

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 661 009**

51 Int. Cl.:

A61K 31/225 (2006.01)
C07C 69/40 (2006.01)
C07C 69/708 (2006.01)
C07D 317/34 (2006.01)
C07D 323/00 (2006.01)
C07C 235/06 (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01)
A61P 21/00 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.10.2013 PCT/GB2013/052598**
 87 Fecha y número de publicación internacional: **10.04.2014 WO14053857**
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.10.2013 E 13774487 (6)**
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.12.2017 EP 2903609**

54 Título: **Succinatos protegidos para mejorar la producción de ATP mitocondrial**

30 Prioridad:

05.10.2012 GB 201217823
19.06.2013 GB 201310925

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

27.03.2018

73 Titular/es:

NEUROVIVE PHARMACEUTICAL AB (100.0%)
Medicon Village, Scheelevägen 2
223 81 Lund, SE

72 Inventor/es:

FLIRI, HANS GEORG;
FORD, RHONAN LEE;
SCOWEN, DAVID ARTHUR;
BATCHELLER, DEREK GREGORY;
EHINGER, KARL HENRIK JOHANNES;
ELMÉR, MATS ESKIL;
HANSSON, MAGNUS JOAKIM y
SJÖVALL, KARL FREDRIK LENNART

74 Agente/Representante:

DEL VALLE VALIENTE, Sonia

ES 2 661 009 T3

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

DESCRIPCIÓN

Succinatos protegidos para mejorar la producción de ATP mitocondrial

5 **Campo de la invención**

La presente invención proporciona succinatos protegidos novedosos para mejorar la producción de ATP en las mitocondrias. La parte principal del ATP producido y utilizado en la célula eucariota se origina a partir de la fosforilación oxidativa mitocondrial, un proceso al que el ciclo de Krebs proporciona electrones de alta energía. No todos los productos intermedios del ciclo de Krebs son fácilmente permeables por la membrana celular, siendo uno de ellos el succinato. Se concibe la provisión de los succinatos protegidos novedosos para permitir el paso por la membrana celular y, por tanto, los succinatos protegidos pueden usarse para mejorar la producción de ATP mitocondrial.

La presente invención también proporciona métodos para preparar los succinatos protegidos novedosos. En particular, los succinatos protegidos son útiles en la prevención o el tratamiento de trastornos relacionados con las mitocondrias, en el mantenimiento de la función normal de las mitocondrias, o en la restauración de defectos en el sistema respiratorio mitocondrial.

20 **Antecedentes de la invención**

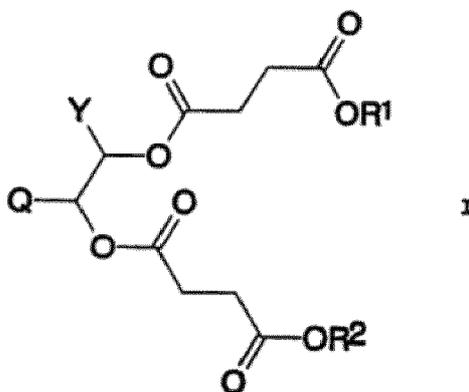
Las mitocondrias son orgánulos en células eucariotas. Generan la mayor parte del suministro celular de adenosín trifosfato (ATP), que se usa como fuente de energía. Por tanto, las mitocondrias son indispensables para la producción de energía, para la supervivencia de células eucariotas y para la función celular correcta. Además de suministrar energía, las mitocondrias participan en varios de otros procesos tales como señalización celular, diferenciación celular, muerte celular así como el control del ciclo celular y crecimiento celular. En particular, las mitocondrias son reguladores cruciales de la apoptosis celular y también desempeñan un papel principal en múltiples formas de muerte celular no apoptótica tal como necrosis.

En los últimos años, se han publicado muchos artículos que describen las contribuciones mitocondriales a una variedad de enfermedades. Algunas enfermedades pueden estar causadas por mutaciones o deleciones en el genoma mitocondrial, mientras que otras pueden estar causadas por deterioro del sistema respiratorio mitocondrial u otro tipo de daño de la función mitocondrial. En la actualidad, no hay disponible un tratamiento que pueda curar enfermedades mitocondriales.

En vista de la importancia reconocida de mantener o restaurar una función mitocondrial normal o de mejorar la producción de energía (ATP) de las células, existe la necesidad de desarrollar compuestos que tengan estas propiedades.

Se han preparado compuestos de succinato como profármacos de otros agentes activos, por ejemplo, el documento WO0228345 describe éster bis(2,2-dimetilpropioniloximetílico) de ácido succínico, éster dibutiriloximetílico de ácido succínico y éster bis-(1-butiloxietílico) de ácido succínico. Estos compuestos se preparan como agentes para administrar formaldehído, y están destinados a usos médicos diferentes de los de los compuestos actuales.

Los compuestos de la técnica anterior incluyen el documento WO9747584, que describe una variedad de succinatos de poliol.



En el ejemplo proporcionado en el mismo, Y es un H o grupo alquilo. Cada compuesto de succinato contiene múltiples restos succinato unidos por un grupo de estructura C(Y)-C(Q), y cada ácido de éster está, por tanto, directamente unido a un resto que contiene al menos dos átomos de carbono en forma de un grupo etilo O-C-C. Cada compuesto dado a conocer contiene más de un resto succinato, y el resto succinato no está protegido por un

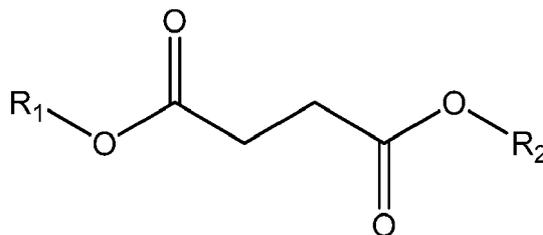
resto de tipo O-C-X donde X es un heteroátomo.

En la técnica se conocen diversos compuestos de éster de succinato. Se muestra que succinato de dietilo, succinato de monometilo y succinato de dimetilo son inactivos en los ensayos ejemplificados a continuación, y se encuentran fuera del alcance de la invención.

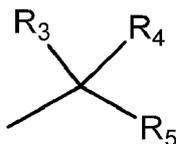
Sumario de la invención

En el presente documento se dan a conocer compuestos de mono o disuccinato en los que uno o ambos de los grupos ácido en el núcleo de succinato están protegidos en forma de restos biológicamente lábiles.

En el presente documento se da a conocer un succinato protegido de fórmula (I)



en la que R₁ es H, una sal farmacéuticamente aceptable, un grupo alquilo o un grupo de fórmula (II) y R₂ es independientemente un grupo según la fórmula (II) donde la fórmula (II) es



en la que R₃ es H, alquilo C₁-C₃, o se une junto con R₅ mediante un grupo de fórmula COO(CR'R'')O formando un anillo, donde R' y R'' son independientemente H, alquilo C₁-C₃, o se unen juntos formando un anillo;

R₄ es H;

R₅ es OCOR_a, OCOOR_b, OCONR_cR_d, CONR_cR_d o se une a R₃ mediante un grupo de fórmula COO(CR'R'')O formando un anillo, donde R' y R'' son independientemente H, alquilo C₁-C₃, o se unen juntos formando un anillo; donde

R_a es CH₃, CH₂CH₃, CH(CH₃)₂, C(CH₃)₃ o cicloalquilo;

R_b es CH₃, CH₂CH₃, CH(CH₃)₂, C(CH₃)₃ o cicloalquilo;

R_c y R_d son independientemente H, metilo o etilo o se unen juntos formando un anillo que puede contener uno o más heteroátomos adicionales;

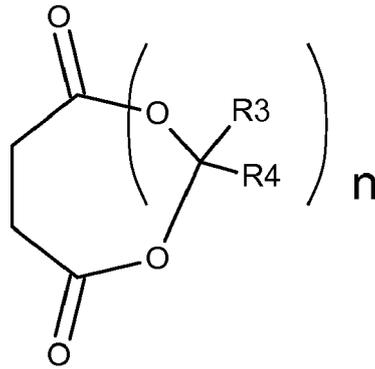
y en la que el compuesto según la fórmula (I) no es éster bis(2,2-dimetilpropioniloximetílico) de ácido succínico ni éster mono-[2-(dietilamino)-2-oxietílico] de ácido succínico.

En determinados ejemplos de los compuestos, R₃ y/o R₄ pueden ser metilo o etilo. R₃ puede ser metoxilo o etoxilo.

En determinados ejemplos de los compuestos, R₁ puede ser metilo.

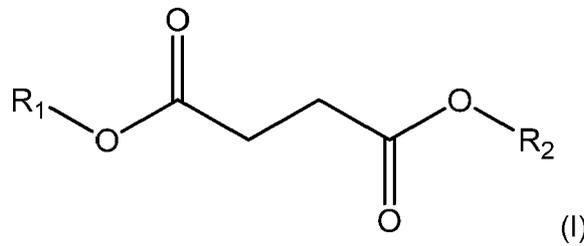
En determinados ejemplos de los compuestos R₅ puede ser un éster alquílico siempre que el éster alquílico no contenga un resto succinato (OCOCH₂CH₂COO) adicional. R₅ puede ser OCOR_a donde R_a es CH₃, CH₂CH₃, CH(CH₃)₂.

El compuesto puede ser en el que R₁ y R₅ se unen juntos formando un anillo y el anillo comprende uno o más grupos acetal. Los compuestos pueden incluir aquellos según la fórmula (III)

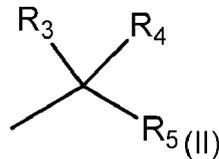


donde R_3 y R_4 son independientemente H, alquilo C_1-C_3 , o se unen juntos formando un anillo y n es 1-3.

5 El compuesto puede ser de tipo

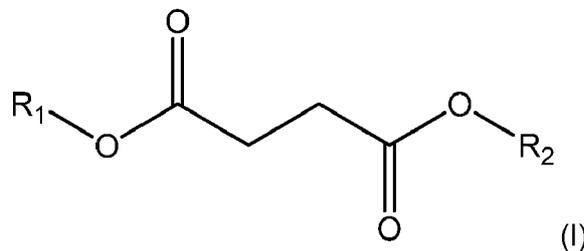


10 en el que R_1 es H o un grupo alquilo o un grupo de fórmula (II) y R_2 es independientemente un grupo según la fórmula (II) donde la fórmula (II) es

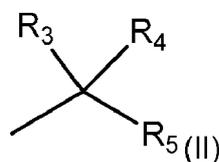


15 en la que R_3 y R_4 son independientemente H, alquilo C_1-C_3 , o se unen juntos formando un anillo y R_5 se selecciona de $OCONR_cR_d$ o $CONR_cR_d$ donde R_c y R_d son independientemente H, alquilo o se unen juntos formando un anillo que puede contener uno o más heteroátomos adicionales. En tales casos R_c y R_d pueden ser metilo o etilo.

El compuesto puede ser de tipo

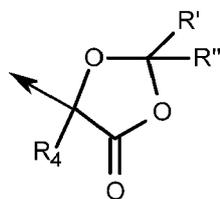


20 donde R_1 es H o un grupo alquilo o un grupo de fórmula (II) y R_2 es independientemente un grupo según la fórmula (II) donde la fórmula (II) es



25 en la que R_3 y R_5 se unen juntos formando un anillo y el anillo comprende un resto de fórmula (V) donde la fórmula

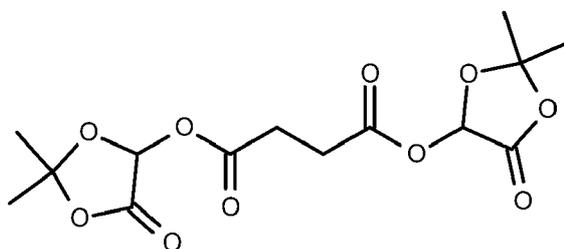
(V) es



(V)

5 en la que R₄ es H o alquilo C₁-C₃ y R' y R'' son independientemente H, alquilo C₁-C₃, o se unen juntos formando un anillo.

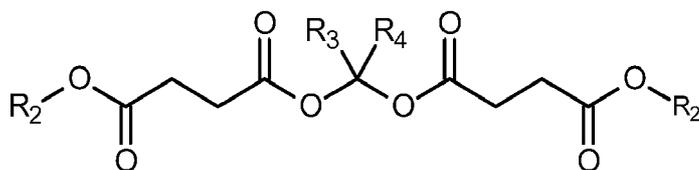
El compuesto puede ser un compuesto según la fórmula (Va) donde la fórmula (Va) es



(Va)

10

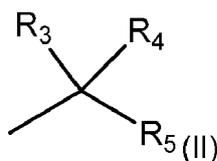
El compuesto puede ser un compuesto según la fórmula XI donde la fórmula XI es



(XI)

15

en la que R₃ y R₄ son independientemente H, alquilo C₁-C₃, o se unen juntos formando un anillo y cada R₂ puede ser independientemente un grupo según la fórmula (II) donde la fórmula (II) es



20

en la que R₃ es H, alquilo C₁-C₃, o se une junto con R₅ mediante un grupo de fórmula COO(CR'R'')O formando un anillo, donde R' y R'' son independientemente H, alquilo C₁-C₃, o se unen juntos formando un anillo;

R₄ es H;

25

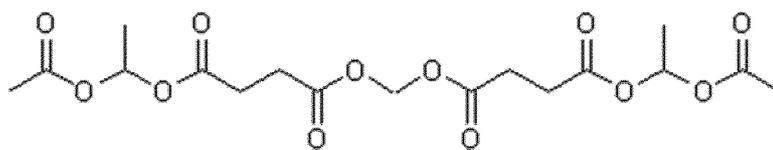
R₅ es OCOR_a, OCOOR_b, OCONR_cR_d, CONR_cR_d o se une a R₃ mediante un grupo de fórmula COO(CR'R'')O formando un anillo, donde R' y R'' son independientemente H, alquilo C₁-C₃, o se unen juntos formando un anillo; donde

30 R_a es metilo, etilo o cicloalquilo;

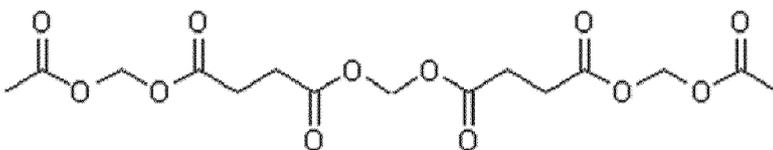
R_b es alquilo C₁-C₃;

35 R_c y R_d son independientemente H, alquilo o se unen juntos formando un anillo que puede contener uno o más heteroátomos adicionales.

El compuesto puede seleccionarse de

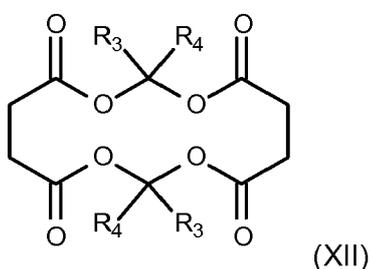


o



5

El compuesto puede ser un compuesto según la fórmula XII donde la fórmula XII es



10

en la que R_3 y R_4 son independientemente H, alquilo C_1-C_3 , o se unen juntos formando un anillo.

Los compuestos tal como se describen en el presente documento pueden usarse en medicina o en cosmética, o en la fabricación de una composición para tal uso. El medicamento puede usarse en el tratamiento de enfermedades metabólicas, o en el tratamiento de enfermedades de disfunción mitocondrial, tratando o suprimiendo trastornos mitocondriales. Los compuestos pueden usarse en la estimulación de la producción mitocondrial de energía. Los compuestos pueden usarse en el tratamiento de cáncer y tras hipoxia, isquemia, accidente cerebrovascular, infarto de miocardio, angina de pecho aguda, una lesión renal aguda, oclusión coronaria y fibrilación auricular, o para evitar o contrarrestar lesiones por reperfusión.

20

Descripción de las figuras

La figura 1 es una figura esquemática del ensayo de examen del complejo II mitocondrial. Muestra el protocolo para evaluar sustratos mitocondriales permeables a células novedosos. En el ensayo, se reprime la función mitocondrial en células intactas con el inhibidor del complejo I respiratorio, rotenona. Los candidatos a fármaco se comparan con sustratos endógenos (succinato) antes y después de la permeabilización de la membrana plasmática para evaluar la mejora o inhibición bioenergética.

25

La figura 2 es una figura esquemática del ensayo de examen de respiración mitocondrial convergente. Describe el protocolo para evaluar la potencia de sustratos mitocondriales permeables a células novedosos. En el ensayo, se estimula la actividad mitocondrial desacoplando las mitocondrias con el protonóforo FCCP. Se valoran los candidatos a fármaco para obtener el nivel de respiración convergente máxima (derivada del complejo I y del complejo II). Tras la adición de rotenona, se obtiene estimulación dependiente del complejo II. Se añade el inhibidor del complejo II, antimicina, para evaluar el consumo de oxígeno no mitocondrial. La sustancia de referencia es succinato.

35

La figura 3 muestra el aumento en la respiración (flujo de oxígeno por unidad) con valoración escalonada de fármacos en comparación con el control (succinato de disodio) en plaquetas humanas intactas (ensayo descrito en la figura 2).

40

Descripción detallada

Pueden usarse compuestos según la presente invención para mejorar la producción de energía en las mitocondrias. En particular, los compuestos pueden usarse en medicina o en cosmética. Los compuestos pueden usarse en la prevención o el tratamiento de trastornos o enfermedades que tienen un componente que se relaciona con disfunción mitocondrial.

45

La mejora de la producción de energía es, por ejemplo, relevante en sujetos que padecen un defecto, trastorno o enfermedad mitocondrial. Las enfermedades mitocondriales resultan de la disfunción de las mitocondrias, que son

compartimentos especializados presentes en cada célula del organismo excepto en glóbulos rojos. Cuando las mitocondrias fallan, se genera cada vez menos energía dentro de la célula y se producirá lesión celular o incluso muerte celular. Si este proceso se repite en todo el organismo, la vida del sujeto en el que está ocurriendo esto se ve gravemente comprometida.

5 Las enfermedades de las mitocondrias aparecen con mayor frecuencia en órganos que requieren mucha energía, tales como el cerebro, corazón, hígado, músculos esqueléticos, riñón y el sistema endocrino y respiratorio.

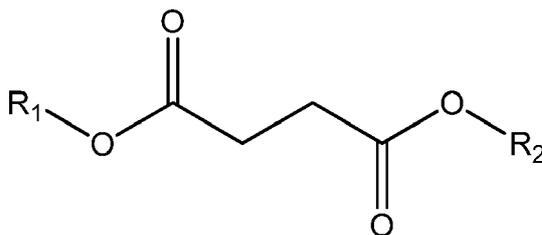
10 Los síntomas de una enfermedad mitocondrial pueden incluir pérdida del control motor, dolor y debilidad muscular, convulsiones, problemas visuales/auditivos, enfermedades cardíacas, enfermedades hepáticas, trastornos gastrointestinales, dificultades para tragar y más.

15 Una enfermedad mitocondrial puede heredarse o puede deberse a mutaciones espontáneas, que conducen a funciones alteradas de las proteínas o moléculas de ARN que residen normalmente en las mitocondrias.

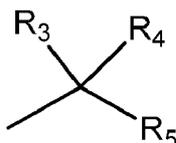
Se ha encontrado que muchas enfermedades implican una deficiencia mitocondrial tal como una deficiencia del complejo I, II, III o IV o una deficiencia enzimática como, por ejemplo, deficiencia de piruvato deshidrogenasa. Sin embargo, el panorama es complejo y muchos factores pueden estar implicados en las enfermedades.

20 Hasta ahora, no hay disponibles tratamientos curativos. Los únicos tratamientos disponibles son los que pueden aliviar los síntomas y retrasar el avance de la enfermedad. Por consiguiente, los hallazgos de los presentes inventores y descritos en el presente documento son muy importantes ya que demuestran el efecto beneficioso de los compuestos de ácido succínico sobre la producción de energía en las mitocondrias.

25 En el presente documento se da a conocer un succinato protegido de fórmula (I)



30 en la que R₁ es H, una sal farmacéuticamente aceptable, un grupo alquilo o un grupo de fórmula (II) y R₂ es independientemente un grupo según la fórmula (II) donde la fórmula (II) es



35 en la que R₃ es H, alquilo C₁-C₃, o se une junto con R₅ mediante un grupo de fórmula COO(CR'R'')O formando un anillo, donde R' y R'' son independientemente H, alquilo C₁-C₃, o se unen juntos formando un anillo;

R₄ es H;

40 R₅ es OCOR_a, OCOOR_b, OCONR_cR_d, CONR_cR_d o se une a R₃ mediante un grupo de fórmula COO(CR'R'')O formando un anillo, donde R' y R'' son independientemente H, alquilo C₁-C₃, o se unen juntos formando un anillo; donde

R_a es CH₃, CH₂CH₃, CH(CH₃)₂, C(CH₃)₃ o cicloalquilo;

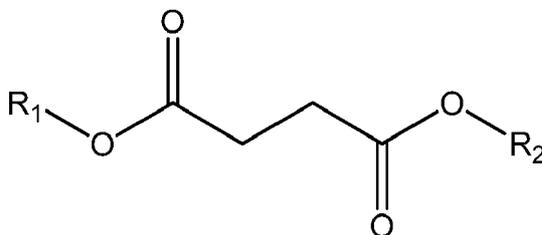
45 R_b es CH₃, CH₂CH₃, CH(CH₃)₂, C(CH₃)₃ o cicloalquilo;

R_c y R_d son independientemente H, metilo o etilo o se unen juntos formando un anillo que puede contener uno o más heteroátomos adicionales;

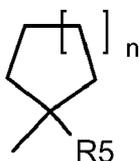
50 y en la que el compuesto según la fórmula (I) no es éster bis(2,2-dimetilpropioniloximetílico) de ácido succínico ni éster mono-[2-(dietilamino)-2-oxietílico] de ácido succínico.

En determinados ejemplos de los compuestos, R₃ y/o R₄ pueden ser metilo o etilo. R₃ puede ser H. R₃ puede ser alcoxilo C₁-C₃, por ejemplo, metoxilo o etoxilo. R₄ puede ser H. Si cada extremo del succinato son versiones

5 diferentes de fórmula (II), entonces R_3 y R_4 pueden ser diferentes en cada extremo de la molécula de succinato. R_3 y R_4 pueden unirse juntos formando un anillo. R_3 y R_5 pueden unirse juntos formando un anillo. El anillo puede ser un anillo todo de carbono, o puede contener heteroátomos adicionales. El anillo de R_3 - R_5 puede contener una o más uniones $OCR'R''O$ donde R' y R'' son independientemente H, alquilo C_1 - C_3 , o se unen juntos formando un anillo. Los compuestos pueden ser de fórmula:



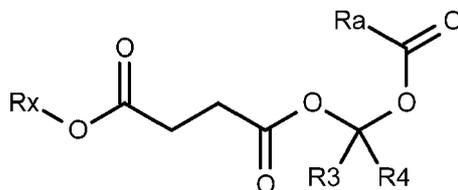
10 donde R_1 es H o una sal farmacéuticamente aceptable, o un grupo alquilo o un grupo de fórmula (II) y R_2 es independientemente un grupo según la fórmula (II) donde la fórmula (II) es



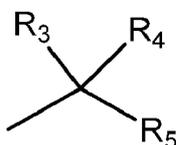
15 donde n es 0-4 y R_5 se une a R_1 formando un anillo o R_5 se selecciona de $OCOR_a$, $OCOOR_b$, $OCNR_cR_d$ o $CONR_cR_d$ donde R_a es alquilo, R_b es alquilo, R_c y R_d son independientemente H, alquilo o se unen juntos formando un anillo que puede contener uno o más heteroátomos adicionales.

20 En determinados ejemplos de los compuestos R_5 puede ser un éster alquílico siempre que el éster alquílico no contenga un resto succinato ($O_2CCH_2CH_2CO_2$) adicional. R_5 puede ser un éster alquílico con la excepción de éster butílico donde R_5 es $OCOCH_2CH_2CH_3$. R_5 puede ser $OCOR_a$ donde R_a es CH_3 , CH_2CH_3 , $CH(CH_3)_2$ o $C(CH_3)_3$.

Compuestos a modo de ejemplo pueden ser de fórmula

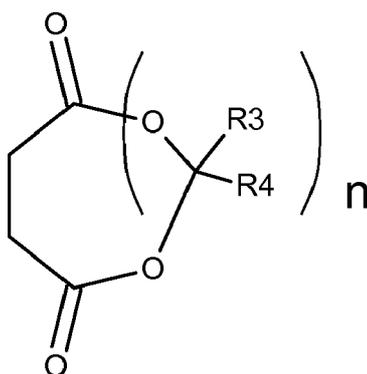


25 donde R_3 y R_4 son independientemente H, alquilo C_1 - C_3 , o se unen juntos formando un anillo, R_a es CH_3 , CH_2CH_3 , $CH(CH_3)_2$ o $C(CH_3)_3$ y R_x es H o una sal farmacéuticamente aceptable o alquilo o un alquilo o un grupo de fórmula (II) donde la fórmula (II) es

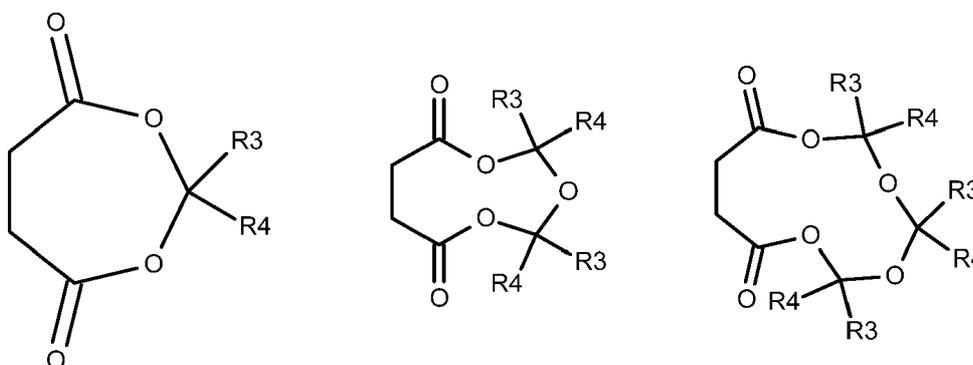


30 donde R_3 y R_4 son independientemente H, alquilo C_1 - C_3 , o se unen juntos formando un anillo y donde R_5 se selecciona de $OCOR_a$, $OCOOR_b$, $OCNR_cR_d$ o $CONR_cR_d$ donde R_a es alquilo, R_b es alquilo, R_c y R_d son independientemente H, alquilo o se unen juntos formando un anillo que puede contener uno o más heteroátomos adicionales.

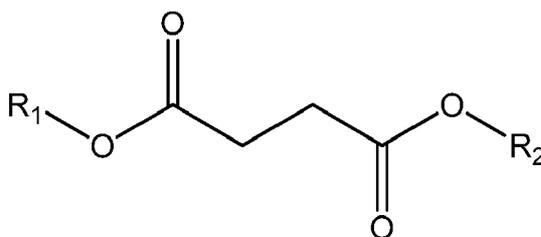
35 Compuestos a modo de ejemplo pueden ser donde R_1 y R_5 se unen juntos formando un anillo y el anillo comprende uno o más grupos acetal. Los compuestos pueden incluir aquellos según la fórmula (III)



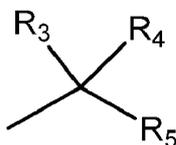
- 5 donde R_3 y R_4 son independientemente H, alquilo C_1-C_3 , o se unen juntos formando un anillo y n es 1-3. En determinados ejemplos de los compuestos, R_3 y/o R_4 pueden ser metilo o etilo. R_3 puede ser H. R_4 puede ser H. Si n es mayor de 1, cada uno de los grupos R_3 y R_4 pueden ser diferentes en cada resto acetal. R_3 y R_4 pueden unirse juntos formando un anillo. El anillo puede ser un anillo todo de carbono, o puede contener heteroátomos adicionales. A continuación se muestran ejemplos en los que n es 1, 2 y 3:



- 10 Compuestos a modo de ejemplo pueden ser de tipo

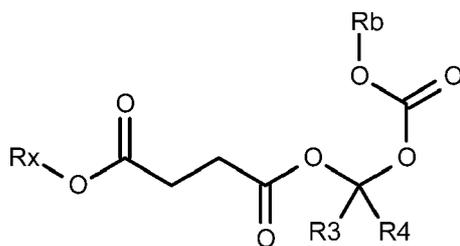


- 15 en el que R_1 es H o un grupo alquilo o un grupo de fórmula (II) y R_2 es independientemente un grupo según la fórmula (II) donde la fórmula (II) es

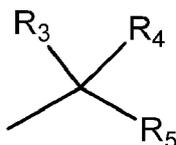


- 20 en la que R_3 y R_4 son independientemente H, alquilo C_1-C_3 , o se unen juntos formando un anillo y R_5 es $OCOR_b$ donde R_b es alquilo. En tales casos R_b puede ser metilo o etilo.

Compuestos a modo de ejemplo pueden ser de fórmula

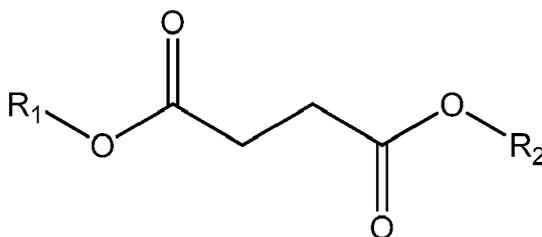


5 donde R_3 y R_4 son independientemente H, alquilo C_1-C_3 , o se unen juntos formando un anillo, R_b es H, alquilo o alquilo y R_x es H o una sal farmacéuticamente aceptable o alquilo o alquilo o un grupo de fórmula (II) donde la fórmula (II) es

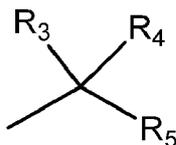


10 donde R_3 y R_4 son independientemente H, alquilo C_1-C_3 , o se unen juntos formando un anillo y donde R_5 se selecciona de $OCOR_a$, $OCOOR_b$, $CONR_cR_d$ o $CONR_cR_d$ donde R_a es alquilo, R_b es alquilo, R_c y R_d son independientemente H, alquilo o se unen juntos formando un anillo que puede contener uno o más heteroátomos adicionales.

15 Compuestos a modo de ejemplo pueden ser de tipo



20 donde R_1 es H o un grupo alquilo o un grupo de fórmula (II) y R_2 es independientemente un grupo según la fórmula (II) donde la fórmula (II) es

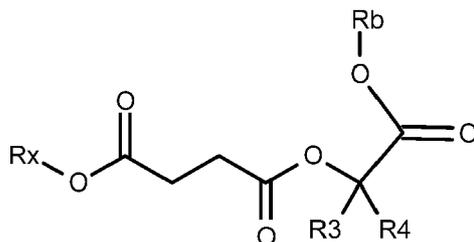


25 donde R_3 se une junto con R_5 mediante un grupo de fórmula $COO(CR'R'')O$ formando un anillo, donde R' y R'' son independientemente H, alquilo C_1-C_3 , o se unen juntos formando un anillo;

R_4 es H o alquilo C_1-C_3 ; y

30 R_5 se une a R_3 mediante un grupo de fórmula $COO(CR'R'')O$ formando un anillo, donde R' y R'' son independientemente H, alquilo C_1-C_3 , o se unen juntos formando un anillo.

Compuestos a modo de ejemplo pueden ser de fórmula

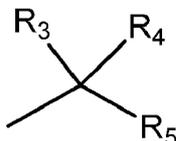


donde R_3 se une junto con R_b formando un anillo;

R_4 es H, alquilo C_1-C_3 ;

5 R_b se une a R_3 ; y

R_x es H o una sal farmacéuticamente aceptable o alquilo o alquilo o un grupo de fórmula (II) donde la fórmula (II) es



10

donde R_3 es H, alquilo C_1-C_3 , O-alquilo C_1-C_3 , o se une junto con R_4 o R_5 formando un anillo;

R_4 es H, alquilo C_1-C_3 , o se une junto con R_3 formando un anillo;

15 R_5 se selecciona de $OCOR_a$, $OCOOR_b$, $COOR_b$, $OCONR_cR_d$ o $CONR_cR_d$ o R_5 se une a R_3 formando un anillo que contiene una o más uniones $OCR'R''O$ donde R' y R'' son independientemente H, alquilo C_1-C_3 , o se unen juntos formando un anillo;

R_a es alquilo o cicloalquilo;

20

R_b es alquilo;

R_c y R_d son independientemente H, alquilo o se unen juntos formando un anillo que puede contener uno o más heteroátomos adicionales;

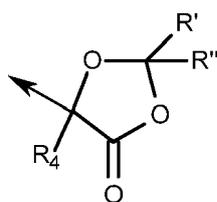
25

R_e es alquilo; y

R_f y R_g son independientemente H, metilo, etilo o se unen juntos formando un anillo.

30 En tales casos R_3 y R_5 pueden unirse mediante un grupo formando un anillo que contiene una o más uniones $OCR'R''O$ donde R' y R'' son independientemente H, alquilo C_1-C_3 , o se unen juntos formando un anillo. R_3 y R_5 pueden unirse mediante un grupo de fórmula $COO(CR'R'')O$ formando un anillo.

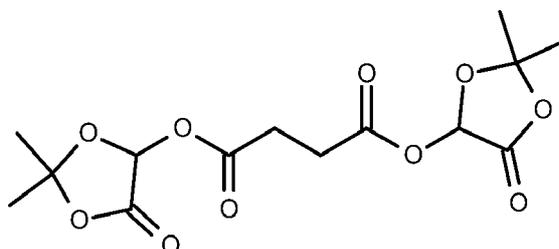
35 Cuando R_3 y R_b se unen juntos formando un anillo, el anillo puede comprender un resto de fórmula (V) donde la fórmula (V) es



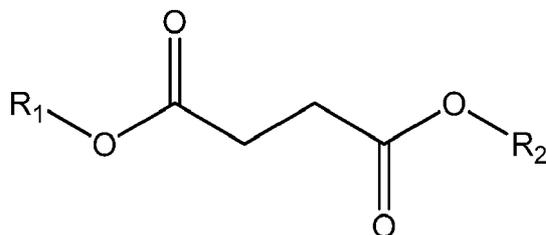
40 en la que R_4 es H o alquilo C_1-C_3 y R' y R'' son independientemente H, alquilo C_1-C_3 , o se unen juntos formando un anillo. R' y R'' pueden ser cada uno metilo.

Uno o ambos extremos del succinato pueden contener el anillo tal como se mostró anteriormente. Cuando ambos extremos del succinato contienen el anillo, el compuesto puede ser un compuesto según la fórmula (Va) donde la fórmula (Va) es

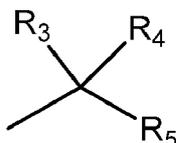
45



Compuestos a modo de ejemplo pueden ser de tipo

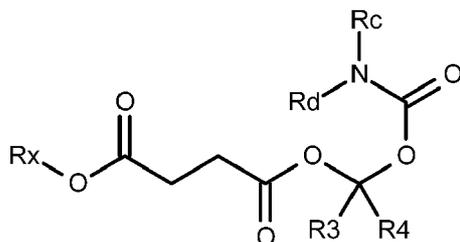


- 5 en el que R_1 es H o un grupo alquilo o un grupo de fórmula (II) y R_2 es independientemente un grupo según la fórmula (II) donde la fórmula (II) es

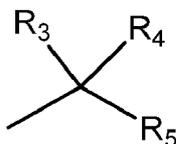


- 10 en la que R_3 y R_4 son independientemente H, alquilo C_1-C_3 , o se unen juntos formando un anillo y R_5 se selecciona de $OCONR_cR_d$ o $CONR_cR_d$ donde R_c y R_d son independientemente H, alquilo, alquilo o se unen juntos formando un anillo que puede contener uno o más heteroátomos adicionales. En tales casos cada R_c y R_d pueden ser metilo o etilo.

- 15 Compuestos a modo de ejemplo pueden ser de fórmula

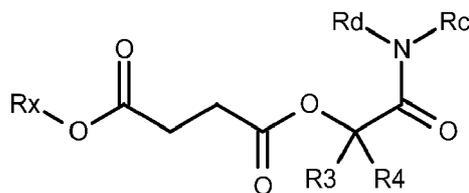


- 20 donde R_3 y R_4 son independientemente H, alquilo C_1-C_3 , o se unen juntos formando un anillo, R_c y R_d son independientemente H, alquilo, alquilo o se unen juntos formando un anillo que puede contener uno o más heteroátomos adicionales y R_x es H o una sal farmacéuticamente aceptable o alquilo o alquilo o un grupo de fórmula (II) donde la fórmula (II) es



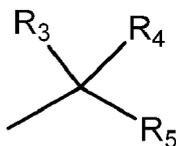
- 25 donde R_3 y R_4 son independientemente H, alquilo C_1-C_3 , o se unen juntos formando un anillo y donde R_5 se selecciona de $OCOR_a$, $OCOOR_b$, $OCONR_cR_d$ o $CONR_cR_d$ donde R_a es alquilo, R_b es alquilo, R_c y R_d son independientemente H, alquilo o se unen juntos formando un anillo que puede contener uno o más heteroátomos adicionales. En tales casos cada R_c y R_d pueden ser metilo o etilo.

- 30 Compuestos a modo de ejemplo pueden ser de fórmula



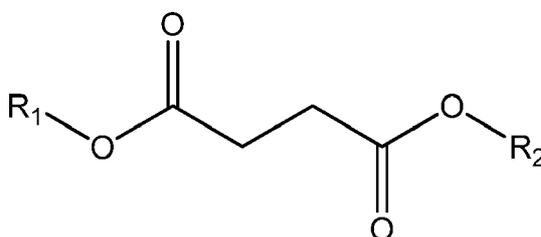
- 35 donde R_3 y R_4 son independientemente H, alquilo C_1-C_3 , o se unen juntos formando un anillo, R_c y R_d son independientemente H, alquilo, alquilo o se unen juntos formando un anillo que puede contener uno o más

heteroátomos adicionales y R_x es H o una sal farmacéuticamente aceptable o alquilo o alquilo o un grupo de fórmula (II) donde la fórmula (II) es

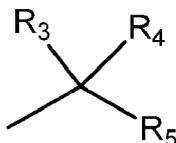


5 donde R_3 y R_4 son independientemente H, alquilo C_1-C_3 , o se unen juntos formando un anillo y donde R_5 se selecciona de $OCOR_a$, $OCOOR_b$, $OCONR_cR_d$ o $CONR_cR_d$ donde R_a es alquilo, R_b es alquilo, R_c y R_d son independientemente H, alquilo o se unen juntos formando un anillo que puede contener uno o más heteroátomos adicionales. En tales casos cada R_c y R_d pueden ser metilo o etilo.

10 Compuestos a modo de ejemplo pueden ser de tipo

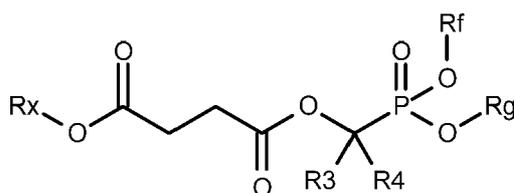


15 donde R_1 es H o un grupo alquilo o un grupo de fórmula (II) y R_2 es independientemente un grupo según la fórmula (II) donde la fórmula (II) es

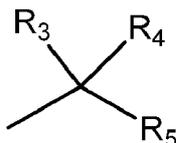


20 en la que R_3 y R_4 son independientemente H, alquilo C_1-C_3 , o se unen juntos formando un anillo y R_5 es $OPO(OR_f)(OR_g)$ donde R_f y R_g son independientemente H, metilo, etilo o se unen juntos formando un anillo.

Compuestos a modo de ejemplo pueden ser de fórmula



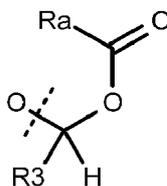
25 donde R_3 y R_4 son independientemente H, alquilo C_1-C_3 , o se unen juntos formando un anillo, R_f y R_g son independientemente H, una sal farmacéuticamente aceptable, metilo, etilo, propilo o se unen juntos formando un anillo y R_x es H o una sal farmacéuticamente aceptable o alquilo o alquilo o un grupo de fórmula (II) donde la fórmula (II) es



35 donde R_3 y R_4 son independientemente H, alquilo C_1-C_3 , o se unen juntos formando un anillo y donde R_5 se selecciona de $OCOR_a$, $OCOOR_b$, $OCONR_cR_d$, SO_2R_e , $OPO(OR_f)(OR_g)$ o $CONR_cR_d$ donde R_a es alquilo, R_b es alquilo opcionalmente sustituido, R_c y R_d son independientemente H, alquilo o se unen juntos formando un anillo que puede contener uno o más heteroátomos adicionales, R_e es alquilo, R_f y R_g son independientemente H, metilo, etilo o se unen juntos formando un anillo.

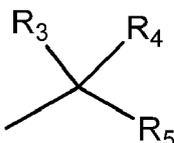
40 Los ejemplos a modo de ejemplo incluyen compuestos en los que uno o ambos extremos del compuesto de

succinato están protegidos con un resto seleccionado de:



5 donde R_3 es H, metilo o etilo y R_a es CH_3 , CH_2CH_3 , $CH(CH_3)_2$ o $C(CH_3)_3$.

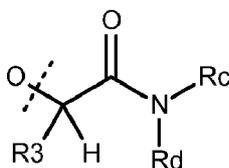
El otro extremo del succinato puede ser H o una sal farmacéuticamente aceptable o grupo alquilo o un grupo de fórmula (II) donde la fórmula (II) es



10 donde R_3 y R_4 son independientemente H, alquilo C_1-C_3 , o se unen juntos formando un anillo y donde R_5 se selecciona de $OCOR_a$, $OCOOR_b$, $CONR_cR_d$, SO_2R_e , $OPO(OR_f)(OR_g)$ o $CONR_cR_d$ donde R_a es alquilo, R_b es alquilo, R_c y R_d son independientemente H, alquilo o se unen juntos formando un anillo que puede contener uno o más heteroátomos adicionales, R_e es alquilo, R_f y R_g son independientemente H, metilo, etilo o se unen juntos formando un anillo.

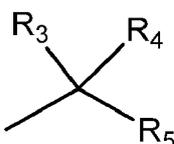
Los ejemplos a modo de ejemplo incluyen compuestos en los que uno de los extremos del compuesto de succinato está protegido con un resto seleccionado de:

20



donde R_3 es H, metilo o etilo y R_c y R_d son independientemente H, CH_3 o CH_2CH_3 .

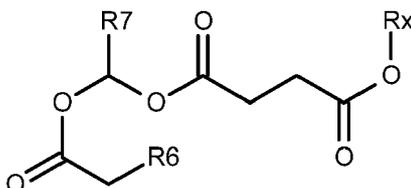
25 El otro extremo del succinato puede ser H o una sal farmacéuticamente aceptable o grupo alquilo o un grupo de fórmula (II) donde la fórmula (II) es



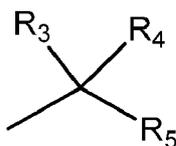
30 donde R_3 y R_4 son independientemente H, alquilo C_1-C_3 , o se unen juntos formando un anillo y donde R_5 se selecciona de $OCOR_a$, $OCOOR_b$, $CONR_cR_d$, SO_2R_e , $OPO(OR_f)(OR_g)$ o $CONR_cR_d$ donde R_a es alquilo, R_b es alquilo, R_c y R_d son independientemente H, alquilo o se unen juntos formando un anillo que puede contener uno o más heteroátomos adicionales, R_e es alquilo, R_f y R_g son independientemente H, metilo, etilo o se unen juntos formando un anillo.

35

Los compuestos a modo de ejemplo pueden incluir los de la fórmula

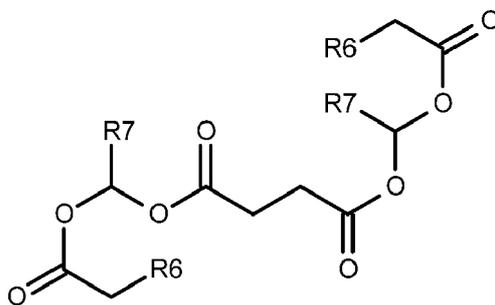


40 donde R_7 es H, metilo o etilo, R_6 es H o metilo y R_x es H o una sal farmacéuticamente aceptable o alquilo o alquilo o un grupo de fórmula (II) donde la fórmula (II) es



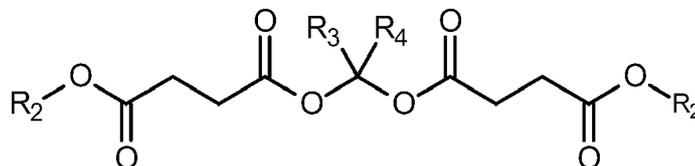
5 donde R_3 y R_4 son independientemente H, alquilo C_1-C_3 , o se unen juntos formando un anillo y donde R_5 se selecciona de $OCOR_a$, $OCOOR_b$, $OCONR_cR_d$, SO_2R_e , $OPO(OR_f)(OR_g)$ o $CONR_cR_d$ donde R_a es alquilo, R_b es alquilo, R_c y R_d son independientemente H, alquilo o se unen juntos formando un anillo que puede contener uno o más heteroátomos adicionales, R_e es alquilo, R_f y R_g son independientemente H, metilo, etilo o se unen juntos formando un anillo.

10 Los compuestos a modo de ejemplo pueden incluir los de la fórmula

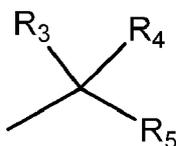


15 donde cada R_7 es independientemente H, metilo o etilo y cada R_6 es independientemente H o metilo.

Los compuestos a modo de ejemplo pueden incluir disuccinatos en los que se unen juntos dos restos succinato por medio de una unión acetal. Los compuestos a modo de ejemplo pueden incluir los de la fórmula



20 en la que R_3 y R_4 son independientemente H, alquilo C_1-C_3 , o se unen juntos formando un anillo y cada R_2 puede ser independientemente un grupo según la fórmula (II) donde la fórmula (II) es



25 en la que R_3 es H, alquilo C_1-C_3 , o se une junto con R_5 mediante un grupo de fórmula $COO(CR'R'')O$ formando un anillo, donde R' y R'' son independientemente H, alquilo C_1-C_3 , o se unen juntos formando un anillo;

R_4 es H;

30 R_5 es $OCOR_a$, $OCOOR_b$, $OCONR_cR_d$, SO_2R_e , $OPO(OR_f)(OR_g)$, $CONR_cR_d$ o se une a R_3 mediante un grupo de fórmula $COO(CR'R'')O$ formando un anillo, donde R' y R'' son independientemente H, alquilo C_1-C_3 , o se unen juntos formando un anillo; donde

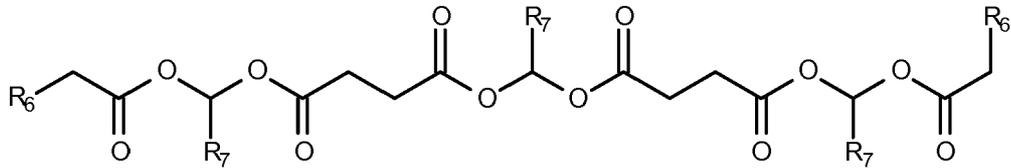
35 R_a es alquilo C_1-C_3 o cicloalquilo;

R_b es alquilo C_1-C_3 ;

40 R_c y R_d son independientemente H, alquilo o se unen juntos formando un anillo que puede contener uno o más heteroátomos adicionales; R_e es alquilo; y

R_f y R_g son independientemente H, metilo, etilo o se unen juntos formando un anillo.

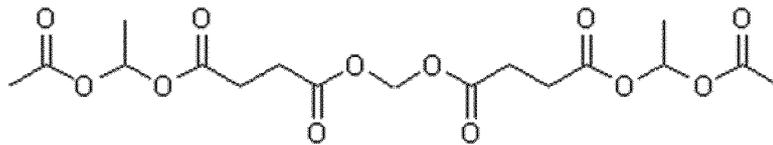
Los compuestos a modo de ejemplo pueden incluir los de la fórmula XV



5

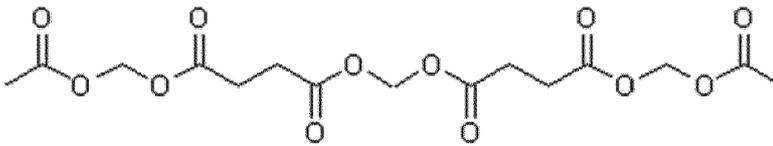
donde cada R₇ es independientemente H, metilo o etilo y cada R₆ es independientemente H o metilo.

El compuesto puede seleccionarse de



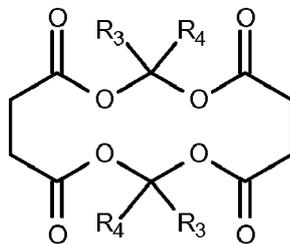
10

o



15

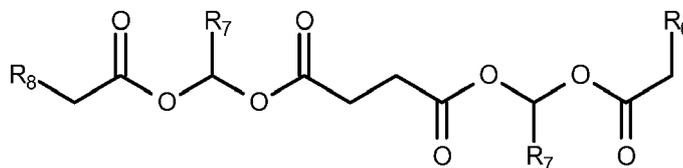
El compuesto puede ser un compuesto según la fórmula



20

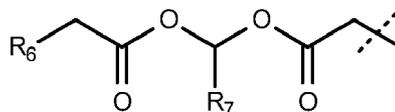
en la que R₃ y R₄ son independientemente H, alquilo C₁-C₃, o se unen juntos formando un anillo.

Los compuestos a modo de ejemplo pueden incluir los de la fórmula XIII



25

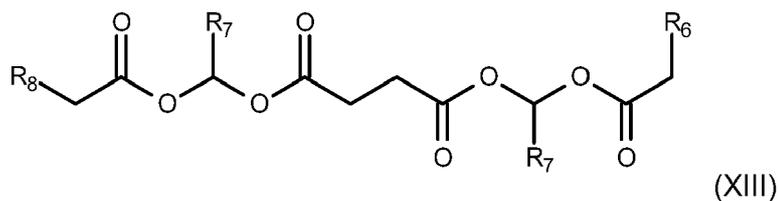
donde cada R₇ es independientemente H, metilo o etilo, R₆ es independientemente H o metilo y R₈ es H, metilo o un resto según la fórmula



30

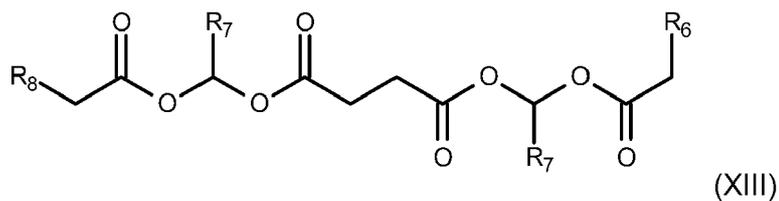
en la que R₇ es independientemente H, metilo o etilo y R₆ es independientemente H o metilo.

Por consiguiente, en una realización específica los compuestos a modo de ejemplo pueden ser según la fórmula XIII

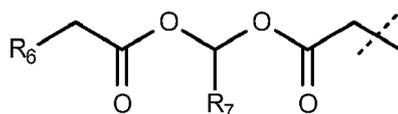


en la que cada R_6 y R_8 es H y en la que cada R_7 es independientemente H o metilo.

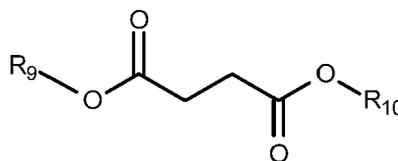
5 En una realización específica adicional, los compuestos a modo de ejemplo pueden ser según la fórmula (XIII)



10 en la que R_6 es H y en la que cada R_7 es independientemente H o metilo, y en la que R_8 es un resto según la fórmula

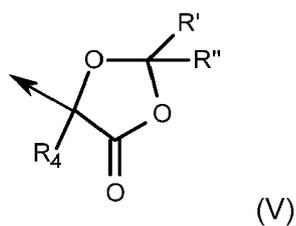


15 Los compuestos a modo de ejemplo pueden incluir los de la fórmula



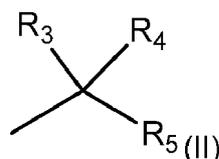
en la que R_9 es un resto seleccionado de:

20 i) un resto de fórmula (V) donde la fórmula (V) es



25 donde R_4 es H o alquilo C_1-C_3 y R' y R'' son independientemente H, alquilo C_1-C_3 , o se unen juntos formando un anillo; o

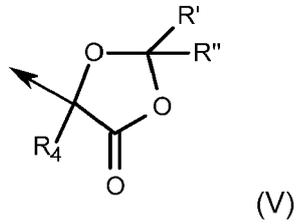
ii) un resto de fórmula (II)



30 donde R_4 es H, R_3 es H o alquilo C_1-C_3 y R_5 es $OCOR_a$, donde R_a es metilo, etilo o cicloalquilo o forma parte de un resto succinato $CH_2CH_2CO_2^-$ adicional; y

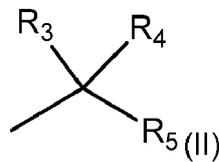
R_{10} es un resto seleccionado de:

i) un resto de fórmula (V) donde la fórmula (V) es



5 donde R₄ es H o alquilo C₁-C₃ y R' y R'' son independientemente H, alquilo C₁-C₃, o se unen juntos formando un anillo;

10 ii) un resto de fórmula (II)



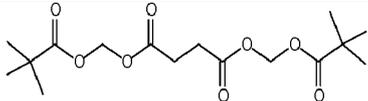
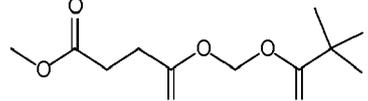
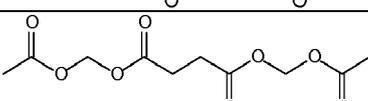
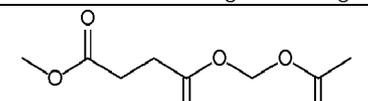
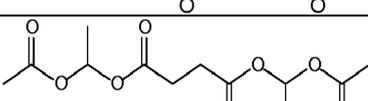
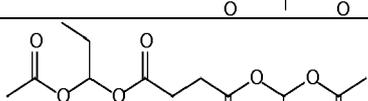
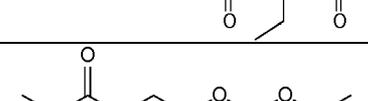
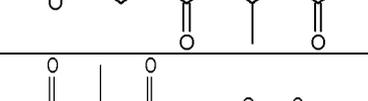
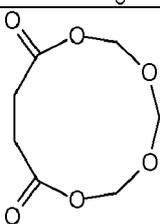
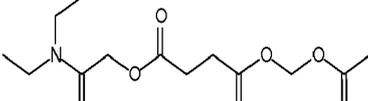
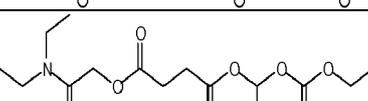
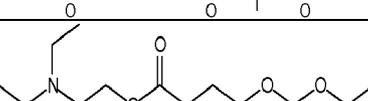
donde R₄ es H, R₃ es H o alquilo C₁-C₃ y R₅ es OCOR_a, donde R_a es metilo, etilo o cicloalquilo.

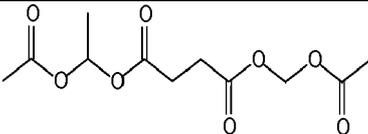
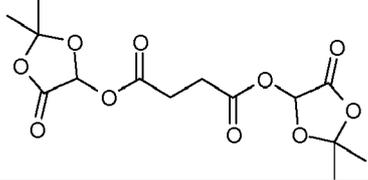
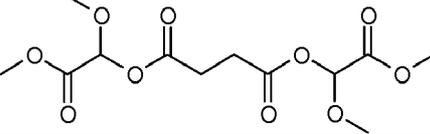
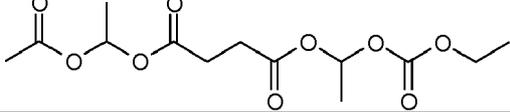
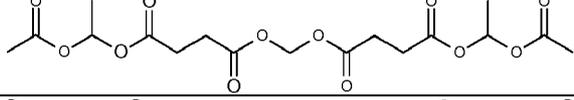
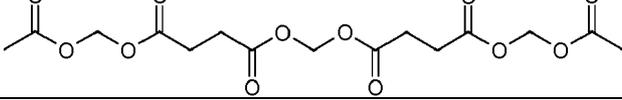
15 Los compuestos de la invención pueden incluir un compuesto de succinato o disuccinato que tiene uno o más de los grupos carboxilo de ácido succínico protegidos por los siguientes grupos:

Pueden excluirse compuestos de éster bis(2,2-dimetilpropioniloximetílico) de ácido succínico, éster dibutiriloximetílico de ácido succínico y éster bis-(1-butiloxietílico) de ácido succínico conocidos de cualquier reivindicación particular según se requiera.

5

Compuestos a modo de ejemplo se muestran a continuación como ejemplos 1-18:

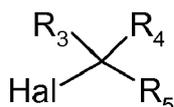
1		Éster bis(2,2-dimetilpropioniloximetílico) de ácido succínico; compuesto AN-192 en el documento WO0228345
2		Éster metílico del éster 2,2-dimetilpropioniloximetílico de ácido succínico
3		Éster diacetoximetílico de ácido succínico
4		Éster metílico del éster acetoximetílico de ácido succínico
5		Éster bis-(1-acetoxietílico) de ácido succínico
6		Éster metílico del éster 1-acetoxietílico de ácido succínico
7		Éster (1-acetoxipropílico) de ácido succínico
8		Éster bis-(1-propioniloxietílico) de ácido succínico
9		1,3,5,7-Tetraoxa-cicloundecano-8,11-diona
10		Éster dietilcarbamoilmetílico del éster acetoximetílico de ácido succínico
11		Éster 1-etoxicarboniloxietílico del éster dietilcarbamoilmetílico de ácido succínico
12		Éster dietilcarbamoilmetílico del éster 1-acetoxietílico de ácido succínico

13		Éster acetoximetílico del éster 1-acetoxietílico de ácido succínico
14		Éster bis-(2,2-dimetil-5-oxo-[1,3]dioxolan-4-ílico) de ácido succínico
15		Éster bis-(metoxi-metoxicarbonilmético) de ácido succínico
16		Éster 1-etoxicarboniloxietílico del éster 1-acetoxietílico de ácido succínico
17		Éster 1-acetoxietílico del éster 3-(1-acetoxietoxicarbonil)-propioniloximetílico de ácido succínico
18		Éster acetoximetílico del éster 3-acetoximetoxicarbonilpropioniloximetílico de ácido succínico

Métodos para preparar los succinatos protegidos de la invención

5 El experto reconocerá que los succinatos protegidos de la invención pueden prepararse, de manera conocida, en una variedad de formas. Las rutas a continuación son meramente ilustrativas de algunos métodos que pueden emplearse para la síntesis de compuestos de fórmula (I).

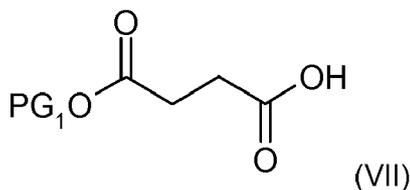
10 La presente invención proporciona además un procedimiento para la preparación de un compuesto de fórmula (I) que comprende hacer reaccionar ácido succínico con el compuesto de fórmula (VI)



15 en la que Hal representa un halógeno (por ejemplo F, Cl, Br o I) y R₃, R₄ y R₅ son tal como se definieron en la fórmula (I).

20 La reacción de ácido succínico y el compuesto para la fórmula (VI) puede llevarse a cabo convenientemente en un disolvente tal como diclorometano, acetona, acetonitrilo o *N,N*-dimetilformamida con una base adecuada tal como trietilamina, diisopropilamina o carbonato de cesio a una temperatura, por ejemplo, en el intervalo de desde -10°C hasta 80°C, particularmente a temperatura ambiente. La reacción puede realizarse con aditivos opcionales tales como yoduro de sodio o haluros de tetraalquilamonio (por ejemplo, yoduro de tetrabutilamonio).

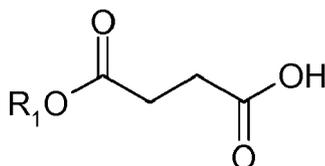
Para compuestos de fórmula (I) en la que R₁ y R₂ son diferentes grupos de fórmula (II), el compuesto de fórmula (I) puede prepararse haciendo reaccionar un grupo de fórmula (VII)



25 en la que PG₁ es un grupo protector tal como *tert*-butilo, bencilo o 4-metoxibencilo, con un grupo de fórmula (VI) en

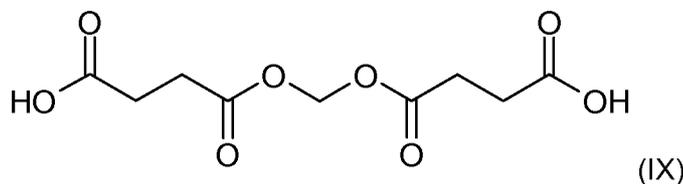
las condiciones señaladas anteriormente seguido por desprotección del grupo protector en condiciones apropiadas tales como ácido trifluoroacético o ácido clorhídrico en un disolvente tal como diclorometano o mediante hidrogenación (grupos arilo) con un catalizador tal como paladio sobre carbono en un disolvente tal como acetato de etilo, seguido por la reacción del compuesto resultante con un grupo diferente de fórmula (VI) en las condiciones señaladas anteriormente para reaccionar con el carboxilato desprotegido.

Para compuestos de fórmula (I) en la que R₁ es un grupo alquilo y R₂ es un grupo de fórmula (II), el compuesto de fórmula (I) puede prepararse haciendo reaccionar un grupo de fórmula (VIII)



con un grupo de fórmula (VI) en las condiciones señaladas anteriormente.

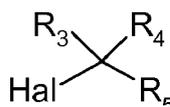
Pueden prepararse convenientemente compuestos de disuccinato protegidos mediante la reacción de un grupo de fórmula (IX)



con un grupo de fórmula (VI) en las condiciones señaladas anteriormente. Los compuestos de fórmula (IX) pueden prepararse convenientemente mediante la reacción de un compuesto de fórmula (VII) con diclorometano en un disolvente adecuado tal como diclorometano con un aditivo adecuado tal como hidrogenosulfato de tetrabutilo. El bis-éster resultante puede hidrolizarse posteriormente mediante tratamiento con un ácido tal como ácido trifluoroacético o ácido clorhídrico en un disolvente tal como diclorometano para dar los compuestos de fórmula (IX).

Los compuestos de fórmula (VII) y (VIII) o bien están disponibles comercialmente o bien pueden prepararse convenientemente mediante métodos de la bibliografía tales como los señalados en Journal of Organic Chemistry, 72(19), 7253-7259; 2007.

Los compuestos de fórmula (VI)



o bien están disponibles comercialmente o bien pueden prepararse convenientemente mediante métodos de la bibliografía tales como los señalados en Journal of the American Chemical Society, 43, 660-7; 1921 o Journal of medicinal chemistry (1992), 35(4), 687-94.

En la medida en que cualquiera de los compuestos descritos tiene centros quirales, la presente invención se extiende a todos los isómeros ópticos de tales compuestos, ya sea en forma de racematos o de enantiómeros resueltos.

Los compuestos de la invención pueden formar sales farmacéuticamente aceptables. Las sales farmacéuticamente aceptables que pueden mencionarse incluyen sales de adición de ácido y sales de adición de base. Tales sales pueden formarse mediante medios convencionales, por ejemplo mediante la reacción de una forma de ácido libre o de base libre de un compuesto con uno o más equivalentes de un ácido o base apropiados, opcionalmente en un disolvente, o en un medio en el que la sal es insoluble, seguid por eliminación de dicho disolvente, o dicho medio, usando técnicas convencionales (por ejemplo a vacío, mediante liofilización o mediante filtración). También pueden prepararse sales mediante intercambio de un contraión de un compuesto en forma de una sal por otro contraión, por ejemplo, usando una resina de intercambio iónico adecuada.

Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales de adición de ácido derivadas de ácidos minerales y ácidos orgánicos, y sales derivadas de metales tales como sodio, magnesio, o preferiblemente, potasio y calcio o bases orgánicas tales como sales de amonio, etanolamina, N,N-dialquiletanolaminas o morfolina.

Los ejemplos de sales de adición de ácido incluyen sales de adición de ácido formadas con ácido acético, 2,2-dicloroacético, adipico, algínico, arílico, sulfónico (por ejemplo, bencenosulfónico, naftaleno-2-sulfónico, naftalen-1,5-disulfónico y p-toluenosulfónico), ascórbico (por ejemplo L-ascórbico), L-aspártico, benzoico, 4-acetamidobenzoico, butanoico, (+)-canfórico, canfor-sulfónico, (+)-(1S)-canfor-10-sulfónico, cáprico, caproico, caprílico, cinámico, cítrico, ciclámico, dodecilsulfúrico, etano-1,2-disulfónico, etanosulfónico, 2-hidroxietanosulfónico, fórmico, fumárico, galactárico, gentísico, glucoheptónico, glucónico (por ejemplo D-glucónico), glucurónico (por ejemplo D-glucurónico), glutámico (por ejemplo L-glutámico), α -oxoglutarico, glicólico, hipúrico, bromhídrico, clorhídrico, yodhídrico, isetiónico, láctico (por ejemplo (+)-L-láctico y (\pm)-DL-láctico), lactobiónico, maleico, málico (por ejemplo (-)-L-málico), malónico, (\pm)-DL-mandélico, metafosfórico, metanosulfónico, 1-hidroxi-2-naftoico, nicotínico, nítrico, oleico, orótico, oxálico, palmítico, pamoico, fosfórico, propiónico, L-piroglutámico, salicílico, 4-amino-salicílico, sebácico, esteárico, succínico, sulfúrico, tánico, tartárico (por ejemplo(+)-L-tartárico), tiociánico, undecilénico y valérico. Ejemplos particulares de sales son sales derivadas de ácidos minerales tales como ácido clorhídrico, bromhídrico, fosfórico, metafosfórico, nítrico y sulfúrico; de ácidos orgánicos, tales como ácido tartárico, acético, cítrico, málico, láctico, fumárico, benzoico, glicólico, glucónico, succínico, arilsulfónico; y de metales tales como sodio, magnesio, o preferiblemente, potasio y calcio.

También se considera cualquier solvato de los compuestos y sus sales. Solvatos preferidos son solvatos formados por la incorporación en la estructura de estado sólido (por ejemplo, estructura cristalina) de los compuestos de la invención de moléculas de un disolvente farmacéuticamente aceptable no tóxico (denominado a continuación disolvente de solvatación). Los ejemplos de tales disolventes incluyen agua, alcoholes (tales como etanol, isopropanol y butanol) y dimetilsulfóxido. Pueden prepararse solvatos recristalizando los compuestos de la invención con un disolvente o mezcla de disolventes que contiene el disolvente de solvatación. Si se ha formado un solvato o no en cualquier caso puede determinarse sometiendo cristales del compuesto a análisis usando técnicas convenciones y bien conocidas tales como análisis termogravimétrico (TGE), calorimetría diferencial de barrido (DSC) y cristalografía de rayos X.

Los solvatos pueden ser solvatos estequiométricos o no estequiométricos. Solvatos particulares pueden ser hidratos, y los ejemplos de hidratos incluyen hemihidratos, monohidratos y dihidratos.

Para una discusión más detallada de solvatos y los métodos usados para producirlos y caracterizarlos, véase Bryn *et al.*, Solid-State Chemistry of Drugs, segunda edición, publicado por SSCI, Inc de West Lafayette, IN, EE.UU., 1999, ISBN 0-967-06710-3.

35 Mitocondrias

Las mitocondrias son orgánulos en células eucariotas, denominadas popularmente las "centrales energéticas" de la célula. Una de sus principales funciones es la fosforilación oxidativa. La molécula adenosín trifosfato (ATP) funciona como "moneda" de energía o portador de energía en la célula, y las células eucariotas derivan la mayor parte de su ATP a partir de procesos bioquímicos llevados a cabo por las mitocondrias. Estos procesos bioquímicos incluyen el ciclo del ácido cítrico (el ciclo de los ácidos tricarbónicos, o ciclo de Krebs), que genera dinucleótido de nicotinamida-adenina reducido ($\text{NADH}^{+H^{<+>}}$) a partir de dinucleótido de nicotinamida-adenina oxidado ($\text{NAD}^{<+>}$) y dinucleótido de flavina-adenina reducido (FADH₂) a partir de dinucleótido de flavina-adenina oxidado (FAD), así como fosforilación oxidativa, durante la cual $\text{NADH}^{+H^{<+>}}$ y FADH₂ vuelven a oxidarse a $\text{NAD}^{<+>}$ y FAD.

Los electrones liberados por la oxidación de $\text{NADH}^{+H^{<+>}}$ son transportados por una serie de complejos proteicos (complejo I, complejo II, complejo III y complejo IV) conocidos como cadena respiratoria. La oxidación del succinato se produce en el complejo II (complejo de succinato deshidrogenasa) y FAD es parte del complejo. Los complejos respiratorios están incrustados en la membrana interna de la mitocondria. El complejo IV, al final de la cadena, transfiere los electrones al oxígeno, que se reduce a agua. La energía liberada según atraviesan estos electrones los complejos se usa para generar un gradiente de protones a lo largo de la membrana interna de la mitocondria, lo que crea un potencial electroquímico a través de la membrana interna. Otro complejo proteico, el complejo V (que no está asociado directamente con los complejos I, II, III y IV) usa la energía almacenada por el gradiente electroquímico para convertir ADP en ATP.

El ciclo del ácido cítrico y la fosforilación oxidativa están precedidos por glicólisis, en la que una molécula de glucosa se descompone en dos moléculas de piruvato, con una generación neta de dos moléculas de ATP por molécula de glucosa. Entonces, las moléculas de piruvato entran en las mitocondrias, donde se oxidan completamente a CO₂ y H₂O por medio de fosforilación oxidativa (el proceso global se conoce como respiración aerobia). La oxidación completa de las dos moléculas de piruvato a dióxido de carbono y agua produce aproximadamente al menos 28-29 moléculas de ATP, además de las 2 moléculas de ATP generadas transformando glucosa en dos moléculas de piruvato. Si no está disponible oxígeno, la molécula de piruvato no entra en las mitocondrias, sino que más bien se convierte en lactato, en el proceso de respiración anaerobia.

La producción neta global por molécula de glucosa es, por tanto, de aproximadamente al menos 30-31 moléculas de ATP. Se usa el ATP para alimentar, directa o indirectamente, casi todas las demás reacciones bioquímicas en la

célula. Por tanto, las (aproximadamente) al menos 28 ó 29 moléculas de ATP extra aportadas por la fosforilación oxidativa durante la respiración aerobia son críticas para el funcionamiento adecuado de la célula. La falta de oxígeno impide la respiración aerobia y dará como resultado la muerte final de prácticamente todos los organismos aerobios; unos pocos organismos, tales como levadura, pueden sobrevivir usando o bien respiración aerobia o bien anaerobia.

Cuando las células en un organismo se ven privadas temporalmente de oxígeno, se utiliza respiración anaerobia hasta que el oxígeno vuelve a estar disponible o la célula muere. El piruvato generado durante la glicólisis se convierte en lactato durante la respiración anaerobia. Se cree que la acumulación de ácido láctico es responsable de la fatiga muscular durante periodos intensos de actividad, cuando no puede suministrarse oxígeno a las células musculares. Cuando el oxígeno vuelve a estar disponible, el lactato vuelve a convertirse en piruvato para su uso en la fosforilación oxidativa.

La disfunción mitocondrial contribuye a diversos estados patológicos. Algunas enfermedades mitocondriales se deben a mutaciones o deleciones en el genoma mitocondrial. Si una proporción umbral de mitocondrias en la célula es defectuosa, y si una proporción umbral de tales células dentro de un tejido tiene mitocondrias defectuosas, pueden aparecer síntomas de disfunción de tejidos u órganos. Prácticamente cualquier tejido puede verse afectado y puede estar presente una gran variedad de síntomas, dependiendo de la magnitud en la que los tejidos se ven implicados.

Uso de los compuestos de la invención

Los compuestos de la invención pueden usarse en cualquier situación en la que se desea una producción de energía (ATP) mejorada. Algunos ejemplos son, por ejemplo, en todos los estados clínicos en los que hay un posible beneficio de una producción de ATP mitocondrial aumentada o una restauración de la función mitocondrial, tal como en el tratamiento de cáncer y tras hipoxia, isquemia, accidente cerebrovascular, infarto de miocardio, angina de pecho aguda, una lesión renal aguda, oclusión coronaria y fibrilación auricular. Los compuestos también pueden ser útiles en la prevención o limitaciones de lesiones por reperfusión.

En particular, los compuestos de la invención pueden usarse en medicina, en particular en el tratamiento o la prevención de una enfermedad o trastorno relacionado con las mitocondrias o en cosmética.

La disfunción de mitocondrias también se describe en relación con acidosis tubular renal; enfermedades de las neuronas motoras; otras enfermedades neurológicas; epilepsia; enfermedades genéticas; enfermedad de Huntington; trastornos del estado de ánimo; esquizofrenia; trastorno bipolar; enfermedades asociadas con la edad; accidentes cerebrovasculares, degeneración macular; diabetes; y cáncer.

Compuestos de la invención para su uso en los trastornos o enfermedades relacionados con las mitocondrias

Los compuestos según la invención pueden usarse en la prevención o el tratamiento de una enfermedad relacionada con las mitocondrias seleccionada de las siguientes:

- Enfermedad de Alpers (polidistrofia infantil progresiva)
- Esclerosis lateral amiotrófica (ELA)
- Autismo
- Síndrome de Barth (miocardiopatía infantil letal)
- Defectos de la beta-oxidación
- Deficiencia en el metabolismo bionenergético
- Deficiencia de carnitina-acil-carnitina
- Deficiencia de carnitina
- Síndromes de deficiencia de creatina (los síndromes de deficiencia de creatinina cerebral (CCDS) incluyen: deficiencia de guanidinoacetato metiltransferasa (deficiencia de GAMT), deficiencia de L-arginina:glicina amidinotransferasa (deficiencia de AGAT) y deficiencia de transportador de creatinina relacionado con SLC6A8 (deficiencia de SLC6A8).
- Deficiencia de coenzima Q10
- Deficiencia del complejo I (deficiencia de NADH deshidrogenasa (NADH-CoQ reductasa))

- Deficiencia del complejo II (deficiencia de succinato deshidrogenasa)
- 5 • Deficiencia del complejo III (deficiencia de ubiquinona-citocromo c oxidorreductasa)
- Deficiencia del complejo IV/deficiencia de COX (la deficiencia de citocromo c oxidasa está provocada por un defecto en el complejo IV de la cadena respiratoria)
- 10 • Deficiencia del complejo V (deficiencia de ATP sintasa)
- Deficiencia de COX
- CPEO (síndrome de oftalmoplejia crónica progresiva externa)
- 15 • Deficiencia de CPT I
- Deficiencia de CPT II
- Ataxia de Friedreich (FRDA o FA)
- 20 • Aciduria glutárica tipo II
- KSS (síndrome de Kearns-Sayre)
- 25 • Acidosis láctica
- LCAD (deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de cadena larga)
- LCHAD
- 30 • Enfermedad o síndrome de Leigh (encefalomielopatía necrotizante subaguda)
- LHON (neuropatía óptica hereditaria de Leber)
- 35 • Enfermedad de Luft
- MCAD (deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de cadena media)
- MELAS (encefalomiopatía mitocondrial, acidosis láctica y episodios similares a accidente cerebrovascular)
- 40 • MERRF (epilepsia mioclónica y enfermedad de fibras rojas rasgadas)
- MIRAS (síndrome de ataxia mitocondrial recesiva)
- 45 • Citopatía mitocondrial
- Agotamiento de ADN mitocondrial
- La encefalopatía mitocondrial incluye: encefalomiopatía, encefalomielopatía
- 50 • Miopatía mitocondrial
- MNGIE (trastorno mioneurogastrointestinal y encefalopatía)
- 55 • NARP (neuropatía, ataxia y retinitis pigmentosa)
- Trastornos neurodegenerativos asociados con enfermedad de Parkinson, Alzheimer o Huntington
- Síndrome de Pearson
- 60 • Deficiencia de piruvato carboxilasa
- Deficiencia de piruvato deshidrogenasa
- 65 • Mutaciones de POLG

- Deficiencias de la cadena respiratoria
- SCAD (deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de cadena corta)

5 • SCHAD

- VLCAD (deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de cadena muy larga)

10 Con referencia a la información de la página web de la United Mitochondrial Disease Foundation, algunas de las enfermedades mencionadas anteriormente se comentan en más detalle a continuación:

15 *Deficiencia del complejo I:* Dentro de la mitocondria hay un grupo de proteínas que portan electrones a lo largo de cuatro reacciones en cadena (complejos I-IV), dando como resultado la producción de energía. Esta cadena se conoce como la cadena transportadora de electrones. Un quinto grupo (complejo V) genera el ATP. Conjuntamente, la cadena transportadora de electrones y la ATP sintasa forman la cadena respiratoria y todo el proceso se conoce como fosforilación oxidativa u OXPHOS.

20 El complejo I, la primera etapa en esta cadena, es el sitio más común para las anomalías mitocondriales, representando hasta un tercio de las deficiencias de la cadena respiratoria. Presentándose a menudo en el nacimiento o en la primera infancia, la deficiencia del complejo I es habitualmente un trastorno neurodegenerativo progresivo y es responsable de una variedad de síntomas clínicos, particularmente en órganos y tejidos que requieren altos niveles de energía, tales como cerebro, corazón, hígado y músculos esqueléticos. Se han asociado varios trastornos mitocondriales específicos con la deficiencia del complejo I incluyendo: neuropatía óptica hereditaria de Leber (LHON), MELAS, MERRF y síndrome de Leigh (LS).

25 LHON se caracteriza por ceguera que se produce, en promedio, entre los 27 y 34 años de edad; la ceguera puede desarrollarse en ambos ojos simultáneamente, o secuencialmente (un ojo desarrollará ceguera, seguido por el otro ojo dos meses más tarde, en promedio). También pueden producirse otros síntomas, tales como anomalías cardíacas y complicaciones neurológicas.

30 Hay tres formas principales de deficiencia del complejo I:

35 i) Trastorno multisistémico infantil mortal, caracterizador por un tono muscular escaso, retraso en el desarrollo, cardiopatía, acidosis láctica e insuficiencia respiratoria.

ii) Miopatía (enfermedad muscular), que empieza en la niñez o etapa adulta, y se caracteriza por debilidad o intolerancia al ejercicio.

40 iii) Encefalomiopatía mitocondrial (enfermedad cerebral y muscular), que comienza en la niñez o etapa adulta e implica combinaciones de síntomas variables que pueden incluir: parálisis de los músculos oculares, retinopatía pigmentaria (cambios de color en la retina con pérdida de visión), pérdida de audición, neuropatía sensorial (daño de nervios que implica a los órganos de los sentidos), convulsiones, demencia, ataxia (coordinación muscular anómala) y movimientos involuntarios. Esta forma de deficiencia del complejo I puede provocar síndrome de Leigh y MELAS.

45 La mayoría de los casos de deficiencia del complejo I son el resultado de herencia autosómica recesiva (combinación de genes nucleares defectuosos de tanto la madre como el padre). Con menos frecuencia, el trastorno se hereda por la madre o es esporádico y el defecto genético se encuentra en el ADN mitocondrial.

50 Tratamiento: Como con todas las enfermedades mitocondriales, actualmente no hay cura para la deficiencia del complejo I. Una variedad de tratamientos, que pueden ser o no eficaces, pueden incluir terapias metabólicas tales como: riboflavina, tiamina, biotina, coenzima Q10, carnitina y dieta cetogénica. Las terapias para la forma multisistémica infantil no han sido satisfactorias.

55 El transcurso y pronóstico clínico para pacientes del complejo I es altamente variable y puede depender del defecto genético específico, edad de inicio, órganos implicados y otros factores.

Deficiencia del complejo III: los síntomas incluyen cuatro formas principales:

60 i) Encefalomiopatía infantil mortal, acidosis láctica congénita, hipotonía, postura distrófica, convulsiones y coma. Son comunes fibras rojas rasgadas en el tejido muscular.

65 ii) Encefalomiopatías de aparición tardía (de la niñez a la vida adulta): Diversas combinaciones de debilidad, estatura corta, ataxia, demencia, pérdida de audición, neuropatía sensorial, retinopatía pigmentaria y signos piramidales. Son comunes fibras rojas rasgadas. Posible acidosis láctica.

iii) Miopatía, con intolerancia al ejercicio que evoluciona a debilidad fija. Son comunes fibras rojas rasgadas. Posible

acidosis láctica.

iv) Miocardiopatía histiocitoide infantil.

5 *Deficiencia del complejo IV/deficiencia de COX*: los síntomas incluyen dos formas principales:

1. Encefalomiopatía: Normalmente es normal durante los primeros 6 a 12 meses de vida y luego muestra regresión del desarrollo, ataxia, acidosis láctica, atrofia óptica, oftalmoplejia, nistagmo, distonía, signos piramidales y problemas respiratorios. Convulsiones frecuentes. Puede provocar síndrome de Leigh.

10

2. Miopatía: Dos variantes principales:

1. Miopatía infantil mortal: puede comenzar poco después del nacimiento y estar acompañada por hipotonía, debilidad, acidosis láctica, fibras rojas rasgadas, insuficiencia respiratoria y problemas renales.

15

2. Miopatía infantil benigna: puede comenzar poco después del nacimiento y estar acompañada por hipotonía, debilidad, acidosis láctica, fibras rojas rasgadas, problemas respiratorios, pero (si el niño sobrevive) seguida por mejoría espontánea.

20

KSS (síndrome de Kearns-Sayre): KSS es una enfermedad mitocondrial multisistémica lentamente progresiva que a menudo comienza con la caída de los párpados (ptosis). Finalmente, se verán implicados otros músculos oculares, dando como resultado parálisis del movimiento ocular. La degeneración de la retina provoca habitualmente dificultad para ver en entornos poco iluminados.

25

KSS se caracteriza por tres características principales:

- aparición típica antes de los 20 años de edad, aunque puede producirse en la lactancia o en la etapa adulta

30

- parálisis de músculos oculares específicos (denominada oftalmoplejia externa progresiva crónica - CPEO)

- degeneración de la retina que provoca acumulación anómala de material pigmentado (coloreado) (retinopatía pigmentaria).

35

Además, está presente uno o más de los siguientes estados:

- bloqueo de las señales eléctricas en el corazón (defectos de la conducción cardíaca)

40

- proteína elevada en el líquido cefalorraquídeo

- falta de coordinación de los movimientos (ataxia).

Los pacientes con KSS también pueden presentar problemas tales como sordera, demencia, disfunción renal y debilidad muscular. También pueden ser evidentes anomalías endocrinas incluyendo retardo del crecimiento, estatura corta o diabetes. KSS es un trastorno poco común. Está provocado habitualmente por una única delección grande (pérdida) de material genético dentro del ADN de las mitocondrias (ADNmt), en vez de en el ADN del núcleo celular. Estas delecciones, de las cuales hay más de 150 especies, surgen normalmente de manera espontánea. Con menos frecuencia, la mutación la transmite la madre.

45

Como con todas las enfermedades mitocondriales, no existe cura para KSS.

50

Los tratamientos se basan en los tipos de síntomas y órganos implicados, y pueden incluir: coenzima Q10, insulina para la diabetes, fármacos cardíacos y un marcapasos cardíaco que puede salvar vidas. Puede considerarse intervención quirúrgica para los párpados caídos pero debe ser realizada por especialistas en centros de cirugía oftálmica.

55

KSS avanza lentamente y el pronóstico varía según la gravedad. La muerte es frecuente en la tercera o cuarta década y puede deberse a insuficiencia sistémica orgánica.

60

Enfermedad o síndrome de Leigh (encefalomielopatía necrotizante subaguda): Síntomas: Convulsiones, hipotonía, fatiga, nistagmo, malos reflejos, dificultades para comer y tragar, problemas respiratorios, mala función motora, ataxia.

Causas: Deficiencia de piruvato deshidrogenasa, deficiencia del complejo I, deficiencia del complejo II, deficiencia del complejo IV/COX, NARP.

65

La enfermedad de Leigh es un trastorno neurometabólico progresivo con una aparición general en la lactancia o en

la niñez, a menudo tras una infección vírica, pero también puede producirse en adolescentes y adultos. Se caracteriza en MRI por lesiones necrotizantes visibles (tejido muerto o moribundo) en el cerebro, particularmente en el mesencéfalo y tronco encefálico.

5 El niño a menudo parece normal al nacer, pero normalmente empieza a presentar síntomas en el plazo de unos pocos meses a dos años de edad, aunque el momento puede ser mucho antes o después. Los síntomas iniciales pueden incluir la pérdida de destrezas básicas tales como succión, control de la cabeza, andar y hablar. Estos pueden ir acompañados por otros problemas tales como irritabilidad, pérdida de apetito, vómitos y convulsiones. Puede haber periodos de fuerte declive o restauración temporal de algunas funciones. Finalmente, el niño puede
10 tener también complicaciones cardíacas, renales, de la visión y de la respiración. Hay más de un defecto que provoca enfermedad de Leigh. Estos incluyen una deficiencia de piruvato deshidrogenasa (PDHC), y defectos enzimáticos en la cadena respiratoria, complejos I, II, IV y V. Según el defecto, el modo de herencia puede ser dominante ligado al cromosoma X (defecto en el cromosoma X y la enfermedad se produce habitualmente sólo en varones), autosómica recesiva (heredada de los genes de tanto la madre como del padre) y materna (sólo de la madre). También puede haber casos espontáneos que no se han heredado en absoluto. No existe cura para la enfermedad de Leigh. Los tratamientos implican generalmente variaciones de terapias con suplementos y vitaminas, a menudo en una combinación de "cóctel", y sólo son parcialmente eficaces. Diversos sitios de recursos incluyen el posible uso de: tiamina, coenzima Q10, riboflavina, biotina, creatina, succinato e idebenona. En algunas clínicas también se están probando fármacos experimentales, tales como dicloroacetato (DCA). En algunos casos, puede
20 ordenarse una dieta especial, y debe monitorizarse por un dietista con conocimientos en trastornos metabólicos.

El pronóstico para la enfermedad de Leigh es malo. Según el defecto, los individuos viven normalmente desde unos pocos años hasta mediados de la adolescencia. Aquellos diagnosticados con síndrome similar a Leigh o que no presentaron síntomas hasta la etapa adulta tienden a vivir más.

25 *MELAS* (encefalomiopatía mitocondrial, acidosis láctica y episodios similares a accidente cerebrovascular): Síntomas: Corta estatura, convulsiones, episodios similares a accidente cerebrovascular con déficits neurológicos focales, cefaleas recurrentes, regresión cognitiva, avance de la enfermedad, fibras rojas rasgadas.

30 Causa: mutaciones puntuales en el ADN mitocondrial: A3243G (la más frecuente)

MELAS - Miopatía mitocondrial (debilidad muscular), encefalopatía (enfermedad del sistema nervioso central y cerebral), acidosis láctica (acumulación de un producto de la respiración anaerobia), y episodios similares a accidente cerebrovascular (parálisis parcial, pérdida de visión parcial u otras anomalías neurológicas).

35 MELAS es un trastorno neurodegenerativo progresivo con aparición típica entre los 2 y 15 años de edad, aunque puede producirse en la lactancia o tan tarde como en la etapa adulta. Los síntomas iniciales pueden incluir episodios similares a accidente cerebrovascular, convulsiones, jaquecas y vómitos recurrentes. Habitualmente, el paciente parece normal durante el primer año de vida, aunque la estatura corta es frecuente. Menos frecuentes son síntomas en la lactancia temprana que pueden incluir retraso en el desarrollo, dificultades de aprendizaje o trastorno de déficit de atención. Intolerancia al ejercicio, debilidad en las extremidades, pérdida de audición y diabetes también pueden preceder a la aparición de los episodios similares a accidente cerebrovascular.

45 Los episodios similares a accidente cerebrovascular, a menudo acompañados por convulsiones, son el síntoma característico de MELAS y provocan parálisis parcial, pérdida de visión y defectos neurológicos focales. Los efectos graduales acumulativos de estos episodios a menudo dan como resultado combinaciones variables de pérdida de destrezas motoras (habla, movimiento y alimentación), sensación alterada (pérdida de visión y pérdida de sensaciones corporales), y alteración mental (demencia). Los pacientes con MELAS también pueden padecer síntomas adicionales que incluyen: debilidad muscular, disfunción de nervios periféricos, diabetes, pérdida de audición, problemas cardíacos y renales, y anomalías digestivas. Habitualmente se acumula ácido láctico a altos niveles en la sangre, el líquido cefalorraquídeo, o ambos.

50 MELAS se hereda por la madre debido a un defecto en el ADN dentro de las mitocondrias. Hay al menos 17 mutaciones diferentes que pueden provocar MELAS. Con diferencia, la más prevalente es la mutación A3243G, que es responsable de aproximadamente el 80% de los casos.

55 No existe cura o tratamiento específico para MELAS. Aunque ensayos clínicos no han demostrado su eficacia, los tratamientos generales pueden incluir terapias metabólicas tales como: coQ10, creatina, filoquinona, y otras vitaminas y complementos. Pueden requerirse fármacos tales como medicamentos anticonvulsivos e insulina para una gestión adicional de los síntomas. Algunos pacientes con disfunción muscular pueden beneficiarse de ejercicio moderado supervisado. En casos especiales, otras terapias que pueden prescribirse incluyen dicloroacetato (DCA) y menadiona, aunque no se usan de manera rutinaria debido a su potencial de tener efectos secundarios dañinos.

60 El pronóstico para MELAS es malo. Normalmente, la edad de fallecimiento está entre los 10 y los 35 años, aunque algunos pacientes pueden vivir más tiempo. La muerte puede ser el resultado de un desgaste corporal general debido a demencia progresiva y debilidad muscular, o complicaciones de otros órganos afectados tales como el

corazón o los riñones.

MERRF es un síndrome multisistémico progresivo que comienza habitualmente en la niñez, pero la aparición puede producirse en la etapa adulta. La velocidad de avance varía ampliamente. La aparición y extensión de los síntomas puede diferir entre hermanos afectados.

Las características clásicas de *MERRF* incluyen:

- Mioclonía (espasmos musculares breves, repentinos y espasmódicos), el síntoma más característico
- Convulsiones epilépticas
- Ataxia (coordinación alterada)
- Fibras rojas rasgadas (una anomalía microscópica característica observada en la biopsia muscular de pacientes con *MERRF* y otros trastornos mitocondriales). Los síntomas adicionales pueden incluir: pérdida de audición, acidosis láctica (nivel de ácido láctico elevado en la sangre), estatura corta, intolerancia al ejercicio, demencia, defectos cardíacos, anomalías oculares y alteración del habla.

Aunque algunos de los casos de *MERRF* son esporádicos, la mayor parte de los casos se heredan por la madre debido a una mutación dentro de las mitocondrias. La mutación más frecuente de *MERRF* es A8344G, que es responsable de más del 80% de los casos. Se han notificado otras cuatro mutaciones en el ADN mitocondrial que provocan *MERRF*. Aunque una madre transmitirá su mutación de *MERRF* a todos sus descendientes, algunos nunca presentarán síntomas.

Como con todos los trastornos mitocondriales, no existe cura para *MERRF*. Las terapias pueden incluir coenzima Q10, L-carnitina y diversas vitaminas, a menudo en una combinación de "cóctel". La gestión de las convulsiones requiere habitualmente fármacos anticonvulsivos. También pueden ser necesarios medicamentos para el control de otros síntomas.

El pronóstico para *MERRF* varía ampliamente según la edad de aparición, el tipo y la gravedad de los síntomas, los órganos implicados y otros factores.

Agotamiento de ADN mitocondrial: Los síntomas incluyen tres formas principales:

1. Miopatía congénita: debilidad neonatal, hipotonía que requiere ventilación asistida, posible disfunción renal. Acidosis láctica grave. Fibras rojas rasgadas prominentes. La muerte debido a insuficiencia respiratoria se produce habitualmente antes del primer año de edad.
2. Miopatía infantil: tras un desarrollo temprano normal hasta el año de edad, aparece debilidad y empeora rápidamente, provocando insuficiencia respiratoria y muerte normalmente en el plazo de unos pocos años.
3. Hepatopatía: hígado agrandado e insuficiencia hepática incoercible, miopatía. Acidosis láctica grave. La muerte es normal dentro del primer año.

Ataxia de Friedreich

La ataxia de Friedreich (FRDA o FA) es un trastorno cardiodegenerativo y neurodegenerativo recesivo autosómico provocado por niveles disminuidos de la proteína frataxina. La frataxina es importante para el ensamblaje de agrupamientos de hierro-azufre en los complejos mitocondriales de la cadena respiratoria. Las estimaciones de la prevalencia de FRDA en los Estados Unidos oscilan entre 1 de cada 22.000-29.000 personas (véase www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/001411.htm) y 1 de cada 50.000 personas (véase www.umc-cares.org/health_info/ADAM/Articles/001411.asp). La enfermedad provoca la pérdida progresiva de coordinación motora voluntaria (ataxia) y complicaciones cardíacas. Los síntomas comienzan normalmente en la niñez, y la enfermedad empeora progresivamente a medida que envejece el paciente; los pacientes finalmente quedan en silla de ruedas debido a discapacidades motoras.

Además de los trastornos congénitos que implican mitocondrias defectuosas heredadas, se ha sugerido que la disfunción mitocondrial adquirida contribuye a enfermedades, particularmente a trastornos neurodegenerativos asociados con el envejecimiento como la enfermedad de Parkinson, Alzheimer y Huntington. La incidencia de mutaciones somáticas en el ADN mitocondrial aumenta exponencialmente con la edad; se encuentra actividad disminuida de la cadena respiratoria de manera universal en las personas mayores. La disfunción mitocondrial también está implicada en excitotoxicidad, lesión neuronal, accidentes cerebrovasculares tales como los asociados con convulsiones, accidente cerebrovascular e isquemia.

Composiciones que contienen un compuesto novedoso de la invención

Los compuestos de la invención pueden estar contenidos en una composición adecuada para su uso en medicina o en cosmética. A continuación, se usa el término composición para incluir composiciones adecuadas para su uso en medicina o en cosmética.

5 El término "composición" en el contexto de esta invención significa una composición que comprende un compuesto de la invención y que comprende adicionalmente uno o más portadores farmacéutica o cosméticamente aceptables. La composición puede contener además componentes seleccionados de, por ejemplo, diluyentes, adyuvantes, excipientes, vehículos, agentes conservantes, cargas, agentes disgregantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes, agentes de suspensión, agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes perfumantes, agentes antibacterianos, agentes antifúngicos, agentes lubricantes y agentes dispersantes, según la naturaleza del modo de administración y formas de dosificación. Las composiciones pueden diseñarse para administración por vía oral, parenteral o mucosa y la elección o la forma específica de la composición depende de la vía de administración. Por tanto, para la administración oral, la composición puede estar en forma, por ejemplo, de comprimidos, pastillas para chupar, comprimidos recubiertos de azúcar, películas, polvos, elixires, jarabes, preparaciones líquidas incluyendo dispersiones, suspensiones, emulsiones, disoluciones o aerosoles, obleas, gránulos, cápsulas, etc., Para la administración a la mucosa, la composición puede estar en forma de aerosoles, medicamentos inhalatorios, dispersiones, suspensiones, emulsiones, disoluciones, geles, parches, películas, pomadas, cremas, lociones, supositorios, etc. Para la administración parenteral, la composición está en forma de una preparación líquida tal como una disolución, dispersión, emulsión o suspensión incluyendo composiciones liposomales.

Las dosificaciones pueden variarse según los requisitos del paciente, la gravedad del estado que está tratándose y el compuesto que está empleándose. La determinación de la dosificación adecuada para una situación particular está dentro de los conocimientos de la técnica. Generalmente, el tratamiento se inicia con las dosificaciones más pequeñas que son menores que la dosis óptima del compuesto. Después de eso, se aumenta la dosificación en pequeños incrementos hasta que se alcanza el efecto óptimo en las circunstancias. Por motivos de conveniencia, la dosificación diaria total puede dividirse y administrarse en porciones durante el día si se desea.

La magnitud de una dosis eficaz de un compuesto variará, por supuesto, con la naturaleza de la gravedad del estado que va a tratarse y con el compuesto particular y su vía de administración. La selección de dosificaciones apropiadas está dentro de la capacidad de un experto en esta técnica, sin carga excesiva. En general, el intervalo de dosis diaria puede ser de desde aproximadamente 1 mg hasta aproximadamente 20 g por kg de peso corporal de un ser humano y un animal no humano, preferiblemente desde aproximadamente 10 mg hasta aproximadamente 10 g por kg de peso corporal de un ser humano y un animal no humano y lo más preferiblemente desde aproximadamente 50 mg hasta aproximadamente 2 g por kg de peso corporal de un ser humano y un animal no humano.

Otros aspectos de la invención

La presente invención también considera una combinación (por ejemplo, para el tratamiento de una disfunción mitocondrial) de un compuesto de fórmula (I) o una forma farmacéuticamente aceptable del mismo tal como se definió anteriormente en el presente documento, y uno o más agentes seleccionados independientemente de:

- Derivados de quinona, por ejemplo, ubiquinona, idebenona, MitoQ
- 45 • Vitaminas, por ejemplo, tocoferoles, tocotrienoles y Trolox (vitamina E), ascorbato (C), tiamina (B1), riboflavina (B2), nicotinamida (B3), menadiona (K3),
- Antioxidantes además de vitaminas, por ejemplo, compuestos de TPP (MitoQ), compuestos de Sk, epicatequina, catequina, ácido lipoico, ácido úrico, melatonina
- 50 • Dicloroacetato
- Azul de metileno
- 55 • L-arginina
- Péptidos de Szeto-Schiller
- Creatina
- 60 • Benzodiazepinas
- Moduladores de PGC-1 α
- 65 • Dieta cetogénica

DefinicionesAlquilo

5 Alquilo significa un grupo hidrocarburo alifático lineal o ramificado.

Ejemplos

10 A continuación se ilustrará la invención mediante los siguientes ejemplos no limitativos en los que, a menos que se establezca otra cosa:

(i) cuando se proporciona, se registraron los espectros de ^1H -RMN en un aparato Bruker Avance 300 (300 MHz) o Bruker Avance 400 (400 MHz). Se usaron los picos centrales de o bien el cloroformo-*d* (CDCl_3 ; δ_{H} 7,27 ppm), dimetilsulfóxido-*d*₆ (d_6 -DMSO; δ_{H} 2,50 ppm) o metanol-*d*₄ (CD_3OD ; δ_{H} 3,31 ppm), o bien un patrón interno de tetrametilsilano (TMS; δ_{H} 0,00 ppm) como referencias;

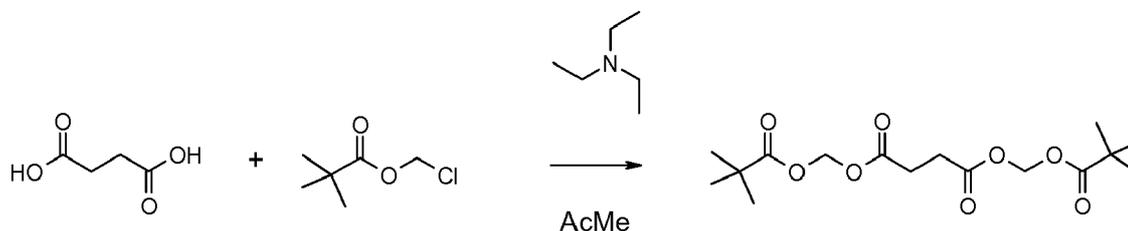
(ii) se registraron los espectros de masas en un aparato Agilent MSD (electropulverización +ve y -ve) o un detector VG Platform de Fisons Instrument tras HPLC analítica. Cuando se proporcionan valores para *m/z*, generalmente sólo se notifican iones que indican la masa original, y los iones de masa citados son los iones de masa positiva y negativa: $[\text{M}+\text{H}]^+$ o $[\text{M}-\text{H}]^-$;

(iii) los compuestos del título y subtítulo de los ejemplos y preparaciones se nombraron usando AutoNom.

(iv) A menos que se establezca otra cosa, los materiales de partida estaban disponibles comercialmente. Todos los disolventes y reactivos comerciales eran de calidad para laboratorio y se usaron tal como se recibieron. Todas las operaciones se llevaron a cabo a temperatura ambiental, es decir, en el intervalo de 16 a 28°C y, cuando era apropiado, bajo una atmósfera de un gas inerte tal como nitrógeno;

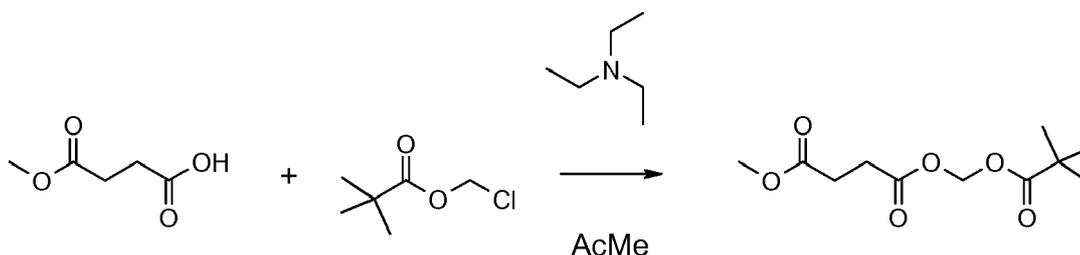
(v) se usan las siguientes abreviaturas:

DCM	Diclorometano
DIPEA	<i>N,N</i> -Diisopropiletilamina
DMF	<i>N,N</i> -Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
HPLC	Cromatografía de líquidos de alta resolución
g	Gramo(s)
h	Hora(s)
CL-EM	Cromatografía de líquidos - espectroscopía de masas
MPLC	Cromatografía de líquidos de presión media
mmol	Milimoles
TFA	Ácido trifluoroacético

Ejemplo 1: Éster bis-(2,2-dimetilpropioniloximetílico) de ácido succínico

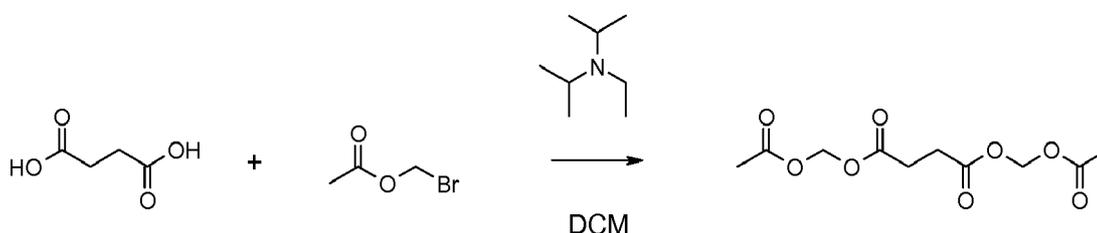
35 Se añadieron ácido succínico (1,2 g, 10 mmol) y pivalato de clorometilo (5,8 ml, 40 mmol) a acetona (4 ml) y se enfrió la mezcla en hielo. Se añadió trietilamina (3,3 ml, 24 mmol) en porciones y se agitó la disolución durante la noche a temperatura ambiente. Se concentró la mezcla y se repartió entre agua y acetato de etilo. Se lavó la disolución de acetato de etilo con agua, luego disolución de bicarbonato de sodio. Se trató con carbón decolorante, se secó sobre carbonato de potasio y se concentró hasta dar un aceite. La purificación mediante cromatografía MPLC (alúmina básica, el 10% de acetato de etilo/el 90% de ciclohexano) proporcionó 0,18 g de éster bis-(2,2-dimetilpropioniloximetílico) de ácido succínico como un aceite. ^1H -RMN (CDCl_3 , ppm) δ 1,23 (s, 18H), 2,71 (s, 4H), 5,77 (s, 4H).

Ejemplo 2: Éster metílico del éster 2,2-dimetilpropioniloximetílico de ácido succínico



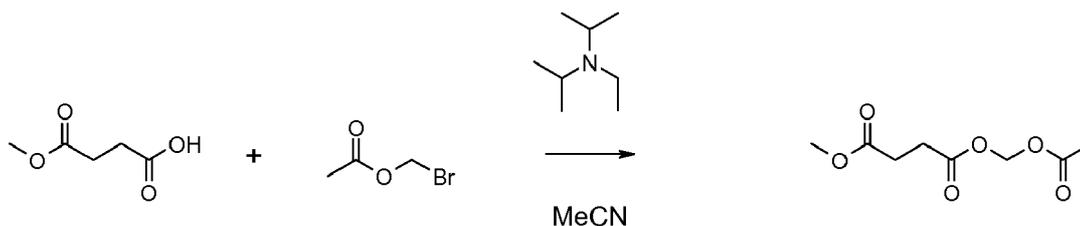
5 Se añadieron succinato de metilo (1,3 g, 10 mmol) y pivalato de clorometilo (2,9 ml, 20 mmol) a acetona (2 ml) y se enfrió la mezcla en hielo. Se añadió trietilamina (2,0 ml, 14 mmol) en porciones y se agitó la disolución durante la noche a temperatura ambiente. Se concentró la mezcla y se repartió entre agua y acetato de etilo. Se lavó la disolución de acetato de etilo con agua, luego disolución de bicarbonato de sodio, se secó sobre carbonato de potasio y se concentró para dar 2,4 g de éster metílico del éster 2,2-dimetilpropioniloximetílico de ácido succínico como un aceite. $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3 , ppm) δ 1,23 (s, 9H), 2,68 (m, 4H), 3,71 (s, 3H), 5,78 (s, 2H).

10 Ejemplo 3: Éster diacetoximetílico de ácido succínico



15 Se añadió ácido succínico (58,6 g, 0,496 mol) a diclorometano (2 l) y se enfrió la mezcla hasta 0°C. Se añadió diisopropiletilamina (201 ml, 1,154 mol) durante 20 minutos seguido por acetato de bromometilo (159,4 g, 1,042 mol) durante 30 minutos y se agitó la disolución durante la noche bajo una atmósfera de nitrógeno. Se enfrió la disolución hasta 0°C y se lavó sucesivamente con 1 l de ácido clorhídrico al 1% frío, ácido clorhídrico al 0,6% y agua (x3). Se trató la disolución con carbón decolorante, se secó con sulfato de magnesio y se concentró hasta dar un aceite que se cristalizó en dietil éter (200 ml)/isohexano (10 ml) para proporcionar 92 g de éster diacetoximetílico de ácido succínico como un sólido blanco. $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3 , ppm) δ 2,13 (s, 6H), 2,72 (s, 4H), 5,76 (s, 4H). Se obtuvieron 8 g adicionales de material puro de la concentración de los líquidos.

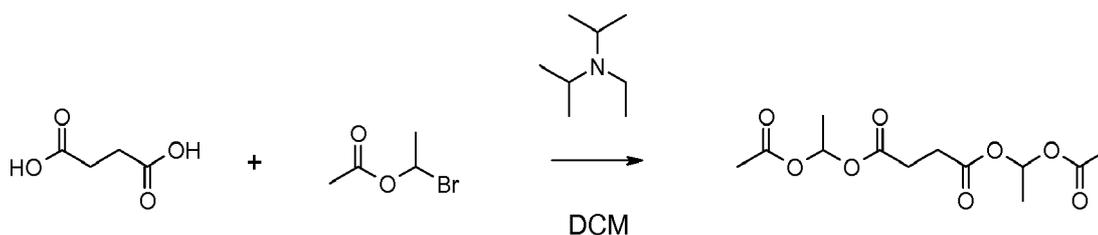
20 Ejemplo 4: Éster metílico del éster acetoximetílico de ácido succínico



25 Se disolvió succinato de metilo (2,0 g, 15,1 mmol) en acetonitrilo (200 ml) y se añadió acetato de bromometilo (1,65 ml, 16,8 mmol). Se enfrió la disolución en agua fría y se añadió diisopropiletilamina (3,16 ml, 18,2 mmol). Se permitió que se calentara la disolución y se agitó a temperatura ambiente durante 70 minutos. Se vertió la disolución en hielo/agua (400 ml) y se extrajo con acetato de etilo. Se lavó esta disolución de acetato de etilo con agua, ácido clorhídrico al 1%, disolución de bicarbonato de sodio y salmuera. Se secó con sulfato de magnesio y se concentró hasta dar un aceite. La purificación mediante MPLC (SiO_2 , isohexano \rightarrow el 20% de acetato de etilo/el 80% de isohexano) dio 0,91 g de éster metílico del éster acetoximetílico de ácido succínico. $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3 , ppm) δ 2,13 (s, 3H), 2,69 (m, 4H), 3,71 (s, 3H), 5,77 (s, 2H).

30 Ejemplo 5: Éster bis-(1-acetoxietílico) de ácido succínico

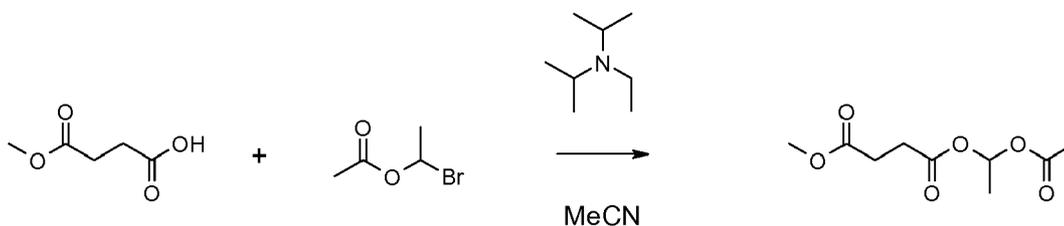
35



5 Se añadió ácido succínico (58,6 g, 0,496 mol) a diclorometano (2 l) y se enfrió la mezcla hasta 0°C. Se añadió diisopropiletilamina (201 ml, 1,154 mol) durante 20 minutos seguido por acetato de 1-bromoetilo (159,4 g, 1,042 mol) durante 30 minutos y se agitó la disolución durante la noche bajo una atmósfera de nitrógeno. Se enfrió la disolución hasta 0°C y se lavó sucesivamente con (cantidades de 1,5 l) frías de agua, ácido clorhídrico al 1% (dos veces), disolución de bicarbonato de sodio y agua. Se secó la disolución con sulfato de magnesio y se concentró hasta dar un aceite que se cristalizó en *t*-butilmetil éter para proporcionar 41 g de éster diacetoximetílico de ácido succínico como un sólido blanco. ¹H-RMN (CDCl₃, ppm) δ 1,48 (d, *J*=5,4 Hz, 6H), 2,07 (s, 6H), 2,66 (m, 4H), 6,87 (q, *J*=5,5 Hz, 2H).

10

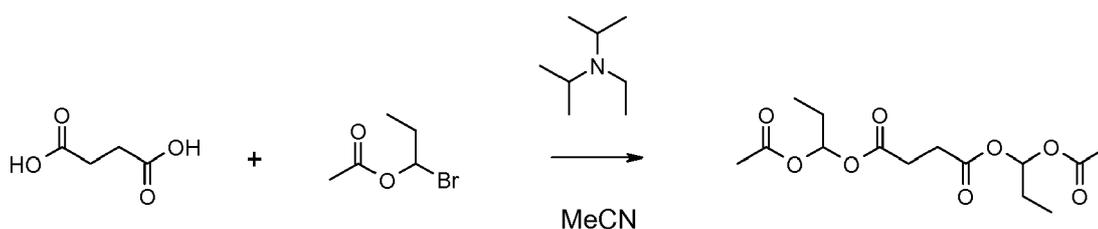
Ejemplo 6: Éster metílico del éster 1-acetoxietílico de ácido succínico



15 Se disolvió succinato de metilo (2,46 g, 18,6 mmol) en acetonitrilo (350 ml) y se enfrió la disolución hasta -5°C. Se añadieron acetato de 1-bromoetilo (3,3 g, 19,8 mmol) y luego diisopropiletilamina (4,0 ml, 23,3 mmol). Se permitió que se calentara la disolución y se agitó a temperatura ambiente durante 3 días. Se enfrió la disolución y se repartió entre agua fría y acetato de etilo. Se lavó esta disolución de acetato de etilo con ácido clorhídrico al 1%, disolución de bicarbonato de sodio, luego dos veces con agua. Se secó la disolución con sulfato de magnesio y se concentró hasta dar un aceite. La purificación mediante MPLC (SiO₂, *isohexano* → el 10% de acetato de etilo/el 90% de *isohexano*) dio 1,9 g de éster metílico del éster 1-acetoxietílico de ácido succínico como un aceite. ¹H-RMN (CDCl₃, ppm) δ 1,48 (d, *J*=5,3 Hz, 3H), 2,07 (s, 3H), 2,65 (m, 4H), 3,70 (s, 3H), 6,86 (q, *J*=5,3 Hz, 1H).

20

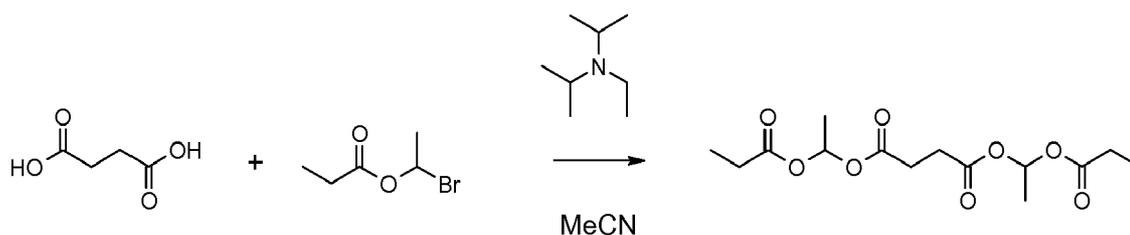
25 Ejemplo 7: Éster (1-acetoxipropílico) de ácido succínico



30 Se disolvió ácido succínico (2,0 g, 16,9 mmol) en acetonitrilo (350 ml) y se enfrió la disolución hasta -5°C. Se añadieron acetato de 1-bromopropilo (6,7 g, 37,0 mmol) y luego diisopropiletilamina (7,3 ml, 41,9 mmol). Se agitó la disolución a temperatura ambiente durante 3 días. Se enfrió la disolución y se repartió entre agua fría y acetato de etilo. Se lavó esta disolución de acetato de etilo con ácido clorhídrico al 1% frío, disolución de bicarbonato de sodio, luego agua. Se secó con sulfato de magnesio y se concentró hasta dar un aceite. La purificación mediante MPLC (SiO₂, *isohexano* → el 10% de acetato de etilo/el 90% de *isohexano*) dio 0,85 g de éster (1-acetoxipropílico) de ácido succínico como un aceite. ¹H-RMN (CDCl₃, ppm) δ 0,97 (t, *J*=7,6 Hz, 6H), 1,81 (m, 4H), 2,09 (s, 6H), 2,68 (m, 4H), 6,77 (t, *J*=5,6 Hz, 2H).

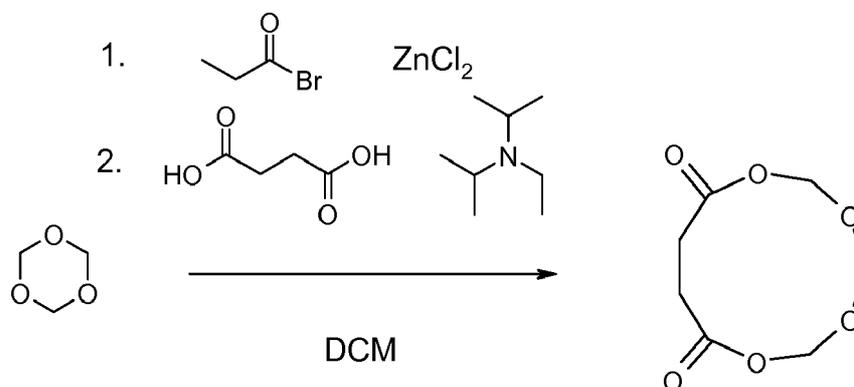
35

Ejemplo 8: Éster bis-(1-propioniloxietílico) de ácido succínico



Se disolvió ácido succínico (2,0 g, 16,9 mmol) en acetonitrilo (350 ml) y se enfrió la disolución hasta -5°C . Se añadieron propionato de 1-bromoetilo (6,7 g, 37,0 mmol) y luego diisopropiletilamina (7,3 ml, 41,9 mmol). Se permitió que se calentara la disolución y se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se enfrió la disolución y se repartió entre agua fría y acetato de etilo. Se lavó esta disolución de acetato de etilo con ácido clorhídrico al 1% frío, disolución de bicarbonato de sodio y luego dos veces con agua. Se secó con sulfato de magnesio y se concentró hasta dar un aceite. La purificación mediante MPLC (SiO_2 , *isohexano* \rightarrow el 10% de acetato de etilo/el 90% de *isohexano*) dio 3,1 g de éster bis-(1-propioniloxietílico) de ácido succínico como un aceite. $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3 , ppm) δ 1,15 (t, $J=7,5$ Hz, 6H), 1,49 (d, $J=5,4$ Hz, 6H), 2,36 (q, $J=7,6$ Hz, 4H), 2,66 (m, 4H), 6,90 (t, $J=5,4$ Hz, 2H).

Ejemplo 9: 1,3,5,7-Tetraoxa-cicloundecano-8,11-diona



Se disolvió bromuro de propionilo (8 ml, 89 mmol) en diclorometano (20 ml) y se enfrió la disolución hasta -5°C . Se añadió cloruro de zinc (35 mg, 0,26 mmol) seguido por trioxano (2,67 g, 29,7 mmol) en porciones durante 30 minutos. Se agitó la disolución a 0°C durante 1 hora y luego a temperatura ambiente durante una hora adicional. Se lavó la disolución tres veces con agua fría, se secó con sulfato de magnesio y se concentró hasta dar un aceite. Se añadió el producto en bruto de esta reacción (7,0 g) a una mezcla de ácido succínico (2,34 g, 19,8 mmol) y diisopropiletilamina (8,3 ml, 43,7 mmol) en diclorometano (350 ml) enfriado hasta -5°C . Se agitó la disolución a temperatura ambiente durante la noche y luego se lavó con ácido clorhídrico al 1% frío, disolución de bicarbonato de sodio seguido por agua (x3). Se secaron los extractos combinados con sulfato de magnesio y se concentraron hasta dar un aceite. La valoración con dietil éter proporcionó 0,24 g de 1,3,5,7-tetraoxacicloundecano-8,11-diona como un sólido blanco. $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3 , ppm) δ 2,66 (s, 4H), 5,00 (s, 2H), 5,43 (s, 4H).

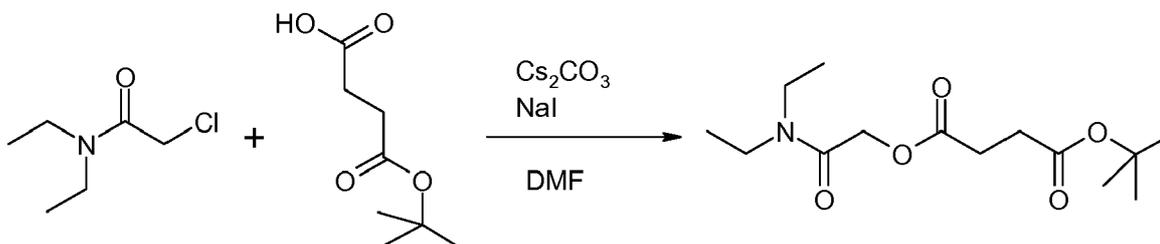
Ejemplo 10: Éster dietilcarbamoilmetílico del éster acetoximetílico de ácido succínico

i) 2-Cloro-*N,N*-dietil-acetamida



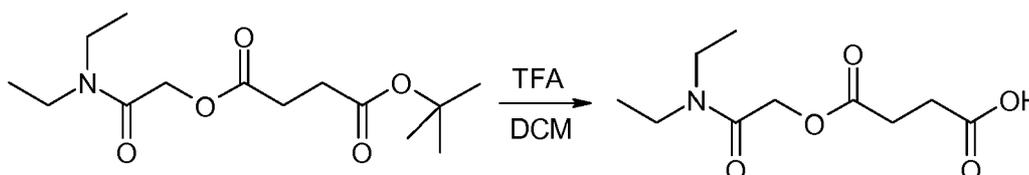
Se diluyeron dietilamina (10,0 ml, 97 mmol) y trietilamina (13,5 ml, 97 mmol) en diclorometano (30 ml), se enfrió la disolución hasta 0°C y se añadió cloruro de cloroacetilo (7,7 ml, 97 mmol) en DCM (10 ml) durante 10 minutos, y se permitió que la disolución se calentara hasta temperatura ambiente y se agitó durante la noche bajo una atmósfera de nitrógeno. Se lavó la disolución con agua (2x10 ml). Se combinaron las fases orgánicas y se eliminaron las sustancias volátiles a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en gel de sílice con un gradiente continuo de *iso*-hexano/acetato de etilo 1:0 a 1:1 para proporcionar el compuesto del título (12,3 g) como un aceite transparente. $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 1,11 (t, $J=7,1$ Hz, 3H), 1,21 (t, $J=7,1$ Hz, 3H), 3,35 (quint, $J=6,9$ Hz, 4H), 4,03 (s, 2H). CL-EM (m/z) 150,1 - 152,1 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$.

ii) Éster dietilcarbamoilmetílico del éster terc-butílico de ácido succínico



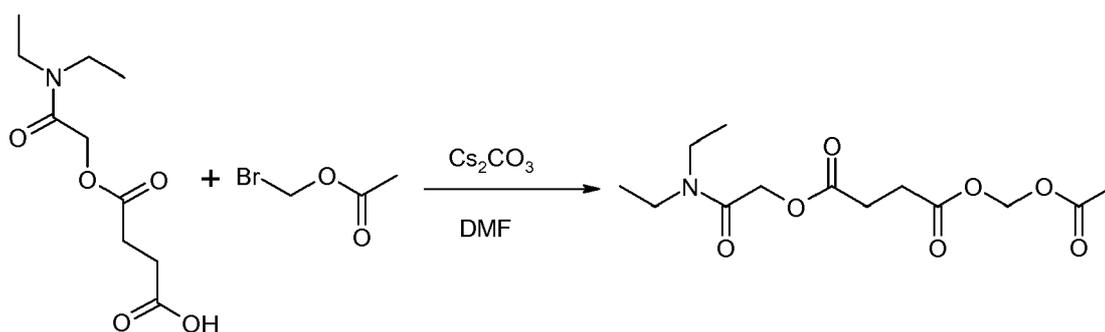
5 Se suspendieron 2-cloro-*N,N*-dietil-acetamida (ejemplo 10, etapa (i), 1,71 g, 11,48 mmol), éster mono-terc-butílico de ácido succínico (2,00 g, 11,48 mmol), carbonato de cesio (2,67 g, 8,21 mmol) y yoduro de sodio (171 mg, 1,14 mmol) en DMF (20 ml), y se agitó la suspensión a 80°C durante 3 horas bajo una atmósfera de nitrógeno. Se enfrió la suspensión hasta temperatura ambiente, se diluyó con acetato de etilo (40 ml) y se lavó con agua (3x10 ml). Se combinaron las fases orgánicas y se eliminaron las sustancias volátiles a vacío. Se purificó el residuo mediante

10 cromatografía en gel de sílice con un gradiente continuo de *iso*-hexano/acetato de etilo de 1:0 a 0:1 para proporcionar el compuesto del título (3,29 g) como un aceite transparente. ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 1,13 (t, *J*=7,1 Hz, 3H), 1,22 (t, *J*=7,1 Hz, 3H), 1,44 (s, 9H), 2,55-2,77 (m, 4H), 3,24 (q, *J*=7,1 Hz, 2H), 3,38 (q, *J*=7,1 Hz, 2H), 4,73 (s, 2H). CL-EM (m/z) 288,1 [M+H], Tr = 2,07 min.

15 iii) Éster monodietilcarbamoilmetílico de ácido succínico

20 Se disolvió éster dietilcarbamoilmetílico del éster terc-butílico de ácido succínico (ejemplo 10, etapa (ii), 3,29 g, 11,48 mmol) en DCM (15 ml), se enfrió la disolución hasta 0°C y se añadió ácido trifluoroacético (5 ml). Se permitió que la disolución se calentara hasta temperatura ambiente y se agitó durante la noche bajo una atmósfera de nitrógeno. Se eliminaron las sustancias volátiles a vacío, se sometió a destilación azeotrópica el residuo con tolueno (3x20 ml) para proporcionar el compuesto del título (3,19 g) como un aceite transparente. ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 1,16 (t, *J*=7,1 Hz, 3H), 1,26 (t, *J*=7,1 Hz, 3H), 2,65-2,85 (m, 4H), 3,30 (q, *J*=7,1 Hz, 2H), 3,42 (q, *J*=7,1 Hz, 2H),

25 4,79 (s, 2H), 10,43 (a, 1H). CL-EM (m/z) 232,1 [M+H]⁺, 230,1 [M-H]⁻.

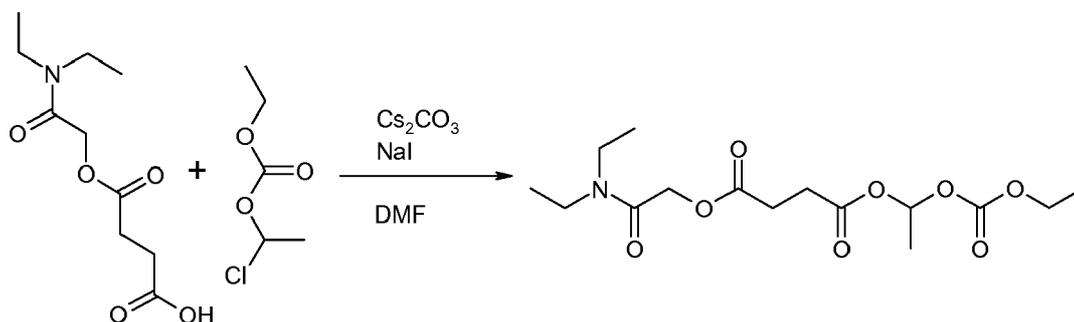
Ejemplo 10: Éster dietilcarbamoilmetílico del éster acetoximetílico de ácido succínico

30 Se suspendieron éster monodietilcarbamoilmetílico de ácido succínico (ejemplo 10, etapa (iii), 850 mg, 3,68 mmol), éster bromometílico de ácido acético (671 mg, 4,42 mmol), carbonato de cesio (1,78 g, 5,47 mmol) en DMF (10 ml), y se agitó la suspensión a 80°C durante 2 horas bajo una atmósfera de nitrógeno. Se enfrió la suspensión hasta temperatura ambiente, se diluyó con acetato de etilo (30 ml) y se lavó con agua (3x5 ml). Se combinaron las fases orgánicas y se eliminaron las sustancias volátiles a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en gel de sílice con un gradiente continuo de *iso*-hexano/acetato de etilo de 1:0 a 0:1 para proporcionar el compuesto del título

35 (334 mg) como un sólido blanco. ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 1,14 (t, *J*=7,1 Hz, 3H), 1,23 (t, *J*=7,1 Hz, 3H), 2,12 (s, 3H), 2,67-2,87 (m, 4H), 3,25 (q, *J*=7,1 Hz, 2H), 3,39 (q, *J*=7,1 Hz, 2H), 4,75 (s, 2H), 5,76 (s, 2H). CL-EM (m/z) 304,0 [M+H]⁺.

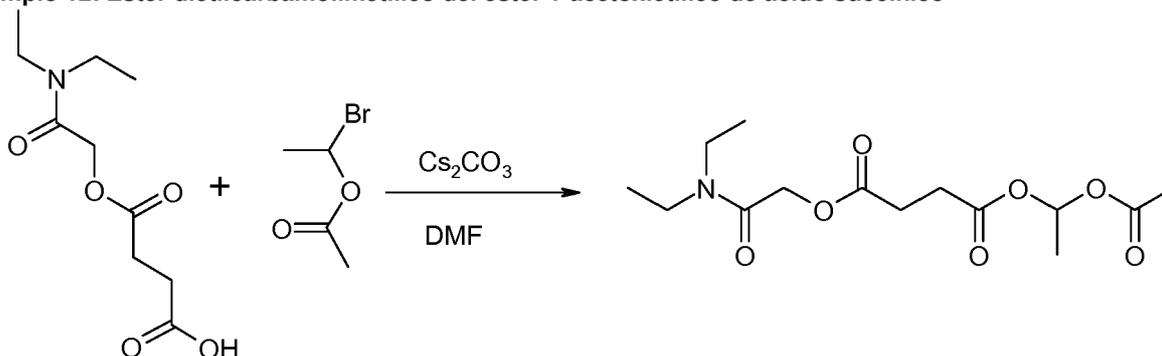
40

Ejemplo 11: Éster 1-etoxicarboniloxietílico del éster dietilcarbamoilmetílico de ácido succínico



5 Se suspendieron éster monodietilcarbamoilmetílico de ácido succínico (500 mg, 2,16 mmol), éster etílico del éster 1-cloroetilico de ácido carbónico (395 mg, 2,60 mmol), carbonato de cesio (625 mg, 1,92 mmol), yoduro de sodio (32 mg, 0,21 mmol) en DMF (10 ml), y se agitó la suspensión a 80°C durante 3 horas bajo una atmósfera de nitrógeno. Se enfrió la suspensión hasta temperatura ambiente, se diluyó con acetato de etilo (30 ml) y se lavó con agua (3x5 ml). Se combinaron las fases orgánicas y se eliminaron las sustancias volátiles a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en gel de sílice con un gradiente continuo de *iso*-hexano/acetato de etilo de 1:0 a 10 0:1 para proporcionar el compuesto del título (585 mg) como un aceite transparente. $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 1,14 (t, $J=7,1$ Hz, 3H), 1,23 (t, $J=7,1$ Hz, 3H), 1,32 (t, $J=7,1$ Hz, 3H), 1,53 (d, $J=5,5$ Hz, 3H), 2,67-2,87 (m, 4H), 3,25 (q, $J=7,1$ Hz, 2H), 3,39 (q, $J=7,1$ Hz, 2H), 4,22 (q, $J=7,1$ Hz, 2H), 4,74 (d, $J=8,03$ Hz, 2H), 6,77 (q, $J=5,5$ Hz, 1H). CL-EM (m/z) 348,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

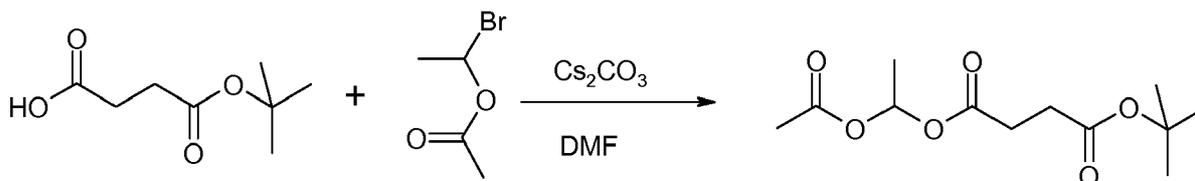
Ejemplo 12: Éster dietilcarbamoilmetílico del éster 1-acetoxietílico de ácido succínico



15 Se suspendieron éster monodietilcarbamoilmetílico de ácido succínico (500 mg, 2,16 mmol), éster 1-bromoetilico de ácido acético (434 mg, 2,60 mmol), carbonato de cesio (625 mg, 1,92 mmol) en DMF (10 ml), y se agitó la suspensión a 70°C durante 2 horas bajo una atmósfera de nitrógeno. Se enfrió la suspensión hasta temperatura ambiente, se diluyó con acetato de etilo (30 ml) y se lavó con agua (3x5 ml). Se combinaron las fases orgánicas y se eliminaron las sustancias volátiles a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en gel de sílice con un gradiente continuo de *iso*-hexano/acetato de etilo de 1:0 a 0:1 para proporcionar el compuesto del título (352 mg) como un aceite transparente. $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 1,14 (t, $J=7,1$ Hz, 3H), 1,23 (t, $J=7,1$ Hz, 3H), 1,48 (d, $J=5,5$ Hz, 3H), 2,07 (s, 3H), 2,66-2,85 (m, 4H), 3,25 (q, $J=7,1$ Hz, 2H), 3,39 (q, $J=7,1$ Hz, 2H), 4,74 (d, $J=5,1$ Hz, 2H), 6,87 (q, $J=5,5$ Hz, 1H). CL-EM (m/z) 318,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ejemplo 13: Éster acetoximetílico del éster 1-acetoxietílico de ácido succínico

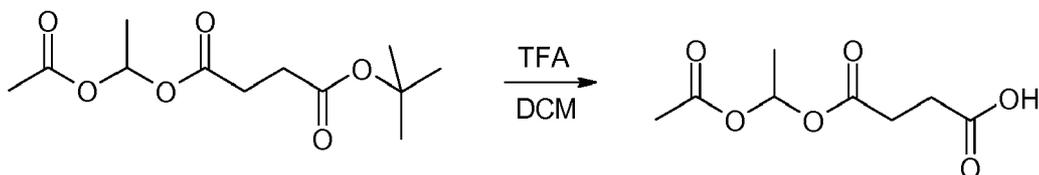
30 i) Éster terc-butílico del éster 1-acetoxietílico de ácido succínico



35 Se suspendieron éster mono-terc-butílico de ácido succínico (2,0 g, 11,48 mmol), éster 1-bromoetilico de ácido acético (1,9 g, 11,48 mmol), carbonato de cesio (2,6 g, 8,0 mmol) en DMF (20 ml), y se agitó la suspensión a 60°C durante 2 horas bajo una atmósfera de nitrógeno. Se enfrió la suspensión hasta temperatura ambiente, se diluyó con acetato de etilo (50 ml) y se lavó con agua (3x10 ml). Se combinaron las fases orgánicas y se eliminaron las sustancias volátiles a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en gel de sílice con un gradiente continuo de *iso*-hexano/acetato de etilo de 1:0 a 0:1 para proporcionar el compuesto del título (2,21 g) como un aceite

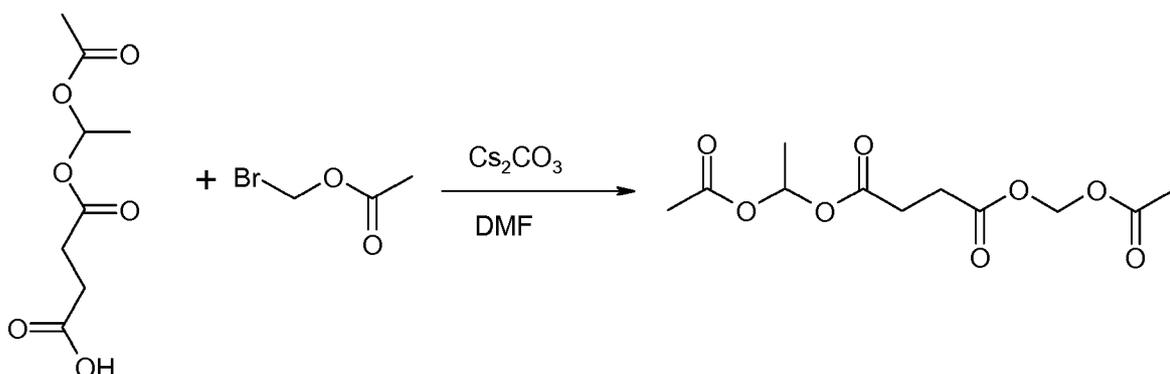
transparente. $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 1,45 (s, 9H), 1,48 (d, $J=5,5$ Hz, 3H), 2,07 (s, 3H), 2,50-2,65 (m, 4H), 6,88 (q, $J=5,5$ Hz, 1H).

5 ii) Éster mono-(1-acetoxietílico) de ácido succínico



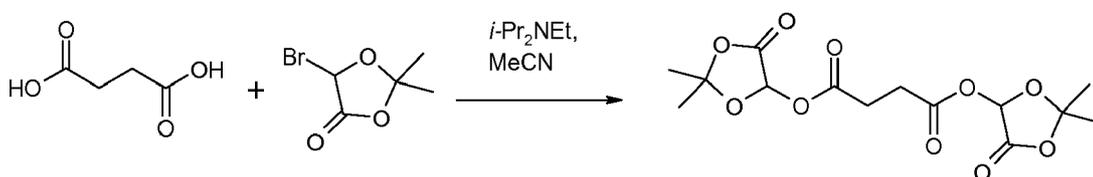
Se disolvió éster terc-butílico del éster 1-acetoxietílico de ácido succínico (ejemplo 13, etapa (i), 2,21 g, 8,49 mmol) en DCM (10 ml), se enfrió la disolución hasta 0°C y se añadió ácido trifluoroacético (2 ml). Se permitió que la disolución se calentara hasta temperatura ambiente y se agitó durante 3 horas bajo una atmósfera de nitrógeno. Se eliminaron las sustancias volátiles a vacío, se sometió a destilación azeotrópica el residuo con tolueno (3x20 ml) para proporcionar el compuesto del título (1,52 g) como un aceite transparente. $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 1,40 (d, $J=5,5$ Hz, 3H), 2,03 (s, 3H), 2,40-2,60 (m, 4H), 6,73 (q, $J=5,5$ Hz, 1H), 10-14 (a, 1H).

15 Ejemplo 13: Éster acetoximetílico del éster 1-acetoxietílico de ácido succínico



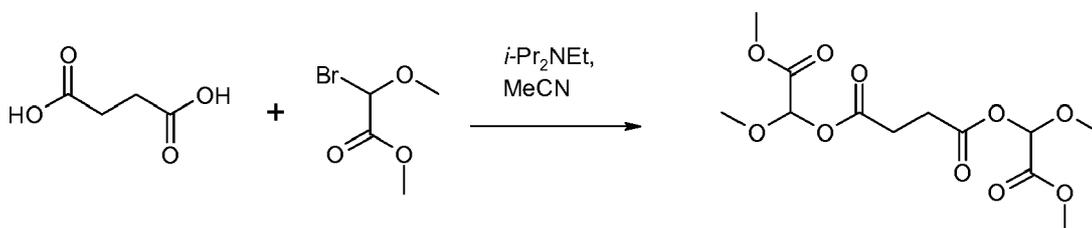
Se suspendieron éster mono-(1-acetoxietílico) de ácido succínico (ejemplo 13, etapa (ii), 500 mg, 2,45 mmol), éster bromometílico de ácido acético (450 mg, 2,93 mmol), carbonato de cesio (712 mg, 2,19 mmol) en DMF (10 ml), y se agitó la suspensión a 60°C durante 3 horas bajo una atmósfera de nitrógeno. Se enfrió la suspensión hasta temperatura ambiente, se diluyó con acetato de etilo (30 ml) y se lavó con agua (3x5 ml). Se combinaron las fases orgánicas y se eliminaron las sustancias volátiles a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en gel de sílice con un gradiente continuo de *iso*-hexano/acetato de etilo de 1:0 a 0:1 para proporcionar el compuesto del título (267 mg) como un aceite transparente. $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 1,49 (d, $J=5,5$ Hz, 3H), 2,08 (s, 3H), 2,13 (s, 3H), 2,60-2,77 (m, 4H), 5,76 (s, 2H), 6,87 (q, $J=5,5$ Hz, 1H). CL-EM (m/z) 277,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 299 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

25 Ejemplo 14: Éster bis-(2,2-dimetil-5-oxo-[1,3]dioxolan-4-ílico) de ácido succínico



A ácido succínico (2,36 g, 20 mmol) y diisopropiletilamina (8,1 ml, 46,5 mmol) en acetonitrilo bajo una atmósfera de nitrógeno y enfriados en un baño de hielo, se les añadió 5-bromo-2,2-dimetil-[1,3]dioxolan-4-ona (8,27 g, 42,4 mmol). Se permitió que la mezcla se calentara hasta temperatura ambiente a lo largo de 18 h. Volvió a enfriarse la disolución en un baño de hielo, se diluyó con acetato de etilo y se lavó con HCl 1 M, agua, disolución de hidrogenocarbonato de sodio acuosa y agua. Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio y se concentró para proporcionar el compuesto del título (3,4 g) como un sólido blanco. $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 1,15 (m, 12H), 2,41 (m, 4), 5,77 (m, 2H).

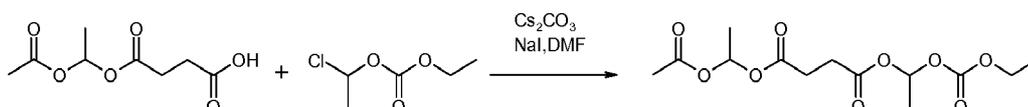
40 Ejemplo 15: Éster bis-(metoximetoxicarbonilmetílico) de ácido succínico



Se preparó el compuesto del título mediante el método según el ejemplo 14. $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 2,83 (m, 4H), 3,47 (s, 6H), 3,59 (s, 6H), 5,97 (s, 2H).

5

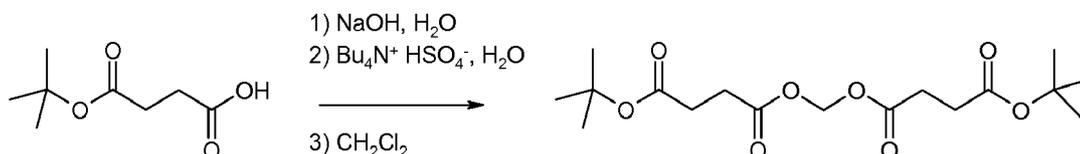
Ejemplo 16: Éster 1-etoxicarboniloxietílico del éster 1-acetoxietílico de ácido succínico



Se disolvieron éster mono-(1-acetoxietílico) de ácido succínico (ejemplo 13, etapa (ii), 1 g, 4,90 mmol), carbonato de 1-cloroetililo (895 mg, 5,88 mmol), carbonato de cesio (1,4 g, 7,35 mmol) y yoduro de sodio (73 mg, 0,49 mmol) en DMF (15 ml) y se calentó la mezcla hasta 80°C durante 3 horas. Se permitió que se enfriara la mezcla hasta temperatura ambiente y luego se repartió entre agua y acetato de etilo. Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio y se concentró para proporcionar un residuo en bruto que se purificó mediante cromatografía en cromatografía en gel de sílice con un gradiente continuo de *iso*-hexano/acetato de etilo de 1:0 a 0:1 para proporcionar el compuesto del título (118 mg). $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 1,31 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H), 1,46 (d, $J = 5,4$ Hz, 3H), 1,51 (d, $J = 5,4$ Hz, 3H), 2,06 (s, 3H), 2,56-2,74 (m, 4H), 4,21 (q, $J = 7,1$ Hz, 2H), 6,76 (q, $J = 5,4$ Hz, 1H), 6,85 (q, $J = 5,4$ Hz, 1H).

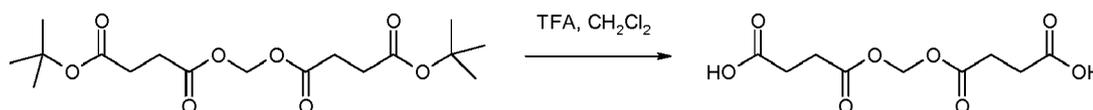
Ejemplo 17: Éster 1-acetoxietílico del éster 3-(1-acetoxietoxicarbonil)-propioniloximetílico de ácido succínico

i) Éster terc-butílico del éster 3-terc-butoxicarbonilpropioniloximetílico de ácido succínico



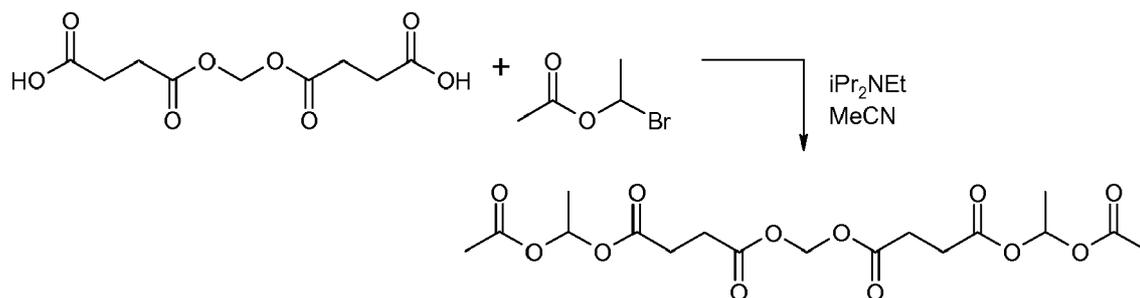
A succinato de t-butilo (8,7 g, 50 mmol) se le añadió disolución de hidróxido de sodio acuosa (50 ml, 2 M) y se agitó la mezcla durante 10 min. Se añadió hidrogenosulfato de tetrabutilamonio (17 g) y se agitó la mezcla durante 30 min adicionales. Se extrajo la disolución con diclorometano (4 x 100 ml) y se secaron los extractos combinados sobre sulfato de magnesio. Entonces se calentó la disolución de diclorometano a 40°C durante 5 días. Se permitió que la disolución se enfriara hasta temperatura ambiente y se lavó con ácido sulfúrico (1 M), agua y disolución de hidrogenocarbonato de sodio seguido por agua. Entonces se secó la fase orgánica y se concentró para proporcionar el compuesto del título como producto en bruto (5,7 g). $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3 , ppm) δ 1,45 (s, 18H), 2,53-2,67 (m, 8H), 5,79 (m, 2H).

ii) Éster mono-(3-carboxipropioniloximetílico) de ácido succínico



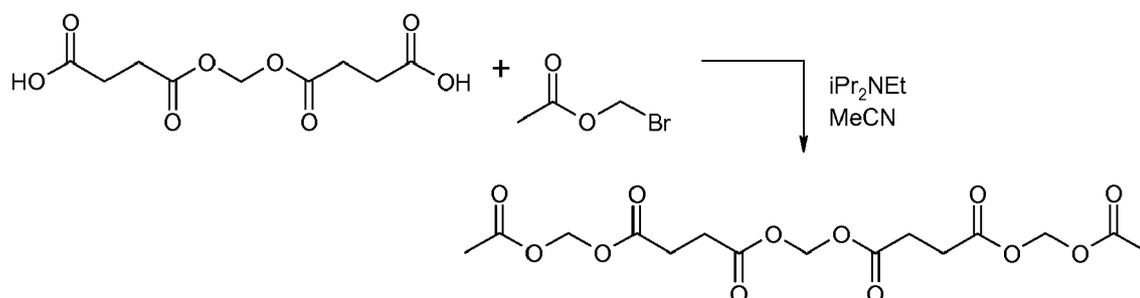
Se disolvió éster terc-butílico del éster 3-terc-butoxicarbonilpropioniloximetílico de ácido succínico (1,8 g, 7,3 mmol) en diclorometano (27 ml) y se enfrió la mezcla hasta -78°C bajo nitrógeno. Se añadió ácido trifluoroacético (0,77 ml, 10 mmol) y se permitió que la mezcla se calentara hasta 4°C tras lo cual se mantuvo a 4°C durante 18 h. Se evaporó la mezcla y se sometió a destilación azeotrópica con tolueno. El análisis mostró reacción incompleta de modo que se sometió la mezcla en bruto a las mismas condiciones de reacción durante 4 días adicionales. Se evaporó la mezcla y se sometió a destilación azeotrópica con tolueno y se usó en la siguiente etapa como un producto en bruto (1,3 g). $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3 , ppm) δ 2,52-2,64 (m, 8H), 5,71 (s, 2H).

Ejemplo 17: Éster 1-acetoxietílico del éster 3-(1-acetoxietoxicarbonil)-propioniloximetílico de ácido succínico



Se preparó el compuesto del título mediante el método del ejemplo 6 usando éster mono-(3-carboxipropioniloximetílico) de ácido succínico (ej. 17ii, 1,3 g) y acetato de 1-bromoetilo (1,8 g) para proporcionar 240 mg de producto tras la purificación. 1H -RMN ($CDCl_3$, ppm) δ 1,50 (d, 6H), 2,09 (s, 6H), 2,60-2,75 (m, 8H), 5,78 (s, 2H), 6,90 (q, 2H).

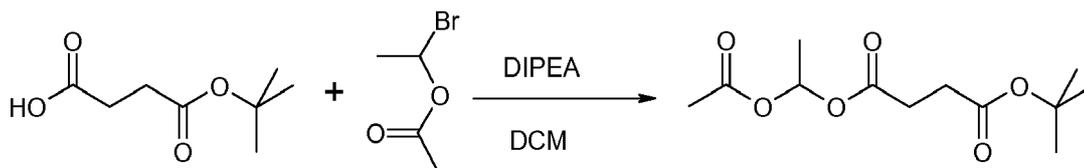
Ejemplo 18: Éster acetoximetílico del éster 3-acetoximetoxicarbonilpropioniloximetílico de ácido succínico



Se preparó el compuesto del título mediante el método del ejemplo 6 usando éster mono-(3-carboxipropioniloximetílico) de ácido succínico (ej. 17ii, 1,0 g, 4,0 mmol) y acetato de 1-bromometilo (1,3 g, 8,5 mmol) para proporcionar 1,4 g de producto tras la purificación. 1H -RMN ($CDCl_3$, ppm) δ 2,15 (s, 6H), 2,73 (s, 8H), 5,72-5,82 (m, 6H).

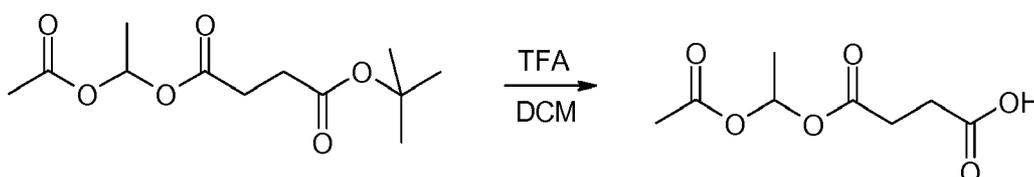
Procedimiento alternativo para el ejemplo 13. Éster acetoximetílico del éster 1-acetoxietílico de ácido succínico

i) Éster terc-butílico del éster 1-acetoxietílico de ácido succínico



Se disolvió éster mono-terc-butílico de ácido succínico (60,2 g, 345 mmol) en diclorometano (600 ml), y se añadió diisopropiletilamina (72,2 ml, 53,4 g, 414 mmol). Se enfrió la reacción hasta $0^\circ C$, y se añadió acetato de 1-bromoetilo (63,4 g, 380 mmol) gota a gota. Una vez se completó la adición, se permitió que la reacción se calentara hasta temperatura ambiente a lo largo de 16 horas. Se concentró la reacción a presión reducida. Se disolvió el residuo en acetato de etilo (450 ml) y se lavó sucesivamente con (cantidades de 400 ml) frías de ácido clorhídrico acuoso 0,5 M, disolución de bicarbonato de sodio saturada acuosa y disolución de cloruro de sodio saturada acuosa. Se secaron las fases orgánicas con sulfato de magnesio y se concentraron a presión reducida hasta dar un aceite. Se purificó el aceite mediante destilación a vacío para dar el compuesto del subtítulo (75 g) como un aceite incoloro (temperatura de vapor de $150-180^\circ C$ a 1 mbar). 1H -RMN coherente con el material previo.

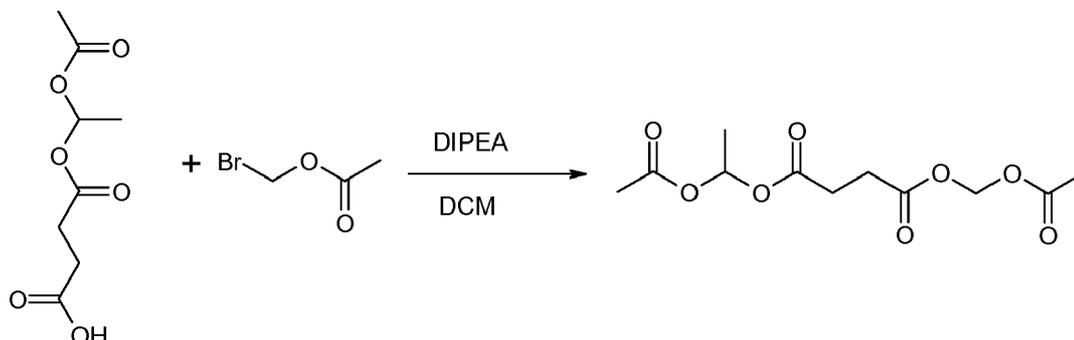
ii) Éster mono-(1-acetoxietílico) de ácido succínico



Se preparó el compuesto del subtítulo tal como se describió anteriormente en el ejemplo 13 (ii). ¹H-RMN coherente con el material previo.

Ejemplo 13: Éster acetoximetílico del éster 1-acetoxietílico de ácido succínico

5

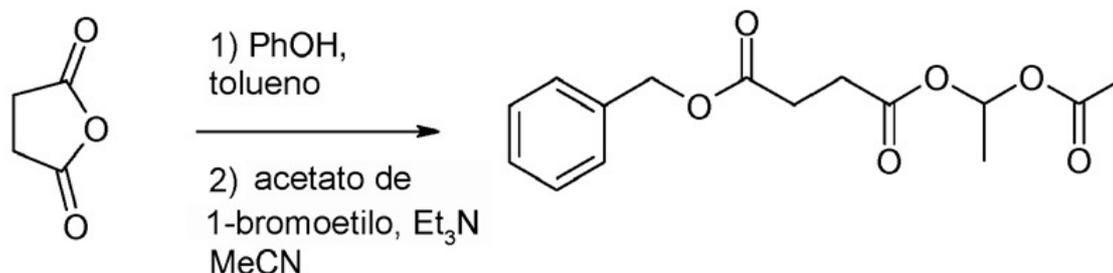


Se disolvió éster mono-(1-acetoxietílico) de ácido succínico (ejemplo 13, etapa (ii), 62 g, 303 mmol) en diclorometano (600 ml), y se añadió diisopropiletilamina (60,1 ml, 44,6 g, 345 mmol). Se enfrió la reacción hasta 0°C, y se añadió acetato de bromometilo (31,0 ml, 48,4 g, 316 mmol) gota a gota. Una vez se completó la adición, se permitió que la reacción se calentara hasta temperatura ambiente a lo largo de 4 horas. Se concentró la reacción a presión reducida. Se disolvió el residuo en acetato de etilo (450 ml) y se lavó sucesivamente con (cantidades de 400 ml) frías de ácido clorhídrico acuoso 0,5 M, disolución de bicarbonato de sodio saturada acuosa y disolución de cloruro de sodio saturada acuosa. Se secaron las fases orgánicas con sulfato de magnesio y se concentraron a presión reducida hasta dar un aceite. Se purificó el aceite mediante destilación a vacío para dar el compuesto del título (57,5 g) como un aceite incoloro (temperatura de vapor de 137-147°C at 0,13 mbar). ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 1,50 (d, J=5,5 Hz, 3H), 2,09 (s, 3H), 2,13 (s, 3H), 2,66-2,72 (m, 4H), 5,77 (s, 2H), 6,88 (q, J=5,5 Hz, 1H).

Ruta alternativa para el ejemplo 13(ii). Éster mono-(1-acetoxietílico) de ácido succínico

20

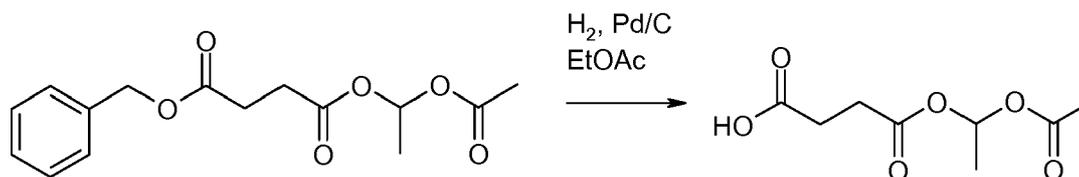
i) Éster bencílico del éster 1-acetoxietílico de ácido succínico



Se suspendió anhídrido succínico (3 g, 30 mmol) en tolueno (5 ml) y se añadió alcohol bencílico (3,25 ml, 31,4 mmol). Entonces se calentó la reacción a reflujo durante 2 horas. Se concentró la reacción a presión reducida, y se disolvió el residuo en acetonitrilo (10 ml), se añadió trietilamina (5,43 ml, 39 mmol), seguido por adición gota a gota de acetato de 1-bromoetilo (5,51 g, 33 mmol) y se agitó la reacción durante 2 horas a temperatura ambiente. Se concentró la reacción a presión reducida, y se repartió el residuo entre diclorometano (20 ml) y agua (20 ml). Se separaron las fases, y se secaron las fases orgánicas con sulfato de magnesio, y se concentraron a presión reducida. Se purificó el producto mediante destilación a vacío para proporcionar el producto del subtítulo (6,1 g) como un aceite incoloro (temperatura de vapor de 162-168°C a 0,19 mbar). ¹H-RMN (CDCl₃, ppm) δ 1,47 (d, J=5,5 Hz, 3H), 2,07 (s, 3H), 2,62-2,79 (m, 4H), 5,15 (s, 2H), 6,87 (q, J=5,5 Hz, 1H), 7,30-7,43 (m, 5H).

Ejemplo 13(ii) Éster mono-(1-acetoxietílico) de ácido succínico

35



Se disolvió éster bencílico del éster 1-acetoxietílico de ácido succínico (6,1 g, 20,7 mmol) en acetato de etilo (60 ml) y se añadió paladio al 10% sobre carbón (160 mg). Entonces, se colocó la reacción bajo una atmósfera de hidrógeno

40

durante 48 horas. Se filtró la reacción a través de Celite, y se concentró el filtrado a vacío. Se purificó el residuo mediante MPLC eluyendo con un gradiente de desde isohexano hasta acetato de etilo al 50%:isohexano, para dar el compuesto del título (3,2 g). $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3 , ppm) δ 1,49 (d, $J=5,5$ Hz, 3H), 2,09 (s, 3H), 2,61-2,76 (m, 4H), 6,89 (q, $J=5,5$ Hz, 1H).

5

Protocolos de ensayo

Aislamiento de plaquetas

10 Se aislaron plaquetas humanas de sangre venosa recogida en viales K_2EDTA a través de dos etapas de centrifugación a temperatura ambiente. Tras 10 min a 300 g, se recogió plasma rico en plaquetas y se transfirió a viales nuevos. 5 min a 4600 g produjo un sedimento de plaquetas que se resuspendió en una cantidad apropiada de plasma. Se determinó la concentración celular con un hematocitómetro Swelab Alfa (Boule Medical AB, Estocolmo, Suecia).

15

Respirometría de alta resolución

Se realizó una medición de la respiración mitocondrial en un oxígrafo de alta resolución (oxígrafo 2k, Oroboros Instruments, Innsbruck, Austria) a una temperatura constante de 37°C . Se suspendieron las plaquetas en la cámara de vidrio de 2 ml a una concentración de $200\text{-}400 \times 10^6$ células/ml.

20

Examen para detectar posibles candidatos a fármaco

Se utilizaron dos protocolos de examen.

25

(1) Se realizó el examen inicial, efecto del complejo II, con plaquetas intactas aisladas en un tampón que contenía sacarosa 110 mM, HEPES 20 mM, taurina 20 mM, K-lactobionato 60 mM, MgCl_2 3 mM, KH_2PO_4 10 mM, EGTA 0,5 mM, BSA 1 g/l, pH 7,1. Después de que se estableciera la respiración inicial con sustratos endógenos, se inhibió el complejo I con rotenona 2 mM. Se valoraron candidatos a fármaco disueltos en DMSO en etapas hasta una concentración final de 100 μM , 500 μM y 5 mM. Posteriormente, se permeabilizaron las membranas celulares con digitonina (1 mg/ 1×10^6 plt). Tras estabilizarse la respiración, se añadió succinato 10 mM y, tras estabilizarse la respiración, se terminó el experimento mediante la adición del inhibidor del complejo III, antimicina, a una concentración final de 1 $\mu\text{g/ml}$ y se midió la respiración residual. La figura 1 muestra el protocolo para evaluar sustratos mitocondriales permeables a células novedosos. En el ensayo, se reprime la función mitocondrial en células intactas con el inhibidor del complejo I respiratorio, rotenona. Los candidatos a fármaco se comparan con sustratos endógenos antes y después de la permeabilización de la membrana plasmática para evaluar la mejora o inhibición bioenergética.

30

35

(2) En el segundo protocolo, respiración convergente, se usó el mismo tampón de respiración y concentraciones celulares tal como se describió anteriormente. Después de que se estableciera la respiración basal, se añadió el desacoplador mitocondrial FCCP a una concentración de 2 μM . Se valoraron candidatos a fármaco disueltos en DMSO en etapas hasta una concentración final de 100 μM , 200 μM , 400 μM , 600 μM , 1 mM, 2 mM, 5 mM y 10 mM. Se anotó la concentración necesaria para alcanzar la respiración convergente máxima. Se terminó el experimento mediante la adición de rotenona 2 μM y antimicina 1 $\mu\text{g/ml}$ y se midió la respiración residual. La figura 2 describe el protocolo para evaluar la potencia de sustratos mitocondriales permeables a células novedosos. En el ensayo, se estimula la actividad mitocondrial desacoplando las mitocondrias con el protonóforo FCCP. Se valoran los candidatos a fármaco para obtener el nivel de respiración máxima convergente (derivada del complejo I y del complejo II). Tras la adición de rotenona, se obtiene estimulación dependiente del complejo II. Se añade el inhibidor del complejo II, antimicina, para evaluar el consumo de oxígeno residual (principalmente no mitocondrial).

40

(1) El compuesto ideal estimula la respiración en células intactas inhibidas con rotenona a baja concentración en el protocolo de examen de CII sin efecto inhibitor sobre la respiración estimulada con succinato tras la permeabilización. Después de la inhibición de la respiración con toxinas mitocondriales, la respiración debe detenerse. Remítase a la figura 1 y a la lista a continuación.

55

a > b significa que a es mayor que b

60 a >>b significa que a es mucho mayor que b

a \rightarrow b significa que el valor de a se aproxima al valor de b

Propiedades deseadas de los compuestos:

65

• valor máximo de uno alcanzado a una baja concentración de fármaco.

• $a \gg a'$

5 • $a \rightarrow b'$

• $c \rightarrow c'$

• $d \rightarrow d'$

10

Se identifican compuestos impermeables por la membrana celular en el ensayo como:

• $a \rightarrow a'$

15

Se identifica el consumo de oxígeno no mitocondrial inducido por el candidato a fármaco cuando

• $d > d'$

Ejemplo n.º	Respiración mitocondrial
1	(+)
2	++
3	+++
4	++
5	+++
6	+
7	++
8	++
9	+
10	++
11	(+)
12	+
13	+++
14	+++
15	(+)
16	++
17	+++
18	+++

20 Tabla 1. Resultados del ensayo de examen del complejo II de compuestos de ejemplo. Respiración dependiente del complejo II en ensayo de examen (figura 1) con plaquetas humanas intactas inhibidas con rotenona.

- sin estimulación,

25 (+) la estimulación empieza a 5 mM,

+ la estimulación empieza a 0,5 mM y alcanza el máximo a 5 mM,

30 ++ la estimulación aumenta gradualmente y alcanza el máximo a 5 mM,

+++ la estimulación aumenta gradualmente y alcanza el máximo a $\leq 0,5$ mM.

35 (2) En el ensayo de examen de respiración convergente, el compuesto ideal presenta una respiración superior con valoración escalonada en comparación con el control en mitocondrias desacopladas en células intactas. Remítase al protocolo esquemático en la figura 2 y a los gráficos a modo de ejemplo de los experimentos con los compuestos de ejemplo n.ºs 3, 5 y 13 en la figura 3. La figura 3 muestra el aumento en la respiración (flujo de oxígeno por unidad) con valoración escalonada de fármacos en comparación con el control (succinato de disodio) en plaquetas humanas intactas (figura 2).

40 A. Compuesto de ejemplo n.º 3

B. Compuesto de ejemplo n.º 5

C. Compuesto de ejemplo n.º 13

45

Compuestos inactivos relacionados conocidos anteriormente

Anteriormente se describió el uso de varios ésteres de ácido succínico diferentes en ensayos celulares. Remítase a la tabla 2 para los resultados de los ensayos de examen para estos compuestos.

5

Ejemplo n.º	Mitocondrial Respiración
Succinato de dietilo	-
Succinato de monometilo	-
Succinato de dimetilo	-

Tabla 2. Resultados del ensayo de examen del complejo II en compuestos relacionados conocidos anteriormente. Respiración dependiente del complejo II en ensayo de examen (figura 1) con plaquetas humanas intactas inhibidas con rotenona.

10

- sin estimulación,

(+) la estimulación empieza a 5 mM,

15

+ la estimulación empieza a 0,5 mM y alcanza el máximo a 5 mM,

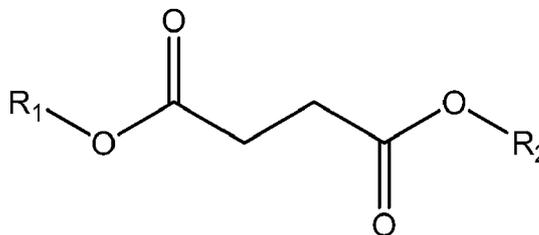
++ la estimulación aumenta gradualmente y alcanza el máximo a 5 mM,

20

+++ la estimulación aumenta gradualmente y alcanza el máximo a $\leq 0,5$ mM.

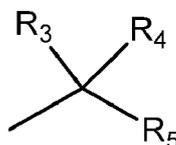
REIVINDICACIONES

1. Succinato protegido de fórmula (I)



5

en la que R₁ es H, una sal farmacéuticamente aceptable, un grupo alquilo o un grupo de fórmula (II) y R₂ es independientemente un grupo según la fórmula (II) donde la fórmula (II) es



10

en la que R₃ es H, alquilo C₁-C₃, o se une junto con R₅ mediante un grupo de fórmula COO(CR'R'')O formando un anillo, donde R' y R'' son independientemente H, alquilo C₁-C₃, o se unen juntos formando un anillo;

15

R₄ es H;

R₅ es OCOR_a, OCOOR_b, OCONR_cR_d, CONR_cR_d o se une a R₃ mediante un grupo de fórmula COO(CR'R'')O formando un anillo, donde R' y R'' son independientemente H, alquilo C₁-C₃, o se unen juntos formando un anillo; donde

20

R_a es CH₃, CH₂CH₃, CH(CH₃)₂, C(CH₃)₃ o cicloalquilo;

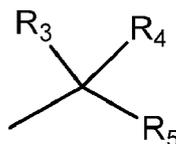
R_b es CH₃, CH₂CH₃, CH(CH₃)₂, C(CH₃)₃ o cicloalquilo;

R_c y R_d son independientemente H, metilo o etilo o se unen juntos formando un anillo que puede contener uno o más heteroátomos adicionales;

y en el que el compuesto según la fórmula (I) no es éster bis(2,2-dimetilpropioniloximetílico) de ácido succínico ni éster mono-[2-(dietilamino)-2-oxietílico] de ácido succínico.

25

2. Succinato protegido según la reivindicación 1, en el que R₁ es un grupo alquilo C₁-C₃ o un grupo de fórmula (II) y R₂ es independientemente un grupo según la fórmula (II) donde la fórmula (II) es



30

en la que R₃ es H, alquilo C₁-C₃, o se une junto con R₅ mediante un grupo de fórmula COO(CR'R'')O formando un anillo, donde R' y R'' son independientemente alquilo C₁-C₃;

R₄ es H;

R₅ es OCOR_a, OCOOR_b o CONR_cR_d

35

donde

R_a es metilo, etilo o ^tBu;

R_b es metilo, etilo o ^tBu; y

R_c y R_d son independientemente metilo o etilo.

40

3. Succinato protegido según las reivindicaciones 1-2, en el que R₃ es metilo o etilo.

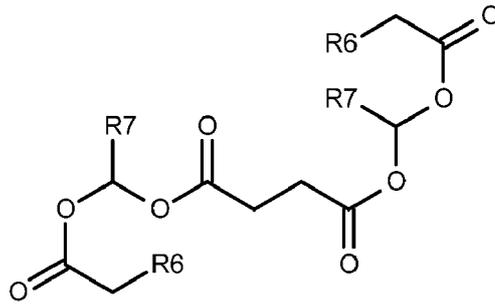
4. Succinato protegido según las reivindicaciones 1-2, en el que R₃ es H.

5. Succinato protegido según las reivindicaciones 1-2, en el que R₁ es metilo.

45

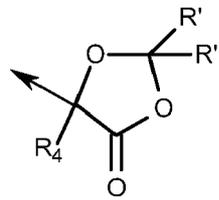
6. Succinato protegido según las reivindicaciones 1-2, donde R₅ es un éster metílico o éster etílico.

7. Succinato protegido según las reivindicaciones 1-2, representado por la fórmula IV



en la que cada R_7 es independientemente H, metilo o etilo y cada R_6 es independientemente H o metilo.

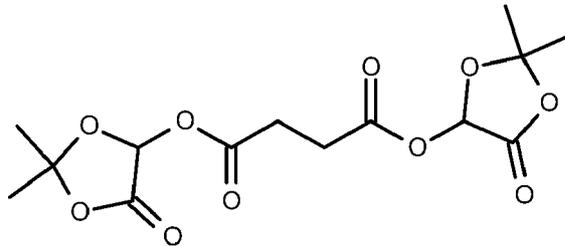
- 5 8. Succinato protegido según las reivindicaciones 1-2, en el que R_c y R_d son metilo o etilo.
 9. Succinato protegido según las reivindicaciones 1-2, en el que R' y R'' son independientemente metilo o etilo.
 10. Succinato protegido según las reivindicaciones 1-2, en el que R_3 y R_5 se unen juntos mediante un grupo de fórmula $COO(CR'R'')O$ formando un anillo de fórmula (V)



(V)

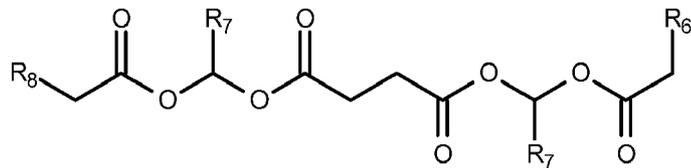
en la que R_4 es H y R' y R'' son independientemente H, alquilo C_1-C_3 opcionalmente sustituido, o se unen juntos formando un anillo.

11. Succinato protegido según la reivindicación 10, según la fórmula (Va)



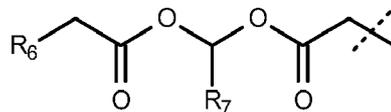
(Va)

12. Succinato protegido según la reivindicación 1, que tiene la fórmula (XIII)



(XIII)

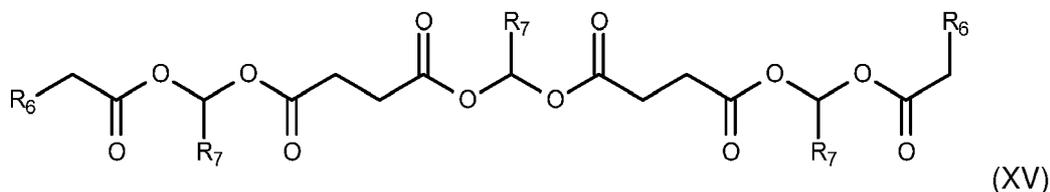
en la que cada R_7 es independientemente H, metilo o etilo y R_6 es independientemente H o metilo y R_8 es H, metilo o un resto según la fórmula (XIV)



(XIV)

donde R_7 es independientemente H, metilo o etilo y R_6 es independientemente H o metilo.

13. Disuccinato protegido según la reivindicación 1, que tiene la fórmula (XV)



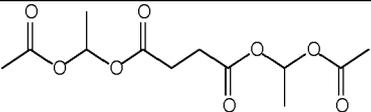
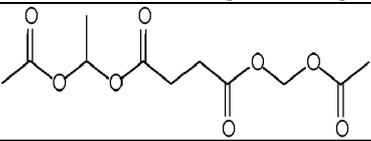
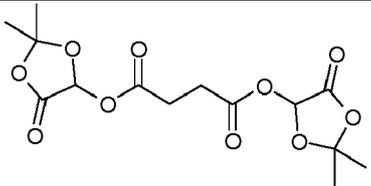
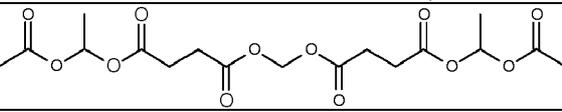
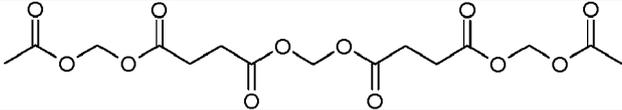
5 en la que cada R₇ es independientemente H, metilo o etilo y cada R₆ es independientemente H o metilo.

14. Succinato protegido según la reivindicación 1, en el que el compuesto se selecciona de los ejemplos 3, 5, 8, 10, 13, 14, 16, 17 ó 18:

3		Éster diacetoximetílico de ácido succínico
5		Éster bis-(1-acetoxietílico) de ácido succínico
8		Éster bis-(1-propioniloxietílico) de ácido succínico
10		Éster dietilcarbamoilmetílico del éster acetoximetílico de ácido succínico
13		Éster acetoximetílico del éster 1-acetoxietílico de ácido succínico
14		Éster bis-(2,2-dimetil-5-oxo-[1,3]dioxolan-4-ílico) de ácido succínico
16		Éster 1-etoxicarboniloxietílico del éster 1-acetoxietílico de ácido succínico
17		Éster 1-acetoxietílico del éster 3-(1-acetoxietoxicarbonil)-propioniloximetílico de ácido succínico
18		Éster acetoximetílico del éster 3-acetoximetoxicarbonilpropioniloximetílico de ácido succínico

15. Succinato protegido según la reivindicación 1, en el que el compuesto se selecciona de los ejemplos 3, 5, 13, 14, 17 ó 18:

3		Éster diacetoximetílico de ácido succínico
---	--	--

5		Éster bis-(1-acetoxietílico) de ácido succínico
13		Éster acetoximetílico del éster 1-acetoxietílico de ácido succínico
14		Éster bis-(2,2-dimetil-5-oxo-[1,3]dioxolan-4-ílico) de ácido succínico
17		Éster 1-acetoxietílico del éster 3-(1-acetoxietoxicarbonil)-propioniloximetílico de ácido succínico
18		Éster acetoximetílico del éster 3-acetoximetoxicarbonilpropioniloximetílico de ácido succínico

16. Succinato protegido según se define en cualquiera de las reivindicaciones 1-15, para su uso en la estimulación de la producción mitocondrial de energía.

5 17. Succinato protegido según se define en cualquiera de las reivindicaciones 1-15, para su uso en medicina.

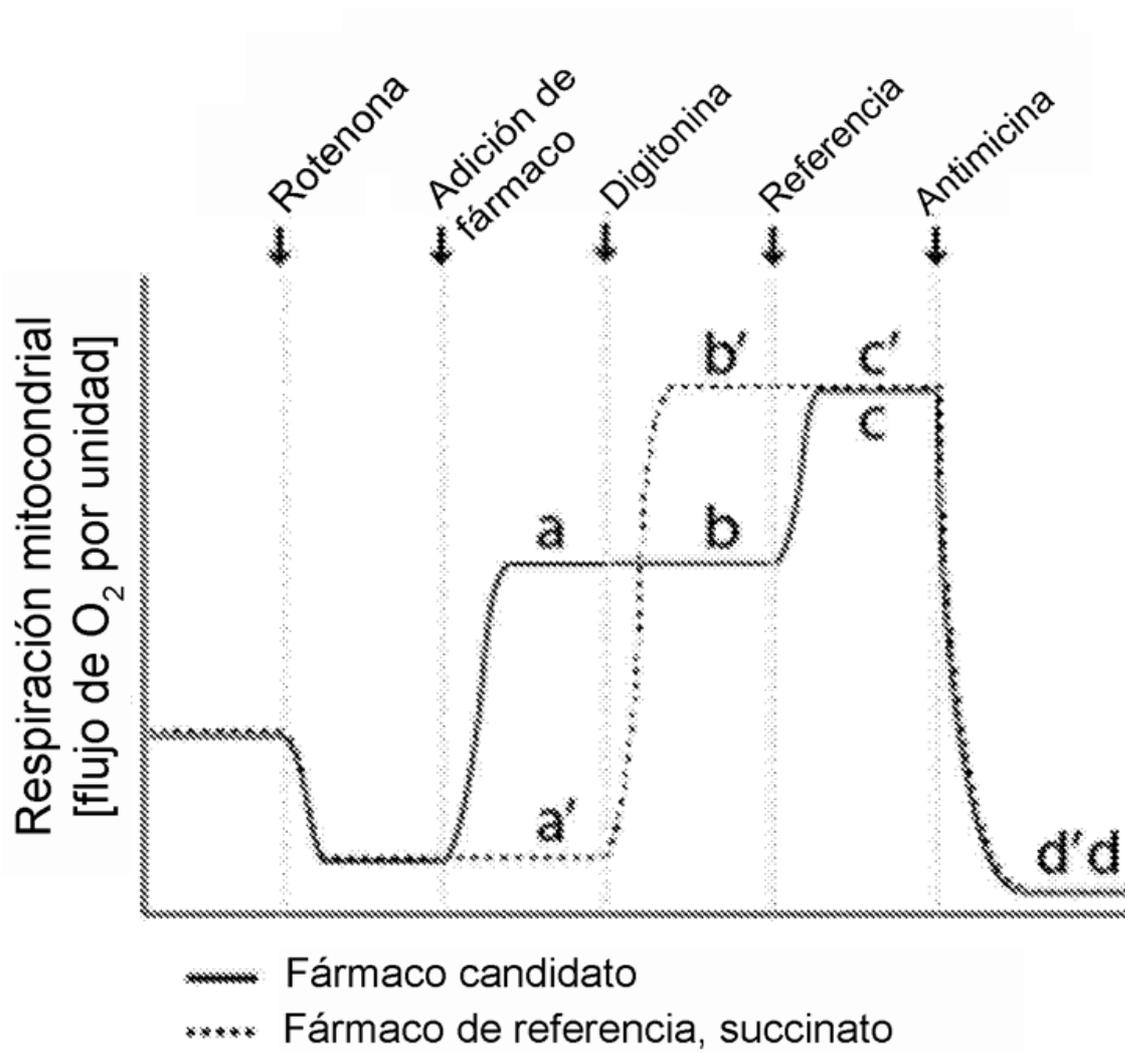


Fig 1. Figura esquemática del ensayo de examen del complejo II mitocondrial

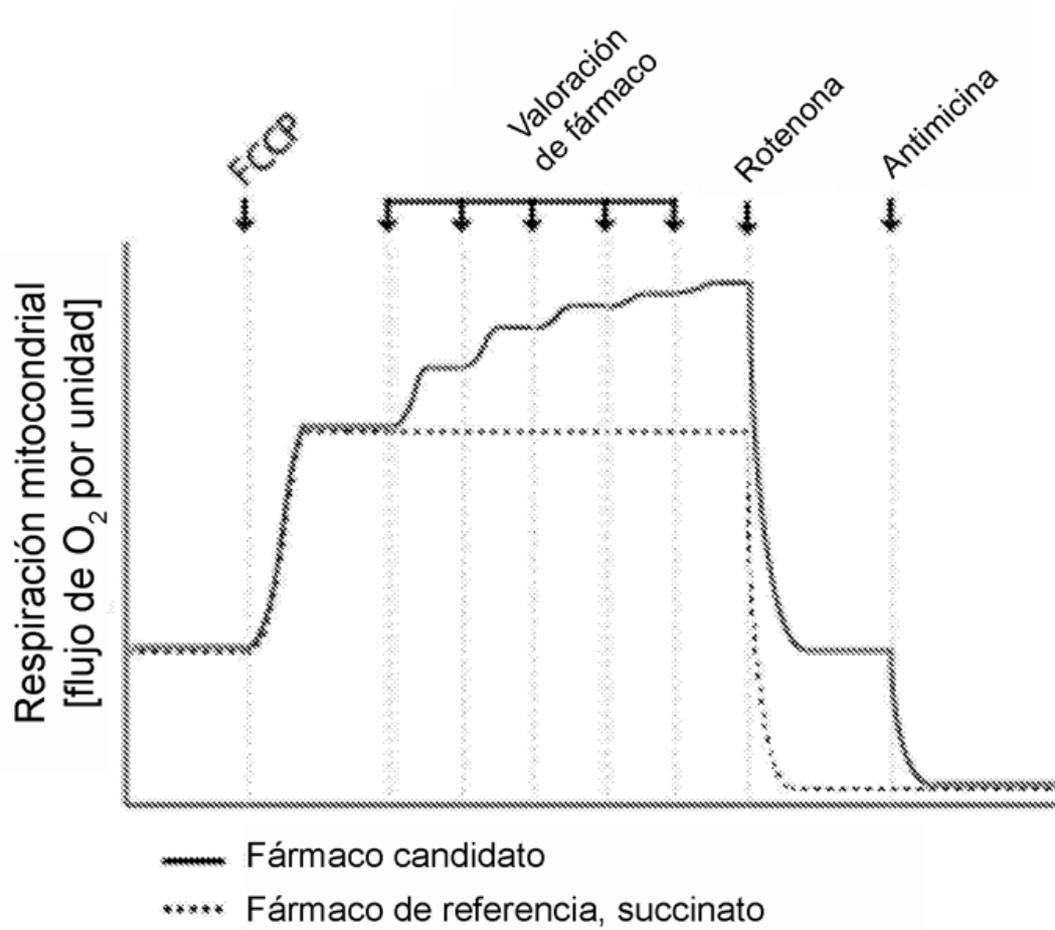


Fig 2. Figura esquemática del ensayo de examen de la respiración convergente mitocondrial

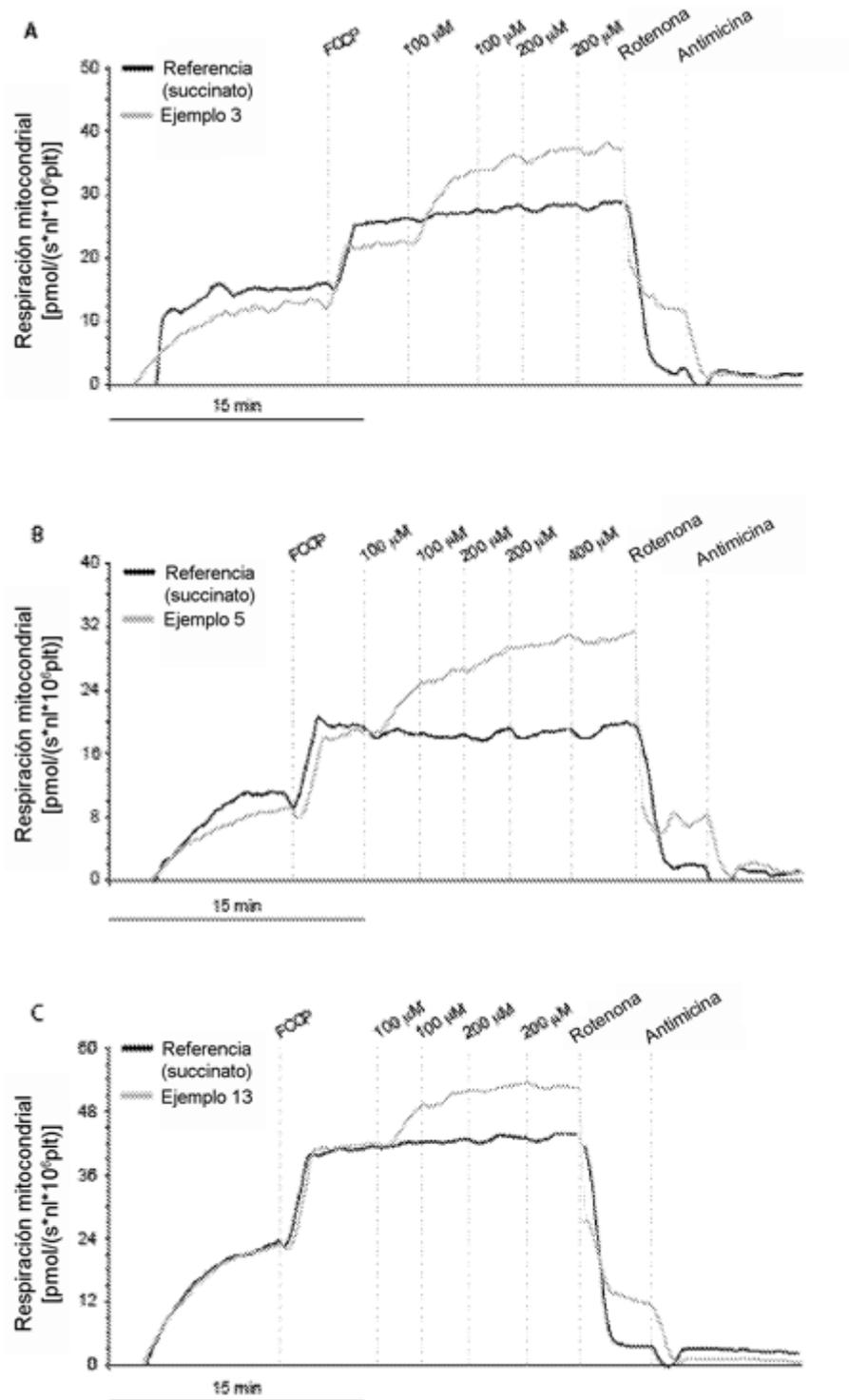


Fig 3. Perfiles experimentales a modo de ejemplo para la respiración mitocondrial convergente [pmol/(s*nl*10⁶pit)]