y sepsis.

Esto se muestra en la Tabla 1:

Tabla 1: Historia clínica de sujetos de ensayos clínicos que presentan una baja saturación de oxígeno.

Sujeto	Tipo clínico respiratorio/ventilación	Condiciones clínicas agravantes <sup>1</sup>
1	Apnea del sueño (sin fecha)	hipotiroidismo/diabetes
2	Insomnio (sin fecha)	A menudo es un signo de apnea obstructiva del sueño o de otras condiciones de hipoxia leve, tales como la disnea paroxística nocturna
3		Hipertensión/BRI, bloqueo de la rama izquierda; HVI, hipertrofia del ventrículo izquierdo.
4	Asbestosis (sin fecha)	
5	Edema (sin fecha)	A menudo es un signo de insuficiencia cardiaca derecha o insuficiencia cardiaca congestiva/también puede ser un simple edema por sedentarismo
6		Hipertensión/BRI/HVI
7		Infarto agudo de miocardio/Hipertensión
8		Hipertensión
9		Hipertensión/Enfermedad arterial coronaria con angioplastia e inserción de stent
10 <sup>2</sup>		
11 <sup>2</sup>		
12	Asma infantil Apnea del sueño con uvulectomía (2006)	
13	Bronquitis (2007) Alergias estacionales (2009) Anemia (2012)	
14		Hipertensión/Arteriopatía carotídea con inserción de stent (1996)
15		Infarto agudo de miocardio con inserción de stent (2011)
16 <sup>2</sup>		
17		Accidente isquémico transitorio (2004)/Hipertensión (2012)
18	Asma infantil Angioedema intermitente (2013) Insomnio ocasional (sin fecha) Neumonía (sin fecha)	Hipertensión/hipotiroidismo/síncope/taquicardia/sepsis

<sup>1</sup> Afecciones clínicas agravantes que también pueden causar hipoxia si son suficientemente graves o crónicas.  
<sup>2</sup> Tres pacientes no presentaban factores predisponentes en su historial clínico.

Se compararon los niveles de saturación de oxígeno antes de la dosis y después de 4 horas en fase clínica tras la administración de una dosis única de LMT de 4 mg y ~100 mg (medias de 75, 100, 125 mg; Fig. 1).

El LMTM en ambos intervalos de dosis aumentó significativamente la saturación de oxígeno a las 4 horas, respaldando de nuevo los múltiples modos de acción beneficiosos de la LTMX para el tratamiento de los pacientes con COVID-19.

Para comprender mejor este efecto, los inventores investigaron si la baja saturación de oxígeno en estos pacientes se

debe a la elevación de los niveles de metHb. No hubo diferencias en los niveles de metHb al inicio del estudio entre los sujetos con SpO<sub>2</sub> baja y aquellos con niveles de SpO<sub>2</sub> en el intervalo normal. Además, los efectos sobre el LMTM en los niveles de SpO<sub>2</sub> durante 4 horas fueron independientes de cualquier efecto correspondiente sobre la metHb (Fig 2).

Por consiguiente, el LMTM es capaz de actuar sobre la hemoglobina en un intervalo de dosis de tal manera que aumenta la saturación de oxígeno en la sangre mediante un mecanismo novedoso no relacionado con sus efectos conocidos sobre la metHb. De hecho, el LMTM a dosis más altas aumenta sistemáticamente los niveles de metHb (Fig 3).

### **Ejemplo 3 - MT y metahemoglobinemia**

La metahemoglobinemia es el resultado de la oxidación del hierro contenido en la hemoglobina desde la forma ferrosa (Fe<sup>2+</sup>) a la férrica (Fe<sup>3+</sup>). La oxidación se asocia a una disminución de la capacidad de la hemoglobina para transportar oxígeno de forma eficaz (Curry *et al.*, 1982). Esto se debe a que la unión del oxígeno a la metHb es irreversible en una subunidad de hemoglobina determinada. Sin embargo, la unión en una de las cuatro unidades del tetrámero de hemoglobina aumenta la afinidad de unión al oxígeno en otros miembros mediante cambios estructurales en la globina (mecanismo de cooperatividad). El resultado es un aumento general de la afinidad de fijación del oxígeno y un aumento de la saturación de oxígeno, o un desplazamiento hacia la izquierda de la curva de saturación de oxígeno-hemoglobina. Dado que la unión del di-oxígeno al hierro hemo es irreversible, hay una menor capacidad de la hemoglobina para liberar oxígeno a los tejidos hipóxicos. El resultado es una hipoxia tisular neta sin reducción de la SpO<sub>2</sub>.

El MTC es el principal tratamiento para la metahemoglobinemia y, de hecho, representa la única indicación aprobada para su uso clínico. La forma oxidada MT<sup>+</sup> de metiltionina administrada como MTC se reduce primero a LMT en la superficie celular como requisito previo para la entrada de glóbulos rojos (May *et al.*, 2004). A continuación, el LMT es la especie activa en el sitio hemo, formando una coordinación con el hierro hemo y permitiendo transferir un electrón que convierte el Fe<sup>3+</sup> en Fe<sup>2+</sup>. Esto restablece la capacidad normal de transporte de oxígeno (Yubisui *et al.*, 1980; Blank *et al.*, 2012). Se trata, por tanto, de una reacción redox que da lugar a la oxidación de LMT a MT<sup>+</sup>. El LMT se regenera a partir del MT<sup>+</sup> mediante una reacción redox con el NADPH, que a su vez se regenera a partir del NADP mediante la glucólisis en curso en el eritrocito. En condiciones que superan la capacidad reductora de los eritrocitos (por ejemplo, dosis elevadas de LMTX o una deficiencia de G6PD que perjudica la eficacia de la glucólisis), la LMTX puede inducir metahemoglobinemia. En ambos casos, la fracción LMT actúa como un transportador de electrones dentro del eritrocito, como ocurre también en otros sistemas (por ejemplo, en la cadena de transporte de electrones de las mitocondrias).

El modelado químico computacional mostrado en la Fig. 4 proporciona una base estructural que explica la dinámica de la interacción de alta afinidad LMT/MT<sup>+</sup>-hemo. El nitrógeno LMT se orienta hacia el Fe<sup>3+</sup> de la hemoporfirina dentro de 2,1 Å (línea de puntos en la Figura 1). Esta estrecha interacción facilita a continuación la transferencia de un electrón desde la LMT al Fe<sup>3+</sup>, reduciéndolo de este modo a Fe<sup>2+</sup> y la consiguiente formación de MT<sup>+</sup>. Por el contrario, en condiciones de glucólisis alterada o niveles elevados de LMT/MT, la misma interacción de unión con el hemo permite transferir un electrón desde el Fe<sup>2+</sup> al MT<sup>+</sup> produciendo Fe<sup>3+</sup> y LMT, respectivamente.

Dado que la LMT es la forma activa, las pruebas clínicas anteriores indican que esta interacción LMT-hemo facilita la captación de oxígeno por la hemoglobina. Por el contrario, la evidencia clínica disponible también muestra que el LMT a concentraciones elevadas (asociada a dosis orales en el intervalo de 150-250 mg/día) puede producir un aumento medible de los niveles de metHb, pero al mismo tiempo también aumentan los niveles de SpO<sub>2</sub>. Por lo tanto, se deduce que los efectos del LMT sobre la SpO<sub>2</sub> no pueden estar mediados por efectos sobre los niveles de metHb.

### **Ejemplo 4 - Mecanismo propuesto para el efecto de la SpO<sub>2</sub> del LMT**

Sin desear quedar ligados a teoría alguna, los inventores proponen el posible mecanismo de las pruebas clínicas observadas descritas en el presente documento.

Cuando la Hb está en estado desoxigenado, el hemo se encuentra en el estado T abovedado con el Fe no totalmente acomodado en el anillo de tetrapirrol, y está sujeto por dos histidinas (His 87 en la subunidad alfa/His 92 en la subunidad beta e His 58 en la subunidad alfa/His 63 en la subunidad beta). En este estado, el radio iónico del hierro, que está en un estado Fe (II) de alto espín, es demasiado grande (radio 2,06 Å) para encajar en el anillo de nitrógenos con el que se coordina; se encuentra 0,6 Å fuera del plano del anillo (Fig 5).

Cuando el O<sub>2</sub> se une al grupo hemo asume el estado R, se vuelve plana y el ion de hierro se sitúa en el plano del anillo, tal cual se encuentra en un estado Fe (II) de bajo espín con un radio más pequeño (1,98 Å). Las seis posiciones de coordinación del ion están ocupadas: la molécula de oxígeno unida representa la sexta. Cuando el O<sub>2</sub> se une al Fe<sup>2+</sup>, desplaza la histidina distal y estabiliza la fracción hemo en el estado R plano (Fig. 6).

La unión del oxígeno por la hemoglobina es cooperativa. Como la hemoglobina se une a sucesivos oxígenos, aumenta la afinidad de las subunidades por el oxígeno. La afinidad de unión del cuarto oxígeno es aproximadamente 300 veces

mayor que la del primero. El resultado es la curva sigmoidea de saturación de oxígeno (Fig 7).

Se estima que el MT se une al Fe del hemo con un factor de campo estimado de 1,2-1,5. El LMT se une con gran afinidad. El factor de campo del LMT es suficiente para unirse al Fe<sup>2+</sup> (potencialmente factor f de 1,2-1,5; CK Jorgensen, Oxidation numbers and oxidation states, Springer 1969 pp84-85). Por lo tanto, el MT es un fuerte ligando de campo y es capaz de unirse suficientemente al hemo para inducir una configuración de estado R dentro de la proteína (Fig 8A y 8B). La fracción MT es capaz de formar un complejo con el Fe<sup>2+</sup> por donación de electrones de par solitario desde el átomo N a los orbitales d del hierro ferroso (Molecules 2013, 18(3), 3168-3182; <https://doi.org/10.3390/molecules18033168>)

Por consiguiente, la unión del LMT supera la barrera energética inicial para la unión del oxígeno, que a partir de entonces es capaz de unirse y oxigenar los cuatro grupos hemo de la hemoglobina.

El complejo de coordinación de iones Fe<sup>2+</sup> se completa mediante la unión a cuatro átomos de nitrógeno en los anillos de pirrol, y un quinto ligando es suministrado por la histidina proximal de la hemoglobina. En ausencia de O<sub>2</sub>, el sexto ligando de coordinación está vacante, y la geometría del complejo es piramidal cuadrada con el Fe<sup>2+</sup> por encima del plano del anillo hemo dando lugar a la geometría abovedada característica del estado desoxi T. Tras la unión de O<sub>2</sub> en el sexto sitio de coordinación, el Fe<sup>2+</sup> se sitúa en el plano del anillo, dando lugar a una geometría octaédrica. Es probable que el LMT induzca una transición al estado R plano y, por tanto, facilite la unión al oxígeno mediante el mecanismo de cooperatividad. Sin embargo, la unión de LMT no es óptima y produce un sutil cambio conformacional en la hemoglobina que potencialmente perturba la orientación del complejo de coordinación octaédrico respecto a la geometría óptima. La geometría no óptima de la coordinación del LMT en comparación con el oxígeno hace que el oxígeno se una al hemo con mayor afinidad que el LMT. Mientras que la distancia de unión entre el nitrógeno LMT y el hierro hemo es de 2,10 Å, la distancia de enlace correspondiente para el oxígeno es de 1,98 Å. Por consiguiente, el oxígeno es capaz de desplazar al LMT cuando está disponible a pH alto/pCO<sub>2</sub> baja. Esto permite que se produzca una disociación normal del oxígeno con liberación del oxígeno ligado a los tejidos periféricos a pH bajo/pCO<sub>2</sub> alta (Fig (9)).

#### Referencias

Atamna, H., y Kumar, R. (2010). Protective role of methylene blue in Alzheimer's disease via mitochondria and cytochrome c oxidase. En el Journal of Alzheimer's Disease (Vol. 20, Núm. SUPPL.2). <https://doi.org/10.3233/JAD-2010-100414>

Baddeley, T. C., McCaffrey, J., M. D. Storey, J., Cheung, J. K. S., Melis, V., Horsley, D., Harrington, C. R., y Wischik, C. M. (2015). Complex Disposition of Methylthioninium Redox Forms Determines Efficacy in Tau Aggregation Inhibitor Therapy for Alzheimer's Disease. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 352(1), 110-118. <https://doi.org/10.1124/jpet.114.219352>

Baig, A. M., Khaleeq, A., Ali, U., y Syeda, H. (2020). Evidence of the COVID-19 Virus Targeting the CNS: Tissue Distribution, Host-Virus Interaction, and Proposed Neurotropic Mechanisms. En ACS Chemical Neuroscience (Vol. 11, Núm. 7, pp. 995-998). <https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.0c00122>

Blank, O., Davioud-Charvet, E., y Elhabiri, M. (2012). Interactions of the Antimalarial Drug Methylene Blue with Methemoglobin and Heme Targets in Plasmodium falciparum: A Physico-Biochemical Study. Antioxidants & Redox Signaling, 17(4), 544-554. <https://doi.org/10.1089/ars.2011.4239>

Bojadzic, D., Alcazar, O., y Buchwald, P. (2020). Methylene Blue Inhibits *In Vitro* the SARS-CoV-2 Spike-ACE2 Protein-Protein Interaction-A Mechanism That Can Contribute to Its Antiviral Activity Against COVID-19. BioRxiv, 2020.08.29.273441. <https://doi.org/10.1101/2020.08.29.273441>

Cagno, V., Medaglia, C., Cerny, A., Cerny, T., y Cerny, E. (2020). Methylene Blue has a potent antiviral activity against SARS-CoV-2 in the absence of UV-activation *in vitro*. BioRxiv, 2020.08.14.251090. <https://doi.org/10.1101/2020.08.14.251090>

Curry S. Methemoglobinemia. Ann Emerg Med. 1982. 2:214-21

De Felice, F. G., Tovar-Moll, F., Moll, J., Munoz, D. P., y Ferreira, S. T. (2020). Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and the Central Nervous System. En Trends in Neurosciences (Vol. 43, Número 6, pp. 355-357). <https://doi.org/10.1016/j.tins.2020.04.004>

de la Vega, M. R., Dodson, M., Gross, C., Mansour, H. M., Lantz, R. C., Chapman, E., Wang, T., Black, S. M., Garcia, J. G. N., & Zhang, D. D. (2016). Role of Nrf2 and Autophagy in Acute Lung Injury. En Current Pharmacology Reports (Vol. 2, Número 2, pp. 91-101). <https://doi.org/10.1007/s40495-016-0053-2>

Gureev, A. P., Syromyatnikov, M. Y., Gorbacheva, T. M., Starkov, A. A., y Popov, V. N. (2016). Methylene blue improves sensorimotor phenotype and decreases anxiety in parallel with activating brain mitochondria biogenesis

- in mid-age mice. *Neuroscience Research*, 113, 19-27. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2016.07.006>
- 5 Guzzi, P. H., Mercatelli, D., Ceraolo, C., y Giorgi, F. M. (2020). Master Regulator Analysis of the SARS-CoV-2/Human Interactome. *Journal of Clinical Medicine*, 9(4), 982. <https://doi.org/10.3390/jcm9040982>
- 10 Harrington, C. R., Storey, J. M. D., Clunas, S., Harrington, K. A., Horsley, D., Ishaq, A., Kemp, S. J., Larch, C. P., Marshall, C., Nicoll, S. L., Rickard, J. E., Simpson, M., Sinclair, J. P., Storey, L. J., y Wischik, C. M. (2015). Cellular Models of Aggregation-dependent Template-directed Proteolysis to Characterize Tau Aggregation Inhibitors for Treatment of Alzheimer Disease. *Journal of Biological Chemistry*, 290(17), 10862-10875. <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.616029>
- 15 May, J. M., Qu, Z. C., y Cobb, C. E. (2004). Reduction and uptake of methylene blue by human erythrocytes. *American Journal of Physiology - Cell Physiology*, 286(6 55-6). <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00512.2003>
- 20 Mehta G, Mawdsley A *et al.*, the effect of oral methylene blue on viral load in chronic hepatitis C infection. Póster presentado en la reunión de la Asociación Británica para el Estudio del Hígado (BASL). Sept. 2006, Dublín, Irlanda.
- Melchinger, H., Jain, K., Tyagi, T., y Hwa, J. (2019). Role of Platelet Mitochondria: Life in a Nucleus-Free Zone. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 6. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2019.00153>
- 25 Merker, M. P., Bongard, R. D., Linehan, J. H., Okamoto, Y., Vyprachticky, D., Brantmeier, B. M., Roerig, D. L., y Dawson, C. A. (1997). Pulmonary endothelial thiazine uptake: Separation of cell surface reduction from intracellular reoxidation. *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology*, 272(4 16-4). <https://doi.org/10.1152/ajplung.1997.272.4.1673>
- 30 Mohr, H., Bachmann, B., Klein-Struckmeier, A., y Lambrecht, B. (1997). Virus inactivation of blood products by phenothiazine dyes and light. *Photochemistry and Photobiology*, 65(3), 441-445. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1997.tb08586.x>
- 35 Müller-Breitkreutz, K., y Mohr, H. (1998). Hepatitis C and human immunodeficiency virus RNA degradation by methylene blue/light treatment of human plasma. *Journal of Medical Virology*, 56(3), 239-245. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9071\(199811\)56:3<239::AID-JMV11>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9071(199811)56:3<239::AID-JMV11>3.0.CO;2-9)
- 40 Naymagon, L., Berwick, S., Kessler, A., Lancman, G., Gidwani, U., y Troy, K. (2020). The emergence of methemoglobinemia amidst the COVID-19 pandemic. *Am J Hematol*, 95, E196-E19. <https://doi.org/10.1002/ajh.25868>
- 45 Nedu, M. E., Tertis, M., Cristea, C., y Georgescu, A. V. (2020). Comparative study regarding the properties of methylene blue and proflavine and their optimal concentrations for *in vitro* and *in vivo* applications. *En Diagnostics (Vol. 10, número 4)*. <https://doi.org/10.3390/diagnostics10040223>
- 50 Ramani, A., Müller, L., Ostermann, P. N., Gabriel, E., Abida-Islam, P., Müller-Schiffmann, A., Mariappan, A., Goureau, O., Gruell, H., Walker, A., Andrée, M., Hauka, S., Houwaart, T., Dilthey, A., Wohlgemuth, K., Omran, H., Klein, F., Wiczorek, D., Adams, O., ... Gopalakrishnan, J. (2020). SARS-CoV-2 targets cortical neurons of 3D human brain organoids and shows neurodegeneration-like effects. *BioRxiv (Preprint)*, 2020.05.20.106575. <https://doi.org/10.1101/2020.05.20.106575>
- 55 Riedel, G., Klein, J., Niewiadomska, G., Kondak, C., Schwab, K., Lauer, D., Magbagbeolu, M., Steczkowska, M., Zadrozny, M., Wydrych, M., Cranston, A., Melis, V., Santos, R. X., Theuring, F., Harrington, C. R., y Wischik, C. M. (2020). Mechanisms of Anticholinesterase Interference with Tau Aggregation Inhibitor Activity in a Tau-Transgenic Mouse Model. *Current Alzheimer Research*, 17(3), 285-296. <https://doi.org/10.2174/1567205017666200224120926>
- 60 Rodriguez, P., Jiang, Z., Huang, S., Shen, Q., y Duong, T. Q. (2014). Methylene blue treatment delays progression of perfusion-diffusion mismatch to infarct in permanent ischemic stroke. *Brain Research*, 1588, 144-149. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2014.09.007>
- 65 Saleh, J., Peyssonnaud, C., Singh, K.C., y Edeas, M. (2020). Mitochondria and microbiota dysfunction in COVID-19 pathogenesis. *Mitochondrion*, 54, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.mito.2020.06.008>
- Schelter, B. O., Shiells, H., Baddeley, T. C., Rubino, C. M., Ganesan, H., Hammel, J., Vuksanovic, V., Staff, R. T., Murray, A. D., Bracoud, L., Riedel, G., Gauthier, S., Jia, J., Bentham, P., Kook, K., Storey, J. M. D., Harrington, C. R., y Wischik, C. M. (2019). Concentration-Dependent Activity of Hydromethylthionine on Cognitive Decline and Brain Atrophy in Mild to Moderate Alzheimer's Disease. *Journal Of Alzheimer's Disease*, 72(3), 931-946. <https://doi.org/10.3233/JAD-190772>

- Singh, K. K., Chaubey, G., Chen, J. Y., y Suravajhala, P. (2020). Decoding sars-cov-2 hijacking of host mitochondria in covid-19 pathogenesis. En *American Journal of Physiology - Cell Physiology* (Vol. 319, Número 2, pp. C258-C267). <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00224.2020>
- 5 Stack, C., Jainuddin, S., Elipenahli, C., Gerges, M., Starkova, N., Starkov, A. A., Jové, M., Portero-Otin, M., Launay, N., Pujol, A., Kaidery, N. A., Thomas, B., Tampellini, D., Flint Beal, M., y Dumont, M. (2014). Methylene blue upregulates Nrf2/ARE genes and prevents tau-related neurotoxicity. *Human Molecular Genetics*, 23(14), 3716-3732. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddu080>
- 10 Wang, M., Cao, R., Zhang, L., Yang, X., Liu, J., Xu, M., Shi, Z., Hu, Z., Zhong, W., y Xiao, G. (2020). Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) *in vitro*. *Cell Res*, 30(3), 269-271. <https://doi.org/10.1038/s41422-020-0282-0>
- 15 Wischik, C. M., Edwards, P. C., Lai, R. Y. K., Roth, M., y Harrington, C. R. (1996). Selective inhibition of Alzheimer disease-like tau aggregation by phenothiazines. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(20), 11213-11218. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.20.11213>
- 20 Wischik, C. M., Staff, R. T., Wischik, D. J., Bentham, P., Murray, A. D., Storey, J. M. D., Kook, K. A., y Harrington, C. R. (2015). Tau Aggregation Inhibitor Therapy: An Exploratory Phase 2 Study in Mild or Moderate Alzheimer's Disease. *Journal Of Alzheimer's Disease*, 44(2), 705-720. <https://doi.org/10.3233/JAD-142874>
- Wood C, Nagy H. Methylene blue therapy of viral disease. US20060264423 A1, Oficina Estadounidense de Patentes y Marcas, 19 de mayo de 2006.
- 25 Yao, X., Ye, F., Zhang, M., Cui, C., Huang, B., Niu, P., Liu, X., Zhao, L., Dong, E., Song, C., Zhan, S., Lu, R., Li, H., Tan, W y Liu, D. (2020). *In Vitro* Antiviral Activity and Projection of Optimized Dosing Design of Hydroxychloroquine for the Treatment of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Clin Infect Dis*, 71(15), 732-739. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa237>
- 30 Yubisui T, Takeshita M, Yoneyama Y. Reduction of methemoglobin through flavin at the physiological concentration by NADPH-flavin reductase of human erythrocytes. *J Biochem*. 1980. 87(6): 1715-20.
- 35 Zhou, H., Lu, S., Chen, J., Wei, N., Wang, D., Lyu, H., Shi, C., y Hua, S. (2020). The landscape of cognitive function in recovered COVID-19 patients. *J Psychiatr Res*. 129, 98-102. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2020.06.022>

REIVINDICACIONES

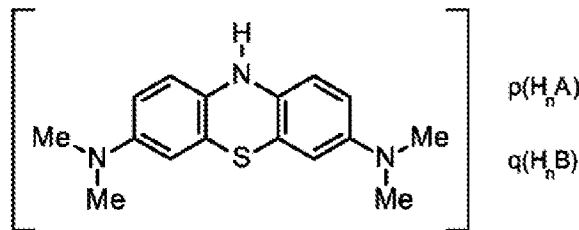
1. Un compuesto que contiene MT para su uso en un método para aliviar la hipoxemia en un sujeto,

5 en donde el sujeto tiene un nivel de saturación de oxígeno en sangre (SpO<sub>2</sub>) inferior al 95 % en aire ambiente, opcionalmente inferior o igual al 94 %, 93 %, 92 %, 91 % o del 90 %, cuyo método comprende

- 10 (i) seleccionar al sujeto en función de su valor de SpO<sub>2</sub>;  
 (ii) administrar por vía oral a dicho sujeto un compuesto que contiene metiltioninio (MT),

en donde dicha administración proporciona al sujeto una dosis oral diaria total de 0,5 mg a 250 mg de MT al día, opcionalmente dividido en 2 o más dosis, en donde el compuesto que contiene MT tiene la fórmula siguiente:

15



en donde cada uno de H<sub>n</sub>A y H<sub>n</sub>B (cuando están presentes) son ácidos próticos que pueden ser iguales o diferentes,  
 20 y en donde p = 1 o 2; q = 0 o 1; n = 1 o 2; (p + q) × n = 2, o un hidrato o un solvato del mismo.

2. El compuesto para su uso según la reivindicación 1, en donde la dosis diaria total es:

- 25 (i) superior a 35, 40, 50 o 60 mg e inferior o igual a 250 mg de MT al sujeto por día; y/o  
 (ii) superior o igual a aproximadamente 30,5, 30,6, 31, 35, 37,5, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 200, 210, 220, 230, 240, o 250 mg de MT.

3. El compuesto para su uso según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde la dosis diaria total es de aproximadamente 60, 75 o 120 mg de MT.

4. El compuesto para su uso según la reivindicación 1, en donde la dosis diaria total es de aproximadamente cualquiera de 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4 mg a aproximadamente cualquiera de 5, 6, 7, 8, 9, 10 mg.

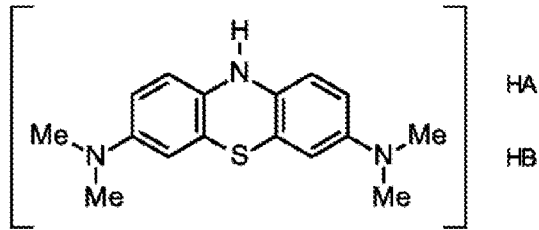
35 5. El compuesto para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde la dosis diaria total del compuesto se administra como dosis dividida dos veces al día.

6. El compuesto para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde el sujeto se selecciona adicionalmente entre: un sujeto hipotenso cuya PA sistólica sea inferior a 80 mmHg; un sujeto en parada respiratoria o cardiaca; un paciente neonatal en apuros; un sujeto con sospecha de crisis drepanocítica; un sujeto con intoxicación por monóxido de carbono.

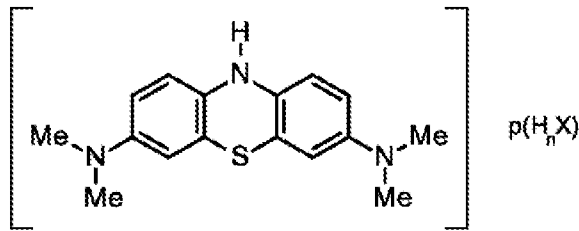
7. El compuesto para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde el sujeto es diagnosticado con una enfermedad o una patología resultantes de, o derivada de, hipoxemia, en donde la enfermedad o la patología se seleccionan entre: anemia; SDRA (síndrome de dificultad respiratoria aguda); asbestosis; asma; bronquitis; intoxicación por monóxido de carbono; hipoxia cerebral; hipoxia cerebral inducida por fuerzas G excesivas (G-LOC); defectos cardíacos congénitos en niños; cardiopatías congénitas en adultos; insuficiencia cardíaca congestiva; EPOC (enfermedad pulmonar obstructiva crónica); COVID-19; envenenamiento por cianuro; fibrosis quística; enfisema; hipoxia histotóxica; entrenamiento en hipoventilación; insomnio; angioedema intermitente; enfermedad pulmonar intersticial; hipoxia intrauterina; hipoxia isquémica; lesión pulmonar, causada por un traumatismo o una infección, que opcionalmente es de origen bacteriano, vírico o fúngico; respuesta adversa a la medicación que deprime la respiración; neumonía; neumotórax; edema pulmonar; embolia pulmonar; fibrosis pulmonar; hipertensión pulmonar; alcalosis respiratoria; apnea del sueño; accidentes isquémicos transitorios; tuberculosis; hipoxia tumoral.

55 8. El compuesto para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde el compuesto que contiene MT se usa junto con oxigenoterapia suplementaria.

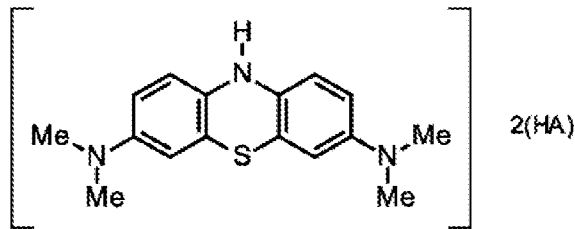
9. El compuesto para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde el compuesto que contiene MT tiene la siguiente fórmula, donde HA y HB son ácidos monoproticos diferentes:



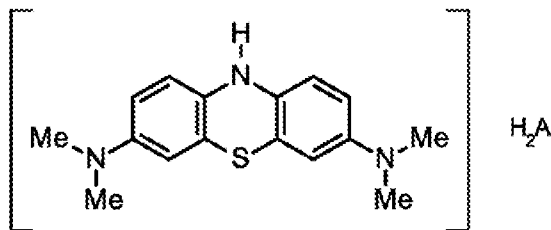
- 5 10. El compuesto para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde el compuesto que contiene MT tiene la siguiente fórmula:



- 10 en donde cada uno de  $H_nX$  es un ácido prótico, en donde opcionalmente el compuesto que contiene MT tiene la siguiente fórmula y es un ácido bisonoprótico:



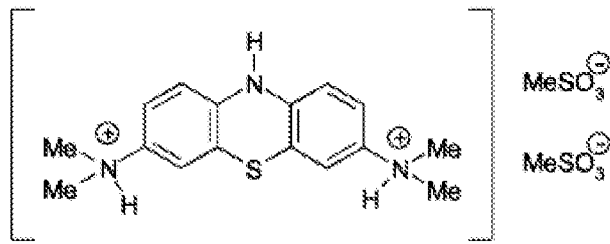
- 15 11. El compuesto para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde el compuesto que contiene MT tiene la siguiente fórmula y  $H_2A$  es un ácido diprótico:



- 20 12. El compuesto para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde el o cada ácido prótico es un ácido inorgánico, que es opcionalmente un ácido hidrohalaro o  $HNO_3$  o  $H_2SO_4$ , en donde el ácido hidrohalaro se selecciona opcionalmente entre HCl; HBr.

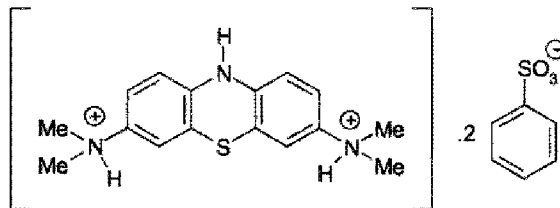
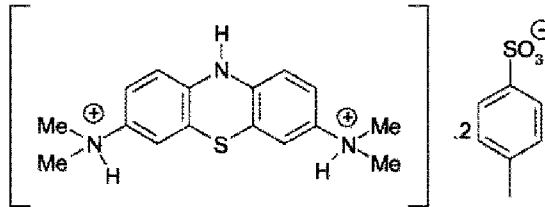
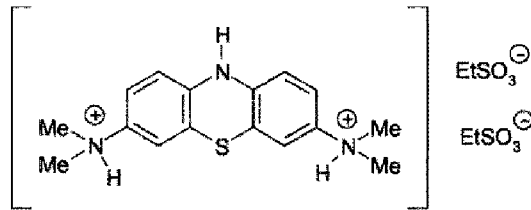
- 25 13. El compuesto para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde el o cada ácido prótico es un ácido orgánico, que se selecciona opcionalmente entre  $H_2CO_3$ ;  $CH_3COOH$ ; ácido metanosulfónico, ácido 1,2-etanodisulfónico, ácido etanosulfónico, ácido naftalenodisulfónico, ácido p-toluenosulfónico.

14. El compuesto para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, o la reivindicación 13, en donde el compuesto que contiene MT es LMTM:

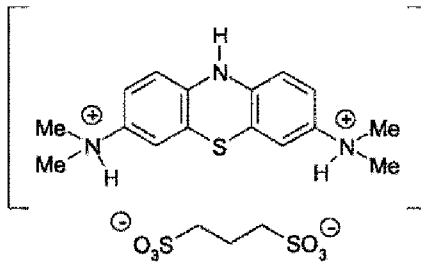
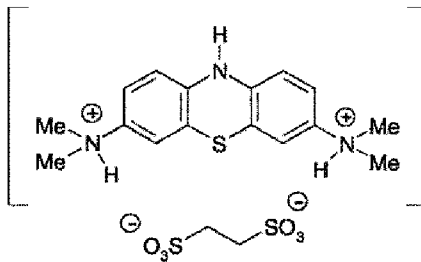


15. El compuesto para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde el compuesto que contiene MT se selecciona de la lista que consiste en:

5



10



15

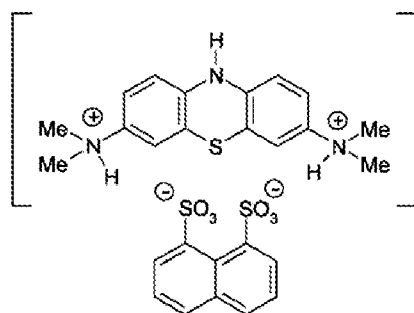


Figura 1

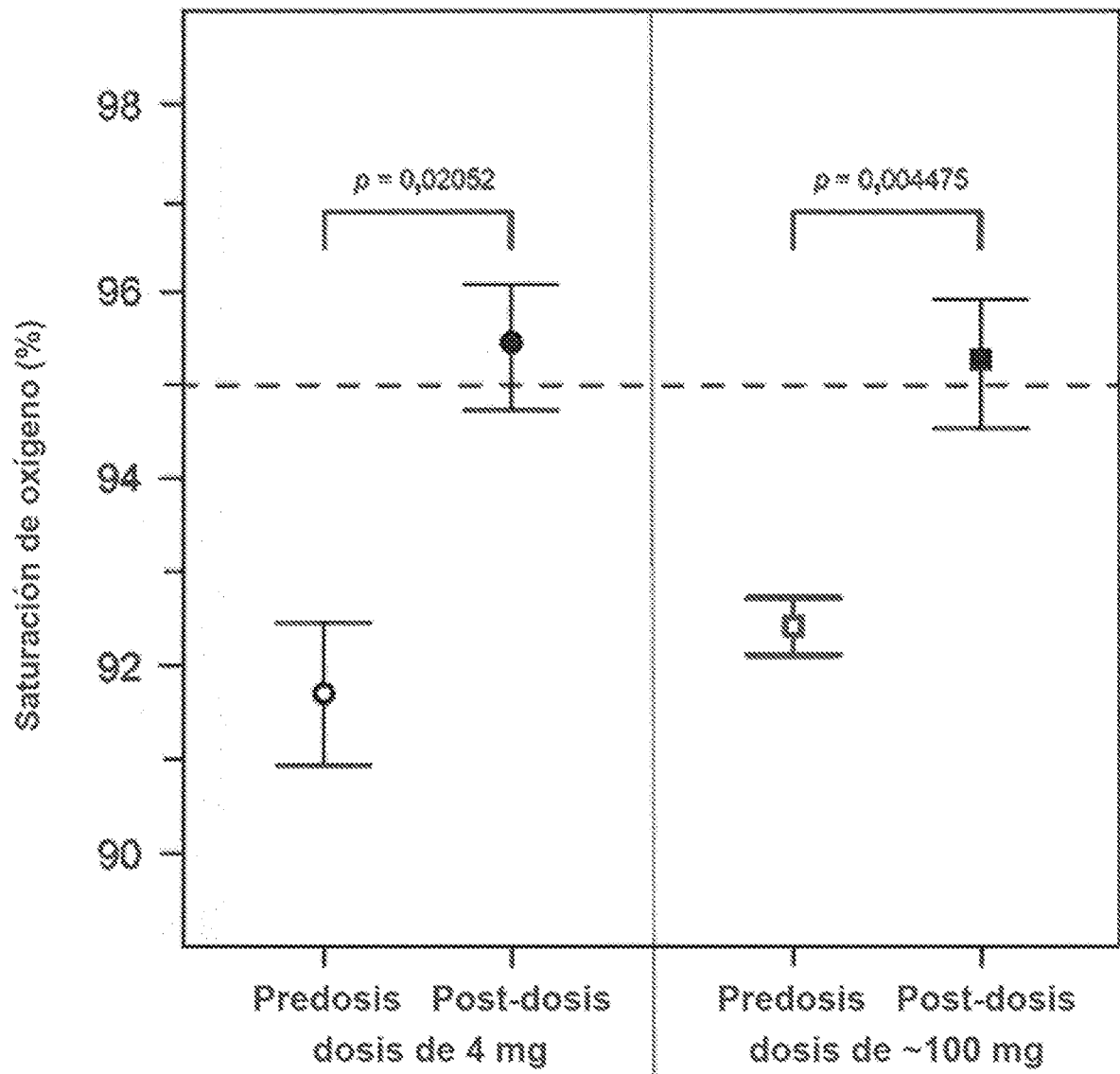


Figura 2

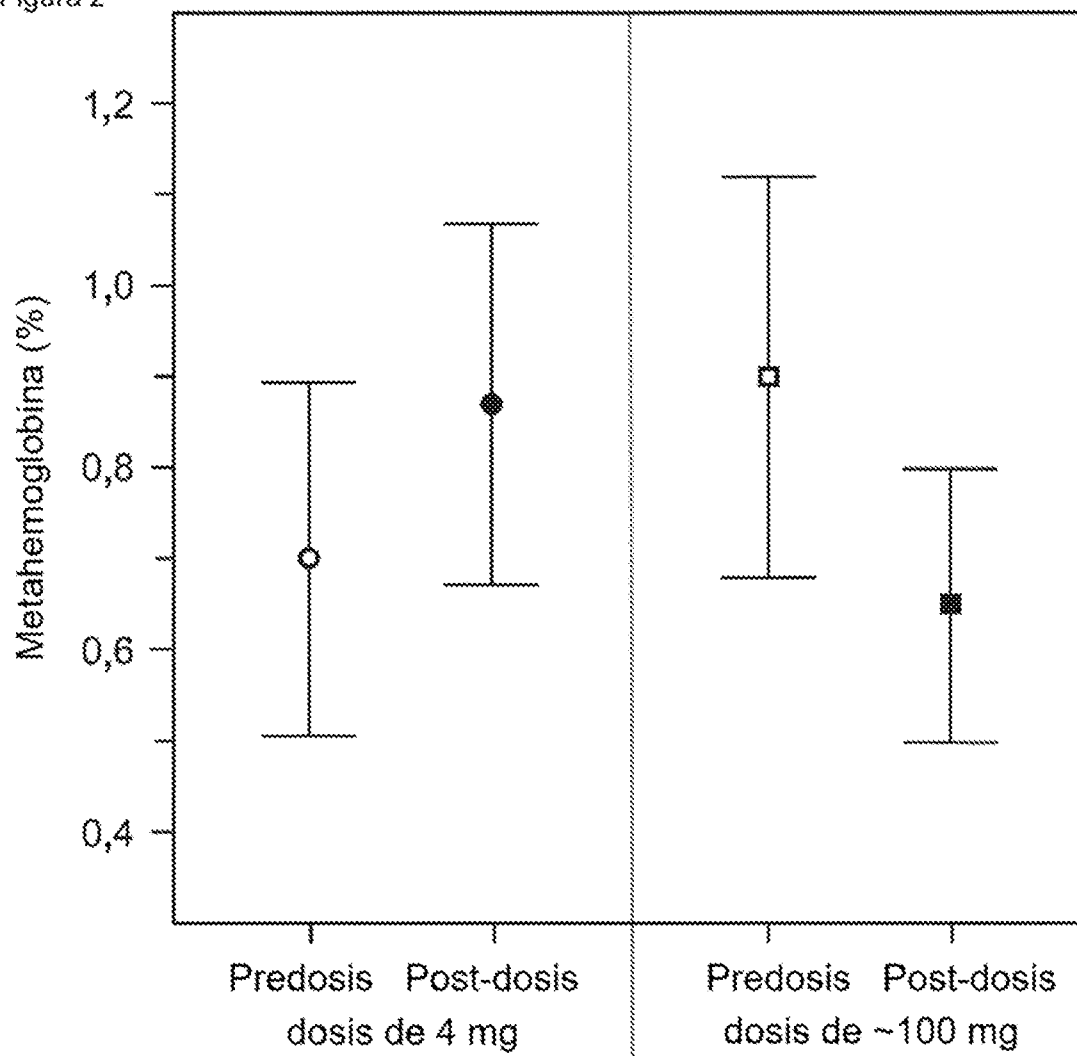


Figura 3

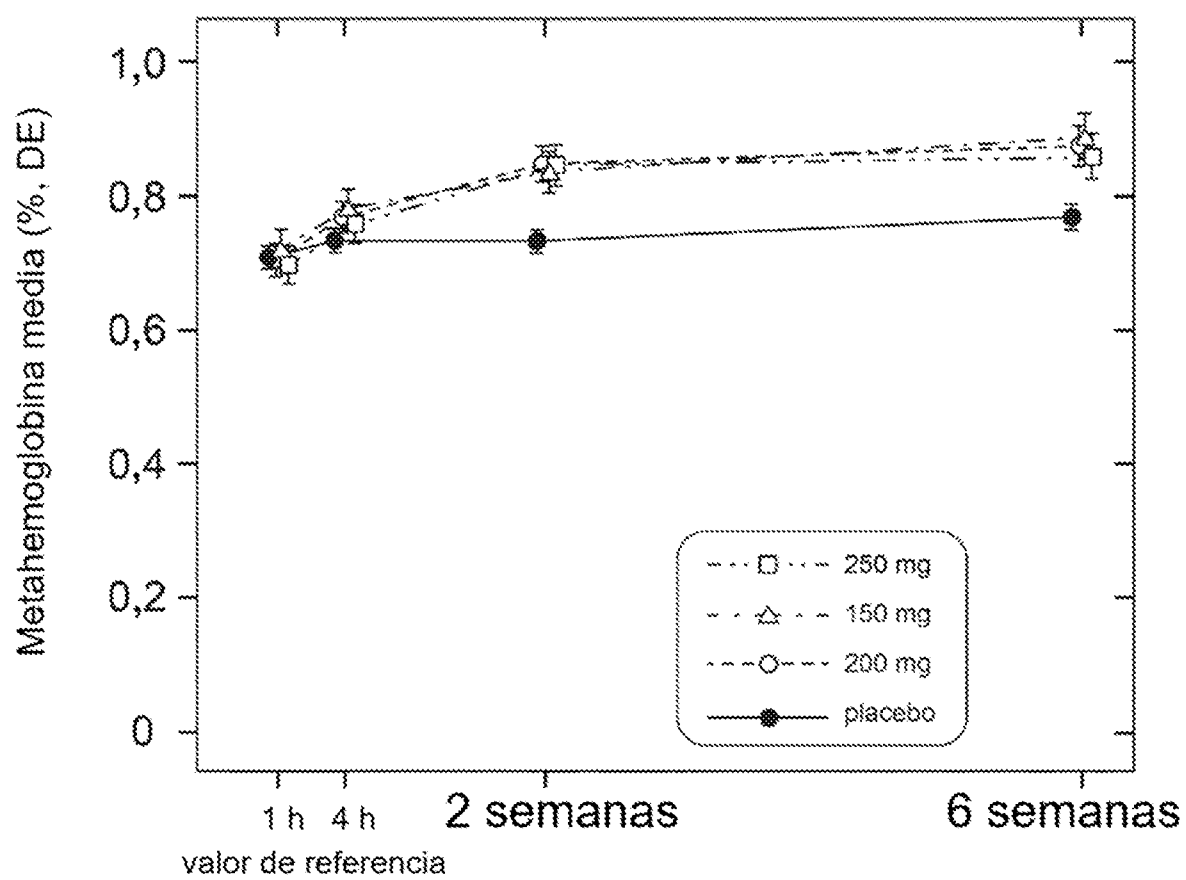


Figura 4

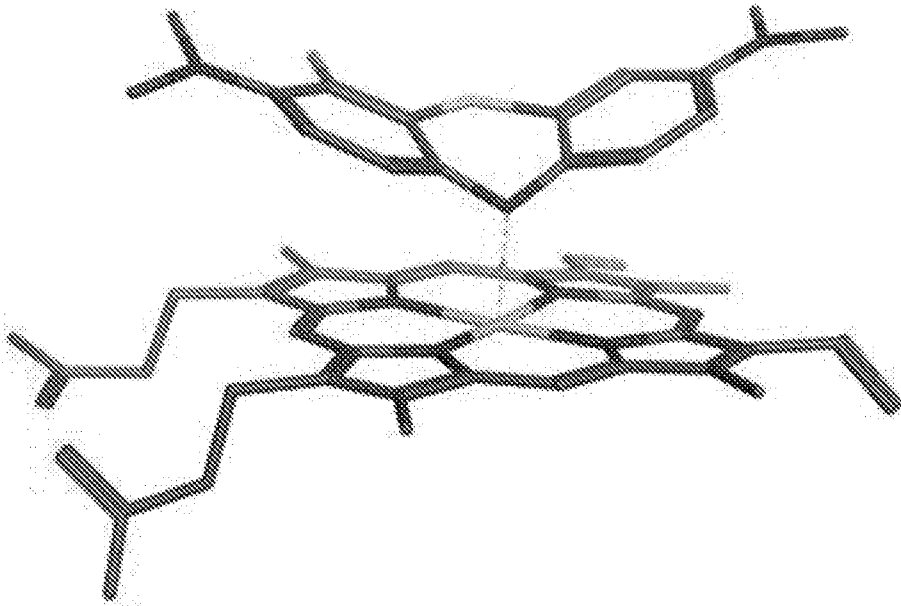


Figura 5

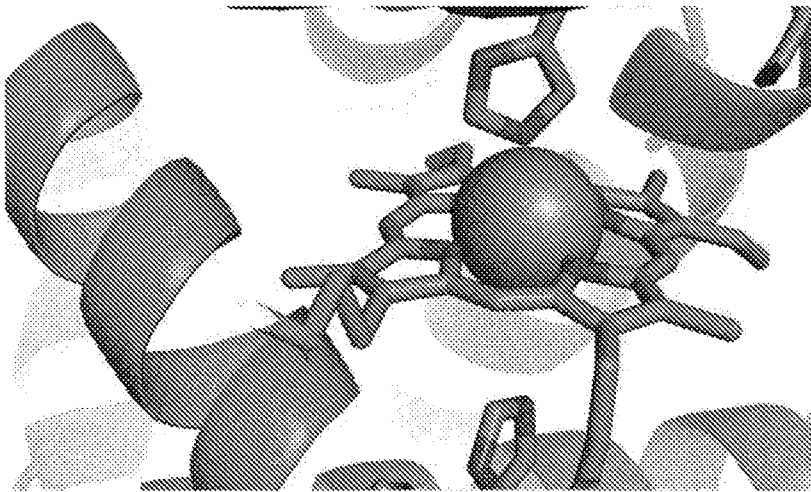


Figura 6

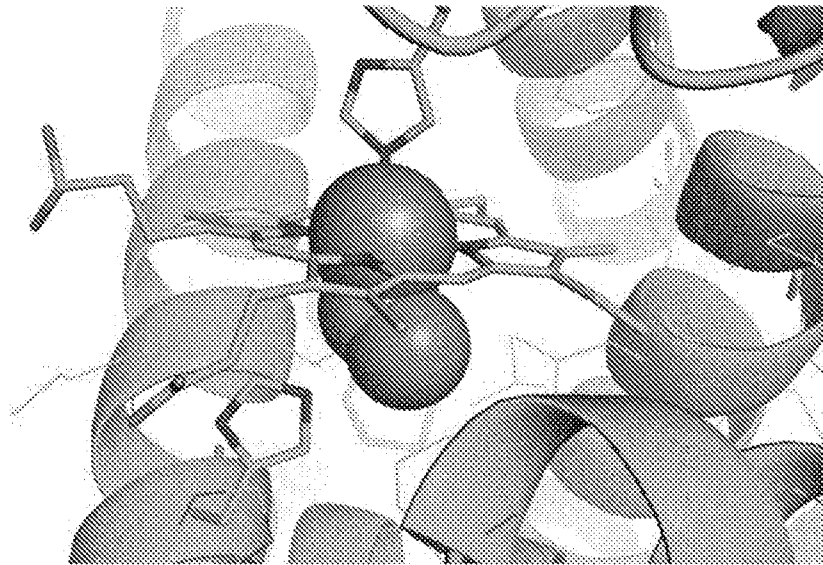


Figura 7

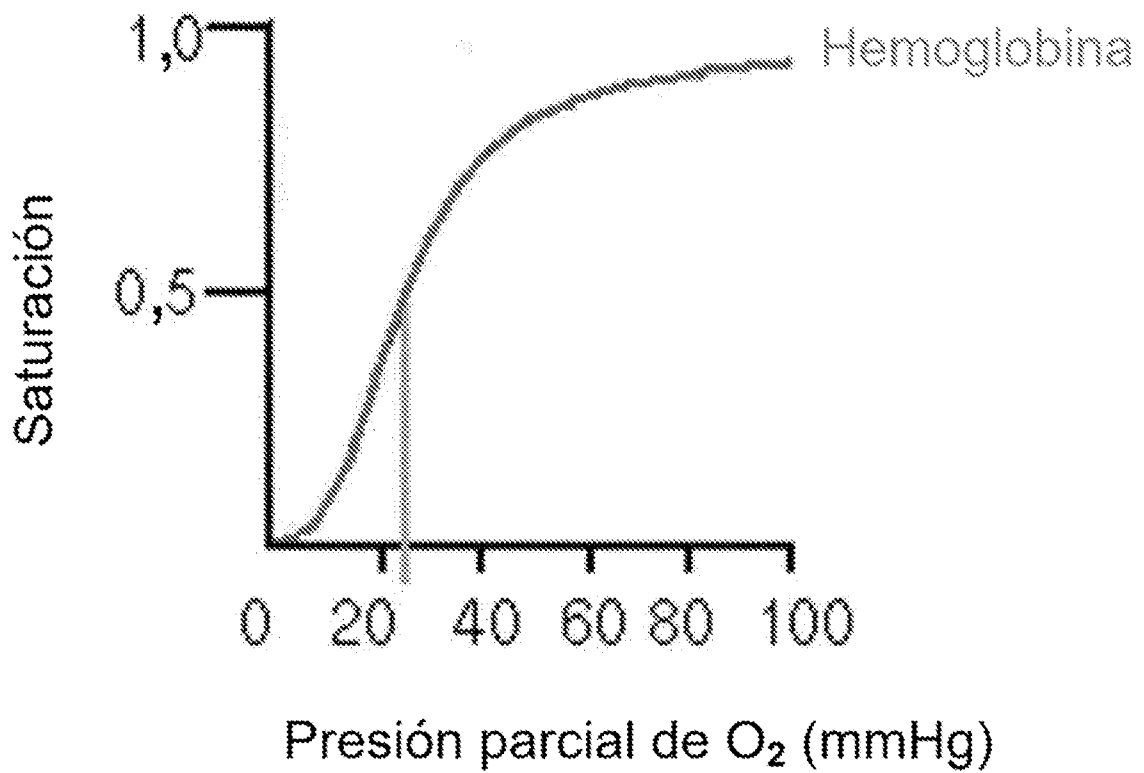
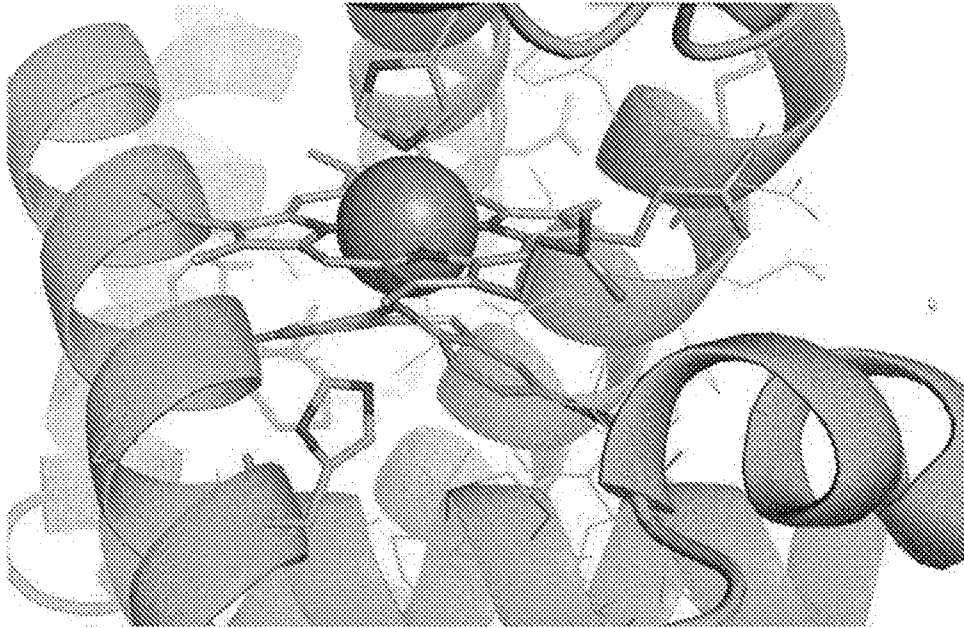


Figura 8

A



B

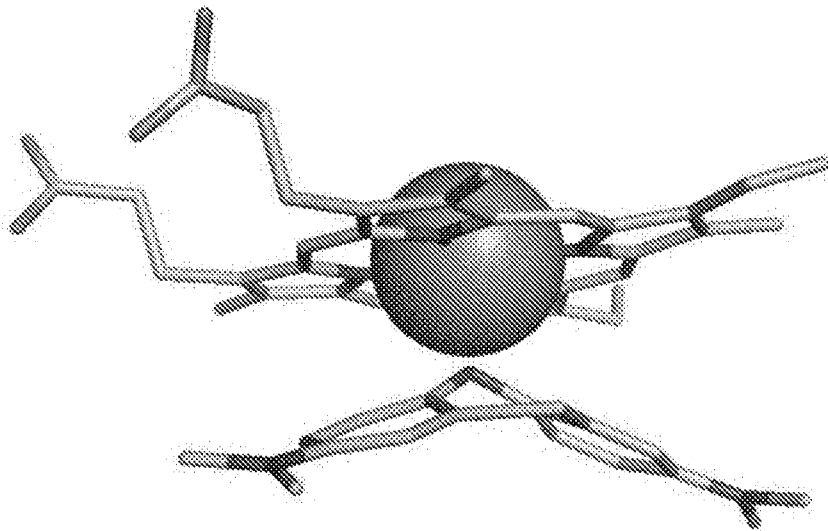


Figura 9

