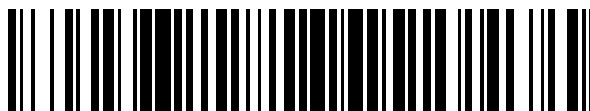


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 714 900**

51 Int. Cl.:

A61K 31/355 (2006.01)

A61P 3/00 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.06.2006 E 12195108 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.12.2018 EP 2564843**

54 Título: **Productos terapéuticos redox activos para el tratamiento de enfermedades mitocondriales y otras afecciones y modulación de biomarcadores energéticos**

30 Prioridad:

01.06.2005 US 686826 P

21.07.2005 US 701815 P

22.02.2006 US 776028 P

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

30.05.2019

73 Titular/es:

**BIOELECTRON TECHNOLOGY CORPORATION
(100.0%)**

**350 North Bernardo Avenue
Mountain View, CA 94043, US**

72 Inventor/es:

**MILLER, GUY M., y
HECHT, SIDNEY M.,**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

Observaciones:

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o
Bemerkungen) en el folleto original publicado por
la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 714 900 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

Productos terapéuticos redox activos para el tratamiento de enfermedades mitocondriales y otras afecciones y modulación de biomarcadores energéticos

5 **Campo técnico**

La solicitud se refiere a compuestos para su uso en métodos para tratar trastornos enfermedades neurodegenerativas.

10 **Antecedentes**

15 Las mitocondrias son orgánulos en las células eucariotas, a las que se hace referencia popularmente como la "central energética" de la célula. La molécula trifosfato de adenosina (ATP) funciona como una "moneda" energética o portador de energía en la célula, y las células eucariotas obtienen la mayoría de su ATP de los procesos bioquímicos realizados por las mitocondrias. Estos procesos bioquímicos incluyen el ciclo del ácido cítrico (el ciclo del ácido tricarbóxico, o ciclo de Krebs), que genera nicotinamida adenina dinucleótido en su forma reducida (NADH + H⁺), a partir de nicotinamida adenina dinucleótido oxidada (NAD⁺), y fosforilación oxidativa, durante la cual la NADH + H⁺ se oxida de nuevo a NAD⁺. (El ciclo del ácido cítrico también reduce la flavina adenina dinucleótido, o FAD, a FADH₂; la FADH₂ también participa en la fosforilación oxidativa).

25 Los electrones liberados por la oxidación de NADH + H⁺ son transportados por una serie de complejos proteicos (Complejo I, Complejo II, Complejo III, y Complejo IV) conocidos como la cadena respiratoria. Estos complejos están integrados en la membrana interna de la mitocondria. El complejo IV, al final de la cadena, transfiere los electrones al oxígeno, que se reduce en agua. La energía liberada a medida que estos electrones atraviesan los complejos se utiliza para generar un gradiente de protones a través de la membrana interna de la mitocondria, lo que crea un potencial electroquímico a través de la membrana interna. Otro compuesto proteico, el Complejo V (que no está directamente asociado con los Complejos I, II, III y IV) utiliza la energía almacenada por el gradiente electroquímico para convertir ADP en ATP.

30 El ciclo del ácido cítrico y la fosforilación oxidativa están precedidos por la glicólisis, en la que una molécula de glucosa se rompe en dos moléculas de piruvato, con una generación neta de dos moléculas de ATP por molécula de glucosa. Las moléculas de piruvato se introducen a continuación en las mitocondrias, donde se oxidan completamente en CO₂ y H₂O a través de fosforilación oxidativa (el proceso total se conoce como respiración aeróbica). La oxidación completa de las dos moléculas de piruvato en dióxido de carbono y agua produce aproximadamente al menos 28-29 moléculas de ATP, además de las 2 moléculas de ATP generadas mediante la transformación de glucosa en dos moléculas de piruvato. Si no hay oxígeno disponible, la molécula de piruvato no se introduce en la mitocondria, sino más bien se convierte en lactato, en el proceso de respiración anaeróbica.

40 Por lo tanto, la producción neta total por molécula de glucosa es de aproximadamente al menos 30-31 moléculas de ATP. El ATP se utiliza para proveer de energía, directa o indirectamente, a casi cada reacción bioquímica en la célula. Por lo tanto, las (aproximadamente) al menos 28 o 29 moléculas adicionales de ATP aportadas por la fosforilación oxidativa durante la respiración aeróbica son fundamentales para el adecuado funcionamiento de la célula. La carencia de oxígeno impide la respiración aeróbica y dará como resultado la posible muerte de casi todos los organismos aeróbicos; unos pocos organismos, tales como levaduras, son capaces de sobrevivir utilizando tanto la respiración aeróbica o anaeróbica.

50 Cuando las células en un organismo son privadas de oxígeno temporalmente, se utiliza la respiración anaeróbica hasta que el oxígeno se encuentre nuevamente disponible o la célula muere. El piruvato generado durante la glicólisis se convierte en lactato durante la respiración anaeróbica. Se cree que la acumulación de ácido láctico es responsable de la fatiga muscular durante periodos de actividad intensos, cuando el oxígeno no puede ser suministrado a las células musculares. Cuando el oxígeno se vuelve nuevamente disponible, el lactato se convierte de nuevo en piruvato para su utilización en la fosforilación oxidativa.

55 Los defectos genéticos en las proteínas que componen la cadena respiratoria conducen a estados de enfermedad graves. Una de tales enfermedades es la ataxia de Friedreich (FRDA o AF). La ataxia de Friedreich es un trastorno neurodegenerativo y cardiodegenerativo autosómico recesivo causado por la disminución en los niveles de la proteína frataxina. La frataxina es importante para el ensamblaje de los grupos de hierro-azufre en los complejos de la cadena respiratoria mitocondrial. Las estimaciones de la frecuencia de la FRDA en Estados Unidos se sitúan en un intervalo de 1 de cada 22.000-29.000 personas (véase la dirección de Internet.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/001411.htm) a 1 de cada 50.000 personas (dirección de Internet .umc-cares.org/health_info/ADAM/Articles/0014 1.asp). La enfermedad causa la pérdida progresiva de la coordinación motora voluntaria (ataxia) y complicaciones cardíacas. Los síntomas comienzan habitualmente en la infancia, y la enfermedad empeora de forma progresiva a medida que el paciente envejece; finalmente los pacientes acaban en silla de ruedas debido a discapacidades motoras.

Otra enfermedad ligada a la disfunción mitocondrial es la neuropatía óptica hereditaria de Leber (NOHL). La enfermedad está caracterizada por ceguera que ocurre de media entre los 27 y los 34 años de edad (dirección de Internet ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispomim.cgi?id=535000); la ceguera puede desarrollarse en ambos ojos simultáneamente, o secuencialmente (un ojo desarrollará la ceguera, seguido del otro ojo dos meses más tarde, como término medio). Otros síntomas pueden también ocurrir, tales como anomalías cardíacas y complicaciones neurológicas.

Incluso otro síndrome devastador que es el resultado de defectos mitocondriales es la miopatía mitocondrial, encefalopatía, acidosis láctica, e ictus (MELAS). La enfermedad puede manifestarse en bebés, niños, o adultos jóvenes. Los ictus, acompañados de vómitos y ataques epilépticos, son uno de los síntomas más serios; se postula que el deterioro metabólico de las mitocondrias en ciertas áreas del cerebro es responsable de la muerte celular y las lesiones neurológicas, más que el deterioro del flujo sanguíneo tal como ocurre en un ataque isquémico. A menudo, se presentan otras complicaciones graves, incluyendo síntomas neurológicos, y se producen niveles elevados de ácido láctico en la sangre.

Otra enfermedad mitocondrial es el síndrome de Kearns-Sayre (SKS). El SKS está caracterizado por una tríada de características, incluyendo: (1) aparición típica en personas menores de 20 años de edad; (2) oftalmoplejía externa, progresiva y crónica; y (3) degeneración pigmentaria de la retina. Además, el SKS puede incluir defectos en la conducción cardíaca, ataxia cerebelosa, y niveles elevados de proteínas en el líquido cefalorraquídeo (LCR) (por ejemplo, >100 mg/dl). Las características adicionales asociadas a SKS pueden incluir miopatía, distonía, anomalías endocrinas (por ejemplo, diabetes, retraso del crecimiento o estatura baja, e hipoparatiroidismo), sordera neurosensorial bilateral, demencia, cataratas, y acidosis tubular renal proximal. Por lo tanto, el SKS puede afectar a muchos sistemas de órganos.

Las cuatro enfermedades anteriores parecen estar causadas por defectos en el complejo I de la cadena respiratoria. La transferencia de electrones del complejo I al resto de la cadena respiratoria está mediada por el compuesto coenzima Q (también conocida por ubiquinona). La coenzima Q oxidada (CoQ^{ox} o ubiquinona), se reduce por el complejo I en la coenzima Q reducida (CoQ^{red} o ubiquinol). La coenzima Q transfiere entonces sus electrones al complejo III de la cadena respiratoria (saltando el complejo II), donde se oxida de nuevo en CoQ^{ox} (ubiquinona). La CoQ^{ox} puede entonces participar en interacciones adicionales de la transferencia de electrones.

Se encuentran disponibles pocos tratamientos para los pacientes que padecen estas enfermedades. Recientemente, se ha propuesto el compuesto idebenona para el tratamiento de la ataxia de Friedreich. Aunque los efectos de la idebenona han sido relativamente modestos, las complicaciones de las enfermedades mitocondriales pueden ser tan graves que incluso se prefieren las terapias ligeramente útiles a que curse la enfermedad sin tratamiento. Se ha propuesto otro compuesto, MitoQ, para tratar trastornos mitocondriales (véase la Publicación de la Solicitud de Patente de Estados Unidos n.º 25/43553); aún no se han notificado los resultados clínicos para MitoQ. Para el SKS, la administración de coenzima Q10 (CoQ10) y suplementos vitamínicos ha mostrado únicamente efectos beneficiosos transitorios en casos individuales.

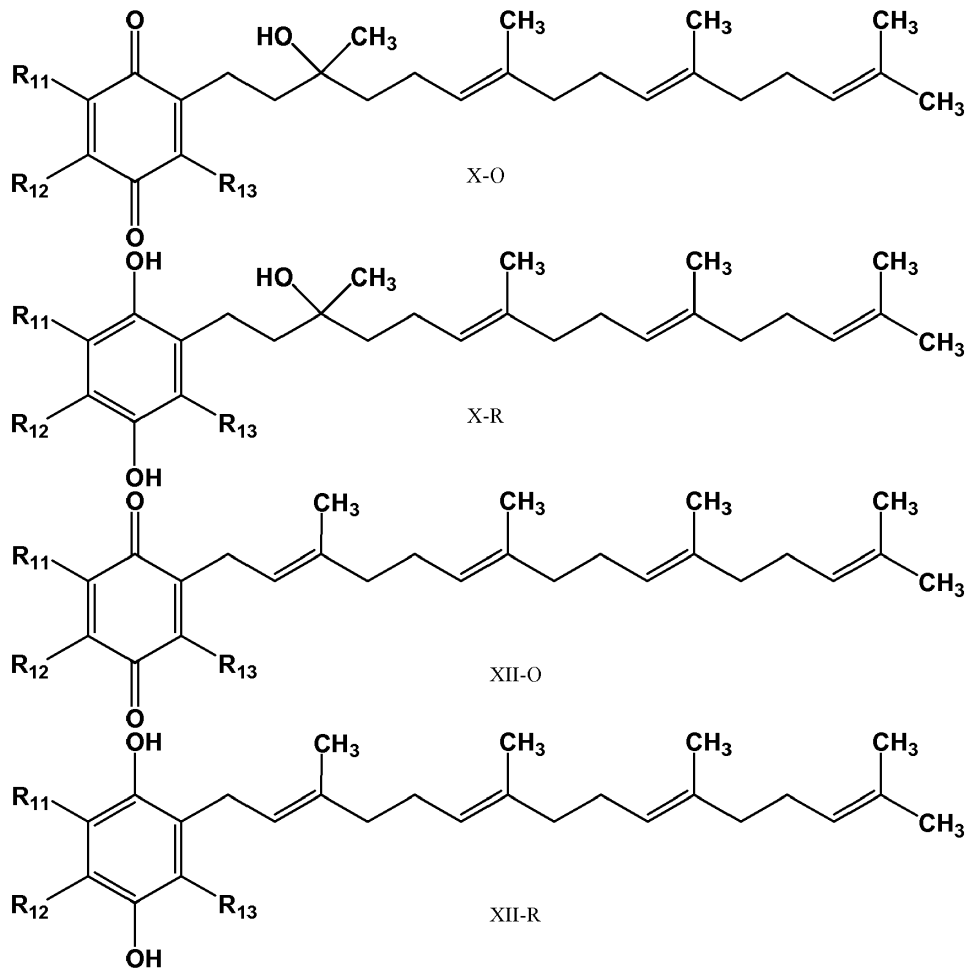
Por consiguiente, existe una necesidad grave y no cubierta de tratamientos eficaces de trastornos mitocondriales, tales como la ataxia de Friedreich, neuropatía óptica hereditaria de Leber, MELAS, y síndrome de Kearns-Sayre.

La habilidad para ajustar la producción biológica de energía tiene aplicaciones más allá de las enfermedades descritas anteriormente. Diversos trastornos diferentes pueden dar como resultado niveles por debajo de los óptimos de los biomarcadores energéticos (denominados en ocasiones indicadores de la función energética), tales como niveles de ATP. Los tratamientos para estos trastornos también son necesarios con el fin de modular uno o más biomarcadores energéticos para mejorar la salud del paciente. En otras aplicaciones, puede ser deseable modular ciertos biomarcadores energéticos alejándolos de sus valores normales en un individuo que no padece una enfermedad. Por ejemplo, si un individuo va a someterse a una tarea intensa, puede ser deseable elevar los niveles de ATP en ese individuo.

Divulgación de la invención

En otra realización, la invención incluye un compuesto para su uso en un método para tratar una enfermedad neurodegenerativa, comprendiendo el método administrar a un sujeto el compuesto como único agente farmacéutico activo en una cantidad terapéuticamente eficaz, compuesto que se selecciona del grupo que consiste en:

(a) compuestos de fórmula X-O, fórmula X-R, fórmula XII-O y fórmula XII-R:

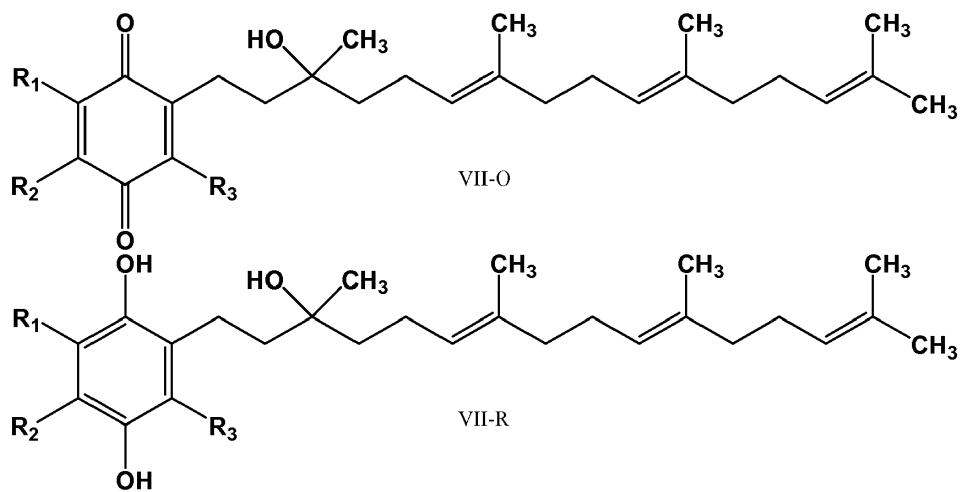


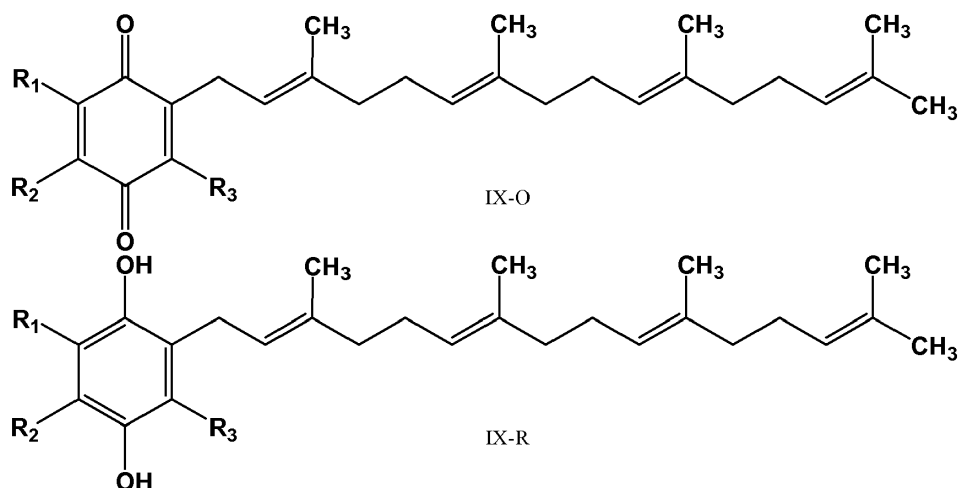
5

donde R_{11} , R_{12} , y R_{13} se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, alquilo -C₁-C₄, haloalquilo -C₁-C₄, -CN, -F, -Cl, -Br e -I, con la condición de que si cualquiera de R_{11} , R_{12} o R_{13} es H, entonces al menos uno de los otros dos sustituyentes no sea H ni metilo; y los estereoisómeros, mezclas de estereoisómeros, solvatos e hidratos de los mismos; y

10

(b) compuestos de fórmula VII-O, fórmula VII-R, fórmula IX-O y fórmula IX-R:





5 donde R₁, R₂, y R₃ se seleccionan independientemente de entre alquilo -C₁-C₄, con la condición de que al menos uno de R₁, R₂, y R₃ no sea metilo; y los estereoisómeros, mezclas de estereoisómeros, solvatos e hidratos de los mismos.

En una realización, R₁₁, R₁₂, y R₁₃ son todos metilo. En otra realización, al menos uno de R₁₁, R₁₂, y R₁₃ no es metilo.

10 En otra realización, R₁₁ se selecciona independientemente de entre el grupo que consiste en H, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, ciclopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, t-butilo, ciclobutilo, ciclopropil-metilo, y metil-ciclopropano, donde el punto de unión de R₁₁ al resto de la molécula puede estar en cualquier ubicación en el fragmento alquilo; R₁₂ se selecciona independientemente de entre H, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, ciclopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, t-butilo, ciclobutilo, ciclopropil-metilo, y metil-ciclopropano, donde el punto de unión de R₁₂ al resto de la molécula puede estar en cualquier ubicación en el fragmento alquilo; y R₁₃ se selecciona independientemente de entre H, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, ciclopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, t-butilo, ciclobutilo, ciclopropil-metilo, y metil-ciclopropano, donde el punto de unión de R₁₃ al resto de la molécula puede estar en cualquier ubicación en el fragmento alquilo; con la condición de que si cualquiera de R₁₁, R₁₂ o R₁₃ es H, entonces al menos uno de los otros dos sustituyentes no sea H ni metilo. En una realización, R₁₁, R₁₂, y R₁₃ son todos metilo. En otra realización, al menos uno de R₁₁, R₁₂, y R₁₃ no es metilo.

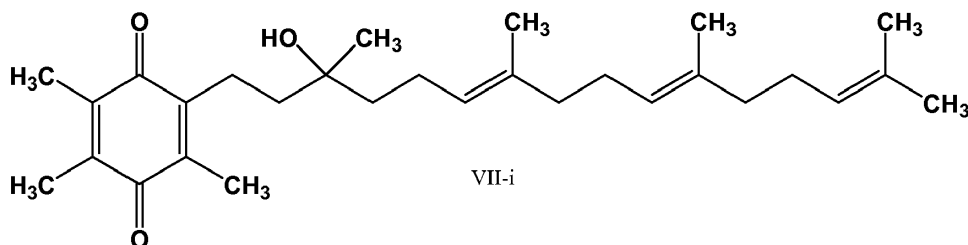
En otra realización, R₁₁, R₁₂, y R₁₃ se seleccionan independientemente de entre metilo, etilo, n-propilo y n-butilo.

25 En otra realización, R₁₁, R₁₂, y R₁₃ se seleccionan independientemente de entre -n-alquilo C₁-C₄.

En otra realización, R₁₁, R₁₂, y R₁₃ se seleccionan independientemente de entre -n-alquilo C₁-C₄.

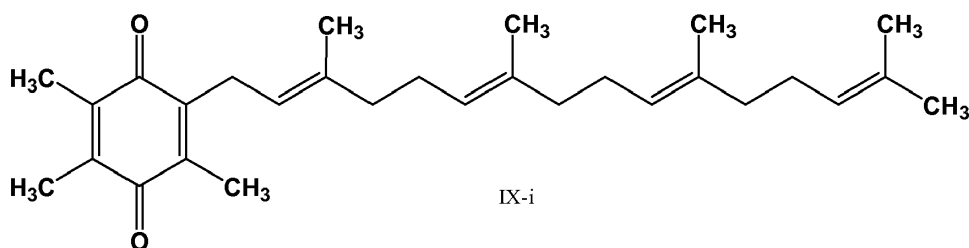
30 Típicamente, la enfermedad neurodegenerativa se selecciona del grupo que consiste en enfermedad de Parkinson; enfermedad de Alzheimer; esclerosis lateral amiotrófica (ELA); enfermedades neuromotoras; otras enfermedades neurológicas; enfermedad de Huntington; y degeneración macular.

En otra realización, el compuesto es de las fórmulas VII-i, o IX-i y estereoisómeros, mezclas de estereoisómeros, solvatos e hidratos del mismo. El Compuesto VII-i es:



35 que es α-tocotrienolquinona (como alternativa, denominada como 2-(3-hidroxi-3,7,11,15-tetrametil-6,10,14-hexadecatrienil)-3,5,6-trimetil-2,5-ciclohexadieno-1,4-diona o 2-(3-hidroxi-3,7,11,15-tetrametil-6,10,14-hexadecatrienil)-3,5,6-trimetil-p-benzoquinona, número de registro CAS 14101-66-7).

40



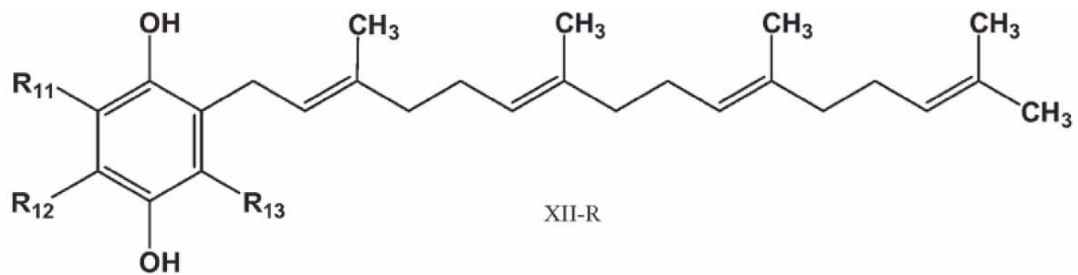
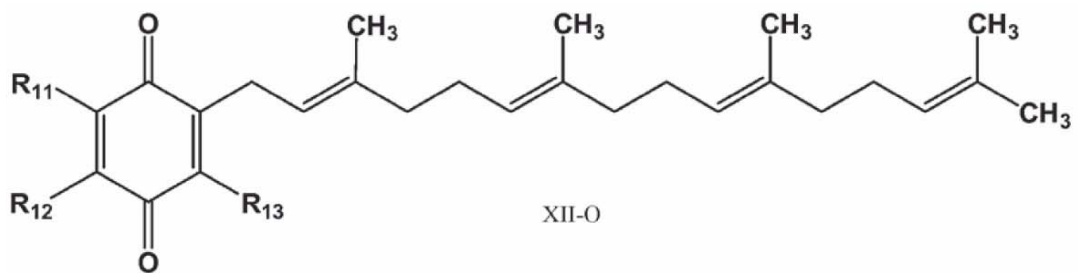
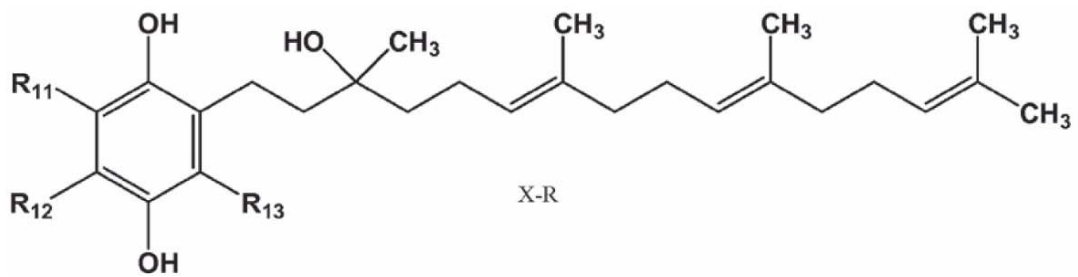
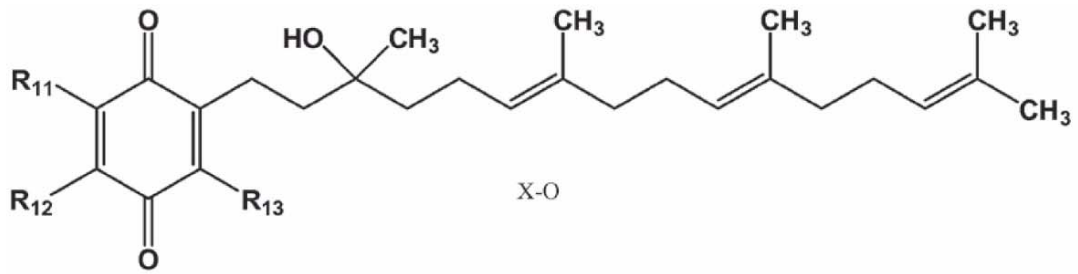
que es 2,3,5-trimetil-6-(3,7,11,15-tetrametil-2,6,10,14-hexadecatetraenil)-2,5-ciclohexadieno-1,4-diona (como alternativa denominada trimetil(3,7,11,15-tetrametil-2,6,10,14-hexadecatetraenil)-p-benzoquinona, Número de Registro CAS 65647-38-3).

En otra realización de la invención, incluyendo cualquiera de las anteriores realizaciones, los compuestos descritos en el presente documento se administran a sujetos que padecen un trastorno neurodegenerativo para modular uno o más de los diversos biomarcadores energéticos, incluyendo, pero sin limitación, los niveles de ácido láctico (lactato), en sangre entera, plasma, líquido cefalorraquídeo, o líquido cerebroventricular; niveles de ácido pirúvico (piruvato), en sangre entera, plasma, líquido cefalorraquídeo, o líquido cerebroventricular; relaciones de lactato/piruvato, en sangre entera, plasma, líquido cefalorraquídeo, o líquido cerebroventricular; niveles de fosfocreatina, niveles de NADH (NADH +H⁺) o NADPH (NADPH+H⁺); niveles de NAD o NADP; niveles de ATP; niveles de coenzima Q reducida (CoQ^{red}); niveles de coenzima Q oxidada (CoQ^{ox}); niveles de coenzima Q total (CoQ^{tot}); niveles de citocromo C oxidado; niveles de citocromo C reducido; relación de citocromo C oxidado/citocromo C reducido; niveles de acetoacetato; niveles de beta-hidroxi butirato; relación de acetoacetato/beta-hidroxi butirato; niveles de 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina (8-OHdG); niveles de especies de oxígeno reactivo; consumo de oxígeno (VO₂), producción de dióxido de carbono (VCO₂), cociente respiratorio (VCO₂/VO₂), y para modular la intolerancia al ejercicio (o por el contrario, modular la tolerancia al ejercicio) y para modular el umbral anaeróbico. Los biomarcadores energéticos pueden medirse en sangre entera, plasma, líquido cefalorraquídeo, líquido cerebroventricular, sangre arterial, sangre venosa, o cualquier otro fluido corporal, gas corporal, u otra muestra biológica útil para tal medición. En una realización, los niveles se modulan a un valor dentro de aproximadamente 2 desviaciones estándar del valor en un sujeto sano. En otra realización, los niveles se modulan a un valor dentro de aproximadamente 1 desviación estándar del valor en un sujeto sano. En otra realización, los niveles en un sujeto se cambian en al menos aproximadamente el 10 % por encima o por debajo del nivel en el sujeto antes de la modulación. En otra realización, los niveles se cambian en al menos aproximadamente el 20 % por encima o por debajo del nivel en el sujeto antes de la modulación. En otra realización, los niveles se cambian en al menos aproximadamente el 30 % por encima o por debajo del nivel en el sujeto antes de la modulación. En otra realización, los niveles se cambian en al menos aproximadamente el 40 % por encima o por debajo del nivel en el sujeto antes de la modulación. En otra realización, los niveles se cambian en al menos aproximadamente el 50 % por encima o por debajo del nivel en el sujeto antes de la modulación. En otra realización, los niveles se cambian en al menos aproximadamente el 75 % por encima o por debajo del nivel en el sujeto antes de la modulación. En otra realización, los niveles se cambian en al menos aproximadamente el 100 % por encima o al menos aproximadamente el 90 % por debajo del nivel en el sujeto antes de la modulación.

En otra realización, incluyendo cualquiera de las anteriores realizaciones, el sujeto o sujetos en los que se realiza un método para tratar una enfermedad neurodegenerativa se seleccionan del grupo que consiste en sujetos que se someten a una actividad física extenuante o prolongada; sujetos con problemas energéticos crónicos; sujetos con problemas respiratorios crónicos; mujeres embarazadas; mujeres embarazadas con actividad laboral; neonatos; neonatos prematuros; sujetos expuestos a entornos extremos; sujetos expuestos a entornos con calor; sujetos expuestos a entornos fríos; sujetos expuestos a entornos con un contenido de dióxido de carbono superior a la media; sujetos expuestos a entornos con niveles de contaminación del aire superior a la media; viajeros de aerolíneas; auxiliares de vuelo; sujetos en altitudes elevadas; sujetos que viven en ciudades con una calidad del aire inferior a la media; sujetos que trabajan en entornos cerrados donde la calidad del aire se degrada; sujetos con enfermedades pulmonares; sujetos con una capacidad pulmonar inferior a la media; pacientes con tuberculosis; pacientes con cáncer de pulmón; pacientes con enfisema; pacientes con fibrosis quística; sujetos que se están recuperando de una cirugía; sujetos que se están recuperando de una enfermedad; sujetos ancianos; sujetos ancianos que experimentan una disminución de energía; sujetos que padecen fatiga crónica; sujetos que sufren del síndrome de fatiga crónica; sujetos que padecen un traumatismo agudo; sujetos en choque; sujetos que requieren la administración aguda de oxígeno; sujetos que requieren la administración crónica de oxígeno; u otros sujetos con demandas de energía agudas, crónicas o en curso que puedan beneficiarse de una mejora de los biomarcadores energéticos.

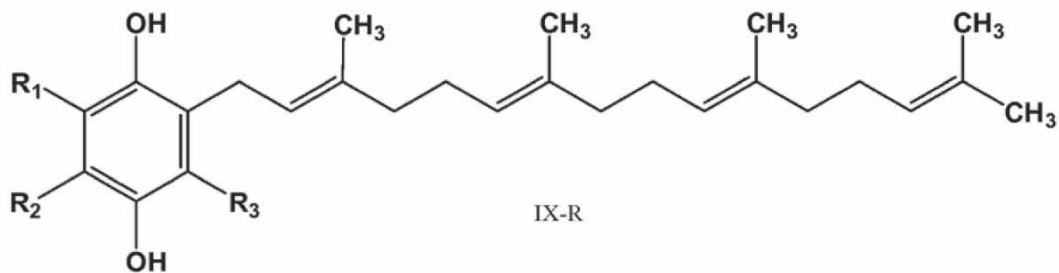
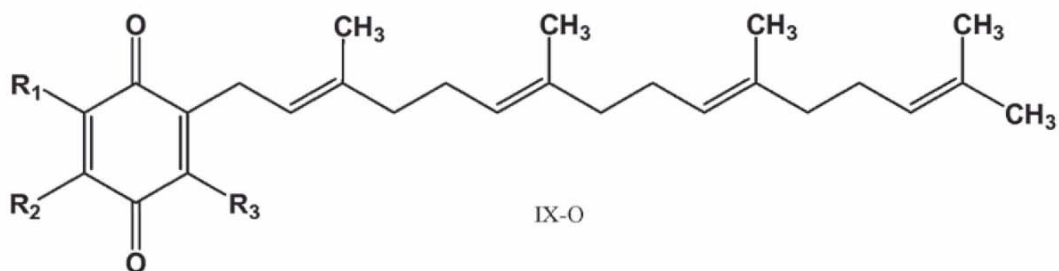
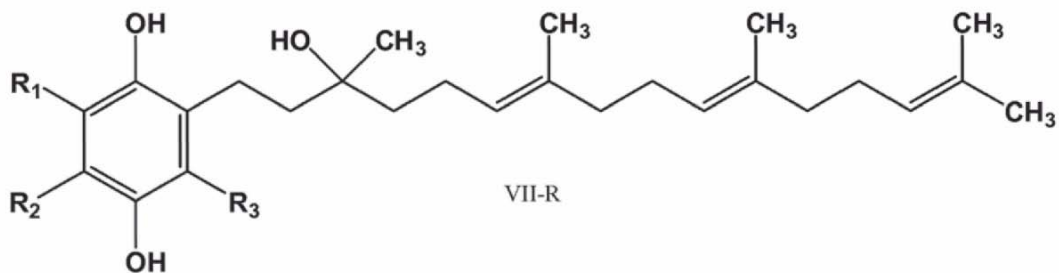
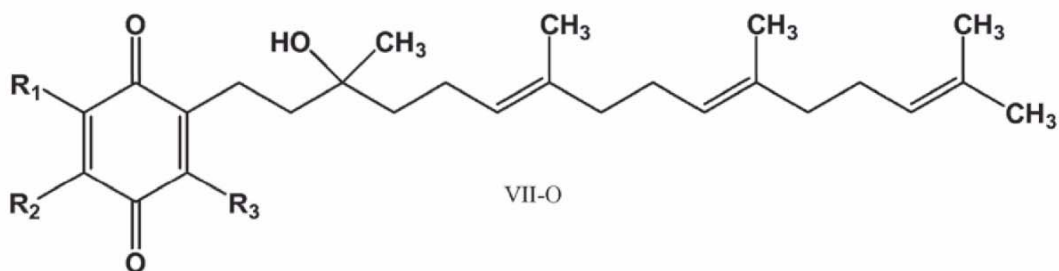
En otra realización, la invención incluye el uso, en la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad neurodegenerativa, de un compuesto seleccionado del grupo que consiste en:

(a) compuestos de fórmula X-O, fórmula X-R, fórmula XII-O y fórmula XII-R:



5 donde R₁₁, R₁₂ y R₁₃ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, alquilo -C1-C4, haloalquilo -C1-C4, -CN, -F, -Cl, -Br e -I, con la condición de que si cualquiera de R₁₁, R₁₂ o R₁₃ es H, entonces al menos uno de los otros dos sustituyentes no es H ni metilo; y estereoisómeros, mezclas de estereoisómeros, solvatos e hidratos de los mismos; y

(b) compuestos de fórmula VII-O, fórmula VII-R, fórmula IX-O y fórmula IX-R:



5 donde R₁, R₂, y R₃ se seleccionan independientemente de entre alquilo -C₁-C₄, con la condición de que al menos uno de R₁, R₂, y R₃ no sea metilo; y los estereoisómeros, mezclas de estereoisómeros, solvatos e hidratos de los mismos; y
 donde el tratamiento comprende administrar a un sujeto el compuesto como el único agente farmacéutico activo en una cantidad terapéuticamente eficaz.

10 Típicamente, en el compuesto para uso como se define en el presente documento, o el uso del compuesto como se define en el presente documento, el compuesto es el único agente farmacéutico activo.

15 Para todos los compuestos y métodos descritos anteriormente, la forma de quinona también se puede usar en su forma reducida (hidroquinona) cuando se desee. Asimismo, la forma de hidroquinona también se puede usar en su forma oxidada (quinona) cuando se desee.

Modos para realizar la invención

20 La invención incluye compuestos útiles en el tratamiento o supresión de enfermedades neurodegenerativas. Los productos terapéuticos redox activos para el tratamiento o supresión de enfermedades neurodegenerativas y aspectos asociados de la invención se describen en más detalle en el presente documento.

Por "sujeto", "individuo", o "paciente" se refiere a un organismo individual, preferiblemente un vertebrado, más preferiblemente un mamífero, y mucho más preferiblemente un ser humano.

"Tratar" una enfermedad con los compuestos y métodos analizados en el presente documento, se define como administrar uno o más de los compuestos analizados en el presente documento, con o sin agentes terapéuticos adicionales, para reducir o eliminar la enfermedad o bien uno o más de los síntomas de la enfermedad, o para retrasar el avance de la enfermedad o de uno o más de los síntomas de la enfermedad, o para reducir la gravedad de la enfermedad o de uno o más de los síntomas de la enfermedad. La "supresión" de una enfermedad con los compuestos y métodos analizados en el presente documento se define como la administración de uno o más de los compuestos analizados en el presente documento, con o sin agentes terapéuticos adicionales, para suprimir la manifestación clínica de la enfermedad, o para suprimir la manifestación de síntomas adversos de la enfermedad. La distinción entre tratamiento y supresión es que el tratamiento ocurre después de que los síntomas adversos de la enfermedad se manifiesten en un sujeto, mientras que la supresión ocurre antes de que los síntomas adversos de la enfermedad se manifiesten en un sujeto. La supresión puede ser parcial, sustancialmente total, o total. Debido a que muchos de los trastornos neurodegenerativos son heredados, puede utilizarse cribado genético para identificar pacientes en riesgo de la enfermedad. Los compuestos y métodos de la invención pueden administrarse entonces a pacientes asintomáticos en riesgo de desarrollar los síntomas clínicos de la enfermedad, para suprimir la aparición de cualquier síntoma adverso. "Uso terapéutico" de los compuestos analizados en el presente documento se define como la utilización de uno o más de los compuestos analizados en el presente documento para tratar o suprimir una enfermedad, según se ha definido anteriormente. Una "cantidad eficaz" de un compuesto es una cantidad del compuesto suficiente para modular, normalizar, o mejorar uno o más biomarcadores energéticos (donde modulación, normalización, y mejora se definen más adelante). Una "cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto es una cantidad del compuesto que, cuando se administra a un sujeto, es suficiente para reducir o eliminar una enfermedad o uno o más síntomas de una enfermedad, o para retrasar el avance de una enfermedad o de uno o más síntomas de una enfermedad, o para reducir la gravedad de una enfermedad o de uno o más síntomas de una enfermedad, o para suprimir la manifestación clínica de una enfermedad, o para suprimir la manifestación de síntomas adversos de una enfermedad. Una cantidad terapéuticamente eficaz puede proporcionarse en una o más administraciones. Una "cantidad eficaz" de un compuesto incluye tanto una cantidad terapéuticamente eficaz, así como una cantidad eficaz para modular, normalizar o mejorar uno o más biomarcadores energéticos en un sujeto.

"Modulación" de, o "modular", un biomarcador energético significa cambiar el nivel del biomarcador energético hacia un valor deseado, o cambiar el nivel del biomarcador energético en una dirección deseada (por ejemplo, aumento o disminución). La modulación puede incluir, pero sin limitación, normalización y mejora según se define a continuación.

"Normalización" de, o "normalizar", un biomarcador energético se define como cambiar el nivel del biomarcador energético de un valor patológico hacia un valor normal, donde el valor normal del biomarcador energético puede ser 1) el nivel del biomarcador energético en una persona o sujeto sano, o 2) un nivel del biomarcador energético que alivie uno o más síntomas no deseables en la persona o sujeto. Es decir, normalizar un biomarcador energético que se encuentre reducido en una patología significa aumentar el nivel del biomarcador energético hacia el valor normal (sano) o hacia un valor que alivie un síntoma no deseado; normalizar un biomarcador energético que esté elevado en una patología significa reducir el nivel del biomarcador energético hacia el valor normal (sano) o hacia un valor que alivie un síntoma no deseado.

"Mejora" de, o "mejorar", los biomarcadores energéticos significan cambiar de forma intencionada el nivel de uno o más biomarcadores energéticos distanciándolos bien del valor normal, o bien del valor anterior a la mejora, para lograr un efecto beneficioso o deseado. Por ejemplo, en una situación en la que se expone a un sujeto a demandas energéticas significativas, puede resultar deseable aumentar el nivel de ATP en ese sujeto a un nivel por encima del nivel normal de ATP en dicho sujeto. La mejora puede también tener un efecto beneficioso en un sujeto que padece una enfermedad o patología tal como una enfermedad neurodegenerativa, en la que la normalización de un biomarcador energético puede no lograr el resultado óptimo para el sujeto; en tales casos, la mejora de uno o más biomarcadores energéticos puede ser beneficiosa, por ejemplo, unos niveles de ATP superiores a la media, o niveles de ácido láctico (lactato) inferiores a la media, pueden ser beneficiosos para un sujeto de este tipo.

Modulando, normalizando o mejorando el biomarcador energético Coenzima Q se entiende modular, normalizar, u mejorar la variante o variantes de Coenzima Q que es predominante en las especies de interés. Por ejemplo, la variante Coenzima Q que predomina en humanos es la Coenzima Q10. Si una especie o sujeto tiene más de una variante de Coenzima Q presente en cantidades significativas (es decir, presente en cantidades que, cuando se modulan, normalizan o mejoran, pueden tener un efecto beneficioso en la especie o sujeto), modular, normalizar o mejorar la Coenzima Q puede hacer referencia a modular, normalizar o mejorar cualquiera o todas las variantes de la Coenzima Q presentes en la especie o sujeto.

Aunque los compuestos descritos en el presente documento pueden aparecer y pueden usarse como el compuesto neutro (sin sal), la descripción pretende incluir todas las sales de los compuestos descritos en el presente documento, así como los métodos para usar tales sales de los compuestos. En una realización, las sales de los compuestos comprenden sales farmacéuticamente aceptables. Las sales farmacéuticamente aceptables son

5 aquellas sales que pueden administrarse como fármacos o productos farmacéuticos a seres humanos y/o animales y que, tras la administración, retienen al menos algo de la actividad biológica del compuesto libre (compuesto neutro o compuesto sin sal). La sal deseada de un compuesto básico se puede preparar por métodos conocidos por los expertos en la técnica tratando el compuesto con un ácido. Los ejemplos de ácidos inorgánicos incluyen, pero no se limitan a, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico y ácido fosfórico. Los ejemplos de ácidos orgánicos incluyen, pero no se limitan a, ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido maleico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácidos sulfónicos y ácido salicílico. También se pueden preparar sales de compuestos básicos con aminoácidos, tales como sales de aspartato y sales de glutamato. La sal deseada de un compuesto ácido se puede preparar por métodos conocidos por los expertos en la materia tratando el compuesto con una base. Los ejemplos de sales inorgánicas de compuestos ácidos incluyen, pero no se limitan a, sales de metales alcalinos y alcalinotérreos, tales como sales de sodio, sales de potasio, sales de magnesio y sales de calcio; sales de amonio; Y sales de aluminio. Los ejemplos de sales orgánicas de compuestos ácidos incluyen, pero no se limitan a, procaína, dibencilamina, N-etilpiperidina, N, N'-dibenciletilendiamina y sales de trietilamina. También se pueden preparar sales de compuestos ácidos con aminoácidos, como las sales de lisina.

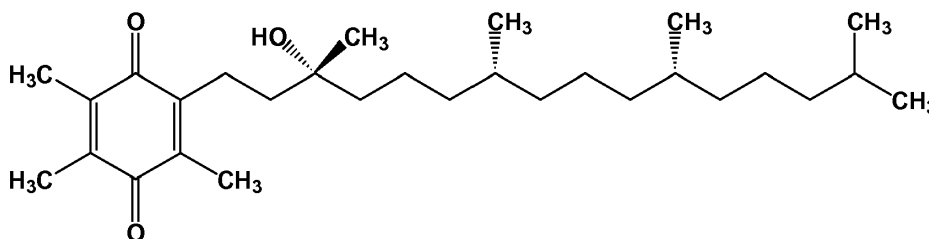
La invención también incluye todos los estereoisómeros de los compuestos, incluyendo diastereómeros y enantiómeros. La invención también incluye mezclas de estereoisómeros en cualquier relación, incluyendo, pero sin limitación, mezclas racémicas. A menos que la estereoquímica se indique explícitamente en una estructura, la estructura pretende incluir todos los estereoisómeros posibles del compuesto representado. Si la estereoquímica se indica explícitamente para una porción o porciones de una molécula, pero no para otra porción o porciones de una molécula, la estructura pretende incluir todos los estereoisómeros posibles para la porción o porciones donde la estereoquímica no se indica explícitamente.

"Alquilo C₁-C₄" pretende incluir metilo (Me), etilo (Et), propilo (Pr), n-propilo (nPr), isopropilo (iPr), butilo (Bu), n-butilo (nBu), isobutilo (iBu), sec-butilo (sBu), t-butilo (tBu), ciclopropilo (ciclPr), ciclobutilo (ciclBu), ciclopropil-metilo (ciclPr-Me) y metil-ciclopropano (Me-ciclPr), donde los grupos alquilo C₁-C₄ pueden unirse a través de cualquier valencia en los grupos alquilo C₁-C₄.

Los sustituyentes de "halógeno" o "halo" designan flúor (-F), cloro (-Cl), bromo (-Br), y yodo (-I).

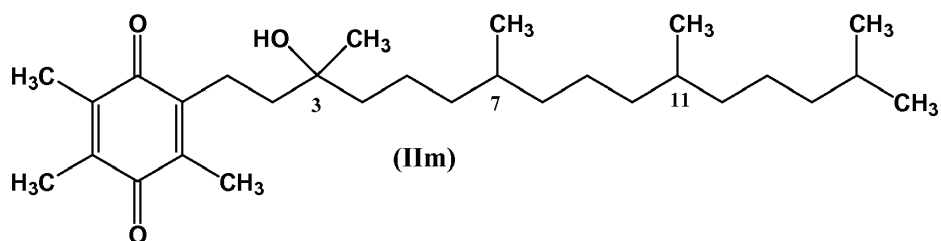
"Haloalquilo C₁-C₄" pretende incluir cualquier sustituyente de alquilo C₁-C₄ que tenga al menos un sustituyente halógeno; el halógeno puede unirse a través de cualquier valencia en el grupo alquilo C₁-C₄. Un subconjunto de haloalquilo C₁-C₄ es -CF₃, -CCl₃, -CBr₃, y -Cl₃. Otro subconjunto de haloalquilo C₁-C₄ es el subconjunto con exactamente un sustituyente halógeno. Otro subconjunto de haloalquilo C₁-C₄ es el subconjunto de perhaloalquilo C₁-C₄; es decir, alquilo C₁-C₄ con todas las valencias disponibles reemplazadas por halógenos. Otro subconjunto de haloalquilo C₁-C₄ es el subconjunto de perfluoroalquilo C₁-C₄; es decir, alquilo C₁-C₄ con todas las valencias disponibles reemplazadas por flúor. Otro subconjunto de haloalquilo C₁-C₄ es el subconjunto de percloroalquilo C₁-C₄; es decir, alquilo C₁-C₄ con todas las valencias disponibles reemplazadas por cloro.

Un compuesto de interés es α -tocoferol quinona. La estructura de α -tocoferol quinona (D- α -tocoferol quinona; α -tocoferilquinona; 2-[(3R,7R,11R)-3-hidroxi-3,7,11,15-tetrametilhexadecil]-3,5,6-trimetil-2,5-ciclohexadieno-1,4-diona, número de registro CAS 7559-04-8) es



Un nombre alternativo para α -tocoferol quinona es α -tocoferilquinona. Este compuesto corresponde al compuesto de fórmula IIb, donde R₁₁, R₁₂, y R₁₃ son todos metilo. En los modelos de cultivo celular humano de FRDA, α -tocoferol quinona posee una CE₅₀ 10⁵ veces inferior (es decir, 100.000 veces más potente) que idebenona, el agente terapéutico actual de elección para los pacientes de FRDA; véase el Ejemplo 2. En este mismo modelo de cultivo celular, α -tocoferol quinona tiene una CE₅₀ 10⁴ veces inferior (es decir, 10.000 veces más potente) que α -D-tocoferol, (2R)-3,4-dihidro-2,5,7,8-tetrametil-2-[(4R,8R)-4,8,12-trimetiltridecil]-2H-1-benzopiran-6-ol, una forma común de vitamina E.

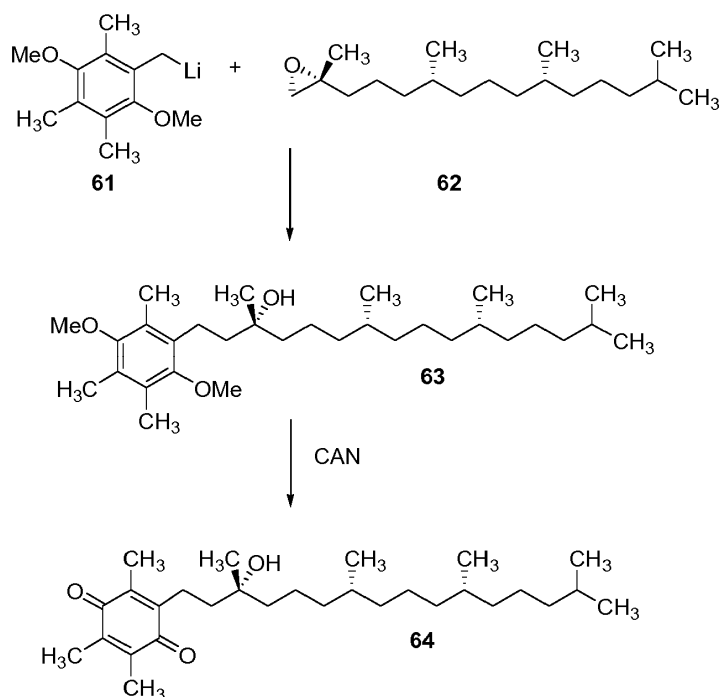
Otro grupo de compuestos de interés se representa por la fórmula IIm:



5 donde la falta de indicación de la estereoquímica indica que esta estructura pretende representar los ocho estereoisómeros posibles, ya que existen 2 posibles orientaciones diferentes en las posiciones 3, 7, y 11 según se indica en el dibujo de la fórmula IIIm. La fórmula IIIm corresponde a la fórmula II, donde R₁₁, R₁₂, y R₁₃ son todos metilo. Los ocho estereoisómeros incluidos por este dibujo de la estructura incluyen: [(3R,7R,11R)-3-hidroxi-3,7,11,15-tetrametilhexadecil]-3,5,6-trimetil-2,5-ciclohexadieno-1,4-diona); el compuesto 3R, 7R, 11S; el compuesto 3R, 7S, 11R; el compuesto 3S, 7R, 11R; el compuesto 3R, 7S, 11S; el compuesto 3S, 7R, 11S; el compuesto 3S, 7S, 11R; y el compuesto 3S, 7S, 11 S.

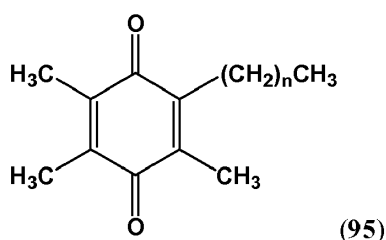
10 En varios de los siguientes métodos, se usa un agente de oxidación. Los agentes de oxidación adecuados que pueden usarse en los métodos sintéticos incluyen, pero sin limitación, nitrato de amonio cérico (CAN), FeCl₃, 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (DDQ), u oxígeno atmosférico (es decir, oxidación del oxígeno del aire).

15 Un método para sintetizar, utiliza una apertura de epóxido como se describe en Hübscher et al., Helvetica Chimica Acta 73: 1068-1083 (1990).

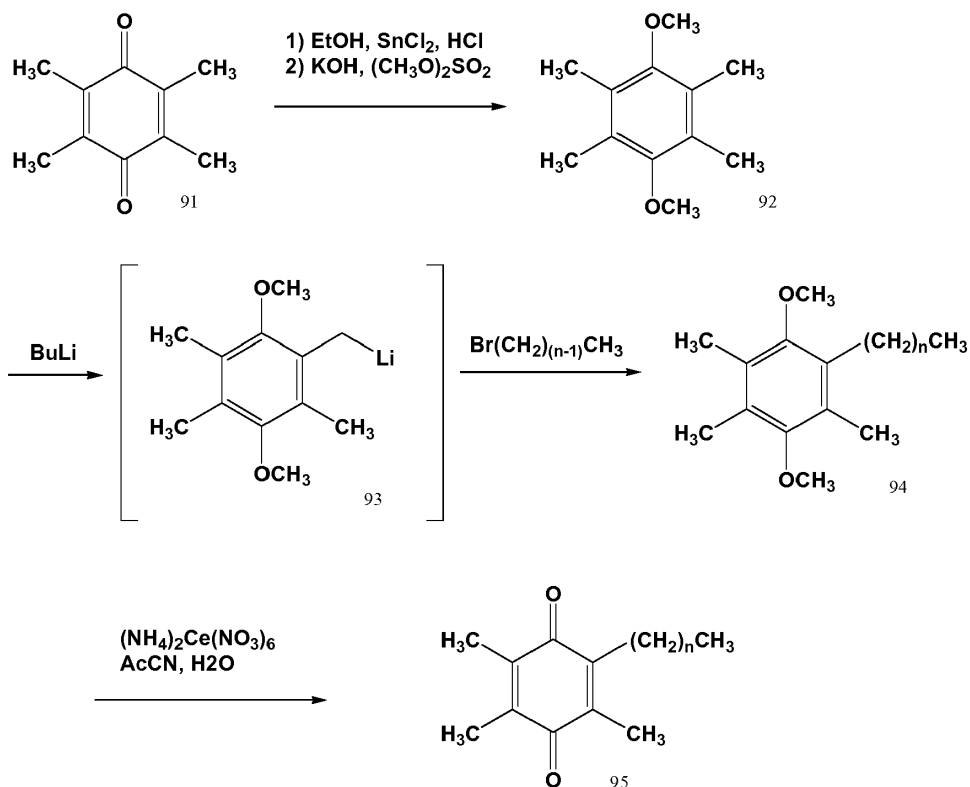


20 Se hace reaccionar 2,5-dimetoxi-3,4,6-trimetil bencilitio **61** con el compuesto de epóxido **62** para producir el derivado de 1,4-dimetoxibenceno **63**. La oxidación posterior con nitrato de amonio cérico (CAN) produce el compuesto **64**.

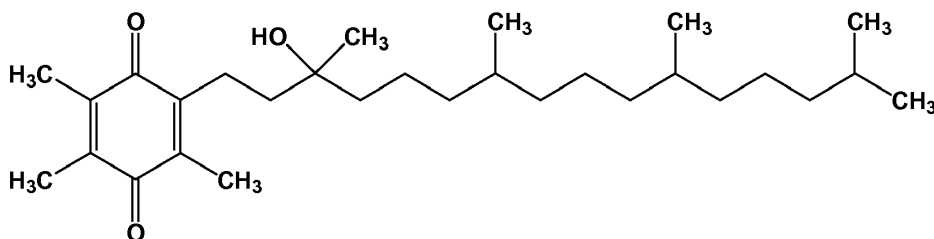
25 Un método para sintetizar compuestos de la fórmula:



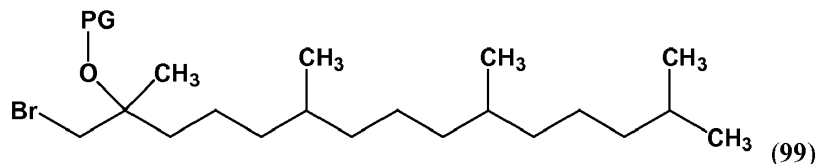
es como se indica a continuación:



5 donde la química para la conversión de duroquinona **91** en 3,6-dimetoxi-1,2,4,5-tetrametil-1,4-ciclohexadieno **92** se describe en Thomas et al., Journal of Organic Chemistry 51(22): 4160 (1986); la química para la conversión de 3,6-dimetoxi-1,2,4,5-tetrametil-1,4-ciclohexadieno **92** en el intermedio 3,6-dimetoxi-1-metileno litio-2,4,5-trimetil-1,4-ciclohexadieno **93** se describe en Hübscher et al., Helvetica Chimica Acta 73(4): 1068 (1990); y la química para la conversión del 3,6-dimetoxi-1-alkil-2,4,5-trimetil-1,4-ciclohexadieno **94** en la 2-alkil-3,5,6-trimetil-1,4-benzoquinona **95** se describe en Shiraiishi et al., Journal of Medicinal Chemistry 32(9): 2214 (1989). Esta síntesis puede modificarse
10 fácilmente para producir compuestos de fórmula:

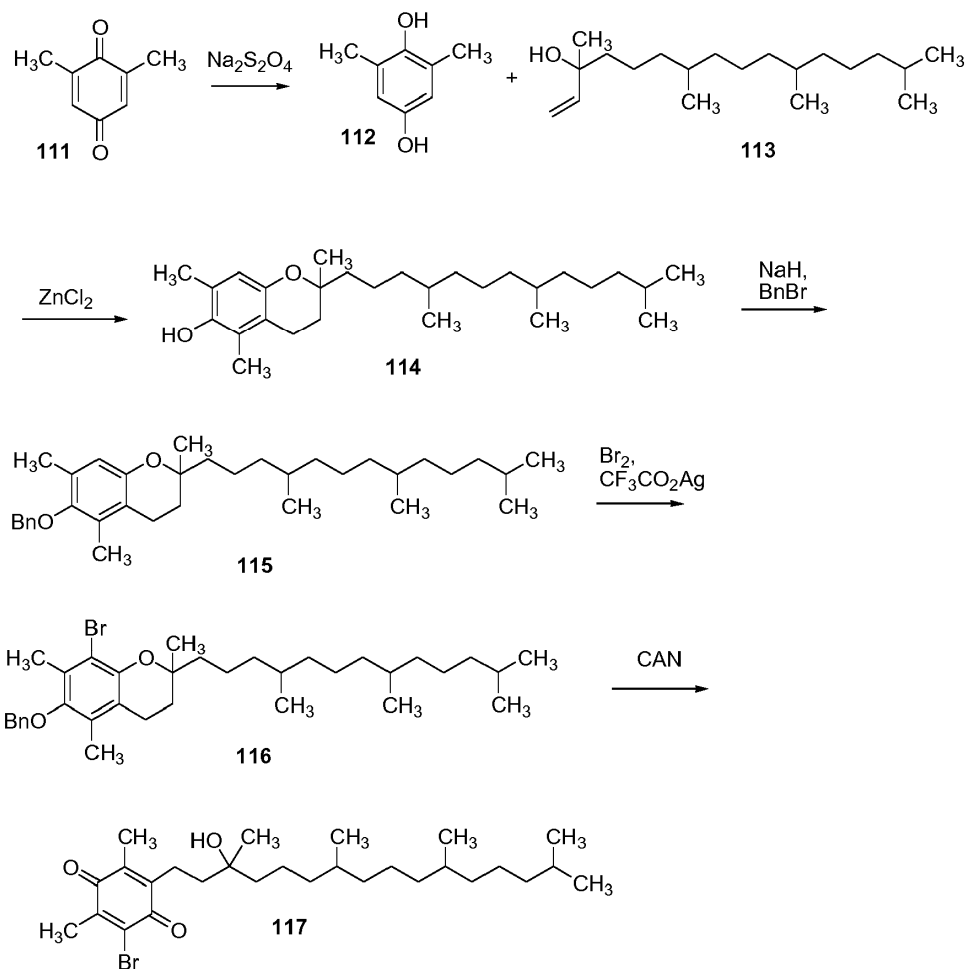


15 usando el siguiente intermedio:



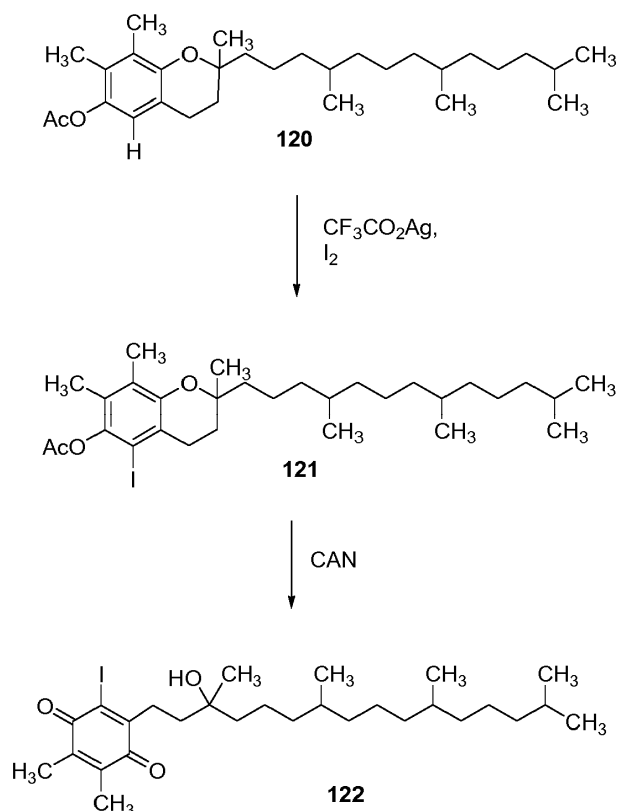
20 donde PG indica un grupo protector, tal como un grupo metil metoximetilo (MOM) o metoxi etoximetilo (MEM). Otros grupos protectores adecuados, para esta y otras reacciones descritas en el presente documento, se detallan en el texto por Theodora W. Greene y Peter G. M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 3ª edición, Hoboken, NJ: Wiley-Interscience, 1999,

25 Los métodos adecuados para preparar los compuestos de la invención con sustituyentes halógeno en el anillo de quinona se representan como se indica a continuación. (Véase Fujishima et al. Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem. 329: 27-34 (1996) para más información).



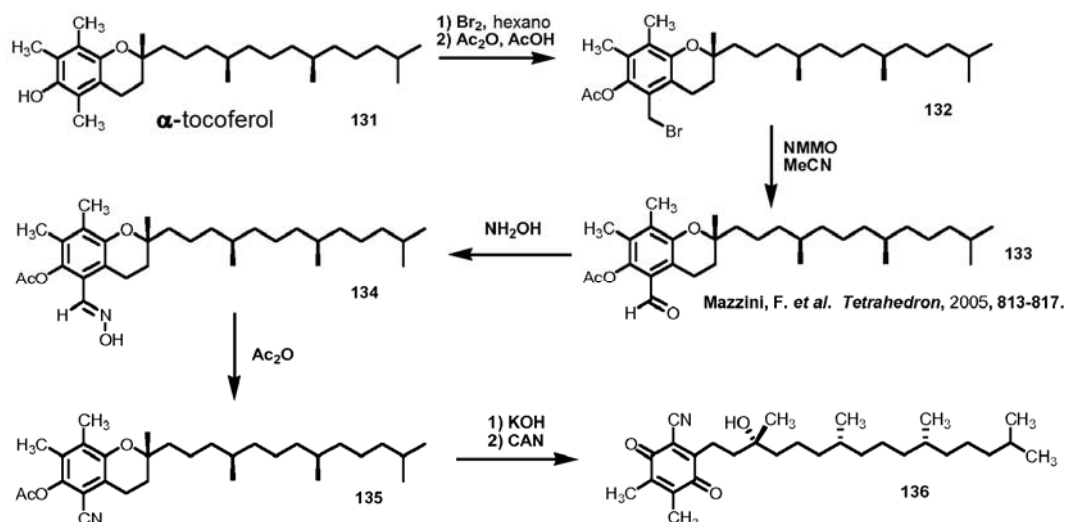
5 2,6-dimetilquinona **111** se reduce con ditionito sódico en la hidroquinona **112**, que después se hace reaccionar con 3,7,11,15-tetrametil-3-hidroxi-1-hexadeceno **113** y ZnCl_2 para formar el 6-cromanol **114**. La conversión en el intermedio protegido **115** va seguida de la bromación con Br_2 y trifluoroacetato de plata para formar el bromuro **116**. Finalmente, **116** puede desprotegerse y oxidarse con nitrato de amonio cérico (CAN) para producir **117**.

10 Puede introducirse yodo en el anillo de quinona usando un procedimiento como se describe en el siguiente esquema (véase Kumadaki, I. et al. *Synthetic Communications* 19: 173-177 (1989) para más información).



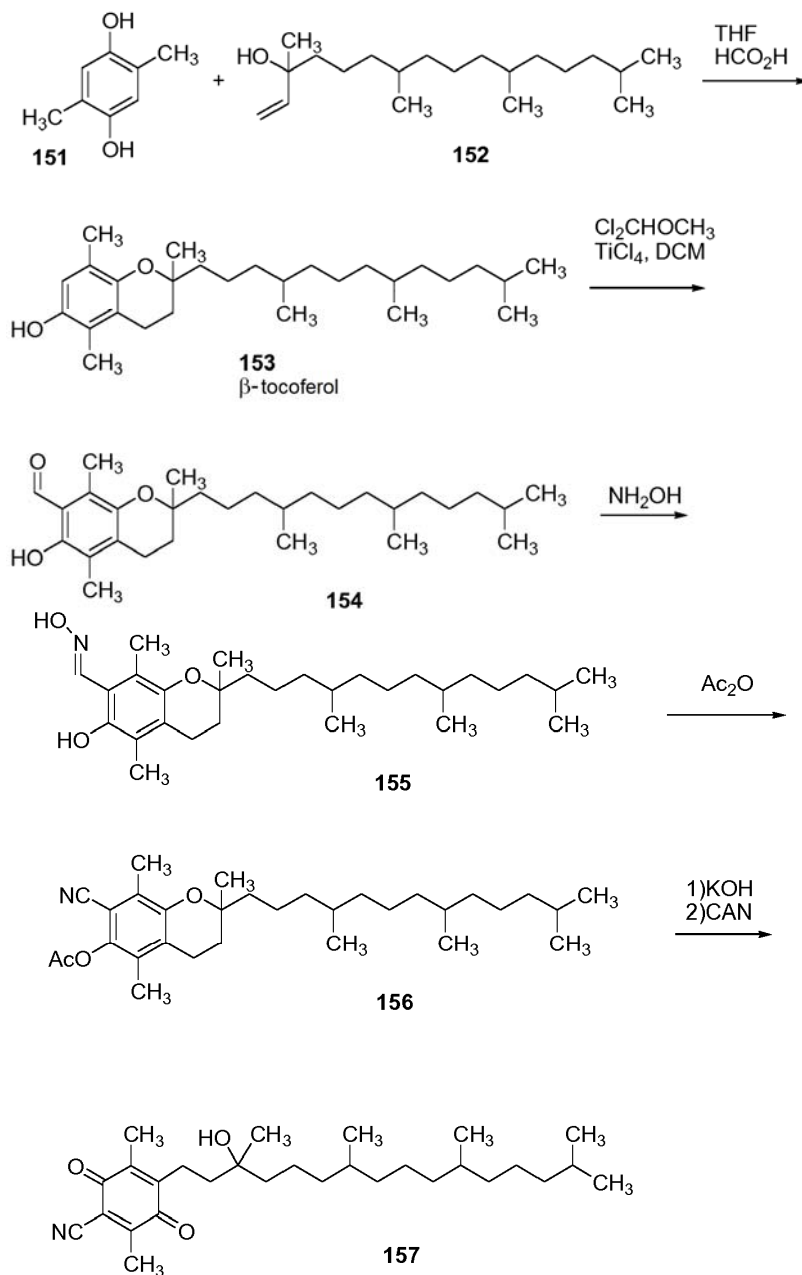
El cromanol protegido **120** se trata con I_2 y trifluoroacetato de plata para producir el derivado yodado **121**, seguido de desprotección/oxidación con nitrato de amonio cérico para dar **122**.

5 Un método adecuado para sintetizar compuestos que contienen nitrilo de fórmula VII, fórmula IX, fórmula X, o fórmula XII (incluyendo todas las variaciones en las fórmulas) se representa en el siguiente esquema. El esquema ilustra la síntesis partiendo de α -tocoferol y terminando en la quinona sustituida con ciano, pero puede generalizarse fácilmente con respecto a los demás compuestos de la invención usando grupos apropiados en lugar de los grupos 2-metilo y 3-metilo y el grupo de cola apropiado.



15 La síntesis a partir de la conversión de α -tocoferol **131** en el derivado de 5-bromometilo con el grupo 6-hidroxi acetato-prottegido **132**, seguido de la oxidación en el intermedio aldehído **133** con N-óxido de N-metilmorfolina anhidro (NMMO), se describe en Mazzini et al., Tetrahedron 813-817 (2005). Después, se usa hidroxilamina para formar una oxima **134**, seguido de la deshidratación de la oxima con anhídrido acético (véase por ejemplo, el procedimiento descrito en Organic Syntheses, Coll. Vol. 3, pág. 690 (1955); Vol. 20, pág. 74 (1940)) para dar **135**. La eliminación de los grupos protectores de acetato, y la oxidación con nitrato de amonio cérico (CAN) produce **136**.

de manera análoga a la síntesis del compuesto 9 descrito en Dean et al., Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1: Organic and Bio-Organic Chemistry, (5) 1437-42 (1981), como se describe en el siguiente esquema.



5

Los compuestos de fórmula VII-I, y fórmula IX-i

10 Puede encontrarse información perteneciente al compuesto de fórmula VII-i en las siguientes publicaciones: documento US 2004/0116715; Storozhok et al., Biomeditsinskaya Khimiya (2003), 49(1), 96-104; Bertalan et al., Olaj, Szappan, Kozmetika (2000), 49 (Kulonszam), 40-45; Dompert et al., Fette, Seifen, Anstrichmittel (1976), 78(3), 108-11; Bemdorfer-Kraszner et al., Elelmezési Ipar (1971), 25(11), 339-45; y Whittle et al., Biochemical Journal (1967), 103(3), 21C-22C.

15 Puede encontrarse información perteneciente al compuesto de fórmula IX-i en las siguientes publicaciones: documentos JP 2003-137716 y JP 52-111576. Véase el Ejemplo 1 (Ejemplo 1B) a continuación para determinar una ruta sintética a una mezcla de estereoisómeros de este compuesto.

20 *Interconvertibilidad de formas de quinona, dihidriquinona*

La forma de quinona y dihidriquinona de los compuestos desvelados en el presente documento se interconvierten fácilmente con reactivos apropiados. Por ejemplo, la forma de quinona de un compuesto puede reducirse a la forma

de dihidroquinona con agentes reductores tales como ditionito sódico. La forma de hidroquinona puede oxidarse en la forma de quinona con agentes oxidantes, tales como nitrato de amonio y cerio o cloruro férrico. Las formas de quinona e hidroquinona se convierten fácilmente electroquímicamente, como se conoce bien en la técnica. Véase, por ejemplo, Sección 33.4 de Streitweiser & Heathcock, Introduction to Organic Chemistry, Nueva York: Macmillan, 1976.

Cuando los compuestos de la invención se representan como la forma de quinona o hidroquinona, esa forma específica es la que se pretende. Sin embargo, cuando la forma de quinona se representa y va seguida de la expresión "equivalente reducido de la misma" o "forma reducida" o similar, la estructura y la expresión posterior pretenden incluir tanto quinona como hidroquinona. De forma similar, cuando la forma de hidroquinona se representa y va seguida de la expresión "equivalente oxidado de la misma" o "forma oxidada de la misma" o similares, la estructura y la expresión posterior pretenden incluir tanto hidroquinona como quinona.

Valoración clínica de la disfunción mitocondrial y eficacia de la terapia

Se usan varios marcadores clínicos fácilmente medibles para valorar el estado metabólico de los pacientes con trastornos mitocondriales. Estos marcadores pueden usarse también como indicadores de la eficacia de una terapia dada, ya que el nivel de un marcador cambia del valor patológico al valor saludable. Estos marcadores clínicos incluyen, pero sin limitación, uno o más de los biomarcadores energéticos previamente analizados, tales como niveles de ácido láctico (lactato), en sangre entera, plasma, líquido cefalorraquídeo, o líquido cerebroventricular; niveles de ácido pirúvico (piruvato), en sangre entera, plasma, líquido cefalorraquídeo, o líquido cerebroventricular; relaciones de lactato/piruvato, en sangre entera, plasma, líquido cefalorraquídeo, o líquido cerebroventricular; niveles de fosfocreatina, niveles de NADH (NADH +H⁺) o NADPH (NADPH+H⁺); niveles de NAD o NADP; niveles de ATP; umbral anaeróbico; niveles de coenzima Q reducida (CoQ^{red}); niveles de coenzima Q oxidada (CoQ^{ox}); niveles de coenzima Q total (CoQ^{tot}); niveles de citocromo C oxidado; niveles de citocromo C reducido; relación de citocromo C oxidado/citocromo C reducido; niveles de acetoacetato, niveles de β-hidroxi butirato, relación de acetoacetato/β-hidroxi butirato, niveles de 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina (8-OHdG); niveles de especies de oxígeno reactivo; y niveles del consumo de oxígeno (VO₂), niveles de la producción de dióxido de carbono (VCO₂), y cociente respiratorio (VCO₂/VO₂). Varios de estos marcadores clínicos se miden de forma rutinaria en laboratorios de fisiología del ejercicio, y proporcionan valoraciones oportunas del estado metabólico de un sujeto. En una realización, el nivel de uno o más biomarcadores energéticos en un paciente que padece una enfermedad mitocondrial, tal como la ataxia de Friedreich, neuropatía óptica hereditaria de Leber, MELAS o SKS, se mejora en dos desviaciones estándar del nivel medio en un sujeto sano. En otra realización, el nivel de uno o más de estos biomarcadores energéticos en un paciente que padece una enfermedad mitocondrial, tal como ataxia de Friedreich, neuropatía óptica hereditaria de Leber, MELAS, o SKS, se mejora con respecto a una desviación estándar del nivel medio en un sujeto sano. La intolerancia al ejercicio puede usarse también como un indicador de la eficacia de una terapia dada, donde una mejora en la tolerancia al ejercicio (es decir, una disminución en la intolerancia al ejercicio) indica la eficacia de una terapia dada.

Ya se han usado varios biomarcadores metabólicos para evaluar la eficacia de la CoQ10, y estos biomarcadores metabólicos pueden controlarse como biomarcadores energéticos para su uso en los métodos de la actual invención. El piruvato, un producto del metabolismo anaeróbico de la glucosa, se elimina mediante reducción en ácido láctico en un entorno anaeróbico o mediante metabolismo oxidativo, que depende de una cadena respiratoria mitocondrial funcional. La disfunción de la cadena respiratoria puede conducir a una eliminación inadecuada del lactato y del piruvato de la circulación y se observan relaciones elevadas de lactato/piruvato en las citopatías mitocondriales (véanse Scriver CR, The metabolic and molecular bases of inherited disease, 7^a ed., Nueva York: McGraw-Hill, Health Professions Division, 1995; y Munnich et al., J. Inherit. Metab. Dis. 15(4): 448-55 (1992)). Por lo tanto, la relación de lactato/piruvato en sangre (Chariot et al., Arch. Pathol. Lab. Med. 118(7): 695-7 (1994)) se usa ampliamente como una prueba no invasiva para la detección de citopatías mitocondriales (véanse de nuevo Scriver CR, The metabolic and molecular bases of inherited disease, 7^o ed., Nueva York: McGraw-Hill, Health Professions Division, 1995; y Munnich et al., J. Inherit. Metab. Dis. 15(4): 448-55 (1992)) y miopatías mitocondriales tóxicas (Chariot et al., Arthritis Rheum. 37(4): 583-6 (1994)). Los cambios en el estado redox de la mitocondria hepática pueden investigarse midiendo la relación corporal de la cetona arterial (acetoacetato/3-hidroxi butirato: AKBR) (Uedaet al., J. Cardiol. 29(2): 95-102 (1997)). A menudo se usa la excreción urinaria de 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (8-OHdG) como un biomarcador para evaluar la extensión de la reparación del daño en el ADN inducido por ROS tanto en entornos clínicos como ocupacionales (Erhola et al., FEBS Lett. 409(2): 287-91 (1997); Honda et al., Leuk. Res. 24(6): 461-8 (2000); Pilger et al., Free Radic. Res. 35(3): 273-80 (2001); Kim et al. Environ Health Perspect 112(6): 666-71 (2004)).

La espectroscopía de resonancia magnética (ERM) ha resultado de utilidad en el diagnóstico de citopatía mitocondrial demostrando elevaciones en el lactato del líquido cefalorraquídeo (LCR) y de la materia blanca cortical utilizando una ERM de protón (1H-ERM) (Kaufmann et al., Neurology 62(8): 1297-302 (2004)). Se ha usado una ERM de fósforo (31P-ERM) para demostrar los bajos niveles de fosfocreatina cortical (PCr) (Matthews et al., Ann. Neurol. 29(4): 435-8 (1991)), y también se ha confirmado un retraso en la cinética de recuperación de PCr tras el ejercicio en el músculo esquelético (Matthews et al., Ann. Neurol. 29(4): 435-8 (1991); Barbiroli et al., J. Neurol. 242(7): 472-7 (1995); Fabrizi et al., J. Neurol. Sci. 137(1): 20-7 (1996)). También se ha confirmado un bajo nivel de

PCr del músculo esquelético en pacientes con citopatía mitocondrial por mediciones bioquímicas directas.

Una prueba de ejercicio es particularmente útil como una herramienta de evaluación y cribado en las miopatías mitocondriales. Una de las características distintivas de las miopatías mitocondriales es una reducción en el consumo máximo de oxígeno corporal ($VO_{2\text{máx}}$) (Taivassalo et al., Brain 126(Pt 2): 413-23 (2003)). Dado que el $VO_{2\text{máx}}$ se determina por la diferencia de la producción cardiaca (Q_c) y la extracción del oxígeno periférico (contenido total de oxígeno arterial-venoso), algunas citopatías mitocondriales afectan a la función cardiaca, donde puede alterarse el transporte; sin embargo, la mayoría de las miopatías muestran un déficit característico en la extracción de oxígeno periférico (diferencia de A-V O_2) y un aumento del transporte de oxígeno (circulación hiperkinética) (Taivassalo et al., Brain 126(Pt 2): 413-23 (2003)). Esto puede demostrarse por la falta de desoxigenación inducida por el ejercicio de la sangre venosa con mediciones de equilibrio de AV directas (Taivassalo et al., Ann. Neurol. 51(1): 38-44 (2002)) y de forma no invasiva por espectroscopía por infrarrojo cercano (Lynch et al., Muscle Nerve 25(5): 664-73 (2002); van Beekvelt et al., Ann. Neurol. 46(4): 667-70 (1999)).

Varios de estos biomarcadores energéticos se analizan en mayor detalle cómo se indica a continuación. Debe enfatizarse que, aunque ciertos biomarcadores se analizan y se enumeran en el presente documento, la invención no se limita a la modulación, normalización o mejora de únicamente estos biomarcadores energéticos enumerados.

Niveles de ácido láctico (lactato): La disfunción mitocondrial da como resultado, habitualmente, niveles anormales de ácido láctico, ya que los niveles de piruvato aumentan y el piruvato se convierte en lactato para mantener la capacidad para la glucólisis. La disfunción mitocondrial también puede dar como resultado niveles anormales de NADH +H⁺, NADPH+H⁺, NAD o NADP, ya que los nicotinamida adenina dinucleótidos no son procesados de manera eficaz por la cadena respiratoria. Los niveles de lactato pueden medirse mediante la toma de muestras de fluidos corporales adecuados tales como sangre entera, plasma o líquido cefalorraquídeo. Usando la resonancia magnética, pueden medirse los niveles de lactato en prácticamente cualquier volumen deseado del organismo, tal como el cerebro.

La medición de la acidosis láctica cerebral utilizando resonancia magnética en pacientes de MELAS se describe en Kaufmann et al., Neurology 62(8): 1297 (2004). Los valores de los niveles de ácido láctico en los ventrículos laterales del cerebro se presentan para dos mutaciones dando como resultado MELAS, A3243G y A8344G. Los niveles de lactato en sangre entera, plasma y líquido cefalorraquídeo pueden medirse por un equipo disponible en el mercado, tal como el analizador de glucosa y lactato YSI 2300 STAT Plus (YSI Life Sciences, Ohio).

Niveles de NAD, NADP, NADH y NADPH: La medición de NAD, NADP, NADH (NADH +H⁺) o NADPH (NADPH+H⁺) puede medirse por una diversidad de técnicas fluorescentes, enzimáticas o electroquímicas, por ejemplo, el ensayo electroquímico descrito en el documento US 2005/0067303.

Consumo de oxígeno (vO_2 o VO_2), producción de dióxido de carbono (vCO_2 o VCO_2), y cociente respiratorio (VCO_2/VO_2): El vO_2 se mide normalmente en reposo (vO_2 en reposo) o a una intensidad de ejercicio máxima (vO_2 máx). De forma óptica, se medirán ambos valores. Sin embargo, para los pacientes con grandes minusvalías, la medición de vO_2 máx puede no ser práctica. La medición de ambas formas de vO_2 se realiza fácilmente usando un equipo estándar de una diversidad de proveedores, por ejemplo, Korr Medical Technologies, Inc. (Salt Lake City, Utah). El VCO_2 también puede medirse fácilmente, y la relación de VCO_2 con respecto VO_2 en las mismas condiciones (VCO_2/VO_2 , en reposo o a una intensidad de ejercicio máxima) proporciona el cociente respiratorio (RQ).

Citocromo C oxidado, Citocromo C reducido, y relación de Citocromo C oxidado con respecto a Citocromo C reducido: Los parámetros del Citocromo C, tal como los niveles de citocromo C oxidado (Cyt C_{ox}), los niveles de citocromo C reducido (Cyt C_{red}), y la proporción de la relación de citocromo C oxidado/citocromo C reducido (Cyt C_{ox})/(Cyt C_{red}), pueden medirse por espectroscopía por infrarrojo cercano *in vivo*. Véase, por ejemplo, Rolfe, P., "In vivo near-infrared spectroscopy", Annu. Rev. Biomed. Eng. 2: 715-54 (2000) y Strangman et al., "Non-invasive neuroimaging usando near-infrared light" Biol. Psychiatry 52: 679-93 (2002).

Tolerancia al ejercicio/Intolerancia al ejercicio: La intolerancia al ejercicio se define como "la capacidad reducida para realizar actividades que implican el movimiento dinámico de los músculos esqueléticos grandes debido a síntomas de disnea o fatiga" (Piña et al., Circulation 107: 1210 (2003)). La intolerancia al ejercicio a menudo va acompañada de mioglobinuria, debido a la rotura del tejido muscular y la posterior excreción de la mioglobina muscular en la orina. Pueden utilizarse diversas medidas de intolerancia al ejercicio, tales como tiempo que se pasa caminando o corriendo en una cinta de correr antes de llegar al agotamiento, tiempo que se pasa en una bicicleta estática (bicicleta fija) antes de llegar al agotamiento, y similares. El tratamiento con los compuestos o métodos de la invención puede dar como resultado aproximadamente un 10 % o más de mejora en la tolerancia al ejercicio (por ejemplo, aproximadamente un 10 % o más de aumento en el tiempo hasta el agotamiento, por ejemplo de 10 minutos a 11 minutos), aproximadamente un 20 % o más de mejora en la tolerancia al ejercicio, aproximadamente un 30 % o más de mejora en la tolerancia al ejercicio, aproximadamente un 40 % o más de mejora en la tolerancia al ejercicio, aproximadamente un 50 % o más de mejora en la tolerancia al ejercicio, aproximadamente un 75 % o más de mejora en la tolerancia al ejercicio, o aproximadamente un 100 % o más de

mejora en la tolerancia al ejercicio. Aunque la tolerancia al ejercicio no es, estrictamente hablando, un biomarcador energético, para los propósitos de la invención, la modulación, normalización o mejora de los biomarcadores energéticos incluye la modulación, normalización o mejora de la tolerancia al ejercicio.

5 De forma análoga, los ensayos para determinar los valores normales y anormales de los niveles de ácido pirúvico (piruvato), relación de lactato/piruvato, niveles de ATP, umbral anaeróbico, niveles de coenzima Q reducida (CoQ^{red}), niveles de coenzima Q oxidada (CoQ^{ox}), niveles de coenzima Q total (CoQ^{tot}), niveles de citocromo C oxidado, niveles de citocromo C reducido, relación de citocromo C oxidado/citocromo C reducido, niveles de acetoacetato, niveles de β-hidroxi butirato, relación de acetoacetato/β-hidroxi butirato, niveles de 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina (8-OHdG), y niveles de especies de oxígeno reactivo se conocen en la técnica y pueden usarse para evaluar la eficacia de los compuestos y métodos de la invención. (Para los propósitos de la invención, la modulación, normalización o mejora de los biomarcadores energéticos incluye la modulación, normalización o mejora del umbral anaeróbico).

15 La Tabla 1, a continuación, ilustra el efecto que diversas disfunciones pueden tener en los biomarcadores bioquímicos y energéticos. También indica el efecto físico (tal como un síntoma de enfermedad u otro efecto de la disfunción) típicamente asociado a una disfunción determinada. Debe señalarse que cualquiera de los biomarcadores energéticos enumerados en la tabla, además de los biomarcadores energéticos enumerados en otros apartados, pueden también modularse, mejorarse o normalizarse mediante los compuestos y métodos de la invención. RQ = cociente respiratorio; TMB = tasa metabólica basal; FC (PC) = frecuencia cardiaca (producción cardiaca); T = temperatura corporal (preferiblemente medida como la temperatura interna), UA = umbral anaeróbico; pH = pH sanguíneo (venoso y/o arterial).

Tabla 1

Sitio de la disfunción	Evento bioquímico	Biomarcador energético medible	Efecto físico
Cadena respiratoria	↑ NADPH	Δ lactato, Δ relación de lactato:piruvato; y Δ relación de acetoacetato:β-hidroxi butirato	Discrasia metabólica y fatiga
Cadena respiratoria	↓ gradiente H ⁺	Δ ATP	Disfunción órgano-dependiente
Cadena respiratoria	↓ Flujo de electrones	Δ VO ₂ , RQ, BMR, ΔT, AT, pH	Discrasia metabólica y fatiga
Mitocondria y citosol	↓ ATP, ↓ VO ₂	Δ Trabajo, ΔFC (PC)	Intolerancia al ejercicio
Mitocondria y citosol	↓ ATP	Δ Pcr	Intolerancia al ejercicio
Cadena respiratoria	↓ Cyt C _{ox/Red}	Δ λ ~700 - 900 nM (Espectroscopía por infrarrojo cercano)	Intolerancia al ejercicio
Metabolismo intermedio	↓ <i>Catabolismo</i>	Δ Sustratos marcados con C ¹⁴	Discrasia metabólica y fatiga
Cadena respiratoria	↓ Flujo de electrones	Δ VO ₂ venoso mixto	Discrasia metabólica y fatiga
Mitocondria y citosol	↑ Estrés oxidativo	Δ Tocoferol y tocotrienoles, CoQ10, ácido docosahexanoico	Incierto
Mitocondria y citosol	↑ Estrés oxidativo	Δ Glutatión _{red}	Incierto
Mitocondria y citosol	Oxidación de ácidos nucleicos	Δ8-hidroxi 2-desoxi guanosina	Incierto
Mitocondria y citosol	Oxidación lipídica	ΔIsoprostano(s), eicasanoides	Incierto
Membranas celulares	Oxidación lipídica	ΔMetano (respiración)	Incierto
Membranas celulares	Oxidación lipídica	ΔMalondialdehído	Incierto

25 El tratamiento de un sujeto afectado por una enfermedad neurodegenerativa de acuerdo con los métodos de la invención puede dar como resultado la inducción de una reducción o alivio de los síntomas en el sujeto, por ejemplo, para detener un mayor avance del trastorno.

30 La supresión parcial o completa la enfermedad neurodegenerativa puede dar como resultado una reducción de la gravedad de uno o más de los síntomas que de otro modo el sujeto experimentará.

Cualquiera, o cualquier combinación de los biomarcadores energéticos descritos en el presente documento proporciona referencias medibles convenientemente mediante las que estimar la efectividad del tratamiento o la terapia supresora. Adicionalmente, se conocen otros biomarcadores energéticos por los expertos en la técnica y

pueden controlarse para evaluar la eficacia del tratamiento o terapia supresora.

Uso de compuestos para la modulación de biomarcadores energéticos

5 Además de monitorizar los biomarcadores energéticos para evaluar el estado del tratamiento o supresión de las enfermedades neurodegenerativas, los compuestos descritos en el presente documento pueden usarse en sujetos o pacientes para modular uno o más biomarcadores energéticos. La modulación de biomarcadores energéticos puede realizarse para normalizar los biomarcadores energéticos en un sujeto, o para mejorar los biomarcadores energéticos en un sujeto.

10 La normalización de uno o más biomarcadores energéticos se define como restaurar el nivel de uno o más de tales biomarcadores energéticos a niveles normales o cercanos a lo normal en un sujeto cuyos niveles de uno o más biomarcadores energéticos muestran diferencias patológicas con los niveles normales (es decir, los niveles en un sujeto sano), o cambiar los niveles de uno o más biomarcadores energéticos para aliviar los síntomas patológicos en un sujeto. Dependiendo de la naturaleza del biomarcador energético, tales niveles pueden mostrar valores por encima o por debajo de un valor normal. Por ejemplo, un nivel de lactato patológico es típicamente superior al nivel de lactato en una persona normal (es decir, sana), y puede ser deseable una disminución del nivel. Un nivel patológico de ATP es típicamente inferior al nivel de ATP en una persona normal (es decir, sana), y puede ser deseable un aumento en el nivel de ATP. Por consiguiente, la normalización de los biomarcadores energéticos puede implicar la restauración del nivel de los biomarcadores energéticos en aproximadamente al menos dos desviaciones estándar del valor normal en un sujeto, más preferiblemente en aproximadamente al menos una desviación estándar de un valor normal en un sujeto, en aproximadamente al menos un medio de la desviación estándar del valor normal, o en aproximadamente al menos un cuarto de la desviación estándar del valor normal.

25 Cuando se desea un aumento en un nivel de biomarcador energético para normalizar el uno o más de tales biomarcadores energéticos, el nivel del biomarcador energético puede aumentarse en aproximadamente al menos dos desviaciones estándar del valor normal en un sujeto, más preferiblemente aumentarse en aproximadamente al menos una desviación estándar de un valor normal en un sujeto, aumentarse en aproximadamente al menos un medio de la desviación estándar del valor normal, o aumentarse en aproximadamente al menos un cuarto de la desviación estándar del valor normal, mediante la administración de uno o más compuestos de acuerdo con la invención. Como alternativa, el nivel de uno o más de los biomarcadores energéticos puede aumentarse en aproximadamente al menos el 10 % por encima del nivel del sujeto del uno o más biomarcadores energéticos respectivos antes de la administración, en aproximadamente al menos el 20 % por encima del nivel del sujeto del uno o más biomarcadores energéticos respectivos antes de la administración, en aproximadamente al menos el 30 % por encima del nivel del sujeto del uno o más biomarcadores energéticos respectivos antes de la administración, en aproximadamente al menos el 40 % por encima del nivel del sujeto del uno o más biomarcadores energéticos respectivos antes de la administración, en aproximadamente al menos el 50 % por encima del nivel del sujeto del uno o más biomarcadores energéticos respectivos antes de la administración, en aproximadamente al menos el 75 % por encima del nivel del sujeto del uno o más biomarcadores energéticos respectivos antes de la administración, o en aproximadamente al menos el 100 % por encima del nivel del sujeto del uno o más biomarcadores energéticos respectivos antes de la administración.

45 Cuando se desea un descenso en un nivel de uno o más biomarcadores energéticos para normalizar el uno o más biomarcadores energéticos, el nivel del uno o más biomarcadores energéticos puede disminuirse a un nivel dentro de aproximadamente al menos dos desviaciones estándar del valor normal en un sujeto, más preferiblemente disminuirse en aproximadamente al menos una desviación estándar de un valor normal en un sujeto, disminuirse en aproximadamente al menos un medio de la desviación estándar del valor normal, o disminuirse en aproximadamente al menos un cuarto de la desviación estándar del valor normal, mediante la administración de uno o más compuestos de acuerdo con la invención. Como alternativa, el nivel del uno o más biomarcadores energéticos puede disminuirse en aproximadamente al menos el 10 % por debajo del nivel del sujeto del uno o más biomarcadores energéticos respectivos antes de la administración, en aproximadamente al menos el 20 % por debajo del nivel del sujeto del uno o más biomarcadores energéticos respectivos antes de la administración, en aproximadamente al menos el 30 % por debajo del nivel del sujeto del uno o más biomarcadores energéticos respectivos antes de la administración, en aproximadamente al menos el 40 % por debajo del nivel del sujeto del uno o más biomarcadores energéticos respectivos antes de la administración, en aproximadamente al menos el 50 % por debajo del nivel del sujeto del uno o más biomarcadores energéticos respectivos antes de la administración, en aproximadamente al menos el 75 % por debajo del nivel del sujeto del uno o más biomarcadores energéticos respectivos antes de la administración, o en aproximadamente al menos el 90 % por debajo del nivel del sujeto del uno o más biomarcadores energéticos respectivos antes de la administración.

60 La mejora del nivel de uno o más biomarcadores energéticos se define como el cambio de los niveles existentes de uno o más biomarcadores energéticos en un sujeto con respecto a un nivel que proporciona efectos beneficiosos o deseados para el sujeto. Por ejemplo, una persona sometida a un esfuerzo extenuante o una actividad física vigorosa prolongada, tal como la escalada de montañas, podría beneficiarse de niveles de ATP elevados o niveles de lactato reducidos. Como se ha descrito anteriormente, la normalización de biomarcadores energéticos puede no lograr el estado óptimo para un sujeto con una enfermedad neurodegenerativa, y tales sujetos también pueden

65

beneficiarse de la mejora de los biomarcadores energéticos. Los ejemplos de sujetos que podrían beneficiarse de niveles mejorados de uno o más biomarcadores energéticos incluyen, pero sin limitación, sujetos sometidos a actividad física extenuante o prolongada, sujetos con problemas energéticos crónicos, o sujetos con problemas respiratorios crónicos. Dichos sujetos incluyen, pero sin limitación, mujeres embarazadas, particularmente mujeres embarazadas con actividad laboral; neonatos, particularmente neonatos prematuros; sujetos expuestos a entornos extremos, tal como entornos con calor (temperaturas que exceden habitualmente aproximadamente 85-86 grados Fahrenheit o aproximadamente 30 grados Celsius durante aproximadamente 4 horas al día o más), entornos fríos (temperaturas habitualmente por debajo de aproximadamente 32 grados Fahrenheit o aproximadamente 0 grados Celsius durante aproximadamente 4 horas al día o más), o entornos con un contenido de oxígeno inferior a la media, contenido de dióxido de carbono superior a la media, o niveles de contaminación del aire superiores a la media (viajeros de aerolíneas; auxiliares de vuelo; sujetos en altitudes elevadas; sujetos que viven en ciudades con una calidad del aire inferior a la media; sujetos que trabajan en entornos cerrados donde la calidad del aire se degrada; sujetos con enfermedades pulmonares o una capacidad pulmonar inferior a la media, tales como pacientes tuberculosos, pacientes con cáncer de pulmón, pacientes con enfisema y pacientes con fibrosis quística; sujetos que se están recuperando de una cirugía o enfermedad; sujetos ancianos, incluyendo sujetos ancianos que experimentan una disminución de energía; sujetos que padecen fatiga crónica, incluyendo el síndrome de fatiga crónica; sujetos que padecen un traumatismo agudo; sujetos en choque; sujetos que requieren la administración aguda de oxígeno; sujetos que requieren la administración crónica de oxígeno; u otros sujetos con demandas de energía agudas, crónicas o en curso que puedan beneficiarse de una mejora de los biomarcadores energéticos.

Por consiguiente, cuando un aumento en un nivel de uno o más biomarcadores energéticos es beneficioso para el sujeto, la mejora del uno o más biomarcadores energéticos puede implicar el aumento del nivel del biomarcador energético respectivo o los biomarcadores energéticos a aproximadamente al menos un cuarto de la desviación estándar por encima del valor normal, aproximadamente al menos un medio de la desviación estándar por encima del valor normal, aproximadamente al menos una desviación estándar por encima del valor normal, o aproximadamente al menos dos desviaciones estándar por encima del valor normal. Como alternativa, el nivel del uno o más biomarcadores energéticos puede aumentarse en aproximadamente al menos el 10 % por encima del nivel del sujeto del uno o más biomarcadores energéticos respectivos antes de la mejora, en aproximadamente al menos el 20 % por encima del nivel del sujeto del uno o más biomarcadores energéticos respectivos antes de la mejora, en aproximadamente al menos el 30 % por encima del nivel del sujeto del uno o más biomarcadores energéticos respectivos antes de la mejora, en aproximadamente al menos el 40 % por encima del nivel del sujeto del uno o más biomarcadores energéticos respectivos antes de la mejora, en aproximadamente al menos el 50 % por encima del nivel del sujeto del uno o más biomarcadores energéticos respectivos antes de la mejora, en aproximadamente al menos el 75 % por encima del nivel del sujeto del uno o más biomarcadores energéticos respectivos antes de la mejora, o en aproximadamente al menos el 100 % por encima del nivel del sujeto del uno o más biomarcadores energéticos respectivos antes de la mejora.

Cuando se desea un descenso en un nivel de uno o más biomarcadores energéticos para mejorar uno o más biomarcadores energéticos, el nivel del uno o más biomarcadores energéticos, puede disminuirse en una cantidad de aproximadamente al menos un cuarto de la desviación estándar de un valor normal en un sujeto, disminuirse en aproximadamente al menos un medio de la desviación estándar de un valor normal en un sujeto, disminuirse en aproximadamente al menos una desviación estándar de un valor normal en un sujeto, o disminuirse en aproximadamente al menos dos desviaciones estándar del valor normal en un sujeto. Como alternativa, el nivel del uno o más biomarcadores energéticos puede disminuirse en aproximadamente al menos 10 % por debajo del nivel del sujeto del uno o más biomarcadores energéticos respectivos antes de la mejora, en aproximadamente al menos el 20 % por debajo del nivel del sujeto del uno o más biomarcadores energéticos respectivos antes de la mejora, en aproximadamente al menos el 30 % por debajo del nivel del sujeto del uno o más biomarcadores energéticos respectivos antes de la mejora, en aproximadamente al menos el 40 % por debajo del nivel del sujeto del uno o más biomarcadores energéticos respectivos antes de la mejora, en aproximadamente al menos el 50 % por debajo del nivel del sujeto del uno o más biomarcadores energéticos respectivos antes de la mejora, en aproximadamente al menos el 75 % por debajo del nivel del sujeto del uno o más biomarcadores energéticos respectivos antes de la mejora, o en aproximadamente al menos el 90 % por debajo del nivel del sujeto del uno o más biomarcadores energéticos respectivos antes de la mejora.

55 *Uso de compuestos en aplicaciones de investigación, sistemas experimentales y ensayos*

Los compuestos descritos en el presente documento pueden usarse en aplicaciones de investigación. Por ejemplo, puede usarse α -tocoferol quinona en experimentos *in vitro*, *in vivo*, o *ex vivo* para modular uno o más biomarcadores energéticos en un sistema experimental. Dichos sistemas experimentales pueden ser muestras celulares, muestras tisulares, componentes celulares o mezclas de componentes celulares, órganos parciales, órganos enteros, u organismos. Puede usarse uno cualquier o más de los compuestos de fórmula I, Ia, Ib, II, IIa, IIb, III, IIIa, IIIb, IV, IVa, IVb, V, Va, Vb, VI, VIa, VIb, VII-O, VII-R, VIII-O, VIII-R, IX-O, IX-R, X-O, X-R, XI-O, XI-R, XII-O, y/o XII-R en los sistemas experimentales o aplicaciones de investigación. Dichas aplicaciones de investigación pueden incluir, pero sin limitación, el uso como reactivos de ensayo, elucidación de rutas bioquímicas, o evaluación de los efectos de otros agentes en el estado metabólico del sistema experimental en presencia/ausencia de uno o más compuestos de la invención.

Además, los compuestos descritos en el presente documento pueden usarse en pruebas o ensayos bioquímicos. Dichas pruebas pueden incluir la incubación de uno o más compuestos de la invención con una muestra tisular o celular de un sujeto para evaluar una respuesta potencial de un sujeto (o la respuesta de un subconjunto específico de sujetos) a la administración de dicho uno o más compuestos, o para determinar qué compuesto de la invención produce el efecto óptimo en un sujeto específico o subconjunto de sujetos. Una de tal prueba o ensayo implicará 1) obtener una muestra celular o muestra tisular de un sujeto en el que puede ensayarse la modulación de uno o más biomarcadores energéticos; 2) administrar uno o más compuestos de la invención a la muestra celular o la muestra tisular; y 3) determinar la cantidad de modulación del uno o más biomarcadores energéticos después de la administración de uno o más compuestos, en comparación con el estado del biomarcador energético antes de la administración del uno o más compuestos. Otra de tales pruebas o ensayos implicará 1) obtener una muestra celular o muestra tisular de un sujeto en el que puede ensayarse la modulación de uno o más biomarcadores energéticos; 2) administrar al menos dos compuestos de la invención a la muestra celular o la muestra tisular; 3) determinar la cantidad de modulación del uno o más biomarcadores energéticos después de la administración de al menos dos compuestos, en comparación con el estado del biomarcador energético antes de la administración del al menos un compuesto, y 4) seleccionar un compuesto para su uso en el tratamiento, supresión o modulación en base a la cantidad de modulación determinada en la etapa 3).

Formulaciones farmacéuticas

Los compuestos descritos en el presente documento pueden formularse como composiciones farmacéuticas mediante la formulación con aditivos tales como excipientes farmacéuticamente aceptables, portadores farmacéuticamente aceptables, y vehículos farmacéuticamente aceptables. Los excipientes, portadores y vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen agentes de procesamiento y modificadores y potenciadores de la administración de fármacos, tales como, por ejemplo, fosfato cálcico, estearato de magnesio, talco, monosacáridos, disacáridos, almidón, gelatina, celulosa, metil celulosa, carboximetil celulosa sódica, dextrosa, hidroxipropil-P-ciclodextrina, polivinilpirrolidona, ceras de bajo punto de fusión, resinas de intercambio iónico, y similares, así como combinaciones de dos cualesquiera o más de los mismos. Se describen otros excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados en "Remington's Pharmaceutical Sciences", Mack Pub. Co., New Jersey (1991), y "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 20ª edición (2003) y 21ª edición (2005).

Una composición farmacéutica puede comprender una formulación de dosis unitaria, donde la dosis unitaria es una dosis suficiente para tener un efecto terapéutico o supresor o una cantidad eficaz para modular, normalizar o mejorar un biomarcador energético. La dosis unitaria puede ser suficiente como una única dosis para tener un efecto terapéutico o supresor, o una cantidad eficaz para modular, normalizar o mejorar un biomarcador energético. Como alternativa, la dosis unitaria puede ser una dosis administrada periódicamente en el transcurso del tratamiento o supresión de un trastorno, o para modular, normalizar o mejorar un biomarcador energético.

Las composiciones farmacéuticas que contienen los compuestos descritos en el presente documento pueden encontrarse en cualquier forma adecuada para el método de administración deseado, incluyendo, por ejemplo, una solución, una suspensión, o una emulsión. Se utilizan habitualmente vehículos líquidos para preparar soluciones, suspensiones y emulsiones. Los soportes líquidos contemplados para su uso en la práctica de la presente invención incluyen, por ejemplo, agua, solución salina, uno o más disolventes orgánicos farmacéuticamente aceptables, aceites o grasas farmacéuticamente aceptables, y similares, además de mezclas de dos o más de los mismos. El vehículo líquido puede contener otros aditivos farmacéuticamente aceptables tales como solubilizantes, emulsionantes, nutrientes, tampones, conservantes, agentes de suspensión, agentes espesantes, reguladores de la viscosidad, estabilizantes, y similares. Los disolventes orgánicos adecuados incluyen, por ejemplo, alcoholes monohídricos, tal como etanol, y alcoholes polihídricos, tal como glicoles. Los aceites adecuados incluyen, por ejemplo, aceite de soja, aceite de coco, aceite de oliva, aceite de cártamo, aceite de semilla de algodón, y similares. Para la administración por vía parenteral, el vehículo puede además ser un éster oleoso tal como oleato de etilo, miristato de isopropilo, y similares. Las composiciones de la presente invención pueden también encontrarse en forma de micropartículas, microcápsulas, encapsulados liposomales, y similares, así como combinaciones de dos cualesquiera o más de los mismos.

Pueden usarse sistemas de administración de liberación por tiempos o controlada, tal como un sistema de matriz de difusión controlada o un sistema erosionable, como se describe, por ejemplo, en: Lee, "Diffusion-Controlled Matrix Systems", págs. 155-198 y Ron y Langer, "Erodible Systems", págs. 199-224, en "Treatise on Controlled Drug Delivery", A. Kydonieus Ed., Marcel Dekker, Inc., Nueva York 1992. La matriz puede ser, por ejemplo, un material biodegradable que se puede degradar espontáneamente *in situ* e *in vivo*, por ejemplo, mediante hidrólisis o escisión enzimática, por ejemplo, mediante proteasas. El sistema de administración puede ser, por ejemplo, un polímero o copolímero de origen natural o sintético, por ejemplo, en forma de un hidrogel. Los polímeros ejemplares con enlaces escindibles incluyen poliésteres, poliortoésteres, polianhídridos, polisacáridos, poli(fosfoésteres), poliamidas, poliuretanos, poli(imidocarbonatos) y poli(fosfazenos).

Los compuestos de la invención pueden administrarse por vía enteral, oral, parenteral, sublingual, por inhalación (por ejemplo, como nebulizaciones o pulverizaciones), rectal, o tópica en formulaciones de dosificación unitaria que

5 contienen portadores, adyuvantes y vehículos farmacéuticamente aceptables no tóxicos convencionales según se desee. Por ejemplo, los modos adecuados de administración incluyen oral, subcutánea, transdérmica, transmucosa, iontoforética, intravenosa, intraarterial, intramuscular, intraperitoneal, intranasal (por ejemplo, a través de la mucosa nasal), subdural, rectal, gastrointestinal, y similares, y directamente a un órgano o tejido específico o afectado. Para la administración al sistema nervioso central, puede usarse administración espinal y epidural, o administración a los ventrículos cerebrales. La administración tópica también puede implicar el uso de administración transdérmica, tal como parches transdérmicos o dispositivos de iontoforesis. El término parenteral como se usa en el presente documento incluye inyecciones subcutáneas, inyección intravenosa, intramuscular, intraesternal, o técnicas de infusión. Los compuestos se mezclan con portadores, adyuvantes y vehículos farmacéuticamente aceptables apropiados para la vía de administración deseada. La administración oral es una vía de administración preferida, y las formulaciones adecuadas para la administración oral son las formulaciones preferidas. Los compuestos descritos para su uso en el presente documento pueden administrarse en forma sólida, en forma líquida, en forma de aerosol, o en forma de comprimidos, píldoras, mezclas de polvos, cápsulas, gránulos, inyectables, cremas, soluciones, supositorios, enemas, irrigaciones colónicas, emulsiones, dispersiones, premezclas de alimentos, y en otras formas adecuadas. Los compuestos también pueden administrarse en formulaciones de liposomas. Los compuestos también pueden administrarse como profármacos, donde el profármaco experimenta una transformación en el sujeto tratado a una forma que es terapéuticamente eficaz. Se conocen métodos adicionales de administración en la técnica.

20 Las preparaciones inyectables, por ejemplo, suspensiones acuosas u oleaginosas inyectables estériles, pueden formularse según la técnica conocida utilizando agentes dispersantes o humectantes adecuados y agentes de suspensión. La preparación inyectable estéril puede ser también una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente parenteralmente aceptable no tóxico, por ejemplo, como una solución en propilenglicol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse se encuentran agua, solución de Ringer, y solución isotónica de cloruro sódico. Además, se emplean de forma convencional aceites fijos, estériles como un disolvente o un medio de suspensión. Para este propósito puede emplearse cualquier aceite fijo blando, incluyendo mono- o diglicéridos sintéticos. Además, los ácidos grasos, tal como el ácido oleico, tienen uso en la preparación de inyectables.

30 Los supositorios para la administración del fármaco por vía rectal pueden prepararse mezclando el fármaco con un excipiente no irritante adecuado, tal como manteca de cacao y polietilenglicoles, que son sólidos a temperatura ambiente, pero líquidos a la temperatura rectal y, por lo tanto, se derretirán en el recto y liberarán el fármaco.

35 Las formas de dosificación sólidas para administración por vía oral pueden incluir cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos y gránulos. En tales formas de dosificación sólidas, el compuesto activo puede mezclarse con al menos un diluyente inerte, tal como sacarosa, lactosa o almidón. Tales formas de dosificación pueden además comprender sustancias adicionales distintas de los diluyentes inertes, por ejemplo, agentes lubricantes tales como estearato de magnesio. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las formas de dosificación pueden además comprender agentes tamponantes. Los comprimidos y píldoras pueden prepararse adicionalmente con recubrimientos entéricos.

40 Las formas de dosificación líquidas para su administración por vía oral pueden incluir emulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables que contienen diluyentes inertes comúnmente utilizados en la técnica, tales como agua. Dichas composiciones pueden comprender también adyuvantes, tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, ciclodextrinas, y agentes edulcorantes, saporíferos y aromatizantes.

50 Los compuestos de la presente invención pueden administrarse en forma de liposomas. Como se conoce en la técnica, los liposomas se derivan generalmente de fosfolípidos u otras sustancias lipídicas. Los liposomas se forman mediante cristales líquidos hidratados mono- o multilamelares que se dispersan en un medio acuoso. Puede utilizarse cualquier lípido fisiológicamente aceptable y metabolizable no tóxico capaz de formar liposomas. Las presentes composiciones en forma de liposoma pueden contener, además de un compuesto de la presente invención, estabilizantes, conservantes, excipientes, y similares. Los lípidos preferidos son los fosfolípidos y las fosfatidil colinas (lecitinas), tanto naturales como sintéticos. Los métodos para formar estos liposomas se conocen en la técnica. Véase, por ejemplo, Prescott, Ed., *Methods in Cell Biology*, Volumen XIV, Academic Press, Nueva York, N.W., pág. 33 y siguientes (1976).

60 También se describen artículos de fabricación y kits que contienen materiales útiles para tratar o suprimir enfermedades neurodegenerativas. El artículo de fabricación comprende un envase con una etiqueta. Los envases adecuados incluyen, por ejemplo, botellas, viales, y tubos de ensayo. Los envases pueden estar formados a partir de una diversidad de materiales tales como vidrio o plástico. El envase contiene una composición que tiene un agente activo que es eficaz para tratar o suprimir enfermedades neurodegenerativas. El agente activo en la composición es uno o más de los compuestos de fórmulas VII-O, VII-R, IX-O, IX-R, X-O, X-R, XII-O, y/o XII-R. La etiqueta del recipiente indica que la composición se usa para tratar o suprimir las enfermedades neurodegenerativas, y también puede indicar direcciones para un uso *in vivo* o *in vitro*, tal como las descritas anteriormente.

65

También se describen kits que comprenden uno cualquiera o más de los compuestos de fórmulas VII-O, VII-R, IX-O, IX-R, X-O, X-R, XII-O, y/o XII-R. En algunas realizaciones, el kit comprende el recipiente que se ha descrito anteriormente. En otras realizaciones, el kit comprende el recipiente que se ha descrito anteriormente y un segundo recipiente que comprende un tampón. Puede incluir además otros materiales deseables desde un punto de vista comercial y del usuario, incluyendo otros tampones, diluyentes, filtros, agujas, jeringas, y prospectos con instrucciones para preparar cualquier método descrito en el presente documento.

En otros aspectos, los kits pueden utilizarse para cualquiera de los métodos descritos en el presente documento, incluyendo, por ejemplo, para tratar un individuo con un trastorno neurodegenerativo, o para suprimir un trastorno neurodegenerativo en un individuo.

La cantidad de principio activo que puede combinarse con los materiales de vehículo para producir una forma de dosificación unitaria variarán dependiendo del huésped al que se administra el principio activo y el modo particular de administración. Debe entenderse, sin embargo, que el nivel específico de dosis para cualquier paciente en particular dependerá de una diversidad de factores que incluyen la actividad del compuesto específico empleado, la edad, el peso corporal, el área corporal, el índice de masa corporal (IMC), el estado de salud general, sexo, dieta, tiempo de administración, vía de administración, velocidad de excreción, combinación farmacológica, y el tipo, avance y gravedad de la enfermedad en particular que se someta a terapia. La dosificación farmacéutica unitaria elegida se fabrica y administra normalmente para proporcionar una concentración final definida del fármaco en la sangre, tejidos, órganos, u otra región diana del cuerpo. La cantidad terapéuticamente eficaz o cantidad eficaz para una situación dada puede determinarse fácilmente mediante una experimentación de rutina y se encuentra dentro de la técnica y juicio del médico habitual.

Los ejemplos de dosificaciones que pueden usarse son una cantidad eficaz dentro del intervalo de dosificación de aproximadamente 0,1 µg/kg a aproximadamente 300 mg/kg, o dentro de aproximadamente 1,0 µg/kg a aproximadamente 40 mg/kg de peso corporal, o dentro de aproximadamente 1,0 µg/kg a aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal, o dentro de aproximadamente 1,0 µg/kg a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal, o dentro de aproximadamente 10,0 µg/kg a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal, o dentro de aproximadamente 100 µg/kg a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal, o dentro de aproximadamente 1,0 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal, o dentro de aproximadamente 10 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal, o dentro de aproximadamente 50 mg/kg a aproximadamente 150 mg/kg de peso corporal, o dentro de aproximadamente 100 mg/kg a aproximadamente 200 mg/kg de peso corporal, o dentro de aproximadamente 150 mg/kg a aproximadamente 250 mg/kg de peso corporal, o dentro de aproximadamente 200 mg/kg a aproximadamente 300 mg/kg de peso corporal, o dentro de aproximadamente 250 mg/kg a aproximadamente 300 mg/kg de peso corporal. Otras dosificaciones que pueden usarse son aproximadamente 0,01 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 0,1 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 1 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 30 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 40 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 75 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 125 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 150 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 175 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 200 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 225 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 250 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 275 mg/kg de peso corporal, o aproximadamente 300 mg/kg de peso corporal. Los compuestos de la presente invención pueden administrarse en una única dosis diaria, o la dosis diaria total puede administrarse en una dosificación dividida de dos, tres o cuatro veces al día.

La α -tocoferol quinona es una sustancia de origen natural, que se encuentra normalmente en el suero (Pollok et al., J. Chromatogr. A. 1056: 257 (2004)) y las membranas mitocondriales (Gregor et al., Biochem Pharmacol. 71: 1589 (2006)). Por consiguiente, cuando se administra α -tocoferol quinona para tratar o suprimir las enfermedades mitocondriales o para modular los biomarcadores energéticos, puede administrarse en una cantidad suficiente para elevar los niveles en suero, los niveles intracelulares, o los niveles de membranas mitocondriales de α -tocoferol quinona en al menos aproximadamente el 10 %, en al menos aproximadamente el 25 %, en al menos aproximadamente el 50 %, en al menos aproximadamente el 75 %, en al menos aproximadamente el 100 %, en al menos aproximadamente el 150 %, o en al menos aproximadamente el 200 % en comparación con el nivel de α -tocoferol quinona antes de la administración de α -tocoferol quinona. La α -tocoferol quinona también se produce de forma natural. Por consiguiente, cuando α -tocoferol quinona se administra para tratar o suprimir enfermedades mitocondriales o para modular biomarcadores energéticos, puede administrarse en una cantidad suficiente para elevar los niveles en suero, los niveles intracelulares, o los niveles de membranas mitocondriales de su equivalente reducido, α -tocoferol quinona reducida, en al menos aproximadamente el 10 %, en al menos aproximadamente el 25 %, en al menos aproximadamente el 50 %, en al menos aproximadamente el 75 %, en al menos aproximadamente el 100 %, en al menos aproximadamente el 150 %, o en al menos aproximadamente el 200 % en comparación con el nivel de α -tocoferol quinona reducida antes de la administración de α -tocoferol quinona. Como alternativa, puede administrarse α -tocoferol quinona reducida en lugar de α -tocoferol quinona para tratar o suprimir las enfermedades mitocondriales o para modular biomarcadores energéticos, y puede administrarse en una cantidad suficiente para elevar los niveles en suero, los niveles intracelulares, o los niveles de membranas mitocondriales de α -tocoferol quinona reducida en al menos aproximadamente el 10 %, en al menos aproximadamente el 25 %, en al

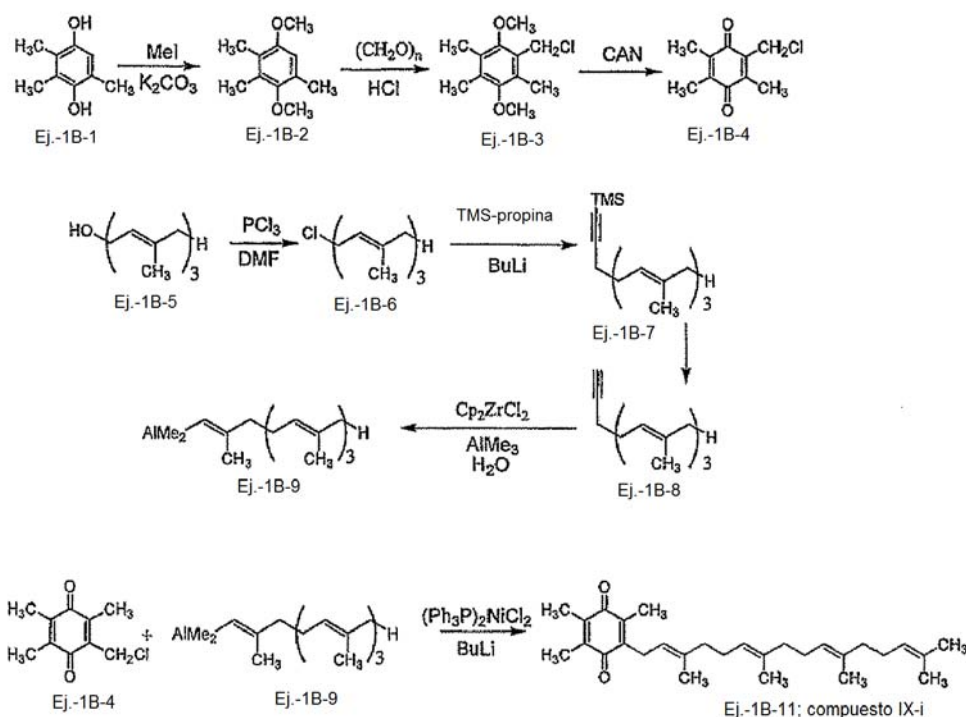
para producir un aceite de color amarillo (1,95 g, 100 %). El material en bruto, que era una mezcla de regioisómeros de alqueno e isómeros geométricos, se llevó a la siguiente etapa sin purificación adicional.

Etapa 2: Una mezcla en bruto de regioisómeros de alqueno e isómeros geométricos (13,3 g, 31,0 mmol, preparada como se describe en la etapa 1) se disolvió en EtOAc (100 ml) y se hidrogenó usando PtO₂ (250 mg) a 50 psi (344,74 kPa) de H₂. Después de 6 h, se añadió material insaturado ~30 % retenido (¹H RMN). Se añadió más cantidad de PtO₂ (250 mg) y la hidrogenación continuó durante 16 h. La mezcla de reacción se filtró a través de celite, que después se aclaró con EtOAc (50 ml). El filtrado se concentró por evaporación rotatoria para producir (*R/S,R,R*)-2,3,5-trimetil-6-(3,7,11,15-tetrametil-hexadecil)-benceno-1,4-diol (**Ej.-1A-2**) en forma de un sólido ceroso de color blanco (12,7 g, 95 %). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 4,36 (s ancho, 1 H), 4,33 (s ancho, 1 H), 2,70-2,54 (m, 2 H), 2,20 (s, 3 H), 2,18 (s, 6 H), 1,57-1,04 (m, 24 H), 1,00 (d, J= 6,4 Hz, 3 H), 0,89-0,86 (m, 12 H).

Etapa 3: Una solución de (*R/S,R,R*)-2,3,5-trimetil-6-(3,7,11,15-tetrametil-hexadecil)-benceno-1,4-diol (**Ej.-1A-2**) (10,2 g, 0,24 g) en DCM (100 ml) se dejó en agitación en presencia de SiO₂ (500 mg) durante 4 días expuesto al aire. Después, la mezcla de reacción se filtró y se concentró por evaporación rotatoria para producir un aceite de color naranja (10,0 g, 98 %). Una porción del producto en bruto (5,0 g) se purificó usando un instrumento de cromatografía automatizada Biotage (eluido con gradiente de DCM:Hept.) para producir (*R/S,R,R*)-2,3,5-trimetil-6-(3,7,11,15-tetrametil-hexadecil)-[1,4]benzoquinona pura (**Ej.-1A-3**, mezcla de estereoisómeros del compuesto **VIII-i**) (1,98 g, 40 %). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 2,54-2,40 (m, 2 H), 2,03 (s, 3 H), 2,03 (s, 6 H), 1,56,1,02 (m, 24 H), 0,96 (d, J = 6,5 Hz, 3H), 0,89-0,85 (m, 12 H).

Ejemplo 1B

Síntesis del compuesto IX-i, 2,3,5-Trimetil-6-(3,7,11,15-tetrametil-hexadeca-2,6,10,14-tetraenil)-[1,4]benzoquinona



Etapa 1: Un matraz de 3 bocas de 2 l se cargó con 2,3,5-trimetil-benceno-1,4-diol (**Ej.-1B-1**) (50 g, 0,33 mol) y MEK (750 ml) para producir una solución de color ámbar. En la solución se cargó carbonato potásico (210 g, 1,64 mol). Después de 30 min a TA, a la suspensión de color pardo se le añadió MeI (81,2 ml, 1,31 mol). La mezcla de reacción se calentó a 65 °C durante 72 h. Después de enfriar a TA, la mezcla de reacción se concentró a sequedad por evaporación rotatoria para dar una pasta de color blanco. La pasta se lavó con EtOAc (3 x 300 ml). Los extractos de EtOAc se combinaron y se concentraron por evaporación rotatoria. El aceite de color amarillo-pardo resultante se sometió a cromatografía (80:20/Heptanos:EtOAc) para producir 1,4-dimetoxi-2,3,5-trimetil-benceno (**Ej.-1B-2**) (47,2 g, 80 %). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 6,55 (s, 1H), 3,80 (s, 3 H), 3,68 (s, 3 H), 2,30 (s, 3 H), 2,22 (s, 3 H), 2,14 (s, 3H).

Etapa 2: Un matraz se cargó con 1,4-dimetoxi-2,3,5-trimetil-benceno (**Ej.-1B-2**) (47,2 g, 0,26 mol), ácido acético glacial (250 ml), y paraformaldehído (39,3 g, 1,31 mol) para producir una suspensión de color amarillo. Después, se burbujeó lentamente gas HCl anhidro a través de la mezcla de reacción durante 1,5 h produciendo una solución de color ámbar transparente. Después, la mezcla de reacción se diluyó con agua (300 ml) y se extrajo con MTBE (3 x 300 ml). Las capas de MTBE combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se

concentraron por evaporación rotatoria. La purificación del producto en bruto por cromatografía en columna (95:5/Heptanos:EtOAc) produjo 48,7 g de 1-clorometil-2,5-dimetoxi-3,4,6-trimetil-benceno (**Ej.-1B-3**) (81 %). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 4,76 (s, 2 H), 3,81 (s, 3 H), 3,68 (s, 3 H), 2,36 (s, 3 H), 2,23 (s, 3 H), 2,21 (s, 3 H).

5 Etapa 3: Un matraz se cargó con 1-clorometil-2,5-dimetoxi-3,4,6-trimetil-benceno (**Ej.-1B-3**) (6,37 g, 27,9 mmol) y ACN (10 ml) y después se enfrió a 0 °C. En el matraz se añadió una solución de CAN (31,3 g, 57,1 mmol) en agua (10 ml). Después de 1 h, la mezcla de reacción se extrajo con MTBE (3 x 50 ml). Después, las capas de MTBE combinadas se lavaron con agua (50 ml), se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron por evaporación rotatoria. La trituración del producto en bruto con MeOH produjo 4,49 g de 2-clorometil-3,5,6-trimetil-

10 [1,4]benzoquinona (**Ej.-1B-4**) (81 %) en forma de un sólido de color naranja-amarillo claro. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 4,77 (s, 2 H), 2,17 (s, 3 H), 2,07 (s, 3 H), 2,06 (s, 3 H).

15 Etapa 4: Un matraz de 3 bocas de 100 ml se cargó con PCl₃ (2,8 ml, 31,6 mmol) y DMF seca (32 ml) y después se agitó a TA durante 1 h. En un matraz separado de 50 ml, se cargó farnesol (**Ej.-1B-5**) (10,0 g, 45,2 mmol) y DMF (10 ml). Después, la solución de PCl₃/DMF se transfirió a la solución de farnesol, y la solución de color naranja oscuro resultante se agitó durante 1 h. La reacción se interrumpió mediante la adición de NaHCO₃ sólido (2,5 g, 63,2 mmol). El disolvente se retiró por evaporación rotatoria a alto vacío para producir un residuo oleoso de color naranja. Al residuo se le añadieron MTBE (40 ml) y agua (40 ml). La fase acuosa se lavó con MTBE (3 x 20 ml). Las capas de MTBE se combinaron, se lavaron con salmuera (2 x 20 ml), se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y finalmente se concentraron por evaporación rotatoria para producir 1-cloro-3,7,11-trimetil-dodeca-

20 2,6,10-trieno (**Ej.-1B-6**) en forma de un aceite de color amarillo (9,89 g, 92 %). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 5,47 (t ancho, J = 8,3 Hz, 1 H), 5,15-5,07 (m, 2 H), 4,12 (d, J = 8,1 Hz, 2 H), 2,18-1,95 (m, 8 H), 1,75 (s, 3 H), 1,70 (s, 3 H), 1,62 (s, 6 H).

25 Etapa 5: Un matraz de 3 bocas de 250 ml se inmovilizó y se cargó con TMS-propina (6,90 ml, 46,2 mmol) y THF (90 ml). La reacción se enfrió a -40 °C tiempo, después del cual se añadió BuLi (18,5 ml, 46,2 mmol). Después de 45 min, la reacción se enfrió adicionalmente (-70 °C) y se añadió una solución enfriada previamente (-70 °C) de 1-cloro-3,7,11-trimetil-dodeca-2,6,10-trieno (**Ej.-1B-6**) (8,9 g, 37,0 mmol) en THF (50 ml) durante 10 min. Después de 1 h, la reacción se calentó a TA y se interrumpió mediante la adición de NH₄Cl saturado (20 ml) y MTBE (25 ml). La capa acuosa se separó y se lavó con MTBE (25 ml). Después, las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron para producir un líquido de color amarillo (10,3 g). El aceite en bruto se purificó adicionalmente por cromatografía en columna (99:1/Heptanos:MTBE) para proporcionar trimetil-(6,10,14-trimetil-pentadeca-5,9,13-trien-1-inil)-silano (**Ej.-1B-7**).

30 ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 5,22-5,16 (m, 1 H), 5,16-5,08 (m, 2 H), 2,27-2,22 (m, 4 H), 2,15-1,94 (m, 8 H), 1,70 (s, 3 H), 1,65 (s, 3 H), 1,62 (s, 6 H), 0,17 (s, 9 H).

35 Etapa 6: Un matraz de 3 bocas de 250 ml se cargó con trimetil-(6,10,14-trimetil-pentadeca-5,9,13-trien-1-inil)-silano (**Ej.-1B-7**) (19,38 g, 64,1 mmol) y NaOEt (42 ml de una solución al 21 % p/p, 112 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 60 °C durante 4 h. Después de enfriar a TA, la mezcla de reacción se diluyó con MTBE (100 ml) y agua (100 ml) y después se filtró para retirar el sólido presente en la interfaz de fase. La capa acuosa se extrajo con MTBE (3 x 100 ml). Las capas de MTBE combinadas se lavaron con salmuera (100 ml), se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron por evaporación rotatoria para producir 12,43 g de 6,10,14-trimetil-pentadeca-5,9,13-trien-1-ina (**Ej.-1B-8**) en forma de un aceite de color naranja oscuro (96 %). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 5,23-5,17 (m, 1 H), 5,17-5,07 (m, 2 H), 2,29 -1,95 (m, 13 H), 1,70 (s, 3 H), 1,65 (s, 3 H), 1,62 (s, 6 H).

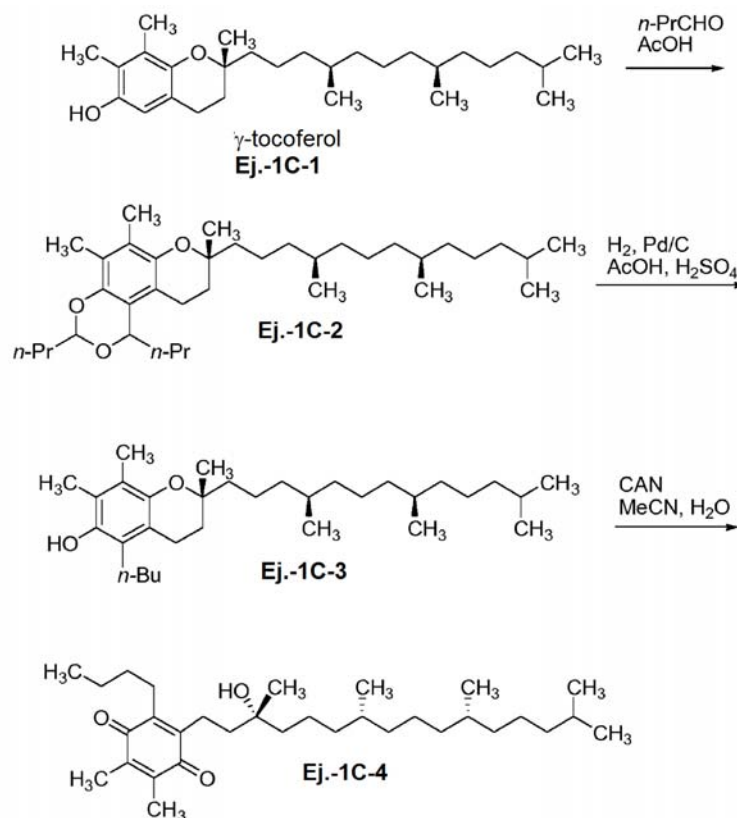
40 Etapa 7: Un matraz de 3 bocas de 250 ml equipado con un termómetro, una barra de agitación, y un adaptador de vacío equipado con una llave de cierre se evacuó, se secó a la llama y se lavó abundantemente con N₂ (3 x) a través de una línea de colector individual. Después, en el matraz se cargaron dicloruro de bis(ciclopentadienil)circonio (Cp₂ZrCl₂) (2,16 g, 7,4 mmol) y DCE seco (40 ml). La mezcla de reacción se enfrió a -20 °C. Se añadió gota a gota AlMe₃ (36,8 ml, 73,6 mmol) durante 5 min para generar una suspensión de color amarillo. Después de 15 min a -20 °C, se añadió gota a gota agua (220 µl, 12,3 mmol) durante 5 min para producir una solución de color verdoso-amarillo. Después de agitar durante 30 min a -20 °C, se añadió gota a gota una solución de 6,10,14-trimetil-pentadeca-5,9,13-trien-1-ina (**Ej.-1B-8**) (6,0 g, 24,6 mmol) en DCE seco (20 ml) durante 5 min. La mezcla de reacción se volvió de color pardo oscuro y después de color ámbar. La reacción se dejó calentar a TA durante 2 h. El análisis de ¹H RMN de una alícuota inactivada con DCI reveló una incorporación de deuterio al 95 %. El disolvente se retiró al vacío a TA. El residuo resultante se lavó con heptanos (2 x 40 ml) a través de una frita de vidrio sinterizado en un matraz de 3 bocas inertizado de 250 ml equipado con una barra de agitación y un adaptador de vacío equipado con una llave de paso. La reacción se dejó en agitación durante una noche.

45 El disolvente se retiró al vacío y se reemplazó mediante la adición de THF desgasificado seco (40 ml). Una alícuota desactivada de la mezcla de reacción reveló una incorporación de deuterio de >92 % por espectroscopía de ¹H RMN. En el matraz se añadió una solución de 2-clorometil-3,5,6-trimetil-[1,4]benzoquinona (**Ej.-1B-4**) (3,0 g, 15,0 mmol) en THF desgasificado seco (20 ml), que después se enfrió a 0 °C. En un matraz inertizado separado de 50 ml, se cargaron (PPh₃)₂NiCl₂ (750 mg, 1,3 mmol) y THF desgasificado seco (20 ml). Se añadió BuLi (1,4 ml, 2,6 mmol) a la suspensión de Ni(II) de color pardo para generar una solución de color rojo sangre. La solución se agitó durante 5 min y después se añadió a la solución de vinilalano/quinona (**Ej.-1B-9/Ej.-1B-4**). La solución de color ámbar se volvió de color azul-gris. Después de 5 min, la reacción estaba completa por el análisis de ¹H RMN de una alícuota inactivada.

La reacción se interrumpió mediante la adición muy lenta de HCl 1 M (debe tomarse mucha precaución en este procedimiento, ya que es extremadamente exotérmico) de tal forma que la temperatura no excedió de 15 °C. La mezcla de reacción se diluyó con MTBE (20 ml). La suspensión resultante se filtró. La capa acuosa del filtrado se lavó con MTBE (3 x 25 ml). Las capas de MTBE combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron por evaporación rotatoria para producir un aceite de color ámbar (12 g). La purificación del aceite en bruto por cromatografía en columna (heptano a 1:2/heptano:DCM) produjo 2,3,5-trimetil-6-(3,7,11,15-tetrametil-hexadeca-2,6,10,14-tetraenil)-[1,4]benzoquinona pura (**Ej.-1B-11**), o el Compuesto **IX-i**) (5,25 g, 83 %, >96 % a/a por HPLC). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 5,11-5,05 (m, 3 H), 4,98-4,95 (m, 1 H), 3,21 (d, J = 6,9 Hz, 2 H), 2,10-1,94 (m, 21 H), 1,76 (s, 3 H), 1,69 (s, 3 H), 1,61 (s, 3 H), 1,60 (s, 3 H), 1,59 (s, 3 H).

Ejemplo de referencia 1C

(*R,R,R*)-2-butil-3-(3-hidroxi-3,7,11,15-tetrametil-hexadecil)-5,6-dimetil-[1,4]benzoquinona



Etapa 1: Un MFR de 25 ml se cargó con butiraldehído (155 mg, 2,16 mmol), AcOH (2 ml) y H₂SO₄ (1 gota). Después, en el matraz se añadió gota a gota una solución de (+)- γ -tocopherol (**Ej.-1C-1**) (300 mg, 0,72 mmol) en AcOH (3 ml) durante 2 h mediante una bomba de jeringa. Después, la reacción se agitó durante 16 h y se controló por TLC (9:1 de Hept:EtOAc). La reacción después se diluyó con agua (15 ml) y se extrajo con DCM (3 x 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (3 x 15 ml), se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron por evaporación rotatoria para producir 7,9,10-trimetil-2,4-dipropil-7-(4,8,12-trimetil-tridecil)-4,5,6,7-tetrahidro-1,3,8-trioxafenantreno (**Ej.-1C-2**) en forma de un aceite de color parduzco (425 mg, >100 %), que se usó sin purificación adicional.

Etapa 2: Una solución de 7,9,10-trimetil-2,4-dipropil-7-(4,8,12-trimetil-tridecil)-4,5,6,7-tetrahidro-1,3,8-trioxafenantreno (**Ej.-1C-2**) (180 mg de la forma de material en bruto anterior) en AcOH (10 ml) y H₂SO₄ conc. (10 gotas) se hidrogenó (H₂, 50 psi (344,74 kPa), TA) con Pd al 5%/C (20 mg de 50 % p/p húmedo) a TA durante 16 h. Después, la mezcla de reacción se filtró a través de celite. El celite se aclaró con DCM (2 x 2 ml). La capa de DCM se concentró por evaporación rotatoria para producir un aceite de color pardo claro. El aceite se disolvió en DCM (15 ml) y se pasó a través de un lecho de sílice. El DCM se concentró por evaporación rotatoria para producir (*R,R,R*)-5-butil-2,7,8-trimetil-2-(4,8,12-trimetil-tridecil)-croman-6-ol (**Ej.-1C-3**) en forma de un aceite de color amarillo turbio (165 mg, >100 %), que se usó directamente sin purificación adicional.

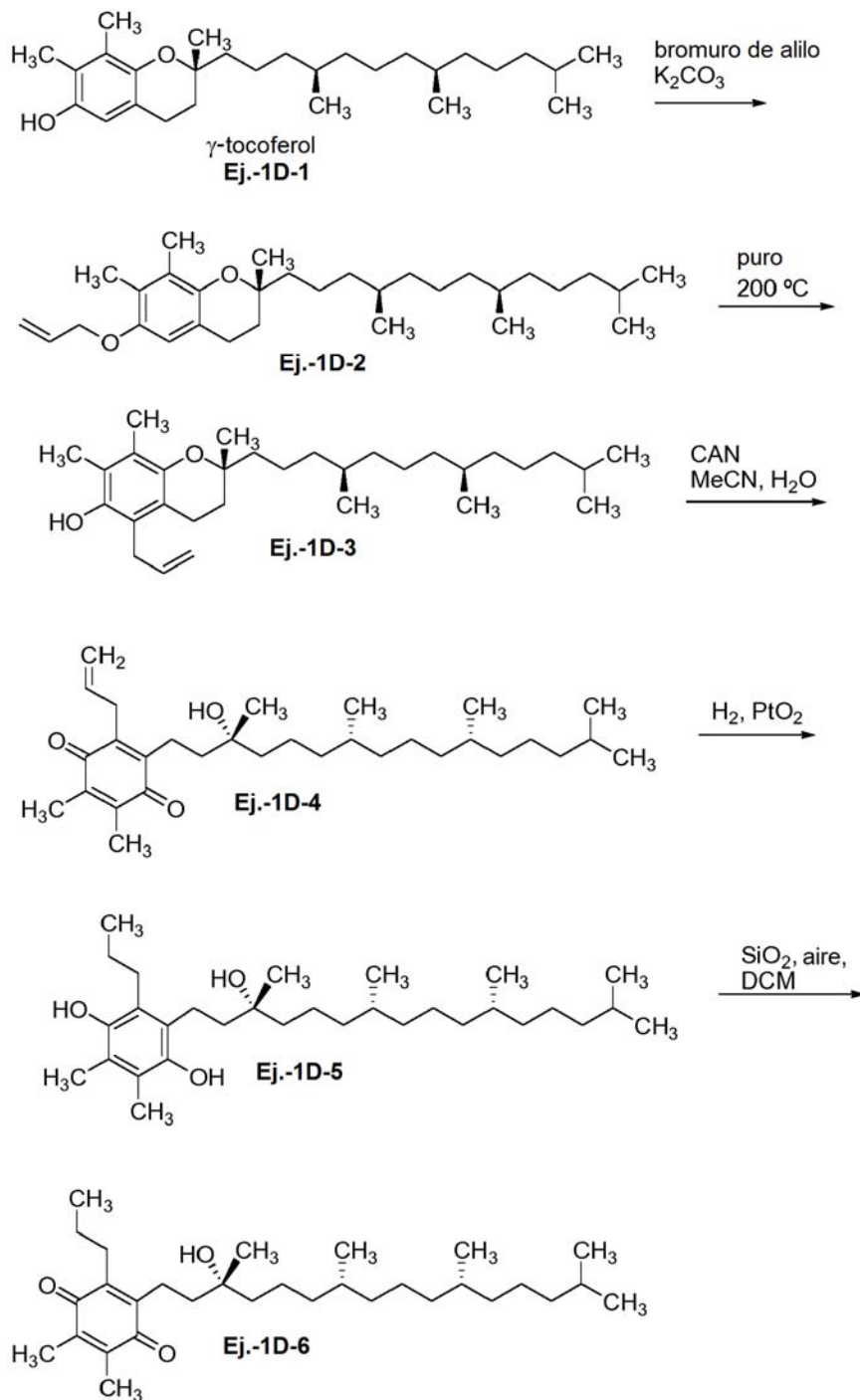
Etapa 3: Un matraz MFR de 50 ml se cargó con (*R,R,R*)-5-butil-2,7,8-trimetil-2-(4,8,12-trimetil-tridecil)-croman-6-ol (**Ej.-1C-3**) (120 mg, 0,25 mmol) y ACN (25 ml), y después se enfrió a 0 °C. Se añadió gota a gota una solución de CAN (268 mg, 0,49 mmol) en agua (1 ml) durante 1 min a la reacción resultante en una solución de color naranja claro. Después de 10 min, la reacción se consideró completa (TLC - 9:1 de hept:EtOAc). La reacción se diluyó con DCM (10 ml) y agua (10 ml). La capa acuosa se lavó con DCM (10 ml). Las capas de DCM se lavaron

con salmuera (5 ml), se pasaron a través de un lecho de sílice y se concentraron por evaporación rotatoria para producir (*R,R,R*)-2-butil-3-(3-hidroxi-3,7,11,15-tetrametil-hexadecil)-5,6-dimetil-[1,4]benzoquinona (**Ej.-1C-4**) en forma de un aceite de color naranja (105 mg, 85 %). $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 2,56-2,52 (m, 2 H), 2,47 (t ancho, $J = 6,9$ Hz, 2 H), 2,02 (s, 6 H), 1,55-1,02 (m, 28 H), 0,95 (t ancho, $J = 5,6$ Hz, 3 H), 0,89-0,85 (m, 15 H).

5

Ejemplo de referencia 1 D

(*R,R,R*)-2-(3-hidroxi-3,7,11,15-tetrametil-hexadecil)-5,6-dimetil-3-propil-[1,4]benzoquinona



10

Etapa 1: Se cargaron (+)- γ -tocoferol (**Ej.-1D-1**) (300 mg, 0,72 mmol), K_2CO_3 (199 mg, 1,44 mmol), bromuro de alilo (182 μl , 1,44 mmol) y acetona (8 ml) en un MFR de 50 ml. La reacción se calentó a reflujo durante 20 h, tiempo después del cual se consideró completa por TLC (1:5 de EtOAc:Hept). La reacción se diluyó con agua (10 ml). La capa acuosa se separó y se lavó con DCM (3 x 10 ml). Las capas de DCM combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y se concentraron por evaporación rotatoria para producir un aceite de color amarillo

15

pálido. El aceite se hizo pasar muy rápidamente a través de un lecho de sílice (1:1: DCM:Heptano). Después de la concentración del eluyente, se obtuvo (*R,R,R*)-6-aliloxi-2,7,8-trimetil-2-(4,8,12-trimetil-tridecil)-cromano (**Ej.-1D-2**) en forma de un aceite transparente e incoloro (334 mg, >100 %), que se usó sin purificación adicional.

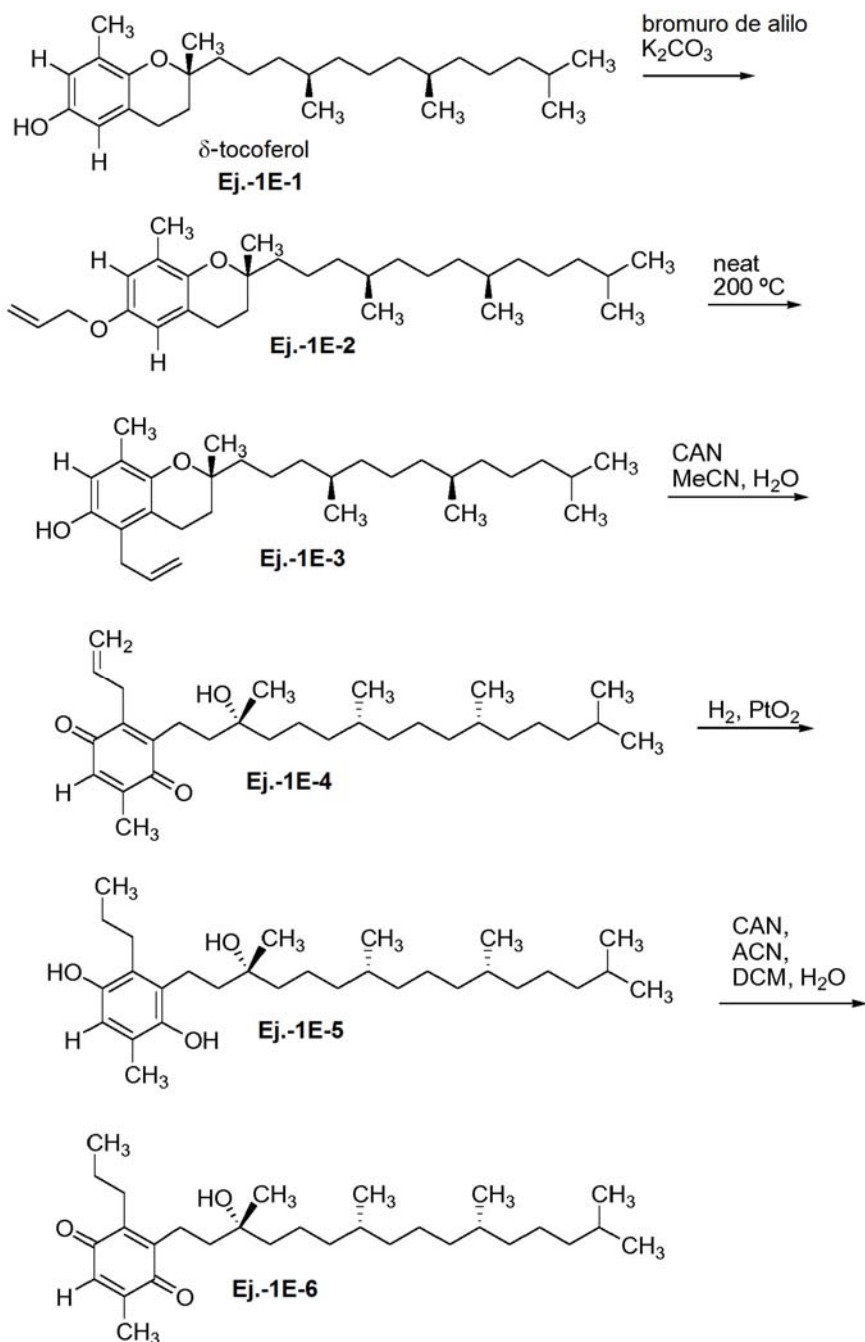
5 Etapa 2: Se calentó (*R,R,R*)-6-aliloxi-2,7,8-trimetil-2-(4,8,12-trimetil-tridecil)-cromano (**Ej.-1D-2**) (0,33 g, 0,72 mmol) a 200 °C durante 1 h, tiempo después del cual la reacción se consideró completa (TLC). Después, la reacción se enfrió a TA y se purificó por cromatografía ultrarrápida (1:1 de DCM:Heptano) para producir un producto reestructurado (*R,R,R*)-5-alil-2,7,8-trimetil-2-(4,8,12-trimetil-tridecil)-croman-6-ol (**Ej.-1D-3**) (112 mg, 34 %), que se usó sin purificación adicional.

10 Etapa 3: Un matraz MFR de 50 ml se cargó con (*R,R,R*)-5-alil-2,7,8-trimetil-2-(4,8,12-trimetil-tridecil)-croman-6-ol (**Ej.-1D-3**) (120 mg, 0,26 mmol) y ACN (20 ml), y después se enfrió a 0 °C. Se añadió gota a gota una solución de CAN (285 mg, 0,52 mmol) en agua (1 ml) durante 1 min a la reacción resultante en una solución de color naranja claro. Después de 15 min, la reacción se consideró completa (TLC - 9:1 de hept:EtOAc). La reacción se diluyó con MTBE (10 ml) y agua (10 ml). La capa acuosa se lavó con MTBE (3 x 10 ml). Las capas de MTBE combinadas se lavaron con salmuera (5 ml), se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron por evaporación rotatoria para producir un aceite de color naranja. El aceite se disolvió en DCM (10 ml) y se pasó a través de un lecho de sílice. El eluyente de DCM se concentró por evaporación rotatoria para producir (*R,R,R*)-2-alil-3-(3-hidroxi-3,7,11,15-tetrametil-hexadecil)-5,6-dimetil-[1,4]benzoquinona (**Ej.-1D-4**) en forma de un aceite de color naranja (100 mg, 80 %). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 5,83 (ddt, 1 H), 5,10-5,05 (m, 2 H), 3,29 (d, *J* = 6,2 Hz, 2 H), 2,59-2,45 (m, 2 H), 2,04 (s, 6 H), 1,56-1,00 (m, 24 H), 1,25 (s, 3 H), 0,89-0,85 (m, 12 H).

20 Etapa 4: Se hidrogenó (*R,R,R*)-2-alil-3-(3-hidroxi-3,7,11,15-tetrametil-hexadecil)-5,6-dimetil-[1,4]benzoquinona (**Ej.-1D-4**) (50 mg, 0,1 mmol) usando PtO₂ (5 mg) a 50 psi (344,74 kPa) durante 2 h en una solución de EtOAc (5 ml). La suspensión se filtró a través de celite, que se aclaró con DCM (2 x 2 ml). La solución de color amarillo pálido se concentró por evaporación rotatoria para producir un aceite de color amarillo pálido (**Ej.-1D-5**). El aceite se disolvió en DCM (5 ml) y se agitó con sílice (~20 mg) durante 5 días. La suspensión de color amarillo brillante se filtró a través de un lecho de algodón y se concentró por evaporación rotatoria para producir (*R,R,R*)-2-(3-hidroxi-3,7,11,15-tetrametil-hexadecil)-5,6-dimetil-3-propil-[1,4]benzoquinona (**Ej.-1D-6**) en forma de un aceite de color amarillo brillante (38 mg, 76 %). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 2,57-2,52 (m, 2 H), 2,48-2,44 (m, 2 H), 2,02 (s, 6 H), 1,57-1,04 (m, 26 H), 0,99 (t, *J* = 7,4 Hz, 3 H), 0,89-0,85 (m, 15 H).

30

Ejemplo de referencia 1E

(R,R,R)-3-(3-hidroxi-3,7,11,15-tetrametil-hexadecil)-5-metil-2-propil-[1,4]benzoquinona

5

10

15

Etapa 1: Se cargaron (+)- δ -tocopherol (**Ej.-1E-1**) (1,04 g, 2,58 mmol), K_2CO_3 (715 mg, 5,17 mmol), bromuro de alilo (450 μ l, 5,17 mmol) y acetona (10 ml) en un MFR de 50 ml. La reacción se calentó a reflujo durante 16 h, tiempo después del cual se consideró completa por TLC (1:5 de EtOAc:Hept). La reacción se diluyó con agua (10 ml) y DCM (10 ml). La capa acuosa se separó y se lavó con DCM (3 x 10 ml). Las capas de DCM combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron y se concentraron por evaporación rotatoria para producir un líquido de color amarillo pálido (1,09 g). El líquido se pasó rápidamente a través de un lecho de sílice (1:1: DCM:hept). Después de la concentración del eluyente, se obtuvo (*R,R,R*)-6-aliloxi-2,8-dimetil-2-(4,8,12-trimetil-tridecil)-cromano (**Ej.-1E-2**) en forma de un aceite transparente e incoloro (0,97 g, 85 %).

Etapa 2: Se calentó (*R,R,R*)-6-aliloxi-2,8-dimetil-2-(4,8,12-trimetil-tridecil)-cromano (**Ej.-1E-2**) (0,97 g, 2,19 mmol) a $200\text{ }^\circ\text{C}$ durante 3 h, tiempo después del cual la reacción se consideró completa (1H RMN - 4:1 de mezcla de isómeros). Después, la reacción se enfrió a TA para producir (*R,R,R*)-5-alil-2,8-dimetil-2-(4,8,12-trimetil-tridecil)-croman-6-ol (**Ej.-1E-3**) en forma de un aceite de color pardo (0,97 g, 100 %), que se usó en la siguiente etapa sin

purificación adicional.

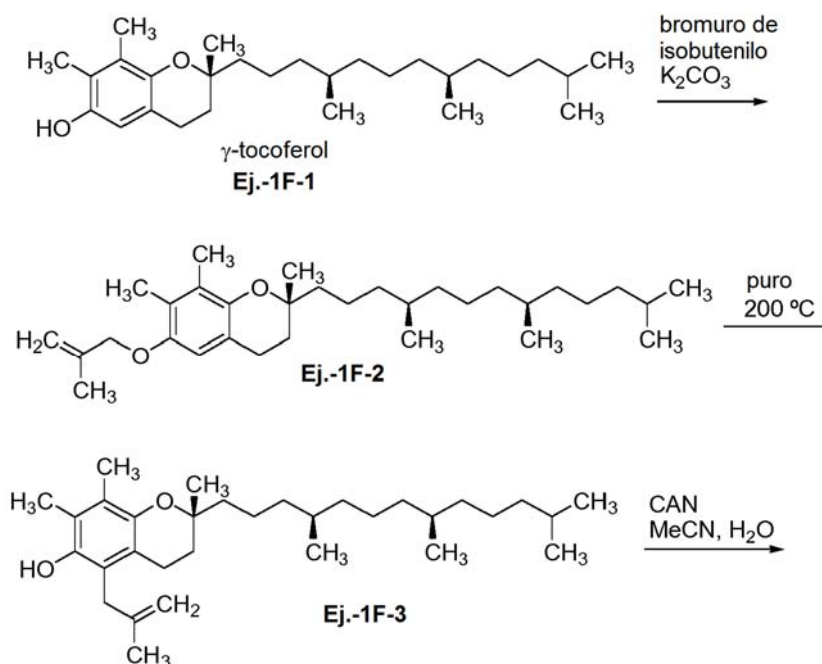
Etapa 3: Un matraz MFR de 50 ml se cargó con (*R,R,R*)-5-alil-2,8-dimetil-2-(4,8,12-trimetil-tridecil)-croman-6-ol (**Ej.-1E-3**) (280 mg, 0,63 mmol) y ACN (14 ml), y después se enfrió a 0 °C. Se añadió gota a gota una solución de CAN (710 mg, 1,30 m ml) en agua (2 ml) durante 1 min a la reacción resultante en una solución de color naranja claro. Después de 15 min, la reacción se consideró completa (TLC - 5:1 de hept:EtOAc). La reacción se extrajo con MTBE (3 x 15 ml). Las capas de MTBE combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron por evaporación rotatoria para producir (*R,R,R*)-2-alil-3-(3-hidroxi-3,7,11,15-tetrametil-hexadecil)-5-metil-[1,4]benzoquinona (**Ej.-1E-4**) en forma de un aceite de color naranja (270 mg, 96 %). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 6,59 (d, *J*=1,4 Hz, 1 H), 5,82 (ddt, 1 H), 5,10-5,06 (m, 2 H), 3,27 (d, *J*= 6,2 Hz, 2 H), 2,60-2,56 (m, 2 H), 2,06 (s, 6 H), 1,59-1,04 (m, 21 H), 0,89-0,85 (m, 15 H).

Etapa 4: Se hidrogenó (*R,R,R*)-2-alil-3-(3-hidroxi-3,7,11,15-tetrametil-hexadecil)-5-metil-[1,4]benzoquinona (**Ej.-1E-4**) (115 mg, 0,25 mmol) usando PtO₂ (6 mg) a 50 psi (344,74 kPa) durante 3 h en una solución de EtOAc (7 ml). La suspensión se filtró a través de sílice, que se aclaró con EtOAc (40 ml). La solución se concentró por evaporación rotatoria para producir (*R,R,R*)-3-(3-hidroxi-3,7,11,15-tetrametil-hexadecil)-5-metil-2-propil-benceno-1,4-diol (**Ej.-1E-5**) en forma de un aceite transparente e incoloro (110 mg, 96 %), que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Etapa 5: Un matraz MFR de 50 ml se cargó con (*R,R,R*)-3-(3-hidroxi-3,7,11,15-tetrametil-hexadecil)-5-metil-2-propil-benceno-1,4-diol (**Ej.-1E-5**) (110 mg, 0,24 mmol), ACN (15 ml) y DCM (2 ml), y después se enfrió a 0 °C. Se añadió gota a gota una solución de CAN (269 mg, 0,49 mmol) en agua (1 ml) durante 1 min a la reacción resultante en una solución de color naranja claro. La reacción se agitó durante 15 min y después se diluyó con agua (5 ml). La capa acuosa se lavó con DCM (3 x 30 ml). Las capas de DCM combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron por evaporación rotatoria para producir un aceite de color naranja. El aceite se purificó por cromatografía en columna (gradiente - hept a 20:1 de hept.:EtOAc) para producir (*R,R,R*)-3-(3-hidroxi-3,7,11,15-tetrametil-hexadecil)-5-metil-2-propil-[1,4]benzoquinona (**Ej.-1E-6**) en forma de un aceite de color naranja (50 mg, 44 %). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 6,56 (s, 1 H), 2,58-2,54 (m, 2 H), 2,45 (t, *J*= 7,9 Hz, 2 H), 2,04 (s, 3 H), 1,55-1,04 (m, 26 H), 1,00 (t, *J*= 7,4 Hz, 3H), 0,89-0,85 (m, 15 H).

Ejemplo de referencia 1F

(*R,R,R*)-2-(3-hidroxi-3,7,11,15-tetrametil-hexadecil)-3-isobutil-5,6-dimetil-[1,4]benzoquinona



mediante adición de L-butionin-(S,R)-sulfoximina (BSO), como se describe en Jauslin et al., Hum. Mol. Genet. 11(24): 3055 (2002), Jauslin et al., FASEB J. 17: 1972-4 (2003), y la Solicitud de Patente Internacional WO 2004/003565. Se ha demostrado que los fibroblastos dérmicos humanos procedentes de pacientes de ataxia de Friedreich, son hipersensibles a la inhibición de la síntesis *de novo* de glutatión (GSH) con L-butionin-(S,R)-sulfoximina (BSO), un inhibidor específico de GSH sintetasa (Jauslin et al., Hum. Mol. Genet. 11(24): 3055 (2002)). Esta muerte celular específica mediada por BSO puede evitarse mediante la administración de antioxidantes o moléculas implicadas en la ruta del antioxidante, tal como α -tocoferol, quinonas de cadena corta, selenio, o miméticos de peroxidasa de glutatión de molécula pequeña. Sin embargo, los antioxidantes difieren en su potencia, es decir, la concentración a la que son capaces de rescatar los fibroblastos de FRDA estresados por BSO. Con este ensayo, se determinaron las concentraciones de CE_{50} de los compuestos de ensayo y se compararon con antioxidantes de referencia conocidos.

Se adquirió MEM (un medio enriquecido en aminoácidos y vitaminas, n.º de catálogo 1-31F24-I) y el medio 199 (M199, n.º de catálogo 1-21F22-I) con sales equilibradas de Earle, sin rojo fenol, en Bioconcept. Se obtuvo suero fetal bovino de PAA Laboratories. El factor de crecimiento de fibroblastos básico y el factor de crecimiento epidérmico se adquirieron de Pepro-Tech. Se adquirió una mezcla de penicilina-estreptomicina-glutamina, L-butionina (S,R)-sulfoximina, acetato de (+)- α -tocoferol, decilubiquinona, e insulina de páncreas bovino, de Sigma. Se obtuvo Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico) de Fluka. Idebenona se obtuvo en Chemo Iberica. La calceína AM se adquirió en Molecular Probes. El medio de cultivo celular se hizo combinando 125 ml de M199 EBS, 50 ml de suero fetal bovino, 100 U/ml de penicilina, 100 μ g/ml de estreptomicina, glutamina 2 mM, 10 μ g/ml de insulina, 10 μ g/ml de EGF, y 10 μ g/ml de bFGF; se añadió MEM EBS para aumentar el volumen hasta 500 ml. Se preparó una solución 10 mM de BSO disolviendo 444 mg de BSO en 200 ml de medio con la posterior esterilización por filtrado. Durante el transcurso de los experimentos, esta solución se almacenó a +4 °C. Las células se obtuvieron en los Depósitos de Células de Coriell (Camden, NJ; número de depósito GM04078) y se cultivaron en placas de cultivo tisular de 10 cm. Cada tres días, se dividieron en una relación de 1:3.

Las muestras de ensayo se suministraron en viales de 1,5 ml. Los compuestos se diluyeron con DMSO, etanol o PBS para dar como resultado una solución madre 5 mM. Una vez disueltos, se almacenaron a -20 °C. Se disolvieron los antioxidantes de referencia (idebenona, decilubiquinona, acetato de α -tocoferol y trolox) en DMSO.

Las muestras de ensayo se cribaron de acuerdo con el siguiente protocolo:

Un cultivo con fibroblastos de FRDA se inició a partir de un vial de 1 ml con aproximadamente 500.000 células almacenadas en nitrógeno líquido. Las células se propagaron en placas de cultivo celular de 10 cm dividiéndolas cada tres días en una relación de 1:3 hasta que estuvieron disponibles nueve placas. Una vez confluentes, se cosecharon los fibroblastos. Para 54 placas de micro titulación (MTP de 96 pocillos) se resuspendieron un total de 14,3 millones de células (pase ocho) en 480 ml de medio, correspondiente a 100 μ l del medio con 3.000 células/pocillo. Las células restantes se distribuyeron en placas de cultivo de células de 10 cm (500.000 células/placa) para su propagación. Las placas se incubaron durante la noche a 37 °C en una atmósfera con el 95 % de humedad y CO_2 al 5 % para permitir la unión de las células a la placa de cultivo.

El medio MTP (243 μ l) se añadió a un pocillo de la placa de microtitulación. Los compuestos de ensayo se descongelaron, y se disolvieron 7,5 μ l de una solución madre 5 mM en el pocillo que contenía 243 μ l de medio, dando como resultado una solución maestra de 150 μ M. Se hicieron diluciones seriadas de la solución maestra. El periodo entre las etapas de dilución individual se mantuvo lo más corto posible (en general, menos de 1 segundo).

Las placas se dejaron durante una noche en la incubadora de cultivos celulares. Al día siguiente, se añadieron a los pocillos 10 μ l de una solución 10 mM de BSO, dando como resultado una concentración final de BSO 1 mM. Cuarenta y ocho horas después, se examinaron tres placas bajo un microscopio de contraste de fase para verificar que las células en el control al 0 % (pocillos E1-H1) estaban claramente muertas. El medio de todas las placas se desechó, y el líquido restante se eliminó golpeando suavemente la tapa puesta del revés sobre una servilleta de papel.

Después, a cada pocillo se le añadieron 100 μ l de PBS que contenía calceína AM 1,2 μ M. Las placas se incubaron durante 50-70 minutos a temperatura ambiente. Después de ese tiempo, el PBS se descartó, la placa se golpeó suavemente sobre una servilleta de papel y la fluorescencia (longitudes de onda de excitación/emisión a 485 nm y 525 nm, respectivamente) se leyó en un lector de fluorescencia Gemini. Los datos se importaron a Microsoft Excel (EXCEL es una marca registrada de Microsoft Corporation para un programa de hoja de cálculo) y se usó para calcular la concentración CE_{50} para cada compuesto.

Los compuestos se ensayaron tres veces, es decir, el experimento se realizó tres veces, aumentando el número de pases de las células en uno con cada repetición.

Los disolventes (DMSO, etanol, PBS) no tuvieron ningún efecto perjudicial sobre la disponibilidad de las células no tratadas con BSO ni tuvieron una influencia beneficiosa sobre los fibroblastos tratados con BSO, ni siquiera a la concentración más alta ensayada (1 %). Ninguno de los compuestos mostró auto-fluorescencia. La disponibilidad de los fibroblastos no tratados con BSO se ajustó como del 100 %, y la disponibilidad de las células tratadas con BSO y

tratadas con compuesto se calculó en relación con este valor.

La siguiente tabla resume la CE50 para α -tocoferol quinona y los cuatro compuestos de control.

Compuesto	CE ₅₀ [μ M]				
	Valor 1	Valor 2	Valor 3	Promedio	Desv. est.
α -tocoferol quinona	0,000001	0,000003	2×10^{-7}	$1,40 \times 10^{-6}$	$1,44 \times 10^{-6}$
decilubiquinona	0,05	0,035	0,03	0,038	0,010
acetato de α -tocoferol	0,4	0,15	0,35	0,30	0,13
idebenona	1,5	1	1	1,2	0,3
Trolox	9	9	8	8,7	0,6

5 **Ejemplo 3**

Compuestos de cribado de la invención

10 Los compuestos de la invención se ensayan usando el cribado como se ha descrito en Ejemplo de referencia 2 para determinar su capacidad para rescatar fibroblastos dérmicos humanos de pacientes de FRDA a partir de estrés oxidativo. Estos datos se usan para estimar su potencial como tratamientos de enfermedades.

Ejemplo 4

15 *Administración de compuestos de la invención*

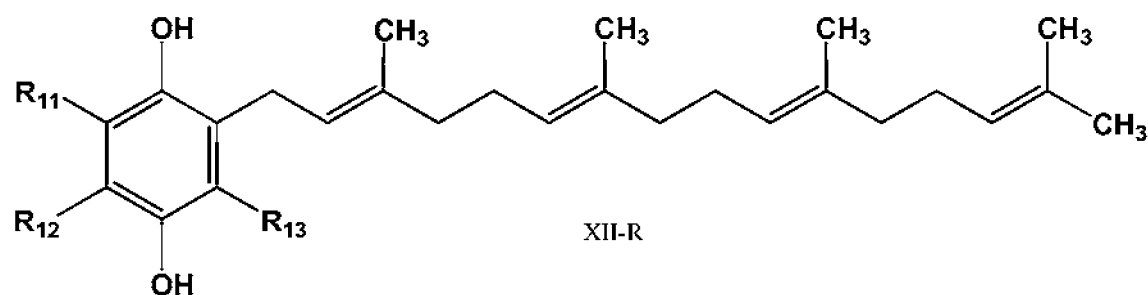
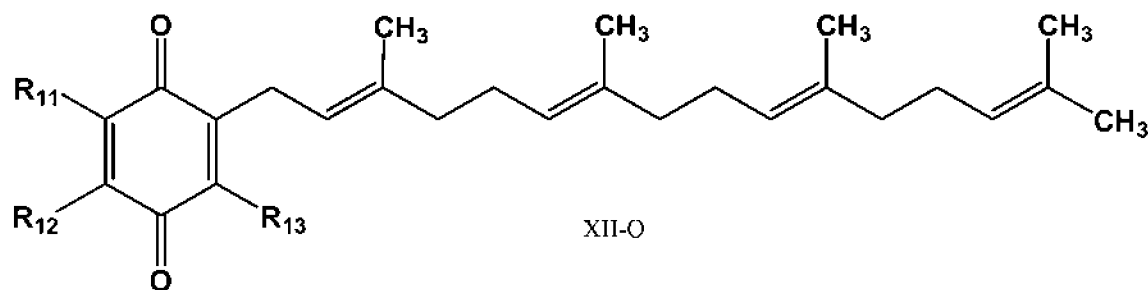
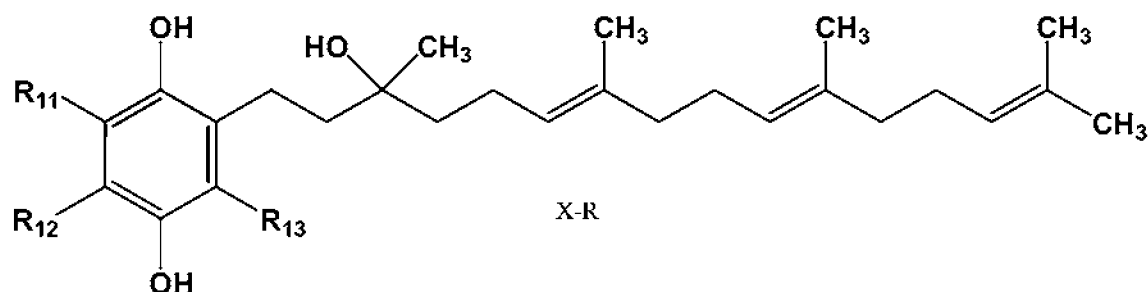
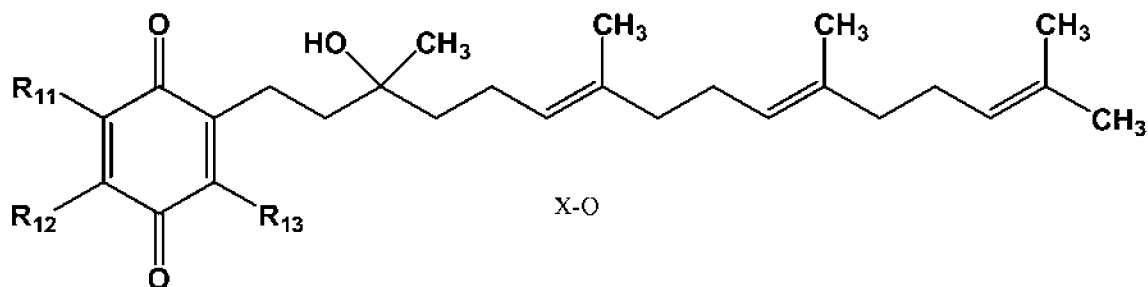
Un compuesto de la invención está presente en una cápsula que contiene 300 mg de compuesto en un vehículo farmacéuticamente aceptable. Una cápsula se toma por vía oral, una vez al día, preferiblemente durante el desayuno o la comida. En caso de niños pequeños, la cápsula se rompe y su contenido se mezcla con comida.

20

REIVINDICACIONES

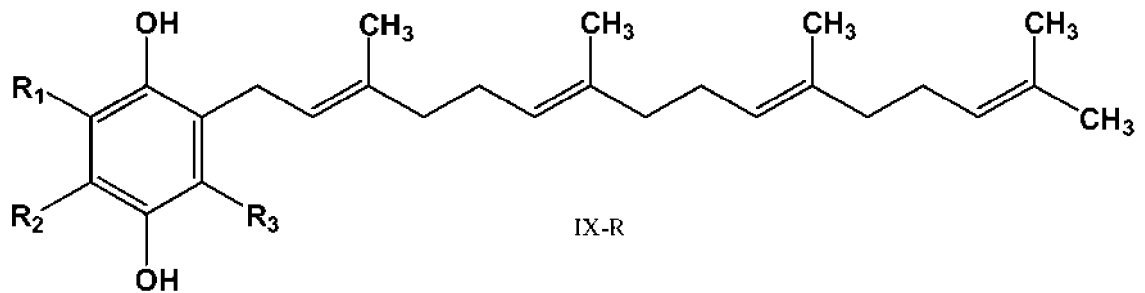
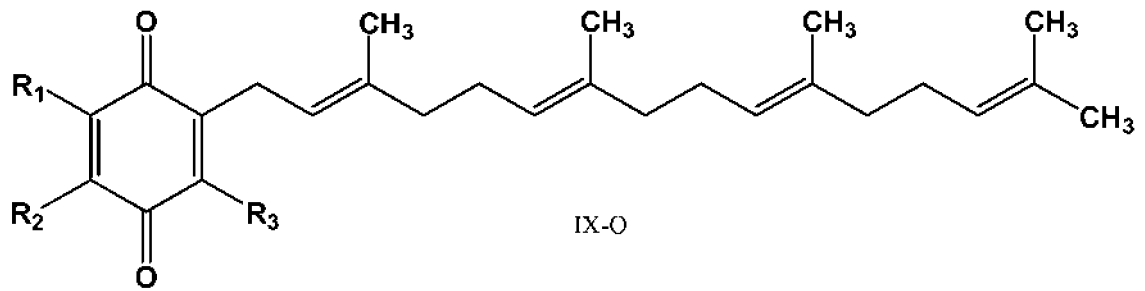
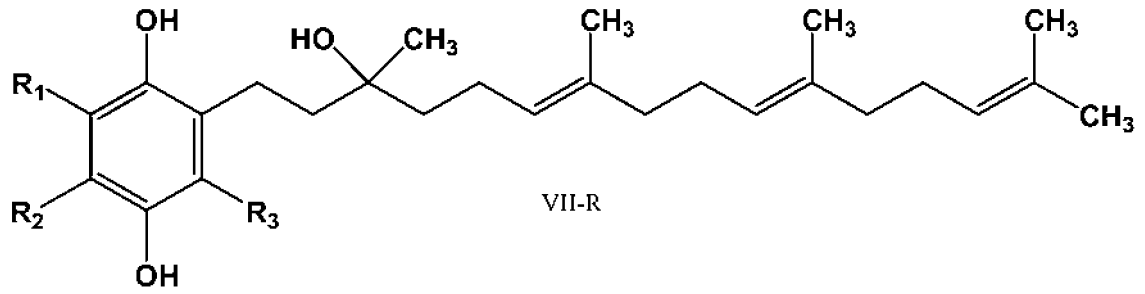
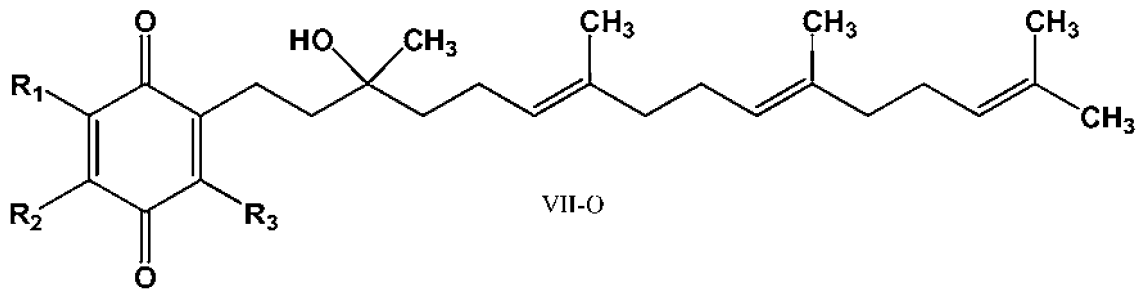
1. Un compuesto para su uso en un método para tratar una enfermedad neurodegenerativa, donde el método comprende administrar a un sujeto el compuesto como el único agente farmacéutico activo en una cantidad terapéuticamente eficaz, donde dicho compuesto se selecciona del grupo que consiste en:

(a) compuestos de fórmula X-O, fórmula X-R, fórmula XII-O y fórmula XII-R:



15 donde R₁₁, R₁₂ y R₁₃ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, alquilo -C1-C4, haloalquilo -C1-C4, -CN, -F, -Cl, -Br e -I, con la condición de que si cualquiera de R₁₁, R₁₂ o R₁₃ es H, entonces al menos uno de los otros dos sustituyentes no es H ni metilo; y estereoisómeros, mezclas de estereoisómeros, solvatos e hidratos de los mismos; y

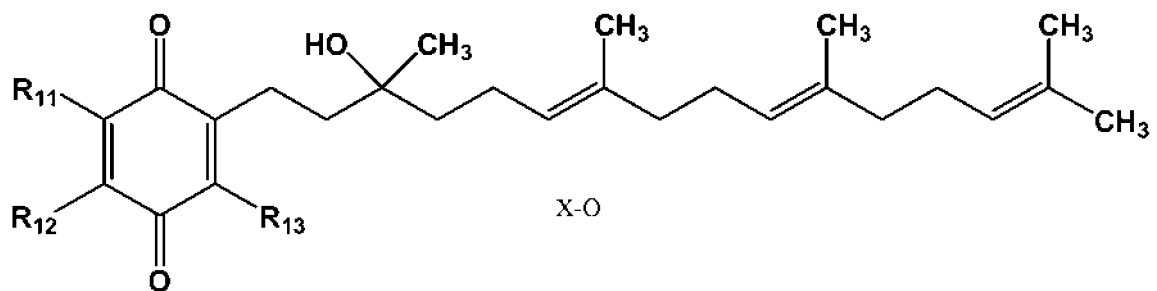
(b) compuestos de fórmula VII-O, fórmula VII-R, fórmula IX-O y fórmula IX-R:

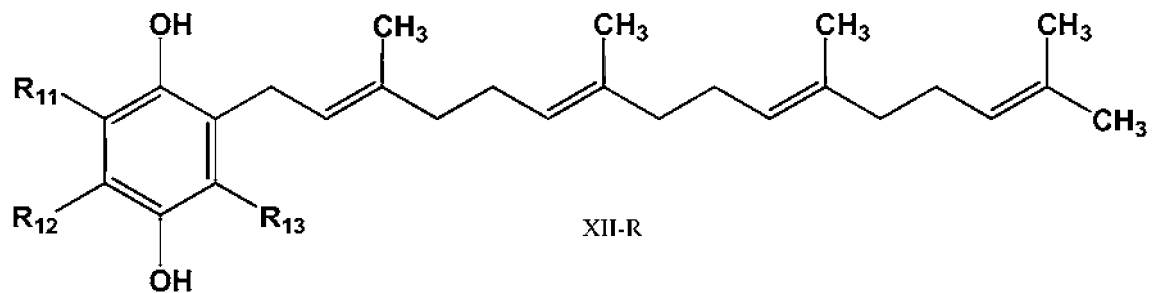
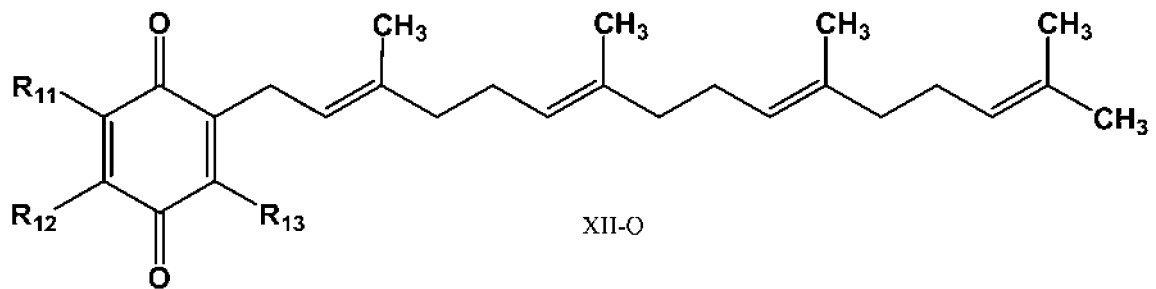
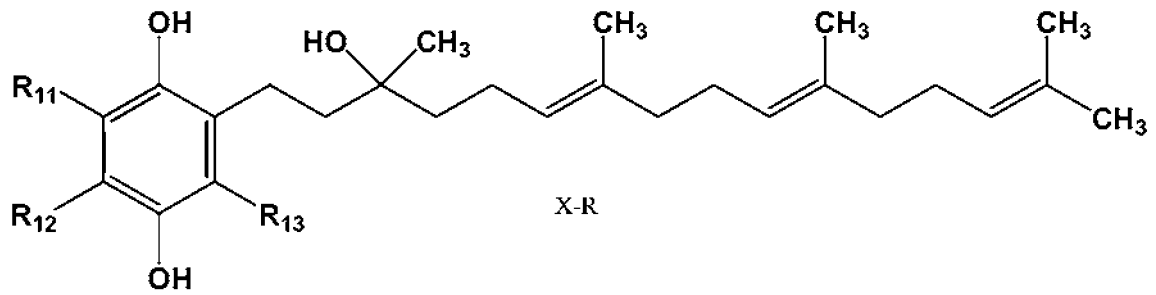


5 donde R₁, R₂ y R₃ se seleccionan independientemente entre alquilo -C₁-C₄, con la condición de que al menos uno de R₁, R₂ y R₃ no es metilo; y estereoisómeros, mezclas de estereoisómeros, solvatos e hidratos de los mismos.

2. El compuesto según la reivindicación 1 para uso como se define en dicha reivindicación, donde dicho compuesto se selecciona del grupo que consiste en compuestos de fórmula X-O, fórmula X-R, fórmula XII-O y fórmula XII-R:

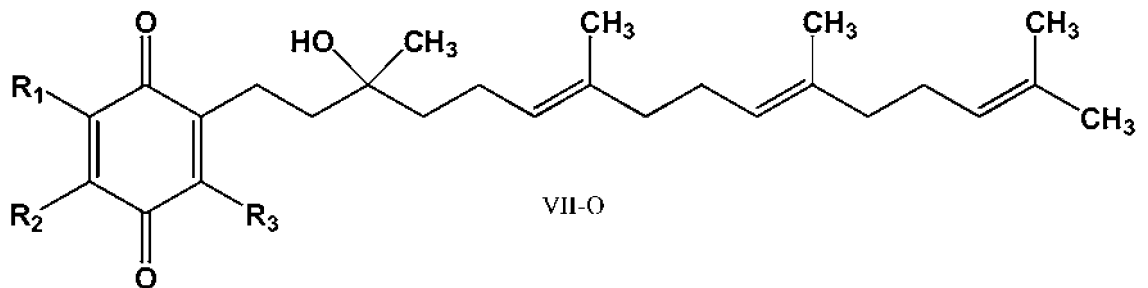
10

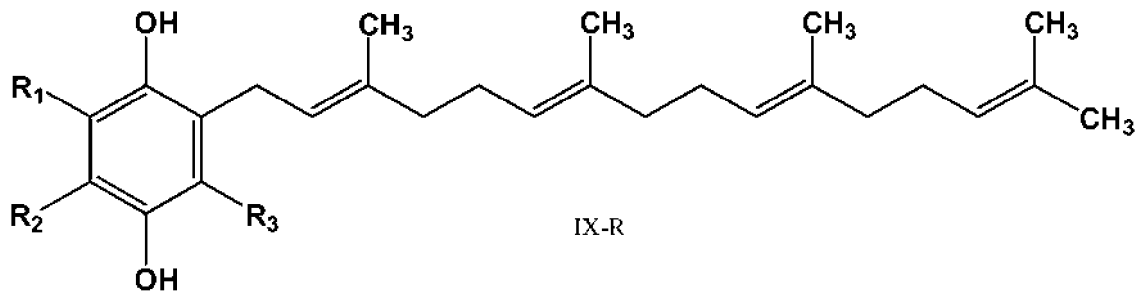
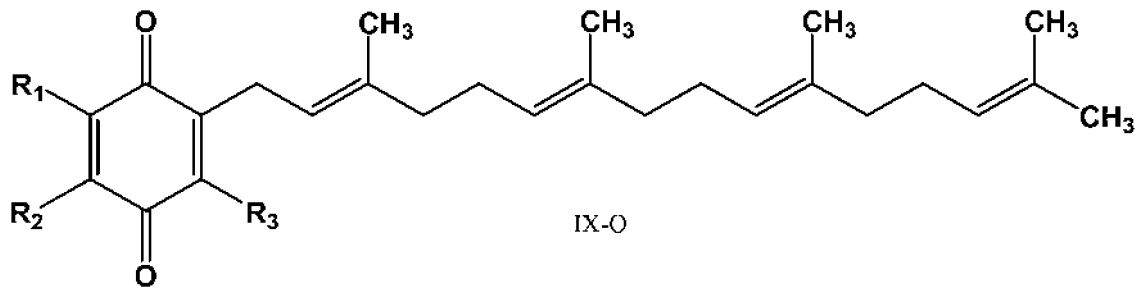
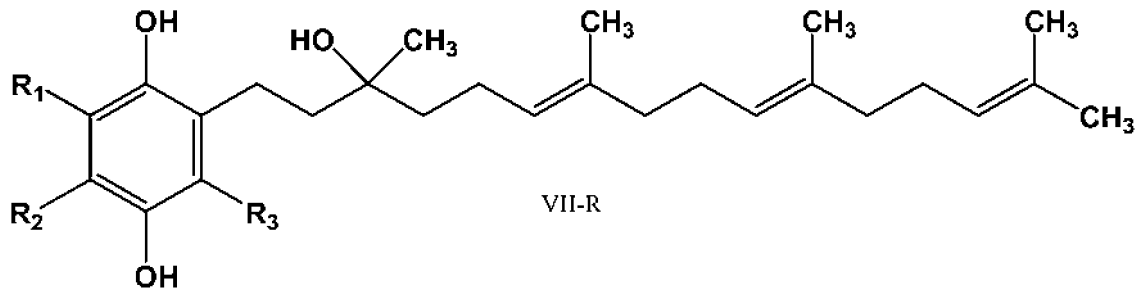




5 donde R₁₁, R₁₂ y R₁₃ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, alquilo -C1-C4, haloalquilo -C1-C4, -CN, -F, -Cl, -Br e -I, con la condición de que si cualquiera de R₁₁, R₁₂ o R₁₃ es H, entonces al menos uno de los otros dos sustituyentes no es H ni metilo; y estereoisómeros, mezclas de estereoisómeros, solvatos e hidratos de los mismos

10 3. El compuesto según reivindicación 1 para uso como se define en dicha reivindicación, compuesto que se selecciona del grupo que consiste en compuestos de fórmula VII-O, fórmula VII-R, fórmula IX-O y fórmula IX-R:

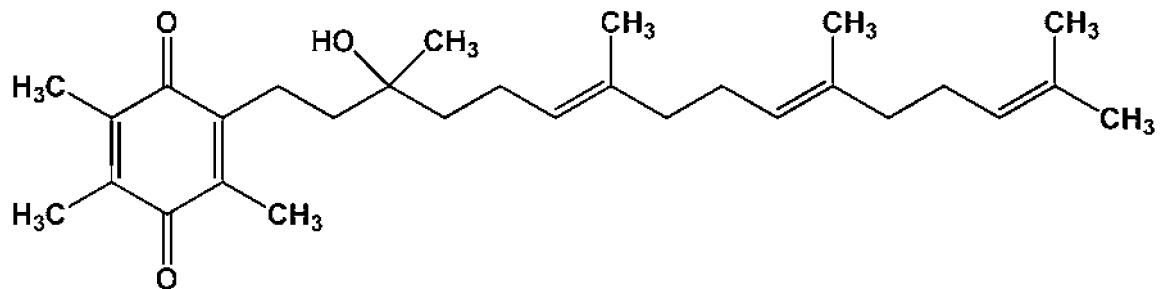




donde R₁, R₂ y R₃ se seleccionan independientemente entre alquilo -C₁-C₄, con la condición de que al menos uno de R₁, R₂ y R₃ no es metilo; y estereoisómeros, mezclas de estereoisómeros, solvatos e hidratos de los mismos.

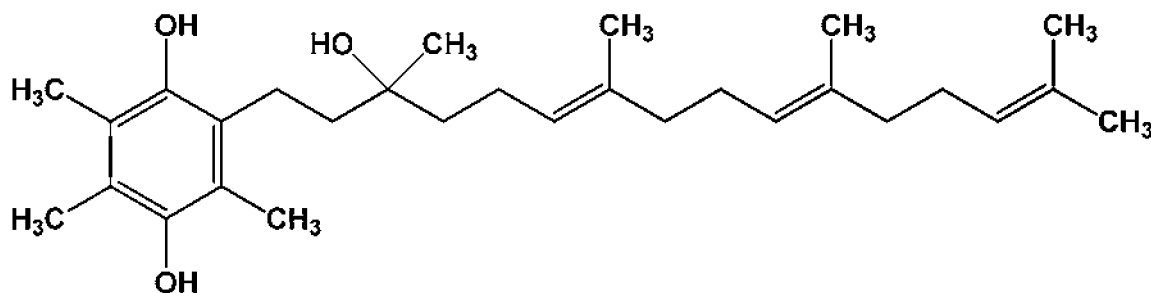
5

4. El compuesto según reivindicaciones 1 o 2 para uso como se define en dichas reivindicaciones, que es



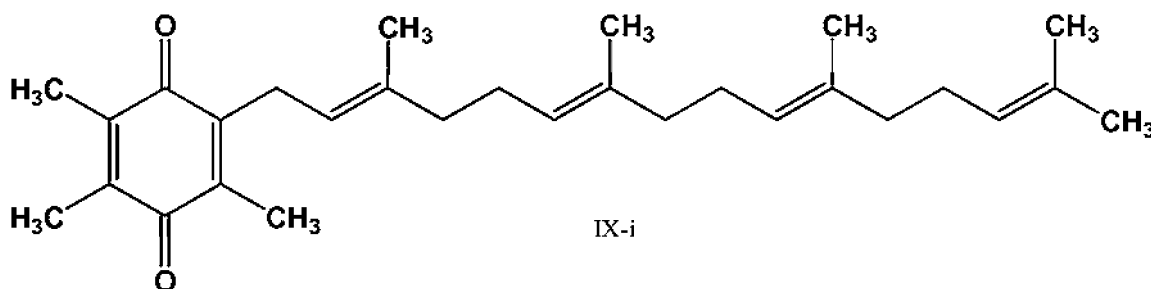
10 o un estereoisómero, o una mezcla de estereoisómeros del mismo.

5. El compuesto según reivindicaciones 1 o 2 para uso como se define en dichas reivindicaciones, que es



o un estereoisómero, o una mezcla de estereoisómeros del mismo.

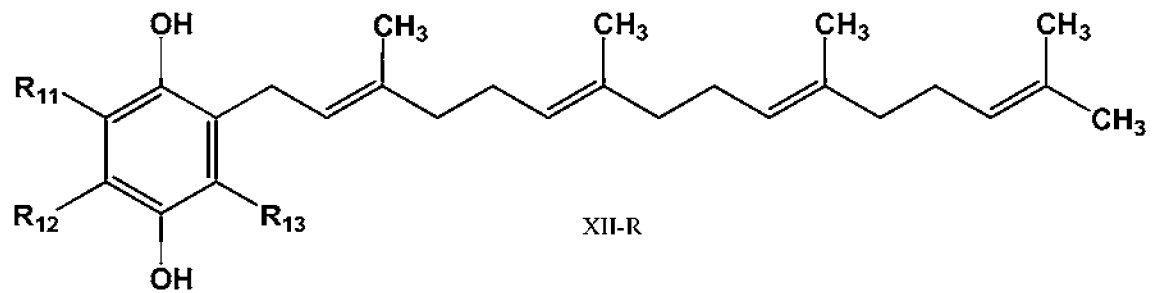
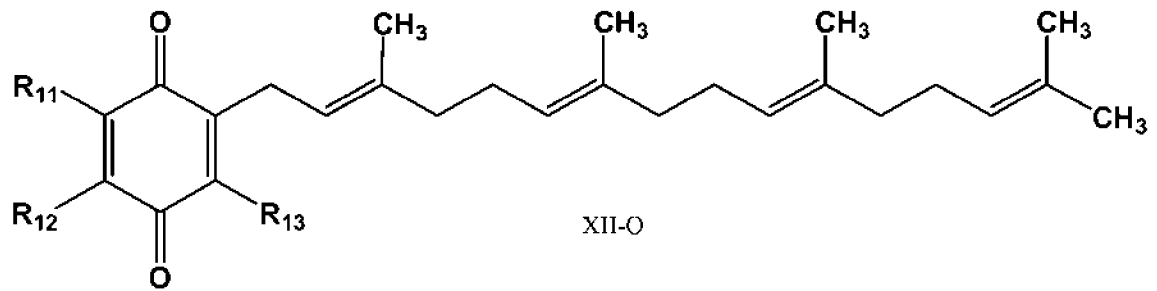
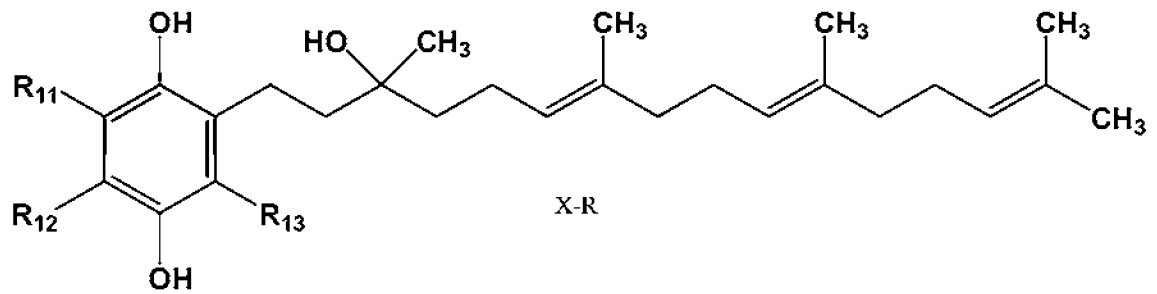
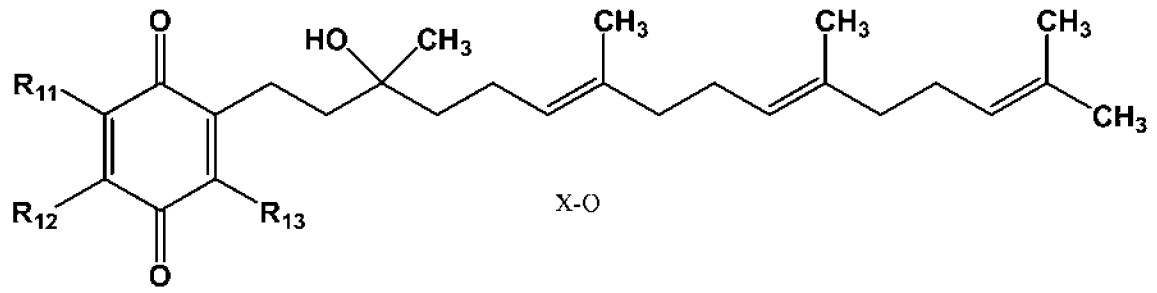
- 5 6. El compuesto según reivindicaciones 1 o 2 para uso como se define en dichas reivindicaciones, que es



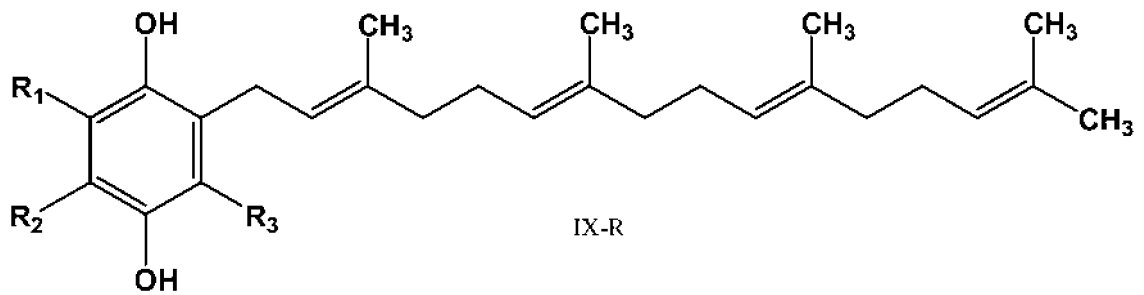
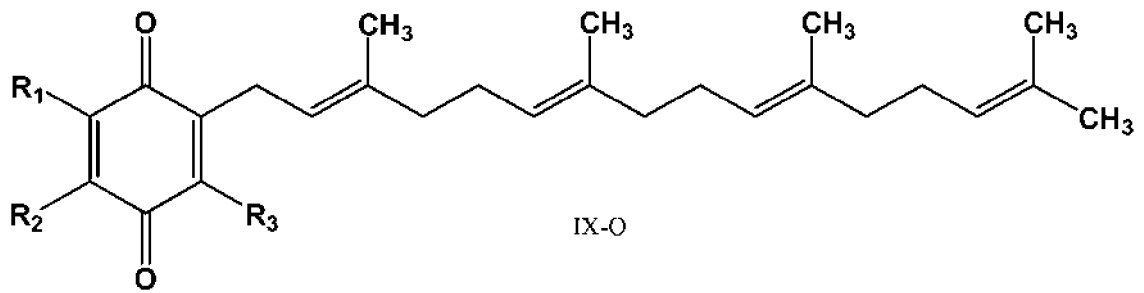
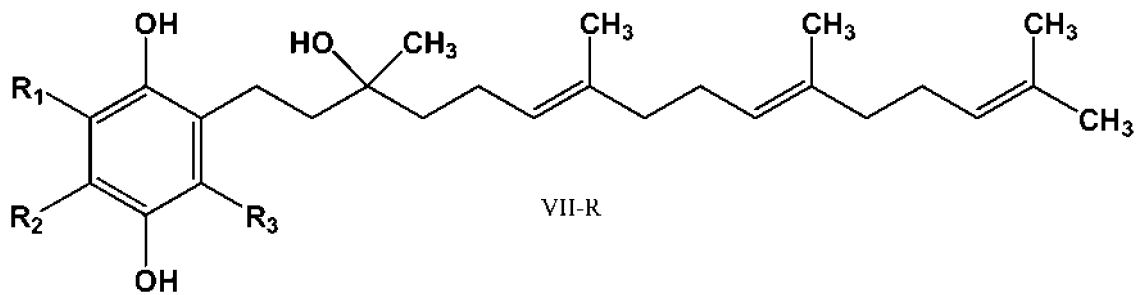
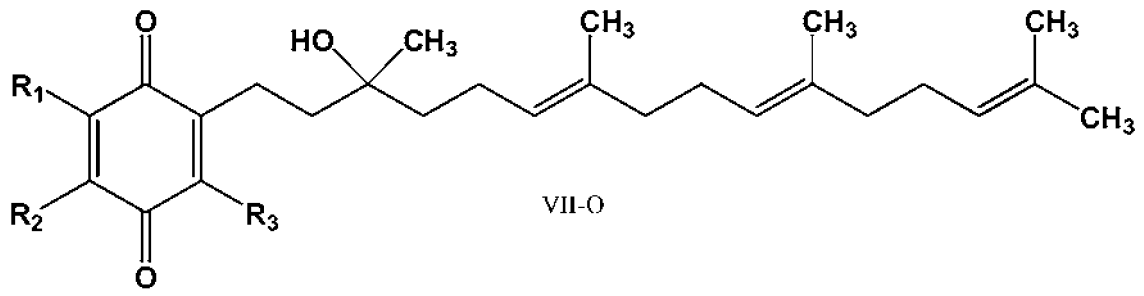
o su forma reducida (forma de hidroquinona),
 10 o un estereoisómero, o una mezcla de estereoisómeros del mismo.

7. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones precedentes para uso como se define en dichas reivindicaciones, en el que la enfermedad neurodegenerativa se selecciona del grupo que consiste en la enfermedad de Parkinson; enfermedad de Alzheimer; esclerosis lateral amiotrófica (ELA); enfermedades neuromotoras; otras enfermedades neurológicas; enfermedad de Huntington; y degeneración macular.

8. El compuesto según las reivindicaciones 4 o 5 para uso en el tratamiento de enfermedades neuromotoras.
9. El compuesto según las reivindicaciones 4 o 5 para uso en el tratamiento de otras enfermedades neurológicas.
10. El compuesto según las reivindicaciones 4 o 5 para uso en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson.
11. El compuesto según las reivindicaciones 4 o 5 para uso en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.
12. El compuesto según las reivindicaciones 4 o 5 para uso en el tratamiento de la esclerosis lateral amiotrófica (ELA).
13. El compuesto según las reivindicaciones 4 o 5 para uso en el tratamiento de la enfermedad de Huntington.
14. El compuesto según las reivindicaciones 4 o 5 para uso en el tratamiento de la degeneración macular.
15. Uso, en la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad neurodegenerativa, de un compuesto seleccionado del grupo que consiste en:
- (a) compuestos de fórmula X-O, fórmula X-R, fórmula XII-O y fórmula XII-R:

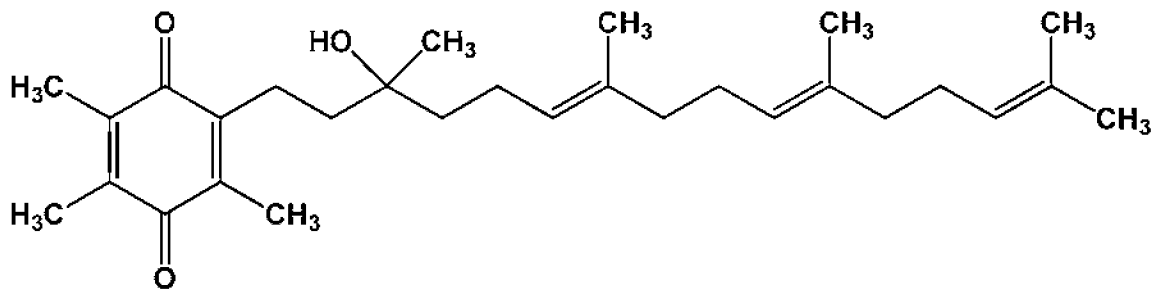


5 donde R₁₁, R₁₂ y R₁₃ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, alquilo -C1-C4, haloalquilo -C1-C4, -CN, -F, -Cl, -Br e -I, con la condición de que si cualquiera de R₁₁, R₁₂ o R₁₃ es H, entonces al menos uno de los otros dos sustituyentes no es H ni metilo; y estereoisómeros, mezclas de estereoisómeros, solvatos e hidratos de los mismos; y
 (b) compuestos de fórmula VII-O, fórmula VII-R, fórmula IX-O y fórmula IX-R:



5 donde R₁, R₂ y R₃ se seleccionan independientemente entre alquilo -C₁-C₄, con la condición de que al menos uno de R₁, R₂ y R₃ no es metilo; y estereoisómeros, mezclas de estereoisómeros, solvatos e hidratos de los mismos; en donde el tratamiento comprende administrar a un sujeto el compuesto como el único agente farmacéutico activo en una cantidad terapéuticamente eficaz.

16. El uso según reivindicación 15, de un compuesto de la fórmula



o su forma reducida (forma de hidroquinona),

5 o un estereoisómero, o una mezcla de los mismos, en la fabricación de un medicamento para tratar la enfermedad de Parkinson; enfermedad de Alzheimer; esclerosis lateral amiotrófica (ELA); enfermedades neuromotoras; otras enfermedades neurológicas; enfermedad de Huntington; o degeneración macular.

17. El compuesto para uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-14, o el uso según cualquiera de las reivindicaciones 15 y 16, donde el compuesto es el único agente farmacéutico activo.