

**COMPOSICIONES DE COMPUESTOS SELENOORGÁNICOS Y MÉTODOS DE USO
DE LOS MISMOS**

Campo de la presente solicitud

5

La presente solicitud se relaciona con composiciones de composiciones y compuestos selenoorgánicos y métodos para su uso en diversas rutas biológicas para mejorar la función mitocondrial, tratar enfermedad, e inhibir o mejorar procesos
10 específicos en particular tipos de células animales y humanas.

Antecedentes

15 El selenio (Se) es un oligoelemento esencial que cumple una función fundamental en muchos procesos biológicos, tales como reproducción, el metabolismo hormonal de la tiroides, síntesis de ADN, y protección contra el daño oxidativo e infección. El selenio se incorpora en el sitio catalítico de
20 diversas enzimas dependientes de selenio, tales como glutatión peroxidasa (GPx), tiorredoxina reductasa, y una metionina-sulfoxidoreductasa. Estas selenoenzimas contribuyen a la regulación de la actividad metabólica, función

inmunitaria, defensa antioxidante, regulación redox intracelular, y función mitocondrial.

El organelo conocido como la mitocondria ("MT") es la fuente principal de energía en células de organismos mayores. La mitocondria proporciona regulación bioquímica directa e indirecta de una amplia disposición de procesos respiratorios, oxidativos y metabólicos celulares. Estos incluyen actividad de la cadena de transporte de electrones (ETC), que conduce a fosforilación oxidativa para producir energía metabólica en la forma de trifosfato de adenosina (ATP), y que también es la verdadera razón de la función mitocondrial central en homeóstasis de calcio intracelular. La respiración mitocondrial ocurre en la membrana mitocondrial interna y se logra mediante flujo de electrones a través del sistema de transporte de electrones, que contiene cuatro complejos (complejo I, II, III, y IV) con un complejo adicional (complejo V) que sirve como sitio para la síntesis de ATP (sintasa ATP). El deterioro o reducción de la actividad en cualquier complejo interrumpe el flujo de electrones y puede provocar disfunción respiratoria mitocondrial (Véase, por ejemplo, Schildgen et al., *Exp*

Hematol 2011; 39:666-67510,11; Arthur et al., *Mol Neurodegener* 2009; 4:37).

La disfunción mitocondrial que lleva a la muerte celular, producción de especies reactivas del oxígeno, aumento de daño oxidativo de ADN, aumento de autofagia, y pérdida potencial de membrana mitocondrial se ha asociado con afecciones tales como diabetes, obesidad, neurodegeneración relacionada con envejecimiento que incluye enfermedad de Alzheimer, apoplejía, resistencia a la insulina, y aterosclerosis. Se ha mostrado que una forma inorgánica de selenio, selenito de sodio, afecta la función mitocondrial en ciertas circunstancias. Mehta et al. mostró un marcador de biogénesis mitocondrial, el PGC1 α , se aumenta en el tejido cerebral isquémico y que el selenito de sodio aumenta aún más el PGC1 α después de isquemia y recirculación. (Mehta et al., *BMC Neuroscience* 2012 13: 79). Tirosh et al. mostró que una dosis alta pero no una dosis intermedia de selenito de sodio previene el deterioro de la función mitocondrial inducido por hapteno debido a que el hapteno induce inflamación en el tejido del colon. (Tirosh et al., *Nutrition* 2007 23: 878). Estos resultados sugieren que el selenio inorgánico puede afectar la función mitocondrial en células que experimentan

daños. Sin embargo, algunos estudios han encontrado que el selenito de sodio es menos biodisponible que otras formas de selenio que ponen en duda su efectividad. (Rider et al, J Anim Physiol Anim Nutr (Berl) 2010 94(1):99-110).

5

Adicionalmente, los resultados en la bibliografía indican que las diferentes formas químicas de selenio tienen diferentes actividades biológicas. Por ejemplo, una selenozolidina fue más efectiva en la reducción del número de
10 tumores de pulmón de selenometionina (Poerschke et al, J Biochem Molecular Toxicology 2012 26: 344). Barger et al. mostraron que los ratones alimentados con diferentes fuentes de selenio, por ejemplo, metionina de selenio, selenito de sodio y levadura selenizada, tuvieron efectos diferenciales
15 sobre la expresión génica y sobre las rutas funcionales específicas de la estructura y función mitocondrial. (Barger et al, Genes and Nutrition 2012 7: 155).

Debido a la aparente diferencia en la bioactividad y
20 disponibilidad de formas químicas distintas de selenio, subsiste la necesidad de identificar formas químicas de selenio y caracterizar sus efectos sobre procesos biológicos. La caracterización de estos efectos sobre los procesos

biológicos puede conducir a una regulación medicinal de procesos biológicos importantes para prevenir o combatir enfermedades, tales como enfermedades relacionadas con la disfunción mitocondrial. Las enfermedades relacionadas con la disfunción mitocondrial se pueden prevenir o tratar al administrar formas químicas particulares de selenio que reducen la disfunción mitocondrial o regulan por aumento la función mitocondrial en uno o más tipos de células animales o humanas. Una explicación para la variación de la bioactividad podría ser que las diferentes formas de selenio tienen diferentes efectos sobre las rutas biológicas a nivel molecular.

RESUMEN DE LA INVENCIÓN

15

La presente solicitud se dirige a compuestos seleno orgánicos, composiciones, y métodos para utilizar los compuestos y composiciones. Los compuestos incluyen 5'-Metilselenoadenosina ("compuesto C"), Se-Adenosil-L-homocisteína ("compuesto D"), Gama-glutamyl-metilseleno-
20 cisteína ("compuesto E"), un compuesto de la fórmula I, compuesto de la fórmula II, un compuesto de la fórmula III, y combinaciones de los mismos. Como se describe aquí, las

composiciones y combinaciones de las mismas son útiles para mejorar la función mitocondrial, para tratar disfunción mitocondrial, para tratar enfermedad de Alzheimer, y para modular el metabolismo de glucosa en una forma específica a
5 tejido y apropiada a tejido.

En un aspecto de la presente solicitud, se identifican diferentes formas químicas de selenio orgánico como biológicamente activas. Los compuestos que contienen selenio
10 como se describe aquí se pueden obtener de levadura selenizada o se pueden sintetizar químicamente como se describe aquí. La levadura selenizada contiene muchos compuestos de selenio y azufre compuestos pero no todos los compuestos de selenio en la levadura selenizada impactan los
15 procesos biológicos. Adicionalmente, se ha mostrado que una mezcla de compuestos de selenio y azufre en la levadura selenizada se inhiben entre sí o impactan de forma negativa los procesos biológicos.

20 Otro aspecto de la presente solicitud proporciona análogos o derivados de los compuestos de selenio biológicamente activos descritos aquí. Los análogos y/o derivados de los compuestos que contienen selenio se pueden preparar de forma sintética.

En algunas realizaciones, los análogos tienen aumento de estabilidad, reducción de oxidación, aumento de vida media, y/o dirigen los compuestos a un tejido específico.

5 En otro aspecto de la presente solicitud, se ha mostrado que diferentes formas químicas de selenio tienen diferente especificidad de tejido (por ejemplo algunos compuestos son activos sobre células neuronales pero no células de hígado). Adicionalmente, la misma composición que contiene selenio
10 puede activar un activador transcripcional en un tipo celular mientras que inactiva el mismo activador transcripcional en un tipo de célula diferente. Estas actividades diferenciales y especificidades de tejido de diferentes compuestos que contienen selenio y combinaciones de los mismos son
15 sorprendentes e inesperados.

Un aspecto de la presente solicitud proporciona composiciones que comprenden un compuesto seleccionado del grupo que consiste de 5'-Metilselenoadenosina, Se- Adenosil-L-
20 homocisteína, Gama-glutamyl-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula (I), un compuesto de la fórmula II, un compuesto de la fórmula (III), y combinaciones de los

misimos. En las realizaciones adicionales, uno o más de estos compuestos se puede aislar y/o purificar.

En otras realizaciones, las composiciones pueden excluir uno o más de 5'-Metiltioadenosina, S-Adenosil-L-homocisteína, Gama-glutamyl-metil-cisteína, o glutamil selenocisteína, debido a que uno o más de estos compuestos puede ser innecesario para la composición o inhibidor para compuestos en la composición.

10

Otro aspecto de la presente solicitud proporciona métodos para utilizar las composiciones descritas aquí para mejorar la función mitocondrial, tratar disfunción mitocondrial, tratar enfermedad de Alzheimer, y/ o modular el metabolismo de glucosa.

15

En las realizaciones, un método para tratar enfermedad de Alzheimer comprende: administrar una cantidad efectiva de una composición a un sujeto, la composición comprende 5'-Metilselenoadenosina, un compuesto de la fórmula (I), o mezclas del mismo. En otras realizaciones, se puede aislar y/o purificar uno o más de estos compuestos.

20

En todavía otras realizaciones, un método para tratar enfermedad de Alzheimer comprende: administrar una cantidad efectiva de una composición a un sujeto, la composición comprende por lo menos tres diferentes compuestos
5 seleccionados del grupo que consiste de 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-glutamyl-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula (I), y un compuesto de la fórmula (III). En las realizaciones de esta invención, se pueden aislar y/o purificar uno o más
10 de estos compuestos.

En otras realizaciones, un método para inhibir acumulación amiloide B en una o más células neuronales comprende: administrar una cantidad efectiva de una composición a una o
15 más células neuronales, la composición comprende un compuesto seleccionado del grupo que consiste de 5'-Metilselenoadenosina, un compuesto de la fórmula (I), y mezclas del mismo, en el que la cantidad efectiva inhibe la acumulación amiloide B en una o más células neuronales cuando
20 se compara con células neuronales no tratadas con la composición. En las realizaciones adicionales, se puede aislar y/o purificar uno o más de estos compuestos.

En otra realización, un método para inhibir acumulación amiloide B en una o más células neuronales comprende: administrar una cantidad efectiva de una composición a una o más células neuronales, la composición comprende por lo menos
5 tres diferentes compuestos seleccionados del grupo que consiste de 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-glutamyl-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula (I), y un compuesto de la fórmula (III), en el que la cantidad efectiva inhibe la acumulación
10 amiloide B en células neuronales cuando se compara con células neuronales no tratadas con la composición. En las realizaciones adicionales, se puede aislar y/o purificar uno o más de estos compuestos.

15 En las realizaciones, un método para inhibir fosforilación tau en una o más células neuronales comprende: administrar una cantidad efectiva de una composición a una o más células neuronales, la composición comprende un compuesto seleccionado del grupo que consiste de 5'-
20 Metilselenoadenosina, un compuesto de la fórmula (I), y mezclas del mismo, en el que la cantidad efectiva inhibe la fosforilación tau en una o más células neuronales cuando se compara con células neuronales no tratadas con la

composición. En las realizaciones adicionales, se puede aislar y/o purificar uno o más de estos compuestos.

En otras realizaciones, un método para inhibir fosforilación tau en una o más células neuronales comprende: administrar una cantidad efectiva de una composición a una o más células neuronales, la composición comprende por lo menos tres diferentes compuestos seleccionados del grupo que consiste de 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-glutamil-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula (I), y un compuesto de la fórmula (III), en el que la cantidad efectiva inhibe la fosforilación tau en células neuronales cuando se compara con células neuronales no tratadas con la composición. En las realizaciones adicionales, se pueden aislar y/o purificar uno o más compuestos.

En las realizaciones, una composición comprende 5'-Metilselenoadenosina, o un compuesto de la fórmula (I) o un selenoglucósido del mismo. En aún otras realizaciones, la composición puede excluir glutamil selenocisteína, metionina, o selenometionina debido a sus efectos inhibidores

potenciales en la composición sobre compuestos activos en la composición.

En algunas realizaciones, la cantidad efectiva administrada a
5 un sujeto es 200 microgramos o menos por día. En las realizaciones, la composición de la presente invención se administra una vez al día a un sujeto.

En otro aspecto, un método para mejorar la función
10 mitocondrial en una o más células seleccionadas del grupo que consiste de célula del músculo esquelético, célula neuronal, y combinaciones de las mismas, comprende: administrar una cantidad efectiva de una composición a una o más células, la composición comprende un compuesto seleccionado del grupo que
15 consiste de 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-glutamyl-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula (I), un compuesto de la fórmula (III), y combinaciones de los mismos, en el que la cantidad efectiva mejora la función mitocondrial cuando se compara con
20 células no tratadas con la composición. En las realizaciones adicionales, se pueden aislar y/o purificar uno o más compuestos.

En otras realizaciones, un método para mejorar la función mitocondrial en una o más células de hígado comprende: administrar una cantidad efectiva de una composición a una o más células de hígado, la composición comprende por lo menos
5 tres diferentes compuestos seleccionados del grupo que consiste de 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-glutamyl-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula (I), y un compuesto de la fórmula (III), en el que la cantidad efectiva mejora la función
10 mitocondrial cuando se compara con células no tratadas con la composición. En las realizaciones adicionales, se pueden aislar y/o purificar uno o más compuestos.

En otro aspecto, un método para modular metabolismo de
15 glucosa en una o más células seleccionadas del grupo que consiste de células de hígado, célula del músculo esqueléticos, y mezclas de las mismas, dicho método comprende: administrar una cantidad efectiva de una composición a una o más células, la composición comprende por
20 lo menos tres diferentes compuestos seleccionados del grupo que consiste de 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-glutamyl-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula (I), y un compuesto de la fórmula

(III), en el que la cantidad efectiva modula el metabolismo de glucosa cuando se compara con células no tratadas con la composición. En las realizaciones adicionales, se pueden aislar y/o purificar uno o más compuestos.

5

En las realizaciones, un método para reducir la expresión de complejo de glucosa 6 fosfatasa en una o más células de hígado, comprende: administrar una cantidad efectiva de una composición a una o más células, la composición comprende por lo menos tres diferentes compuestos seleccionados del grupo
10 que consiste de 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-glutamyl-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula (I), y un compuesto de la fórmula (III), en el que la cantidad efectiva inhibe la expresión
15 glucosa 6 fosfatasa cuando se compara con células no tratadas con la composición. En las realizaciones adicionales, se pueden aislar y/o purificar uno o más compuestos.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

20

Los dibujos adjuntos, que se incorporan en y constituyen una parte de la descripción, ilustran diversos aspectos de la invención y junto con la descripción, sirven para explicar

los principios de la invención. Una breve descripción de los dibujos es como sigue:

La Figura 1 muestra potencial mitocondrial ("MT") mejorado (fluorescencia) luego de tratamiento de células de riñón HEK293T con 5'-Metilselenoadenosina ("compuesto C") pero no Se-Adenosil-L-homocisteína ("compuesto D"). Se capturan las imágenes en el mismo momento de exposición y magnificación bajo el microscopio de fluorescencia.

10

La Figura 2 muestra potencial mitocondrial ("MT") mejorado en células C2C12 del músculo esquelético luego de tratamiento con compuestos C (5'-Metilselenoadenosina) y D (Se-Adenosil-L-homocisteína). Los análogos de azufre H (5'-Metiltioadenosina) e I (S-Adenosil-L-homocisteína) reducen el potencial mitocondrial en todas las concentraciones.

15

La Figura 3 muestra un aumento transitorio del potencial mitocondrial ("MT") en células neuronales humanas IMR-32 tratadas con compuestos C (5'-Metilselenoadenosina), D (Se-Adenosil-L-homocisteína), y E (Gama-glutamyl-metilselenocisteína) o combinación de los mismos a 6 horas y 24 horas. Sus análogos de azufre H (5'-Metiltioadenosina), I (S-

20

Adenosil-L-homocisteína), J (Gama-glutamil-metil-cisteína) y combinaciones de los mismos también exhiben un aumento transitorio en la función mitocondrial. Los datos se normalizan por las intensidades de fluorescencia de los
5 núcleos celulares teñidos. * denota valores P vs control.

La Figura 4 muestra que los tratamientos repetidos de C(5'-Metilselenoadenosina), D (Se-Adenosil-L-homocisteína), y E (Gama-glutamil-metilseleno-cisteína) o sus análogos de azufre
10 H(5'-Metiltioadenosina)), I (S-Adenosil-L-homocisteína), J (Gama-glutamil-metil-cisteína) mejoran el potencial mitocondrial (MT) en células neuronales IMR-32. Las células se tratan una vez con compuestos durante 48 horas (hr.) (panel superior) o dos veces con compuestos para un total de
15 48 horas, (panel inferior). Los datos se normalizan por las intensidades de fluorescencia de los núcleos celulares teñidos.

La Figura 5 muestra la carencia de efectos tóxicos de los
20 compuestos C (5'- Metilselenoadenosina), D (Se-Adenosil-L-homocisteína), y E (Gama-glutamil-metilseleno-cisteína) o combinación de los mismos sobre la viabilidad (indicada por OD490 nm) de células neuronales IMR-32 humanas durante un

periodo de tiempo de 72 horas. En contraste, los análogos de azufre H (5'-Metiltioadenosina)), I (S-Adenosil-L-homocisteína), J (Gama-glutamil-metil-cisteína) y combinaciones de los mismos exhiben una ligera reducción en la viabilidad durante el periodo de tiempo de 72 horas. Los resultados se muestran como la media $\pm$ eem; n=8.

La Figura 6 muestra la restauración de la función mitocondrial por los compuestos D y E en células de corteza de rata estresadas por 10 micromolares de calcio. La figura muestra el gráfico de respiración de la mitocondria normal (línea superior) con el OCR final que es la distancia medida entre el extremo de la línea del gráfico y el eje X. La línea inferior muestra la inhibición de la respiración de la mitocondria por 10 micromolares calcio. Las dos líneas en la mitad representan la respiración de la mitocondria en la presencia de los compuestos C o D y 10 micromolares de calcio.

La Figura 7 muestra un aumento significativo del potencial mitocondrial (MT) en células de hígado de ratón AML-12 tratadas con la combinación de los compuestos de selenio C(5'-Metilselenoadenosina), D (Se-Adenosil-L-homocisteína), y

E (Gama-glutamil-metilseleno-cisteína) (150 ppb de cada compuesto) cuando se compara con una combinación de H (5'-Metiltioadenosina)), I (S-Adenosil-L-homocisteína), y J (Gama-glutamil-metil-cisteína) a 6 y 24 horas. Los datos se normalizan por las intensidades de fluorescencia de los núcleos celulares teñidos. Los valores P mostrados en las gráficas de barra se determinan al comparar el grupo CDE con control o el grupo HIJ.

10 La Figura 8 muestra expresión predominante de Proteína Desacoplada mitocondrial 2 (Ucp2) en células de hígado de ratón AML-12, y regulación por descenso de su expresión mediante la combinación de los compuestos C (5'-Metilselenoadenosina), D (Se-Adenosil-L-homocisteína), y E
15 (Gama-glutamil-metilseleno-cisteína) (150 ppb de cada compuesto) (A) Expresión relativa de Proteína Desacoplada mitocondrial 1 (Ucp1) y Ucp2 en células AML-12 normales (después de tratamiento con vehículo de agua durante 6 horas). n=4 como se denota en la barra. (B) No hay efecto de
20 la combinación de C (5'-Metilselenoadenosina), D (Se-Adenosil-L-homocisteína), y E (Gama-glutamil-metilseleno-cisteína) sobre la expresión de Ucp1. (C) La expresión de Ucp2 regulada se regula por descenso mediante la combinación

de C (5'-Metilselenoadenosina), D (Se-Adenosil-L-homocisteína), y E (Gama-glutamil-metilseleno-cisteína). Los datos se presentan como la media $\pm$ eem del número denotado de muestra en cada barra. Diferentes letras (a vs. b) en el gráfico de barras significa una diferencia significativa entre aquellos grupos ($P < 0.05$).

La Figura 9 muestra efectos no tóxicos de los compuestos C (5'-Metilselenoadenosina), D (Se-Adenosil-L-homocisteína), E (Gama-glutamil-metilseleno-cisteína) y combinaciones de los mismos o sus análogos de azufre H (5'-Metiltioadenosina)), I (S-Adenosil-L-homocisteína), J (Gama-glutamil-metil-cisteína) y combinación de los mismos sobre la viabilidad (indicada por OD490 nm) de células de hígado de ratón AML-12.

15

La Figura 10 muestra regulación por descenso de expresión de Ucp2, Ucp3 y Presenilina (PSEN) en células neuronales IMR-32 humanas después del tratamiento con la combinación de los compuestos C (5'-Metilselenoadenosina), D (Se-Adenosil-L-homocisteína), y E (Gama-glutamil-metilseleno-cisteína) (150 ppb de cada compuesto). (A) Expresión de mRNA de Ucp2 a 6 y 24 horas. (B) Expresión de mRNA de Ucp3 a 6 y 24 horas. (C) Nivel de mRNA de PSEN y PSEN2 relativo en células neuronales

IMR-32 humanas tratadas con vehículo (agua) a 6 y 24 horas.

(D) Expresión de mRNA de PSEN después de normalización mediante la cantidad de nivel de mRNA de actina beta (ACTB) en células neuronales IMR-32 humanas tratadas con una
5 combinación de C (5'-Metilselenoadenosina), D (Se-Adenosil-L-homocisteína), E (Gama-glutamyl-metilseleno-cisteína) (150 ppb de cada compuesto) o una combinación de H (5'-Metiltioadenosina), I (S-Adenosil-L-homocisteína), y J (Gama-glutamyl-metil-cisteína) (150 ppb de cada compuesto) a 6 y 24
10 horas. (E) Expresión de PSEN2 después de normalización mediante nivel de mRNA (ACTB) en células neuronales IMR-32 humanas tratadas con una combinación de C (5'-Metilselenoadenosina), D (Se-Adenosil-L-homocisteína), y E (Gama-glutamyl-metilseleno-cisteína) o una combinación de H
15 (5'-Metiltioadenosina)), I (S-Adenosil-L-homocisteína), y J (Gama-glutamyl-metil-cisteína) a 6 y 24 horas. Los datos se presentan como la media $\pm$ eem de 3-4 muestras por grupo. Letras alfabéticas diferentes (a vs. b) y números diferentes (1 vs. 2) en el gráfico de barras significa una diferencia
20 significativa entre aquellos grupos ($P < 0.05$)

La Figura 11 muestra complejos de gama secretasa PSEN y Nicastrina son los objetivos del Compuesto C (5'-

Metilselenoadenosina) según se determina por análisis de transferencia de Western y reacción de cadena de polimerasa en tiempo real ("RT-PCR"). (A) Fotografías de análisis de transferencia de Western de diversas proteínas (calve para
5 formación de placas en enfermedad de Alzheimer (AD) en células neuronales IMR-32 humanas tratadas con 150 ppb de compuesto C (5'-Metilselenoadenosina), D (Se-Adenosil-L-homocisteína), o E (Gama-glutamyl-metilseleno-cisteína) durante 6 y 24 horas. (B-C) Análisis cuantitativo de (B) PSEN
10 y (C) niveles de proteína Nicastrin en las transferencias de Western anteriores (después de tratamiento con el compuesto enumerado durante 24 horas, panel derecho). Los datos se presentan como la media $\pm$ eem de 3 muestras. (D-G) Análisis RT-PCR cuantitativo (D-E) PSEN y (F-G) expresión de Nicastrin
15 en células neuronales IMR-32 humanas tratadas con vehículo de agua (control) y los compuestos enumerados para (D, F) 6 y (E, G) 24 hr. Los datos se presentan como la media $\pm$ eem de 4 muestras. Diferentes letras (a vs. b, a vs. c, o b vs. c) en las gráficas de barras significan una diferencia
20 significativa entre aquellos dos grupos ($P < 0.05$). Las letras "a, b" denotan diferencia no significativa de a o b.

La Figura 12 muestra que el Compuesto C (5'-Metilselenoadenosina) es un inhibidor novedoso de Fosforilación tau, y un regulador por descenso de glicogen sintasa quinasa 3 beta ("GSK3b") según se determina por análisis de transferencia de Western y RT-PCR. (A) Fotografías de análisis de transferencia de Western de diversas proteínas (calve para formación de ovillos en AD) en células neuronales IMR-32 humanas tratadas con 150 ppb de compuesto C (5'-Metilselenoadenosina), D (Se-Adenosil-L-homocisteína), o E (Gama-glutamil-metilseleno-cisteína) durante 6 y 24 horas. (B-E) Análisis cuantitativo de (B) Tau fosforilado en residuo de serina en la posición 396 ("pTau S396") y (C) Tau fosforilado en residuo de serina en residuo de serina en la posición 400, en residuo de treonina en la posición 403, y residuo de serina en la posición 404 ("pTau S400/T403/S404"), (D) Tau total, y (E) pTauS396 y pTau S400/T403/S404 combinado por niveles de proteína en Tau total en las transferencias de Western anteriores (después de 24 hr tratamiento, paneles derechos). Los datos se presentan como la media $\pm$ eem de 3 muestras. (F) Análisis cuantitativo de niveles de proteína GSK3b en las transferencias de Western anteriores de células IMR-32 tratadas con vehículo de agua (control) o compuestos durante 24 horas). Los datos se

presentan como la media $\pm$ eem de 3 muestras. (G-H) Análisis RT-PCR cuantitativo de expresión de mRNA de GSK3b en células neuronales IMR-32 humanas tratadas con vehículo de agua (control) y los compuestos enumerados para (G) 6 y (H) 24
5 horas. Los datos se presentan como la media $\pm$ eem de 4 muestras. Diferentes letras (a vs. b, a vs. c, o b vs. c) en las gráficas de barras significan una diferencia significativa entre aquellos dos grupos ($P < 0.05$). Las letras "a, b" o "b, c" denotan diferencia no significativa de
10 a o b o c.

La Figura 13 muestra fosforilación FOXO reducida y aumento de expresión de proteína PGC1a en células neuronales IMR-32 humanas mediante la combinación de los compuestos C (5'-
15 Metilselenoadenosina), D (Se-Adenosil-L-homocisteína), y E (Gama-glutamyl-metilseleno-cisteína) (150 ppb de cada compuesto).

La Figura 14 muestra un análisis de transferencia de Western
20 de diversas otras moléculas de señalización que incluyen proteína O4 forkhead box fosforilada fosforilada en treonina 28 ("pFOXO4 T28"), proteína O4 forkhead box ("FOXO4"), homólogo 1 de oncogen viral de timoma de murino fosforilado

en treonina 308 ("pAktT308"), homólogo 1 de oncogen viral de timoma de murino fosforilado en serina 471 ("pAktS471 "), Akt, y el coactivador 1 alfa del receptor gama activado por proliferador de peroxisoma ("PGC1a") en células neuronales

5 IMR-32 tratadas con compuestos C (5'-Metilselenoadenosina), D (Se-Adenosil-L-homocisteína), o E (Gama-glutamyl-metilseleno-cisteína), cada compuesto a 150 ppb. (A) Fotografías de transferencias de Western. (B-C) Análisis cuantitativo de proteína 04 forkhead box fosforilada en treonina en la

10 posición 28 (pFoxo4 T28) en las transferencias de Western anteriores de células AML-12 tratadas con los compuestos enumerados para (B) 6 y (C) 24 horas. Los datos se presentan como la media $\pm$ eem de 3 muestras. Diferentes letras (a vs. b) en las gráficas de barras significan una diferencia

15 significativa entre aquellos dos grupos ($P < 0.05$). Las letras "a,b" denotan diferencia no significativa from a o b.

La Figura 15 muestra un análisis de transferencia de Western de diversas otras moléculas de señalización que incluyen

20 FOXOs, PDK1, AKT, Gsk3a/b, 4EBP1, Elf2be, y PGC1a en células AML-12 de hígado de ratón tratadas con una combinación de C (5'-Metilselenoadenosina), D (Se-Adenosil-L-homocisteína), y E (Gama-glutamyl-metilseleno-cisteína) (cada compuesto a 150

ppb) durante 6 horas. (A) Fotografías de transferencias de Western. (B-C) Análisis cuantitativo de (B) Foxo3 fosforilado en T32, y (C) Foxo4 fosforilado en T28 en células AML-12 mostradas en las transferencias de Western anteriores. Los
5 datos se presentan como la media $\pm$ eem de 3 muestras. Diferentes letras (a vs. b) en las gráficas de barras significan una diferencia significativa entre aquellos dos grupos ($P < 0.05$).

10 La Figura 16 muestra un análisis de transferencia de Western de diversas moléculas enumeradas en células AML-12 de hígado de ratón después de ser tratadas con vehículo (agua, control), o compuesto C (5'-Metilselenoadenosina), D (Se-Adenosil-L-homocisteína), o E (Gama-glutamil-metilseleno-
15 cisteína), cada una en 150 ppb, durante 6 y 24 horas.

La Figura 17 muestra que la expresión de subunidad catalítica de glucosa 6 fosfatasa ("G6pc") en células AML-12 de hígado de ratón es significativamente regulada por descenso mediante
20 la combinación de los compuestos C (5'-Metilselenoadenosina), D (Se-Adenosil-L-homocisteína), y E (Gama-glutamil-metilseleno-cisteína), pero no por los compuestos individuales. Las células se tratan con vehículo (control),

compuesto de selenio individual (150 partes por mil millones (ppb) o la combinación de CDE (150 ppb de cada compuesto) así como también sus análogos de azufre respectivos durante 48 horas, y luego se someten a RT-PCR cuantitativo. Los datos
5 se presentan como la media $\pm$ eem de cuatro muestras en la gráfica de barras.

La Figura 18 muestra una representación esquemática de la combinación de los compuestos CDE en la regulación de
10 expresión de G6pc en células de hígado.

La Figura 19 muestra la presencia de motivos de unión Foxi en las regiones promotoras de genes GSK3B, PSEN, y NICASTRIN humanos, así como también una representación esquemática del
15 efecto del compuesto C sobre la regulación de mediadores importantes en formación de placa y ovillo en células neuronales. El Panel (A) muestra la ubicación de cinco motivos de unión FOXO 1/3/4 sobre el promotor GSK3B humano. El Panel (B) muestra la ubicación de dos motivos de unión
20 FOXO 1/3/4 sobre el promotor de PSEN humano. El Panel (C) muestra la ubicación de un motivo de unión FOXO 1/3/4 sobre el promotor de Nicastrin (NCSTN) humano. El Panel (D) muestra la representación esquemática del efecto del compuesto C

sobre la regulación de mediadores importantes en formación de placa y ovillo en células neuronales.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

5

Definiciones

Como se utiliza aquí, los términos "administración" y "administrar" se refieren al acto de dar un fármaco, profármaco, u otro agente, o el tratamiento terapéutico (por ejemplo, las composiciones de la presente solicitud) a un sujeto (por ejemplo, un sujeto o células, tejidos y órganos in vivo, in vitro o ex vivo). Las rutas de administración de ejemplo al cuerpo humano pueden ser a través de los ojos (oftálmica), boca (oral), piel (tópica o transdérmica), nariz (nasal), pulmones (inhalación), mucosa oral (bucal), oído, rectal, vaginal, por inyección (por ejemplo, por vía intravenosa, subcutánea, intratumoral, intraperitoneal, etc.) y similares.

20

El término "alquilo" se refiere a un grupo hidrocarburo saturado ramificado o no ramificado de 1 a 24 átomos de carbono. Los grupos "alquilo" preferidos aquí contienen 1 a

16 átomos de carbono; es decir alquilo C_{1-16} . Ejemplos de un grupo alquilo incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, propilo, iso-propilo, butilo, iso-butilo, butilo secundario, butilo terciario, pentilo, iso-pentilo, neo-pentilo, hexilo, iso-hexilo, 3-metilpentilo, 2,3-dimetilbutilo, neo-hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo, undecilo, dodecilo, tridecilo, tetradecilo, pentadecilo, y hexadecilo. Se prefieren aún más el "alquilo inferior" que se refiere a un grupo alquilo de uno a seis, más preferiblemente uno a cuatro, átomos de carbono. El grupo alquilo opcionalmente se puede sustituir con un grupo acilo, amino, amido, azido, carboxilo, alquilo, arilo, halo, guanidinilo, oxo, sulfanilo, sulfenilo, sulfonilo, heterociclicilo o hidroxilo.

El término "metal alcalino" se refiere a sales metálicas que incluyen, pero no se limitan a, sales apropiadas de metales alcalinos (grupo IA), sales de metales alcalinotérreos (grupo IIA), y otros metales aceptables fisiológicos. Dichas sales se pueden elaborar a partir de aluminio, calcio, litio, magnesio, potasio, sodio y zinc.

El término "alquenilo" se refiere a una cadena de carbonos recta o ramificada que contiene por lo menos un enlace doble

carbono a carbono. En las realizaciones de ejemplo, "alquenilo" se refiere a un hidrocarburo que contiene 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 átomos de carbono, es decir alquenilo C₁₋₁₀. Ejemplos de un grupo alquenilo incluyen, pero no se limitan a, eteno, propeno, buteno, penteno, hexeno, hepteno, octeno, noneno y deceno. El grupo alquenilo opcionalmente se puede sustituir con uno grupo amino, alquilo, halo, o hidroxilo.

10 El término "amido" se refiere a ya sea un grupo C-amido tal como --CONR'R" o un grupo N amido tal como --R'COR" en el que R' y R" como se utiliza en la definición son independientemente hidrógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi, carbocíclico, heterocíclico, arilo, o aralquilo. Un grupo "sulfoamido" incluye --NR'--SO₂--R". Aún más preferiblemente, R' y R" son hidrógeno, alquilo, arilo, o aralquilo.

El término "alquinilo" se refiere a una cadena de carbonos recta o ramificada que contiene por lo menos un enlace triple carbono a carbono. En las realizaciones de ejemplo, "alquinilo" se refiere a un hidrocarburo que contiene 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 átomos de carbono, es decir, alquinilo

C₂₋₁₀. Ejemplos de un grupo alquinilo incluyen, pero no se limitan a, etino, propino, butino, pentino, hexino, heptino, octino, nonino y decino. El grupo alquinilo opcionalmente se puede sustituir con un grupo amino, alquilo, halo, o
5 hidroxilo.

El término "arilo" se refiere a un sistema aromático carbocíclico que contiene uno, dos o tres anillos en el que dichos anillos se pueden adherir juntos en una forma
10 pendiente o se pueden fusionar. El término "fusionado" significa que un segundo anillo está presente (es decir, adherido o formado) al tener dos átomos adyacentes en común (es decir, compartidos) con el primer anillo. El término "fusionado" es equivalente al término "condensado". El
15 término "arilo" abarca grupos aromáticos tales como fenilo, naftilo, tetrahidronaftilo, tetralina, indano, indeno, y bifenilo. El grupo arilo opcionalmente se puede sustituir con un grupo amino, alquilo, halo, hidroxilo, carbocíclico, heterocíclico, u otro grupo arilo.

20

El término "cicloalquilo" se refiere a un anillo de carbono monocíclico saturado o parcialmente saturado, en el que el número de átomos en el anillo se indica por un rango de

números. En las realizaciones de ejemplo, "cicloalquilo" se refiere a un anillo de carbono como se definió anteriormente que contiene 3 a 12 átomos en el anillo (es decir cicloalquilo C₃₋₁₂). Como se utiliza aquí, cicloalquilo abarca

5 estructuras de anillo monociclo, puenteada, espiro, fusionada, biciclo y triciclo. Ejemplos de un grupo cicloalquilo incluyen, pero no se limitan a, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclopentenilo, ciclohexilo, ciclohexenilo, cicloheptilo, cicloheptenilo, norbornilo,

10 decalino, adamantilo, y ciclooctilo. El grupo cicloalquilo opcionalmente se puede sustituir con un grupo amino, alquilo, halo, o hidroxilo.

El término "aralquilo" se refiere a unidades estructurales de

15 alquilo sustituido con arilo. Los grupos aralquilo preferibles son grupos "aralquilo inferior" que tienen grupos arilo adheridos a grupos alquilo que tienen uno a seis átomos de carbono. Ejemplos de dichos grupos incluyen bencilo, difenilmetilo, trifenilmetilo, feniletilo, y difeniletilo.

20 Los términos bencilo y fenilmetilo son intercambiables.

El término "ariloxi" se refiere a grupos arilo, como se definió anteriormente, adheridos a un átomo de oxígeno. Los

grupos ariloxi opcionalmente se pueden sustituir con un grupo halo, hidroxilo, o alquilo. Ejemplos de dichos grupos incluyen fenoxi, 4-cloro-3-etilfenoxi, 4-cloro-3-metilfenoxi, 3-cloro-4-etilfenoxi, 3,4-diclorofenoxi, 4-metilfenoxi, 3-trifluorometoxifenoxi, 3-trifluorometilfenoxi, 4-fluorofenoxi, 3,4-dimetilfenoxi, 5-bromo-2-fluorofenoxi, 4-bromo-3-fluorofenoxi, 4-fluoro-3-metilfenoxi, 5,6,7,8-tetrahidronaftiloxi, 3-isopropilfenoxi, 3-ciclopropilfenoxi, 3-etilfenoxi, 4-tert-butilfenoxi, 3-pentafluoroetilfenoxi, y 3-(1, 1,2,2-tetrafluoroetoxi)fenoxi.

El término "alcoxi" se refiere a grupos que contienen oxígeno sustituidos con un grupo alquilo, o cicloalquilo. Ejemplos incluyen, sin limitación, metoxi, etoxi, tert-butoxi, y ciclohexiloxi. Más preferidos son los grupos "alcoxi inferior" que tienen uno a seis átomos de carbono. Ejemplos de dichos grupos incluyen grupos metoxi, etoxi, propoxi, butoxi, isopropoxi, y tert-butoxi.

El término "aralcoxi" se refiere a grupos aralquilo que contienen oxígeno adheridos a través de un átomo de oxígeno a otros grupos. Los grupos "aralcoxi inferior" son aquellos grupos fenilo adheridos al grupo alcoxi inferior como se

describió anteriormente. Ejemplos de dichos grupos incluyen benciloxi, 1-feniletoksi, 3-trifluorometoxibenciloxi, 3-trifluorometilbenciloxi, 3,5-difluorobeniloxi, 3-bromobenciloxi, 4-propilbenciloxi, 2-fluoro-3-trifluorometilbenciloxi, y 2-feniletoksi. El término "acilo" se refiere a $-C(=O)R$ en el que el R utilizado en esta definición es hidrógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, carbocíclico, heterocíclico, arilo, o aralquilo. Most preferiblemente, R es hidrógeno, alquilo, arilo, o aralquilo.

10

El término "carboxilo" se refiere a $--R'C(=O)OR''$, en el que R' y R'' como se utiliza en la definición son independientemente hidrógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, carbocíclico, heterocíclico, heterocicloalquilo, arilo, éter, o aralquilo, o R' adicionalmente puede ser un enlace covalente. "Carboxilo" incluye tanto ácidos carboxílicos, como ésteres de ácido carboxílico. El término "ácido carboxílico" se refiere a un carboxilo en el que R'' es hidrógeno, o una sal. Dichos ácidos incluyen ácido fórmico, acético, propionico, butírico, valérico, ácido 2-metil propionic, ácido oxirano-carboxílico, y ácido ciclopropano carboxílico. El término "éster de ácido carboxílico " o "éster" se refiere a un grupo carboxilo en el que which R'' es

15

20

alquilo, alquenilo, alquinilo, carbocíclico, heterocíclico, arilo, o aralquilo. Ejemplos de ácidos carboxílicos incluyen, pero no se limitan a ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico, ácido butírico, ácido pentanoico, ácido hexanoico, ácido heptanoico, ácido octanoico, ácido nonanoico, ácido decanoico, ácido ciclopropanocarboxílico, ácido ciclobutanocarboxílico, c ácido iclopentanocarboxílico, ácido ciclohexanocarboxílico, ácido cicloheptanocarboxílico, ácido ciclooctanocarboxílico, o ácido ciclononanocarboxílico.

10

El término "carbonilo" se refiere a una unidad estructural $C=O$, también conocido como un grupo "oxo".

El término "heterociclo" o "heterociclilo" o "anillo heterocíclico" se refiere a un hidrocarburo cíclico, aromático o no aromático, saturado o no saturado, opcionalmente sustituido con 3 a 12, o 5 a 6, átomos de carbono, en el que por lo menos uno de los átomos en el anillo es un O, N, S, P o Se. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un átomo N en el anillo del heterociclilo es el átomo de unión a $-C(O)$ para formar una amida, carbamato, o urea. En las realizaciones de ejemplo, "heterociclilo" se refiere a un hidrocarburo cíclico como se describió

anteriormente que contiene 4, 5, o 6 átomos en el anillo (es decir, heterociclico C₄₋₆). Ejemplos de un grupo heterocíclico incluyen, pero no se limitan a, aziridina, oxirano, tiirano, azetidina, oxetano, tietano, pirrolidina, imidazol, tetrahydrofurano, piran, tiopiran, tiomorfolina, S-óxido de tiomorfolina, oxazolina, tetrahidrotiofeno, piperidina, tetrahidropiran, tiano, imidazolidina, oxodioxolenilo, oxazolidina, tiazolidina, dioxolano, ditiolano, piperazina, oxazina, ditiano, dioxano, piridinilo, furanilo, benzofuranilo, isobenzofuranilo, pirrolilo, tienilo, 1,2,3 - triazolilo, 1,2,4-triazolilo, indolilo, imidazolilo, tiazolilo, tiadiazolilo, pirimidinilo, oxazolilo, triazinilo, y tetrazolilo. Heterociclos de ejemplo incluyen bencimidazol, dihidrotiofeno, dioxin, dioxano, dioxolano, ditiano, ditiiazina, ditiazol, ditiolano, furan, indol, 3-H indazol, 3-H-indol, indolizina, isoindol, isotiazol, isoxazol, morfolina, oxazol, oxadiazol, oxatiazol, oxatiazolidina, oxazina, oxadiazina, piperazina, piperidina, purina, piran, pirazina, pirazol, piridina, pirimidina, pirimidina, piridazina, pirrol, pirrolidina, tetrahydrofuran, tetrazina, tiadiazina, tiadiazol, tiatriazol, tiazina, tiazol, tiofeno, triazina, y triazol. El heterociclo opcionalmente se puede sustituir con un grupo amino, alquilo, alquenilo, alquinilo,

halo, hidroxilo, carbocíclico, tio, otro grupo heterocíclico, o arilo.

El término "heteroarilo" se refiere a un hidrocarburo
5 cíclico, donde por lo menos uno de los átomos en el anillo es un O, N, S, P o Se, el anillo se caracteriza por electrones [pi] deslocalizados (aromaticidad) compartidos entre los miembros en el anillo, y en el que el número de átomos en el anillo se indica por un rango de números. Las unidades
10 estructurales heteroarilo como se define aquí tiene manos de unión de C, N, S, P o Se. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un átomo N en el anillo del heteroarilo es el átomo de unión a -C(O) para formar una amida, carbamato, o urea. En las realizaciones de ejemplo, el "heteroarilo" se
15 refiere a un hidrocarburo cíclico como se describió anteriormente que contiene 5 o 6 átomos en el anillo (es decir heteroarilo C₅₋₆). Ejemplos de un grupo heteroarilo incluyen, pero no se limitan a, pirrol, furano, tieno, oxazol, tiazol, isoxazol, isotiazol, imidazol, pirazol,
20 oxadiazol, tiadiazol, triazol, tetrazol, piridina, pirimidina, pirazina, piridazina, y triazina.

El término "hidroxi" o "hidroxilo" se refiere al sustituyente -OH.

El término "oxo" se refiere al sustituyente =O.

5

El término "nitro" se refiere a O_2 .

El término "azido" se refiere a N_3 .

10 El término "análogo(s) de azufre " se refiere a un análogo de un compuesto de interés en el que uno o más átomos de selenio se han reemplazado por uno o más átomos de azufre, respectivamente.

15 El término "sulfanilo" se refiere a --SR' donde R' como se utiliza en la definición es hidrógeno, alquilo, alquenoilo, alquinilo, carbocíclico, heterocíclico, arilo, o aralquilo.

El término "sulfenilo" se refiere a --SOR' donde R como se
20 utiliza en esta definición es hidrógeno, alquilo, alquenoilo, alquinilo, carbocíclico, heterocíclico, arilo, o aralquilo.

El término "sulfonilo" se refiere a --SOR' donde R se refiere a hidrógeno, alquilo, alquienilo, alquinilo, carbocíclico, heterocíclico, arilo, o aralquilo.

5 El término "cetona" se refiere a una unidad estructural que contiene por lo menos un grupo carbonilo donde el carbono del carbonilo se une a dos otros átomos de carbono. En las realizaciones de ejemplo, "cetona" se refiere a una unidad estructural que contiene carbonilo como se describió
10 anteriormente que contiene 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 átomos de carbono (es decir cetona C₃₋₁₀). Ejemplos de un grupo cetona incluyen, pero no se limitan a, acetona, butanona, pentanona, hexanona, heptanona, octanona, nonanona, decanona, ciclobutanona, ciclopentanona, ciclohexanona, cicloheptanona,
15 ciclooctanona, ciclónonanona y ciclodecanona.

El término "amino" se refiere a un grupo amino primario, secundario o terciario de la fórmula --NR'R'' en el que R' y R'' como se utiliza en la definición son independientemente
20 hidrógeno, acilo, alquilo, alquienilo, alquinilo, aralquilo, arilo, carboxilo, cicloalquilo, heterocíclico, u otro amino (en el caso de hidrazida) o R' y R'' junto con el átomo de nitrógeno al que se adhieren, forman un anillo que tiene 4-8

átomos. Por lo tanto, el término "amino", incluye grupos amino no sustituido, monosustituido (por ejemplo, monoalquilamino o monoarilamino), y disustituido (por ejemplo, dialquilamino o aralquiloamino). Los grupos amino

5 incluyen --NH₂, metilamino, etilamino, dimetilamino, dietilamino, metil-etilamino, pirrolidin-1-ilo o piperidino, morfolino, etc. Otros grupos "amino" de ejemplo que forman un anillo incluyen pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, isotiazolilo, isoxazolilo, piridilo, pirazinilo,

10 pirimidinilo, piridazinilo, indolizininilo, imidazolilo, isoindolilo, indolilo, indazolilo, purinilo, quinolizininilo. El anillo que contiene el grupo amino opcionalmente se puede sustituir con otro grupo amino, alquilo, alquenoilo, alquinilo, halo, o hidroxilo.

15

El término "amina" se refiere a un grupo amino primario, secundario o terciario de la fórmula --NR'R'' en el que R' y R'' como se utiliza en la definición son independientemente hidrógeno, acilo, alquilo, alquienilo, alquinilo, aralquilo,

20 arilo, carboxilo, cicloalquilo, heterocíclico, u otro amino (en el caso de hidrazida) o R' y R'' junto con el átomo de nitrógeno al que se adhieren, forman un anillo que tiene 4-8 átomos. Por lo tanto, el término "amino", como se utiliza

aquí, incluye grupos amino no sustituido, monosustituido (por ejemplo, monoalquilamino o monoarilamino), y disustituido (por ejemplo, dialquilamino o aralquiloamino). Los grupos amino incluyen -NH_2 , metilamino, etilamino, dimetilamino, dietilamino, metil-etilamino, pirrolidin-1-ilo o piperidino, morfolino, etc. Otros grupos "amino" de ejemplo que forman un anillo incluyen pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, isotiazolilo, isoxazolilo, piridilo, pirazinilo, pirimidinilo, piridazinilo, indolizínilo, imidazolilo, isoindolilo, indolilo, indazolilo, purínilo, quinolizínilo. El anillo que contiene el grupo amino opcionalmente se puede sustituir con otro grupo amino, alquilo, alquenilo, alquinilo, halo, o hidroxilo.

El término "alcohol" se refiere a "hidroxi" o "hidroxilo" se refiere al sustituyente -OH .

El término "alcohol amino" se refiere a un grupo funcional que contiene un alcohol y un grupo amina. Como se utiliza aquí, "alcoholes amino" también se refiere a aminoácidos como se definió anteriormente que tienen un carbono unido a un alcohol en lugar del grupo ácido carboxílico. En las realizaciones de ejemplo, el término "alcohol amino" se

refiere a un alcohol amino como se definió anteriormente en el que la amina se une al carbono adyacente al carbono que lleva alcohol. En las realizaciones de ejemplo, "alcohol amino" se refiere a una amina y la unidad estructura que
5 contiene alcohol como se describió anteriormente que contiene 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 átomos de carbono (es decir, alcohol amino C₁₋₁₂). Ejemplos de alcoholes amino incluyen, pero no se limitan a, etanolamina, heptaminol, isoetarina, norepinefrina, propanolamina, esfingosina,
10 metanolamina, 2-amino-4-mercaptobutan-1-ol, 2-amino-4-(metiltio)butan-1-ol, cisteinol, fenilglicinol, prolinol, 2-amino-3-fenil-1-propanol, 2-amino-1-propanol, ciclohexilglicinol, 4-hidroxi-prolinol, leucinol, tert-leucinol, fenilalaninol, α-fenilglicinol, 2-
15 pirrolidinametanol, tirosinol, valinol, serinol, 2-dimetilaminoetanol, histidinol, isoleucinol, leucinol, metioninol, 1-metil-2-pirrolidinametanol, treoninol, triptofanol, alaninol, argininol, glicinol, glutaminol, 4-amino-5-hidroxipentanamida, ácido 4-amino-5-
20 hidroxipentanoico, ácido 3-amino-4-hidroxibutanoico, lisinol, 3-amino-4-hidroxibutanamida, y 4-hidroxi-prolinol.

El término "aminoácido" se refiere a un grupo que contiene un ácido carboxílico y una amina unida al átomo de carbono inmediatamente adyacente al grupo carboxilato, e incluye aminoácidos naturales y sintéticos. Ejemplos de aminoácidos incluyen, pero no se limitan a, arginina, histidina, lisina, ácido aspártico, ácido glutámico, serina, treonina, asparagina, glutamina, cisteína, selenocisteína, glicina, prolina, alanina, valina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, tirosina, triptofano. El carboxilo se sustituye con H, una sal, éster, alquilo, o aralquilo. El grupo amino se sustituye con H, acilo, alquilo, alquenilo, alquinilo, carboxilo, cicloalquilo, aralquilo, o heterociclilo.

El término "éter" se refiere al grupo $--R'-O--R''$ en el que R' y R'' como se utiliza en la definición son independientemente hidrógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, carbocíclico, heterocíclico, arilo, o aralquilo, y R' adicionalmente puede ser un enlace covalente adherido a un carbono.

El término "halógeno" se refiere a un átomo de flúor, cloro, bromo o yodo.

El término "haluro" se refiere a un grupo funcional que contiene un átomo unido a un átomo de flúor, cloro, bromo o yodo. Las realizaciones de ejemplo descritas aquí pueden incluir grupos "haluro de alquilo", "haluro de alquenilo",
5 "haluro de alquinilo", "haluro de cicloalquilo", "haluro de heterociclilo", o " haluro de heteroarilo". En las realizaciones de ejemplo, el "haluro de alquilo" se refiere a una unidad estructural que contiene un enlace de carbono-halógeno que contiene 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 átomos
10 de carbono (es decir, haluro de alquilo C₁₋₁₀).

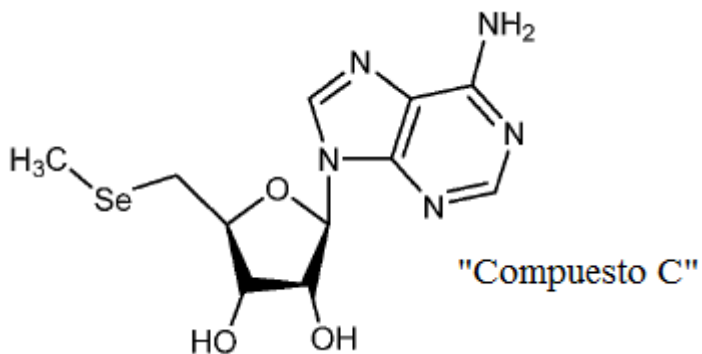
Ejemplos de un grupo haluro de alquilo incluyen, pero no se limitan a, grupos fluorometilo, fluoroetilo, clorometilo, cloroetilo, bromometilo, bromoetilo, yodometilo y yodoetilo.
15 A menos que se indique lo contrario, cualquier grupo que contiene carbono mencionado aquí puede contneer uno o más enlaces de carbono -halógeno bonds. Por vía de ejemplo no limitante, un grupo Cialquilo puede ser, pero no se limita a, metilo, fluorometilo, difluorometilo, trifluorometilo,
20 clorometilo, diclorometilo, triclorometilo, bromometilo, dibromometilo, tribromometilo, yodometilo, diyodometilo, triyodometilo, clorofluorometilo, diclorofluorometilo, y difluoroclorometilo.

En los compuestos descritos aquí, los heteroátomos son capaces de soportar múltiples valencias diferentes. A modo de ejemplo no limitante, S, Se y N puede ser neutrales o tienen una carga positiva, y O puede ser neutro o mantener una carga positiva o negativa.

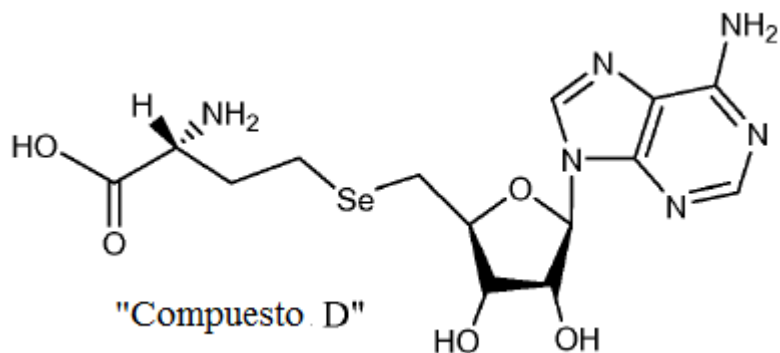
En algunas realizaciones, los compuestos de acuerdo con la fórmula (I), (II) o (III) abarcan los diastereómeros y enantiómeros de los compuestos ilustrados. Los enantiómeros se definen como uno de un par de entidades moleculares que son imágenes especulares entre sí y no superponibles. Los diastereómeros o diastereoisómeros se definen como estereoisómeros distintos de enantiómeros. Los diastereómeros o diastereoisómeros son estereoisómeros que no están relacionados como imágenes especulares. Los diastereoisómeros se caracterizan por diferencias en las propiedades físicas.

Los términos "compuesto C" o "Compuesto C", mostrados aquí, se refieren a 5'-Metilselenoadenosina; también conocida como (2R,4S,5S)-2-(6-amino-9H-purin-9-il)-5-((metilselanil)metil) tetrahidrofuran-3,4-diol, Número de Registro CAS 5135-40-0, e

incluye cualesquier sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

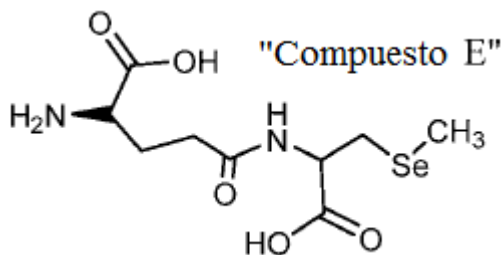


5 Los términos "compuesto D" o "Compuesto D", mostrados aquí, se refieren a 5'-Selenoadenosil homocisteína; ácido (2R)-2-amino-4-(((2S,3S,5R)-5-(6-amino-9H-purin-9-yl)-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-yl)metil)selanil)butanoico, Número de Registro CAS 4053-91-2, e incluye cualesquier sales
10 farmacéuticamente aceptables de los mismos.



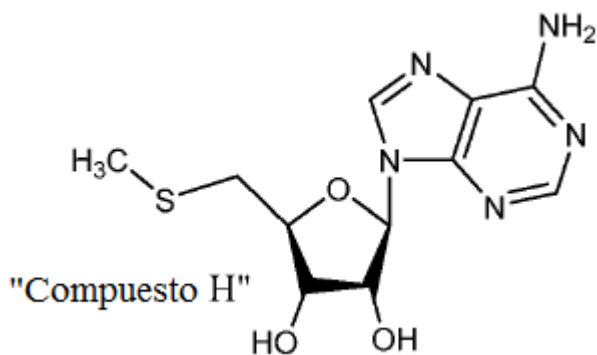
Los términos "compuesto E" o "Compuesto E", mostrados aquí, se refieren a gama-glutamil-metilseleno-cisteína o γ -L-

glutamil-Se-metil-L-cisteína; también conocido como N5-(1-carboxi-2-(metilselanil)etil)-L-glutamina, o cualquier sal farmacéuticamente aceptable del mismo.



5

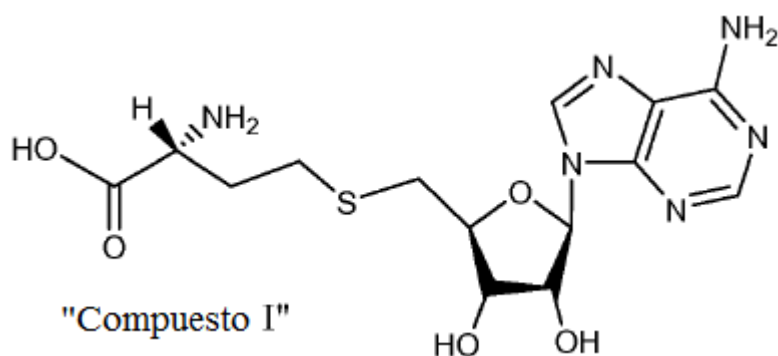
Los términos "compuesto H" o "Compuesto H", mostrados aquí, se refieren a 5'-Metiltioadenosina; 5'-S-Metil-5'-tioadenosina, Registro CAS No. 2457-80-9, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.



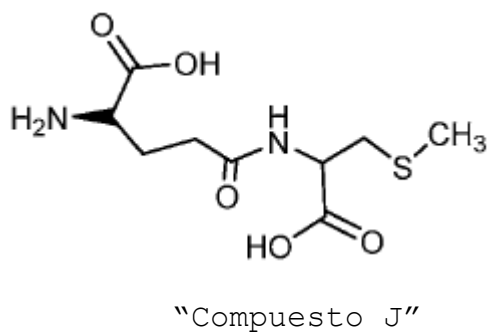
10

Los términos "compuesto I" o "Compuesto I" se refiere a S-Adenosil-L-homocisteína, también conocido como (S)-5'-(S)-(3-Amino-3-carboxipropil)-5'-tioadenosina, Registro CAS No. 979-92-0, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15



Los términos "compuesto J" o "Compuesto J", mostrados aquí, se refieren a γ -L-glutamyl-metil-L-cisteína, también conocido
 5 como Gama-glutamyl-metil-cisteína, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.



10 El término "compuestos CDE" se refiere a una mezcla de compuesto C, compuesto D y compuesto E, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

El término "compuestos HIJ" se refiere a una mezcla de
 15 compuesto H, compuesto I y compuesto J, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Los términos "análogo" y "derivado" son intercambiables y se refieren a una modificación natural o no natural de por lo menos una posición de una molécula dada. Por ejemplo, un derivado de un compuesto o molécula dada se modifica ya sea por adición de un grupo funcional o átomo, eliminación de un grupo funcional o átomo o cambio de un grupo funcional o átomo a un grupo funcional o átomo diferente (que incluyen, pero no se limita a, isótopos).

10

El término "que comprende" se refiere a una composición, compuesto, formulación o método que es inclusive y no excluye elementos adicionales o etapas de método.

15 El término "que consiste de" se refiere a un compuesto, composición, formulación, o un método que excluye la presencia de cualquier componente o etapas de método adicionales.

20 El término "que consiste esencialmente de" se refiere a una composición, compuesto, formulación o método que es inclusivo de elementos adicionales o etapas de método que no afectan

materialmente la característica(s) de la composición, compuesto, formulación o método.

El término "compuesto (s)" se refiere a cualquiera de una o
5 más entidades químicas, farmacéuticas, fármacos, y similares
que se pueden utilizar para tratar o prevenir una enfermedad,
dolencia, mareo o trastorno de la función corporal. Los
compuestos comprenden compuestos terapéuticos conocidos y
potenciales. Se puede determinar que un compuesto es
10 terapéutico mediante detección utilizando los métodos de
detección de la presente solicitud. Un "compuesto terapéutico
conocido" se refiere a un compuesto terapéutico que se ha
mostrado (por ejemplo, a través de ensayos con animales o
experiencia anterior con administración a humanos) para ser
15 eficaz en dicho tratamiento. En otras palabras, un compuesto
terapéutico conocido no se limita a un compuesto efectivo en
el tratamiento de enfermedad (por ejemplo, enfermedad
neurodegenerativa).

20 El término "composición(es)" se refiere a la combinación de
uno o más compuestos con o sin otro agente, tales como, pero
no limitado a un agente portador. (Por ejemplo, uno o más de
compuestos que contienen selenio con un portador, inerte o

activo, haciendo la composición especialmente adecuada para uso diagnóstico o terapéutico in vitro, in vivo o ex vivo.

El término "componente" se refiere a una parte constituyente
5 de un compuesto o una composición. Por ejemplo, los componentes de una composición pueden incluir un compuesto, un portador, y cualquier otro agente presente en la composición.

10 El término "cantidad efectiva" se refiere a la cantidad de una composición o compuesto suficiente para efectuar resultados beneficiosos o deseados. Una cantidad efectiva se puede administrar en una o más aplicaciones o dosificaciones y no pretende estar limitada a una formulación particular o
15 ruta de administración.

El término "hidrato" se refiere a un compuesto descrito aquí que se asocia con el agua en la forma molecular, es decir, en la que no se divide el enlace H- OH, y puede ser
20 representado, por ejemplo, por la fórmula $R \times H_2O$, donde R es un compuesto descrito aquí. Un compuesto dado puede formar más de un hidrato que incluye, por ejemplo, monohidratos ($R \times$

H₂O), dihidratos (R₂ x H₂O), trihidratos (R₃ x H₂O), y similares.

El término "inhibidor" o "antagonista" se refiere a la
5 propiedad de un compuesto que disminuye, limita, o bloquea la acción o función de otro compuesto.

El término "aislado" se refiere a la separación de un material a partir de por lo menos un otro material en una
10 mezcla o de materiales que se asocian naturalmente con el material. Por ejemplo, un compuesto sintetizado de forma sintética se separa de un material de partida o un intermedio.

15 El término "potencial mitocondrial" se refiere a la diferencia de voltaje a través de la membrana mitocondrial interna mantenida por el movimiento neto de cargas positivas a través de la membrana.

20 El término "modula" se refiere a un cambio en el estado (por ejemplo, actividad o cantidad) de un compuesto a partir de un estado conocido o determinado.

“Opcional” u “opcionalmente” se refiere a una circunstancia en la que puede o no puede ocurrir el evento o circunstancia descrito posteriormente, y que la descripción incluye casos en los que dicho evento o circunstancia ocurre y casos en
5 donde no lo hace. “Opcionalmente” incluye realizaciones en las que están presentes las condiciones que se describen y realizaciones en las que la condición descrita no está presente. Por ejemplo, “fenilo opcionalmente sustituido” significa que el fenilo puede o no ser sustituido y que la
10 descripción incluye ambos fenilo no sustituido y fenilo en la que hay sustitución. “Opcionalmente” incluye realizaciones en las que las condiciones descritas están presentes y realizaciones en las que la condición descrita no está presente.

15

El término “selenio orgánico” o “compuesto de seleno-orgánico” se refiere a cualquier compuesto orgánico en el que el selenio reemplaza el azufre. Por lo tanto, el selenio orgánico puede referirse a cualquiera de dichos compuestos
20 biosintetizados por la levadura, o puede hacer referencia compuestos seleno-orgánicos libres que se sintetizan químicamente. Un ejemplo de este último es la selenometionina

libre. En algunos casos, los compuestos de seleno-orgánicos también incluyen selenometabolitos.

Los términos "paciente" o "sujeto" se utilizan de forma
5 intercambiable y se refieren a cualquier integrante del reino Animalia. Preferiblemente, un sujeto es un mamífero, tal como un humano, mamífero domesticado o un mamífero de ganado.

La frase "farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellos
10 compuestos, materiales, las composiciones y/o formas de dosificación que están, dentro del alcance del juicio médico, adecuados para uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica, u otro problema o complicación, acorde
15 con una ración de beneficio/riesgo razonable.

La frase "portador farmacéuticamente aceptable" se refiere a un material farmacéuticamente aceptable, composición o vehículo, tal como un relleno, diluyente, excipiente,
20 disolvente o material encapsulante líquido o sólido, implicado en llevar o transportar el compuesto que contiene selenio objeto o análogo o derivado desde un órgano, o porción del cuerpo, hasta otro órgano, o porción del cuerpo.

Cada portador debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la formulación y no perjudicial para el paciente. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como portadores farmacéuticamente
5 aceptables incluyen: (1) azúcares, tales como lactosa, glucosa y sacarosa; (2) almidones, tales como almidón de maíz y almidón de papa; (3) celulosa, y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa de sodio, etilcelulosa y acetato de celulosa; (4) tragacanto en polvo; (5) malta; (6) gelatina;
10 (7) talco; (8) excipientes, tales como manteca de cacao y ceras para supositorios; (9) aceites, tales como aceite de maní, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; (10) glicoles, tales como propilenglicol; (11) polioles,
15 tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol; (12) ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; (13) agar; (14) agentes de regulación, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; (15) ácido algínico; (16) agua libre de pirógenos; (17) solución salina isotónica;
20 (18) solución de Ringer; (19) alcohol etílico; (20) soluciones reguladoras de fosfato; y (21) otras sustancias compatibles no tóxicas empleadas en formulaciones farmacéuticas.

El término "profármaco" se refiere a un compuesto farmacológicamente activo o más normalmente inactivo que se convierte en un agente farmacológicamente activo por una transformación metabólica. Los profármacos de un compuesto de cualquiera de las fórmulas anteriores se preparan al modificar grupos funcionales presentes en el compuesto de cualquiera de las fórmulas anteriores de una manera tal que las modificaciones se pueden dividir in vivo para liberar el compuesto progenitor. In vivo, un profármaco experimenta fácilmente cambios químicos en condiciones fisiológicas (por ejemplo, se hidrolizan o actúan sobre enzimas de origen natural) lo que resulta en la liberación del agente farmacológicamente activo. Los profármacos incluyen compuestos de cualquiera de las fórmulas anteriores, en el que un grupo hidroxilo, amino, o carboxi se une a cualquier grupo que se puede dividir in vivo para regenerar el grupo hidroxilo, amino o carboxi, respectivamente. Ejemplos de profármacos incluyen, pero no se limitan a ésteres (por ejemplo, derivados de acetato, formiato, y benzoato) de compuestos de cualquiera de las fórmulas anteriores o cualquier otro derivado que al ser llevado al pH fisiológico o a través de la acción de enzima se convierte en el fármaco

progenitor activo. Los procedimientos convencionales para la selección y preparación de derivados de profármacos adecuados se describen en la técnica (véase, por ejemplo, Bundgaard. Design of Prodrugs. Elsevier, 1985).

5

El término "purificado" o "purificar" o "sustancialmente purificado" se refiere a la eliminación de un componente, tal como componentes inactivos, inhibidores, compuestos sin reaccionar, o compuestos alternativos producidos durante la síntesis, (por ejemplo, contaminantes) de una composición en la medida en que el 10% o menos (por ejemplo, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% o menos) de la composición no es compuestos activos o portador farmacéuticamente aceptable.

15 El término "sales" puede incluir sales de adición de ácido o sales de adición de bases libres. Preferiblemente, las sales son farmacéuticamente aceptables. Ejemplos de ácidos que se pueden emplear para formar sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, sales derivadas de ácidos inorgánicos no tóxicos tales como
20 nítrico, fosfórico, sulfúrico, o bromhídrico, yodhídrico, fluorhídrico, fosforoso, así como sales derivadas de ácidos orgánicos no tóxicos tales como ácidos alifáticos mono- y

dicarboxílicos, ácidos alcanoicos sustituidos con fenilo, ácidos hidroxilo alcanoicos, ácidos alcanodioicos, ácidos aromáticos, ácidos sulfónicos alifáticos y aromáticos, y ácidos acético, maleico, succínico, o ácidos cítricos.

- 5 Ejemplos no limitantes de dichas sales incluyen napadisilato, besilato, sulfato, pirosulfato, bisulfato, sulfito, bisulfito, nitrato, fosfato, monohidrogenofosfato, dihidrogenofosfato, metafosfato, pirofosfato, cloruro, bromuro, yoduro, acetato, trifluoroacetato, propionato, 10 caprilato, isobutirato, oxalato, malonato, succinato, suberato, sebacato, fumarato, maleato, mandelato, benzoato, clorobenzoato, metilbenzoato, dinitrobenzoato, ftalato, bencenosulfonato, toluenosulfonato, fenilacetato, citrato, lactato, maleato, tartrato, metanosulfonato, y similares.
- 15 También se contemplan sales de aminoácidos tales como arginato y similares y gluconato, galacturonato (véase, por ejemplo, Berge, et al. "Pharmaceutical Salts", *J. Pharma Sci.* 1977; 66: 1).

- 20 El término "sales farmacéuticamente aceptables" incluye, pero no se limita a, sales bien conocidas por aquellos expertos en la técnica, por ejemplo, mono-sales (por ejemplo sales de metal alcalino y se amonio) y polisales (por ejemplo di- o

tri-sales,) de los compuestos de la invención. Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la descripción son, por ejemplo, cuando un grupo intercambiable, tal como hidrógeno en --OH, --NH- , o --P(=O)(OH)--, se
5 reemplaza con un catión farmacéuticamente aceptable (por ejemplo un ión de sodio, potasio, o amonio) y se puede preparar de forma conveniente a partir de un compuesto correspondiente descrito aquí, por ejemplo, mediante reacción con una base adecuada. En los casos donde los compuestos son
10 suficientemente básicos o ácidos para formar sales ácidas o básicas no tóxicas, puede ser apropiada la administración de los compuestos como sales. Ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables son sales de adición de ácido orgánico formadas con ácidos que forman un anión fisiológico
15 aceptable, por ejemplo, tosilato, metanosulfonato, acetato, citrato, malonato, tartarato, succinato, benzoato, ascorbato, alfa-ketoglutarato, y alfa-glicerofosfato. También se pueden formar sales inorgánicas adecuadas, que incluyen sales de clorhidrato, sulfato, nitrato, bicarbonato y carbonato. Las
20 sales farmacéuticamente aceptables se pueden obtener utilizando procedimientos estándar bien conocidos en la técnica, por ejemplo, al hacer reaccionar un compuesto suficientemente básico tal como una amina con un ácido

adecuado que proporciona un anión fisiológicamente aceptable. También se pueden elaborar sales de metales alcalinos (por ejemplo, sodio, potasio o litio) o metales alcalinotérreos (por ejemplo, calcio) de ácidos carboxílicos.

5

Los términos "levadura enriquecida con selenio" y "levadura selenizada" se refieren a cualquier levadura (por ejemplo, *Saccharomyces cerevisiae*) que se cultiva en un medio que contiene sales de selenio inorgánicas. La presente solicitud
10 no se limita por la sal de selenio utilizada. De hecho, se contemplan que una variedad de sales de selenio son útiles en la presente solicitud, que incluyen, pero no se limitan a, selenito de sodio, selenato de sodio, selenito de cobalto o selenato de cobalto. Un compuesto que contiene selenio en
15 dichas preparaciones de levadura es selenometionina que estará presente en una forma que se incorpora en polipéptidos/proteínas. La cantidad de total de selenio celular presente en forma de selenometionina en dichas preparaciones variará, pero puede estar entre 10 y 100%, 20-
20 60%, 50-75% y entre 60 y 75%. El resto del selenio orgánico en las preparaciones de levadura selenizada está hecho predominantemente de compuestos intermedios en la ruta para biosíntesis de selenometionina. Estos incluyen, pero no se

limitan a, selenocisteína, selenocistationina, selenohomocisteína y seleno-adenosil-selenometionina. La cantidad de sal de selenio inorgánico residual en el producto acabado es generalmente bastante baja (por ejemplo, <2%).

5

El término "sustituido" en relación con una unidad estructural se refiere a un sustituyente adicional que se une a la unidad estructural en cualquier ubicación aceptable en la unidad estructural. A menos que se indique lo contrario, las unidades estructurales se pueden unir a través de un carbono, nitrógeno, oxígeno, azufre, o cualquier otro átomo aceptable. Los ejemplos de sustituyentes incluyen, pero no se limitan a aminas, alcoholes, tioles, éteres, alquenos, alquinos, epóxidos, aziridinas, oxiranos, azetidinas, dihidrofuranos, pirrolidinas, piranos, piperidinas, aldehídos, cetonas, ésteres, ácidos carboxílicos, carboxilatos, iminas, imidas, azidas, grupos azo, enaminas, haluros de alquilo, haluros de alquenilo, haluros de alquinilo, haluros de arilo, fosfinas, óxidos de fosfina, fosfinitos, fosfonitos, fosfitos, fosfonatos, fosfatos, sulfatos, sulfóxidos, grupos sulfonilo, grupos sulfoxilo, sulfonatos, nitratos, nitritos, nitrilos, grupos nitro, grupo nitroso, cianatos, tiocianatos, isotiocianatos, carbonatos,

10

15

20

haluros de acilo, peróxidos, hidroperóxidos, hemiacetales, hemicetales, acetales, cetales, ortoésteres, ésteres de ortocarbonato, sulfuros, disulfuros, ácidos sulfónicos, ácidos sulfónicos, tionas , tiales, fosfodiésteres, ácidos
5 borónicos, ésteres borónicos, ácidos borónicos y ésteres borónicos.

Los términos "tratar", "trata" o "tratamiento" se refieren al tratamiento terapéutico en el que el objeto es reducir (por
10 ejemplo, disminuir o retardar la aparición de) un afección fisiológica, trastorno o enfermedad no deseada, o para obtener resultados beneficiosos o deseados tales como restauración o inhibición parcial o total en decline de un parámetro, valor, función o resultado que tuvo o se vuelve
15 anormal. Los resultados beneficiosos o deseados incluyen, pero no se limitan a, alivio de los síntomas; disminución de la extensión o el vigor o tasa de desarrollo de la afección, trastorno o enfermedad; estabilización (es decir, no empeoramiento) del estado de la afección, trastorno o
20 enfermedad; retardo en el inicio o ralentización de la progresión de la afección, trastorno o enfermedad; mejora de la afección, trastorno o estado de enfermedad; y remisión (ya sea parcial o total), ya sea o no que se traduzca en

disminución inmediata de los síntomas clínicos reales, o la mejora o potenciación de la afección, trastorno o enfermedad.

El término "reactivo (s) capaz de detectar específicamente la
5 expresión génica" se refiere a reactivos capaces de o
suficientes para detectar la expresión de diversos genes
descritos en detalle aquí. Ejemplos de reactivos adecuados
incluyen, pero no se limitan a, sondas de ácido nucleico
capaz de hibridarse específicamente con mRNA o cADN, y los
10 anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos monoclonales o
policlonales).

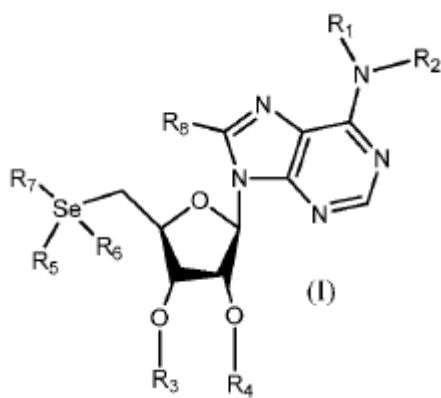
El término "tóxico" se refiere a cualquier efecto perjudicial
o nocivo en un sujeto, una célula, o un tejido en comparación
15 con la misma célula o tejido antes de administración de la
sustancia tóxica.

Compuestos y composiciones

20 Un aspecto de la presente solicitud se dirige a 5'-
Metilselenoadenosina ("compuesto C"), Se-Adenosil-L-
homocisteína ("compuesto D"), Gama-glutamyl-metilseleno-
cisteína ("compuesto E") y análogos de los mismos. Algunas

realizaciones incluyen una composición que comprende un compuesto de la Fórmula I, Fórmula II, y/o Fórmula III y combinaciones de los mismos.

- 5 En algunas realizaciones, se proporciona una composición que comprende un compuesto de acuerdo con la fórmula (I):



- o una sal, hidrato o profármaco farmacéuticamente aceptable
10 del mismo,
en la que R_1 es H, acilo, alquilo, alquenilo, alquinilo, aralquilo, carboxilo, cicloalquilo, $C(O)R'$, $C(O)OR'$, donde R' es alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, o heterociclilo; o R_1 junto con R_2 forman un anillo
15 heterocíclico que tiene 4 a 8 miembros en el anillo con por lo menos un heteroátomo seleccionado de oxígeno o nitrógeno;

R₂ es H, acilo, alquilo, alqueno, alquino, aralquilo, carboxilo, cicloalquilo, C(O)R', C(O)OR', donde R' se selecciona de alquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, o heterocíclico; o R₁ junto con R₂ forman un anillo heterocíclico que tiene 4 a 8 miembros en el anillo con por lo menos un heteroátomo seleccionado de oxígeno o nitrógeno;

R₃ es H, acilo, alquilo, alqueno, alquino, aralquilo, cicloalquilo, carboxilo, o C-amido; o R₃ junto con R₄ y los átomos a los cuales se adhieren forman un anillo heterocíclico que tiene 4 a 8 miembros en el anillo con por lo menos un heteroátomo seleccionado de oxígeno o nitrógeno;

R₄ es H, acilo, alquilo, alqueno, alquino, aralquilo, cicloalquilo, carboxilo, o C-amido; o R₃ junto con R₄ y los átomos a los cuales se adhieren forman un anillo heterocíclico que tiene 4 a 8 miembros en el anillo con por lo menos un heteroátomo seleccionado de oxígeno o nitrógeno;

R₅ es oxo, hidroxilo, alquilo, alqueno, alquino, OR', o está ausente; donde R' se selecciona de alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, arilo, o aralquilo;

R₆ es oxo, hidroxilo, alquilo, alquenilo, alquinilo, OR', o está ausente; donde R' se selecciona de alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo, o aralquilo;

5 R₇ es H, alquilo, alquenilo, alquinilo, cetona, alcohol amino, aminoácido, OR', Se-R', S- R', donde R' se selecciona de H, alquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, o heterociclilo; y R₈ es hidrógeno, azido, alquilo, alquenilo, alquinilo.

10

En las realizaciones adicionales, se pueden aislar y/o purificar uno o más de estos compuestos de la Fórmula (I).

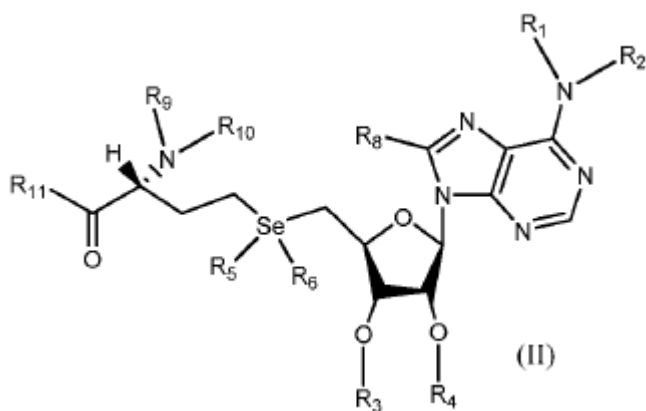
En algunas realizaciones, se proporciona una composición que
15 comprende un compuesto de acuerdo con la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del mismo, en el que R₁; R₃; R₄ y R₈ son cada uno H; R₂ es H, acilo, alquilo, alquenilo, alquinilo, aralquilo, carboxilo, cicloalquilo, C(O)R', o C(O)OR', donde R' se selecciona de
20 alquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, o heterociclilo; R₅ y R₆ están cada uno ausentes; y R₇ es alquilo, o aminoácido.

En algunas realizaciones, se proporciona una composición que comprende un compuesto de acuerdo con la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del mismo, en el que R_1 ; R_3 R_4 y R_8 son cada uno H; R_2 es H, acilo, alquilo, alquenilo, alquinilo, aralquilo, carboxilo, cicloalquilo, $C(O)R'$, $C(O)OR'$, donde R' se selecciona de alquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, o heterociclilo; R_5 y R_6 están cada uno ausentes; y R_7 es alquilo, o aminoácido; con la condición que 5'-selenoadenosil metionina, deshidroxi 5'-metilselenoadenosina, etilselenoadenosina, seleno(hidroxil)-selenofeno-(3'-desoxi-adenosina), alilselenoadenosil homocisteína, seleno-adenosil homocisteína, seleno-hidroxi adenosil homocisteína, seleno adenosina, seleno-adenosil-Se(metil)-selenóxido, adenosil-hidroxi selenóxido, etil selenoadenosina, seleno-(hidroxi)-selenofeno-(3'-desoxi-adenosina), adenosil-hidroxi selenóxido, y seleno-adenosil-Se(metil)-selenóxido cada uno se puede excluir de la composición.

En un aspecto específico, se proporciona una composición que comprende un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del mismo, de acuerdo con la fórmula (I) que es 5'-metilselenoadenosina ("compuesto C").

En algunas realizaciones, las composiciones comprenden un compuesto de acuerdo con la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del mismo, con la condición que 5'-selenoadenosil metionina, deshidroxi 5'-metilselenoadenosina, etilselenoadenosina, seleno(hidroxil)-selenofeno-(3'-desoxi-adenosina), alilselenoadenosil homocisteína, seleno-adenosil homocisteína, seleno-hidroxi adenosil homocisteína, seleno adenosina, seleno-adenosil-Se(metil)-selenóxido, adenosil-hidroxi selenóxido, etil selenoadenosina, seleno-(hidroxi)-selenofeno-(3'-desoxi-adenosina), adenosil-hidroxi selenóxido, y seleno-adenosil-Se(metil)-selenóxido pueden cada uno ser excluidos de la composición.

En algunas realizaciones, se proporciona una composición que comprende un compuesto de acuerdo con la fórmula (II):



o una sal, hidrato o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo,

en el que R_1 es H, acilo, alquilo, alqueno, alquino, arilo,

5 aralquilo, carboxilo, cicloalquilo, $C(O)R'$, $C(O)OR'$, donde R' es alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, arilo, aralquilo, o heterociclilo; o R_1 junto con R_2 forman un anillo heterocíclico que tiene 4 a 8 miembros en el anillo con por lo menos un heteroátomo seleccionado de oxígeno o nitrógeno;

10

R_2 es H, acilo, alquilo, alqueno, alquino, aralquilo, carboxilo, cicloalquilo, $C(O)R'$, $C(O)OR'$, donde R' se selecciona de alquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, o heterociclilo; o R_1 junto con R_2 forman un anillo
15 heterocíclico que tiene 4 a 8 miembros en el anillo con por lo menos un heteroátomo seleccionado de oxígeno o nitrógeno;

R_3 es H, acilo, alquilo, alqueno, alquino, aralquilo, cicloalquilo, carboxilo, o C-amido; o R_3 junto con R_4 y los
20 átomos a los cuales se adhieren forman un anillo heterocíclico que tiene 4 a 8 miembros en el anillo con por lo menos un heteroátomo seleccionado de oxígeno o nitrógeno;

R₄ es H, acilo, alquilo, alqueno, alquino, aralquilo, cicloalquilo, carboxilo, o C-amido; o R₃ junto con R₄ y los átomos a los cuales se adhieren forman un anillo heterocíclico que tiene 4 a 8 miembros en el anillo con por lo menos un heteroátomo seleccionado de oxígeno o nitrógeno;

R₅ es oxo, hidroxilo, alquilo, alqueno, alquino, OR', o está ausente; donde R' se selecciona de alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, arilo, o aralquilo;

10

R₆ es oxo, hidroxilo, alquilo, alqueno, alquino, OR', o está ausente; donde R' se selecciona de alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, arilo, o aralquilo;

15 R₈ es hidrógeno, azido, alquilo, alqueno, alquino;

R₉ es H, acilo, alquilo, alqueno, alquino, aralquilo, carboxilo, cicloalquilo, C(O)R', C(O)OR', donde R' es alquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, o heterociclilo; o

20 R₉ junto con R₁₀ forman un anillo heterocíclico que tiene 4 a 8 miembros en el anillo con por lo menos un heteroátomo seleccionado de oxígeno o nitrógeno;

R₁₀ es H, acilo, alquilo, alqueno, alquino, aralquilo, carboxilo, cicloalquilo, C(O)R', C(O)OR', donde R' se selecciona de alquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, o heterociclilo; o R₉ junto con R₁₀ forman un anillo
5 heterocíclico que tiene 4 a 8 miembros en el anillo con por lo menos un heteroátomo seleccionado de oxígeno o nitrógeno; y

R₁₁ es OH, OR, alcoxi, aralcoxi, o amino, donde R se
10 selecciona de alquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, heterociclilo, o una sal farmacéuticamente aceptable, o sal interna.

En las realizaciones adicionales, se puede aislar y/o
15 purificar uno o más de estos compuestos de la Fórmula (II)

En algunas realizaciones, se proporciona una composición que comprende un compuesto de acuerdo con la fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del
20 mismo, en el que R₁; R₃; R₄, R₈ y R₉ son cada uno H; R₂ es H, acilo, alquilo, carboxilo, C(O)R', o C(O)OR', donde R' se selecciona de alquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, o heterociclilo; R₅ y R₆ están ausentes; R₁₀ es H, acilo,

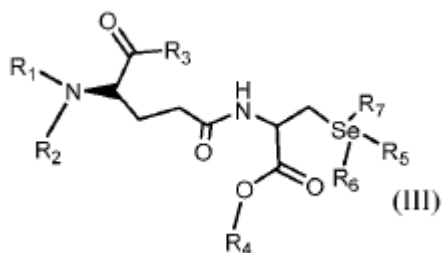
alquilo, alquenoilo, alquinoilo, aralquilo, carboxilo, cicloalquilo, $C(O)R'$, $C(O)OR'$, donde R' se selecciona de alquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, o heterociclilo; y R_n es OH, OR, alcoxi, aralcoxi, o amino, donde R se
5 selecciona de alquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, heterociclilo, o una sal farmacéuticamente aceptable, o sal interna.

En algunas realizaciones, se proporciona una composición que
10 comprende un compuesto de acuerdo con la fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del mismo, en el que $R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10}$ son como se definió anteriormente y en la que R_{11} es OH o OR, donde R se selecciona de metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo,
15 sec -butilo, o tert-butilo.

En un aspecto específico, se proporciona una composición que comprende un compuesto de acuerdo con la fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del
20 mismo, que es 5'-selenoadenosil homocisteína (compuesto "D"), o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del mismo.

En algunas realizaciones, las composiciones comprenden un compuesto de acuerdo con la fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del mismo; con la condición que 5'-selenoadenosil metionina, 5 alilselenoadenosil homocisteína, seleno-adenosil homocisteína, y seleno-hidroxi adenosil homocisteína puede cada uno ser excluido de la composición.

En algunas realizaciones, se proporciona una composición que
10 comprende un compuesto de acuerdo con la fórmula (III):



o una sal, hidrato o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que
15 R₁ es H, acilo, alquilo, alquenoilo, alquinoilo, aralquilo, carboxilo, cicloalquilo, C(O)R', C(O)OR', donde R' es alquilo, alquenoilo, alquinoilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, o heterociclilo; o R₁ junto con R₂ forman un anillo heterocíclico que tiene 4 a 8 miembros en el anillo con por
20 lo menos un heteroátomo seleccionado de oxígeno o nitrógeno;

R₂ es H, acilo, alquilo, alquenilo, alquinilo, aralquilo, carboxilo, cicloalquilo, C(O)R', C(O)OR', donde R' se selecciona de alquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, o
5 heterociclicilo; o R₁ junto con R₂ forman un anillo heterocíclico que tiene 4 a 8 miembros en el anillo con por lo menos un heteroátomo seleccionado de oxígeno o nitrógeno;

R₃ es OH, OR, alcoxi, aralcoxi, o amino, donde R se
10 selecciona de alquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, heterociclicilo, o una sal farmacéuticamente aceptable, o sal interna;

R₄ es H, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, heterociclicilo, o una sal farmacéuticamente
15 aceptable, o sal interna;

R₅ es oxo, hidroxilo, alquilo, alquenilo, alquinilo, OR', o está ausente; donde R' se selecciona de alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo, o aralquilo;
20

R₆ es oxo, hidroxilo, alquilo, alquenilo, alquinilo, OR', o está ausente; donde R' se selecciona de alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo, o aralquilo; y

5 R₇ es H, alquilo, alquenilo, alquinilo, cetona, OR', Se-R', S-R', donde R' se selecciona de H, alquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, o heterociclilo.

En algunas realizaciones, se proporciona una composición que
10 comprende o un compuesto de acuerdo con la fórmula (III), o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del mismo, en la que

R₁ y R₂ son cada uno H;

15 R₃ es OH, OR, alcoxi, aralcoxi, o amino, donde R se selecciona de alquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, heterociclilo, o una sal farmacéuticamente aceptable, o sal interna;

R₄ es H, o una sal farmacéuticamente aceptable, o sal
20 interna;

R₅ y R₆ están ausentes; y

R₇ es alquilo, alquenilo o alquinilo.

En las realizaciones adicionales, se pueden aislar y/o purificar uno o más de estos compuestos de la Fórmula (III).

En algunas realizaciones, se proporciona una composición que
5 comprende un compuesto de acuerdo con la fórmula (III), o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del mismo, en el que R_1 y R_2 son cada uno H; R_3 es OH o OR, donde R se selecciona de metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec-butilo, o tert-butilo; R_4 es H; R_5 y R_6 están
10 ausentes; y R_7 es alquilo que es metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, iso-butilo, sec -butilo, o tert-butilo.

En algunas realizaciones, se proporciona una composición que comprende un compuesto de acuerdo con la fórmula III, o una
15 sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del mismo, en el que R_1 y R_2 son cada uno H; R_3 es OH o OR, donde R se selecciona de metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec-butilo, o tert-butilo; R_4 es H; R_5 y R_6 están ausentes; y R_7 es metilo.

20

En un aspecto específico, se proporciona una composición que comprende un compuesto de acuerdo con la fórmula (III), o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del

mismo, que es gama-glutamyl-metilseleno-cisteína ("compuesto E"), o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del mismo.

5 En algunas realizaciones, una composición comprende un compuesto de acuerdo con la fórmula (III), o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del mismo, con la condición que γ -glutamoyl selenocisteína- γ -glutamoyl cisteína, γ -glutamoylcisteína-2,3-DHP-selenocisteína, di- γ -
10 glutamoylselenocisteína, selenoglutationa- γ -glutamoylcisteína -glutamoyl selenocisteína- γ -glutamoyl cisteína, y- glutamoylcisteína-2,3-DHP-selenocisteína, di- γ - glutamoylselenocisteína, y selenoglutationa- γ - glutamoylcisteína cada uno se puede excluir de la
15 composición.

En algunas realizaciones, se proporciona una composición que comprende uno o más compuestos de acuerdo con una o más de las fórmulas (I), (II) y/o (III), en las que se excluye cada
20 uno de los siguientes compuestos de la composición con el fin de minimizar la toxicidad de selenio eliminar compuestos inactivos o inhibidores, y/o maximizar el índice terapéutico de la composición, en el que los compuestos excluidos son γ -

glutamoil selenocisteína- γ -glutamoil cisteína, γ -
 glutamoilcisteína-2,3-DHP-selenocisteína, di- γ -
 glutamoilselenocisteína, selenoglutationa- γ -
 glutamoilcisteína, γ -glutamoil selenocisteína- γ -glutamoil
 5 cisteína, γ -glutamoilcisteína-2,3 -DHP-selenocisteína, di- γ -
 glutamoilselenocisteína, selenoglutationa- γ -
 glutamoilcisteína, deshidroxi 5'-metilselenoadenosina,
 etilselenoadenosina, seleno(hidroxil)-selenofena-(3'-desoxi-
 adenosina), alilselenoadenosil homocisteína, seleno-adenosil
 10 homocisteína, seleno-hidroxil adenosil homocisteína, seleno
 adenosina, seleno-adenosil-Se(metil)-selenóxido, adenosil-
 hidroxil selenóxido, etil selenoadenosina, seleno-(hidroxil)-
 selenofeno-(3'-desoxi-adenosina), adenosil-hidroxil
 selenóxido, y seleno-adenosil-Se(metil)-selenóxido.

15

En las realizaciones, cualquiera de los compuestos descritos
 aquí se puede modificar con un profármaco para prolongar la
 vida media, para proteger el compuesto contra la oxidación,
 para dirigir el compuesto a un tejido, y/o para permitir que
 20 el compuesto pase la barrera hematoencefálica.

En las realizaciones, un profármaco comprende un
 selenoglucósido. Los glucósidos incluyen mono, di y

oligosacáridos. Los sacáridos pueden incluir ribosa, glucosa, galactosa, manosa o. Por ejemplo, un conjugado de galactosa a una unidad estructural de selenio podía dirigir el compuesto al hígado.

5

En otras realizaciones, un profármaco comprende un selenazolidina. Estos compuestos proporcionan una liberación lenta del compuesto.

10 En todavía otras realizaciones, un profármaco comprende la conjugación de un compuesto seleno-orgánico como se describe aquí a una vitamina tal como C o E. Estos conjugados de profármaco han mejorado los efectos protectores.

15 En todavía otras realizaciones, un profármaco es un profármaco activado citocromo P450. Por ejemplo, fosfatos o fosfonatos cíclicos. En particular, los nucleósidos se han modificado con estas moléculas y proporciona la selección de moléculas para el hígado. Los profármacos de ejemplo incluyen
20 profármacos HepDirect. Otras realizaciones de profármaco activado con citocromo P450 mejoran la biodisponibilidad y se describen en Huttunen et al, Current Medicinal Chemistry 2008 15: 2346.

En las realizaciones, cualquiera de los compuestos de fórmula (I), Fórmula (II), Fórmula (III) se pueden modificar para reducir la oxidación de selenio. En las realizaciones, los
5 compuestos pueden formar un dímero a través de la vinculación entre los átomos de selenio.

En las realizaciones, cualquiera de los compuestos de fórmula (I), Fórmula (II), Fórmula (III) se pueden modificar mediante
10 la unión a un agente orientado a tejido u otro agente de dirección para aumentar la vida media del compuesto. En las realizaciones, los agentes de tejido objetivo incluyen anticuerpos específicos para la unión a un antígeno específico de tejido, un receptor de la transferrina, o un
15 profármaco como se describe aquí.

En otras realizaciones, los compuestos se pueden vincular a o combinarse con un portador polimérico o portador de nanopartícula para proporcionar composiciones para el cerebro
20 y proporcionarla a otro tejido. Dichos portadores poliméricos incluyen, pero no se limitan a, polietilenglicol, polilactidas, poliglicólidos, poliortoésteres, polivinil pirrolidona, y alcoholes de polivinilo. Las microesferas y

liposomas incluyen microesferas de ácido polidilactico coglicólico (PLGA). Otras nanopartículas incluyen fosfolípidos, quitosano, ácido láctico, y dextrano.

5 Los profármacos lípidos también son adecuados para uso con los compuestos de la invención. Por ejemplo no limitante, algunos profármacos lípidos se describen en Hostetler et al., (1997 Biochem. Pharm. 53: 1815-1822), y Hostetler et al., 1996 Antiviral Research 31: 59-67), ambos de los cuales se
10 incorporan en su totalidad aquí mediante referencia. Ejemplos adicionales de la tecnología de profármacos adecuados se describen en los documentos WO 90/00555; WO 96/39831; WO 03/095665 A2; Patente Estadounidense Nos. 5,41 1,947; 5,463,092; 6,312,662; 6,716,825;; y Solicitud de Patentes
15 Estadounidenses publicadas Nos. 2003/0229225 y 2003/0225277 cada una de las cuales se incorpora en su totalidad aquí como referencia. Dichos profármacos pueden poseer también la capacidad de dirigir el compuesto fármaco a un tejido particular dentro del paciente, por ejemplo, el hígado, como
20 se describe por Erion et al., (2004 J. Am. Chem. Soc. 126:5154-5163; Erion et al, Am. Soc. Pharm. & Exper. Ther. DOI: 10.1124/jept.104.75903 (2004); WO 01/18013 A1; Patente Estadunidense. No. 6,752,981), cada una de las cuales se

incorpora en su totalidad aquí como referencia. A modo de ejemplo no limitante, otros profármacos adecuados para uso con los compuestos de la invención se describen en el documento WO 03/090690; Patente Estadounidense No. 6,903,081; 5 Solicitud de patente Estadounidense No. 2005/0171060A1; solicitud de patente Estadounidense No. 2002/0004594A1; y por Harris et al, (2002 Antiviral Chem & Chemo. 12: 293-300; Knaggs et al, 2000 Bioorganic & Med. Chem. Letters 10: 2075-2078) cada uno de los cuales se incorporan en su totalidad 10 aquí como referencia.

En algunas realizaciones, se proporciona una composición que comprende uno o más compuestos cada uno de acuerdo con la fórmula (I). En algunos aspectos, la composición comprende 15 uno o más compuestos cada uno de acuerdo con la fórmula (I) comprende 5'-metilselenoadenosina, o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del mismo; y 5'-selenoadenosil homocisteína, o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del mismo.

20

En algunas realizaciones, se proporciona una composición que comprende uno o más compuestos cada uno de acuerdo con la fórmula (I) y fórmula (III). En algunos aspectos, la

composición comprende uno o más compuestos cada uno de acuerdo con la fórmula (I) y fórmula (III) comprende 5'-metilselenoadenosina, o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del mismo; 5'-selenoadenosil homocisteína, o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del mismo; y gama-glutamyl-metilseleno-cisteína, o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del mismo.

- 10 En algunas realizaciones, la composición comprende uno o más compuestos cada uno de acuerdo con la fórmula (I) y fórmula (III) comprende 5'-metilselenoadenosina, o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del mismo; y gama-glutamyl-metilseleno-cisteína, o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del mismo.

- En algunas realizaciones, se proporciona una composición que comprende uno o más compuestos cada uno de acuerdo con la fórmula (II) y fórmula (III). En algunos aspectos, la composición comprende uno o más compuestos cada uno de acuerdo con la fórmula (II) y fórmula (III) comprende 5'-selenoadenosil homocisteína, o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del mismo; y gama-glutamyl-

metilseleno-cisteína, o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del mismo.

De acuerdo con otro aspecto, la presente invención
5 proporciona una composición farmacéutica, que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más compuestos de la presente invención o una sal, éster o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo, junto con un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable. Los portadores
10 farmacéuticamente aceptable incluyen: (1) azúcares, talwa como lactosa, glucosa y sacarosa; (2) (2) almidones, tales como almidón de maíz y almidón de papa; (3) celulosa, y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa de sodio, etilcelulosa y acetato de celulosa; (4) tragacanto en polvo;
15 (5) malta; (6) gelatina; (7) talco; (8) excipientes, tales como manteca de cacao y ceras para supositorios; (9) aceites, tales como aceite de maní, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; (10) glicoles, tales como
20 propilenglicol; (11) polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol; (12) ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; (13) agar; (14) agentes reguladores, tales como hidróxido de magnesio e

hidróxido de aluminio; (15) ácido algínico; (16) agua libre de pirógenos; (17) solución salina isotónica; (18) solución de Ringer; (19) alcohol etílico; (20) soluciones reguladoras de fosfato; y (21) otras sustancias compatibles no tóxicas
5 empleadas en formulaciones farmacéuticas.

Las composiciones se pueden formular para cualquier ruta de administración, en particular para administración oral, rectal, transdérmica, subcutánea, intravenosa, intramuscular
10 o intranasal. Las composiciones se pueden formular en cualquier forma convencional, por ejemplo, como comprimidos, cápsulas, comprimidos oblongos, soluciones, suspensiones, dispersiones, jarabes, aerosoles, geles, supositorios, parches y emulsiones.

15

Como es bien conocido en las técnicas médicas, las dosificaciones para cualquier sujeto pueden depender de muchos factores, que incluyen tamaño del paciente, área de superficie corporal, edad, compuesto particular a ser
20 administrado, sexo, tiempo y ruta de administración, salud general, y interacción con otros fármacos que se administran simultáneamente. Dependiendo del objetivo buscado que se altera por el tratamiento, las composiciones farmacéuticas se

pueden formular y administrar sistémicamente o localmente. Las técnicas para la formulación y administración se pueden encontrarse en la última edición de "Remington Pharmaceutical Sciences" (Mack Publishing Co., Easton Pa.). Las rutas
5 adecuadas, por ejemplo, pueden incluir administración oral o transmucosal; así como administración parenteral, que incluye administración intramuscular, subcutánea, intramedular, intratecal, intraventricular, intravenosa, intraperitoneal, o intranasal.

10

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para uso en la presente solicitud incluyen composiciones en las que los ingredientes activos (por ejemplo, 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-glutamyl-metilseleno-
15 cisteína, un compuesto de la fórmula I, un compuesto de la fórmula II, un compuesto de la Fórmula III, y combinaciones de los mismos están contenidos en una cantidad efectiva para alcanzar el propósito deseado. Por ejemplo, en una realización preferida, una cantidad efectiva de una
20 composición farmacéutica comprende una cantidad de un compuesto seleccionado del grupo que consiste de 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-glutamyl-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula I,

un compuesto de la fórmula II, un compuesto de la Fórmula
III, y combinaciones de los mismos. La determinación de las
cantidades efectivas está dentro de la capacidad de aquellos
expertos en la técnica, especialmente a la luz de la
5 descripción proporcionada aquí.

La levadura selenizada que comprende 2% o menos de selenio
inorgánico generalmente contiene muchos componentes que
contienen selenio. Los principales componentes de selenio de
10 un extracto de agua típico de la levadura son selenoproteínas
y selenometionina selenizadas. Otros componentes de peso
molecular pequeño con un peso molecular de menos de 1000
kilodaltons ("kDa") se han identificado, aislado y
purificado. Algunos de los componentes y compuestos presentes
15 en la levadura selenizada o un extracto de agua de la misma
tienen una bioactividad menos deseable o incluso bioactividad
inhibidora sobre la función mitocondrial cuando se aísla
dicha levadura selenizada. Los compuestos tales como
selenocisteína glutamil, y compuestos que contienen azufre
20 tales como 5'-metiltioadenosina, S-adenosil-L homocisteína, y
gamma-glutamil-metil-cisteína son inactivos o en algunos
casos inhibidores como se describe y muestra aquí.

También se han preparado sintéticamente algunos compuestos que contienen selenio, purificado y filtrado en un ensayo de bioactividad. Los rangos de concentración para la detección incluyen aproximadamente 15 a aproximadamente 500 partes por mil millones. La bioactividad se puede detectar incluso en 15 ppb para las composiciones descritas aquí. En las realizaciones, el ensayo de bioactividad es el ensayo potencial mitocondrial. No todos los componentes y compuestos que se encuentra en la levadura selenizada o un extracto de agua de la misma tienen actividad biológica cuando se obtienen de dichas levaduras y alguna actividad biológica de inhibición deseada.

En las realizaciones, los compuestos que contienen selenio producidos sintéticamente se formulan en composiciones en relaciones que difieren de esa presente en el extracto de agua. Por ejemplo, un extracto de agua típico tendría una relación de Gama-glutamyl-metilseleno-cisteína a 5'-Metilselenoadenosina o Se-Adenosil-L-homocisteína de 7 a 1. En las realizaciones, las composiciones que contienen compuestos producidos sintéticamente pueden comprender una cantidad igual de cada compuesto que contiene selenio, por ejemplo, una relación de por lo menos 1: 1: 1 de Gama-

glutamil-metilseleno-cisteína a 5'-Metilselenoadenosina a Se-Adenosil-L-homocisteína. En otras realizaciones, una composición puede comprender por lo menos dos componentes en relaciones de 5: 1 a 1: 1.

5

Las composiciones que comprenden uno o más compuestos que incluyen 5'- Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-glutamil-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula (I), un compuesto de la fórmula (II),
10 un compuesto de la fórmula (III), y combinaciones de los mismos se pueden administrar a un sujeto (por ejemplo, un paciente) por vía intravenosa en un portador farmacéuticamente aceptable tal como salina fisiológica. Se pueden utilizar los métodos estándar para suministro
15 intracelular de los compuestos (por ejemplo, suministro a través de liposoma). Dichos métodos son bien conocidos por aquellos de experiencia común en la técnica.

Las composiciones que comprenden selenio son útiles para la
20 administración intravenosa, así como la administración parenteral, tal como intravenosa, subcutánea, intramuscular, e intraperitoneal. Para inyección, una composición que comprende selenio (por ejemplo, una composición farmacéutica)

de la presente solicitud se puede formular en soluciones acuosas, preferiblemente en reguladores fisiológicamente compatibles tales como solución de Hanks, solución de Ringer, o solución salina fisiológicamente regulada. Para la
5 administración a tejido o celular, se utilizan penetrantes apropiados para la barrera particular que se va a impregnar en la formulación. Dichos penetrantes generalmente se conocen en la técnica.

10 Las composiciones que comprenden 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-glutamyl-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula (I), un compuesto de la fórmula (II), un compuesto de la fórmula (III), y combinaciones de los mismos se pueden agregar a alimentos y bebidas
15 nutricionales (por ejemplo, ENSURE, POWERBAR, o similares), una multi-vitamina, productos nutricionales, productos de alimento, etc. para consumo diario.

En otras realizaciones, las composiciones de la presente
20 solicitud se pueden formular utilizando portadores farmacéuticamente aceptables bien conocidos en la técnica en dosificaciones adecuadas para administración oral. Dichos portadores permiten que las composiciones farmacéuticas se

formulen como comprimidos, píldoras, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, pastas, suspensiones y similares, para la ingestión oral o nasal por un paciente a tratar.

5 En algunas realizaciones de la presente solicitud, las composiciones y/o formulaciones que comprenden selenio se pueden administrar a un sujeto solo, o en combinación con otras formas de selenio, fármacos, moléculas pequeñas, o composiciones farmacéuticas donde se mezcla con excipiente(s)
10 u otros portadores farmacéuticamente aceptables. En las realizaciones, las composiciones pueden incluir uno o más aminoácidos o selenoaminoácidos, tales como metionina, cisteína, o selenocisteína con el fin de minimizar la toxicidad. En una realización de la presente solicitud, el
15 portador farmacéuticamente aceptable es farmacéuticamente inerte. En otra realización de la presente solicitud, las composiciones que comprenden selenio se pueden administrar solas a sujetos individuales, en riesgo de o que sufre de una enfermedad o afección relacionada con disfunción
20 mitocondrial.

Métodos para utilizar Compuestos y Composiciones

Como se describe aquí, los compuestos y combinaciones de las mismas son útiles para mejorar la función mitocondrial, para tratar disfunción mitocondrial, para tratar enfermedad de Alzheimer, y para modular metabolismo de glucosa en una forma
5 específica a tejido y apropiada a tejido.

A. Función y disfunción mitocondrial

Las mitocondrias son los principales orgánulos productores de
10 energía en las células de organismos superiores. La mitocondria proporciona regulación bioquímica directa e indirecta de una amplia disposición de procesos respiratorios, oxidativos y metabólicos celulares. Estos incluyen la actividad de la cadena de transporte de
15 electrones (ETC), que dirige la fosforilación oxidativa para producir energía metabólica en la forma de trifosfato de adenosina (ATP), y que también es la razón de la función mitocondrial central en homeostasis de calcio intracelular.

20 Adicionalmente a su función en la producción de energía en cultivos de células, la mitocondria (o, por lo menos, componentes mitocondriales) participa en la muerte celular programada (PCD), también conocido como apoptosis (Véase, por

ejemplo, Newmeyer et al., Cell 1994, 79:353-364; Liu et al., Cell 1996, 86:147-157). La apoptosis se requiere para el desarrollo normal del sistema nervioso, y para el funcionamiento apropiado del sistema inmunitario. Más aún, algunos estados de enfermedad se considera que se asocian con niveles insuficientes o excesivos de apoptosis (por ejemplo, cáncer y enfermedades autoinmunitarias, y daño por apoplejía y neurodegeneración en enfermedad de Alzheimer en el último caso, respectivamente). Se ha documentado la función de la mitocondria en apoptosis (Véase, por ejemplo, Green and Reed, Science, 1998, 281:1309-1312; Green, Cell, 1998, 94:695-698; y Kromer, Nature Medicine, 1997,3:614-620).

Las enfermedades asociadas a mitocondrias (por ejemplo, provocadas por la mitocondria disfuncional) también se pueden relacionar con la pérdida de potencial electroquímico de la membrana mitocondrial por mecanismos diferentes de la oxidación de radicales libres, y la transición de permeabilidad puede ser el resultado de efectos directos o indirectos de genes mitocondriales, productos de genes o moléculas mediadoras en dirección 3' relacionadas y/o genes extramitocondriales, productos de genes o mediadores en dirección 3' relacionados, o de otras causas conocidas o

desconocidas. Por lo tanto, la pérdida del potencial mitocondrial, puede ser un evento crítico en la progresión de enfermedades asociadas con función mitocondrial alterada, que incluyen enfermedades degenerativas, así como

5 enfermedades/afecciones asociadas con el envejecimiento (por ejemplo, cáncer, enfermedad cardiovascular e insuficiencia cardíaca, diabetes tipo 2, enfermedad de Alzheimer y enfermedades de Parkinson, enfermedad de hígado graso, cataratas, osteoporosis, desgaste muscular, trastornos del

10 sueño y enfermedades inflamatorias tales como psoriasis, artritis y colitis) .Los métodos descritos aquí son útiles para mejorar la función mitocondrial si o no las células en un sujeto están en una condición estresada o de enfermedad.

15 Los compuestos y composiciones como se describe aquí exhiben especificidad de tejido con respecto a sus efectos sobre la función mitocondrial.

Las realizaciones incluyen un método o uso para mejorar la

20 función mitocondrial en una o más células de hígado que comprende: administrar una cantidad efectiva de la composición a las células, la composición comprende un compuesto seleccionado del grupo que consiste de 5'-

Metilselenoadenosina, un compuesto de la Fórmula I, y mezclas del mismo, en el que la cantidad efectiva mejora la función mitocondrial cuando se compara con células no tratadas con la composición. En las realizaciones adicionales, se pueden
5 aislar y/o purificar uno o más compuestos.

En las realizaciones, la composición puede excluir uno o más de Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-glutamyl-metilselenocisteína, glutamil selenocisteína, un compuesto de la fórmula
10 III, 5'-Metiltioadenosina, o S-Adenosil-L-homocisteína.

En las realizaciones, la presente solicitud proporciona un uso de una composición que comprende un compuesto seleccionado del grupo que consiste de 5'-
15 Metilselenoadenosina, un compuesto de la Fórmula I y mezclas del mismo, en el que la cantidad efectiva mejora la función mitocondrial en una célula de riñón.

En las realizaciones, una composición comprende un compuesto
20 seleccionado del grupo que consiste de 5'-Metilselenoadenosina y/ o un compuesto de la fórmula I. En las realizaciones, las composiciones para mejorar la función mitocondrial en células de riñón pueden no incluir uno o más

de Se-Adenosil-L-homocisteína, Metiltioadenosina, o S-Adenosil-L-homocisteína.

Las realizaciones de la presente solicitud incluyen un método
5 o uso para mejorar la función mitocondrial en una o más
células seleccionadas del grupo que consiste de célula del
músculo esquelético, célula neuronal, y combinaciones de las
mismas, dicho método comprende: administrar una cantidad
efectiva de la composición a las células, la composición
10 comprende un compuesto seleccionado del grupo que consiste de
5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-
glutamil-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula I,
un compuesto de la fórmula II, un compuesto de la Fórmula
III, y combinaciones de los mismos, en el que la cantidad
15 efectiva mejora la función mitocondrial cuando se compara con
células no tratadas con la composición. En las realizaciones
adicionales, se pueden aislar y/o purificar uno o más
compuestos.

20 En las realizaciones, la presente solicitud proporciona un
uso de una composición que comprende un compuesto
seleccionado del grupo que consiste de 5'-
Metilselenoadenosina, , Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-

glutamil-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula I, un compuesto de la fórmula II, un compuesto de la Fórmula III, y combinaciones de los mismos, en el que la cantidad efectiva mejora la función mitocondrial en una o más células seleccionadas del grupo que consiste de célula del músculo esquelético, célula neuronal, y combinaciones de las mismas.

En las realizaciones, una composición comprende un compuesto seleccionado del grupo que consiste de 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L -homocisteína, un compuesto de la fórmula I, un compuesto de la Fórmula II, y combinaciones de las mismas. En las realizaciones, las composiciones para mejorar la función mitocondrial en las células musculare pueden no incluir una o más de Metiltioadenosina, o S-Adenosil-L-homocisteína. Aunque no pretende limitar el alcance de la presente solicitud, Metiltioadenosina o S-Adenosil-L -homocisteína exhiben efectos tóxicos sobre la función mitocondrial en células del músculo esquelético.

La presencia de ciertas moléculas que contienen azufre en los suplementos de selenio de uso común, tales como levadura enriquecida con selenio, puede, en algunos casos, inhibir la

actividad mitocondrial y llevar, con el tiempo, a un estado pro-diabético. Está bien documentado en la bibliografía que la diabetes de inicio del adulto se une a una disminución gradual en la actividad mitocondrial durante un período de
5 varios años. Esto es particularmente importante en el caso de que se estima que el músculo esquelético, utiliza 75-80% de glucosa ingerida diariamente. Incluso una ligera disminución (por ejemplo, un 20% de inhibición) en la capacidad de mitocondrias del músculo para quemar eficazmente la glucosa
10 puede, con el tiempo, llevar a problemas graves de salud. La estimulación de dos veces de la actividad mitocondrial observada en las células del músculo esquelético en respuesta al compuesto Se-adenosil-L-homocisteína, por ejemplo, puede representar un modo de evitar o retardar la disminución
15 mitocondrial en el tejido muscular de los sujetos prediabéticos o diabéticos.

En las realizaciones, una composición para mejorar la función mitocondrial en células neuronales comprende un compuesto
20 seleccionado del grupo que consiste de 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L -homocisteína, Gama-glutamil-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula I, un compuesto de la fórmula II, un compuesto de la Fórmula

III, y combinaciones de los mismos. En las realizaciones adicionales, se pueden aislar y/o purificar uno o más compuestos. En las realizaciones, las composiciones para mejorar la función mitocondrial en células neuronales puede
5 no incluir una o más de selenometionina, o glutamilselenocisteína.

En las realizaciones, una composición para mejorar la función mitocondrial en células neuronales comprende un compuesto
10 seleccionado del grupo que consiste de Se-Adenosil-L -homocisteína, y/o un compuesto de la fórmula II y por lo menos otro compuesto de selenio seleccionado del grupo que consiste de 5'-Metilselenoadenosina, Gama-glutamilmethylseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula I, un
15 compuesto de la Fórmula III y combinaciones de las mismas.

En las realizaciones, una composición para mejorar la función mitocondrial en células neuronales comprende una composición que comprende un compuesto seleccionado del grupo que
20 consiste de 5'-Metiltioadenosina, S-Adenosil-L -homocisteína, Gama-glutamilmethyl-cisteína, y combinaciones de las mismas. En las realizaciones, una composición dirigida a células

neuronales puede contener uno o más análogos de azufre que mejoran la actividad mitocondrial en células neuronales.

Otras realizaciones incluyen un método o uso para mejorar la
5 función mitocondrial en una o más células de hígado que comprende: administrar una cantidad efectiva de la composición a las células, la composición comprende por lo menos tres diferentes compuestos seleccionados del grupo que consiste de 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-
10 homocisteína, Gama-glutamyl-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula I, y un compuesto de la fórmula III, en el que la cantidad efectiva mejora la función mitocondrial cuando se compara con células no tratadas con la composición. En las realizaciones adicionales, se pueden aislar y/o
15 purificar uno o más compuestos.

En las realizaciones, la presente solicitud proporciona un uso de una composición que comprende por lo menos tres diferentes compuestos seleccionados del grupo que consiste de
20 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-glutamyl-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula I, y un compuesto de la fórmula III, para mejorar la función mitocondrial en células de hígado.

En las realizaciones, una composición para mejorar la función mitocondrial en una o más células de hígado comprende por lo menos tres compuestos seleccionados del grupo que consiste de

5 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-glutamil-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula I, un compuesto de la fórmula II, un compuesto de la Fórmula III, y combinaciones de los mismos para mejorar la función mitocondrial en células de hígado. En las realizaciones, una

10 composición puede excluir uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste de 5'-Metiltioadenosina, S-Adenosil-L-homocisteína, glutamil-metil-cisteína, y combinaciones de las mismas.

15 En las realizaciones, la mejora de la función mitocondrial varía desde un aumento de aproximadamente 50% a un aumento del 500% cuando se compara con una célula de tipo idéntico no tratada con el compuesto. La magnitud de la respuesta depende del tipo celular, el compuesto específico y el tiempo en

20 contacto con la célula. En las realizaciones, el efecto sobre la función mitocondrial es aproximadamente -66% a +200% cuando se compara con una célula del mismo tipo tratado con uno o más análogos de azufre de los compuestos de selenio. En

el caso de algunos tipos de célula, los análogos de azufre no tienen efecto medible sobre la actividad mitocondrial, en otros son inhibidores en otros todavía, son inmunoestimuladores.

5

En las realizaciones, uno o más de los compuestos tienen un efecto específico a tejido sobre la expresión de proteínas de desacoplamiento. Las proteínas de desacoplamiento (UCP) en las mitocondrias (MT) son importantes para termogénesis y
10 mantenimiento del potencial o integridad mitocondrial. Se ha documentado la pérdida de UCP2 para provocar vida útil más corta y producción elevada de especies reactivas de oxígeno (ROS) en MT (Véase, por ejemplo, Andrews et al. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2009. 296 (4): p. E621-7; Andrews et al.,
15 Curr Aging Sci, 2010. 3 (2): p. 102-12). Sin embargo, debido a que UCPs desacopla el transporte de electrones en las mitocondrias tienen el resultado neto de reducir la producción de ATP a partir de glucosa en una célula. Es bien sabido que la producción de ATP mitocondrial es crítica para
20 secreción de insulina estimulada por glucosa (GSIS) por las células beta del páncreas. De hecho, se ha mostrado que la inhibición de una UCP, en particular, UCP2, invierte la diabetes inducida por dieta al afectar positivamente tanto la

secreción como acción de insulina (De Souza et al, FASEB J, 2007, 21 (4): 1153-1 163.

En las realizaciones, un método o uso de expresión de gen
5 Ucp2 y/o Ucp3 regulada al descenso en una célula neuronal
comprende: administrar una cantidad efectiva de una
composición a las células, la composición comprende un
compuesto seleccionado del grupo que consiste de 5'-
Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L- homocisteína, Gama-
10 glutamil-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula I
compuesto de la fórmula II, un compuesto de la Fórmula III, y
combinaciones de los mismos, en el que la cantidad efectiva
regula por descenso la expresión de Ucp2 y/o Ucp3 en células
neuronales cuando se compara con células no tratadas con la
15 composición. En las realizaciones adicionales, se pueden
aislar y/o purificar uno o más compuestos.

En las realizaciones, la presente solicitud proporciona un
uso de una composición que comprende un compuesto
20 seleccionado del grupo que consiste de 5'-
Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L -homocisteína, Gama-
glutamil-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula I
compuesto de la fórmula II, un compuesto de la Fórmula III, y

combinaciones de los mismos, para desregular por descenso la expresión de gen de Ucp2 y/o Ucp3 en una célula neuronal.

En otras realizaciones, un método o uso para desregular por
5 descenso la expresión de gen Ucp2 en una célula de hígado
comprende: administrar una cantidad efectiva de la
composición a las células, la composición comprende por lo
menos tres compuestos seleccionados del grupo que consiste de
5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-
10 glutamil-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula I
compuesto de la fórmula II, un compuesto de la Fórmula III, y
combinaciones de los mismos, en el que la cantidad efectiva
regula por disminución la expresión de Ucp2 en células de
hígado cuando se compara con células no tratadas con la
15 composición. En las realizaciones adicionales, se pueden
aislar y/o purificar uno o más compuestos.

En las realizaciones, la presente solicitud proporciona un
uso de una composición que comprende por lo menos tres
20 diferentes compuestos seleccionados del grupo que consiste de
5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-
glutamil-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula I,
y un compuesto de la fórmula III, para desregular por

descenso la expresión de gen Ucp2 y/o Ucp3 en una célula de hígado.

Los métodos para determinar la expresión génica en una célula son conocidos por aquellos expertos en la técnica e incluyen la hibridación con sondas, tales como en una matriz o por métodos de PCR. Las matrices y/o cebadores para la determinación de la expresión génica están disponibles comercialmente. Los cebadores pueden ser fácilmente diseñados utilizando las secuencias de ejemplo para UCPL, UCP2 y/o UCP3. Las secuencias de ejemplo para Ucp 1 se encuentran en NM_021833/gI194733736, UCP2 se encuentran en M_003355/gI13259540, y para UCP3 se encuentran en M_003356/gI215273349.

15

En las realizaciones, la cantidad efectiva de los compuestos y composiciones como se describe aquí es una cantidad efectiva para mejorar la función mitocondrial sin ser tóxica a las células. Se puede determinar la mejora de la función mitocondrial utilizando un número de ensayos sobre una muestra tomada de un sujeto tratado de acuerdo las composiciones descritas aquí. Las cantidades efectivas seleccionadas no muestran toxicidad para ninguna de las

células ejemplificadas que incluyen células de riñón, esqueléticas de ratón, neuronales humanas, o células de hígado de ratón.

5 Como es bien conocido en las técnicas médicas, las dosificaciones para cualquier sujeto pueden depender de muchos factores, que incluyen el tamaño del paciente, área de superficie corporal, edad, compuesto particular a ser administrado, sexo, tiempo y ruta de administración, salud
10 general, e interacción con otros fármacos que se administran simultáneamente.

En las realizaciones, la cantidad efectiva de una composición que se va a administrar a un sujeto para mejorar la función
15 mitocondrial en una o más células de riñón, neuronal, hígado, o del músculo esqueléticos es aproximadamente por lo menos 5 ug o mayor o 800 ug o menos por día de un compuesto que contiene selenio biológicamente activo deseable o múltiples compuestos biológicamente activos deseables que contienen
20 selenio. Cuando los múltiples compuestos biológicamente activos deseables que contienen selenio están presentes, la cantidad efectiva de la composición es el total para todos

los compuestos biológicamente activos deseables que contienen selenio en la composición.

En las realizaciones, una cantidad efectiva para administrar a un sujeto es aproximadamente 5ug a aproximadamente 800 ug y cada número entre, 5 ug a aproximadamente 700 ug y cada número entre, 5 ug a aproximadamente 600 ug y cada número entre, 5 ug a aproximadamente 500 ug y cada número entre, 5 ug a aproximadamente 400 ug y cada número entre, 5 ug a aproximadamente 300 ug y cada número entre, 5 ug a aproximadamente 200 ug y cada número entre, 5 ug a aproximadamente 100 ug y cada número entre, o 5 ug a 50 ug y cada número entre.

En las realizaciones de las composiciones que comprenden compuestos biológicamente activos deseables que contienen selenio como se describe aquí, una cantidad efectiva para administrar a un sujeto es preferiblemente 200 ug o menos por día o 50 ug o menos por día. En las realizaciones, la dosis se puede ajustar dependiendo de la eficacia o si se observan cualesquier signos evidentes de intoxicación por selenio, como el aliento a ajo, la pérdida del cabello, las uñas o en forma de escamas en el sujeto.

En las realizaciones, en las composiciones que comprenden por lo menos dos o más compuestos seleccionados del grupo que consiste de 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-glutamyl-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula (I), un compuesto de la fórmula (II), un compuesto de la fórmula (III), y combinaciones de los mismos, los compuestos están presentes en la composición en proporciones iguales. En otras realizaciones la relación de un compuesto que contiene selenio biológicamente activo deseable con otro puede ser de aproximadamente 4: 1 a 1: 1.

En las realizaciones, la dosis se administra por lo menos una vez al día durante un período de tiempo para alcanzar un estado de equilibrio de selenio elemental en la sangre. En las realizaciones, la dosis se administra diariamente durante por lo menos 60 o 90 días. En las realizaciones, la dosis se administra mientras el sujeto está experimentando síntomas de la enfermedad o trastorno. En las realizaciones, el sujeto está en una edad en que se incrementa el riesgo de enfermedades mitocondriales relacionadas, por ejemplo, por lo menos 40 años de edad.

Los métodos de la presente solicitud encuentran uso en tratar (por ejemplo, profiláctica o terapéuticamente) de un sujeto (por ejemplo, un sujeto con una afección asociada con la disfunción mitocondrial). Mientras que no pretende limitar el
5 alcance de la descripción, se han presentado pruebas de que tres compuestos de organoselenio sintéticos tienen la capacidad, ya sea individualmente o en diversas combinaciones, para aumentar significativamente la actividad mitocondrial en diversos tipos de células; a saber, células
10 de riñón, células de músculo esquelético, células neuronales y células de hígado. Mecánicamente, la modulación de UCP puede ofrecer una explicación para este aumento y presentar pruebas adelante que la expresión de otras proteínas, esenciales para la función mitocondrial y la biogénesis,
15 también puede ser favorablemente afectada por estos compuestos. Independientemente del mecanismo de acción, sin embargo, el hecho de que estos compuestos pueden estimular la actividad mitocondrial en un tejido de manera cruzada significa que pueden ser particularmente valiosos en la
20 mejora de la aparición y progreso de enfermedades aparentemente diversos; por ejemplo, enfermedad de Alzheimer (AD) y Diabetes Tipo 2 (T2DM).

Las composiciones que comprenden uno o más de compuestos que incluyen 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-glutamyl-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula I, un compuesto de la fórmula II, un compuesto de la
5 Fórmula III, y combinaciones de los mismos se pueden administrar a un sujeto (por ejemplo, un paciente) en cualquier número de formas como se describe aquí.

En las realizaciones para suministro a músculos esqueléticos,
10 las composiciones como se describen aquí se puede aplicar tópicamente en la forma de un gel, un parche o una crema.

En otras realizaciones, el suministro al cerebro se puede objetivar al utilizar liposomas o esferas de PLGA que tienen
15 un anticuerpo, receptor de transferrina, o profármaco como un agente de objetivación.

En otras realizaciones, el suministro al hígado se puede objetivar al utilizar profármacos dirigidos como se describe
20 aquí, que incluyen HepDirect o selenoglucósidos.

De acuerdo con lo anterior, en algunas realizaciones de la presente solicitud, las composiciones y/o formulaciones que

comprenden selenio se puede administrar a un sujeto solo, o en combinación con otras formas de selenio, fármacos, moléculas pequeñas, o en composiciones farmacéuticas donde este se mezcla con excipientes) u otros portadores
5 farmacéuticamente aceptables.

En otra realización de la presente solicitud, las composiciones que comprenden compuestos seleno orgánicos descritas aquí se puede administrar solo a sujetos
10 individuales, en riesgo de, o que sufre de una enfermedad o afección relacionada con disfunción mitocondrial. Dichas enfermedades incluyen enfermedad de riñón diabética, enfermedad de Alzheimer, y diabetes tipo II.

15 **B. Enfermedad de Alzheimer**

La enfermedad de Alzheimer ("AD") es la sexta causa que lleva a la muerte en los Estados Unidos de América ("EE.UU.") y es la forma más común de demencia. En la actualidad, esta
20 enfermedad se estima que afecta a 5,1 millones de personas mayores de 65 años en los EE.UU. La AD se caracteriza histopatológicamente por dos lesiones de contraste de placas $A\beta$ (Ver Kumar et al., 2000) y NFTs que se componen de formas

hiper-fosforiladas de la proteína tau asociada a microtúbulos (Ver Dunckley et al., publicado en línea 2005, 19 de octubre 2005 y los párrafos 155-163 de la Solicitud de patente publicada 201110038889 - A1). Existe abundante evidencia en la bibliografía que A β y NFT son socios cruciales en la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer y que actúan de forma individual y en conjunto para maximizar el deterioro cognitivo y la pérdida neuronal en los individuos afectados. Las mutaciones en la proteína precursora amiloide (APP) inducen la AD con una penetración del 100%, y las mutaciones asociadas AD familiar (FAD) de APP, presenilina-I (PSEN) y presenilina-2 (PSEN-2) conducen a un mayor nivel de generación amiloide β y agregación A β .

Por otra parte, el ratón que sobreexpresa APP-(APP-Tg) exhibe depósito A β y deterioro de memoria sin la formación de NFT o que sufren la pérdida neuronal. Las placas se forman cuando la proteína precursora de amiloide (APP) se procesada de forma aberrante por dos enzimas llamadas secretasa β y γ -secretasa, lo que resulta en la formación del péptido de 39 a 42 aminoácidos de amiloide β . La enzima γ -secretasa es en realidad un complejo multienzimático que incorpora

presenilina-1 (PSEN) y presenilina-2 (PSEN-2) como dos componentes clave.

La acumulación de A β se asocia con la pérdida de memoria en los modelos de AD y una reducción en la expresión de APP invierte esta pérdida (Ver Kumar et al, Peptides 21: 1769 2000). Por lo tanto, la reducción en la expresión de APP (ya sea en un nivel de gen o proteína) se entiende por los médicos como una aproximación a adoptar para contrarrestar los trastornos dependientes de la edad o neurodegenerativos como AD que implican la pérdida de memoria.

La modulación o inhibición de PSEN, PSEN-2, Nicastrin (que controla el tráfico de proteínas en el complejo γ -secretasa) ha sido un objetivo importante de la investigación terapéutica de AD y algunos éxitos notables han sido publicados. Por ejemplo, los inhibidores altamente específicos que modulan la actividad PSEN en neuronas humanas no sólo afecta generación A β pero también afectó la ruta de señalización de Notch (Ver Seiffert et al., J Biol. Chem. 275: 34086, 2000). Esto fue acompañado por cambios en la morfología de las neuritas e indicó que la regulación de actividad de PSEN-1 secretasa y tiene efectos clínicamente

beneficiosos sobre la patología de la neurítica de AD (Ver Figuerola et al., Neurobiology Dis. 9:49 2002). Adicionalmente, se mostró que la regulación por disminución de PSEN disminuye la secreción de proteína A β (Ver Luo Luo et al., Acta Pharmacol. Sin.25: 1613 2004)) y inhibición de la PSEN en ratones SAMP8 para mejorar significativamente la memoria (Ver Kumar et al., J. Expresión. Biol. 212: 494 2009).

10 Por lo tanto, A β es tóxico para las neuronas, contribuye a la muerte celular neuronal y, los niveles de a β pueden ser alterados en el cerebro mediante la modulación de los niveles/actividades de su precursor, APP, o el complejo de enzima (s), que procesan APP. Un médico inmediatamente

15 entiende y aprecia que un agente capaz de inhibir la expresión de APP y/o procesamiento de APP en A β (por ejemplo, B o γ -secretasa) es un objetivo terapéutico para el tratamiento de AD.

20 Los compuestos que contienen selenio y composiciones como se describen aquí afectan la expresión génica de genes involucrados en procesamiento amiloide B y fosforilación tau. Adicionalmente, dichos compuestos y composiciones exhiben

especificidad de tejido con respecto a la expresión génica de genes que se relacionan con activadores transcripcionales.

En las realizaciones, un método o uso para inhibir
5 acumulación amiloide B en una o más células neuronales
comprende: administrar una cantidad efectiva de una
composición a una o más células neuronales, la composición
comprende un compuesto seleccionado del grupo que consiste de
5'-Metilselenoadenosina, un compuesto de la fórmula (I), y
10 mezclas del mismo en el que la cantidad efectiva inhibe la
acumulación amiloide B en células neuronales cuando se
compara con células neuronales no tratadas con la
composición.

15 En las realizaciones, un método o uso para inhibir
acumulación amiloide B en una o más células neuronales
comprende: administrar una cantidad efectiva de una
composición a una o más células neuronales, la composición
comprende por lo menos tres diferentes compuestos
20 seleccionados del grupo que consiste de 5'-
Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-
glutamyl-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula
(I), y un compuesto de la fórmula (III), en el que la

cantidad efectiva inhibe la acumulación amiloide B en células neuronales cuando se compara con células neuronales no tratadas con la composición. En las realizaciones adicionales, se pueden aislar y/o purificar uno o más
5 compuestos.

En las realizaciones, la presente solicitud proporciona un uso de una composición que comprende un compuesto seleccionado del grupo que consiste de 5'-
10 Metilselenoadenosina, un compuesto de la fórmula (I), o por lo menos tres diferentes compuestos seleccionados del grupo que consiste de 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-glutamyl-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula (I), y un compuesto de la fórmula
15 (111)5'-Metilselenoadenosina, un compuesto de la Fórmula I y mezclas del mismo, para inhibir acumulación amiloide B en células neuronales.

En las realizaciones, una composición comprende un compuesto
20 seleccionado del grupo que consiste de 5'-Metilselenoadenosina, un compuesto de la fórmula (I) y mezclas del mismo para inhibir la expresión de Presenilina 1 (PSEN) y Nicastrin en células neuronales. En las

realizaciones, las células neuronales son células IMR 32. Las células IMR 32 son células neuronales humanas que son un modelo para enfermedad de Alzheimer. (Neill et al, J. Neuroscience Res. 1994 39:482) En las realizaciones, las composiciones para inhibir la expresión génica en células neuronales pueden no incluir uno o más de Se-Adenosil-L - homocisteína, o Metiltioadenosina.

En las realizaciones, la presente solicitud proporciona un uso de una composición que comprende un compuesto seleccionado del grupo que consiste de 5'-Metilselenoadenosina, un compuesto de la fórmula (I), o por lo menos tres diferentes compuestos seleccionados del grupo que consiste de 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-glutamyl-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula (I), y un compuesto de la fórmula (III) 5'-Metilselenoadenosina, un compuesto de la Fórmula I y mezclas del mismo, para inhibir expresión de presenilina 1 y nicastrina en células neuronales.

En las realizaciones, una composición comprende un compuesto seleccionado del grupo que consiste de 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-

glutamil-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula (I), un compuesto de la fórmula (II), un compuesto de la fórmula (III), y combinaciones de los mismos para inhibir expresión génica de nicastrina y presenilina 1 en células neuronales. En las realizaciones, las composiciones para inhibir expresión génica en células neuronales puede no incluir una o más de selenometionina o glutamil selenocisteína.

10 En las realizaciones, las composiciones incluyen 5'-Metilselenoadenosina y/o un compuesto de la fórmula (I) y por lo menos otro compuesto de selenio seleccionado del grupo que consiste de Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-glutamil-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula (II), un
15 compuesto de la fórmula (III) y combinaciones de las mismas. En las realizaciones adicionales, se pueden aislar y/o purificar uno o más compuestos.

En las realizaciones, una composición comprende por lo menos
20 tres compuestos seleccionados del grupo que consiste de 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-glutamil-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula (I), un compuesto de la fórmula (II), un compuesto de la

fórmula (III), y combinaciones de los mismos inhiben expresión génica en células neuronales.

En las realizaciones, un método o uso para inhibir
5 fosforilación tau en una o más células neuronales comprende:
administrar una cantidad efectiva de una composición a una o
más células neuronales, la composición comprende un compuesto
seleccionado del grupo que consiste de 5'-
Metilselenoadenosina, un compuesto de la fórmula (I), y
10 mezclas del mismo, en el que la cantidad efectiva inhibe la
fosforilación tau en células neuronales cuando se compara con
células neuronales no tratadas con la composición.

En las realizaciones, un método o uso para inhibir
15 fosforilación tau en una o más células neuronales comprende:
administrar una cantidad efectiva de una composición a una o
más células neuronales, la composición comprende por lo menos
tres diferentes compuestos seleccionados del grupo que
consiste de 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-
20 homocisteína, Gama-glutamyl-metilseleno-cisteína, un
compuesto de la fórmula (I), y un compuesto de la fórmula
(III), en el que la cantidad efectiva inhibe la fosforilación
tau en células neuronales cuando se compara con células

neuronales no tratadas con la composición. En realizaciones adicionales se pueden aislar y/o purificar uno o más compuestos.

5 En las realizaciones, la presente solicitud proporciona un uso de una composición que comprende un compuesto seleccionado del grupo que consiste de 5'-Metilselenoadenosina, un compuesto de la fórmula (I), o por lo menos tres diferentes compuestos seleccionados del grupo
10 que consiste de 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-glutamyl-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula (I), y un compuesto de la fórmula (111) 5'-Metilselenoadenosina, un compuesto de la Fórmula I y mezclas del mismo, para inhibir fosforilación tau en una
15 célula neuronal .

En las realizaciones, una composición comprende un compuesto seleccionado del grupo que consiste de 5'-Metilselenoadenosina y/ o un compuesto de la fórmula I para
20 inhibir la expresión de Gsk3B en células neuronales. En las realizaciones, las composiciones para inhibir expresión génica de Gsk3B en células neuronales pueden no incluir una o más de Se-Adenosil-L -homocisteína, o Metiltioadenosina.

En las realizaciones, una composición comprende un compuesto seleccionado del grupo que consiste de 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-glutamil-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula I, un compuesto de la fórmula II, un compuesto de la Fórmula III, y combinaciones de los mismos para inhibir fosforilación de tau en células neuronales. En las realizaciones, las composiciones para inhibir fosforilación de tau en células neuronales pueden no incluir uno o más de metionina u otros compuestos que contienen azufre.

En las realizaciones, las composiciones incluyen 5'-Metilselenoadenosina y/o un compuesto de la fórmula (I) y por lo menos un otro compuesto de selenio seleccionado del grupo que consiste de Se-Adenosil-L-homocisteína Gama-glutamil-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula (II), un compuesto de la fórmula (III) y combinaciones de las mismas.

En las realizaciones, una composición comprende por lo menos dos compuestos seleccionados del grupo que consiste de 5'-Metilselenoadenosina, Gama-glutamil-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula I, un compuesto de la Fórmula III, y

combinaciones de los mismos para inhibir fosforilación de tau en células neuronales.

En las realizaciones, una composición comprende un compuesto
5 seleccionado del grupo que consiste de Gama-glutamyl-
metilseleno-cisteína y/ o un compuesto de la fórmula (III)
para inhibir Tau total en células neuronales. En las
realizaciones, las composiciones para inhibir Tau total en
células neuronales pueden no incluir uno o más de Se-
10 Adenosil-L-homocisteína, o Metiltioadenosina.

En las realizaciones, un método o uso para inhibir
fosforilación FOXO en una o más células neuronales comprende:
administrar una cantidad efectiva de una composición a una o
15 más células neuronales, la composición comprende un compuesto
seleccionado del grupo que consiste de 5'-
Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L -homocisteína, Gama-
glutamyl-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula
(I), un compuesto de la fórmula (III), y combinaciones de los
20 mismos, en el que la cantidad efectiva inhibe fosforilación
FOXO cuando se compara con células no tratadas con la
composición. En las realizaciones adicionales, se pueden
aislar y/o purificar uno o más compuestos.

En las realizaciones, la presente solicitud proporciona un uso de una composición que comprende un compuesto seleccionado del grupo que consiste de 5'-
5 Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-glutamil-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula (I), un compuesto de la fórmula (III), y combinaciones de los mismos para inhibir fosforilación FOXO en células neuronales.

10 En las realizaciones, un método o uso para inhibir fosforilación FOXO en una o más células neuronales al mejorar la fosforilación FOXO en una o más células de hígado, comprende: administrar una cantidad efectiva de una composición al hígado y células neuronales, la composición
15 comprende por lo menos tres compuestos seleccionados del grupo que consiste de: 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-glutamil-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula (I), un compuesto de la fórmula (III), y combinaciones de los mismos, en el que la cantidad
20 efectiva reduce la fosforilación FOXO en células neuronales y aumenta la fosforilación FOXO en células de hígado cuando se compara con células no tratadas con la composición.

En las realizaciones, una composición comprende un compuesto seleccionado del grupo que consiste de 5' - Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-glutamyl-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula (I), un compuesto de la fórmula (II), un compuesto de la fórmula (III), y combinaciones de los mismos para inhibir fosforilación de FOXO3 y/ o FOXO 4 en células neuronales. En las realizaciones, las composiciones para inhibir fosforilación de FOXO 3 y/o FOXO4 en células neuronales puede no incluir metionina o selenometionina. En las realizaciones, las composiciones incluyen 5'-Metilselenoadenosina y/o un compuesto de la fórmula (I) y por lo menos otro compuesto de selenio seleccionado del grupo que consiste de Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-glutamyl-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula (II), un compuesto de la fórmula (III) y combinaciones de las mismas.

En las realizaciones, una composición comprende por lo menos tres compuestos seleccionados del grupo que consiste de 5'- Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-glutamyl-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula (I), un compuesto de la fórmula (II), un compuesto de la

fórmula (III), y combinaciones de los mismos para inhibir fosforilación de FOXO 3 y FOXO 4 en células neuronales.

En las realizaciones, una composición comprende un compuesto
5 seleccionado del grupo que consiste de 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-glutamyl-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula (I), un compuesto de la fórmula (II), un compuesto de la fórmula (III), y combinaciones de los mismos para mejorar
10 expresión de PGC1a en células neuronales. En las realizaciones, las composiciones para mejorar expresión de PGC1a en células neuronales puede no incluir metionina o seleno metionina.

15 En las realizaciones, la presente solicitud proporciona un uso de una composición que comprende un compuesto seleccionado del grupo que consiste de 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-glutamyl-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula
20 (I), un compuesto de la fórmula (II), un compuesto de la fórmula (III), y combinaciones de los mismos para mejorar expresión de PGC1a en células neuronales.

En las realizaciones, un método o uso de aumento de expresión de PGC1a en una o más células neuronales, comprende: administrar una cantidad efectiva de una composición a una o más células neuronales, la composición comprende por lo menos tres diferentes compuestos seleccionados del grupo que consiste de: 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-glutamyl-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula (I), y un compuesto de la fórmula (III), en el que la cantidad efectiva aumento de expresión de PGC1a cuando se compara con células no tratadas con la composición.

En las realizaciones, un método o uso para aumentar la expresión de PGC1a en una o más células neuronales y que no afectan la expresión de PGC1a en una o más células de hígado, comprende: administrar una cantidad efectiva de una composición al hígado y células neuronales, la composición comprende por lo menos tres compuestos seleccionados del grupo que consiste de 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-glutamyl-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula (I), un compuesto de la fórmula (III), y combinaciones de los mismos, en el que la cantidad efectiva aumenta la expresión de PGC1a en una o más células

neuronales y no afecta la expresión de PGC1a en una o más células de hígado cuando se compara con células no tratadas con la composición.

5 En las realizaciones, las composiciones comprenden un compuesto seleccionado del grupo que consiste de 5'-Metilselenoadenosina y/o un compuesto de la fórmula I y por lo menos un otro compuesto de selenio seleccionado del grupo que consiste de Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-glutamil-
10 metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula II, un compuesto de la Fórmula III y combinaciones de las mismas.

En las realizaciones, una composición comprende por lo menos tres compuestos seleccionados del grupo que consiste de 5'-
15 Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-glutamil-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula (I), un compuesto de la fórmula (II), un compuesto de la fórmula (III), y combinaciones de las mismas para mejorar expresión de PGC1a en células neuronales.

20

En las realizaciones, la mejora de expresión PGC1a, se reduce en fosforilación FOXO, se reduce en PSEN, se reduce en nicastrin, se reduce en Gsk3b varía desde aproximadamente un

aumento del 50% o reducción a un aumento o disminución de 500%, respectivamente, cuando se compara con una célula de tipo idéntico no tratado con el compuesto. La magnitud de la respuesta depende del tipo celular, el compuesto específico y el tiempo en contacto con la célula.

Los efectos de los compuestos y composiciones de la presente solicitud sobre la fosforilación de FOXO 3 y FOXO 4 y sobre la expresión de PGC1 α exhibe una especificidad de tejido. Aunque no significa que limita la presente solicitud, en células neuronales, la inhibición de fosforilación de FOXO3 y FOXO4 permite que FOXO entre en la transcripción del núcleo y lo active. El PGC1 α también es un activador transcripcional que regula el metabolismo de la energía en la célula que incluye gluconeogénesis. FOXO y PGC1 α contribuyen a la activación transcripcional de genes tales como glucosa - 6-fosfatasa (G6pc). Una mejora de gluconeogénesis proporcionaría células neuronales con la capacidad para generar glucosa y mantener almacenamientos de energía.

20

Como se discutió anteriormente, la generación de A β y tau fosforilado contribuyen significativamente a la patología de la enfermedad de Alzheimer. Los resultados presentados aquí

proporcionan evidencia de que los compuestos y composiciones descritas aquí afectan la expresión génica de presenilina 1 y nicastrin. Se ha mostrado que estas dos enzimas se involucran en la generación de A β . Adicionalmente, la inhibición de fosforilación de tau y/o Tau total se evidencia que los compuestos y composiciones como se describe aquí también afectan la producción de NFT. Adicionalmente, el efecto de los compuestos para mejorar la función mitocondrial, mejorar la activación FOXO, y aumentar la expresión génica de PGC1 α proporciona células neuronales con función mitocondrial mejorada que también trabaja para tratar Alzheimer al minimizar el estrés oxidativo. Los estudios anteriores han mostrado que ratones transgénicos App selenio alimentados con levadura enriquecida pero no una dieta normal o dieta deficiente de selenio había disminución de la producción de la placa B amiloide. (Lovell et al., Free Rad. Biol. Med. 46: 1527 2009)

Los métodos para determinar la expresión génica en una célula son conocidos por aquellos expertos en la técnica e incluyen hibridación con sondas, tales como en una matriz o por métodos de PCR. Las matrices y/o cebadores para determinación de la expresión de genes están disponibles comercialmente.

Los cebadores se pueden diseñar fácilmente utilizando las secuencias de ejemplo para PSEN 1, PSEN2, Nicastrin y GSK3b. Las secuencias de ejemplo para PSEN 1 se encuentran en NM_000021/NM_007318, PSEN2 se encuentra en 5 NM_000447/NM_012486, Nicastrin se encuentra en NM_01533 y para UCP3 se encuentran en NM_002093.

En las realizaciones, un método o uso para tratar enfermedad de Alzheimer comprende: administrar una cantidad efectiva de 10 una composición que comprende un compuesto seleccionado del grupo que consiste de 5'-Metilselenoadenosina, un compuesto de la fórmula (I), y combinaciones de las mismas a un sujeto. En las realizaciones, las composiciones para tratar enfermedad de Alzheimer puede no incluir una o más de 15 Metiltioadenosina, o S-Adenosil-L-homocisteína.

En las realizaciones, un método o uso para tratar la enfermedad de Alzheimer comprende: administrar un compuesto seleccionado del grupo que consiste de 5'- 20 Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L -homocisteína, Gama-glutamyl-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula (I), un compuesto de la fórmula II, un compuesto de la Fórmula III, y combinaciones de los mismos. En las

realizaciones, las composiciones para tratar Alzheimer puede no incluir metionina o selenometionina.

En las realizaciones, la presente solicitud proporciona un
5 uso de una composición que comprende un compuesto
seleccionado del grupo que consiste de 5'-
Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L -homocisteína, Gama-
glutamyl-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula
(I), un compuesto de la fórmula (II), un compuesto de la
10 fórmula (III), y combinaciones de los mismos para tratar
enfermedad de Alzheimer.

En las realizaciones, las composiciones incluyen 5'-
Metilselenoadenosina y/o un compuesto de la fórmula (I) y por
15 lo menos otro compuesto de selenio seleccionado del grupo que
consiste de Se-Adenosil-L -homocisteína, Gama-glutamyl-
metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula (II), un
compuesto de la fórmula (III) y combinaciones de las mismas.
En las realizaciones adicionales, se pueden aislar y/o
20 purificar uno o más compuestos.

En las realizaciones, un método o uso para tratar la
enfermedad de Alzheimer comprende adicionalmente seleccionar

una composición que trata los síntomas de enfermedad de Alzheimer sin provocar un efecto adverso sobre el w metabolismo de glucosa en el hígado. En las realizaciones, la composición comprende 5'-Metilselenoadenosina y/o un
5 compuesto de la fórmula (I). En las realizaciones, la composición puede excluir una o más de Se-Adenosil-L - homocisteína, Gama-glutamil-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula (II), o un compuesto de la fórmula (III). En las realizaciones, la composición comprende por lo
10 menos tres compuestos seleccionados del grupo que consiste de 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-glutamil-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula (I), un compuesto de la fórmula (II), un compuesto de la fórmula (III), y combinaciones de los mismos. En las
15 realizaciones, la composición excluye una o más de H (5'-Metiltioadenosina), I (S-Adenosil-L-homocisteína), o J (Gama-glutamil-metil-cisteína).

En las realizaciones, una composición comprende por lo menos
20 tres compuestos seleccionados del grupo que consiste de 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-glutamil-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula (I), un compuesto de la fórmula (II), un compuesto de la

fórmula (III), y combinaciones de los mismos para tratar enfermedad de Alzheimer.

En las realizaciones, la cantidad efectiva de los compuestos
5 y composiciones como se describe aquí es una cantidad efectiva para tratar enfermedad de Alzheimer sin ser tóxico a las células. Las cantidades efectivas seleccionadas no muestran toxicidad para cualquiera de las células ejemplificadas que incluyen células de riñón, esqueléticas de
10 ratón, neuronales humanas, o hígado de ratón.

En las realizaciones, la cantidad efectiva de los compuestos y composiciones como se describe aquí es una cantidad efectiva para mejorar los síntomas de la enfermedad de
15 Alzheimer y/ o modula la expresión génica como se describe aquí sin ser tóxica a las células. La modulación de expresión génica en células neuronales se puede determinar como se describe aquí utilizando un número de ensayos sobre una muestra tomada de un sujeto tratado de acuerdo con las
20 composiciones descritas aquí.

Como es bien conocido en las técnicas médicas, las dosificaciones para cualquier sujeto puede depender de muchos

factores, que incluyen el tamaño del paciente, área de superficie corporal, edad, compuesto particular que se va a administrar, sexo, tiempo y ruta de administración, salud general, y interacción con otros fármacos que se administran
5 simultáneamente.

En las realizaciones, una cantidad efectiva de una composición para tratar Alzheimer, que inhibe procesamiento amiloide B y/o fosforilación tau en células neuronales es
10 aproximadamente 5 ug o más o 800 ug o menos por día de un compuesto que contiene selenio biológicamente activo deseable único o múltiples compuestos biológicamente activos deseables que contienen selenio. Cuando múltiples compuestos biológicamente activos deseables que contienen selenio están
15 presentes, la cantidad efectiva de la composición es el total para todos los compuestos en la composición que se administra a un sujeto.

En las realizaciones una cantidad efectiva administrada a un
20 sujeto en un día es aproximadamente 5 ug a aproximadamente 800 ug y cada número entre, 5 ug a aproximadamente 700 ug y cada número entre, 5 ug a aproximadamente 600 ug y cada número entre , 5 ug a aproximadamente 500 ug y cada número

entre, 5 ug a aproximadamente 400 ug y cada número entre, 5
ug a aproximadamente 300 ug y cada número entre, 5 ug a
aproximadamente 200 ug y cada número entre, 5 ug a
aproximadamente 100 ug y cada número entre, y 5 ug a 50 ug y
5 cada número entre.

En las realizaciones, las cantidades efectivas de las
composiciones administradas a un sujeto que comprende
compuestos biológicamente activos deseables que contienen
10 selenio como se describe aquí, son preferiblemente 200 ug o
menos por día o 50 ug o menos por día. En las realizaciones,
la dosis se puede ajustar dependiendo de la eficacia o si
cualesquier signos manifiestos de toxicosis de selenio, tal
como respiración de ajo, pérdida de cabello, o uñas frágiles
15 se observan en el sujeto.

En las realizaciones, en composiciones que comprenden dos o
más compuestos seleccionados del grupo que consiste de 5'-
Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-
20 glutamil-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula
(I), un compuesto de la fórmula (II), un compuesto de la
fórmula (III), y combinaciones de los mismos, compuestos
están presentes en la composición en proporciones iguales. En

otras realizaciones la relación de un compuesto con otro puede ser aproximadamente 4: 1 a 1: 1.

En las realizaciones, la dosis se administra por lo menos una vez al día durante un período de tiempo para alcanzar un estado de equilibrio de selenio elemental en la sangre. En las realizaciones, la dosis se administra diariamente durante por lo menos 60 o 90 días. En las realizaciones, la dosis se administra mientras el sujeto está experimentando síntomas de la enfermedad o trastorno.

En realizaciones, el sujeto está en una edad en que se incrementa el riesgo de enfermedades mitocondriales relacionados, por ejemplo, por lo menos 40 años de edad.

15

Los métodos de la presente solicitud encontraron uso en tratar (por ejemplo, profilácticamente o terapéuticamente) un sujeto (por ejemplo, un sujeto con una afección asociada con enfermedad de Alzheimer, procesamiento amiloide B, fosforilación tau, y expresión génica de presenilina 1, nicastrin, PGC1a, y fosforilación de tau y FOXO3 y FOXO 4). Las composiciones que comprenden uno o más de compuestos que incluyen 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L -

homocisteína, Gama-glutamyl-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula (I), un compuesto de la fórmula (II), un compuesto de la fórmula (III), y combinaciones de los mismos se pueden administrar a un sujeto (por ejemplo, un
5 paciente) por vía intravenosa en un portador farmacéuticamente aceptable tal como salina fisiológica. Se pueden utilizar métodos estándar para suministro intracelular de los compuestos (por ejemplo, suministro a través de liposoma). Dichos métodos son bien conocidos por aquellos
10 expertos comunes en la técnica. Las composiciones que comprenden selenio son útiles para administración son útiles para administración intravenosa así como también administración parenteral, tal como intravenosa, subcutánea, intramuscular, y intraperitoneal.

15

En las realizaciones, una composición de la invención se formula para atravesar la barrera hematoencefálica. Las composiciones de la invención se pueden combinar con un material de implante adecuado para suministro al cerebro tal
20 como implantes biodegradables poliméricos tales como acetato de etileno covinilo. Otros tipos de objetivación pueden involucrar transporte mediado por receptores tal como el receptor de insulina y el receptor de transferrina. Estos

receptores se pueden integrar en liposomas o microesferas que también incluyen las composiciones como se describe aquí. En otras realizaciones, el suministro al cerebro se puede objetivar al utilizar liposomas o PLGA esferas que tienen un anticuerpo, receptor de transferrina, o profármaco como un agente de objetivación.

De acuerdo con lo anterior, en algunas realizaciones de la presente solicitud, las composiciones y/o formulaciones que comprenden selenio se puede administrar a un sujeto solo, o en combinación con otras formas de selenio, fármacos, moléculas pequeñas, o en composiciones farmacéuticas donde se mezclan con excipientes u otros portadores farmacéuticamente aceptables. En una realización de la presente solicitud, el portador farmacéuticamente aceptable es farmacéuticamente inerte. En otra realización de la presente solicitud, las composiciones que comprenden selenio solo se pueden administrar a sujetos individuales, en riesgo de, o que sufren de una enfermedad o afección relacionada con procesamiento amiloide B o fosforilación tau.

Las composiciones que comprenden 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L -homocisteína, Gama-glutamyl-metilseleno-cisteína,

un compuesto de la fórmula (I), un compuesto de la fórmula (II), un compuesto de la fórmula (III), y combinaciones de los mismos se pueden agregar a bebida o alimento nutricional (por ejemplo, ENSURE, POWERBAR, o similares), una multi-
5 vitamina, productos nutricionales, productos alimenticios, etc. para consumo diario.

Metabolismo de glucosa

10 La diabetes mellitus (DM) no dependiente de insulina (Tipo II) es una enfermedad caracterizada por resistencia a la insulina en el músculo esquelético, hígado y grasa, en combinación con defectos en la secreción de insulina debido a la función de células β de páncreas. La resistencia a la
15 insulina es una característica central de la diabetes tipo II. Se sabe, por ejemplo, que la gran mayoría de los diabéticos tipo II son resistentes a la insulina. Del mismo modo, la resistencia a la insulina en los descendientes de diabéticos tipo II es el mejor predictor para el desarrollo
20 posterior de la enfermedad (Véase, por ejemplo, Warram et al., Ann Intern Med. 113: 909, 1990). Las intervenciones que reducen la resistencia a la insulina también previenen el desarrollo de diabetes. Se requiere función mitocondrial

óptima para la secretina insulina estimulada por glucosa normal de las células beta del páncreas.

El músculo esquelético y el hígado son los dos órganos
5 sensibles a insulina clave en el mantenimiento de la homeostasis de glucosa. La transición de estos órganos a un estado resistente a insulina cuenta para la mayoría de los cambios en el metabolismo de la glucosa observados en los pacientes con diabetes de tipo II (véase, por ejemplo, Lowell
10 and Shulman, Science 21: 307 2005). De estos dos órganos, el músculo esquelético es el más importante en términos de las consecuencias resultantes de la aparición de resistencia a la insulina. Se ha encontrado que esto es porque el músculo esquelético dispone o metaboliza 80 a 90% de la glucosa
15 ingerida diariamente (Véase, por ejemplo, DeFronzo et al., 1985).

Se ha documentado por análisis de expresión amplia de genoma que los genes de fosforilación oxidativa mitocondrial
20 (OXPHOS) muestran una expresión reducida en individuos prediabéticos y diabéticos en comparación con los controles sanos, y que estos genes son, en muchos casos, objetivos de coactivador transcripcional activado por el proliferador de

receptor gamma coactivador 1-alfa (PGCL- α , véase, por ejemplo, Mootha et al., 2003). En estos estudios, la disminución típica en la expresión de los genes OXPHOS fue modesta (aproximadamente 20%) pero muy consistente, con 89%
5 de los genes estudiados que muestra la expresión más baja en personas con ya sea tolerancia deteriorada a la glucosa, o diabetes Tipo II con relación a las personas con tolerancia normal a la glucosa.

10 En general, se entenderá y se apreciará en la técnica que los fármacos o agentes que aumentan la actividad de fosforilación oxidativa en el músculo existen productos terapéuticos valiosos para la diabetes tipo 2. Para reforzar esta hipótesis, que hace tiempo se sabe que el ejercicio aeróbico
15 es la mejor intervención no farmacológica para el tratamiento de la diabetes, ya que aumenta la actividad mitocondrial y el número y promueve la expresión del gen OXPHOS.

En el hígado, FOXO en su estado activado o no fosforilado
20 reside en el núcleo donde se une a la región promotora para glucosa 6-fosfatasa y, junto con otros factores tales como PGC-1 α , aumenta la transcripción de la glucosa-6-fosfatasa, aumentando de esta manera la tasa de producción de glucosa.

La glucosa 6-fosfatasa cataliza la última etapa en la gluconeogénesis y glucogenolisis provocando la liberación de glucosa del hígado. Es, por lo tanto, importante en el control de la homeostasis de la glucosa, en particular en los
5 sujetos diabéticos.

Normalmente, el proceso de la fosforilación FOXO se controla directamente por otra enzima quinasa llamada AKT (proteína quinasa B). AKT fosforila FOXO y lo conduce desde el núcleo,
10 lo que disminuye la producción de glucosa a través de una disminución de la tasa de la transcripción de la glucosa 6-fosfatasa. Si el AKT está bajo control en dirección 5' por una reacción en cascada mini molecular, que se inicia con la unión de insulina a su receptor en la superficie celular.
15 Esto inicia una serie de acontecimientos que implican otras dos enzimas quinasa, fosfatidilinositol 3 -quinasa (PI3K) y la proteína quinasa dependiente de fosfoinositida-1 (PDK1). La ruta general es conocida como la ruta de insulina/PI3K/PDK1/AKT y tiene el trabajo controlar la homeostasis de
20 la glucosa a través de la señalización de insulina. En el contexto del control FOXO, la PDK1 fosforila y activa Akt, que, a su vez, fosforila e inactiva el FOXO.

En las realizaciones, un método o uso se proporciona para aumentar fosforilación FOXO 3 y/ FOXO 4 en una o más células de hígado que comprenden administrar una composición que comprende por lo menos tres compuestos seleccionados del grupo que consiste de 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-glutamyl-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula I, un compuesto de la fórmula II, un compuesto de la Fórmula III, y combinaciones de los mismos.

En las realizaciones, un método para modular metabolismo de glucosa en una o más células seleccionadas del grupo que consiste de células de hígado, célula del músculo esqueléticos, y combinaciones de las mismas comprende: administrar una cantidad efectiva de una composición a una o más células la composición comprende por lo menos tres diferentes compuestos seleccionados del grupo que consiste de 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-glutamyl-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula (I), y un compuesto de la fórmula (III), en el que la cantidad efectiva altera el metabolismo de glucosa en una célula de hígado o muscular cuando se compara con células no tratadas con la composición. En las realizaciones, la composición puede excluir una o más de H (5'-

Metiltioadenosina), I (S-Adenosil-L-homocisteína), y/o J (Gama-glutamil-metil-cisteína).

En las realizaciones de la presente solicitud, se proporciona
5 un uso para una composición que comprende por lo menos tres
diferentes compuestos seleccionados del grupo que consiste de
5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-
glutamil-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula
(I), y un compuesto de la fórmula (III) para modular el
10 metabolismo de glucosa en una célula de hígado o muscular.

En las realizaciones, un método para tratar diabetes tipo II
comprende: administrar una cantidad efectiva de una
composición a un sujeto, la composición comprende por lo
15 menos tres diferentes compuestos seleccionados del grupo que
consiste de: 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-
homocisteína, Gama-glutamil-metilseleno-cisteína, un
compuesto de la fórmula (I), y un compuesto de la fórmula
(III), en el que la cantidad efectiva altera el metabolismo
20 de glucosa en una célula de hígado o muscular cuando se
compara con células no tratadas con la composición. En las
realizaciones, la composición puede excluir una o más de

H(5'-Metiltioadenosina)), I (S-Adenosil-L-homocisteína), y/o J (Gama-glutamil-metil-cisteína).

En las realizaciones de la presente solicitud, un uso se
5 proporciona para una composición que comprende por lo menos
tres diferentes compuestos seleccionados del grupo que
consiste de 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-
homocisteína, Gama-glutamil-metilseleno-cisteína, un
compuesto de la fórmula (I), y un compuesto de la fórmula
10 (III) para tratar diabetes en un sujeto.

En las realizaciones, se proporciona un método o uso para
inhibir expresión de G6pc en una o más células de hígado que
comprende: administrar una composición que comprende por lo
15 menos tres compuestos seleccionados del grupo que consiste de
5'- Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-
glutamil-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula I,
un compuesto de la fórmula II, un compuesto de la Fórmula
III, y combinaciones de los mismos. En las realizaciones, la
20 composición puede excluir una o más de H (5'-
Metiltioadenosina), I (S-Adenosil-L-homocisteína), y/o J
(Gama-glutamil-metil-cisteína).

En las realizaciones de la presente solicitud, se proporciona un uso para una composición que comprende por lo menos tres diferentes compuestos seleccionados del grupo que consiste de 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-glutamyl-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula (I), y un compuesto de la fórmula (III) para inhibir glucosa-6-fosfatasa.

En las realizaciones, el aumento en fosforilación FOXO, o una reducción en G6pc varía desde un aumento de aproximadamente 50% o reducción a un 500% de aumento o reducción, respectivamente, cuando se compara con una célula de tipo idéntico no tratado con el compuesto. La magnitud de la respuesta depende del tipo de célula, el compuesto específico y el tiempo en contacto con la célula.

Los compuestos que contienen selenio afectan la expresión génica en células de hígado diferencialmente. En contraste con el efecto de compuestos y composiciones que tienen sobre células de hígado como se describe aquí, la misma o una composición similar puede afectar las células neuronales en una forma opuesta. Por ejemplo, una composición como se describe aquí, reduce la fosforilación de FOXO3 y/o FOXO4 en

células neuronales. La expresión de PGC1a se aumenta lo que resulta en un aumento en gluconeogénesis en células neuronales. En contraste, el mismo compuesto o composición aumenta la fosforilación de FOXO3 y/o FOXO4 en células de hígado y no se altera la expresión de PGC1a.

Como se describe en el contexto de las células IMR-32 neuronales, el PGC1a es un gen crítico para biogénesis MT y metabolismo de carbohidratos. En las células del hígado, también actúa en concierto con FOXO para conducir la transcripción de genes implicados en la gluconeogénesis, pero no puede hacerlo en ausencia nuclear de FOXO. Se examinó la expresión de proteínas PGC1a, y no se observó un cambio significativo del nivel de proteína PGC en las células del hígado después de combinación de tratamiento CDE por análisis cuantitativo. Sin embargo, debido al robusto efecto observado sobre la fosforilación FOXO en respuesta a CDE, es casi seguro que estaría excluido del núcleo y, por lo tanto, el nivel de PGC1a se vuelve de baja importancia, ya que requiere FOXO para iniciar el proceso de gluconeogénesis. En conjunto, estos resultados sugieren que la combinación de CDE no afectó la señalización PI3K/PDK1/AKT y diversas otras moléculas de señalización en dirección 3' directa o indirecta de AKT,

excepto los descritos anteriormente, pero FOXOS críticos. En otras palabras, la combinación de CDE inactiva selectivamente los FOXO y esta acción parece ser independiente de señalización de PI3K/PDK1/ AKT en las células del hígado.

5

En las realizaciones, la cantidad efectiva de los compuestos y composiciones como se describe aquí es una cantidad efectiva para inhibir la expresión de G6pc, modular el metabolismo de glucosa, o aumentar la fosforilación FOXO en una célula de hígado sin ser tóxica a las células. La expresión génica en células de hígado se puede determinar utilizando un número de ensayos sobre una muestra tomada de un sujeto tratado de acuerdo con las composiciones descritas aquí. Las cantidades efectivas seleccionadas no muestran toxicidad para cualquiera de las células ejemplificadas que incluyen células de riñón, esqueléticas de ratón, neuronales humanas, o hígado de ratón.

10

15

Como es bien conocido en las técnicas médicas, las dosificaciones para cualquier sujeto pueden depender de muchos factores, que incluyen tamaño del paciente, área de superficie corporal, edad, compuesto particular a ser administrado, sexo, tiempo y ruta de administración, salud

20

general, e interacción con otros fármacos que se administran simultáneamente.

En las realizaciones, la cantidad efectiva de una composición
5 que contiene selenio de la invención para administrar a un
sujeto para inhibir la expresión de G6pc, modular el
metabolismo de glucosa, tratar diabetes tipo II o aumentar
fosforilación FOXO en el hígado, o célula del músculo
esquelético es aproximadamente 5 ug o más o 800 ug o menos
10 por día de un compuesto que contiene selenio biológicamente
activo deseable único de la invención o múltiples compuestos
biológicamente activos deseables que contienen selenio de la
invención. Cuando múltiples compuestos biológicamente activos
deseables que contienen selenio están presentes, la cantidad
15 efectiva de la composición a ser administrada a un sujeto es
la cantidad total para todos los compuestos biológicamente
activos deseables que contienen selenio en la composición.

En las realizaciones una cantidad efectiva para administrar a
20 un sujeto de un compuesto que contiene selenio biológicamente
activo deseable de la invención es aproximadamente 5ug a
aproximadamente 800 ug y cada número entre, 5 ug a
aproximadamente 700 ug y cada número entre, 5 ug a

aproximadamente 600 ug y cada número entre , 5 ug a
aproximadamente 500 ug y cada número entre, 5 ug a
aproximadamente 400 ug y cada número entre, 5 ug a
aproximadamente 300 ug y cada número entre, 5 ug a
5 aproximadamente 200 ug y cada número entre, 5 ug a
aproximadamente 100 ug y cada número entre, y 5 ug a 50 ug.

En las realizaciones de la invención, las composiciones que
comprenden compuestos como se describe aquí, se administran
10 preferiblemente a 200 ug o menos por día o 50 ug o menos por
día. En las realizaciones de la invención, la dosis se puede
ajustar dependiendo de la eficacia o si cualesquier signos
manifiestos de toxicosis de selenio, tal como respiración de
ajo, pérdida de cabello, o uñas frágiles se observan en el
15 sujeto.

En las realizaciones, en las composiciones que comprenden dos
o más compuestos seleccionados del grupo que consiste de 5'-
Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-
20 glutamil-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula
(I), un compuesto de la fórmula (II), un compuesto de la
fórmula (III), y combinaciones de los mismos, los compuestos
están presentes en la composición en proporciones iguales. En

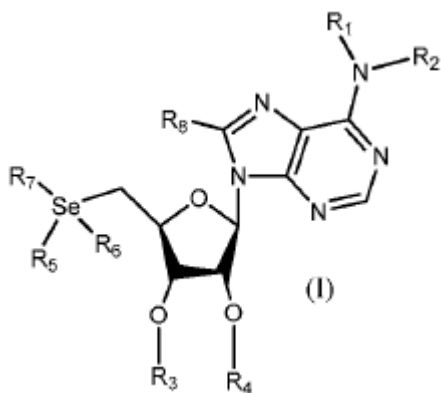
otras realizaciones la relación de un compuesto con otro puede ser aproximadamente 4: 1 a 1: 1.

En las realizaciones, la dosis se administra por lo menos una vez a diario durante un periodo de tiempo para lograr un estado en equilibrio de selenio elemental en la sangre. En las realizaciones, la dosis se administra a diario durante por lo menos 60 o 90 días. En las realizaciones, la dosis se administra mientras que el sujeto está experimentando síntomas de la enfermedad o trastorno. En las realizaciones, el sujeto está en una edad en que se incrementa el riesgo de enfermedades mitocondriales relacionados, por ejemplo por lo menos 40 años de edad.

En otras realizaciones, el suministro al hígado se puede objetivar al utilizar liposomas o esferas de PLGA que tienen un anticuerpo, al preparar un selenoglucósido, o un profármaco dirigido al hígado.

Otras realizaciones de la presente solicitud

En algunas realizaciones, se proporciona una composición que consiste esencialmente de un compuesto de acuerdo con la fórmula (I):



5

o una sal, hidrato o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo,

en la que R_1 es H, acilo, alquilo, alquenilo, alquinilo, aralquilo, carboxilo, cicloalquilo, $C(O)R'$, $C(O)OR'$, donde R'
 10 es alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, o heterociclilo; o R_1 junto con R_2 forman un anillo heterocíclico que tiene 4 a 8 miembros en el anillo con por lo menos un heteroátomo seleccionado de oxígeno o nitrógeno;

15 R_2 es H, acilo, alquilo, alquenilo, alquinilo, aralquilo, carboxilo, cicloalquilo, $C(O)R'$, $C(O)OR'$, donde R' se selecciona de alquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, o heterociclilo; o R_1 junto con R_2 forman un anillo

heterocíclico que tiene 4 a 8 miembros en el anillo con por lo menos un heteroátomo seleccionado de oxígeno o nitrógeno;

5 R_3 es H, acilo, alquilo, alqueno, alquino, aralquilo, cicloalquilo, carboxilo, o C-amido; o R_3 junto con R_4 y los átomos a los cuales se adhieren forman un anillo heterocíclico que tiene 4 a 8 miembros en el anillo con por lo menos un heteroátomo seleccionado de oxígeno o nitrógeno;

10 R_4 es H, acilo, alquilo, alqueno, alquino, aralquilo, cicloalquilo, carboxilo, o C-amido; o R_3 junto con R_4 y los átomos a los cuales se adhieren forman un anillo heterocíclico que tiene 4 a 8 miembros en el anillo con por lo menos un heteroátomo seleccionado de oxígeno o nitrógeno;

15

R_5 es oxo, hidroxilo, alquilo, alqueno, alquino, OR' , o está ausente; donde R' se selecciona de alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, arilo, o aralquilo;

20 R_6 es oxo, hidroxilo, alquilo, alqueno, alquino, OR' , o está ausente; donde R' se selecciona de alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, arilo, o aralquilo;

R₇ es H, alquilo, alqueno, alquino, cetona, alcohol amino, aminoácido, OR', Se-R', S-R', donde R' se selecciona de H, alquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, o heterociclilo; y R₈ es hidrógeno, azido, alquilo, alqueno, alquino.
5 alquino.

En las realizaciones adicionales, se pueden aislar y/o purificar uno o más de estos compuestos de la Fórmula (I).

10 En algunas realizaciones, se proporciona una composición que consiste esencialmente de o que consiste de un compuesto de acuerdo con la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del mismo, en el que R₁; R₃ R₄ y R₈ son cada uno H; R₂ es H, acilo, alquilo, alqueno, alquino, aralquilo, carboxilo, cicloalquilo, C(O)R', o
15 C(O)OR', donde R' se selecciona de alquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, o heterociclilo; R₅ y R₆ están cada uno ausentes; y R₇ es alquilo, o aminoácido.

20 En algunas realizaciones, se proporciona una composición que consiste esencialmente de o que consiste de un compuesto de acuerdo con la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del mismo, en el que R₁; R₃ R₄

y R_8 son cada uno H; R_2 es H, acilo, alquilo, alquenilo, alquinilo, aralquilo, carboxilo, cicloalquilo, $C(O)R'$, $C(O)OR'$, donde R' se selecciona de alquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, o heterociclilo; R_5 y R_6 están cada uno
5 ausentes; y R_7 es alquilo, o aminoácido; con la condición que
5'-selenoadenosil metionina, deshidroxi 5'-
metilselenoadenosina, etilselenoadenosina, seleno(hidroxil)-
selenofeno-(3'-desoxi-adenosina), alilselenoadenosil
homocisteína, seleno-adenosil homocisteína, seleno-hidroxi
10 adenosil homocisteína, seleno adenosina, seleno-adenosil-
Se(metil)-selenóxido, adenosil-hidroxi selenóxido, etil
selenoadenosina, seleno-(hidroxi)-selenofeno-(3'-desoxi-
adenosina), adenosil-hidroxi selenóxido, y seleno-adenosil-
Se(metil)-selenóxido cada uno se puede excluir de la
15 composición.

En un aspecto específico, se proporciona una composición que
consiste esencialmente de o que consiste de un compuesto, o
una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del
20 mismo, de acuerdo con la fórmula (I) que es 5'-
metilselenoadenosina ("compuesto C").

o una sal, hidrato o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo,

en la que R_1 es H, acilo, alquilo, alqueno, alquino, arilo,

5 aralquilo, carboxilo, cicloalquilo, $C(O)R'$, $C(O)OR'$, donde R'

es alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, arilo,

aralquilo, o heterociclilo; o R_1 junto con R_2 forman un anillo

heterocíclico que tiene 4 a 8 miembros en el anillo con por

lo menos un heteroátomo seleccionado de oxígeno o nitrógeno;

10

R_2 es H, acilo, alquilo, alqueno, alquino, aralquilo,

carboxilo, cicloalquilo, $C(O)R'$, $C(O)OR'$, donde R' se

selecciona de alquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, o

heterociclilo; o R_1 junto con R_2 forman un anillo

15 heterocíclico que tiene 4 a 8 miembros en el anillo con por

lo menos un heteroátomo seleccionado de oxígeno o nitrógeno;

R_3 es H, acilo, alquilo, alqueno, alquino, aralquilo,

cicloalquilo, carboxilo, o C-amido; o R_3 junto con R_4 y los

20 átomos a los cuales se adhieren forman un anillo

heterocíclico que tiene 4 a 8 miembros en el anillo con por

lo menos un heteroátomo seleccionado de oxígeno o nitrógeno;

R₄ es H, acilo, alquilo, alqueno, alquino, aralquilo, cicloalquilo, carboxilo, o C-amido; o R₃ junto con R₄ y los átomos a los cuales se adhieren forman un anillo heterocíclico que tiene 4 a 8 miembros en el anillo con por lo menos un heteroátomo seleccionado de oxígeno o nitrógeno;

R₅ es oxo, hidroxilo, alquilo, alqueno, alquino, OR', o está ausente; donde R' se selecciona de alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, arilo, o aralquilo;

10

R₆ es oxo, hidroxilo, alquilo, alqueno, alquino, OR', o está ausente; donde R' se selecciona de alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, arilo, o aralquilo;

15 R₈ es hidrógeno, azido, alquilo, alqueno, alquino;

R₉ es H, acilo, alquilo, alqueno, alquino, aralquilo, carboxilo, cicloalquilo, C(O)R', C(O)OR', donde R' es alquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, o heterociclilo; o

20 R₉ junto con R₁₀ forman un anillo heterocíclico que tiene 4 a 8 miembros en el anillo con por lo menos un heteroátomo seleccionado de oxígeno o nitrógeno;

R₁₀ es H, acilo, alquilo, alqueno, alquino, aralquilo, carboxilo, cicloalquilo, C(O)R', C(O)OR', donde R' se selecciona de alquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, o heterociclilo; o R₉ junto con R₁₀ forman un anillo
5 heterocíclico que tiene 4 a 8 miembros en el anillo con por lo menos un heteroátomo seleccionado de oxígeno o nitrógeno; y

R₁₁ es OH, OR, alcoxi, aralcoxi, o amino, donde R se
10 selecciona de alquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, heterociclilo, o una sal farmacéuticamente aceptable, o sal interna.

En las realizaciones adicionales, se pueden aislar y/o
15 purificar uno o más de estos compuestos de la Fórmula (II).

En algunas realizaciones, se proporciona una composición que consiste esencialmente de o que consiste de un compuesto de acuerdo con la fórmula (II), o una sal farmacéuticamente
20 aceptable, hidrato o profármaco del mismo, en el que R₁; R₃; R₄, R₈ y R₉ son cada uno H; R₂ es H, acilo, alquilo, carboxilo, C(O)R', o C(O)OR', donde R' se selecciona de alquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, o heterociclilo; R₅

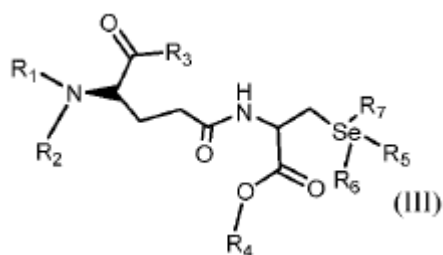
y R_6 están ausentes; R_{10} es H, acilo, alquilo, alquenoilo, alquinoilo, aralquilo, carboxilo, cicloalquilo, $C(O)R'$, $C(O)OR'$, donde R' se selecciona de alquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, o heterociclilo; y R_{11} es OH, OR, alcoxi, aralcoxi, o amino, donde R se selecciona de alquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, heterociclilo, o una sal farmacéuticamente aceptable, o sal interna.

En algunas realizaciones, se proporciona una composición que consiste esencialmente de o que consiste de un compuesto de acuerdo con la fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del mismo, en el que R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 , R_8 , R_9 , R_{10} son como se definió anteriormente y en el que R_{11} es OH o OR, donde R se selecciona de metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec-butilo, o tert-butilo.

En un aspecto específico, se proporciona una composición que consiste esencialmente de o que consiste de un compuesto de acuerdo con la fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del mismo, que es 5'-selenoadenosil homocisteína (compuesto "D"), o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del mismo.

En algunas realizaciones, las composiciones consisten esencialmente de o consiste de un compuesto de acuerdo con la fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del mismo; con la condición que 5'-selenoadenosil metionina, alilselenoadenosil homocisteína, seleno-adenosil homocisteína, y seleno-hidroxi adenosil homocisteína cada uno se puede excluir de la composición.

En algunas realizaciones, se proporciona una composición que consiste esencialmente de o que consiste de un compuesto de acuerdo con la fórmula (III):



o una sal, hidrato o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que

R₁ es H, acilo, alquilo, alquenilo, alquinilo, aralquilo, carboxilo, cicloalquilo, C(O)R', C(O)OR', donde R' es alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo,

aralquilo, o heterociclilo; o R₁ junto con R₂ forman un anillo

heterocíclico que tiene 4 a 8 miembros en el anillo con por lo menos un heteroátomo seleccionado de oxígeno o nitrógeno;

R_2 es H, acilo, alquilo, alquenilo, alquinilo, aralquilo, carboxilo, cicloalquilo, $C(O)R'$, $C(O)OR'$, donde R' se selecciona de alquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, o heterociclilo; o R_1 junto con R_2 forman un anillo heterocíclico que tiene 4 a 8 miembros en el anillo con por lo menos un heteroátomo seleccionado de oxígeno o nitrógeno;

10

R_3 es OH, OR, alcoxi, aralcoxi, o amino, donde R se selecciona de alquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, heterociclilo, o una sal farmacéuticamente aceptable, o sal interna;

15

R_4 es H, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, heterociclilo, o una sal farmacéuticamente aceptable, o sal interna;

20

R_5 es oxo, hidroxilo, alquilo, alquenilo, alquinilo, OR' , o está ausente; donde R' se selecciona de alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo, o aralquilo;

R₆ es oxo, hidroxilo, alquilo, alquenilo, alquinilo, OR', o está ausente; donde R' se selecciona de alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo, o aralquilo; y

5 R₇ es H, alquilo, alquenilo, alquinilo, cetona, OR', Se-R', S-R', donde R' se selecciona de H, alquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, o heterociclilo.

En algunas realizaciones, se proporciona una composición que
10 consiste esencialmente de o que consiste de un compuesto de acuerdo con la fórmula (III), o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del mismo, en la que

R₁ y R₂ son cada uno H;

15 R₃ es OH, OR, alcoxi, aralcoxi, o amino, donde R se selecciona de alquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, heterociclilo, o una sal farmacéuticamente aceptable, o sal interna;

R₄ es H, o una sal farmacéuticamente aceptable, o sal
20 interna;

R₅ y R₆ están ausentes; y

R₇ es alquilo, alquenilo o alquinilo.

En las realizaciones adicionales, se pueden aislar y/o purificar uno o más de estos compuestos de la Fórmula (III).

En algunas realizaciones, se proporciona una composición que
5 consiste esencialmente de o que consiste de un compuesto de acuerdo con la fórmula (III), o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del mismo, en el que R_1 y R_2 son cada uno H; R_3 es OH o OR, donde R se selecciona de metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec -butilo, o
10 tert-butilo; R_4 es H; R_5 y R_6 están ausentes; y R_7 es alquilo que es metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, iso-butilo, sec-butilo, o tert-butilo.

En algunas realizaciones, se proporciona una composición que
15 consiste esencialmente de o que consiste de un compuesto de acuerdo con la fórmula III, o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del mismo, en el que R_1 y R_2 son cada uno H; R_3 es OH o OR, donde R se selecciona de metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec-butilo, o
20 tert-butilo; R_4 es H; R_5 y R_6 están ausentes; y R_7 es metilo.

En un aspecto específico, se proporciona una composición que consiste esencialmente de o que consiste de un compuesto de

acuerdo con la fórmula (III), o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del mismo, que es gamma-glutamyl-metilseleno-cisteína ("compuesto E"), o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del mismo.

5

En algunas realizaciones, una composición que consiste esencialmente de o que consiste de un compuesto de acuerdo con la fórmula (III), o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del mismo, con la condición que γ -glutamoyl selenocisteína- γ -glutamoyl cisteína, γ -glutamoylcisteína-2,3 -DHP-selenocisteína, di- γ -glutamoylselenocisteína, selenoglutationa- γ -glutamoylcisteína- γ -glutamoyl selenocisteína- γ -glutamoyl cisteína, γ -glutamoylcisteína-2,3 -DHP-selenocisteína, di- γ -glutamoylselenocisteína, y selenoglutationa- γ -glutamoylcisteína puede cada uno ser excluido desde la composición.

10

15

En algunas realizaciones, se proporciona una composición que consiste esencialmente de o que consiste de uno o más compuestos de acuerdo con una o más de fórmulas (I), (II) y/o (III), en la que cada uno de los siguientes compuestos se excluye desde la composición con el fin de minimizar

20

toxicidad de selenio, eliminar los compuestos inactivos o
 inhibidores, y/o maximizar el índice terapéutico de la
 composición, en el que los compuestos excluidos son γ -
 glutamoil selenocisteína- γ -glutamoil cisteína, γ -
 5 glutamoilcisteína-2,3 -DHP-selenocisteína, di- γ -
 glutamoilselenocisteína, selenoglutationa- γ -
 glutamoilcisteína, y γ -glutamoil selenocisteína- γ -glutamoil
 cisteína, γ -glutamoilcisteína-2,3 -DHP-selenocisteína, di- γ -
 glutamoilselenocisteína, selenoglutationa- γ -
 10 glutamoilcisteína, deshidroxi 5'-metilselenoadenosina,
 etilselenoadenosina, seleno(hidroxil)-selenofeno-(3'-desoxi-
 adenosina), alilselenoadenosil homocisteína, seleno-adenosil
 homocisteína, seleno-hidroxil adenosil homocisteína, seleno
 adenosina, seleno-adenosil-Se(metil)-selenóxido, adenosil-
 15 hidroxil selenóxido, etil selenoadenosina, seleno-(hidroxil)-
 selenofeno-(3'-desoxi-adenosina), adenosil-hidroxil
 selenóxido, y seleno-adenosil-Se(metil)-selenóxido.

En las realizaciones, cualquiera de los compuestos descritos
 20 aquí se pueden modificar para prolongar la vida media, para
 proteger el compuesto contra oxidación, para dirigir el
 compuesto a un tejido, para permitir que el compuesto pasa la
 barrera hematoencefálica como se describe aquí.

En algunas realizaciones, se proporciona una composición que consiste esencialmente de o que consiste de uno o más compuestos cada uno de acuerdo con la fórmula (I). En algunos
5 aspectos, la composición comprende uno o más compuestos cada uno de acuerdo con la fórmula (I) comprende 5'-metilselenoadenosina, o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del mismo; y 5'-selenoadenosil homocisteína, o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato
10 o profármaco del mismo.

En algunas realizaciones, se proporciona una composición que consiste esencialmente de o que consiste de uno o más compuestos cada uno de acuerdo con la fórmula (I) y fórmula
15 (III). En algunos aspectos, la composición comprende uno o más compuestos cada uno de acuerdo con la fórmula (I) y fórmula (III) comprende 5'-metilselenoadenosina, o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del mismo; 5'-selenoadenosil homocisteína, o una sal farmacéuticamente
20 aceptable, hidrato o profármaco del mismo; y gama-glutamilmethylseleno-cisteína, o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del mismo.

En algunas realizaciones, la composición que consiste esencialmente de o que consiste de uno o más compuestos cada uno de acuerdo con la fórmula (I) y fórmula (III) comprende 5'-metilselenoadenosina, o una sal farmacéuticamente
5 aceptable, hidrato o profármaco del mismo; y gama-glutamilmethylseleno-cisteína, o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del mismo.

En algunas realizaciones, se proporciona una composición que
10 consiste esencialmente de o que consiste de uno o más compuestos cada uno de acuerdo con la fórmula (II) y fórmula (III). En algunos aspectos, la composición comprende uno o más compuestos cada uno de acuerdo con la fórmula (II) y fórmula (III) comprende 5'-selenoadenosil homocisteína, o una
15 sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del mismo; y gama-glutamilmethylseleno-cisteína, o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o profármaco del mismo.

De acuerdo con otro aspecto, la presente invención
20 proporciona una composición farmacéutica, que consiste esencialmente de o consiste de una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más compuestos de la presente invención o una sal, éster o profármaco farmacéuticamente aceptable del

mismo, junto con un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable. Los portadores farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) azúcares, tal como lactosa, glucosa y sacarosa; (2) almidones, tal como almidón de maíz y almidón de papa; 5 (3) celulosa, y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa de sodio, etilcelulosa y acetato de celulosa; (4) tragacanto en polvo; (5) malta; (6) gelatina; (7) talco; (8) excipientes, tales como manteca de cacao y ceras para supositorios; (9) aceites, tales como aceite de 10 maní, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; (10) glicoles, tales como propilenglicol; (11) polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol; (12) ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; 15 (13) agar; (14) agentes de regulación, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; (15) ácido algínico; (16) agua libre de pirógenos; (17) solución salina isotónica; (18) solución de Ringer; (19) alcohol etílico; (20) soluciones reguladoras de fosfato; y (21) otras sustancias 20 compatibles no tóxicas empleadas en formulaciones farmacéuticas.

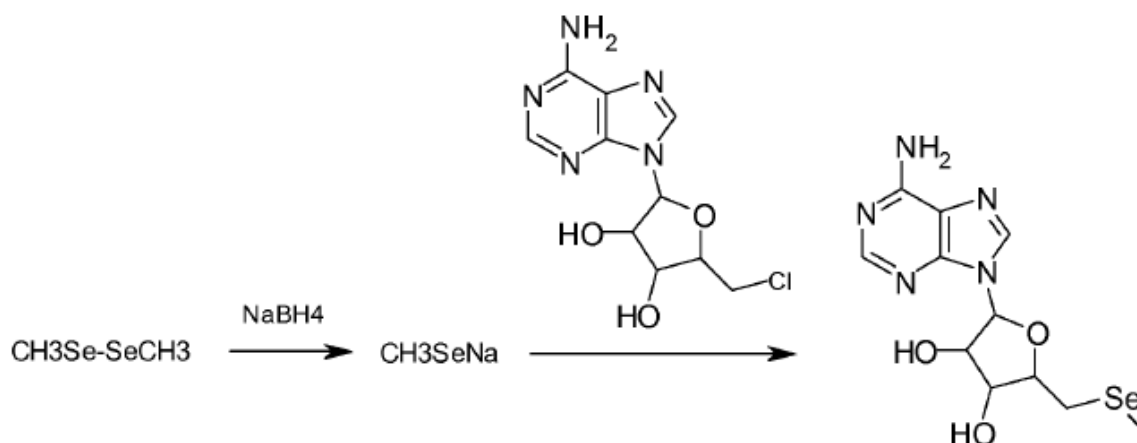
Las composiciones se pueden formular para cualquier ruta de administración como se describe aquí.

Ejemplo I

5

Síntesis y Caracterización de 5'-Metilselenoadenosina ("C")

El esquema de síntesis y metodología es:



10

Se coloca borohidruro de sodio (227 mg, 6.0 mM, bajo Ar°) en un matraz de fondo redondo de 200 mL que contiene 20 mL de alcohol etílico anhidro, equipado con un agitador magnético y ubicado en un baño enfriado con hielo. Se agrega desde una jeringa dimetildiseleniuro (190 μL , 37.6 mg, 2.0 mM), con enfriamiento, agitación y bajo flujo de Ar . Después de decoloración de una solución amarillenta se agrega 5'-cloro-5'-desoxiadenosina sólido (1.143 g, 4.0 mM). El 5-Cl-Ade es

15

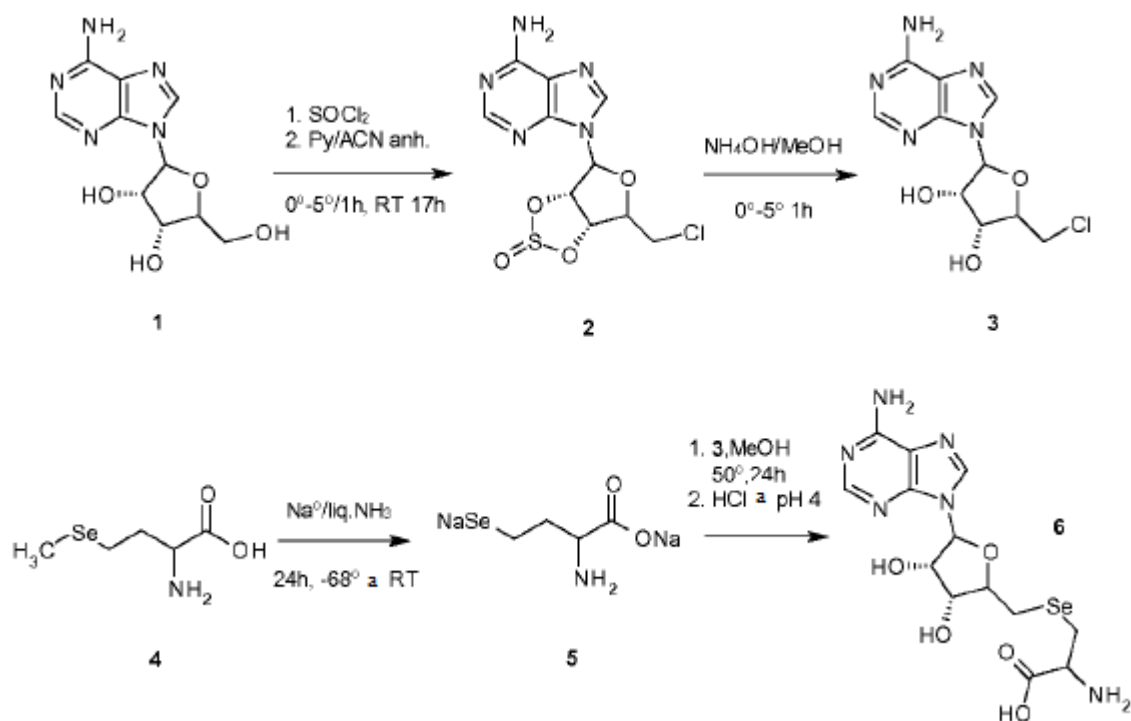
muy poco soluble en alcohol etílico. Se agrega 100 mL de alcohol etílico adicional para disolver el precipitado. La agitación de la mezcla a temperatura ambiente se continúa durante los siguientes cuatro días. Se utiliza MS para
5 monitorizar la conversión. Se logra ~75% de conversión después de días. Los disolventes se evaporan y el producto 3.22 g (con ~ 20% de SM) se recolecta y purifica por la cromatografía preparativa de fase inversa (C-8) para producir 1.1 g de producto puro cuyo peso molecular se confirma por
10 espectrometría de masa.

Ejemplo 2

Síntesis y Caracterización de Se-Adenosil-L -homocisteína ("D")

15

El esquema de síntesis y metodología es:



5' -Cloro-5' -desoxiadenosina (639-62)

5 Se coloca 89G (0.366 mol, 1 eq.) adenosina, 59.3 ML (58G, 1.833 mol, 2 eq.) piridina anhidra y 1L de acetonitrilo anhidro en un horno seco, el matraz de 4 cuellos de 2L, equipado en un embudo de goteo, un agitador, entrada/salida de gas y un termómetro. El conjunto de reacción se coloca en

10 un baño de hielo/sal. Se inicia agitación y cuando la temperatura de la solución cae por debajo de 3° C Inicia una adición muy lenta de cloruro de tionilo (fuerte reacción exotérmica!). La temperatura de la mezcla de reacción se debe mantener por debajo de 5° C durante adición de cloruro de

tionilo y durante 4 horas más (en este momento la solución es de color amarillo con precipitado blanco-amarillo en la parte inferior). Luego, la reacción se deja durante la noche a temperatura ambiente. La mañana siguiente, el precipitado voluminoso se separa por filtración utilizando un filtro de vidrio sinterizado y se lava sobre el filtro con tres volúmenes de 100 ML de acetonitrilo seco durante lo cual cambia el color del precipitado en blanco. El precipitado húmedo luego se transfiere de nuevo en el matraz de reacción de 2 l, que contiene una mezcla de 800 ML de metanol y 160 ML de agua en la que, se agrega 80ML de solución de hidróxido de amonio concentrado gota a gota con agitación mecánica y enfriamiento con baño de agua. La mezcla se agita durante 45 min a temperatura ambiente y un precipitado blanco que se forma se separa del líquido mediante filtración a vacío. El filtrado se concentra hasta secado utilizando evaporador giratorio de vacío, mientras que el precipitado se cristaliza de ~560 ML de agua caliente, se enfría en un baño de hielo-agua, y la primera cosecha de los cristales se filtra y se seca por congelación. Luego este filtrado se utiliza como un disolvente en la cristalización de sólidos resultando de la evaporación rotatoria del primer filtrado para obtener segunda cosecha de producto que también se liofiliza (2

días). Ambos cultivos de cristales se secan finalmente durante dos días sobre pentóxido de fósforo en un desecador de vacío. 84G de cristales blancos, se obtienen 80.5% de rendimiento. MS (286-M+H), mp. 187° C.

5

Selenoadenosil homocisteína (655-40)

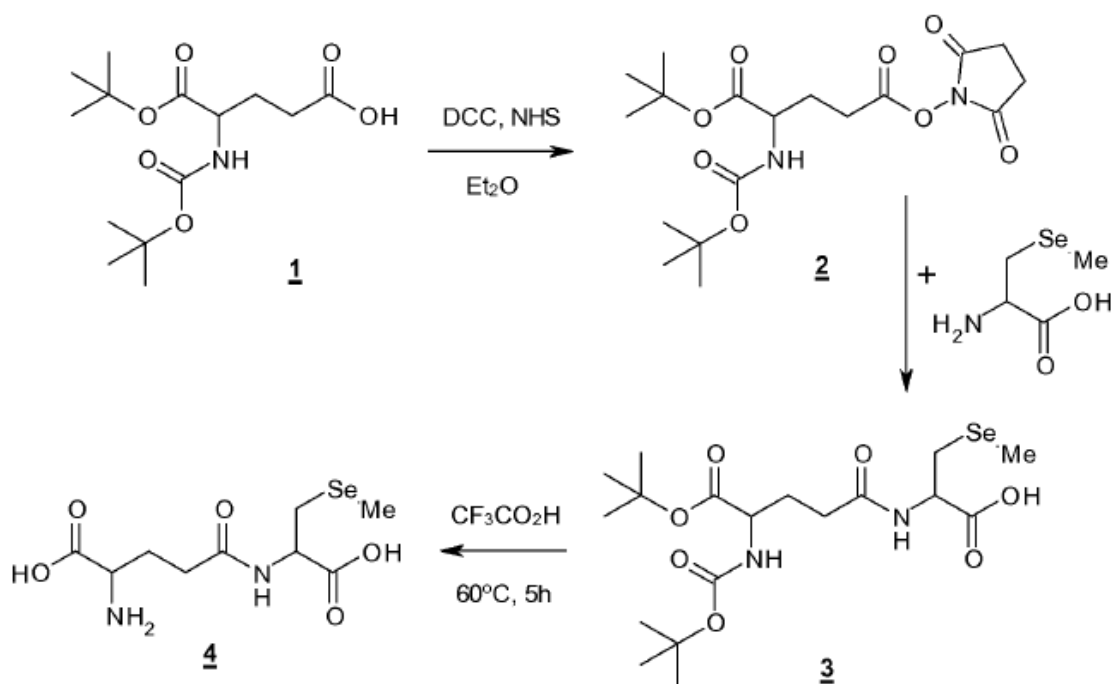
9.806 G (50 mM, 1 eq.) de L-selenometionina se cargan en un matraz de tres cuellos 2L, equipado en un termómetro, un dedo
10 de refrigeración de gran tamaño (con el medidor de burbuja en la salida), una entrada de gas amoníaco (que alcanza el fondo del matraz) y una barra de agitación magnética y se coloca en un recipiente dual de 2.5 L que contiene baño de enfriamiento de CO₂- acetona. Se hace pasar Ar° a través del matraz antes
15 de agregar CO₂ sólido para baño de acetona y el dedo de refrigeración. Cuando la temperatura interior del matraz cae por debajo de -35° C el flujo de amoníaco anhidro (gas) se inicia y cuando el nivel de amoníaco líquido alcanza el volumen de 800 ML se detiene el flujo de gas. En este momento
20 se agregan pequeños trozos de sodio metálico a una solución bien agitada hasta que la coloración azul-violeta de la solución persiste durante ~30 segundos. Se agrega un total de 2.645G (115 mm, 2.3 eq.) de sodio dentro de 45 minutos. La

agitación y el enfriamiento se mantienen durante 30 minutos más. En este momento todos los componentes están en solución. Se agregan 14.856G (52 mM, 1.04 eq.) de 5'-cloro-5'-desoxiadenosina anhidra se agregan en una única porción y la
5 mezcla de reacción se deja con agitación y muy lento flujo de Ar° durante la noche. A la mañana siguiente (si todo el amoníaco se ha ido) 350 ML de de metanol anhidro se agregan a los sólidos blancos que están presentes en el matraz. El matraz se coloca en un baño de aceite, un condensador de
10 reflujo se instala, flujo de gas Ar° se mantiene y un baño de aceite se calienta a 50° C durante las 24h posteriores. En este momento 1 ML de la solución se acidifica a pH 3.5 con unas gotas de HCl 0.1 N, y la muestra se analiza para la presencia de sustratos utilizando espectrometría de masas. Si
15 están por debajo de 5%, la mezcla se puede acidificar con HCl 1N a pH 3.5, se filtra de sales, se concentra hasta secado utilizando evaporador rotatorio de vacío y el producto bruto se puede purificar mediante cristalización a partir de mezcla de agua-etanol. 15.98G (74% de rendimiento) de la primera
20 cosecha de cristales selenoadenosilhomocisteína es ~95% limpio, y se pueden utilizar en estudios biológicos sin purificación adicional.

Ejemplo 3

Síntesis y caracterización de Gamma-glutamil-metilseleno-cisteína

5 El esquema de síntesis y metodología es:



Síntesis de N-Boc- (O-tBu) -L-Glu-OSu (655-90)

10 N-Boc-(O-tBu)-L-Glu-OH (303 mg, 1.0 Mmol), N-hidroxisuccinimida (121 mg, 1.05 Mmol) y diciclohexil carbodiimida (227 mg, 1.1 Mmol) se suspendieron/disolvieron en 15 mL de éter etílico anhidro y 10 uL de dimetiletilbencilamina se agrega desde una jeringa en la

mezcla de reacción. La agitación a temperatura ambiente (22° C) se mantuvo durante 48 h. La mezcla se filtra y el precipitado se lava 10 x 10 mL de éter etílico. El filtrado se concentra y se seca a alto vacío produciendo el producto cristalino de color blanco (570 mg, 90% de rendimiento). MS (M + Na +) = 423.17;

Síntesis de N-Boc-(O-tBu)-L-Glu-MeSe-Cys-OH (655 a 90)

10 N-Boc-(O-tBu)-L-Glu-OSu (570 mg, 0.9 Mmol), metilselenocisteína (175 mg, 0.8 mmol), trietilamina (152 mg, 209 µl, 1.5 mmol) se agregan a una mezcla de 6 mL de 1,4-dioxano y 2 mL de agua. La agitación magnética de la mezcla de reacción se mantuvo durante 100 h. Después de este tiempo se agregan HCl 1.21 N (1.65 mL) y la mezcla de reacción posterior se extrae con 3x 20 mL de éter etílico y el extracto se concentra hasta secado utilizando evaporador rotatorio de vacío que produce 649 mg del producto ceroso que se somete a HPLC preparativa. Se recogieron 283 mg del producto (75.6% de rendimiento). El espectro de masas confirmó el peso molecular del producto y la presencia de un solo átomo de Se en el. Calculado Ms para C₁₈H₃₂N₂O₇Se = 468.42; Encontrado 469.24 m/e (M+H⁺) y 491.24 m/e (M+Na⁺).

Síntesis de Gamma-glutamyl-metilseleno-cisteína (655-92)

Una mezcla de 283 mg (0.6 Mmol) de N-Boc-(O-tBu) -L-Glu-Mese-
5 Cys-OH, 2 mL de tioanisol y 5 mL de ácido trifluoroacético se
calientan con agitación magnética en un baño de aceite,
durante 6 h y a 63° C y se deja durante la noche a
temperatura ambiente (22° C). Después de este tiempo se
agrega la mezcla de reacción (gota a gota) en éter etílico se
10 agita vigorosamente (20 mL). El precipitado que se forma se
lava con 2 x 20 mL de éter etílico obteniéndose 138.3 mg de
precipitado cremoso que luego se purifica mediante HPLC
preparativa.

15 **Ejemplo 4**

Tres compuestos selenoorgánicos sintéticos se probaron solos
o en combinación en el cultivo celular para los efectos sobre
la función mitocondrial, supervivencia celular y expresión
20 génica. Las células analizadas incluyen las células de
hígado, células de riñón, células neuronales y músculo
esquelético.

Materiales y Métodos

Estirpes Celulares y Compuestos AT

Las células HEK293T de riñón embrionarias humanas se
5 proporcionaron generosamente por el Dr. Qiutang Li
(Universidad de Louisville). La estirpe celular C2C12 de
mioblastos de músculo esquelético de ratón fue un regalo del
doctor Xiao (Universidad de Kentucky). Las células IMR-32 de
neuroblastos humanos y la estirpe celular de hígado de ratón
10 AML-12 se adquirieron de la American Type Culture Collection
(ATCC, Manassas, Virginia). Todas estas células se
amplificaron en los medios de cultivo recomendados de ATCC.

El Compuesto C (5'-Metilselenoadenosina), D (Se-adenosil-L-
15 homocisteína)), y E (Gama-glutamil-metilseleno-cisteína)), y
sus análogos de azufre H (5'-metiltioadenosina)), I (S -
Adenosyl-L- homocisteína) y J (Gamma-glutamil-metil-cisteína)
se identificaron como compuestos individuales de levadura
selenizada que tienen menos de 2% de selenio inorgánico y ya
20 sea se sintetizan o se obtienen (cuando está disponible) de
fuentes comerciales. Las purezas de los compuestos probados
se verificó por ser $\geq 99\%$, según lo determinado por
espectrometría de masas.

Análisis de fluorescencia de potencial mitocondrial en células HEK293T

5 Las células HEK293T se cultivan en portaobjetos de vidrio de 8 cámaras (1×10^4 células/cámara) durante 24 horas, y luego se tratan con diversas concentraciones de compuestos o sus respectivos análogos de azufre (disuelto en agua esterilizada) durante 4.5 horas. Estas células tratadas con
10 compuesto se enjuagaron dos veces con PBS, y se incubaron con Tinte de Fluorescencia Mitotracker Naranja (Invitrogen) a 37° C durante 30 min, y se reemplaza por PBS fresco de acuerdo con el protocolo del fabricante. Luego, las señales fluorescentes (potenciales mitocondriales) en estas células
15 vivas se registraron utilizando un microscopio de fluorescencia 1 Zeiss Axio Vert. (Thornwood, NY). Por lo menos tres muestras en cada grupo de tratamiento se analizaron bajo el microscopio fluorescente.

20 **Análisis cuantitativo de potencial mitocondrial en células C2C12, IMR-32 y AML-12**

Para las células C2C12, igual número de células (1×10^4) se sembraron en Corning de placas de cultivo celular de pared oscura y fondo claro de 96 pozos (VWR), cultivadas en 10% de medio FBS DMEM durante 24 h, y luego se trata con vehículo (agua esterilizada), el compuesto C y D y sus análogos de azufre de 24 y 48 hrs. Estas células tratadas con vehículo o con el compuesto se enjuagaron dos veces con PBS, se incubaron con tinte de fluorescencia Mitotracker Orange a 37° C durante 30 min, y luego se reemplazan con PBS. Las intensidades de fluorescencia Mitotracker Orange (potenciales mitocondriales) en estas células vivas se determinaron mediante un Lector de Microplacas de Fluorescencia Bio-Tek Synergy HT Multi-Modo (Winooski, VT). Ocho muestras por cada tratamiento se examinaron por el análisis anterior, y los datos se presentan como la media $\pm$ eem de ocho muestras.

Para las células AML-12 de hígado, se amplificaron las células en 10% de medio Eagle modificado FBS de Dulbecco y medio F12 de Ham (1: 1) (DMEM/F12) medios suplementados con 1X insulina/transferrina/selenio (ITS, Sigma). Luego número de células iguales (1×10^4 células/pozo) se sembraron en placas de cultivo de células de pared oscura y de fondo transparente de 96 pozos Corning (VWR, Radnor, PA), se

cultivaron en ITS libre de 10% de medio de FBS DMEM/F12 durante 24 h., y luego se somete a tratamientos de diversos compuestos o combinación de compuestos de 6, 24, y 48 hr. El potencial mitocondrial en las células vivas se determina
5 mediante análisis cuantitativo de intensidades de fluorescencia utilizando el tinte de color naranja Mitotracker como se describió anteriormente. Adicionalmente, las células tratadas anteriores también se incubaron con tinte Hoechst 33342 (Invitrogen, Grand Island, NY) para teñir
10 núcleos de células de acuerdo con el protocolo del fabricante. Las intensidades fluorescentes de los núcleos celulares teñidos por tinte Hoechst 33342 se determinaron también por el lector de microplacas de fluorescencia. El potencial mitocondrial por célula en las células vivas se
15 obtuvo mediante la normalización de las intensidades de fluorescencia de colorante de naranja Mitotracker a las intensidades de fluorescencia de tinte Hoechst 33342 en cada pozo. Ocho muestras por cada tratamiento fueron examinados por el análisis anterior y los datos se presentan como media
20 $\pm$ eem de ocho muestras.

Similar a los estudios anteriores sobre células AML-12, el potencial mitocondrial por célula en células IMR-32 vivas se

determinó utilizando el lector de microplacas de fluorescencia Bio-Tek Synergy HT Multi-Mode con las siguientes modificaciones. Para mejorar la adhesión de células IMR-32 a placas de cultivo, las placas de cultivo de células se recubrieron previamente con 0.1% de gelatina (Sigma, St. Louis, MO). 2×10^4 células por una placa de 96 se sembraron en placas de 96 pozos gelatinizados para los estudios anteriores. Para reducir el desalojo de células, naranja Mitotracker y tintes fluorescentes Hoechst 33342 (diluidos en medio de cultivo) se agregan directamente a cada pozo después con tratamientos de vehículo o compuesto. Después de incubación de tinte, los medios de cultivo celulares se reemplazaron cuidadosamente con 1X PBS para el análisis de cuantificación de fluorescencia sobre el lector de microplacas. Ocho muestras por cada tratamiento se examinaron para análisis anterior, y los experimentos se repitieron por lo menos cinco veces. Los datos se presentan como la media $\pm$ eem de ocho muestras.

20 **Ensayo de viabilidad celular**

La viabilidad celular en células cultivadas se determinó utilizando equipos de Ensayo de Proliferación Celular de Una

Solución CellTiter96® AQueous de Promega, de acuerdo con el protocolo del fabricante. En breve, igual número de C2C12 (1×10^4 células/pozo), AML-12 (1×10^4 células/pozo) y IMR-32 (2×10^4 células/pozo) se sembraron en placas de 96 pozos claras (VWR) y se trataron con vehículo o compuestos de 24, 28 y/o 72 horas. Luego, las células cultivadas se incubaron con una solución acuosa (100 ul/por pozo) a 37°C durante 1 h, y la absorbancia de OD490 nm de cada muestra se determinó por el lector de microplacas Bio-Tek. La viabilidad celular en células de cultivo se determinó mediante la sustracción de OD490 nm en células cultivadas con la nm OD490 en medios de cultivo normal (sin siembra de las células). Ocho muestras por cada tratamiento se examinaron para el análisis anterior. Los datos se presentan como media $\pm$ eem de ocho muestras.

Aislamiento de ARN y análisis de PCR en tiempo real

Se sembraron células IMR-32 humanas en placas gelatinizadas de 6 pozos (6.5×10^5 células/pozo) o 24 pozos (1.3×10^5 células/pozo), mientras que las células 12-AML de hígado de ratón se cultivaron en placas de 6 pozos no recubiertas (3.33×10^5 células/pozo) o 24 pozos (6.7×10^4 células/pozo). Las células se trataron con vehículo (control) o varios

compuestos de 6, 24 o 48 hr. El ARN total de estas células estaba utilizando Trizol (Invitrogen) de acuerdo con el protocolo del fabricante, y después se incubó con DNasa I para eliminar cualquier ADN genómico contaminado potencial.

5 Luego, las muestras de ARN se sometieron a análisis PCR en tiempo real utilizando el equipo de RT del Applied-Bioscience y sondas Taqman prediseñadas (Invitrogen), como se describe anteriormente (Lan et al EMBO J 2003). De tres a seis muestras se analizaron en cada grupo de tratamiento. Los
10 datos se normalizaron por niveles de actina B (Actb) o gliceraldehído fosfato deshidrogenasa (Gapdh) en cada muestra, y se presentan como la media $\pm$ eem de 3-6 muestras.

Preparación de proteína y análisis de transferencia Western

15

Se sembraron células IMR-32 y AML12 en placas de 6 pozos, y luego se trataron con vehículo y diversos compuestos de 6 y 24 horas, como se describió anteriormente. Después de los tratamientos, las células se lavaron con PBS enfriado en
20 hielo, y se lisaron en el regulador RIPA enfriado en hielo que contiene inhibidores de proteinasas y fosfatasa completas (Thermo-Fisher Scientific, Waltham, MA) en hielo durante 30 min. Los lisados celulares se recogieron utilizando un

rascador de células y transferencia de pipeta, y luego se centrifuga a 12000 g durante 30 min a 4° C para eliminar el sedimento de ADN y obtener el extracto de proteína. Los niveles de proteína en el sobrenadante de estos lisados de células se determinaron utilizando el equipo de ensayo de proteínas Pierce Micro BCA (Thermo Scientific-Pierce Biotechnology, Rockford, IL) de acuerdo con el protocolo del fabricante.

10 Para el análisis de transferencia de Western, cinco microgramos de proteínas totales a partir de (s) células tratadas con vehículo y compuestos se sometieron a separación en gel SDS-PAGE, y después se transfirieron a membranas de PVDF, como se describió previamente (Reddy, Liu et al. 2008

15 Science). Las membranas se bloquearon en una solución salina regulada con fosfato (PBS) que contiene 5% (p/v) de albúmina de suero bovino (Sigma, St. Louis, MO), y se incubaron con anticuerpos primarios específicos, seguido de incubación con anticuerpos secundarios de HRP conjugado con anti- ratón o

20 anti-conejo (dilución 1: 5000, Cell Signaling Inc.). Todos los anticuerpos primarios, excepto G6PC (Santa Cruz), Actb (Li-COR, Lincoln, Nebraska), Elf2be y pElf2be (al través, Cambridge, MA) se adquirieron de Cell Signaling Inc. Las

señales positivas en las transferencias de membrana se detectaron utilizando reactivos de Detección Cebadora de transferencia Western con quimioluminiscencia mejorada (GE Healthcare Lifescience, Pittsburgh, PA). Las imágenes de estas señales de luminiscencia en las transferencias de membrana fueron capturadas utilizando el sistema de imagen LI-COR Odyssey Fc (Lincoln, Nebraska). La misma transferencia de membrana fue rayada y volver se vuelven a transferir con otro anticuerpo como se describe en el protocolo de detección de cebador GE WB ECL (GE Healthcare Lifescience, Pittsburgh, PA). Las densidades de banda de proteína en las transferencias de Western se determinaron utilizando el software de estudio Li-COR Image o software NIH ImageJ, y luego se normalizaron por nivel Actb en cada muestra. Los datos se presentan como la media $\pm$ eem de tres muestras por cada grupo.

Análisis estadístico

Si es aplicable, se realizó la prueba t de Student para determinar la diferencia estadística entre los dos grupos. El valor de p menor de 0.05 se considera significativo.

Resultados y Discusión: Función Mitocondrial

Para probar si el compuesto C o D pueden mejorar el potencial mitocondrial ("MT") en las células renales humanas en cultivo, las células HEK293T se trataron con 37.5 y 75 ppb del compuesto C o D. Estas cantidades se basan en el trabajo con el ensayo SeaHorse donde se encontró que la dosis efectiva es 100-150 ppb. El Compuesto C, así como su análogo de azufre H se incubaron con células HEK293T durante 4.5 horas (hr), y se sometieron a análisis fluorescente bajo el microscopio. Como se muestra en la Figura 1, el compuesto C en el aumento de potencial MT de dosis más baja (37.5 ppb), mientras que hubo menos efectos sobre el potencial de MT en células de riñón tratadas con una dosis mayor (75 ppb) del compuesto C durante 4.5 horas. En contraste, el compuesto D en todas las dosis ensayadas no afectó el potencial MT (Figura 1).

Nuestros resultados muestran claramente que el compuesto C mejora el potencial MT en células de riñón mientras que el compuesto D fue inefectivo. Teniendo en cuenta que el selenio está presente tanto en el compuesto C y D y que sus análogos de azufre, H y J, respectivamente, fue incapaz de estimular

la actividad mitocondrial, uno debe concluir que el efecto estimulante del compuesto C en células de riñón se debe a un efecto combinado de selenio y la estructura molecular que rodea selenio en este compuesto de organoselenio. La
5 actividad estimulante no se debe a un efecto de selenio solo.

La importancia de ser capaz de aumentar la actividad mitocondrial en células de riñón puede tener beneficios muy significativos para la salud, especialmente en sujetos
10 diabéticos. La investigación muy reciente (Sharma et al, J AM Soc Nephrol, 2013: 1901-1912) llega a la conclusión de que un análisis metanolómico de la orina de una población diabética que la enfermedad renal diabética está claramente relacionada con una disminución en la función mitocondrial. La enfermedad
15 renal diabética (DKD) es la principal causa de enfermedad renal en etapa terminal y los autores concluyeron que los métodos terapéuticos que restablecen o aumentan la función mitocondrial podrían mejorar o incluso detener DKD. De interés adicional es el hecho de que los autores vinculan la
20 disfunción mitocondrial en estos casos con una disminución en la expresión de un co-activador transcripcional llamado PGC1a. Como se discute más adelante, el PGC1a es un objetivo

de los compuestos de selenio sintéticos descritos en esta solicitud.

Potencial mitocondrial mejorado por el compuesto C y D en las
5 células C2C12 de ratón

Para probar si el compuesto C y D afectan el potencial MT en células del músculo esquelético, las células C2C12 se trataron con vehículo (agua, control) o varias
10 concentraciones de compuestos de selenio y azufre, y después se sometieron a análisis cuantitativo de los potenciales MT. Como se muestra en la Figura 2, el potencial MT se redujo en células C2C12 después del tratamiento con análogos de azufre durante 24 horas (en comparación con el control), lo que
15 indica que los compuestos de azufre muestran alguna toxicidad MT en células del músculo esquelético. Por el contrario, compuestos de selenio C y D mejoran significativamente el potencial de MT (Figura 2).

20 Dos aspectos de este resultado son particularmente sorprendentes e inesperados. En primer lugar, el compuesto D, mientras que está inactivo en células de riñón era muy eficaz para estimular la actividad mitocondrial en las células

musculares (unos dos plegables sobre los niveles de control en su dosis más efectiva). Por otra parte, en dosis más bajas (37.5 y 75 ppb, Figura 2), provó ser más potente que el compuesto C (como se muestra anteriormente) fue el único
5 compuesto probado efectivo en células de riñón.

En segundo lugar, los análogos de azufre de C y D, en lugar de sólo tener ningún efecto, en relación con células de control tratadas con vehículo, eran inhibidores para la
10 actividad mitocondrial (reduciéndola en 2/3 en algunos casos). Este efecto no se ha informado en el pasado, pero puede ayudar a explicar por qué algunos estudios que utilizan preparaciones de levadura enriquecida con selenio han reportado efectos pro-diabéticos en los sujetos que
15 recibieron estos suplementos. Mientras que el selenio reemplaza el azufre en las moléculas que normalmente contienen azufre en levadura durante el proceso de enriquecimiento de selenio, siempre habrá una preponderancia de las moléculas que contienen azufre en la preparación final
20 (el azufre es un elemento de macro y es imposible eliminar por completo cualquier proceso de crecimiento o fermentación). Por lo tanto, la presencia de ciertas moléculas que contienen azufre en la levadura enriquecida con

selenio puede, en algunos casos, inhibir la actividad mitocondrial y llevar, con el tiempo, a un estado pro-diabético. Está bien documentado en la literatura que la diabetes de inicio en el adulto se une a una disminución gradual en la actividad mitocondrial durante un período de 5 varios años. Esto es particularmente importante en el caso de que el músculo esquelético, se estima, utiliza 75-80% de glucosa ingerida diariamente. Incluso una ligera disminución en la capacidad de las mitocondrias del músculo para utilizar 10 eficazmente glucosa puede, con el tiempo, conducir a problemas graves de salud. La estimulación de dos veces la actividad mitocondrial observada en las células musculares C2C12 en respuesta al compuesto D, por ejemplo, puede representar un modo de evitar o retardar la disminución 15 mitocondrial en el tejido muscular de los sujetos prediabéticos o diabéticos.

Para investigar si el aumento observado del potencial MT por el compuesto C y D se provoca simplemente por un aumento en 20 el número de células viables, se realizó un ensayo de viabilidad celular. Se encontró que el compuesto C y D no afectó la viabilidad celular en las células C2C12 después de tratamientos con estos compuestos a las mismas dosis de 24 hr

y 48 hr (datos no mostrados). En conjunto, nuestros resultados sugieren que el compuesto C y D no tuvieron un efecto negativo sobre la supervivencia celular, pero pueden mejorar transitoriamente el potencial MT en las células
5 C2C12.

Potencial MT transitoriamente mejorado por el compuesto C, D, y E en células IMR-32

10 Para investigar si los compuestos de selenio pueden regular la función de MT en las células neuronales, células IMR32 humanas se trataron con diversos compuestos de 6, 24 y 48 h, y después se sometieron a ensayos de potenciales mitocondriales. Como se muestra en la Figura 3 (panel
15 superior), el tratamiento del compuesto D o E o una combinación de ambos durante 6 hr de potencial MT mejorado significativamente en comparación con las células de control normales (con tratamiento con vehículo de agua), mientras que también se observó una tendencia hacia una potencial MT
20 elevado en el compuesto C tratado con células IMR-32. El aumento del potencial MT también se observó en las células tratadas con el compuesto H o I y J (cuando se compara con el control, Figura 3 panel superior). Sin embargo, el potencial

MT mejorado fue más pronunciado en las células tratadas con el compuesto D o E o una combinación DE de sus respectivos análogos de azufre (Figura 3 panel superior).

5 A las 24 h después de tratamiento con compuesto, se observó un aumento significativo en el potencial de MT en todas las células tratadas con el compuesto de selenio (cuando se compara con el control). En general, el potencial MT mejorado fue más pronunciado en las células tratadas con compuesto de
10 selenio C, D, E o una combinación de CDE que sus análogos de azufre H, I, J, o una combinación de HIJ. Se debe tener en cuenta que en un caso en el momento punto de tiempo de 24 hr la combinación de I y J provocó la respuesta más alta mitocondrial. Sin embargo, en 48 h, no hubo ningún cambio
15 significativo en el potencial MT entre todos los grupos probados. En conjunto, estos resultados sugieren que el compuesto de selenio C, D, E o una combinación de estos compuestos pueden mejorar transitoriamente el potencial MT en células IMR-32, y los efectos de estos compuestos de selenio
20 son más evidentes que sus análogos de azufre.

Una vez más, existe una marcada respuesta celular específica y compuesto específico evidente en este experimento lo que

subraya la respuesta diferencial de tipos de células a estos compuestos de selenio específicos y sus combinaciones. Más aún, en lugar de ser inhibidores para la actividad mitocondrial como en el caso de las células musculares, los compuestos de azufre estimularon la actividad mitocondrial en células IMR-32 aunque en un grado menor en general que los compuestos de selenio. El efecto transitorio o temporal señalado en este caso indica que estos compuestos o sus combinaciones tendrían que administrarse repetidamente a un sujeto tratado con el fin de mantener un efecto sobre la actividad mitocondrial; en esencia, podría ser necesaria una dosificación diaria.

Potencial MT elevado por tratamientos D o E repetidos en células IMR-32 para un total de 48 horas.

Los efectos transitorios anteriormente observados del compuesto C, D y E en el potencial MT nos llevó a probar si los tratamientos repetidos pueden aumentar el potencial MT. Por lo tanto, primero se trataron las células IMR-32 con el compuesto C, D o E durante 24 horas, y luego se volvieron a tratar con el compuesto C, D o E recién preparado durante otras 24 horas. Como control negativo, se trataron células

IMR-32 sólo una vez con el compuesto C, D, o E durante 48 hr. Luego, se realizaron ensayos de potenciales MT en estas células. Como se preveía, los tratamientos individuales prolongados del compuesto C, D, o E durante 48 horas (48 horas de tratamiento continuo individual) no afectaron el potencial MT en IMR-32 (panel superior Figura 4). Sin embargo, los tratamientos repetidos del compuesto D (en ambos 15 y 150 ppb) o E (a la dosis de 150 ppb) mejora de forma significativa el potencial MT (cuando se compara con el control o los análogos de azufre I o J).

No existen efectos tóxicos del compuesto C, D, E en la supervivencia celular de células IMR-32

Para probar si existe algún efecto tóxico de los compuestos de selenio sobre la supervivencia de células IMR-32, los ensayos de viabilidad celular se realizaron en las células después del tratamiento con diversos compuestos durante 24, 48 y 72 hr. Como se muestra en la Figura 5, el tratamiento de todos los compuestos para los puntos de tiempo ensayados no provocó una disminución significativa de células viables en IMR-32. De hecho, hubo un aumento pequeño pero significativo de la viabilidad celular en las células después de los

tratamientos compuesto de selenio durante 48 y 72 horas (Figura 5 paneles medio e inferior). Estos datos sugieren que los compuestos de selenio no tienen un efecto tóxico sobre la supervivencia de células IMR-32, pero en su lugar, tuvo un
5 pequeño pero significativo efecto beneficioso sobre la supervivencia de las células neuronales. Sin embargo, cabe señalar que cualquier aumento observado en la viabilidad celular en este experimento es demasiado ligero para tener en cuenta los aumentos en el potencial MT observado en la
10 estirpe celular IMR-32 en respuesta a ciertos compuestos de selenio o sus análogos.

**Datos experimentales para demostrar la capacidad de los compuestos de selenio sintéticos seleccionados para aumentar
15 o disminuir la actividad mitocondrial sobre mitocondria aislada de cerebros de ratas.**

Un extracto soluble en agua se obtuvo a partir de levadura selenizada. El extracto soluble en agua cuenta hasta un 25%
20 del selenio total presente en la preparación. Pensamos que estas especies de selenio serían las primeras en ser liberadas/digerida de la levadura selenizada en su paso a través del tracto intestinal. Después de la identificación

del selenio que contiene compuestos en el extracto por espectroscopía de masas, se sintetizó una serie de compuestos y péptidos de selenio que contienen, por consiguiente, esta ronda de síntesis y la purificación dio lugar a un panel de
5 nueve (9) especies que contienen selenio para pruebas posteriores. Dadas las pequeñas cantidades de materiales generados de esta manera (cantidades de miligramos bajas) se consideró poco práctico llevar a cabo estudios de alimentación de animales vivos. Debido a que son los
10 principales interesados en los efectos potenciales de estas especies de selenio en la bioenergética mitocondrial, se decidió poner a prueba estas moléculas de selenio directamente a través de las mitocondrias.

15 Los rangos de concentración de selenio bajo (50 ppb), medio (500 ppb) y alto (LPPM) fueron probados inicialmente como un posible rango de los compuestos. Sobre la base de ninguna toxicidad observable contra las mitocondrias en el rango medio, se seleccionó concentración de 500 ppb (5 uM) para
20 realizar detecciones de nuestros compuestos que utilizan la bioenergética mitocondrial como medida de resultado primaria. Las mitocondrias purificadas de ficoll de cerebro de rata de adulto se incubaron con los compuestos 9 para 30 min a 37° C

antes de ser cargados en el analizador de flujo Biosciences Seahorse por triplicado. Medimos parámetros OCR (Tasas de Consumo de Oxígeno) en tres estados respiratorios que incluyen síntesis de ATP (Estado III), Complejo I dependiente (impulsado por ADH) Capacidad Respiratoria Máxima (Estado V_{FCCP}) y el Complejo II (impulsado por FADH) dependiente de Capacidad Respiratoria Máxima (Estado V_{Succ}).

Los resultados muestran que los diferentes compuestos de selenio derivados del extracto de agua tenían actividad diferencial que es capaz de aumentar el potencial mitocondrial.

Compuesto 5: Valina-Selenometionina-Arginina

15

Compuesto 6: Leucina-Valina-Selenometionina-Arginina

Compuesto 7: Leucina-Treonina-Glicina-Selenometionina-Alanina- Fenilalanina-Arginina

20

Compuesto 8: Dímero de selenoglutationa

Compuesto 9: MetilSelenoadenosina

Compuesto 10: Glutamilselenocisteína

Compuesto 25: Extracto de agua total de levadura en pH 6.0

5

Compuesto 28: Glutathiona oxidada

Compuesto 30: Glutamilcisteína

10 **Tabla 1**

**Efectos de los compuestos de selenio sobre bioenergética
mitocondrial (cerebro de rata purificada mito 5 ug/pozo)**

	ESTADO III	% de cambio	ESTADO V	% de cambio	ESTADO Vsucc 350.1	% de cambio
CTRL	432.6		182.1			
#5	445.9	3.0	187.8	3.2	292.5	-16.4
#6	477.5	10.3	220.6	21.2	376.4	7.6
#7	372.5	-14.0	147.1	-19.2	288.0	-17.7
#8	424.0	-2.1	192.3	5.7	371.0	6.0
#9	507.8	17.3	210.3	15.6	437.1	24.9
#10	352.1	-18.7	112.7	-38.1	254.4	-27.3
#25	419.0	-3.2	136.2	-25.2	309.3	-11.6
#28	451.6	4.3	149.6	-17.8	319.3	-8.8
#30	423.2	-2.3	153.8	-15.5	305.4	-12.7

15 **Tendencia Positiva**

Tendencia Positiva/Negativa

Tendencia Negativa

En particular, los compuestos 6 y 9 aumentan potencial
5 mitocondrial mientras que los compuestos 7, 10, y 25 inhiben
el potencial mitocondrial. Estos resultados muestran que los
compuestos derivados de un extracto de agua de la levadura
selenizada tienen efectos muy diferentes en el potencial
mitocondrial y nos llevaron a aislar, detectar, y sintetizar
10 los compuestos candidatos con el fin de seleccionar sólo
aquellos que provocan respuestas positivas en los procesos
biológicos.

Datos experimentales para demostrar la capacidad de los
15 **compuestos de selenio sintéticos para restaurar las**
mitocondrias estresadas a la actividad normal en mitocondria
aislada de cerebros de ratas.

El siguiente ejemplo describe un experimento realizado en el
20 analizador de flujo externo SeaHorse; un instrumento para
medir la velocidad de respiración de mitocondrias expresada
como la tasa de consumo de oxígeno, u OCR. El experimento en
cuestión utiliza mitocondrias de la corteza cerebral de ratas

normales, mantenidas en pienso normal de laboratorio que no se había fortificado con ninguna fuente de selenio adicional.

La Figura 6 muestra el diagrama de respiración de mitocondrias normal (línea superior) con el OCR final siendo la distancia medida entre el extremo de la línea del gráfico y el eje X.

Una muestra idéntica de la misma preparación mitocondrial fue tratada exactamente de la misma manera que la muestra de control, excepto que el calcio (concentración final de 10 micromolar) se agregó a la tensión o daño de la mitocondria al despolarizarla. Como se muestra (línea inferior) el OCR se redujo desde un valor de 1.677 a 1.066 pmoles/min de O_2 .

Una vez más, las muestras idénticas de las mitocondrias de la corteza de cerebro de rata se incubaron como anteriormente, excepto que contenían calcio (10 μM) y 150 ppb de compuestos D y E, respectivamente. C no ha sido probado. Es evidente que el OCR de las mitocondrias, estresadas con calcio tratadas con el compuesto se restauraron a niveles de control cercanos, es decir, 1.564 pmoles/min de O_2 en el caso del compuesto D y 1.531 pMoles/min de O_2 en el caso del compuesto E.

Con base en este resultado y aquellos de los experimentos repetidos que utilizan mitocondrias de cerebro de rata, llegamos a la conclusión de que los compuestos de selenio sintéticos no solo tienen la capacidad de aumentar la actividad mitocondrial de las mitocondrias normales (ver ejemplos utilizando células no estresadas de varios tipos), sino también puede restaurar la capacidad respiratoria de las mitocondrias estresadas o dañadas.

10

Potencial MT reforzado por la combinación de C, D, y E, pero no por los compuestos individuales en células AML-12 de hígado de ratón

15 Para investigar si los compuestos de selenio pueden regular la función MT en las células de hígado, células AML-12 de ratón se trataron con diversos compuestos para 6 y 24 h, y después se sometieron a ensayos de potenciales mitocondriales. Como se muestra en la Figura 7, los
20 tratamientos por separado con compuestos C, D, o E a 150 ppb o sus respectivos análogos de azufre a la misma concentración no afectó significativamente el potencial MT al compararlo con células control normales (con tratamiento con vehículo de

agua). Sin embargo, la combinación de C, D y E produjo un aumento muy significativo del potencial MT en comparación con ambos grupos con vehículo o tratadas con HIJ (Figura 7). Por lo tanto, en las células de hígado, se requiere una
5 combinación específica de compuestos C, D y E para provocar un aumento en el potencial MT mientras que los compuestos individuales y sus análogos de azufre no tienen ningún efecto. Este efecto es totalmente diferente al observado en las células neuronales y nunca se ha documentado antes en la
10 bibliografía.

La expresión UCP2 se regula por descenso mediante la combinación del compuesto C, D y E en células de AML-12

15 Una familia de genes candidato que tienen la capacidad de aumentar o disminuir la actividad mitocondrial son los llamados Genes de Proteína Desacoplados o UCPs. El potencial MT elevado observado en respuesta al tratamiento con la combinación CDE nos llevó a probar si existe una regulación
20 diferencial de estos genes en células AML-12 tratadas con vehículo, HIJ y CDE. En las células AML-12 normales, los niveles de expresión de mRNA Ucp2 fueron cuatrocientos dieciséis veces mayores que Ucp1, mientras que el mRNA de

Ucp3 no fue detectado en tiempo real por RT-PCR (Figura 8A, los datos Ucp3 no mostrados). El tratamiento de células AML-12 con compuestos de CDE no afectan la expresión Ucp1 (Figura 8B). Sin embargo, hubo una disminución significativa de la expresión de mRNA de Ucp2 en células AML-12 después del tratamiento con CDE pero no HIJ (Figura 8C). Como Ucp2 puede inhibir el potencial MT, la expresión de Ucp2 reducida puede ser por lo menos una causa parcial del potencial MT mejorado provocado por compuestos CDE en células AML-12. Dado que los pacientes obesos generalmente tienen altos niveles de Ucp2 en el hígado, reducción de la expresión de Ucp2 por CDE indica que los compuestos de CDE pueden ser beneficiosos para el tratamiento de la obesidad.

15 No se observaron efectos tóxicos de los compuestos CDE sobre la supervivencia de las células AML-12

Para probar si existe algún efecto tóxico de compuestos de selenio sobre la supervivencia de células AML-12, los ensayos de viabilidad celular se realizaron en las células después del tratamiento con diversos compuestos durante 48 hr. Se encontró que la ausencia de tratamiento (ambos compuestos individuales y sus combinaciones) provocó una disminución

significativa de la viabilidad celular en células AML-12 (Figura 9), que confirma que los compuestos de selenio no tuvieron el efecto tóxico sobre la supervivencia de las células de AML-12.

5

Regulación por disminución de UCP2/3 mediante la combinación de compuestos C, D y E en células de IMR-32

Como se mencionó anteriormente, los UCP como Ucp1, 2 y 3 son
10 los genes críticos para la regulación del potencial MT. El potencial MT elevado observado en células IMR-32 en respuesta a CDE (Figura 3 dos paneles superiores) nos llevó a probar si existe la expresión diferencial de estos tres genes en respuesta al tratamiento de combinación. Se encontró que wl
15 mRNA de Ucp1 fue indetectable en células IMR-32 normales por análisis de RT-PCR en tiempo real (datos no mostrados). El tratamiento de células IMR-32 con compuestos CDE pero no HIJ durante 6 horas provocó una disminución significativa para expresión de Ucp2 y Ucp3 (Figura 10A-B). A las 24 h. de
20 tratamiento, la expresión de Ucp2 se redujo significativamente en ambos grupos tratados con CDE y HIJ (Figura 10A), mientras que también se observó una disminución significativa de la expresión Ucp3 en células IMR-32 tratadas

con CDE (Figura 10B). Estos resultados sugieren que la regulación por disminución de Ucp2/3 puede ser por lo menos una de las razones para el potencial MT mejorado observado en células IMR-32 en respuesta a compuestos de CDE.

5

Discusión

Por lo tanto, hemos presentado pruebas de que tres compuestos de organoselenio sintéticos tienen la capacidad, ya sea
10 individualmente o en varias combinaciones, para aumentar significativamente la actividad mitocondrial en diversos tipos de células; a saber, células de riñón, células de músculo esquelético, células neuronales y células de hígado. Mecánicamente, observamos que la modulación de UCP puede
15 ofrecer una explicación para este aumento y presentar la evidencia por debajo de la expresión de otras proteínas, esenciales para función mitocondrial y biogénesis, también pueden ser afectados favorablemente por estos compuestos. Independientemente del mecanismo de acción, sin embargo, el
20 hecho de que estos compuestos pueden estimular la actividad mitocondrial en un tejido cruzado significa que pueden ser particularmente valiosos en la mejora de la aparición y

progreso de enfermedades aparentemente diversas; por ejemplo, enfermedad de Alzheimer (AD) y Diabetes Tipo 2 (T2DM).

En el caso de enfermedad de Alzheimer, se ha producido un
5 rápido crecimiento en la literatura que soporta la idea de que la AD se origina de alteración de importación de glucosa, metabolismo de energía defectuoso, disfunción mitocondrial, estrés oxidativo crónico y daño del ADN en el cerebro (revisado por de la Monte and Wands, 2008). Por ejemplo,
10 muchos estudios han concluido que la deficiencia de insulina y resistencia a la insulina pueden mediar muchos de los efectos observados en la degeneración de AD. Adicionalmente, se ha encontrado que el T2DM provoca la resistencia a la insulina del cerebro, estrés oxidativo y deterioro cognitivo.
15 Extensas alteraciones en mecanismos de señalización de insulina de cerebro y Factor de Crecimiento similar a Insulina (IGF) para tener en cuenta un número de los efectos moleculares, bioquímicos e histopatológicos observados en AD.

20 Una estadística conocida, publicada por la Asociación Americana de Alzheimer, afirma que alrededor del 80% de los pacientes con AD también sufren de T2DM. Estas y otras razones, han llevado a muchos investigadores utilizando el

término "Diabetes Tipo-3 " para reflejar el hecho de que la AD es una forma de diabetes que implica selectivamente el cerebro y tiene características moleculares y bioquímicas que se superponen con tanto diabetes Tipo 1 y Tipo 2.

5

El vínculo entre la AD y la diabetes tipo 2 es cada vez más sólida en la literatura científica, pero ¿cuál es la relación entre estas enfermedades y la disfunción mitocondrial?. Es que la T2DM, que combina los defectos en la secreción de insulina por el páncreas y la resistencia a insulina en los tejidos periféricos, más notablemente el hígado y el músculo esquelético, es provocada por una pérdida modesta y gradual de la función respiratoria mitocondrial durante un período prolongado (Lowell y Shulman, 2005). Cualquier agente, por lo tanto, que puede aumentar la función mitocondrial en diversos tejidos puede ser extremadamente valioso como una intervención para condiciones que rastrean sus orígenes a la declinación mitocondrial.

20 **Resultados y Discusión de la patogénesis de enfermedad de Alzheimer**

Regulación por disminución de PSEN por la combinación de compuestos C, D y E en células IMR-32

Se ha reportado que las células IMR-32 son un sistema de modelo in vitro apropiado para el estudio de la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer (AD). (Eill et al, J. Neuroscience Res 1994 39:. 482). Una de las principales características patológicas de la AD son las placas amiloides que se producen entre las neuronas y que contribuyen a la atrofia cerebral y la muerte celular. Los mecanismos implicados en la producción de placas amiloides son complicados pero principalmente se basan en la acción de una enzima llamada beta-secretasa (BACE), que actúa en concierto con un complejo multi-enzima llamada gamma-secretasa. En conjunto, en AD, estas enzimas actúan para procesar de manera aberrante una proteína del cerebro llamada proteína precursora amiloide (APP). El producto resultante es un péptido beta amiloide anormal que se agrupa para formar placas.

Como se indicó, la enzima gamma secretasaes en realidad un complejo multimérico compuesto por cuatro miembros conocidos: presenilina-1 (PSEN1 o PSEN), Nicastrin, APH-1 (Defecto de Faringe Anterior 1) y PEN2 (Mejorador de Presenilina 2). El otro par{alogo de PSEN es Presenilina 2 o PSEN2. Mientras que

los cuatro componentes son importantes para el correcto funcionamiento de la gamma-secretasa, dos componentes, en particular, se han convertido en el foco de los fármacos terapéuticos. Estos son Presenilina 1 y Nicastrin. Esto se
5 debe a que la presenilina 1 es el componente catalítico real de la gamma-secretasa - el componente que divide físicamente la proteína precursora amiloide. Además, el gen de la presenilina 1 es el gen más frecuentemente mutado en la AD familiar. En relación con PSEN2, PSEN1 es mucho más abundante
10 y está funcionalmente mejor definida. Nicastrin es de interés, no porque sea catalítica sino porque se une y orienta al APP para que la presenilina pueda dividir la misma. PSEN 1 y Nicastrin son, por lo tanto, los objetivos de mayor interés para las intervenciones centradas AD-gamma-
15 secretasa.

También cabe que señalar que la AD es considerada por varios grupos de investigación por tener sus orígenes en una disminución gradual de la función mitocondrial, cuando una
20 persona envejece. En este sentido, es también de interés observar que uno de los primeros cambios fisiológicos medibles en el proceso de la enfermedad AD es una absorción defectuosa y utilización de la glucosa por las células del

cerebro; claramente, estos dos fenómenos pueden estar unidos. De acuerdo con lo anterior, hemos examinado la expresión de los genes que codifican las PSENs en células IMR32 tratadas con una combinación de compuestos C, D, y E (CDE), junto con
5 una combinación de sus análogos de azufre (HIJ).

Hemos encontrado que la expresión de PSEN fue casi ocho veces más alta que PSEN2 en células IMR32 normales (Figura 10C). Más importante, la expresión PSEN1 fue significativamente
10 menor en las células tratadas con CDE en comparación con grupo de control o HIJ (Figura 10D). Por el contrario, no hubo ningún cambio evidente en la expresión PSEN2 entre grupos de control, HIJ y CDE (Figura 10E). Estos resultados sugieren que los compuestos de selenio pueden selectivamente
15 regular por disminución la expresión de PSEN pero no la expresión PSEN2 en las células IMR-32 y no puede existir una sustancia de plomo entre los compuestos de CDE en contra de la formación de la placa amiloide.

20 **Compuesto C, un compuesto de plomo para prevenir la división de APP para la formación de placas en AD mediante la orientación de los genes del complejo de gamma-secretasa y PSEN nicastrin en células IMR-32**

Como se mostró anteriormente (Figura 10D), las mezclas del compuesto CDE inhibieron la expresión PSEN, lo que indica que existe una ventaja biológica entre estos tres compuestos
5 frente a los componentes de la gamma-secretasa para la producción de péptido beta amiloide. Ese estudio se limitó a expresión de PSEN pero, debido a que la gamma secretasa es un complejo multienzimático, otra proteína componente importante, Nicastrin, se incluyó en este ejemplo particular.
10 Con el fin de identificar el compuesto de plomo, las células IMR-32 fueron tratadas con los compuestos individuales y se sometieron a análisis de transferencia Western y RT-PCR.

Como se muestra en la Figura 11 A, la PSEN y Nicastrin, pero
15 no PEN2 y proteínas BACE beta-secretasa se atenuaron en células IMR-32 después de 24 h de tratamiento por el compuesto C. El análisis cuantitativo mostró que hubo una reducción significativa tanto de niveles PSEN y Nicastrin de proteína solo por C, mientras que los compuestos D y E
20 también provocaron una tendencia hacia la reducción de la expresión de proteínas Nicastrin (Figura 11B-C). En consonancia con la expresión PSEN atenuada, la expresión de ARNm PSEN se redujo significativamente por el compuesto C no

sólo a las 6 h, sino también a las 24 horas. del tratamiento (Figura 11 D-E). Del mismo modo, el el tratamiento con compuesto C también provocó una tendencia hacia la reducción de la expresión de ARNm de Nicastrin en células IMR-32 después de 6 horas de tratamiento, (Figura 11F), y, más importante, una disminución significativa en la expresión de mRNA de Nicastrin en células IMR-32 después de 24 h de tratamiento (Figura 11G). En contraste, los tratamientos con compuestos D y E no inhibieron, pero en cambio estimularon la expresión de mRNA de PSEN y Nicastrin en células IMR-32 (Figura 11E y 11G).

En conjunto, nuestros datos sugieren que el compuesto C puede inhibir tanto expresión sw PSEN y Nicastrin tanto en los niveles de proteína y mRNA. Estos resultados sugieren que el compuesto C es un compuesto anti-AD de los tres candidatos y lo consigue mediante la focalización de componentes complejos de gamma-secretasa, más específicamente PSEN y Nicastrin, que se sabe son responsables de la formación de placa en la AD.

Compuesto C, un regulador por disminución de GSK3b específico a célula contra la hiperfosforilación de la proteína tau en células IMR-32

La segunda patología principal, además de placas amiloides, en la AD se denomina ovillos neurofibrilares, NFT o ovillos para abreviar. Se ha caracterizado bien que la formación de ovillos en AD es cprovocada por la hiperfosforilación de una proteína llamada tau y que esta fosforilación es causada por las enzimas quinasa tales como DYRK1A (especificidad dual de la tirosina-fosforilación-quinasa regulada 1A) y principalmente GSK3b (glucógeno sintasa quinasa 3 beta). Para explorar si los compuestos de selenio C, D o E pueden potencialmente contribuir a la formación reducida de ovillos en AD, primero SE investigó el estado de fosforilación de dos biomarcadores AD, ptau S396 y pTauS400/T403/S404, así como la concentración total de la proteína tau en células IMR32. La fosforilación de Tau en los SITIOS indicados se ha asociado con la desestabilización de la proteína Tau y la eventual formación de ovillos. Para este propósito, las células se trataron con el compuesto C, D, y E durante 6 y 24 h, y después se sometieron a análisis de transferencia Western.

Como se muestra en la Figura 12 A, los niveles de proteína de todas las especies de proteínas tau probados no se vieron afectados en 6 h de tratamiento. Sin embargo después de 24

horas de tratamiento, los niveles de proteína de pTauS396, pTauS400/T403/S404 y/o Tau total en células IMR-32 fueron significativamente regulados por disminución por el compuesto C y/o E. El análisis cuantitativo mostró que el compuesto C
5 no afectó el nivel total de proteína Tau, pero inhibió significativamente la fosforilación de Tau en S400/T403/S404 pero no a S396 (Figura 12B-C). El compuesto D no tuvo efecto sobre fosforilación Tau en todos los residuos de serina /treonina, o en el nivel total de proteína Tau, mientras que
10 la fosforilación de Tau en S396 y S400/T403/S404, y la proteína total Tau fueron significativamente regulados por disminución por el compuesto E (Figura 12B-C).

El análisis de la relación entre el pTauS396 total y
15 pTauS400/T403/S404 a proteínas Tau totales mostró que sólo el compuesto C, pero no D o E, atenuó significativamente la fosforilación total de la proteína tau en IMR-32, a pesar de que hubo una tendencia a la reducción de fosforilación Tau en todos los residuos de serina/ treonina probados por el
20 compuesto E (Figura 12E).

En conjunto, nuestros datos muestran que el compuesto C puede inhibir marcadamente la fosforilación de tau, pero no afecta

la proteína tau total en células IMR32, mientras que el compuesto D no tuvo ningún efecto en el proceso. El compuesto E también puede cumplir una función en la regulación de la fosforilación tau, pero el efecto de este compuesto es
5 probablemente a través de la baja regulación de la proteína tau total en células IMR-32. Teniendo en cuenta que la hiperfosforilación de Tau es una de las causas de la formación de ovillos en el AD, nuestros datos sugieren que C inhibe la hiperfosforilación de Tau lo que contribuye a la
10 formación de ovillos en AD.

Para investigar si la regulación por disminución de la fosforilación de tau por el compuesto C se debe a GSK3 y DYRK1A (dos quinasas clave para la fosforilación de tau en
15 AD), se realizó un análisis de transferencia de Western para examinar sus niveles de proteína. Como se muestra en la Figura 12A, la fosforilación de proteínas GSK3b, y Gsk3a DYRK1A totales no se vio afectada por cualquiera de los tres compuestos en células IMR-32. Sin embargo, los niveles de
20 proteína GSK3b se redujeron visiblemente en células IMR-32 después del tratamiento con el compuesto C, pero no D o E, de 24 hr, pero no 6 hr (Figura 12A). El análisis cuantitativo mostró que hubo una disminución estadísticamente

significativa de los niveles de proteína GSK3b en el Compuesto C, pero no D o E, en células IMR-32 tratadas (en comparación con las células de control) (Figura 12F).

5 Para confirmar aún más que la expresión de GSK3b se inhibe por el compuesto C, se realizó RT-PCR cuantitativo para examinar su nivel de mRNA. Como se muestra en la Figura 12G, los niveles de mRNA de GSK3b se redujeron significativamente en células IMR32 después del tratamiento con el compuesto C
10 durante 6 horas. Una tendencia de disminución de la expresión de mRNA de GSK3b también se observó en células IMR-32 después de ser tratadas con el compuesto C durante 24 horas (Figura 12H). Por el contrario, los tratamientos con compuestos D y E durante 6 hr no inhibieron significativamente la expresión de
15 mRNA de GSK3b en células IMR-32 (Figura 12G). En cambio, hubo un aumento significativo de la expresión de mRNA de GSK3b en células IMR-32 después de ser tratadas con el compuesto D o E durante 24 hr (Figura 12H). En conjunto, estos datos sugieren que el compuesto C puede inhibir la expresión GSK3b tanto a
20 nivel de ARNm y de la proteína y que la regulación por disminución de GSK3b por el Compuesto C es probable que sea la causa de la reducción de la fosforilación de tau indicada anteriormente.

Para investigar si el efecto inhibidor del compuesto sobre la expresión de C-GSK3b es específico de célula neuronal, examinamos sus niveles de proteína en células de hígado de
5 ratón. Los extractos de proteína se prepararon a partir de células de hígado en el mismo tiempo y las mismas condiciones experimentales que las células IMR-32 anteriores. Se encontró que los niveles de proteína GSK3b no se vieron afectados por el compuesto C en las células del hígado (Figura 16). Por lo
10 tanto, la regulación por disminución de la expresión GSK3b es específica de células neuronales. La falta de una respuesta GSK3b al compuesto C en las células del hígado podría ser de valor significativo desde el punto de vista terapéutico. Esto significa que el compuesto C se podría utilizar como agente
15 terapéutico en el tejido neuronal, sin correr el riesgo de provocar graves perturbaciones al metabolismo de los carbohidratos en el hígado.

En conjunto, nuestros resultados sugieren que el Compuesto C
20 es un regulador por disminución GSK3b específico a células neuronales y puede inhibir la fosforilación de Tau en las células neuronales, lo que será beneficioso contra la formación de ovillos en AD. Estos datos proporcionan más

evidencia in vitro de que el compuesto C puede ser un producto terapéutico valioso en el campo de AD.

Regulación por disminución específica neuronal de la fosforilación FOXO y la regulación por aumento de la proteína PGC1a por CDE en células IMR32

Teniendo en cuenta los efectos observados de los compuestos de CDE sobre la actividad mitocondrial en células IMR-32, hemos querido examinar si estos compuestos pueden regular los factores principales responsables del crecimiento celular y el metabolismo, la función mitocondrial y la energética. Las proteínas FOXO (Forkhead box) son una familia de factores de transcripción nucleares, que tiene diversas funciones en la proliferación, diferenciación y longevidad celular. Controlan parcialmente funciones clave en la célula, tales como la gluconeogénesis (producción de glucosa a partir de sustratos no carbohidratos). Su entrada en el núcleo celular es controlada por la fosforilación; la FOXO fosforilada se excluye del núcleo mientras que puede entrar la FOXO desfosforilada.

El PGC1 α (coactivador 1-alfa del receptor gamma activado por proliferador de peroxisoma) es un potente activador de la transcripción que regula genes implicados en el metabolismo de la energía y es también el principal regulador de la biogénesis y crecimiento mitocondrial. Se proporciona un enlace directo entre los estímulos externos (como el ejercicio) y la regulación de la biogénesis mitocondrial. Se lleva a cabo sus diversas funciones de trabajo en equipo con diferentes factores de transcripción de genes co-activos. En el contexto de la actividad mitocondrial específica neuronal y la progresión de AD, es de interés señalar que la expresión PGC1 α reduce la enfermedad de Alzheimer en el cerebro como la función de la demencia (Qin et al, 2009. Arco Neurol; 66: 352-361).

15

De acuerdo con lo anterior, estábamos interesados en estudiar si alguno de los compuestos CDE podría influir en la expresión de estos factores de señalización potentes. Como se muestra en la Figura 13, la fosforilación de Foxo4 y Foxo3 se regula por disminución en células IMR-32 después del tratamiento de CDE tanto durante 6 y 24 horas, mientras que la proteína PGC1 α se incrementó en células IMR-32 después 24 hr de tratamiento. Había poco o ningún efecto sobre la

expresión de la proteína de otras moléculas de señalización probadas. La proteína PGC1a mejorada puede promover la biogénesis MT que puede ofrecer otra explicación de por qué el potencial MT se ve reforzado por la combinación de CDE en
5 células IMR-32 (Figura 3, parte superior y paneles centrales). Es bien caracterizado que la desfosforilación de FOXOS, como Foxo 4 a T28 y S 193, conduce a la localización nuclear de proteínas FOXO. Este resultado sugiere firmemente que la combinación de compuestos CDE probablemente mejorará
10 la acción FOXO nuclear. Juntos, nuestros datos sugieren que el CDE contiene uno o más activadores Foxo y el regulador (s) PGC1a positivo en células neuronales.

Este resultado puede ser muy importante desde una perspectiva
15 terapéutica en las células neuronales, tales como el cerebro. Está bien establecido que la co-localización de ciertas proteínas FOXO y PGC1a en el núcleo puede conducir a una potente activación de la gluconeogénesis (producción de glucosa). Mientras que dicha situación sería indeseable en,
20 por ejemplo, el hígado de un sujeto diabético, que podría considerarse como extremadamente favorable en la situación de un sujeto en etapa AD temprana - donde se altera la importación de glucosa en la neurona y, en consecuencia, el

cerebro celular es privado de su principal fuente de combustible. Una capacidad mejorada para producir glucosa a partir de los esqueletos de carbono de otras moléculas sería muy beneficioso, en dichas circunstancias.

5

Para probar si la activación observada de FOXO y PGC1a (arriba) es específica de células neuronales, también examinamos sus niveles de proteína en células AML-12 de hígado de ratón. Los extractos de proteína se prepararon de células de hígado al mismo tiempo y las mismas condiciones experimentales como las células IMR-32. Sin embargo, los efectos observados en las células del hígado (Figura 15) descritos en una sección posterior fueron bastante opuestos a los obtenidos para las células IMR-32 y ciertamente sugieren que la desfosforilación de FOXO y la regulación por aumento de PGC1a por el CDE no es un fenómeno en todo el tejido y puede estar restringido a las células neuronales.

10

15

Compuesto C, activadores FOXO específicos neuronales y un regulador por aumento PGC1a

20

Como se describió anteriormente, los Compuestos CDE provocaron la desfosforilación de FOXOs y estimularon la

expresión de pFOXO4 de proteína (Figura 13). Para identificar qué compuesto en la mezcla CDE tiene estos efectos, se analizó la expresión de las proteínas mencionadas anteriormente en C, D y E en células IMR32 tratadas. Como se muestra en la Figura 14A, los niveles de pFOXO4 se redujeron drásticamente en células IMR32 después de 6 hr de tratamiento de los tres compuestos. Después de 24 h de tratamiento, también se observó disminución de los niveles pFOXO4 T28 en C y E, pero no en D, en células IMR-32 tratadas. El análisis cuantitativo mostró que la disminución de los niveles de pFOXO4 en células IMR-32 por C, D, y E en 6 h de tratamiento, y por C y E en 24 hr tratamiento fue estadísticamente significativa (Figura 14B-C).

Es importante tener en cuenta que ni la combinación CDE ni los tratamiento C, D o E individuales provocaron ningún cambio en los niveles totales de FOXO (Figura 13 y 14), sino que simplemente cambiaron el control de la acción FOXO al desfosforilarla. La fosforilación FOXO reducida era poco probable debido a la regulación por disminución de la fosforilación de AKT, como los niveles de proteína pAKT no se redujeron visiblemente en células tratadas con C, D o E (Figura 14A.). Además, el nivel de proteína pElf2beS539

tampoco fue afectado por C, D o E, lo que indica que estos compuestos probablemente no afectaron a la traducción de proteínas en las células neuronales (Figura 14A). Por el contrario, los niveles de proteína PGC1a fueron marcadamente elevados después de un tratamiento de 24 horas de los tres compuestos (Figura 14A, 14D), lo que puede explicar por qué el potencial MT se reguló por estos compuestos en células IMR-32 (Figura 3 paneles superior y medio). En conjunto, nuestros datos sugieren que el compuesto C y E son activadores de FOXO y reguladores por aumento de PGC1a, mientras que el compuesto D es un regulador por aumento de PGC1a y se han mezclado los efectos en la regulación de la fosforilación FOXO.

15 **Discusión**

Cuando se ve en su totalidad, los resultados en células neuronales son con el compuesto C como el agente preferido para la obtención de efectos beneficiosos en estas células.

20 Si bien los resultados descritos directamente con anterioridad muestran que los tres compuestos son capaces de provocar la desfosforilación de FOXO y la regulación por aumento de PGC1a - efectos muy deseables desde un punto de

vista energético en las células neuronales, es preciso recordar que el compuesto C es el único candidato que provoca estos efectos en FOXO/PGCL y, al mismo tiempo, reduce significativamente los niveles de PSEN y nicastrin (Figura 1 1). Además, es el compuesto que ha demostrado una respuesta favorable en términos de reducción de los niveles de fosfo-
tau y los niveles de GSK3b en células IMR-32 (Figura 12).

Como tal, el Compuesto C parece ser el compuesto de elección para la obtención de una tríada de efectos beneficiosos en las células neuronales, de la siguiente manera; 1) un efecto beneficioso sobre la actividad y función mitocondrial, mediante la estimulación del potencial mitocondrial en general, el aumento de los niveles de PGC1 y la disminución de la fosforilación FOXO - permitiendo así el acceso nuclear, 2) un efecto implícito en la reducción de acumulación amiloide mediante reducción de la expresión de PSEN1 y Nicastrin y, 3) un efecto implícito de la formación de ovillos Tau reducido mediante la reducción de los niveles de tau fosforilada y la enzima (GSK3b), que se considera es responsable de la fosforilación de tau.

Una vez más, para poner a prueba la especificidad celular de estos efectos, se probaron extractos de proteínas de una combinación de células AML-12 de hígado tratadas con CDE con los mismos anticuerpos para detectar diferencias en la fosforilación FOXO y los niveles de PGC1a. Como se muestra en la Figura 15 y 16, y se discute en más detalle en una sección posterior, los efectos observados con los tres compuestos respectivos confirmaron que no se observaron efectos en células IMR-32, en el hígado. De hecho, se podría decir que se observaron efectos directamente opuestos; a saber, el aumento de la fosforilación FOXO (exclusión nuclear), cambios en los niveles PGC1a y ningún cambio en los niveles de GSK3b. Como quedará claro, sin embargo, estos son del tipo de efectos que uno desearía ver que suceda en el hígado, especialmente en el caso de un sujeto diabético donde se necesita controlar la producción de glucosa hepática. Lo más importante, se encontró que, a diferencia de las células completamente neuronales, las células AML-12 de hígado no responden al tratamiento con los compuestos individuales y, en cambio, solamente respondieron a la mezcla C, D, E. Una vez más, esto apunta a especificidades celulares muy definidas y respuestas celulares no anticipados en relación con el modo de acción de estos compuestos.

Resultados y Discusión: Células del hígado

**Células específicas a hígado y regulación por aumento
5 independiente de de PDK1/ AKT de la fosforilación FOXO por el
Compuesto CDE en combinación, pero no por compuestos
individuales o sus análogos de azufre**

Como fue el caso con las neuronales IMR-32, las observaciones
10 de que los compuestos de selenio (combinación CDE, en este
caso) mejoran la actividad MT y modulan la expresión de un
gen clave controlado en la energética celular (UCP2) impulsó
a buscar los efectos, que esta combinación de compuestos de
selenio podría tener sobre otros genes críticos implicados en
15 el metabolismo de la energía del hígado, la señalización de
insulina y la proliferación celular. En consecuencia, se
realizaron análisis de transferencia Western sobre células
AML-12 tratadas con CDE.

20 Como se describió previamente, las FOXO son moléculas de
señalización importantes para la gluconeogénesis y
sensibilidad a la insulina en el hígado. Se recordará que la
funcionalidad de las proteínas FOXO se rige por su estado de

fosforilación. La fosforilación de FOXO las excluye del núcleo, por lo tanto, esencialmente las inactiva. La desfosforilación permite la entrada de proteínas FOXO en el núcleo en el que pueden participar en la regulación transcripcional de varios genes clave relacionados con el metabolismo energético. Como se muestra en la Figura 15A, se encontró que las formas fosforiladas de FOXO3 y 4 (niveles de proteína pFOXO3 y pFOXO4) son significativamente elevadas en células AML-12 después del tratamiento de CDE, pero no HIJ, durante 6 hr. El análisis cuantitativo mostró que había un aumento de aproximadamente 2.5 veces más de pFoxo3 y alrededor de un aumento de 3.2 veces de pFoxo4 en células AML-12 tratadas con CDE (Figura 15B-C). Como la fosforilación de FOXOs provoca la exclusión nuclear para inactivar FOXO en el núcleo, nuestros resultados sugieren que el CDE funcionará como inactivador FOXO en las células del hígado. Como no se observó aumento de la fosforilación FOXO en células neuronales IMR-32 tratadas con CDE en los análisis que se realizaron al mismo tiempo y en las mismas condiciones experimentales (véase Figura 13 anterior), se puede concluir que la inactivación de FOXO por el CDE es específico a células de hígado.

En conjunto, nuestros resultados sugieren que la combinación de CDE funcionará como nuevos inactivadores FOXO específicos de células del hígado. De hecho, en las células neuronales IMR-32, una activación altamente significativa y marcada
5 (defosforilación) de proteínas FOXO se produjo en respuesta a uno o la combinación de compuestos de selenio C, D y E. Por lo tanto, lo que tenemos en el caso de estos compuestos particulares es la capacidad de activar selectivamente proteínas FOXO en las células neuronales e inactivarlas en
10 las células de hígado. La importancia global y novedad de este hallazgo se hace evidente cuando se tiene en cuenta en el contexto del manejo de glucosa en diabetes tipo 2 y enfermedad de Alzheimer.

15 Como un breve antecedente, en su estado activado o no fosforilado el FOXO reside en el núcleo donde se une a la región promotora para la glucosa 6-fosfatasa y, junto con otros factores tales como PGC-1 α , aumenta la transcripción de la glucosa-6-fosfatasa, de ese modo aumenta la tasa de
20 producción de glucosa. La glucosa 6-fosfatasa cataliza la última etapa en la gluconeogénesis y glucogenolisis provocando la liberación de glucosa del hígado. Es, por lo tanto, de importancia crítica en el control de la homeostasis

de la glucosa, en particular en sujetos diabéticos. Normalmente, el proceso de la fosforilación FOXO se controla directamente por otra enzima quinasa llamada AKT (proteína quinasa B). La AKT fosforila FOXO y lo conduce desde el

5 núcleo, lo que disminuye la producción de glucosa a través de una disminución de la tasa de transcripción de la glucosa 6-fosfatasa. El AKT en sí mismo está bajo control en dirección

5' por una reacción en la cascada mini molecular, que se inicia con la unión de insulina a su receptor en la

10 superficie celular. Esto inicia una serie de acontecimientos que implican otras dos enzimas quinasa, fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3K) y la proteína quinasa dependiente de fosfoinositida-1 (PDK1). La ruta general es conocida como la ruta de insulina/ PI3K/PDK1/AKT y tiene el trabajo controlar

15 la homeostasis de glucosa a través de la señalización de insulina. En el contexto del control de FOXO, la PDK1 fosforila y activa la Akt, que, a su vez, fosforila e inactiva FOXO.

20 Debido a que la ruta PI3K/PDK1/AKT es la principal ruta de señalización en dirección 5' de FOXO para el control mediado por insulina de la producción de glucosa en el hígado, nos preguntamos si la fosforilación de FOXO mejorada por CDE se

debe a la activación de la ruta de señalización PI3K/Pdk/AKT en células de hígado. Para probar esto, se examinaron los niveles de proteína de pPDK1, pAKT T308 y S473 y AKT totales en las células del hígado tratadas por CDE.

5 Sorprendentemente, el CDE no afectó a la fosforilación de PDK1, AKT, o los niveles de AKT total (Figura 15 A). También se examinaron los niveles de otras dos moléculas de señalización por disminución pGsk3a y pGSK3b que son controladas directamente por AKT, y no se observó ningún
10 cambio en sus niveles de proteína (Figura 15A), lo que concuerda con algún cambio de pAKT en células tratadas por el CDE. Los niveles de p4Ebp (un objetivo molecular en dirección 3' de AKT/mTOR) y pElf2b e S539 (un objetivo molecular en dirección 3' de GSK3) que son clave para la síntesis de
15 proteínas de insulina impulsada o traducción tampoco se vieron afectados (Figura 15A). Esto proporciona evidencia molecular adicional directa que CDE no tenía un efecto tóxico en las células del hígado que afecta a la proliferación/supervivencia como se ha descrito
20 anteriormente.

Como se describe en el contexto de las células neuronales IMR-32, el PGC1a es un gen crítico para biogénesis y

metabolismo MT de los carbohidratos. En las células del hígado, sino que también actúa en concierto con FOXO para conducir la transcripción de genes implicados en la gluconeogénesis, pero no puede hacer esto en ausencia nuclear de FOXO. Se examinó la expresión de proteínas PGC1 α , y no se observó un cambio significativo del nivel de proteína PGC en las células del hígado después de combinación de tratamiento CDE por análisis cuantitativo (Figura 15A y D). Sin embargo, debido al robusto efecto observado sobre la fosforilación FOXO en respuesta a CDE, es casi seguro que estaría excluido del núcleo y, por lo tanto, el nivel de PGC1 α se convierte de baja importancia, ya que requiere FOXO para iniciar el proceso de gluconeogénesis. En conjunto, estos resultados sugieren que el CDE no afectó la señalización de PI3K/PDK1/AKT y varias otras moléculas de señalización en dirección 3' AKT directas o indirectas, excepto los FOXOs descritos anteriormente pero críticos. En otras palabras, el CDE puede inactivar selectivamente los FOXOs y esta acción parece ser independiente de la señalización PI3K/PDK1/AKT en células del hígado.

En esencia, por lo tanto, el modo de acción de CDE en las células de hígado puede ser totalmente independiente de la

ruta de señalización de PI3K/PDK1/AKT impulsada por insulina, es decir, puede ser independiente de la insulina. La importancia de esto se vuelve inmediatamente evidente para cualquier experto en la técnica de las rutas de señalización metabólicas porque disminuye las consecuencias fisiológicas de una célula del hígado al convertirse en resistente a la insulina, en el contexto del control de la producción de glucosa hepática. Sin pasar por la señalización de insulina sin dejar que sea capaz de controlar la homeostasis de la glucosa a través de la regulación FOXO abre muchas posibilidades terapéuticas para el tratamiento de la diabetes en general; por lo que es menos dependiente de la administración de insulina exógena.

Además, la importancia de encontrar un inhibidor de AKT-FOXO potencialmente independiente en el hígado no debe subestimar la salud desde una perspectiva más amplia. Está bien establecido que la ruta PI3k /PDK1/AKT es la ruta prototípica que promueve el crecimiento celular y es constitutivamente activa en muchos tipos de cáncer. Al AKT, cuando se activa, realiza una función esencial en diversos procesos celulares - no sólo la homeostasis de la glucosa a través de inactivación de FOXO. La principal de estas otras rutas es la progresión

del cáncer. A este respecto, es de interés observar que el AKT fue identificado originalmente como el oncogén en el AKT8 de retrovirus transformador. Por lo tanto, cualquier compuesto que pueda desempeñar una función esencial de AKT, 5 pero que lo haga de una manera independiente de AKT es a la vez muy novedoso y valioso.

Una vez más, para completar nuestras investigaciones sobre la especificidad del compuesto, hemos querido determinar si los 10 compuestos individuales en CDE tenían la capacidad de inactivar FOXOs en las células del hígado, las células AML-12 fueron tratadas con los compuestos individuales en las mismas condiciones experimentales. El análisis de transferencia Western demostró que la inactivación de FOXO (indicada por el 15 aumento de pFOXOs) no se observó en las células del hígado tratadas con el compuesto individual después de tratamiento de 6 o 24 h (Figura 16). También se examinaron una serie de otras moléculas de señalización y no observamos el aumento de fosforilación de AKT, Gsk3a/b y Elf2be en las células del 20 hígado después del tratamiento con C, D o E durante 6 o 24 horas (Figura 16). Los únicos efectos observados tenían que ver con el compuesto E, que pareció reducir ligeramente los niveles de pAKT y pElf2be S539 en las células AML-12 después

de 6 h de tratamiento (Figura 16). El efecto sobre la AKT por el compuesto E, sin embargo, debe ser marginal, ya que esto no se reflejó por una disminución mediada por el compuesto E por la fosforilación de FOXOs (el objetivo intermedio inmediato de AKT). Como tal, esto no indica un cambio significativo en el potencial de la gluconeogénesis en células tratadas con E. La desfosforilación de EIF2b ϵ puede significar un aumento del nivel de traducción de mRNA/proteína, pero esto no se ha explorado a fondo. Sin embargo, es claro que la expresión de la proteína de la especie estudiada en estas transferencias de Western no fue alterada por ninguno de estos tres compuestos de selenio (Figura 16). Independientemente, nuestros resultados sugieren que los compuestos de selenio C, D o E individuales o solos no aumentó la fosforilación FOXO en las células de hígado. Por lo tanto, existe un efecto sinérgico entre compuestos C, D y E para inactivar FOXO en las células de hígado.

En conjunto, nuestros resultados sugieren que el CDE, pero no los compuestos individuales, funcionarán como inactivadores FOXO independientes de PDK/ AKT/PI3K y específicos a células del hígado.

Regulación por disminución de la expresión de G6PC, un objetivo en dirección 3' FOXO para la producción de glucosa, en células AML-12 después de tratamiento con los compuestos de selenio del Compuesto CDE

5

Como se mencionó anteriormente, la glucosa 6-fosfatasa, la subunidad catalítica (G6PC) es un objetivo en dirección 3' directo de FOXO que mejora la producción de glucosa, especialmente en el hígado. Los niveles mejorados del pFOXOs (inactivo) en células del hígado tratadas con CDE sugiere que el CDE puede cumplir una función en el control de la producción de glucosa y en la mejora de la sensibilidad a la insulina en las células del hígado. La prueba real de que la combinación de compuestos de selenio, CDE, puede modular la gluconeogénesis o glucogenolisis a través de fosforilación de FOXO, sería ver una disminución en la expresión de G6PC en un entorno hepático. Para probar esta hipótesis, se analizó la expresión G6PC en las células de hígado mediante análisis de RT-PCR cuantitativo.

20

Como se muestra en la Figura 17, el tratamiento de las células AML-12 del hígado con la combinación CDE, pero no la combinación de análogos de azufre HIJ causó una disminución

muy importante 45% en la expresión G6PC en las células de hígado. Además, también se examinó la expresión G6PC en células de AML-12 después del tratamiento con todos los compuestos individuales, y no se observó ninguna alteración significativa (aumento o disminución) de la expresión G6PC (Figura 17); un hallazgo consistente con los niveles de fosforilación FOXO sin cambios se señala en células del hígado tratadas con el compuesto D o E, tal como se determina por análisis de transferencia Western (Figura 16). Se observó el efecto de la disminución de la expresión G6PC en respuesta a la combinación CDE en tres experimentos repetidos utilizando diferentes tandas de células (datos no presentados).

En conjunto, nuestros resultados demuestran que el CDE, pero no los compuestos individuales, puede atenuar significativamente la expresión G6PC, lo que representa de esta manera una forma novedosa de reducir la producción de glucosa hepática. Nuestros resultados colectivos adicionalmente apuntan al modo de acción de estos compuestos mediados por un aumento independiente de AKT en la fosforilación FOXO. Estos datos proporcionan una fuerte evidencia in vitro de que el CDE tiene un potencial

significativo en una capacidad terapéutica para el control de la producción de glucosa hepática en sujetos obesos y diabéticos tipo 2.

5 Resumen general y Discusión

Hemos identificado que el compuesto C, pero no D, mejora el potencial MT en células de riñón, y que tanto el compuesto C y D mejoran el potencial MT en las células de mioblastos C2C12 músculo esqueléticas de ratón. Estos resultados sugieren que el compuesto C puede ser útil contra la insuficiencia renal progresiva, y C y D contra sarcopenia provocada por la pérdida progresiva de la función MT en el riñón o el músculo esquelético. En el caso del músculo esquelético, también esperamos que C y D sean potencialmente útiles en el área de investigación y control de la T2DM, dado que el músculo esquelético utiliza 75-80% de la glucosa ingerida diariamente y que la disfunción mitocondrial en el músculo esquelético se considera como un iniciador clave de la T2DM.

Además, nuestros experimentos con células neuronales IMR-32 humanos indican que uno de estos compuestos, en particular

(compuesto C) puede ser únicamente contra la patogénesis de la AD. Esta conclusión se basa en los siguientes resultados clave:

5 (1) potencial MT transitoriamente reforzado por C (Figura 3)

(2) Mejora de la supervivencia de las células neuronales por el compuesto C (Figura 5)

10 (3) Regulación por disminución específica de célula neuronal de la fosforilación FOXO (clave para el metabolismo celular) y regulación por aumento de PGC1a (clave para la biogénesis MT) (Figura 14 y los datos actuales de células de hígado en la Figura 16);

15

(4) Orientación selectiva de los genes del complejo gamma-secretasa y PSEN nicastrin para inhibir su expresión para la división de APP (Fig 1 1.);

20 (5) Inhibición de fosforilación de Tau probable contra la formación de ovillos en la AD (Figura 12); y

(6) Regulación por disminución de GSK3b específica a célula neuronal que, indica de nuevo que reduce el potencial de fosforilación Tau y la formación de ovillo reducida en situaciones de AD (Figura 12 vs datos de célula de hígado.

5 Figura 16).

Hemos identificado una nueva combinación de compuesto (CDE) de inactivación FOXO independiente de PI3K/PDK1/AKT y específico a células de hígado (es decir, la combinación de
10 CDE, pero no los compuestos individuales). Esta combinación de compuestos regula por disminución drásticamente la expresión G6PC en las células del hígado a través de la exclusión de las proteínas nucleares FOXO. Prevemos que esta combinación puede ser particularmente útil en la
15 investigación y mejora de los síntomas y patologías derivadas del síndrome metabólico, obesidad y diabetes tipo 2. Nuestro razonamiento se basa en los siguientes hallazgos:

(1) el potencial de MT es significativamente mayor en las
20 células del hígado por una combinación de sólo CDE; no cualquier otro compuesto o sus combinaciones. (Figura 7);

(2) No hubo ningún efecto tóxico sobre la supervivencia de las células del hígado o célula neuronal (Figura 5, Figura 9)

(3) El gen de Proteína Desacoplada 2 (UCP2) se reguló por
5 disminución específica y significativamente por CDE (Figura 8); De particular interés a este respecto son los resultados de estudios recientes de que la inhibición de la expresión de UCP2 revierte la diabetes inducida por dieta, al afectar tanto la secreción como la acción de insulina.

10

(4) Se inactivó el FOXO específico a células de hígado ((fosforilada) por el CDE (Figura 15 frente a los datos de células neuronales Figura 13);

15 (5) No se observó ningún efecto sobre la inactivación de FOXO por compuestos individuales (Figura 16)

(6) Ningún efecto sobre la fosforilación de la señalización PI3K/PDK/AKT se observó por el CDE (Figura 15). Esto indica
20 que el CDE representa un nuevo inactivador FOXO independiente de AKT.

(7) Regulación por disminución significativa del gen G6PC
objetivo FOXO crítico por CDE (Figura 17), pero no por
cualquiera de los compuestos individuales (Figura 17). Se
recordará que la producción de glucosa hepática es controlada
5 por la activación mediada por FOXO de transcripción de G6PC.

Con base en los datos experimentales anteriores, consideramos
que la combinación CDE puede actuar específicamente como un
inactivador FOXO potente en las células del hígado para
10 reducir la expresión G6PC y producción de glucosa hepática
inferior. Además, hemos demostrado que esta acción es
independiente de señalización PI3K/PDK/AKT. Una
representación de cómo este proceso puede trabajar se muestra
en la Figura 18. Considerando que, normalmente, la
15 fosforilación de FOXO y su posterior entrada o exclusión del
núcleo se rige por la ruta de insulina/PI3K/PDK1/AKT, se
muestra que la combinación específica de compuestos C, D y E
provoca la fosforilación de FOXO por una enzima quinasa aún
no identificada. La FOXO fosforilada, excluida del núcleo, no
20 es capaz de activar transcripcionalmente el G6PC que conduce,
a su vez, a la reducción de la producción hepática de
glucosa. La reducción de la producción de glucosa hepática y
la disminución asociada en la concentración de glucosa en la

sangre dará lugar a un efecto ahorrador de insulina, es decir, la reducción de la demanda en el páncreas para secretar insulina en respuesta a los altos niveles de glucosa en sangre.

5

También es bastante razonable esperar que el nivel más bajo de glucosa en la sangre puede llevar tanto a una mayor sensibilidad a la insulina en los tejidos periféricos como a una liberación más controlada de insulina por las células beta del páncreas. Es decir, será menos probable que se sobrecargue la producción de insulina por el páncreas, debido a los menores niveles de glucosa en circulación en general. A partir de los experimentos realizados y presentados en esta solicitud, no hemos sido capaces de identificar cualquier efecto negativo ya sea en el crecimiento de todos los tipos celulares probados o la activación de las rutas, que pueden indicar el inicio de la proliferación descontrolada y el crecimiento, es decir, provocando cáncer. De hecho, la capacidad de estos compuestos para eludir la ruta de señalización AKT (por lo menos en el hígado) los hace especialmente interesante desde un punto de vista potencial tóxico reducido.

10

15

20

Con base en los resultados presentados anteriormente, también consideramos que podemos plantear la hipótesis de un modelo plausible para el efecto del compuesto C, en particular, en la mejora de los impactos de las patologías AD (placas amiloides y ovillos Tau). Como se muestra en la Figura 19A-C, los genes clave relacionados con la AD cuya expresión está reducida o alterada en células IMR-32 tienen los motivos de unión (sitios) para Foxos 1, 3 o 4 en sus regiones promotoras de genes. Esto es cierto para GSK3b (Figura 19A), Psen1 (Figura 19B) y Nicastrin (Figura 19C). Esto significa que las proteínas FOXO localizadas nucleares se podrían unir y negativamente regular la transcripción de estos promotores de genes. Con este conocimiento, por lo tanto es bastante fácil visualizar una situación (Figura 19D), donde el compuesto C desfosforila las proteínas FOXO y las permite en el núcleo. Aquí, las proteínas FOXO activas se unen a e inhiben la transcripción de las regiones promotoras de los genes mencionados anteriormente. Niveles más bajos de GSK3b en células IMR (Figura 12) dará lugar a la fosforilación disminuida de Tau, seguido por disminución de la estabilización de los microtúbulos y disminución de la formación de ovillos como resultado directo.

Del mismo modo, la unión de proteínas FOXO a las regiones promotoras de PSEN y Nicastrin inhibe la transcripción de estos genes que se traduce en menores cantidades de estos componentes de gamma-secretasa críticos que se producen en las células neuronales. La implicación natural de esto sería niveles más bajos de procesamiento de APP aberrante, menor concentración de péptido beta-amiloide y disminución de la carga de placa amiloide como resultado.

10 Todas las publicaciones y patentes mencionadas en la presente solicitud se incorporan aquí por referencia. Diversas modificaciones y variaciones de los métodos y composiciones descritas de la presente solicitud serán evidentes para aquellos expertos en la técnica sin apartarse del alcance y

15 espíritu de la presente solicitud. Aunque la presente solicitud ha sido descrita en relación con realizaciones preferidas específicas, se debe entender que la presente solicitud tal como se reivindica no se debe limitar indebidamente a dichas realizaciones específicas. De hecho,

20 las diversas modificaciones de los modos descritos para llevar a cabo la presente solicitud que son obvios para aquellos expertos en los campos relevantes están destinadas a estar dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones.

REIVINDICACIONES:

1. Un método para tratar enfermedad de Alzheimer que comprende:

5 administrar una cantidad efectiva de una composición a un sujeto, la composición comprende un compuesto seleccionado del grupo que consiste de 5'-Metilselenoadenosina, un compuesto de la fórmula (I), y mezclas del mismo.

10 2. Un método para inhibir acumulación amiloide B en una o más células neuronales que comprende:

 administrar una cantidad efectiva de una composición a una o más células neuronales, la composición comprende un compuesto seleccionado del grupo que consiste de 5'-
15 Metilselenoadenosina, un compuesto de la fórmula (I), y mezclas del mismo, en el que la cantidad efectiva inhibe la acumulación amiloide B en células neuronales cuando se compara con células neuronales no tratadas con la composición.

20

3. Un método para inhibir fosforilación tau en una o más células neuronales que comprende:

administrar una cantidad efectiva de una composición a una o más células neuronales, la composición comprende un compuesto seleccionado del grupo que consiste de 5'-Metilselenoadenosina, un compuesto de la fórmula (I), y mezclas del mismo, en el que la cantidad efectiva inhibe la fosforilación tau en células neuronales cuando se compara con células neuronales no tratadas con la composición.

4. Un método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que se aísla el compuesto.

5. Un método de la reivindicación 4, en el que se purifica el compuesto.

6. Un método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que la composición comprende 5'-Metilselenoadenosina.

7. Un método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que la composición excluye uno o más de glutamil selenocisteína, metionina o selenometionina.

8. Un método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que la cantidad efectiva es 200 microgramos o menos por día.

5 9. Un método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en el que la composición se administra una vez al día.

10. Un método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-9 en el que la 5'-Metilselenoadenosina, o un compuesto de la
10 fórmula (I) es un selenoglucósido.

11. Un método para mejorar la función mitocondrial en una o más células seleccionadas del grupo que consiste de célula del músculo esquelético, célula neuronal, y combinaciones de
15 las mismas, dicho método comprende:

administrar una cantidad efectiva de una composición a una o más células, la composición comprende un compuesto seleccionado del grupo que consiste de 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L- homocisteína, Gama-
20 glutamil-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula (I), un compuesto de la fórmula (III), y combinaciones de los mismos, en el que la cantidad efectiva mejora la función

mitocondrial cuando se compara con células no tratadas con la composición.

12. Un método para mejorar la función mitocondrial en una o
5 más células de hígado que comprende:

administrar una cantidad efectiva de una composición a una o más células de hígado, la composición comprende por lo menos tres diferentes compuestos seleccionados del grupo que consiste de 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-
10 homocisteína, Gama-glutamyl-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula (I), y un compuesto de la fórmula (III), en el que la cantidad efectiva mejora la función mitocondrial cuando se compara con células no tratadas con la composición.

15

13. Un método para modular el metabolismo de glucosa en una o más células seleccionadas del grupo que consiste de células de hígado, célula del músculo esquelético, y combinación de las mismas dicho método comprende:

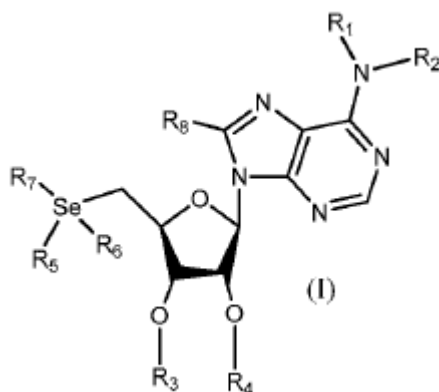
20 administrar una cantidad efectiva de una composición a una o más células, la composición comprende por lo menos tres diferentes compuestos seleccionados del grupo que consiste de: 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L-homocisteína, Gama-

glutamil-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula (I), y un compuesto de la fórmula (III), en el que la cantidad efectiva modula el metabolismo de glucosa en una o más células cuando se compara con células no tratadas con la
5 composición.

14. Un método para reducir la expresión de complejo de glucosa 6 fosfatasa en una o más células de hígado, dicho método comprende:

10 administrar una cantidad efectiva de una composición a una o más células, la composición comprende por lo menos tres diferentes compuestos seleccionados del grupo que consiste de 5'-Metilselenoadenosina, Se- Adenosil-L-homocisteína, Gama-glutamil-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula
15 (I), y un compuesto de la fórmula (III), en el que la cantidad efectiva inhibe la expresión de glucosa 6 fosfatasa en una o más células de hígado cuando se compara con células no tratadas con la composición.

20 15. Una composición que comprende un compuesto de acuerdo con la fórmula (I):



o una sal, hidrato o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que

5

R_1 es H, acilo, alquilo, alquenilo, alquinilo, aralquilo, carboxilo, cicloalquilo, $C(O)R'$, $C(O)OR'$, donde R' es alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, o heterociclilo; o R_1 junto con R_2 forman un anillo heterocíclico que tiene 4 a 8 miembros en el anillo con por lo menos un heteroátomo seleccionado de oxígeno o nitrógeno;

10

R_2 es H, acilo, alquilo, alquenilo, alquinilo, aralquilo, carboxilo, cicloalquilo, $C(O)R'$, $C(O)OR'$, donde R' se selecciona de alquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, o heterociclilo; o R_1 junto con R_2 forman un anillo heterocíclico que tiene 4 a 8 miembros en el anillo con por lo menos un heteroátomo seleccionado de oxígeno o nitrógeno;

15

R₃ es H, acilo, alquilo, alqueno, alquino, aralquilo, cicloalquilo, carboxilo, o C-amido; o R₃ junto con R₄ y los átomos a los cuales se adhieren forman un anillo
5 heterocíclico que tiene 4 a 8 miembros en el anillo con por lo menos un heteroátomo seleccionado de oxígeno o nitrógeno;

R₄ es H, acilo, alquilo, alqueno, alquino, aralquilo, cicloalquilo, carboxilo, o C-amido; o R₃ junto con R₄ y los
10 átomos a los cuales se adhieren forman un anillo heterocíclico que tiene 4 a 8 miembros en el anillo con por lo menos un heteroátomo seleccionado de oxígeno o nitrógeno;

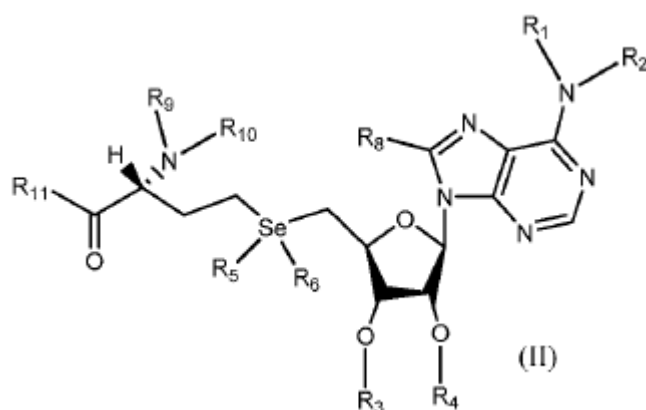
R₅ es oxo, hidroxilo, alquilo, alqueno, alquino, OR', o
15 está ausente; donde R' se selecciona de alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, arilo, o aralquilo;

R₆ es oxo, hidroxilo, alquilo, alqueno, alquino, OR', o
está ausente; donde R' se selecciona de alquilo, alqueno,
20 alquino, cicloalquilo, arilo, o aralquilo;

R₇ es H, alquilo, alqueno, alquino, cetona, alcohol amino, aminoácido, OR', Se-R', S-R', donde R' se selecciona

de H, alquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, o heterociclilo; y R₈ es hidrógeno, azido, alquilo, alquenilo, alquinilo.

- 5 16. Una composición que comprende un compuesto de acuerdo con la fórmula (II):



- o una sal, hidrato o profármaco farmacéuticamente aceptable
10 del mismo, en la que

- R₁ es H, acilo, alquilo, alquenilo, alquinilo, aralquilo, carboxilo, cicloalquilo, C(O)R', C(O)OR', donde R' es alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo,
15 aralquilo, o heterociclilo; o R₁ junto con R₂ forman un anillo heterocíclico que tiene 4 a 8 miembros en el anillo con por lo menos un heteroátomo seleccionado de oxígeno o nitrógeno;

R₂ es H, acilo, alquilo, alqueno, alquino, aralquilo, carboxilo, cicloalquilo, C(O)R', C(O)OR', donde R' se selecciona de alquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, o heterocíclico; o R₁ junto con R₂ forman un anillo heterocíclico que tiene 4 a 8 miembros en el anillo con por lo menos un heteroátomo seleccionado de oxígeno o nitrógeno;

R₃ es H, acilo, alquilo, alqueno, alquino, aralquilo, cicloalquilo, carboxilo, o C-amido; o R₃ junto con R₄ y los átomos a los cuales se adhieren forman un anillo heterocíclico que tiene 4 a 8 miembros en el anillo con por lo menos un heteroátomo seleccionado de oxígeno o nitrógeno;

R₄ es H, acilo, alquilo, alqueno, alquino, aralquilo, cicloalquilo, carboxilo, o C-amido; o R₃ junto con R₄ y los átomos a los cuales se adhieren forman un anillo heterocíclico que tiene 4 a 8 miembros en el anillo con por lo menos un heteroátomo seleccionado de oxígeno o nitrógeno;

R₅ es oxo, hidroxilo, alquilo, alqueno, alquino, OR', o está ausente; donde R' se selecciona de alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, arilo, o aralquilo;

R₆ es oxo, hidroxilo, alquilo, alqueno, alquino, OR', o está ausente; donde R' se selecciona de alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, arilo, o aralquilo;

5 R₈ es hidrógeno, azido, alquilo, alqueno, alquino;

R₉ es H, acilo, alquilo, alqueno, alquino, aralquilo, carboxilo, cicloalquilo, C(O)R', C(O)OR', donde R' es alquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, o heterociclilo; o

10 R₉ junto con R₁₀ forman un anillo heterocíclico que tiene 4 a 8 miembros en el anillo con por lo menos un heteroátomo seleccionado de oxígeno o nitrógeno;

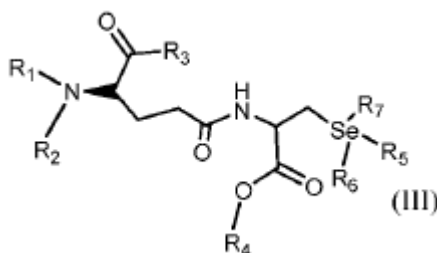
R₁₀ es H, acilo, alquilo, alqueno, alquino, aralquilo, carboxilo, cicloalquilo, C(O)R', C(O)OR', donde R' se selecciona de alquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, o heterociclilo; o R₉ junto con R₁₀ forman un anillo heterocíclico que tiene 4 a 8 miembros en el anillo con por lo menos un heteroátomo seleccionado de oxígeno o nitrógeno;

20 y

R₁₁ es OH, OR, alcoxi, aralcoxi, o amino, donde R se selecciona de alquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo,

heterociclilo, o una sal farmacéuticamente aceptable, o sal interna.

17. Una composición que comprende un compuesto de acuerdo con
5 la fórmula (III):



o una sal, hidrato o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que

10

R₁ es H, acilo, alquilo, alquenilo, alquinilo, aralquilo, carboxilo, cicloalquilo, C(O)R', C(O)OR', donde R' es alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, o heterociclilo; o R₁ junto con R₂ forman un anillo
15 heterocíclico que tiene 4 a 8 miembros en el anillo con por lo menos un heteroátomo seleccionado de oxígeno o nitrógeno;

R₂ es H, acilo, alquilo, alquenilo, alquinilo, aralquilo, carboxilo, cicloalquilo, C(O)R', C(O)OR', donde R' se
20 selecciona de alquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, o

heterocicclilo; o R_1 junto con R_2 forman un anillo heterocíclico que tiene 4 a 8 miembros en el anillo con por lo menos un heteroátomo seleccionado de oxígeno o nitrógeno;

5 R_3 es OH, OR, alcoxi, aralcoxi, o amino, donde R se selecciona de alquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, heterocicclilo, o una sal farmacéuticamente aceptable, o sal interna;

10 R_4 es H, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, heterocicclilo, o una sal farmacéuticamente aceptable, o sal interna;

R_5 es oxo, hidroxilo, alquilo, alquenilo, alquinilo, OR', o
15 está ausente; donde R' se selecciona de alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo, o aralquilo;

R_6 es oxo, hidroxilo, alquilo, alquenilo, alquinilo, OR', o
está ausente; donde R' se selecciona de alquilo, alquenilo,
20 alquinilo, cicloalquilo, arilo, o aralquilo; y

R_7 es H, alquilo, alquenilo, alquinilo, cetona, OR' , $Se-R'$, $S-R'$, donde R' se selecciona de H, alquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, o heterociclilo.

**COMPOSICIONES DE COMPUESTOS SELENOORGÁNICOS Y MÉTODOS DE USO
DE LOS MISMOS**

RESUMEN

5

La presente solicitud se relaciona con composiciones que comprenden compuestos de selenio, tal como 5'-Metilselenoadenosina, Se-Adenosil-L -homocisteína, Gama-glutamil-metilseleno-cisteína, un compuesto de la fórmula
10 (I), fórmula (II), un compuesto de la fórmula (III) y combinaciones de las mismas, y métodos para utilizar las mismas en la mejorar la función mitocondrial, o tratar disfunción mitocondrial.

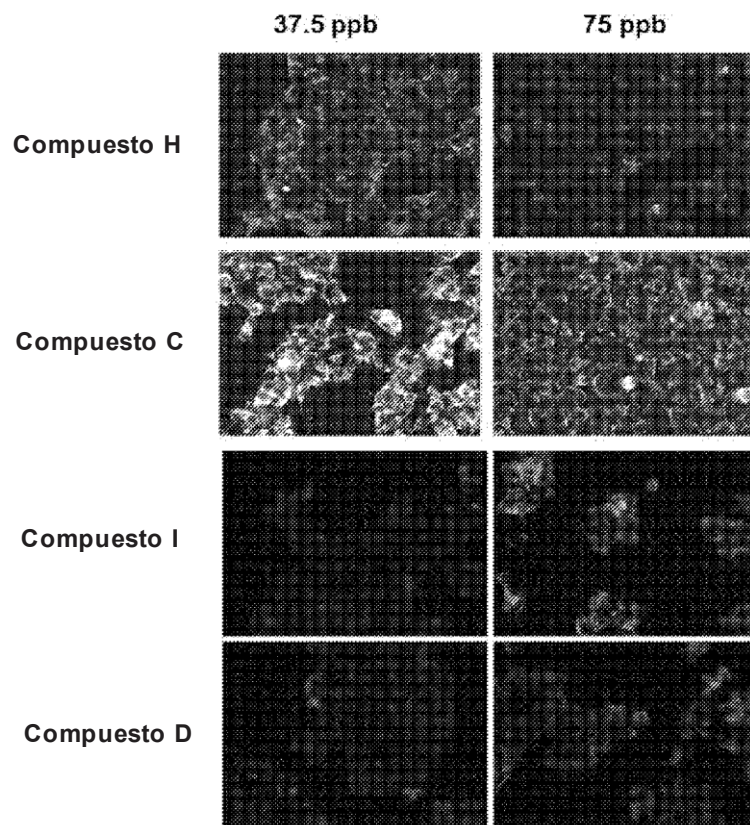


Fig. 1

**Células de riñón
HEK293T**

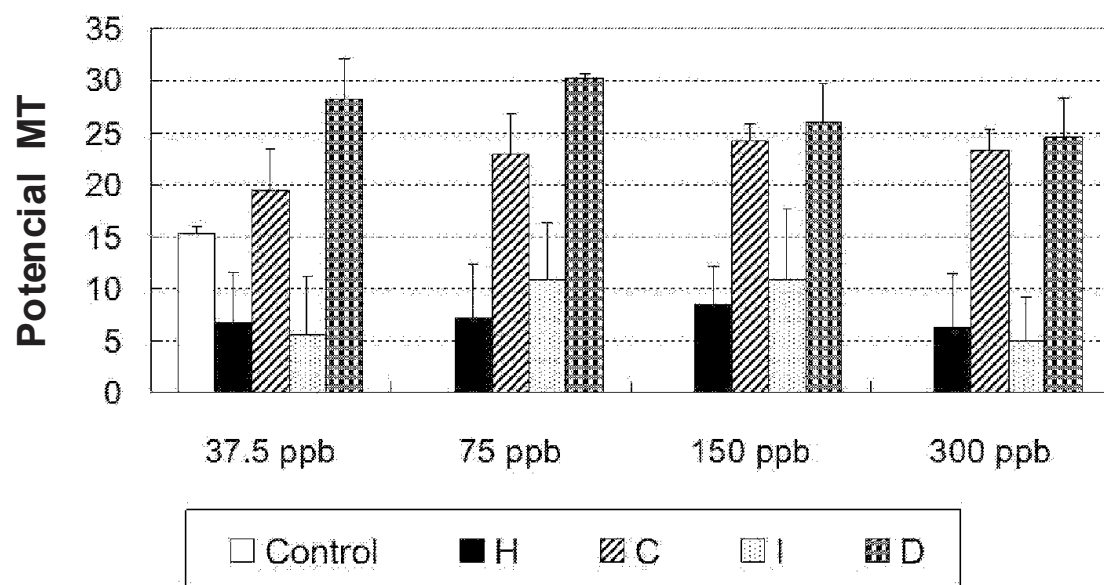
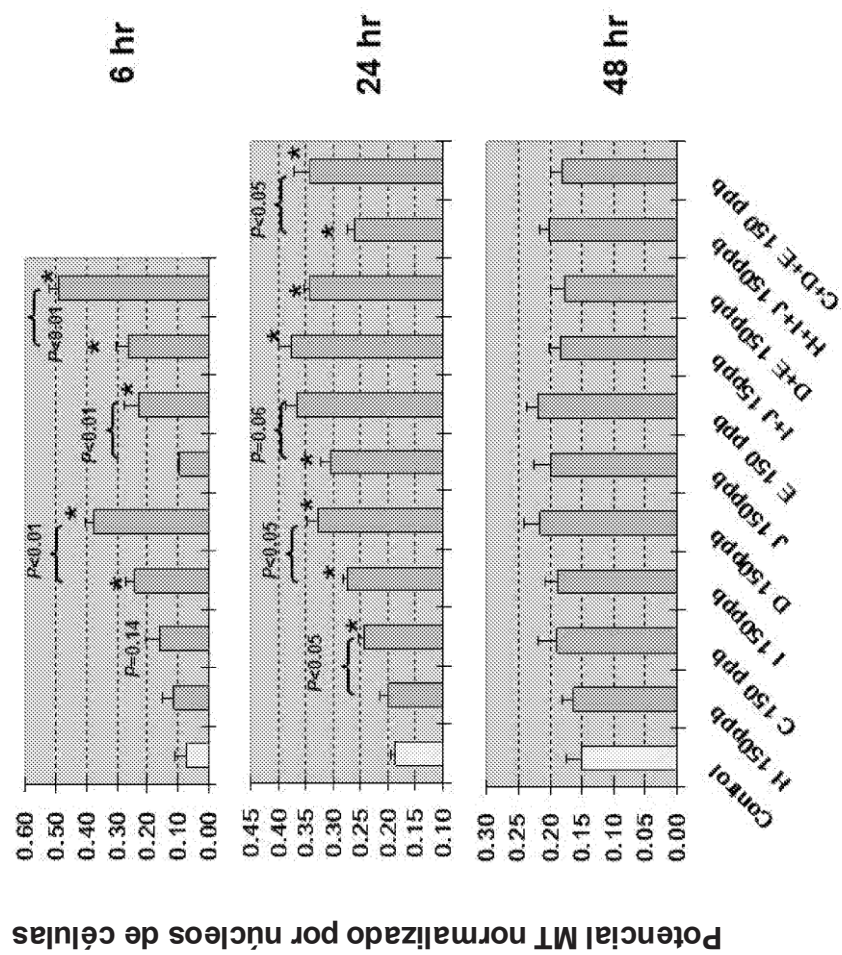


Fig. 2
Células de músculo esquelético C2C12



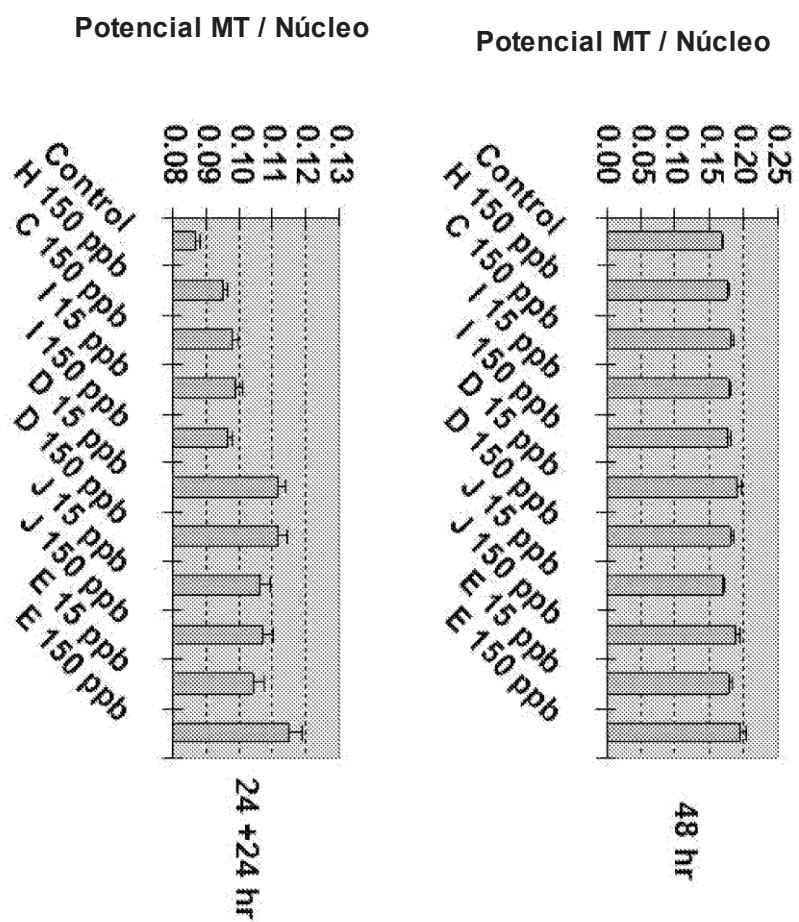


Fig. 4
Células Neuronales IMR-32

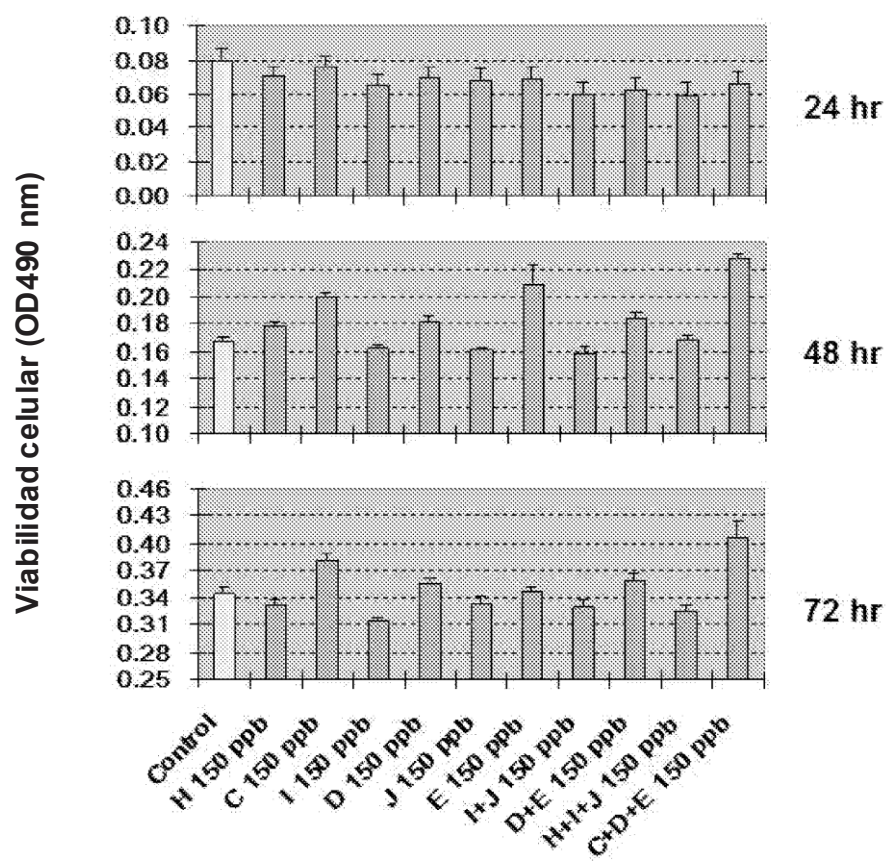


Fig. 5
Células neuronales IMR-32

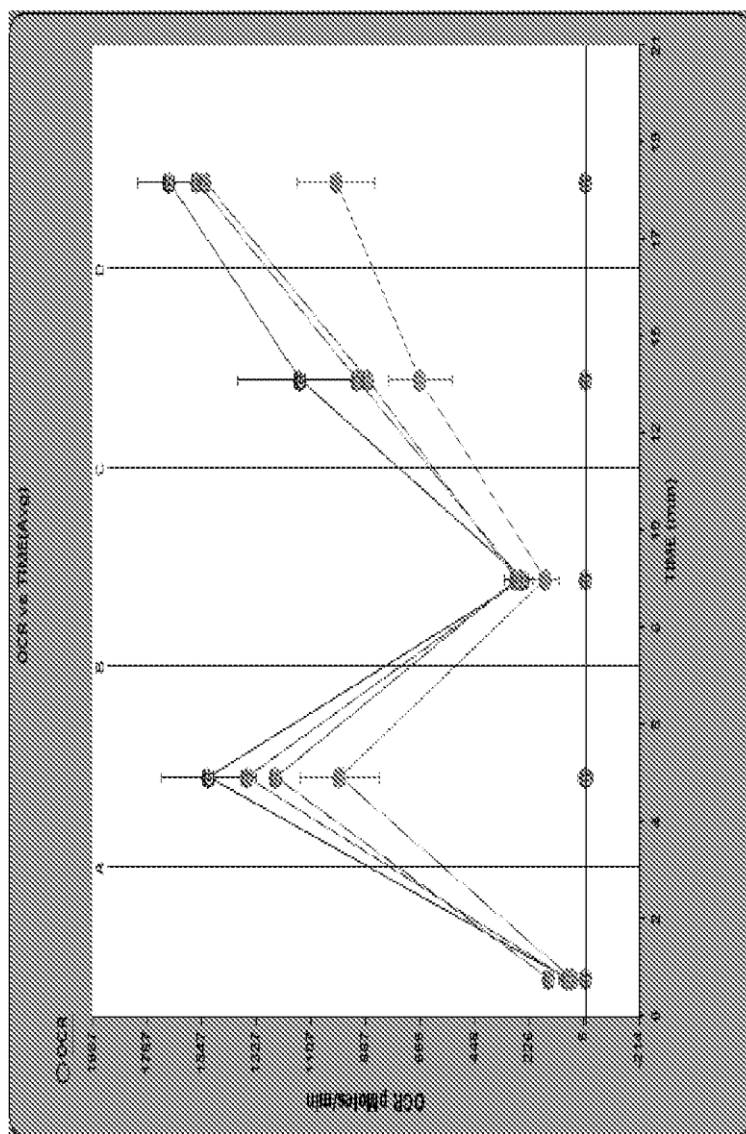


Fig. 6
Función MT en
cerebro de rata estresado

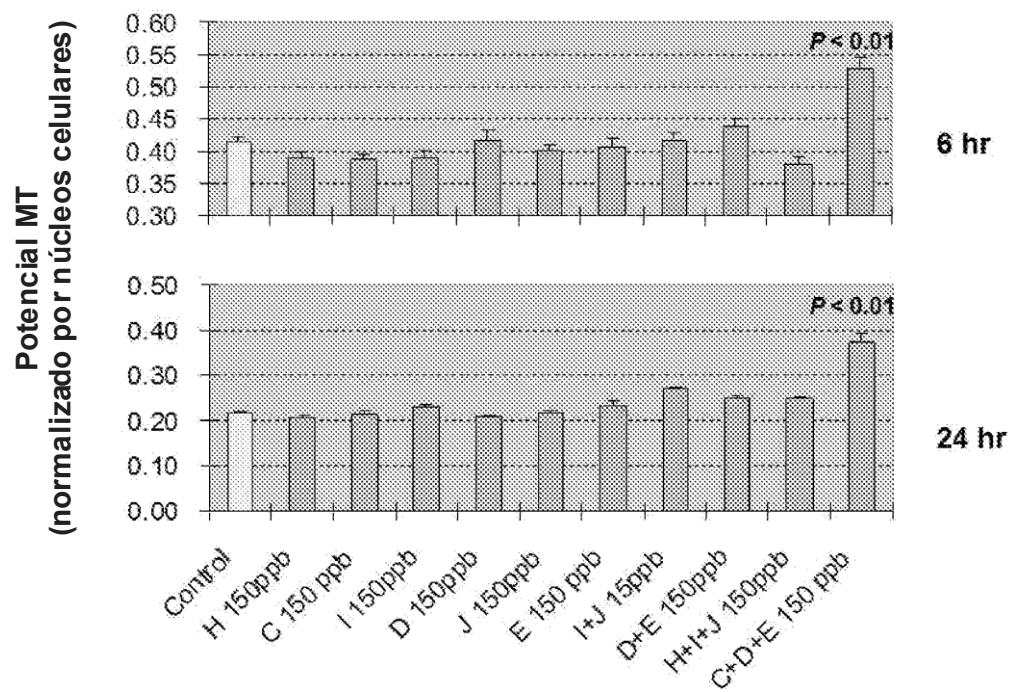


Fig. 7
Células de hígado AML-12

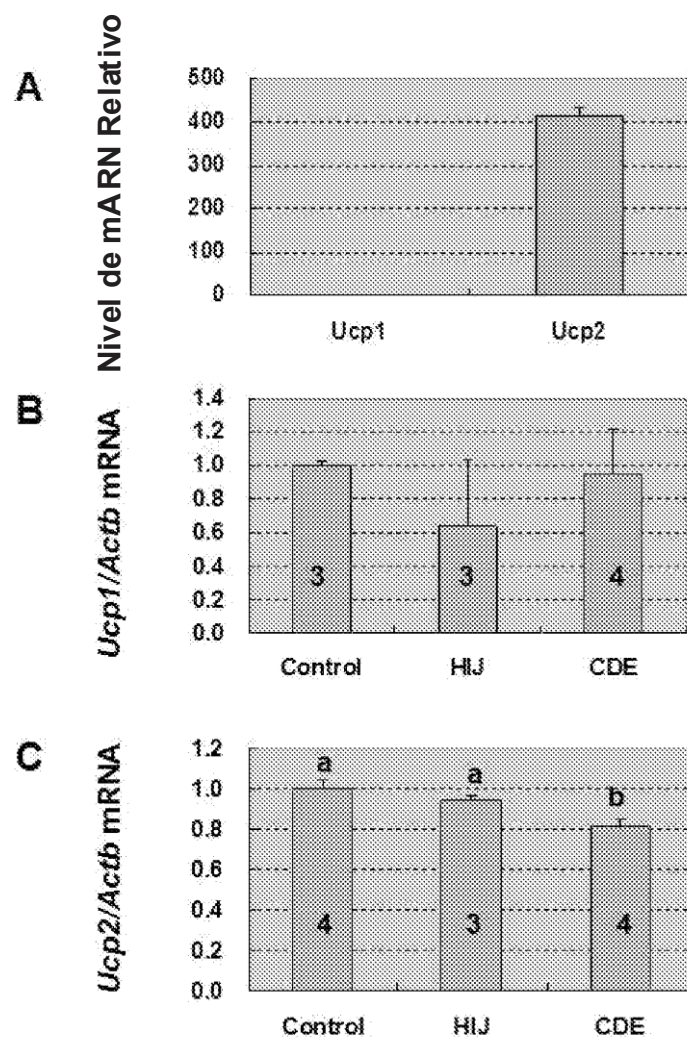


Fig. 8
Células de hígado AML-12

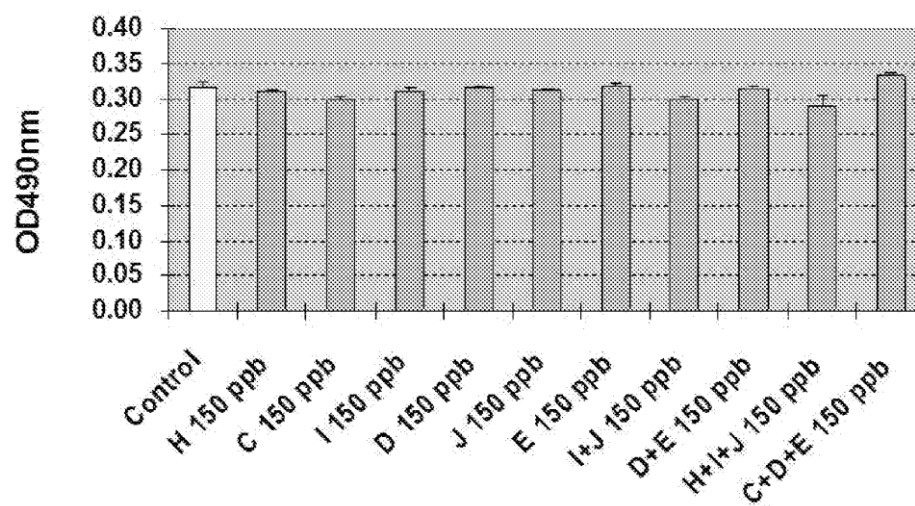


Fig. 9
Células de hígado AML-12

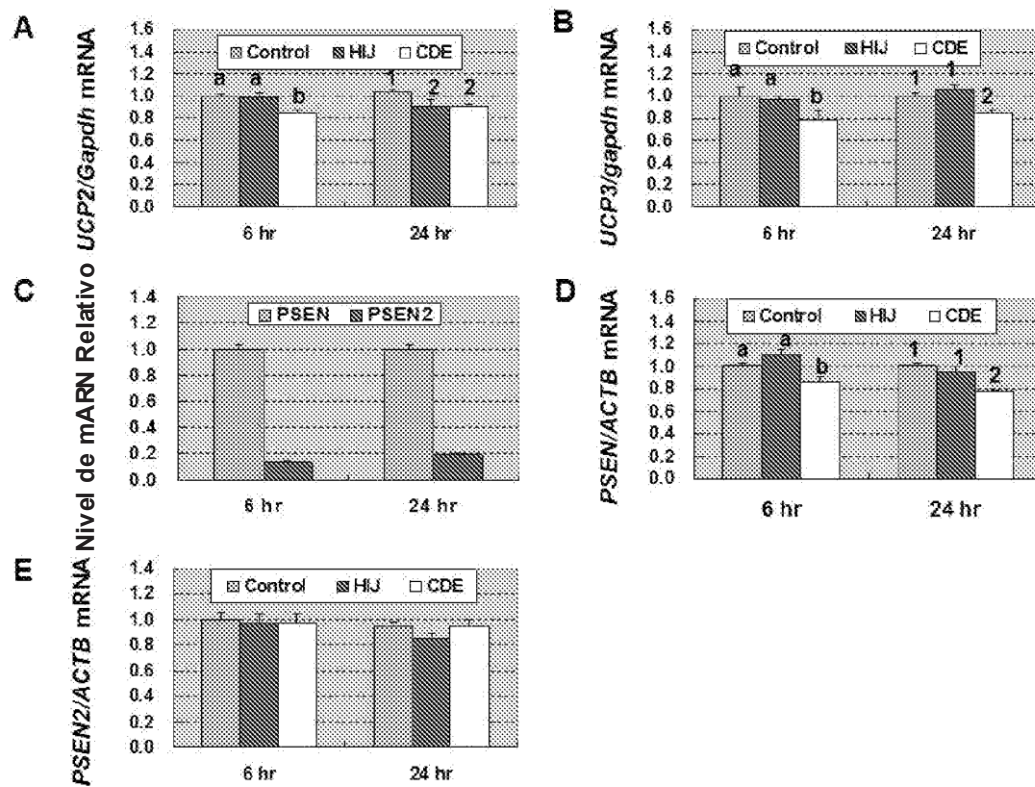


Fig. 10
Células neuronales IMR-32

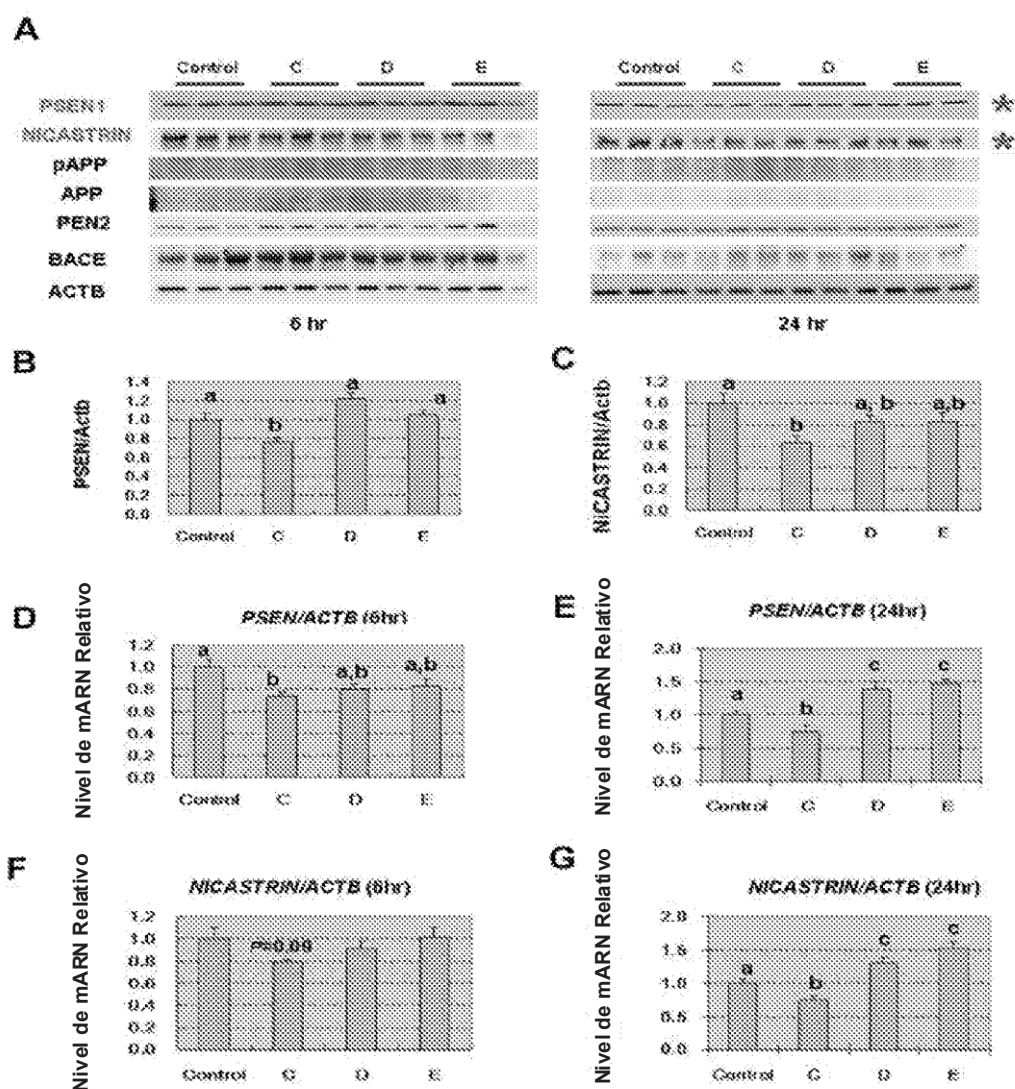


Fig. 11
Células neuronales IMR-32

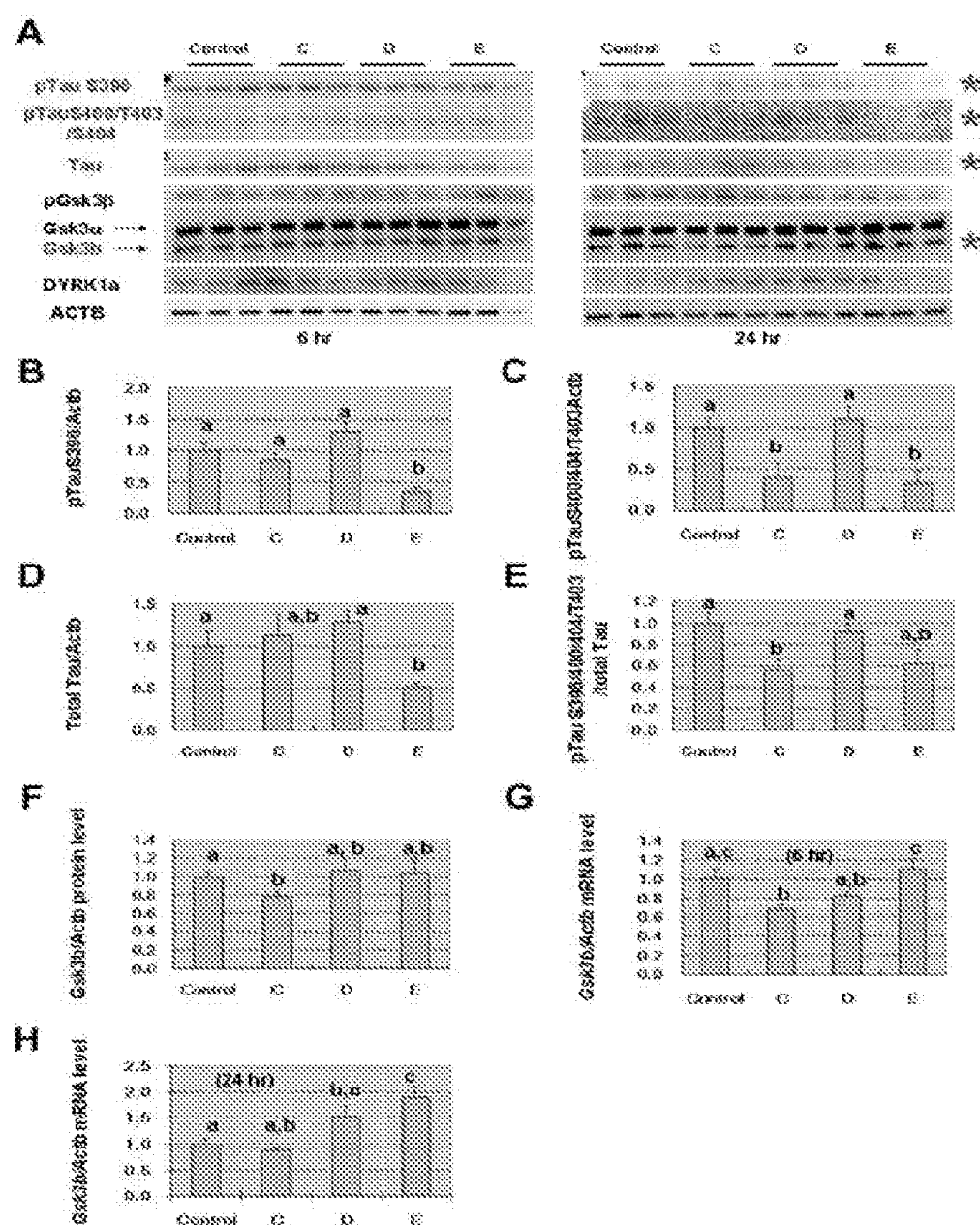


Fig. 12
Células neuronales IMR-32

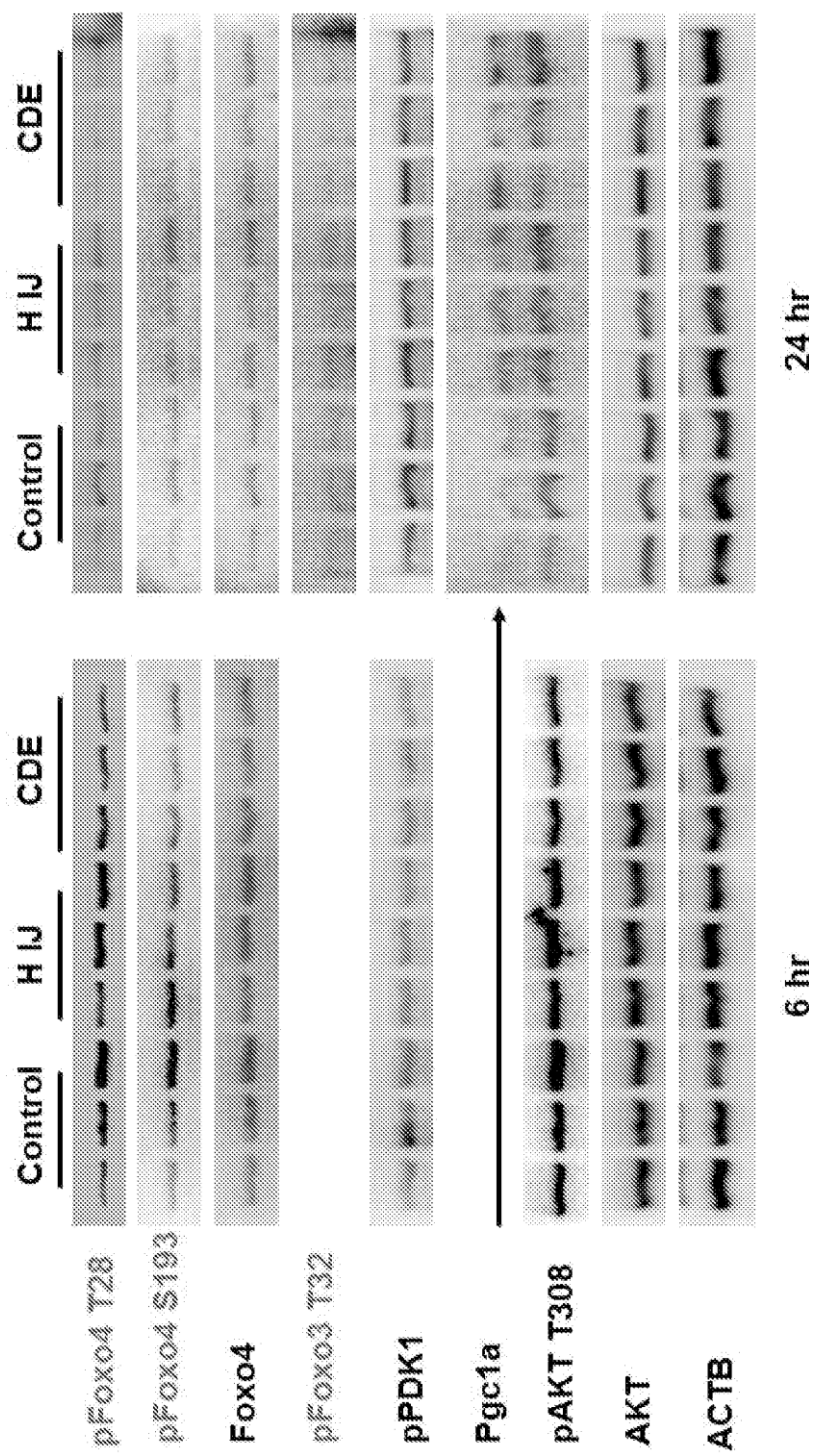


Fig. 13
Células neuronales IMR-32

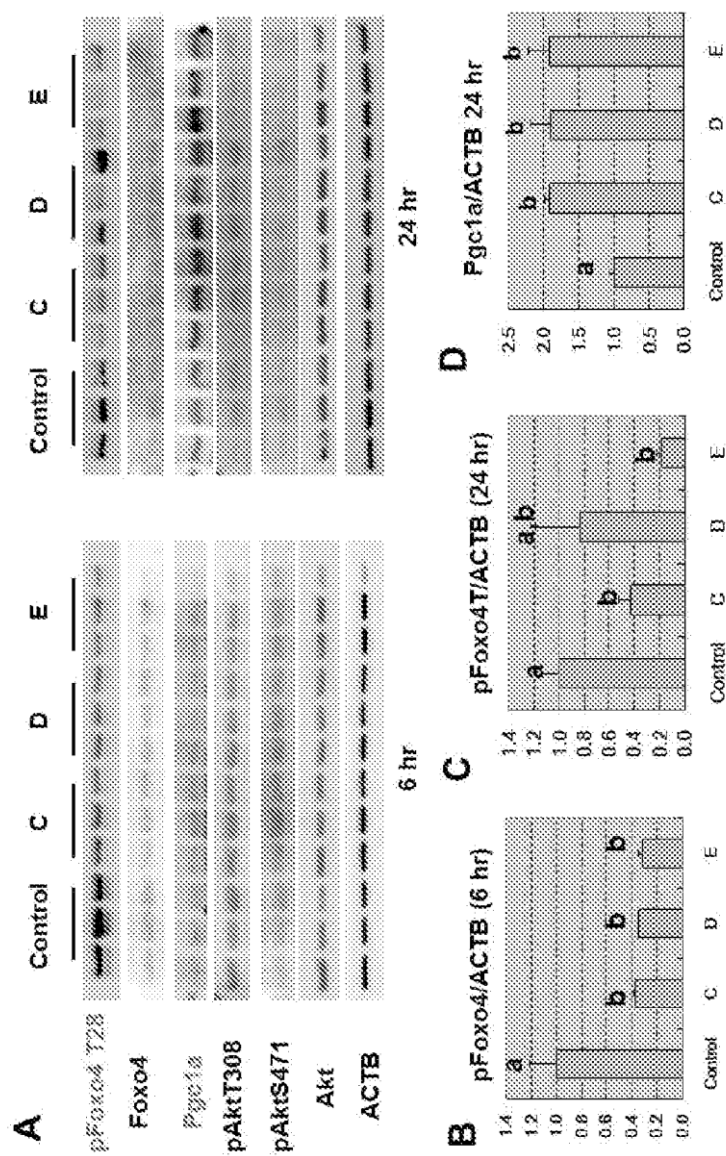


Fig. 14
Células neuronales IMR-32

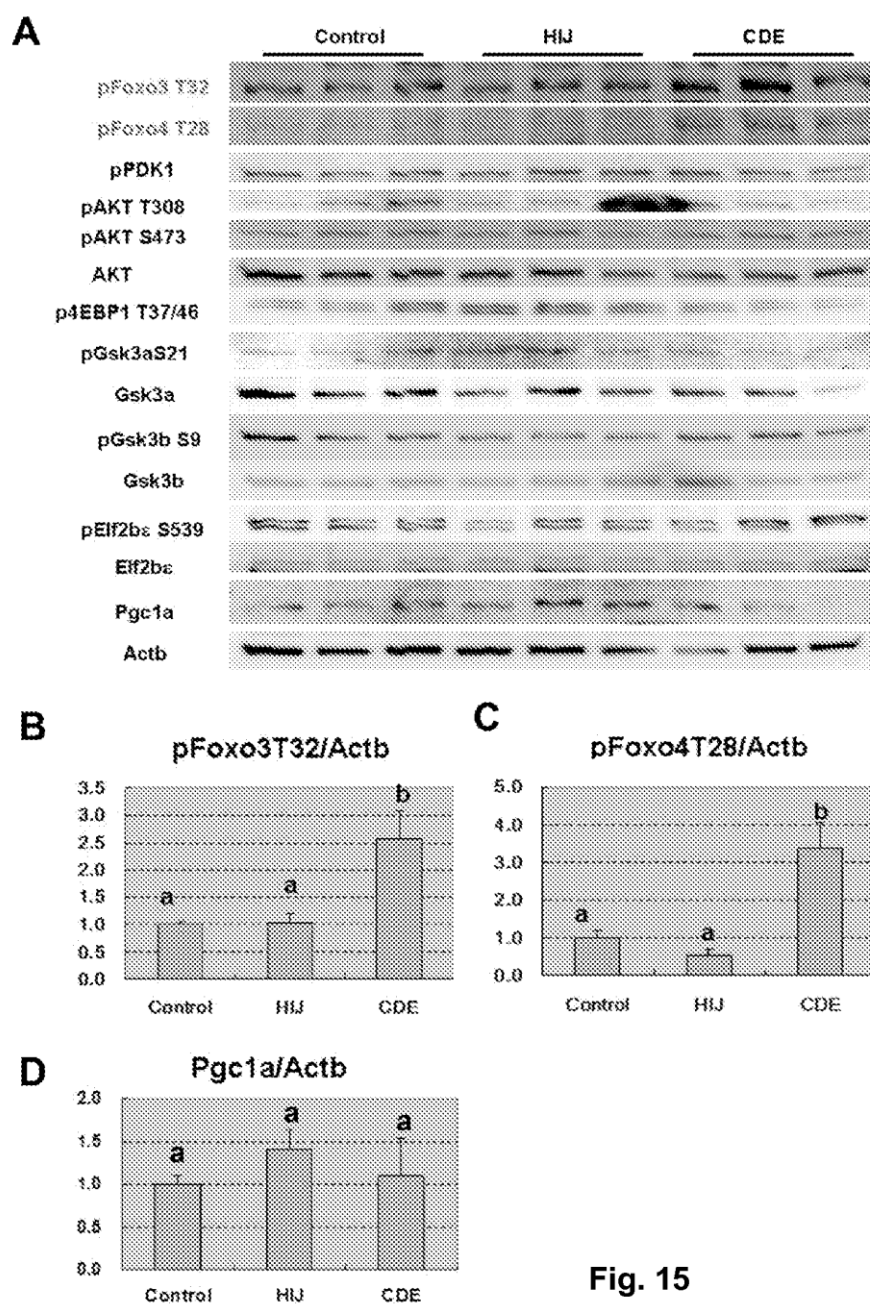


Fig. 15
Células de hígado AML-12

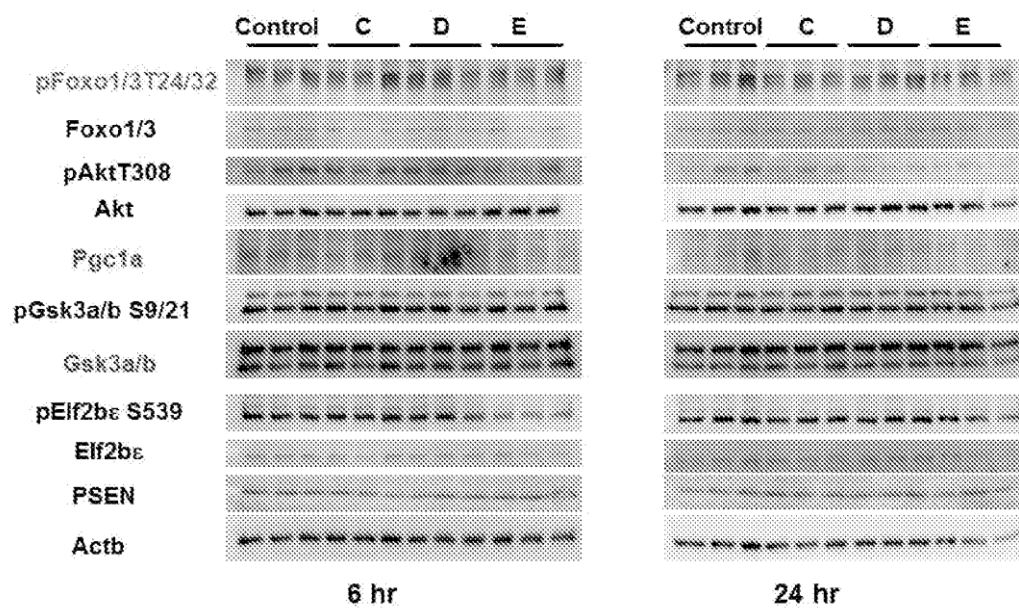


Fig. 16
Células de hígado AML-12

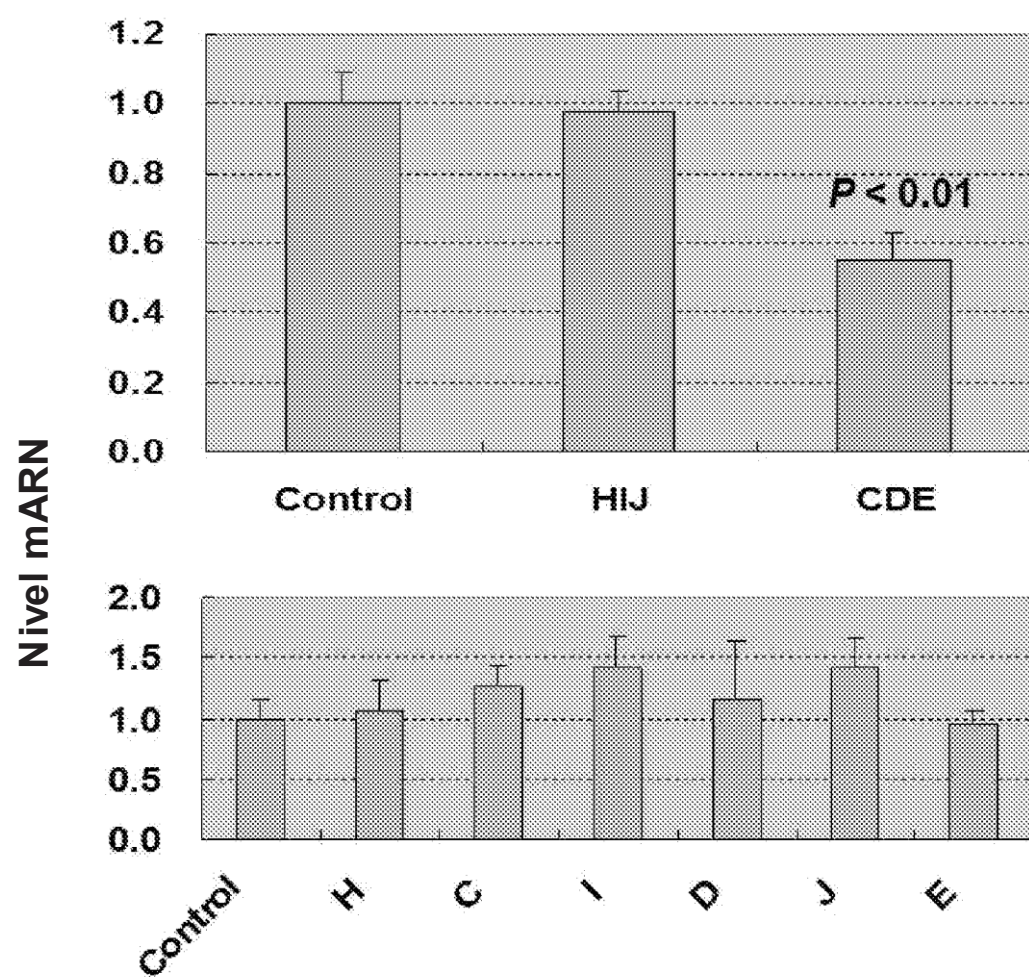
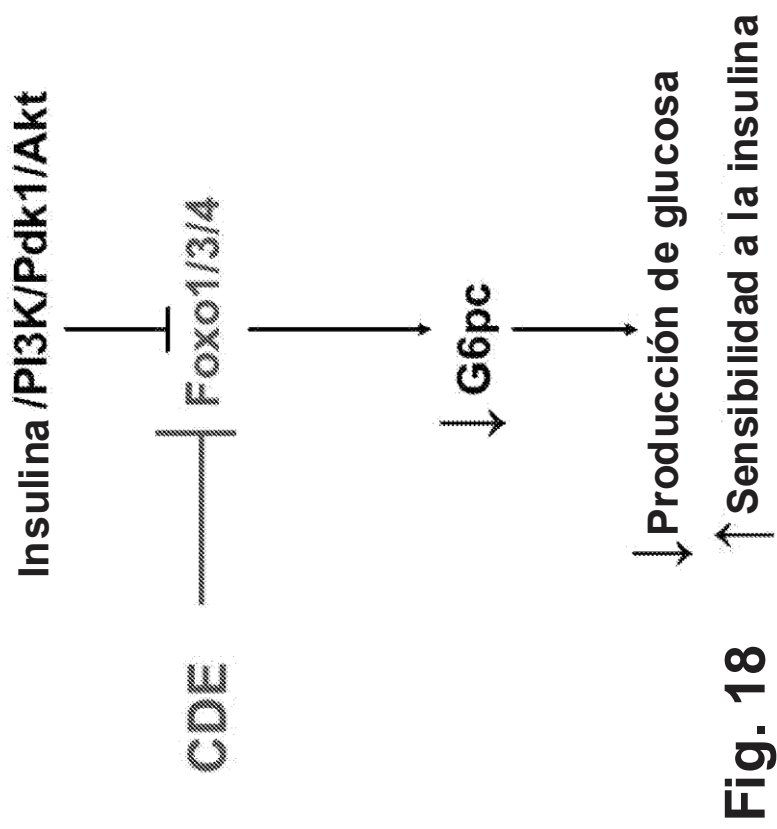


Fig. 17



La presencia de cinco motivos de unión FOXO1/3/4 sobre el promotor humano

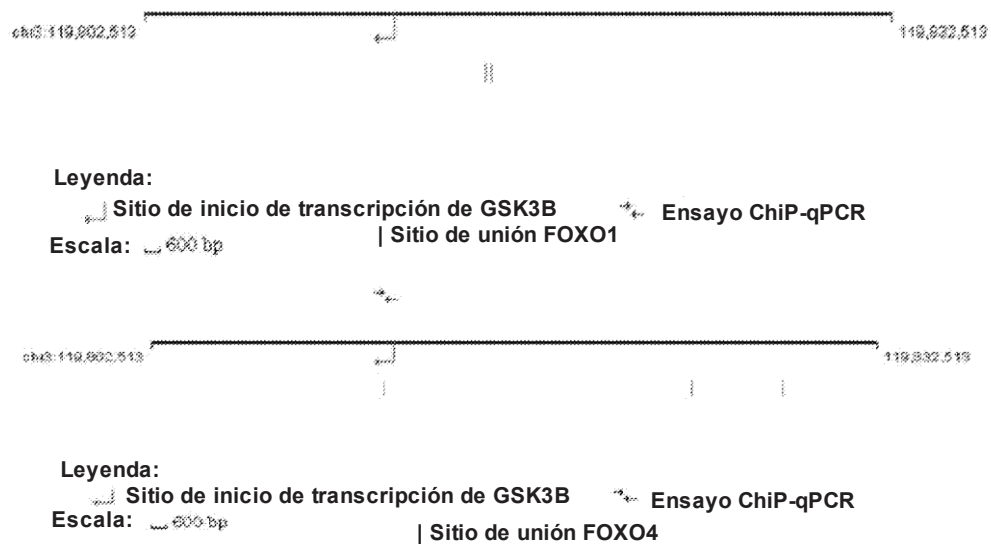
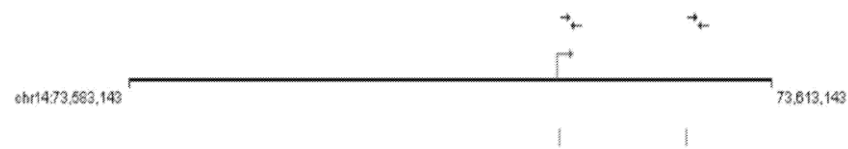


Fig. 19a

La presencia de cinco motivos de unión FOXO1/3/4 sobre el promotor humano



Leyenda:

→ Sitio de inicio de transcripción de PSEN1 Ensayo ChIP-qPCR

Escala: 500 bp | Sitio de unión FOXO4

Fig. 19b

La presencia de un motivo de unión FOXO1/3/4 sobre el promotor humano



Leyenda:

Sitio de inicio de transcripción de NCSTN
 Escala: 600 bp
 Sitio de unión FOXO3

Fig. 19c

Un modelo - MOA de trabajo de Compuesto C contra AD

