

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 727 859**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/787** (2006.01)

**A61P 43/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.04.2012 PCT/JP2012/058957**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.10.2012 WO12133896**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.04.2012 E 12765151 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.03.2019 EP 2692862**

54 Título: **Compuesto de poliamida y composición farmacéutica para el tratamiento de enfermedades genéticas mitocondriales**

30 Prioridad:

**31.03.2011 JP 2011080804**

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

**21.10.2019**

73 Titular/es:

**TRIPLEX THERAPEUTICS INC. (100.0%)  
MBP, 3/F Block CB, Makuhari Techno Garden, 1-3  
Nakase, Chiba City  
Chiba 261-0023, JP**

72 Inventor/es:

**YANO TAKAMITSU**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

**ES 2 727 859 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

Compuesto de poliamida y composición farmacéutica para el tratamiento de enfermedades genéticas mitocondriales

**Campo técnico**

5 La presente invención se refiere a un compuesto de poliamida, un agente para estimular la replicación de un ADN mitocondrial (en lo sucesivo en el presente documento en ocasiones denominado ADNmt) que comprende al mismo, y una composición farmacéutica para tratar una enfermedad genética mitocondrial que comprende a la misma. Una enfermedad genética mitocondrial tal como miopatía mitocondrial, encefalopatía, acidosis láctica, o episodios similares a la apoplejía se puede tratar o prevenir con la presente invención.

**Antecedentes de la técnica**

10 Una mitocondria es un orgánulo celular que tiene una de producción de energía característica en una célula eucariota, y suministra energía química (ATP) a una célula mediante una fosforilación oxidativa (OXPHOS). Un ADNmt es un ADN bicatenario de múltiples copias, circular, con 16,5 kb, y codifica 13 polipéptidos, que son proteínas de subunidades de 4 complejos de cadena respiratoria básicamente necesarios para OXPHOS, 2 ARN ribosómicos (ARNr 12S y ARNr 16S) y 22 ARN de transferencia (ARNt), que son fundamentales para una síntesis de  
15 proteínas mitocondriales.

Las mitocondrias suministran un 90 % de la energía necesaria para una célula por OXPHOS en forma de ATP. Por lo tanto, si se produce una disfunción mitocondrial, se pueden producir fallos en los nervios centrales, músculos esqueléticos, o músculos cardiacos, que tienen una alta demanda de energía. En particular, una enfermedad mitocondrial desarrollada en los nervios centrales o músculos se denomina miopatía mitocondrial, y se clasifica en 3  
20 patrones de enfermedad en función de las afecciones clínicas, es decir, miopatía mitocondrial, encefalopatía, acidosis láctica, y episodios similares a la apoplejía (en lo sucesivo en el presente documento denominada MELAS), epilepsia mioclónica asociada con fibras de color rojo rasgadas (en lo sucesivo en el presente documento denominada MERRF), y oftalmoplejía externa, crónica, progresiva (en lo sucesivo en el presente documento denominada CPEO).

25 En los tres patrones de enfermedad que se han mencionado anteriormente, MELAS es una enfermedad genética mitocondrial letal caracterizada porque un episodio similar a una apoplejía, hiperlactacidemia o similar, que con mucha frecuencia dan como resultado enfermedades mitocondriales. Las mutaciones puntuales patogénicas que causan la MELAS existen ampliamente en un gen de ARN<sup>tLeu(UUR)</sup> mitocondrial, y un 80 % de los pacientes con MELAS tienen una sustitución de base (en lo sucesivo en el presente documento denominada mutación A3243G) de adenina (A) a guanina (G) un número 3243 de base mitocondrial en el gen de ARN<sup>tLeu(UUR)</sup> mitocondrial en los  
30 ADNmt (véase la Fig. 1). Se sabe que una mutación A3243G puede causar diversos síntomas clínicos incluyen MELAS, tales como diabetes mitocondrial, sordera, cardiomiopatía, o CPEO. En la investigación de la patología molecular, la mutación A3243G es una mutación puntual en los estudios que más han avanzado. En los ADNmt con la mutación A3243G de MELAS y los ADNmt normales (tipo silvestre) coexisten en la misma célula, y esta afección se denomina heteroplasmia. La MELAS se desarrolla cuando una proporción de los ADNmt con la mutación A3243G  
35 se convierte en un exceso de un 60 a un 95 % en una célula, que se denomina efecto de umbral.

Como un medicamento para tratar una enfermedad genética mitocondrial que incluye MELAS, se conoce una composición farmacéutica que contiene un precursor de nucleótidos pirimidina y creatina como un principio activo (Bibliografía de patente 1), una composición farmacéutica que contiene derivado de 4-(p-quinolil)-2-  
40 hidrozibutanoamida como un principio activo (Bibliografía de patente 2), una composición farmacéutica que contiene alanina como un principio activo (Bibliografía de patente 3), etc. Sin embargo, el objeto de las composiciones farmacéuticas conocidas como las anteriores no son las mutaciones genéticas, que son la causa principal de MELAS, sino que sus finalidades son simplemente un tratamiento sintomático para las afecciones en los nervios centrales o músculos. Por lo tanto, los efectos de las mismas fueron limitados.

45 Como un tratamiento en el que una diana es la mutación genética causante de la enfermedad genética mitocondrial, se intentó una inhibición selectiva de la replicación de los ADNmt de mutación de MERRF mediante la unión a ácidos nucleicos peptídicos (en lo sucesivo en el presente documento denominado PNA) a una mutación A8344G que es la mutación de MERRF (Bibliografía no de patente 1). De forma específica, los efectos en la inhibición de la replicación de los ADNmt de la mutación A8344G de MERRF *in vitro* mediante PNA en el sistema de ensayo de no inclusión de  
50 replicación de ADNmt, usando PNA capaz de unirse a una secuencia de una cadena H monocatenaria existente en el ADNmt de mutación A8344G de MERRF bajo replicación se sometieron a ensayo (Bibliografía no de patente 1). En experimentos en los mismos, se detectaron los ADNmt truncados, en los que se inhibió la extensión sintetizada, y por lo tanto, se observó la inhibición de la replicación de los ADNmt con mutación A8344G por PNA. Sin embargo, cuando las células híbridas de MERRF se cultivaron en un medio al que se añadió PNA, no se observó un  
55 desplazamiento de los ADNmt de heteroplasmia a normal (tipo silvestre), en particular, no se observó un efecto de la inhibición de la replicación de los ADNmt con la mutación A8344G por los ADN mediante PNA en células vivas (Bibliografía no de patente 2).

LISTADOS DE CITA

BIBLIOGRAFÍA DE PATENTES

LISTADOS DE CITAS

BIBLIOGRAFÍAS DE PATENTES

- 5 [Bibliografía de patente 1] Publicación de Traducción Japonesa (Kohyo) N.º 2004-538326  
 [Bibliografía de patente 2] Publicación de Traducción Japonesa (Kohyo) N.º 2011-503005  
 [Bibliografía de patente 3] WO2003/068215

BIBLIOGRAFÍAS DE NO PATENTE

- 10 [Bibliografía de no patente 1] Nature Genetics, Britain, 1997, Vol. 15, pp. 212-215.  
 [Bibliografía de no patente 2] Advanced Drug Delivery Reviews, Países Bajos, 2001, Vol. 49, pp. 121-125.

### **Sumario de la invención**

#### **Problema técnico**

15 Como se ha mencionado anteriormente, la terapia convencional para la enfermedad genética mitocondrial es principalmente la terapia sintomática, sin una terapia fundamental establecida. Como se ha mencionado anteriormente, se intenta una inhibición selectiva de la replicación del ADNmt mutante de MERRF usando el PNA como tratamiento para enfermedades causadas por la mutación A8344G de MERRF. Sin embargo, el experimento se realizó usando un sistema reconstituido *in vitro* de la replicación del ADNmt por fracciones celulares. Por lo tanto, un efecto terapéutico de PNA no se ha confirmado en un sistema experimental usando células. Las mitocondrias tienen bicapas lipídicas. Por lo tanto, para suministrar el PNA a la mutación A8344G mitocondrial diana, es necesario 20 permear las bicapas lipídicas mitocondriales, así como la membrana celular. Por lo tanto, un tratamiento dirigido a una mutación de la enfermedad genética mitocondrial es difícil, en vista de la administración de fármacos. En particular, un tratamiento dirigido a la mutación A3243G de pacientes con MELAS, que se sabe que es una enfermedad mortal en la enfermedad genética mitocondrial, no se sometió a ensayo en absoluto.

25 El objeto de la presente invención es proporcionar una terapia fundamental para el síndrome MELAS causado por la mutación A3243G del ADNmt, y una composición farmacéutica usada para el mismo. Además, el objeto de la presente invención es proporcionar una terapia fundamental para una enfermedad genética mitocondrial causada por una mutación A3236G, enfermedades genéticas mitocondriales causadas por una mutación A3243T, una enfermedad genética mitocondrial causada por una mutación G3244A, una enfermedad genética mitocondrial causada por una mutación G3249A, enfermedades genéticas mitocondriales causadas por una mutación T3250C, 30 una enfermedad genética mitocondrial causada por una mutación A3251G, una enfermedad genética mitocondrial causada por una mutación A3252G, una enfermedad genética mitocondrial causada por una mutación C3254A, una enfermedad genética mitocondrial causada por una mutación C3254G, una enfermedad genética mitocondrial causada por una mutación G3255A, enfermedades genéticas mitocondriales causadas por una mutación C3256T, enfermedades genéticas mitocondriales causadas por una mutación T3258C, o enfermedades genéticas 35 mitocondriales causadas por una mutación A3260G, y una composición farmacéutica usada para las mismas.

#### **Solución al problema**

Los presentes inventores han realizado amplios estudios en un tratamiento del síndrome MELAS causado por la mutación A3243G. Como resultado, los presentes inventores encontraron de forma sorprendente que una replicación del ADNmt de tipo silvestre se aumenta mediante un compuesto de poliamida que se une a la secuencia de ADNmt de tipo silvestre, para desplazar de ese modo una heteroplasmia del ADNmt de tipo silvestre y el ADNmt con mutación de A3243G del ADNmt con mutación de A3243G con respecto al ADNmt de tipo silvestre, y por lo tanto, el síndrome MELAS se puede tratar. Hasta ahora, se sabe que el compuesto de poliamida inhibe la expresión genética. Sin embargo, es sorprendente que un compuesto de poliamida pueda estimular una replicación del ADNmt de tipo silvestre de forma selectiva. Además, los presentes inventores encontraron que el compuesto de poliamida de la presente invención es eficaz para enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación A3236G, la mutación A3243T, la mutación G3244A, la mutación G3249A, la mutación T3250C, la mutación A3251G, la mutación A3252G, la mutación C3254A, la mutación C3254G, la mutación G3255A, la mutación C3256T, la mutación T3258C, o la mutación A3260G. Además, el efecto del PNA en terapia no se puede confirmar en células vivas. Sin embargo, el efecto de la composición farmacéutica usando el compuesto de poliamida de la presente invención se confirma en 50 células vivas. Por lo tanto, se cree que el compuesto de poliamida puede alcanzar el ADNmt a través de una membrana celular y una bicapa lipídica mitocondrial.

La presente invención es una base de los hallazgos que se han mencionado anteriormente.

En particular, la presente invención se refiere a:

[1] un compuesto de poliamida que se une a un ADN bicatenario diana, en el que dicho ADN bicatenario diana

comprende al menos un par de nucleótidos seleccionados entre el grupo que consiste en un par A/T que consiste en la primera A del siguiente ADN de cadena codificante y la T correspondiente, un par A/T que consiste en la 8ª A del siguiente ADN de cadena codificante y la T correspondiente, un par G/C que consiste en la 9ª G del siguiente ADN de cadena codificante y la C correspondiente, un par G/C que consiste en la 14ª G del siguiente ADN de cadena codificante y la C correspondiente, un par T/A que consiste en la 15ª T del siguiente ADN de cadena codificante y la A correspondiente, un par A/T que consiste en la 16ª A del siguiente ADN de cadena codificante y la T correspondiente, un par C/G que consiste en la 19ª C del siguiente ADN de cadena codificante y la G correspondiente, un par G/C que consiste en la 20ª G del siguiente ADN de cadena codificante y la C correspondiente, un par C/G que consiste en la 21ª C del siguiente ADN de cadena codificante y la G correspondiente, un par T/A que consiste en la 23ª T del siguiente ADN de cadena codificante y la A correspondiente, un par A/T que consiste en la 25ª A del siguiente ADN de cadena codificante y la T correspondiente, en el ADN bicatenario de la siguiente fórmula(1):

**[Quim. 1]**



que consiste en el ADN de cadena codificante que tiene una secuencia de bases 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1) y el ADN de cadena no codificante que tiene una secuencia de bases 5'-TTATGCGATTACCGGGCTCGCCAT-3' (SEQ ID NO: 2); y al menos un extremo de dicho ADN bicatenario diana es un par A/T o un par T/A;

(1) un resto del compuesto de poliamida, que corresponde al par A/T o al par T/A en un extremo del mismo es una estructura de vuelta seleccionada entre el grupo que consiste en resto de ácido  $\gamma$ -aminobutírico, resto de ácido (R)2,4-diaminobutírico, y resto de ácido 5-aminovalérico, en el que el átomo de hidrógeno de los restos puede estar sustituido con un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo amino, un grupo hidroxilo, un grupo carboxilo, o  $-NH_3$ ;

(2) la región de unión del compuesto de poliamida, que corresponde al ADN bicatenario diana excepto por el par A/T o el par T/A en un extremo del mismo, está formada por

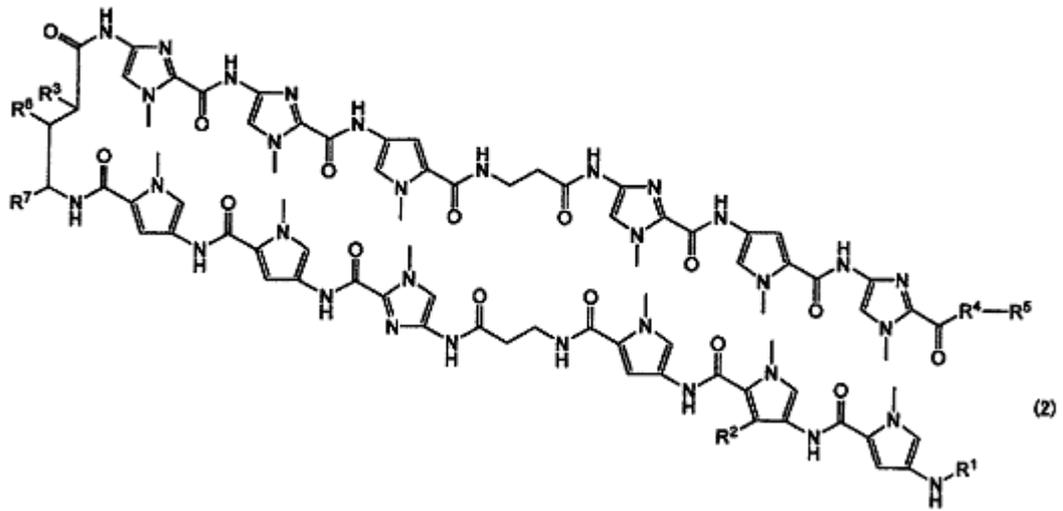
- (a) Im/Py, o Im/ $\beta$ , que corresponde al par G/C del ADN bicatenario diana,
- (b) Py/Im, o  $\beta$ /Im, que corresponde al par C/G del ADN bicatenario diana,
- (c) Py/Py, Py/Hp, Py/ $\beta$ ,  $\beta$ /Py, o  $\beta$ / $\beta$  que corresponde al par A/T del ADN bicatenario diana, y
- (d) Py/Py, H $\beta$ /Py, Py/ $\beta$ ,  $\beta$ /Py, o  $\beta$ / $\beta$ , que corresponde al par T/A del ADN bicatenario diana,

(en el que Im es N-metilimidazol, Py es N-metilpirrol, Hp es 3-hidroxi-N-metilpirrol, y  $\beta$  es  $\beta$ -alanina; y Im/ $\beta$  que corresponde al par G/C y  $\beta$ /Im que corresponde al par C/G solo se puede usar en el caso de un Im $\cdot\beta$ /Im $\cdot\beta$  sucesivo que corresponde a un par G $\cdot$ C/G $\cdot$ C sucesivo o un  $\beta$  $\cdot$ Im/ $\beta$  $\cdot$ Im que corresponde a un par C $\cdot$ G/C $\cdot$ G sucesivo; y el átomo de hidrógeno del resto Im, el resto Py, el resto Hp, o resto  $\beta$  puede estar sustituido con un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo amino, un grupo hidroxilo, un grupo carboxilo, o  $-NH_3$ ),

(3) un extremo del compuesto de poliamida que corresponde al extremo 5' terminal del otro extremo del ADN bicatenario diana es un grupo amino de resto Im, un grupo amino de resto Py, un grupo amino de resto Hp, un grupo amino de  $\beta$ -alanina, un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo hidroxilo, un grupo carboxilo, o un grupo acilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono; un extremo del compuesto de poliamida que corresponde al extremo 3' terminal del otro extremo del ADN bicatenario diana es un grupo carboxilo de resto Im, un grupo carboxilo de resto Py, un grupo carboxilo de resto Hp, un grupo carboxilo de  $\beta$ -alanina, un resto de N,N-dimetilaminopropilo, o un resto de  $\beta$ -alanina  $\cdot$  N,N-dimetilaminopropilo,

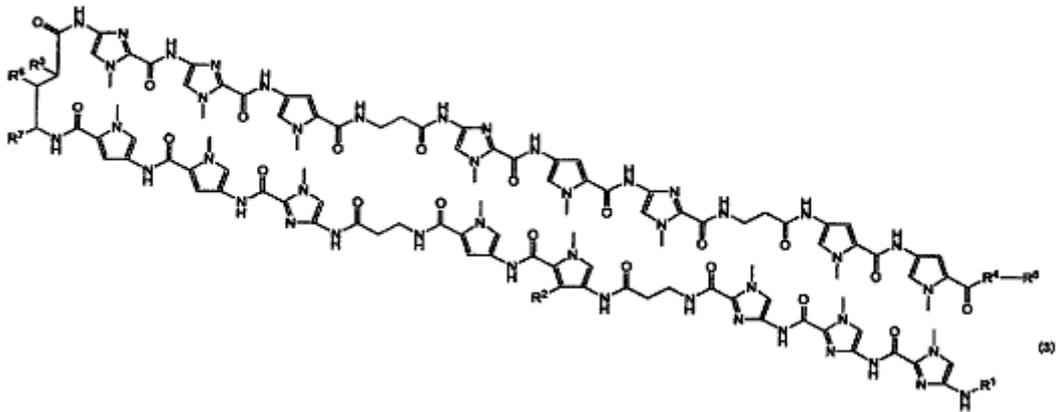
[2] el compuesto de poliamida de la sección [1], de la fórmula seleccionada entre el grupo que consiste en la Fórmula (2):

[Quím. 2]



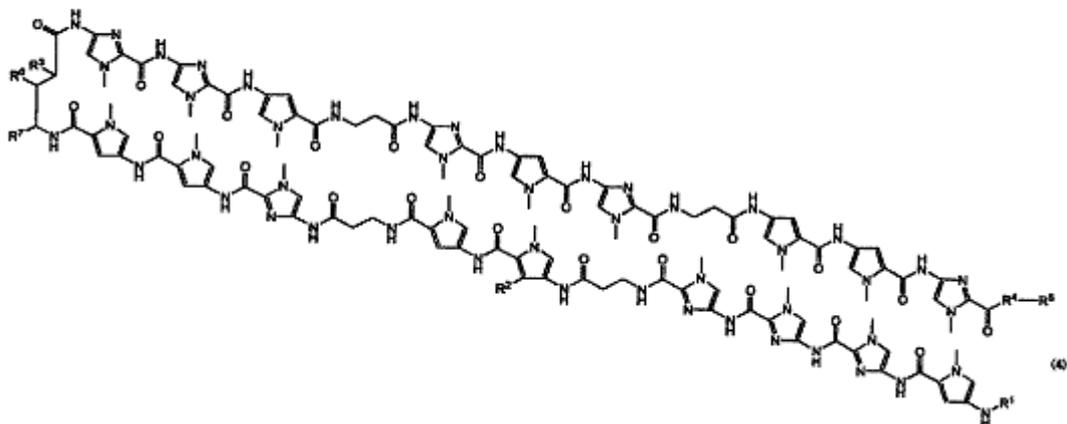
Fórmula (3):

[Quím. 3]



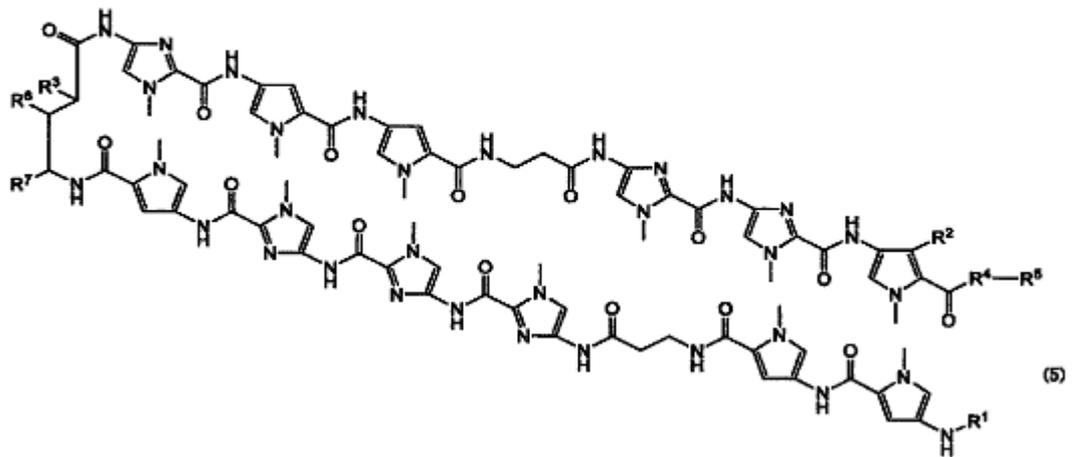
Fórmula (4):

[Quím. 4]



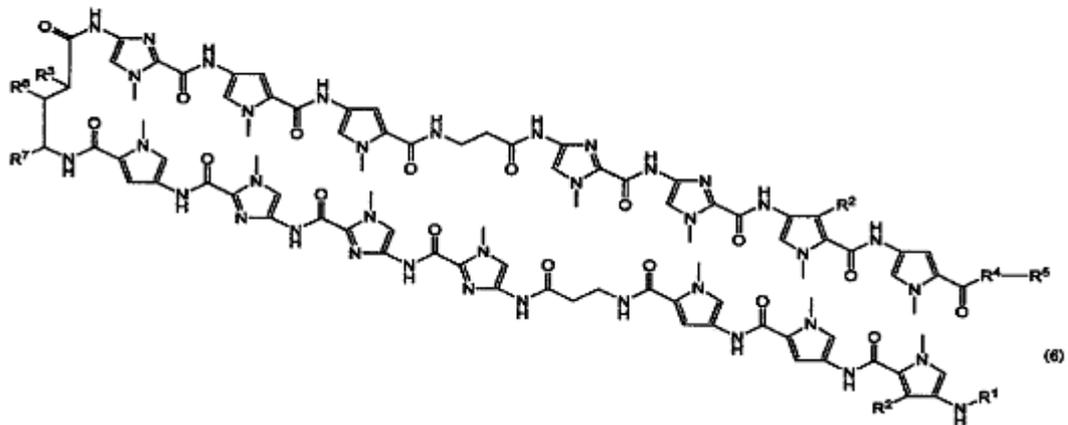
Fórmula (5):

[Quim. 5]



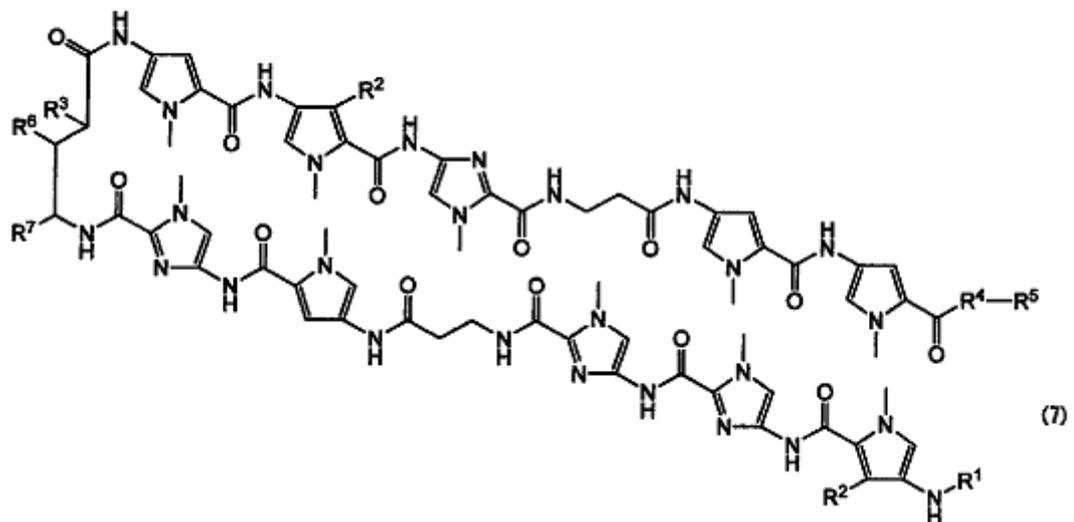
Fórmula (6):

[Quim. 6]



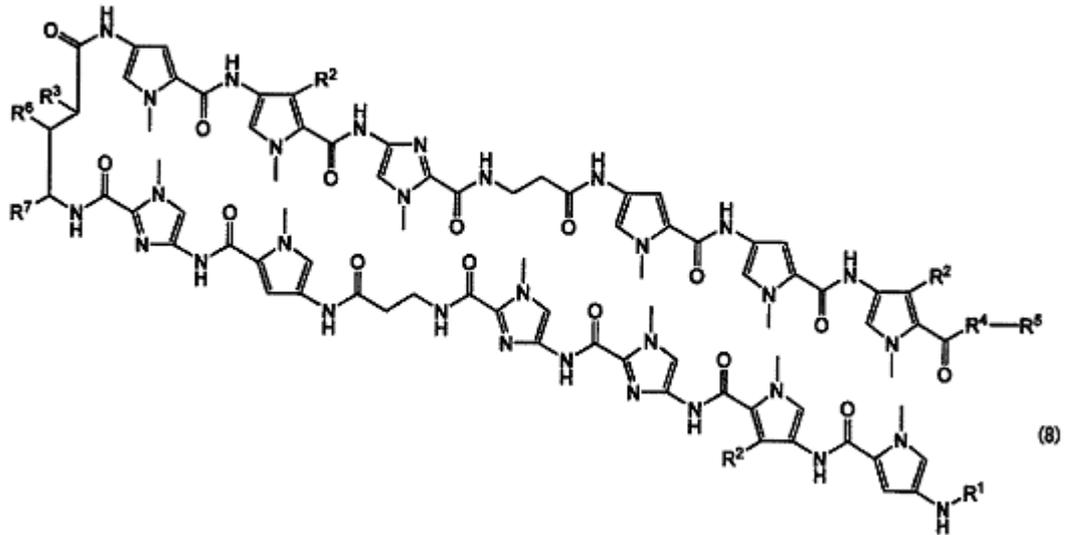
Fórmula (7):

[Quim. 7]



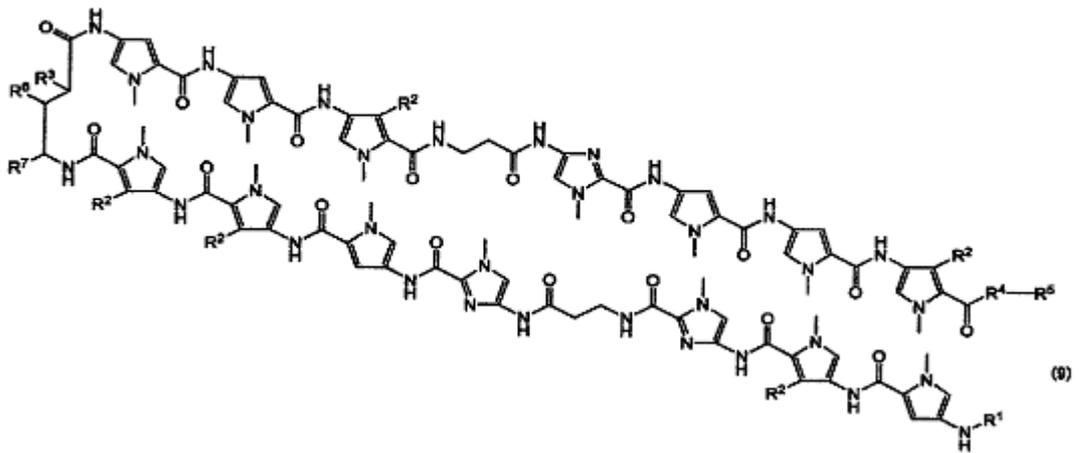
Fórmula (8):

[Quím. 8]



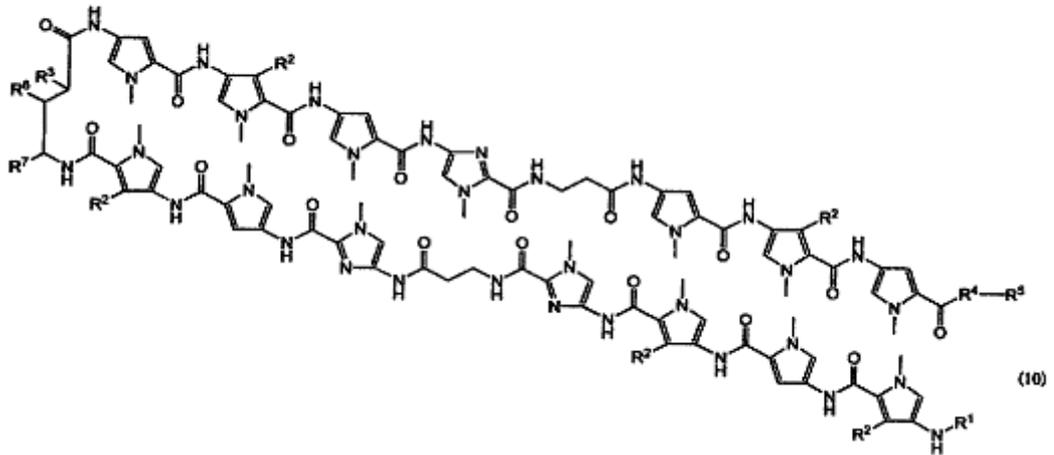
Fórmula (9):

[Quím. 9]



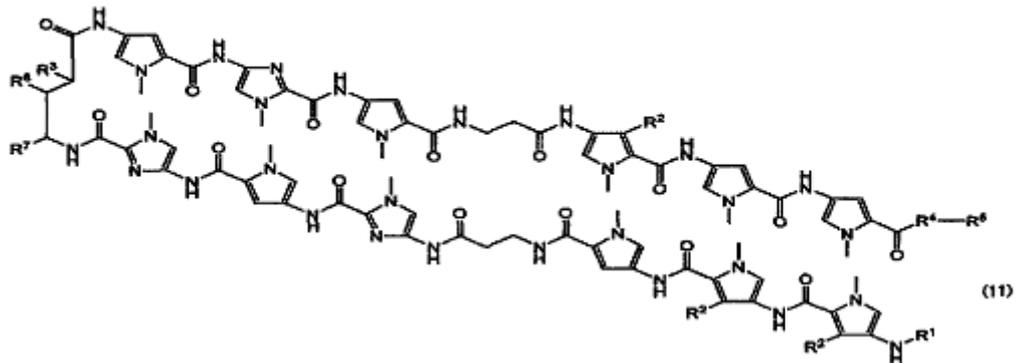
Fórmula (10):

[Quim. 10]



y  
Fórmula (11):

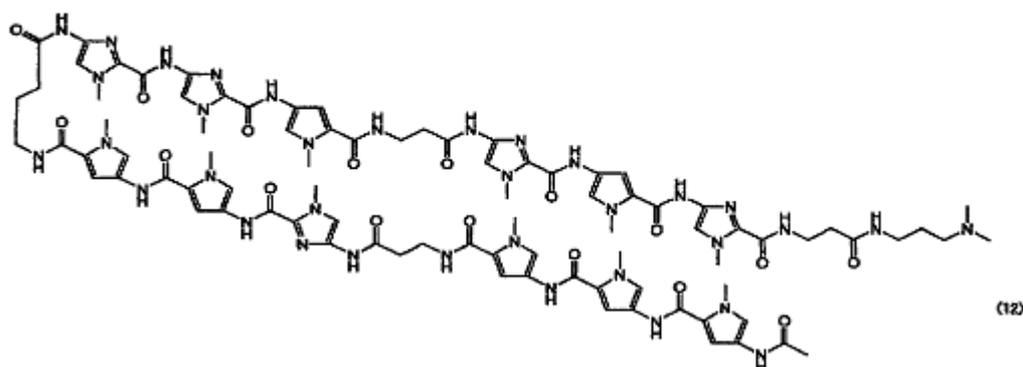
[Quim. 11]



- 5 [en las que, R<sup>1</sup> es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo hidroxilo, un grupo amino, un grupo carboxilo, o un grupo acilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, R<sup>2</sup> es independientemente un átomo de hidrógeno, o un grupo hidroxilo, R<sup>3</sup>, R<sup>6</sup>, y R<sup>7</sup> son independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo amino, o -NH<sub>3</sub>, R<sup>4</sup> es un enlace sencillo, o resto de β-alanina,
- 10 R<sup>5</sup> es un grupo hidroxilo, o resto de N,N-dimetilaminopropilo; y el átomo de hidrógeno del resto Im, el resto Py, el resto Hp, el resto β, el resto de ácido γ-aminobutírico, o resto de ácido (R) 2,4-diaminobutírico puede estar sustituido con un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo amino, un grupo hidroxilo, o un grupo carboxilo],

[3] el compuesto de poliamida de la sección [2], de Fórmula (12):

## [Quim. 12]



[4] un agente para estimular la replicación del ADN mitocondrial de tipo silvestre caracterizado porque comprende el compuesto de poliamida de las secciones [1] a [3], o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como un principio activo,

5 [5] una composición farmacéutica caracterizada porque comprende el compuesto de poliamida de las secciones [1] a [3], o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como un principio activo,

[6] una composición farmacéutica para tratar o prevenir neuropatía óptica bilateral esporádica con una mutación A3236G, caracterizada porque comprende el compuesto de poliamida de la sección [1] o [2], que tiene un resto que corresponde a un par A/T que consiste en la primera A del ADN de cadena codificante 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1) y la T correspondiente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como un principio activo,

10 [7] una composición farmacéutica para tratar o prevenir miopatía mitocondrial, encefalopatía, acidosis láctica, episodios similares a la apoplejía; diabetes e hipoacusia; miopatía mitocondrial; síndrome de Leigh; sordera sensorial; oftalmoplejía externa progresiva crónica; diabetes con hipoacusia de origen materno; o glomerulosclerosis segmentaria focal, con una mutación A3243G, caracterizada porque comprende el compuesto de poliamida de las secciones [1] a [3], que tiene un resto que corresponde a un par A/T que consiste en la 8ª A del ADN de cadena codificante 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1) y la T correspondiente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como un principio activo,

15 [8] una composición farmacéutica para tratar o prevenir miopatía mitocondrial, encefalopatía, acidosis láctica, episodios similares a la apoplejía; miopatía mitocondrial; sordera sensorial; o oftalmoplejía externa progresiva crónica, con una mutación A3243T, caracterizada porque comprende el compuesto de poliamida de las secciones [1] a [3], que tiene un resto que corresponde a un par A/T que consiste en la 8ª A del ADN de cadena codificante 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1) y la T correspondiente, y el resto que corresponde a T of the par A/T es resto Hp, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como un principio activo,

20 [9] Una composición farmacéutica para tratar o prevenir miopatía mitocondrial, encefalopatía, acidosis láctica, episodios similares a la apoplejía con una mutación G3244A, caracterizada porque comprende el compuesto de poliamida de las secciones [1] a [3], que tiene un resto que corresponde a un par G/C que consiste en la 9ª G del ADN de cadena codificante 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1) y la C correspondiente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como un principio activo,

25 [10] una composición farmacéutica para tratar o prevenir síndrome de Kearns-Sayre con una mutación G3249A, caracterizada porque comprende el compuesto de poliamida de la sección [1] o [2], que tiene un resto que corresponde a un par G/C que consiste en la 14ª G del ADN de cadena codificante 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1) y la C correspondiente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como un principio activo,

30 [11] una composición farmacéutica para tratar o prevenir miopatía mitocondrial, o oftalmoplejía externa progresiva crónica con una mutación T3250C, caracterizada porque comprende el compuesto de poliamida de la sección [1] o [2], que tiene un resto que corresponde a un par T/A que consiste en la 15ª T del ADN de cadena codificante 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1) y la A correspondiente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como un principio activo,

35 [12] una composición farmacéutica para tratar o prevenir miopatía mitocondrial con una mutación A3251G, caracterizada porque comprende el compuesto de poliamida de la sección [1] o [2], que tiene un resto que corresponde a un par A/T que consiste en la 16ª A del ADN de cadena codificante 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1) y la T correspondiente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como un principio activo,

40 [13] una composición farmacéutica para tratar o prevenir miopatía mitocondrial, encefalopatía, acidosis láctica, episodios similares a la apoplejía con una mutación A3252G, caracterizada porque comprende el compuesto de poliamida de la sección [1] o [2], que tiene un resto que corresponde a un par A/T que consiste en la 17ª A del ADN de cadena codificante 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1) y la T correspondiente,

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como un principio activo,

[14] una composición farmacéutica para tratar o prevenir diabetes en el embarazo con una mutación C3254A, o miopatía mitocondrial con una mutación C3254G, caracterizada porque comprende el compuesto de poliamida de la sección [1] o [2], que tiene un resto que corresponde a un par C/G que consiste en la 19ª C del ADN de cadena codificante 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1) y la G correspondiente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como un principio activo,

[15] una composición farmacéutica para tratar o prevenir síndrome de solapamiento de MERRF/KSS con una mutación G3255A, caracterizada porque comprende el compuesto de poliamida de la sección [1] o [2], que tiene un resto que corresponde a un par G/C que consiste en la 20ª G del ADN de cadena codificante 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1) y la C correspondiente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como un principio activo,

[16] una composición farmacéutica para tratar o prevenir miopatía mitocondrial, encefalopatía, acidosis láctica, episodios similares a la apoplejía/epilepsia mioclónica con fibras de color rojo rasgadas con una mutación C3256T, caracterizada porque comprende el compuesto de poliamida de la sección [1] o [2], que tiene un resto que corresponde a un par C/G que consiste en la 21ª C del ADN de cadena codificante 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1) y la G correspondiente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como un principio activo,

[17] una composición farmacéutica para tratar o prevenir miopatía mitocondrial, encefalopatía, acidosis láctica, episodios similares a la apoplejía/miopatía con una mutación T3258C, caracterizada porque comprende el compuesto de poliamida de la sección [1] o [2], que tiene un resto que corresponde a un par T/A que consiste en la 23ª T del ADN de cadena codificante 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1) y la A correspondiente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como un principio activo,

[18] una composición farmacéutica para tratar o prevenir miopatía de origen materno del adulto y miopatía cardíaca con una mutación A3260G, caracterizada porque comprende el compuesto de poliamida de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, que tiene un resto que corresponde a un par A/T que consiste en la 25ª A del ADN de cadena codificante 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1) y la T correspondiente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como un principio activo.

### **Efectos ventajosos de la invención**

De acuerdo con el compuesto de poliamida de la presente invención, la replicación del ADNmt de tipo silvestre se puede estimular de forma selectiva, y además, se puede preparar la composición farmacéutica para tratar enfermedades genéticas mitocondriales. Además, de acuerdo con la composición farmacéutica de la presente invención, la enfermedad genética mitocondrial fue causada por al menos una mutación seleccionada entre el grupo que consiste en la mutación A3236G, la mutación A3243G, la mutación A3243T, la mutación G3244A, la mutación G3249A, la mutación T3250C, la mutación A3251G, la mutación A3252G, la mutación C3254A, la mutación C3254G, la mutación G3255A, la mutación C3256T, la mutación T3258C, y la mutación A3260G.

En el tratamiento que usa el PNA mediante la inhibición de la replicación del ADNmt mutante, es necesario preparar un PNA contra una mutación. Sin embargo, en el tratamiento que usa la composición farmacéutica que comprende el compuesto de poliamida de la presente invención, se tiene como diana el ADNmt de tipo silvestre. Por lo tanto, una enfermedad genética mitocondrial causada por múltiples mutaciones del ADNmt se puede tratar usando un compuesto de poliamida. Además, en el tratamiento que usa el PNA mediante la inhibición de la replicación del ADNmt mutante, el objeto del tratamiento es disminuir el ADNmt mutante, y por lo tanto el ADNmt de tipo silvestre no puede aumentar directamente. Por lo tanto, una producción de energía que disminuye con la enfermedad genética mitocondrial no se puede recuperar en células. Sin embargo, en el tratamiento de la composición farmacéutica de la presente invención, el ADNmt de tipo silvestre puede aumentar, y por lo tanto una causa de la enfermedad genética mitocondrial se puede mejorar fundamentalmente.

### **Breve descripción de las figuras**

La FIG. 1 es una vista que muestra mutaciones puntuales que causan enfermedad en un gen de ARNt<sup>Leu(UUR)</sup> mitocondrial.

La FIG. 2 es una lista esquemática que muestra una secuencia de ADN bicatenario de tipo silvestre al que se une el compuesto de poliamida de la presente invención, y los compuestos de poliamida de la realización a1, realización a2, realización a3, realización b1, realización b2, realización c1, realización c2, realización c3, realización d1, realización e1, y realización f1. El punto (·) en la vista significa una base en la que se pueden presentar mutaciones en la enfermedad genética mitocondrial.

La FIG. 3 es una fotografía que muestra un análisis EMSA de unión específica de secuencia de bases de poliamida ML1 a una secuencia diana. En una secuencia del ADNmt de tipo silvestre, una banda de ADNds se desplazó de forma significativa. Por otro lado, en el ADNds con la mutación A3243G que tiene una mutación puntual, no hay un desplazamiento significativo en una banda del mismo. Estos resultados indican que la poliamida ML1 se une al ADNmt de tipo silvestre, de forma específica secuencia de nucleótidos, *in vitro*.

La FIG. 4 es un gráfico que muestra que la cantidad del ADN de tipo silvestre de células híbridas (14 días más tarde) después de PCR-RFLP, se analizó usando un dispositivo para determinación cuantitativa mediante electroforesis (media ± E.T.M. n = 3). En las células vivas, el aumento de los niveles de ADNmt de tipo silvestre oro poliamida ML1 se observaron en las concentraciones 1 µM y 5 µM de poliamida ML1.

La FIG. 5 es una fotografía que muestra un aumento del nivel de ADNmt de tipo silvestre en células híbridas tratadas con poliamida ML1 durante 15 días. Un aumento significativo del nivel de ADNmt de tipo silvestre se observó en células híbridas tratadas con 500 nM de poliamida ML1.

La FIG. 6 es una fotografía que muestra una composición de ADNmt en las células 2SD híbridas tratadas con poliamida ML1 durante 35 días. En las células de control, hay muy poco ADNmt de tipo silvestre. Sin embargo, en las células 2SD híbridas, se puede confirmar una banda amplificada mediante un aumento continuo del nivel de ADNmt de tipo silvestre.

La FIG. 7 es una fotografía que muestra morfologías de células 143B tratadas con 1 µM de poliamida ML1 (4A), células 143B tratadas con 500 nM o 100 nM de poliamida ML1 (4B), y células HeLa tratadas con 1 µM de poliamida ML1 (4C), durante 30 horas en DMEM (sin piruvato de sodio y uridina) en las que las células con defecto de la cadena respiratoria no pueden vivir.

### Descripción de realizaciones

#### [1] Compuesto de poliamida

El compuesto de poliamida de la presente invención comprende al menos un par de nucleótidos seleccionados entre el grupo que consiste en un par A/T que consiste en la primera A del siguiente ADN de cadena codificante y la T correspondiente, un par A/T que consiste en la 8ª A del siguiente ADN de cadena codificante y la T correspondiente, un par G/C que consiste en la 9ª G del siguiente ADN de cadena codificante y la C correspondiente, un par G/C que consiste en la 14ª G del ADN de cadena codificante y la C correspondiente, un par T/A que consiste en la 15ª T del siguiente ADN de cadena codificante y la A correspondiente, un par A/T que consiste en la 16ª A del siguiente ADN de cadena codificante y la T correspondiente, un par A/T que consiste en la 17ª A del siguiente ADN de cadena codificante y la T correspondiente, un par C/G que consiste en la 19ª C del siguiente ADN de cadena codificante y la G correspondiente, un par G/C que consiste en la 20ª G del siguiente ADN de cadena codificante y la C correspondiente, un par C/G que consiste en la 21ª C del siguiente ADN de cadena codificante y la G correspondiente, un par T/A que consiste en la 23ª T del siguiente ADN de cadena codificante y la A correspondiente, un par A/T que consiste en la 25ª A del siguiente ADN de cadena codificante y la T correspondiente, en el ADN bicatenario de la siguiente fórmula(1):

#### [Quím. 13]



que consiste en el ADN de cadena codificante que tiene una secuencia de bases 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1) y el ADN de cadena no codificante que tiene una secuencia de bases 5'-TTATGCGATTACCGGGCTCTGCCAT-3' (SEQ ID NO: 2); y al menos un extremo del ADN bicatenario diana es un par A/T o un par T/A. Además, el compuesto de poliamida de la presente invención se une al ADN bicatenario diana.

(ADN bicatenario)

El ADN bicatenario de la fórmula (1) que se ha mencionado anteriormente corresponde a la secuencia de bases de 3236 a 3260 en el ADN mitocondrial, y está presente en el gen del ARNt<sup>Leu(UUR)</sup> mitocondrial. En la presente memoria descriptiva, un ADN monocatenario de 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1) en ADN bicatenario se refiere a un ADN de cadena codificante, y un ADN monocatenario de 5'-TTATGCGATTACCGGGCTCTGCCAT-3' (SEQ ID NO: 2) en ADN bicatenario se refiere a un ADN de cadena no codificante.

Las mutaciones de la enfermedad genética mitocondrial se producen en la región del ADN bicatenario que se ha mencionado anteriormente. Dado que la mutación causa una enfermedad genética mitocondrial, se puede mencionar una mutación puntual de adenina (A) a guanina (G) en la secuencia de la base 3236 en el ADN mitocondrial, es decir la mutación A3236G, una mutación puntual de adenina (A) a guanina (G) en la secuencia de la base 3243 en el ADN mitocondrial, es decir la mutación A3243G, una mutación puntual de adenina (A) a timina (T) en la secuencia de la base 3243 en el ADN mitocondrial, es decir la mutación A3243T, una mutación puntual de guanina (G) a adenina (A) en la secuencia de la base 3244 en el ADN mitocondrial, es decir la mutación G3244A, una mutación puntual de guanina (G) a adenina (A) en la secuencia de la base 3249 en el ADN mitocondrial, es decir la mutación G3249A, una mutación puntual de timina (T) a citosina (C) en la secuencia de la base 3250 en el ADN mitocondrial, es decir la mutación T3250C, una mutación puntual de adenina (A) a guanina (G) en la secuencia de la base 3251 en el ADN mitocondrial, es decir la mutación A3251G, una mutación puntual de adenina (A) a guanina (G) en la secuencia de la base 3252 en el ADN mitocondrial, es decir la mutación A3252G, una mutación puntual de citosina (C) a adenina (A) en la secuencia de la base 3254 en el ADN mitocondrial, es decir la mutación C3254A, una mutación puntual de citosina (C) a guanina (G) en la secuencia de la base 3254 en el ADN mitocondrial, es decir la mutación C3254G, una mutación puntual de guanina (G) a adenina (A) en la secuencia de la base 3255 en el ADN

mitocondrial, es decir la mutación G3255A, una mutación puntual de citosina (C) a timina (T) en la secuencia de la base 3256 en el ADN mitocondrial, es decir la mutación C3256T, una mutación puntual de timina (T) a citosina (C) en la secuencia de la base 3258 en el ADN mitocondrial, es decir la mutación T3258C, una mutación puntual de adenina (A) a guanina (G) en la secuencia de la base 3260 en el ADN mitocondrial, es decir la mutación A3260G.

5 (ADN bicatenario diana)

En el ADN bicatenario que se ha mencionado anteriormente, está incluido el ADN bicatenario diana en el que el compuesto de poliamida de la presente invención se une. El ADN bicatenario diana contiene al menos un par de nucleótidos de ADNmt de tipo silvestre que corresponden a la mutación A3236G, la mutación A3243G, la mutación A3243T, la mutación G3244A, la mutación G3249A, la mutación T3250C, la mutación A3251G, la mutación A3252G, la mutación C3254A, la mutación C3254G, la mutación G3255A, la mutación C3256T, la mutación T3258C, o la mutación A3260G. De forma específica, el ADN bicatenario diana contiene al menos un par de nucleótidos seleccionados entre el grupo que consiste en un par A/T que consiste en la primera A del ADN de cadena codificante y la T correspondiente, un par A/T que consiste en la 8ª A del ADN de cadena codificante y la T correspondiente, un par G/C que consiste en la 9ª G del ADN de cadena codificante y la C correspondiente, un par G/C que consiste en la 14ª G del ADN de cadena codificante y la C correspondiente, un par T/A que consiste en la 15ª T del ADN de cadena codificante y la A correspondiente, un par A/T que consiste en la 16ª A del ADN de cadena codificante y la T correspondiente, un par A/T que consiste en la 17ª A del ADN de cadena codificante y la T correspondiente, un par C/G que consiste en la 19ª C del ADN de cadena codificante y la G correspondiente, un par G/C que consiste en la 20ª G del ADN de cadena codificante y la C correspondiente, un par C/G que consiste en la 21ª C del ADN de cadena codificante y la G correspondiente, un par T/A que consiste en la 23ª T del ADN de cadena codificante y la A correspondiente, un par A/T que consiste en la 25ª A del ADN de cadena codificante y la T correspondiente. El compuesto de poliamida de la presente invención se puede unir preferentemente al ADNmt de tipo silvestre, pero no se puede unir al ADNmt mutante o casi no se puede unir al ADNmt mutante.

El ADN bicatenario diana contiene un par T/A o A/T en un extremo del mismo. El par T/A o A/T corresponde a una estructura de vuelta del compuesto de poliamida. Por otro lado, un par de nucleótidos del otro extremo del ADN bicatenario diana no tiene limitación en particular, y puede ser un par T/A, un par A/T, un par G/C, o un par C/G.

Como un par T/A o par A/T en uno de los extremos, se puede mencionar un par A/T que consiste en la primera A de ADN de cadena codificante en el ADN bicatenario de la siguiente fórmula (1):

[Quím. 14]



30 y la T correspondiente. El ADN bicatenario diana que contiene el par A/T que se ha mencionado anteriormente tiene una longitud de 8 pb a 16 pb.

Como otro par T/A o par A/T en el otro extremo, se puede mencionar un par T/A que consiste en la segunda T del ADN de cadena codificante en el ADN bicatenario de la fórmula (1) que se ha mencionado anteriormente y la A correspondiente. El ADN bicatenario diana que contiene el par T/A que se ha mencionado anteriormente tiene una longitud de 7 pb a 16 pb. Por ejemplo, el ADN bicatenario diana incluye uno que tiene una longitud de 8 pb de la siguiente fórmula (13):

[Quím. 15]



uno que tiene una longitud de 11 pb de la siguiente fórmula (14):

[Quím. 16]



o uno que tiene una longitud de 12 pb de la siguiente fórmula (15):

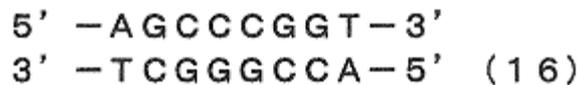
**[Quím. 17]**



5 Como otro par T/A o par A/T en el otro extremo, se puede mencionar un par A/T que consiste en la sexta A del ADN de cadena codificante en el ADN bicatenario de la fórmula (1) que se ha mencionado anteriormente y la T correspondiente. El ADN bicatenario diana que contiene el par A/T que se ha mencionado anteriormente tiene una longitud de 3 pb a 16 pb.

10 Como otro par T/A o par A/T en el otro extremo, se puede mencionar un par A/T que consiste en la octava A del ADN de cadena codificante en el ADN bicatenario de la fórmula (1) que se ha mencionado anteriormente y la T correspondiente. El ADN bicatenario diana que contiene el par A/T que se ha mencionado anteriormente tiene una longitud de 3 pb a 16 pb. Por ejemplo, el ADN bicatenario diana incluye uno que tiene una longitud de 8 pb de la siguiente fórmula (16):

**[Quím. 18]**



o, uno que tiene una longitud de 9 pb de la siguiente fórmula (17):

**[Quím. 19]**



15 Como otro par T/A o par A/T en el otro extremo, se puede mencionar un par T/A que consiste en la décima T del ADN de cadena no codificante en el ADN bicatenario de la fórmula (1) que se ha mencionado anteriormente y la A correspondiente. El ADN bicatenario diana que contiene el par T/A que se ha mencionado anteriormente tiene una longitud de 3 pb a 16 pb.

20 Como otro par T/A o par A/T en el otro extremo, se puede mencionar un par A/T que consiste en la decimoprimer A del ADN de cadena no codificante en el ADN bicatenario de la fórmula (1) que se ha mencionado anteriormente y la T correspondiente. El ADN bicatenario diana que contiene el par A/T que se ha mencionado anteriormente tiene una longitud de 3 pb a 15 pb.

25 Como otro par T/A o par A/T en el otro extremo, se puede mencionar un par T/A que consiste en la decimoctava T del ADN de cadena no codificante en el ADN bicatenario de la fórmula (1) que se ha mencionado anteriormente y la A correspondiente. El ADN bicatenario diana que contiene el par T/A que se ha mencionado anteriormente tiene una longitud de 3 pb a 8 pb. Por ejemplo, el ADN bicatenario diana incluye uno que tiene una longitud de 7 pb de la siguiente fórmula (18):

**[Quím. 20]**



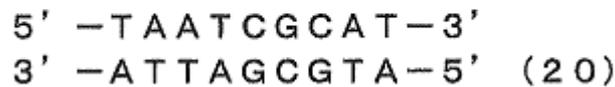
o, uno que tiene una longitud de 8 pb de la siguiente fórmula (19):

**[Quím. 21]**



5 Como otro par T/A o par A/T en el otro extremo, se puede mencionar un par T/A que consiste en la decimoquinta T del ADN de cadena codificante en el ADN bicatenario de la fórmula (1) que se ha mencionado anteriormente y la A correspondiente. El ADN bicatenario diana que contiene el par T/A que se ha mencionado anteriormente tiene una longitud de 3 pb a 12 pb. Por ejemplo, el ADN bicatenario diana incluye uno que tiene una longitud de 9 pb de la siguiente fórmula (20):

**[Quím. 22]**



10 Como otro par T/A o par A/T en el otro extremo, se puede mencionar un par A/T que consiste en la decimosexta A del ADN de cadena codificante en el ADN bicatenario de la fórmula (1) que se ha mencionado anteriormente y la T correspondiente. El ADN bicatenario diana que contiene el par A/T que se ha mencionado anteriormente tiene una longitud de 3 pb a 110 pb. Por ejemplo, el ADN bicatenario diana incluye uno que tiene una longitud de 8 pb de la siguiente fórmula (21):

**[Quím. 23]**



15 Como otro par T/A o par A/T en el otro extremo, se puede mencionar un par A/T que consiste en la decimoséptima A del ADN de cadena codificante en el ADN bicatenario de la fórmula (1) que se ha mencionado anteriormente y la T correspondiente. El ADN bicatenario diana que contiene el par A/T que se ha mencionado anteriormente tiene una longitud de 3 pb a 10 pb.

20 Como otro par T/A o par A/T en el otro extremo, se puede mencionar un par T/A que consiste en la decimoctava T del ADN de cadena codificante en el ADN bicatenario de la fórmula (1) que se ha mencionado anteriormente y la A correspondiente. El ADN bicatenario diana que contiene el par T/A que se ha mencionado anteriormente tiene una longitud de 3 pb a 8 pb. Por ejemplo, el ADN bicatenario diana incluye uno que tiene una longitud de 8 pb de la siguiente fórmula (22):

**[Quím. 24]**



25 Como otro par T/A o par A/T en el otro extremo, se puede mencionar un par T/A que consiste en la primera T del ADN de cadena no codificante y la A correspondiente, un par T/A que consiste en la segunda T del ADN de cadena no codificante y la A correspondiente, un par A/T que consiste en la tercera A del ADN de cadena no codificante y la T correspondiente, un par T/A que consiste en la cuarta T del ADN de cadena no codificante y la A correspondiente, un par A/T que consiste en la octava A del ADN de cadena no codificante y la T correspondiente y un par T/A que consiste en la novena T del ADN de cadena no codificante y la A correspondiente en el ADN bicatenario de la fórmula (1) que se ha mencionado anteriormente. El ADN bicatenario diana que contiene el par T/A por el par A/T que se han mencionado anteriormente tiene una longitud de 3 pb a 16 pb.

35 Una longitud del ADN bicatenario diana no tiene ninguna limitación en particular, pero el límite inferior de la longitud es preferentemente 3 pb o superior, más preferentemente 5 pb o superior, lo más preferentemente 7 pb o superior. Cuando la longitud del ADN bicatenario diana es inferior a 3 pb, la replicación del ADNmt de tipo silvestre no se puede mejorar, debido a una débil unión del compuesto de poliamida de la presente invención. El límite superior de

la longitud es preferentemente 16 pb o inferior, más preferentemente 14 pb o inferior, lo más preferentemente 12 pb hoy inferior. Cuando la longitud del ADN bicatenario diana es superior a 16 pb, se puede carecer de una flexibilidad del compuesto de poliamida. Por lo tanto, la unión del compuesto de poliamida a un surco menor del ADN en su forma B puede llegar a ser escasa.

5 (Región de unión del compuesto de poliamida al ADN bicatenario diana)

La región de unión del compuesto de poliamida al ADN bicatenario diana está formada por un resto de aminoácido aromático, el resto de ácido  $\gamma$ -aminobutírico, el resto de ácido (R) 2,4-diaminobutírico, o resto de ácido 5-aminovalérico. La región de unión del compuesto de poliamida se puede unir al ADN bicatenario diana.

10 El resto de N-metilpirrol (en lo sucesivo en el presente documento en ocasiones denominado resto Py) usado en el compuesto de poliamida se puede unir de forma selectiva a timina (T), adenina (A), y citosina (C). Además, el resto de N-metilimidazol (en lo sucesivo en el presente documento en ocasiones denominado resto Im) se puede unir de forma selectiva a guanina (G). El resto de 3-hidroxi-N-metilpirrol (en lo sucesivo en el presente documento en ocasiones denominado an resto Hp) se puede unir a timina (T). Además, el resto de  $\beta$ -alanina (en lo sucesivo en el presente documento en ocasiones denominado resto  $\beta$ ) se puede unir a timina (T), adenina (A), y citosina (C). El resto  $\beta$  tiene flexibilidad, y por lo tanto una estructura de orientación del compuesto de poliamida se puede ajustar a una curvatura del ADN en su forma B.

20 Cuando el número de restos del compuesto de poliamida es 5 o inferior, el límite del compuesto de poliamida casi se ajusta al de la hélice del la forma B del ADN. Por lo tanto, el compuesto de poliamida se puede unir al sur con menor de la forma B del ADN. Sin embargo, cuando el número de restos del compuesto de poliamida es superior a 5, en ocasiones parece difícil unirse a la forma B del ADN. En este caso, la estructura de orientación del compuesto de poliamida se puede ajustar a la curvatura de la forma B del ADN insertando el resto  $\beta$  flexible en el compuesto de poliamida.

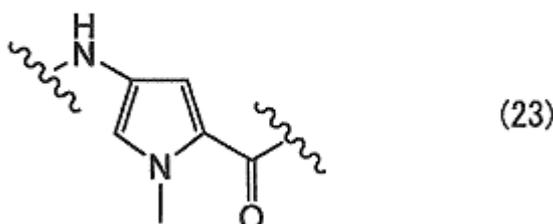
25 Por lo tanto, un Im/Py o Im/ $\beta$  corresponde al par G/C del ADN bicatenario diana. Además, Py/Im, o  $\beta$ /Im corresponde al par C/G del ADN bicatenario diana. Sin embargo, Im/ $\beta$  que corresponde a un par G/C y  $\beta$ /Im que corresponde a un par C/G solamente se puede usar en el caso de un Im· $\beta$ /Im· $\beta$  sucesivo que corresponde a un par G·C/G·C sucesivo o un par Im· $\beta$ /Im· $\beta$  excesivo que corresponde a un par C·G/C·G lesivo, es decir, cuando la guanina (G) y la citosina (C) se secuencian en el ADN bicatenario diana, dos restos  $\beta$  se pueden usar de forma simultánea, como restos de aminoácido aromático que corresponden a dos citosinas (C) situadas en una posición cruzada. Esto permite dar exhibida al compuesto de poliamida. Por lo tanto, no es preferente que un resto  $\beta$  se use como un resto de aminoácido aromático que corresponde a una citosina (C) en un par a GC/GC o un par CG/CG, y un resto Py se usa como un resto de aminoácido aromático que corresponde a la otra citosina (C) en un par a GC/GC o un par CG/CG. Además, no es preferente que uno o dos resto(s)  $\beta$  se usen como resto(s) de aminoácido aromático que corresponde a una o dos citosina(s) en un par GG/CC o un par CC/GG.

35 Un par Py/Py, Py/Hp, Py/ $\beta$ ,  $\beta$ /Py, o  $\beta$ / $\beta$  corresponde al par A/T del ADN bicatenario diana. Además, el resto de ácido  $\gamma$ -aminobutírico, el resto de ácido (R) 2,4-diaminobutírico, o resto de ácido 5-aminovalérico puede corresponder al par A/T de un extremo del ADN bicatenario diana. Sin embargo, cuando se usa el resto de ácido  $\gamma$ -aminobutírico, resto de ácido (R) 2,4-diaminobutírico, o resto de ácido 5-aminovalérico que corresponde a un par A/T de un extremo del ADN bicatenario diana, el resto de ácido  $\gamma$ -aminobutírico, el resto de ácido (R) 2,4-diaminobutírico, o resto de ácido 5-aminovalérico no se puede usar para corresponder al par A/T o al par T/A del otro extremo del mismo.

40 Un par Py/Py, Hp/Py, Py/ $\beta$ ,  $\beta$ /Py,  $\beta$ / $\beta$  corresponde al par T/A del ADN bicatenario diana. Además, el resto de ácido  $\gamma$ -aminobutírico, el resto de ácido (R) 2,4-diaminobutírico, o resto de ácido 5-aminovalérico puede corresponder al par T/A de un extremo del ADN bicatenario diana. Sin embargo, cuando se usa el resto de ácido  $\gamma$ -aminobutírico, resto de ácido (R) 2,4-diaminobutírico, o resto de ácido 5-aminovalérico que corresponde al par T/A de un extremo del ADN bicatenario diana, el resto de ácido  $\gamma$ -aminobutírico, el resto de ácido (R) 2,4-diaminobutírico, o resto de ácido 5-aminovalérico no se puede usar para corresponder a un par A/T o T/A del otro extremo del mismo.

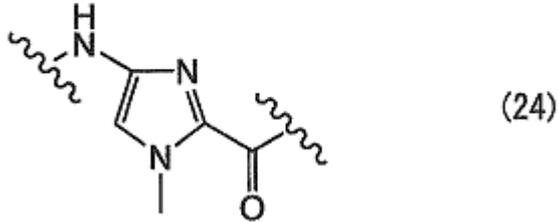
45 El término "resto de N-metilpirrol" como se usa en el presente documento significa un resto de fórmula (23):

[Quim. 25]



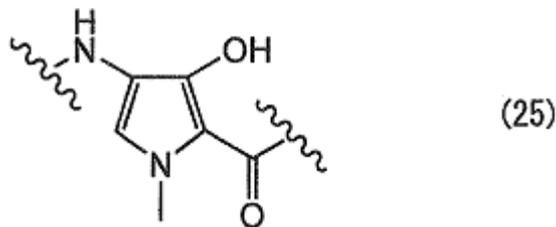
El término "resto de N-metilimidazol" como se usa en el presente documento significa un resto de fórmula (24):

[Quím. 26]



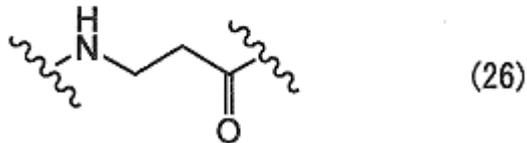
El término "resto de 3-hidroxi-N-metilpirrol" como se usa en el presente documento significa un resto de fórmula (25):

[Quím. 27]



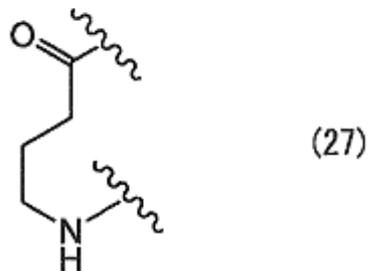
5 El término "resto de β-alanina" como se usa en el presente documento significa un resto de fórmula (26):

[Quím. 28]



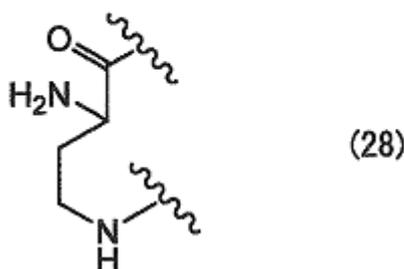
El término "resto de ácido γ-aminobutírico" como se usa en el presente documento significa un resto de fórmula (27):

[Quím. 29]



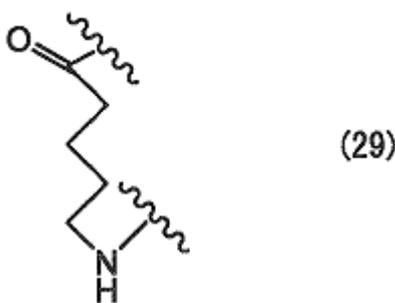
10 El término "resto de ácido (R) 2,4-diaminobutírico" como se usa en el presente documento significa un resto de fórmula (28):

[Quím. 30]



El término "resto de ácido 5-aminovalérico" como se usa en el presente documento significa un resto de fórmula (29):

[Quím. 31]



- 5 En el compuesto de poliamida de la presente invención, un átomo de hidrógeno de resto Im, el resto Py, el resto Hp, el resto  $\beta$ , puede estar sustituido con un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo amino, un grupo hidroxilo, o un grupo carboxilo. Sin embargo, un átomo de hidrógeno es preferente. Además, un átomo de hidrógeno de resto de ácido  $\gamma$ -aminobutírico, el resto de ácido (R) 2,4-diaminobutírico, o resto de ácido 5-aminovalérico puede estar sustituido con un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo amino, un grupo hidroxilo, un grupo carboxilo, o  $-NH_3$ . Sin embargo, un átomo de hidrógeno o  $-NH_3$  es preferente.

(Estructura de vuelta)

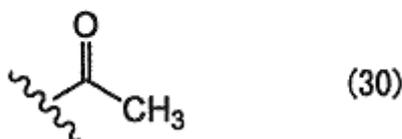
- 15 Como se ha mencionado anteriormente, al menos un extremo del ADN bicatenario diana es un par A/T o un par T/A. El resto del compuesto de poliamida que corresponde al par de nucleótidos que se ha mencionado anteriormente se selecciona entre el grupo que consiste en resto de ácido  $\gamma$ -aminobutírico, el resto de ácido (R) 2,4-diaminobutírico, y resto de ácido 5-aminovalérico, y estos restos forman una estructura horquillada del compuesto de poliamida. En otras palabras, el compuesto de poliamida de la presente invención se pierda mediante el resto de ácido  $\gamma$ -aminobutírico, el resto de ácido (R) 2,4-diaminobutírico, o resto de ácido 5-aminovalérico, y tiene una estructura horquillada como un conjunto del mismo. Mediante la estructura horquillada, cada resto de un compuesto de poliamida puede corresponder y unirse a cada base de ADN bicatenario.

- 20 (Estructuras terminales de compuesto de poliamida)

- 25 Como se ha mencionado anteriormente, el otro extremo del ADN bicatenario diana no está limitado en particular, y puede ser un par T/A, par A/T, par G/C, o par C/G. Por lo tanto, las estructuras terminales del compuesto de poliamida pueden ser puestos que corresponden a los padres de nucleótidos de ese tipo, es decir, el resto Im, el resto Py, el resto Hp, o resto  $\beta$ . Es decir, el grupo terminal del compuesto de poliamida puede ser un grupo amino o un grupo carboxilo de resto Im, el resto Py, el resto Hp, o resto  $\beta$ . Además, la parte terminal del compuesto de poliamida puede tener otro resto, siempre y cuando el resto inhiba la unión del compuesto de poliamida al ADN bicatenario diana.

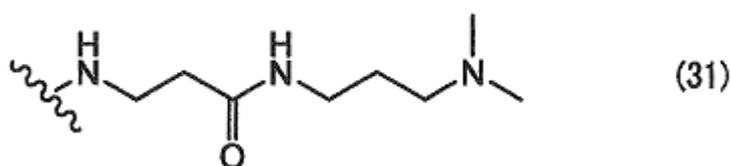
- 30 En particular, un extremo del compuesto de poliamida que corresponde a un extremo 5' terminal del otro extremo del ADN bicatenario diana no está limitado en particular, pero es un grupo amino de resto Im, un grupo amino de resto Py, un grupo amino de resto Hp, un grupo amino de  $\beta$ -alanina, un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo hidroxilo, un grupo amino, un grupo carboxilo, o un grupo acilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono; preferentemente un grupo acilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, más preferentemente un grupo acetilo de la siguiente fórmula (30):

[Quim. 32]



Además, un extremo del compuesto de poliamida corresponde a un extremo 3' terminal del otro extremo del ADN bicatenario diana es un grupo carboxilo de resto Im, un grupo carboxilo de resto Py, un grupo carboxilo de resto Hp, un grupo carboxilo de  $\beta$ -alanina, un resto de N,N-dimetilaminopropilo, o un resto de  $\beta$ -alanina·N,N-dimetilaminopropilo; preferentemente un resto de  $\beta$ -alanina·N,N-dimetilaminopropilo de la siguiente fórmula (31):

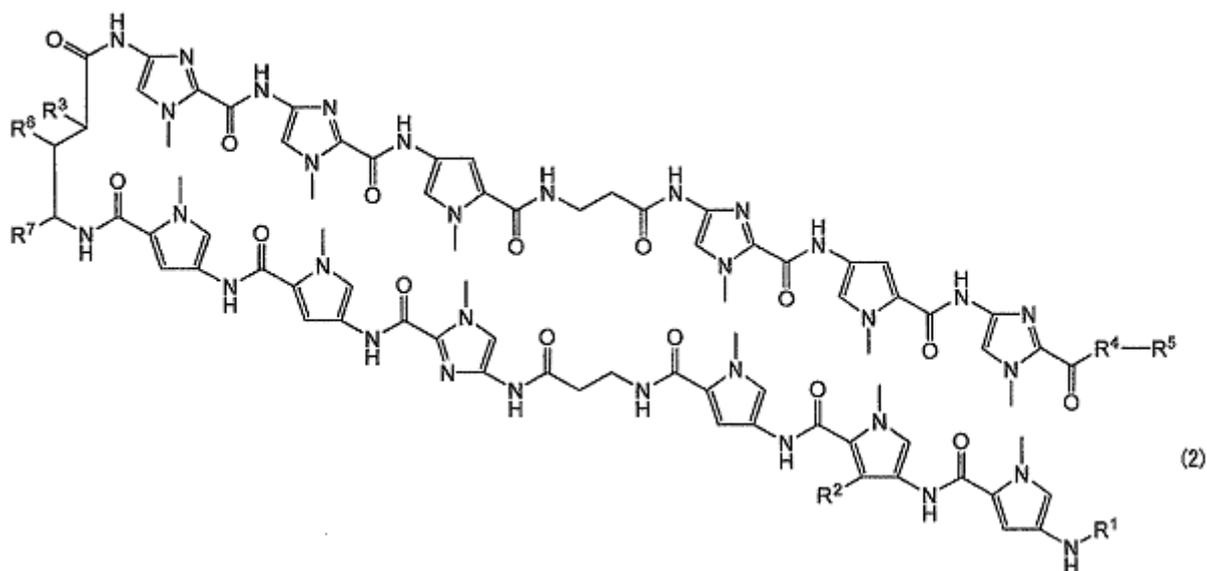
[Quim. 33]



La membrana mitocondrial tiene carga negativa (-150~-180 mV). Por lo tanto, cuando el compuesto de poliamida contiene resto de N,N-dimetilaminopropilo que tiene carga positiva, el compuesto de poliamida se puede incorporar de forma activa en una matriz mitocondrial. Además, cuando el compuesto de poliamida contiene resto de  $\beta$ -alanina, se obtiene flexibilidad entre el resto de N,N-dimetilaminopropilo y la región de unión contra el ADN bicatenario diana del compuesto de poliamida. Por lo tanto, es ventajoso para la unión del compuesto de poliamida y el ADN bicatenario diana.

Como una realización del compuesto de poliamida que se dirige al ADN bicatenario diana de la fórmula (13) que se ha mencionado anteriormente, se puede mencionar un compuesto de poliamida (en lo sucesivo en el presente documento en ocasiones se denomina realización A1) de la siguiente fórmula (2):

[Quim. 34]



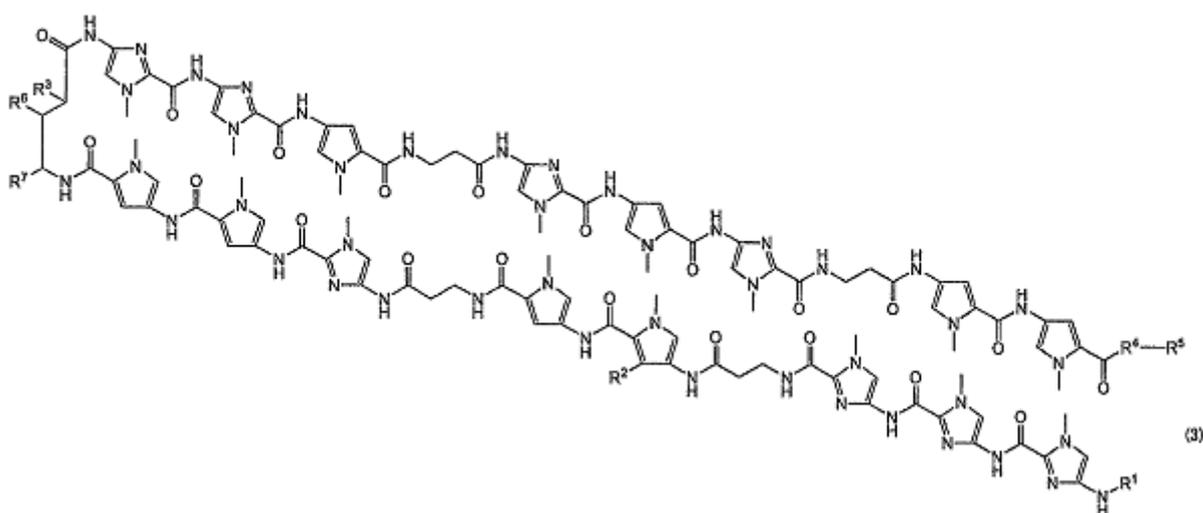
[en la que, R<sup>1</sup> es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo hidroxilo, un grupo amino, un grupo carboxilo, o un grupo acilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, R<sup>2</sup> es independientemente un átomo de hidrógeno, o un grupo hidroxilo, R<sup>3</sup>, R<sup>6</sup>, y R<sup>7</sup> son independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo amino, o -NH<sub>3</sub>, R<sup>4</sup> es un enlace sencillo o resto de  $\beta$ -alanina, R<sup>5</sup> es un grupo hidroxilo, o resto de N-dimetilaminopropilo, y el átomo de hidrógeno del resto Im, el resto Py, el resto Hp, el resto  $\beta$ , el resto de ácido  $\gamma$ -aminobutírico, o resto de ácido (R) 2,4-diaminobutírico puede ser sustituido con un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo amino, un grupo hidroxilo, o un grupo carboxilo]. Como una realización precedente

adicional de A1, se puede mencionar Ac-Py-Py-Py-β-Im-Py-Py-γ-Im-Im-Py-β-Im-Py-Im-β-Dp (en el que, γ es resto de ácido γ-aminobutírico, Dp es resto de N,N-dimetilaminopropilo, y el "resto" está abreviado de forma conveniente; en lo sucesivo en el presente documento en ocasiones se denomina realización a1) que se muestra en la Figura 2(a1)

5 Además, un compuesto de poliamida en el que R<sup>2</sup> es un grupo hidroxilo en el compuesto de poliamida de la realización A1, hace referencia en particular a una realización A1-A3243T, y como una realización referente, se puede mencionar Ac-Py-Hp-Py-β-Im-Py-Py-γ-Im-Im-Py-β-Im-Py-Im-β-Dp (en el que, γ es resto de ácido γ-aminobutírico, Dp es resto de N,N-dimetilaminopropilo, y el "resto" está abreviado de forma conveniente; en lo sucesivo en el presente documento en ocasiones se denomina realización a1-A3243T).

10 Como una realización del compuesto de poliamida que se dirige al ADN bicatenario diana de la fórmula (14) que se ha mencionado anteriormente, se puede mencionar un compuesto de poliamida (en lo sucesivo en el presente documento en ocasiones se denomina realización A2) de la siguiente fórmula (3):

**[Quim. 35]**

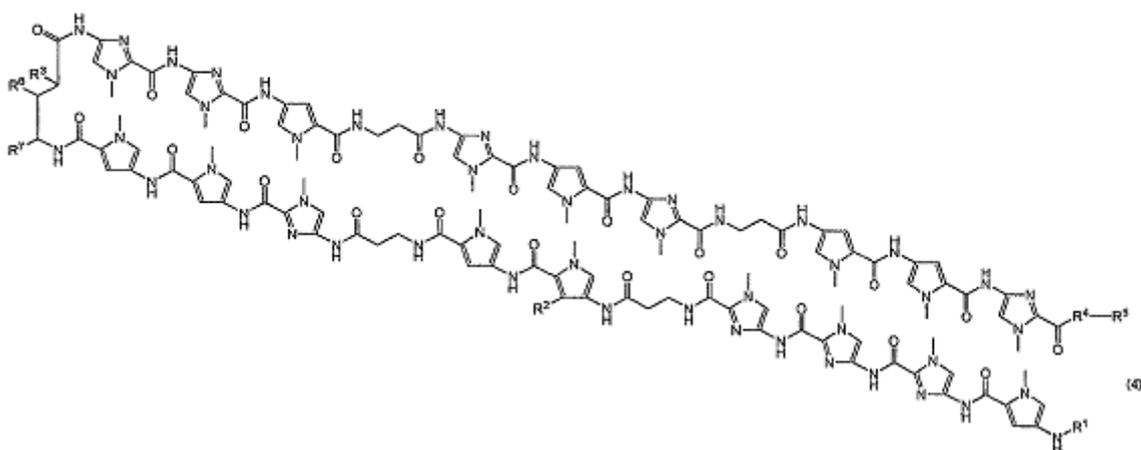


15 [en la que, R<sup>1</sup> es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo hidroxilo, un grupo amino, un grupo carboxilo, o un grupo acilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, R<sup>2</sup> es independientemente un átomo de hidrógeno, o un grupo hidroxilo, R<sup>3</sup>, R<sup>6</sup>, y R<sup>7</sup> son independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo amino, o -NH<sub>3</sub>, R<sup>4</sup> es un enlace sencillo o resto de β-alanina, R<sup>5</sup> es un grupo hidroxilo, o resto de N,N-dimetilaminopropilo, y el átomo de hidrógeno del resto Im, el resto Py, el resto Hp, el resto β, el resto de ácido γ-aminobutírico, o resto de ácido (R) 2,4-diaminobutírico puede estar sustituido con un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo amino, un grupo hidroxilo, o un grupo carboxilo]. Como una realización A2 preferente adicional, se puede mencionar Ac-Im-Im-Im-β-Py-Py-β-Im-Py-Py-γ-Im-Im-Py-β-Im-Py-Im-β-Py-Py-β-Dp (en el que, γ es resto de ácido γ-aminobutírico, Dp es resto de N,N-dimetilaminopropilo, y el "resto" está abreviado de forma conveniente; en lo sucesivo en el presente documento en ocasiones se denomina realización a2) que se muestra en la Figura 2(a2)

25 Además, un compuesto de poliamida en el que R<sup>2</sup> es grupo hidroxilo en el compuesto de poliamida de la realización A2, en particular se denomina realización A2-A3243T, y como una realización preferente, se puede mencionar Ac-Im-Im-Im-β-Hp-Py-β-Im-Py-Py-γ-Im-Im-Py-β-Im-Py-Im-β-Py-Py-β-Dp (en el que, γ es resto de ácido γ-aminobutírico, Dp es resto de N,N-dimetilaminopropilo, y el "resto" está abreviado de forma conveniente; en lo sucesivo en el presente documento en ocasiones se denomina realización a2-A3243T).

30 Como una realización del compuesto de poliamida que se dirige al ADN bicatenario diana de la fórmula (15) que se ha mencionado anteriormente, se puede mencionar un compuesto de poliamida (en lo sucesivo en el presente documento en ocasiones se denomina realización A3) de la siguiente fórmula (4):

## [Quím. 36]

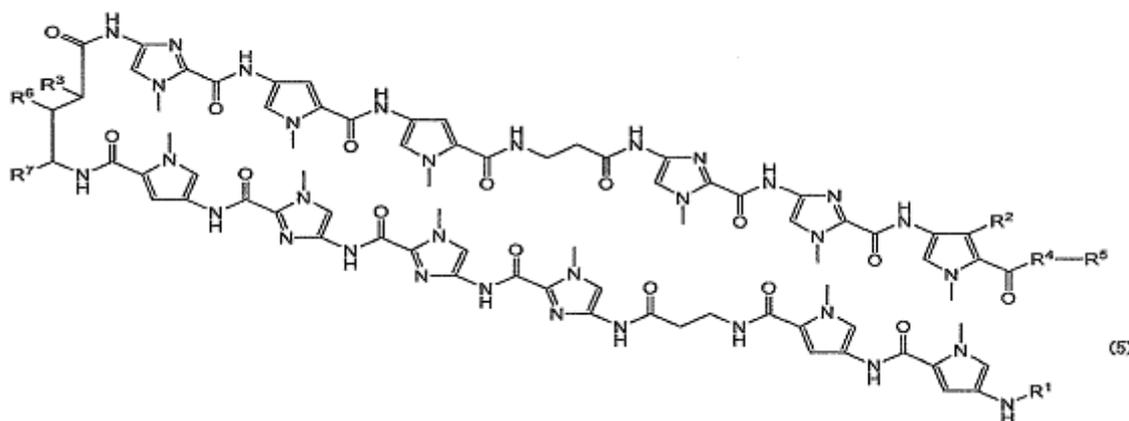


[en la que, R<sup>1</sup> es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo hidroxilo, un grupo amino, un grupo carboxilo, o un grupo acilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, R<sup>2</sup> es independientemente un átomo de hidrógeno, o un grupo hidroxilo, R<sup>3</sup>, R<sup>6</sup>, y R<sup>7</sup> son independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo amino, o -NH<sub>3</sub>, R<sup>4</sup> es un enlace sencillo o resto de β-alanina, R<sup>5</sup> es un grupo hidroxilo, o resto de N,N-dimetilaminopropilo, y el átomo de hidrógeno del resto Im, el resto Py, el resto Hp, el resto β, el resto de ácido γ-aminobutírico, o resto de ácido (R) 2,4-diaminobutírico puede estar sustituido con un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo amino, un grupo hidroxilo, o un grupo carboxilo]. Como una realización preferente adicional A3, se puede mencionar Ac-Py-Im-Im-Im-β-Py-Py-β-Im-Py-Py-γ-Im-Im-Py-β-Im-Py-Im-β-Py-Py-Im-β-Dp (en el que, γ es resto de ácido γ-aminobutírico, Dp es resto de N,N-dimetilaminopropilo, y el "resto" está abreviado de forma conveniente; en lo sucesivo en el presente documento en ocasiones se denomina realización a3) que se muestra en la Figura 2(a3)

Además, un compuesto de poliamida en el que R<sup>2</sup> es grupo hidroxilo en el compuesto de poliamida de la realización A3, se denomina en particular realización A3-A3243T, y como una realización preferente, se puede mencionar Ac-Py-Im-Im-Im-β-Hp-Py-β-Im-Py-Py-γ-Im-Im-Py-β-Im-Py-Im-β-Py-Py-Im-β-Dp (en el que, γ es resto de ácido γ-aminobutírico, Dp es resto de N,N-dimetilaminopropilo, y el "resto" está abreviado de forma conveniente; en lo sucesivo en el presente documento en ocasiones se denomina realización a3-A3243T).

Como una realización del compuesto de poliamida que se dirige al ADN bicatenario diana de la fórmula (16) que se ha mencionado anteriormente, se puede mencionar un compuesto de poliamida (en lo sucesivo en el presente documento en ocasiones se denomina realización B1) de la siguiente fórmula (5):

## [Quím. 37]

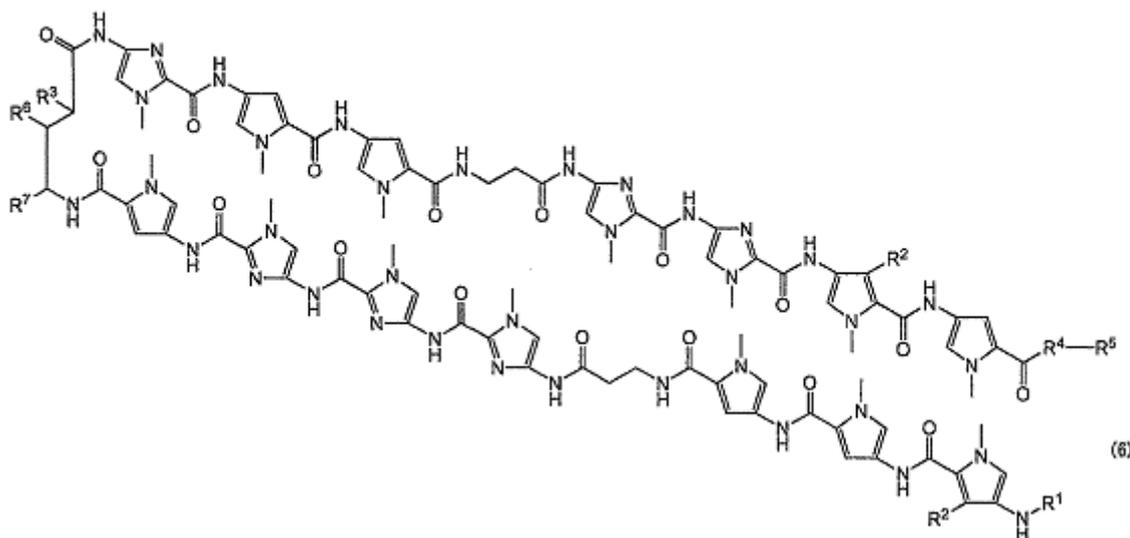


[en la que, R<sup>1</sup> es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo hidroxilo, un grupo amino, un grupo carboxilo, o un grupo acilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, R<sup>2</sup> es independientemente un átomo de hidrógeno, o un grupo hidroxilo, R<sup>3</sup>, R<sup>6</sup>, y R<sup>7</sup> son independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo amino, o -NH<sub>3</sub>, R<sup>4</sup> es un enlace sencillo o resto de β-alanina, R<sup>5</sup> es un grupo hidroxilo, o resto de N,N-dimetilaminopropilo, y el átomo de hidrógeno del resto Im, el resto Py, el resto Hp, el resto β, el resto de ácido γ-aminobutírico, o resto de ácido (R) 2,4-diaminobutírico puede estar sustituido con un grupo alquilo que tiene

de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo amino, un grupo hidroxilo, o un grupo carboxilo], y más preferentemente, se puede mencionar Ac-Py-Py-β-Im-Im-Im-Py-γ-Im-Py-Py-β-Im-Im-Py-β-Dp (en el que, γ es resto de ácido γ-aminobutírico, Dp es resto de N,N-dimetilaminopropilo, y el "resto" está abreviado de forma conveniente; en lo sucesivo en el presente documento en ocasiones se denomina realización b1) que se muestra en la Figura 2(b1).

- 5 Como una realización del compuesto de poliamida que se dirige al ADN bicatenario diana de la fórmula (17) que se ha mencionado anteriormente, se puede mencionar un compuesto de poliamida (en lo sucesivo en el presente documento en ocasiones se denomina realización B2) de la siguiente fórmula (6):

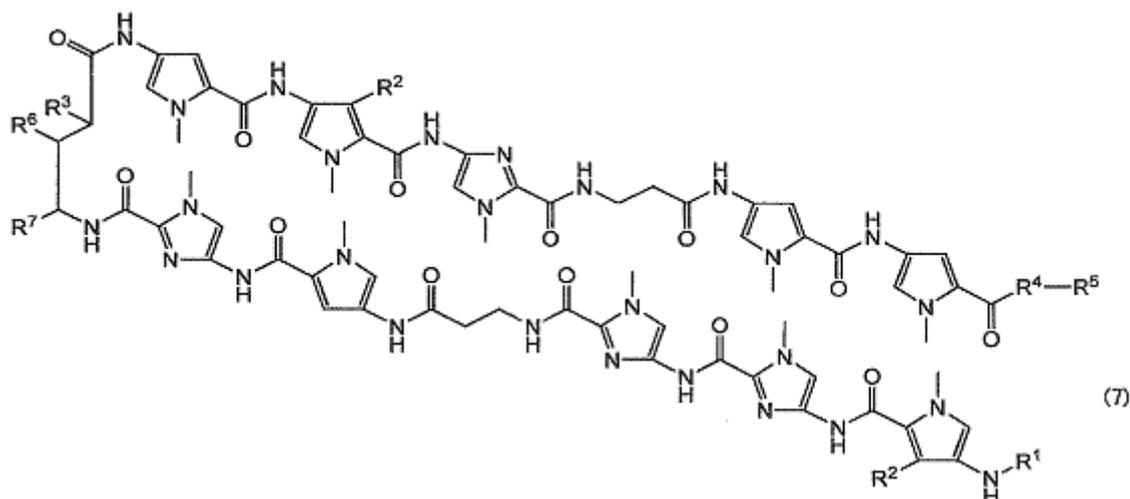
[Quím. 38]



- 10 [en la que, R<sup>1</sup> es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo hidroxilo, un grupo amino, un grupo carboxilo, o un grupo acilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, R<sup>2</sup> es independientemente un átomo de hidrógeno, o un grupo hidroxilo, R<sup>3</sup>, R<sup>6</sup>, y R<sup>7</sup> son independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo amino, o -NH<sub>3</sub>, R<sup>4</sup> es un enlace sencillo o resto de β-alanina, R<sup>5</sup> es un grupo hidroxilo, o resto de N,N-dimetilaminopropilo, y el átomo de hidrógeno del resto Im, el resto Py, el resto Hp, el resto β, el resto de ácido γ-aminobutírico, o resto de ácido (R) 2,4-diaminobutírico puede estar sustituido con un grupo alquilo que tiene
- 15 de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo amino, un grupo hidroxilo, o un grupo carboxilo], y más preferentemente, se puede mencionar Ac-Py-Py-Py-β-Im-Im-Im-Py-γ-Im-Py-Py-β-Im-Im-Py-Py-β-Dp (en el que, γ es resto de ácido γ-aminobutírico, Dp es resto de N,N-dimetilaminopropilo, y el "resto" está abreviado de forma conveniente; en lo sucesivo en el presente documento en ocasiones se denomina realización b2) que se muestra en la Figura 2(b2).

- 20 Como una realización del compuesto de poliamida que se dirige al ADN bicatenario diana de la fórmula (18) que se ha mencionado anteriormente, se puede mencionar un compuesto de poliamida (en lo sucesivo en el presente documento en ocasiones se denomina realización C1) de la siguiente fórmula (7):

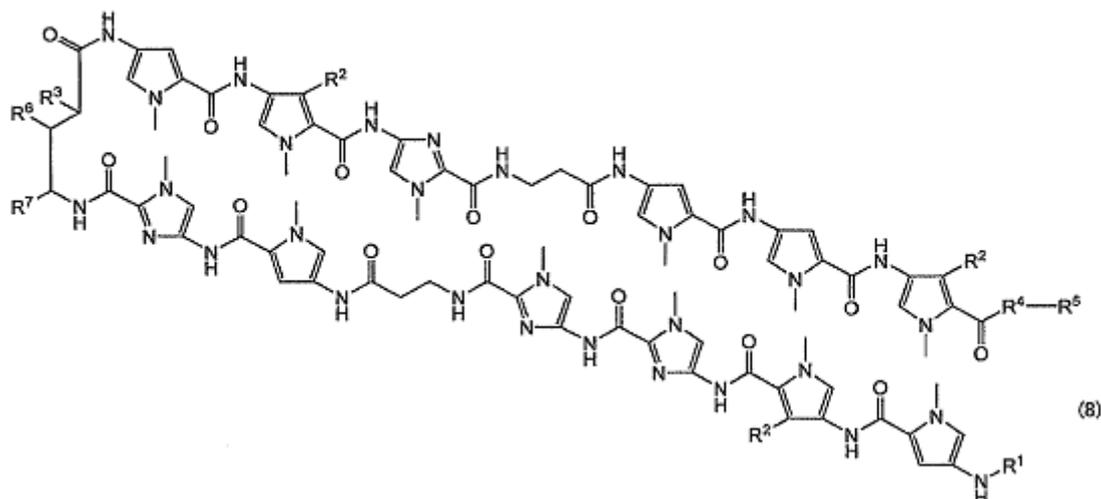
## [Quím. 39]



5 [en la que, R<sup>1</sup> es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo hidroxilo, un grupo amino, un grupo carboxilo, o un grupo acilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, R<sup>2</sup> es independientemente un átomo de hidrógeno, o un grupo hidroxilo, R<sup>3</sup>, R<sup>6</sup>, y R<sup>7</sup> son independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo amino, o -NH<sub>3</sub>, R<sup>4</sup> es un enlace sencillo o resto de β-alanina, R<sup>5</sup> es un grupo hidroxilo, o resto de N,N-dimetilaminopropilo, y el átomo de hidrógeno del resto Im, el resto Py, el resto Hp, el resto β, el resto de ácido γ-aminobutírico, o resto de ácido (R) 2,4-diaminobutírico puede estar sustituido con un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo amino, un grupo hidroxilo, o un grupo carboxilo], y más preferentemente, se puede mencionar Ac-Py-Im-Im-β-Py-Im-γ-Py-Py-Im-β-Py-Py-β-Dp (en el que, γ es resto de ácido γ-aminobutírico, Dp es resto de N,N-dimetilaminopropilo, y el "resto" está abreviado de forma conveniente; en lo sucesivo en el presente documento en ocasiones se denomina realización c1) que se muestra en la Figura 2(c1).

Como una realización del compuesto de poliamida que se dirige al ADN bicatenario diana de la fórmula (19) que se ha mencionado anteriormente, se puede mencionar un compuesto de poliamida (en lo sucesivo en el presente documento en ocasiones se denomina realización C2) de la siguiente fórmula (8):

## [Quím. 40]



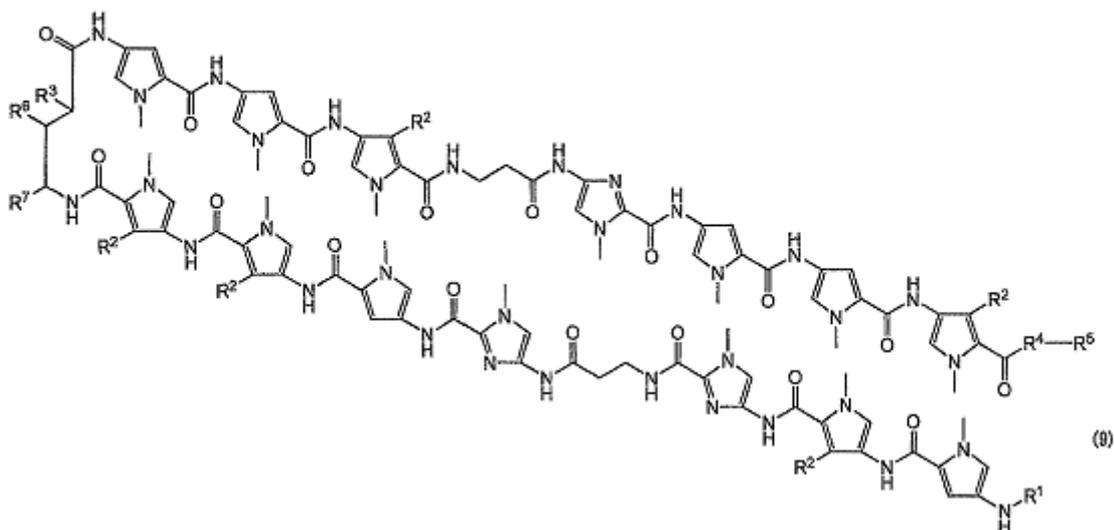
15 [en la que, R<sup>1</sup> es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo hidroxilo, un grupo amino, un grupo carboxilo, o un grupo acilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, R<sup>2</sup> es independientemente un átomo de hidrógeno, o un grupo hidroxilo, R<sup>3</sup>, R<sup>6</sup>, y R<sup>7</sup> son independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo amino, o -NH<sub>3</sub>, R<sup>4</sup> es un enlace sencillo o resto de β-alanina, R<sup>5</sup> es un grupo hidroxilo, o resto de N,N-dimetilaminopropilo, y el átomo de hidrógeno del resto Im, el resto Py, el resto Hp, el resto β, el resto de ácido γ-aminobutírico, o resto de ácido (R) 2,4-diaminobutírico puede estar sustituido con un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo amino, un grupo hidroxilo, o un grupo carboxilo], y más preferentemente, se

20

puede mencionar Ac-Py-Py-Im-Im-β-Py-Im-γ-Py-Py-Im-β-Py-Py-Py-β-Dp (en el que, γ es resto de ácido γ-aminobutírico, Dp es resto de N,N-dimetilaminopropilo, y el "resto" está abreviado de forma conveniente; en lo sucesivo en el presente documento en ocasiones se denomina realización c2) que se muestra en la Figura 2(c2).

5 Como una realización del compuesto de poliamida que se dirige al ADN bicatenario diana de la fórmula (20) que se ha mencionado anteriormente, se puede mencionar un compuesto de poliamida (en lo sucesivo en el presente documento en ocasiones se denomina realización D1) de la siguiente fórmula (9):

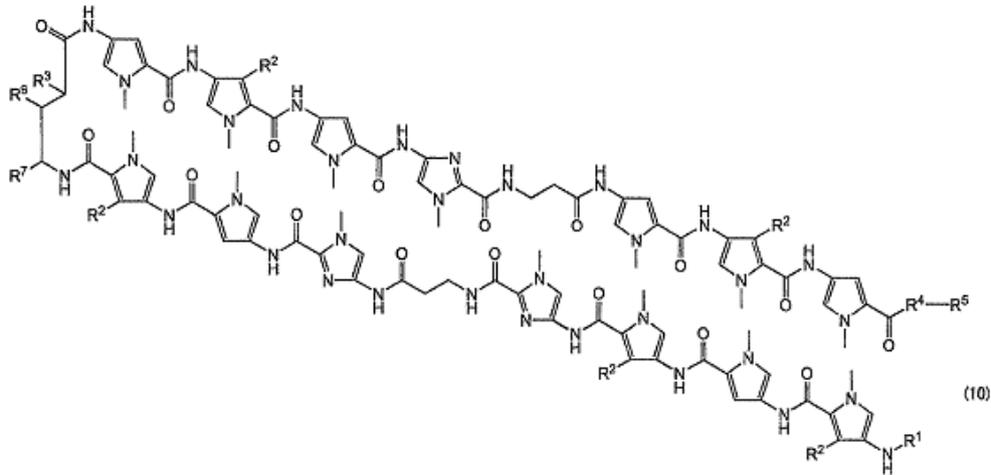
**[Quim. 41]**



10 [en la que, R<sup>1</sup> es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo hidroxilo, un grupo amino, un grupo carboxilo, o un grupo acilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, R<sup>2</sup> es independientemente un átomo de hidrógeno, o un grupo hidroxilo, R<sup>3</sup>, R<sup>6</sup>, y R<sup>7</sup> son independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo amino, o -NH<sub>3</sub>, R<sup>4</sup> es un enlace sencillo o resto de β-alanina, R<sup>5</sup> es un grupo hidroxilo, o resto de N,N-dimetilaminopropilo, y el átomo de hidrógeno del resto Im, el resto Py, el resto Hp, el resto β, el resto de ácido γ-aminobutírico, o resto de ácido (R) 2,4-diaminobutírico puede estar sustituido con un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo amino, un grupo hidroxilo, o un grupo carboxilo]. Sin embargo el ADN bicatenario diana representado por la fórmula (20) contiene adenina (A) y timina (T) en abundancia. Por lo tanto, el resto Hp es preferente en forma de un resto que corresponde a T. Es decir, el grupo hidroxilo es preferente para R<sup>2</sup>. Con respecto al compuesto de poliamida específico, se puede mencionar, por ejemplo Ac-Py-Py-Im-β-Im-Py-Py-Py-γ-Py-Py-Py-β-Im-Py-Py-Py-β-Dp (en el que, γ es un resto de ácido γ-aminobutírico, Dp es un resto de N,N-dimetilaminopropilo, y el "resto" está abreviado de forma conveniente; en lo sucesivo en el presente documento en ocasiones se denomina realización d1) que se muestra en la Figura 2(d1) y Ac-Py-Hp-Im-β-Im-Py-Hp-Hp-γ-Py-Py-Hp-β-Im-Py-Py-Hp-β-Dp (en el que, γ es un resto de ácido γ-aminobutírico, Dp es un resto de N,N-dimetilaminopropilo, y el "resto" está abreviado de forma conveniente; en lo sucesivo en el presente documento en ocasiones se denomina realización d1-Hp). La realización d1-Hp es más preferente.

25 Como una realización del compuesto de poliamida que se dirige al ADN bicatenario diana de la fórmula (21) que se ha mencionado anteriormente, se puede mencionar un compuesto de poliamida (en lo sucesivo en el presente documento en ocasiones se denomina realización E1) de la siguiente fórmula (10):

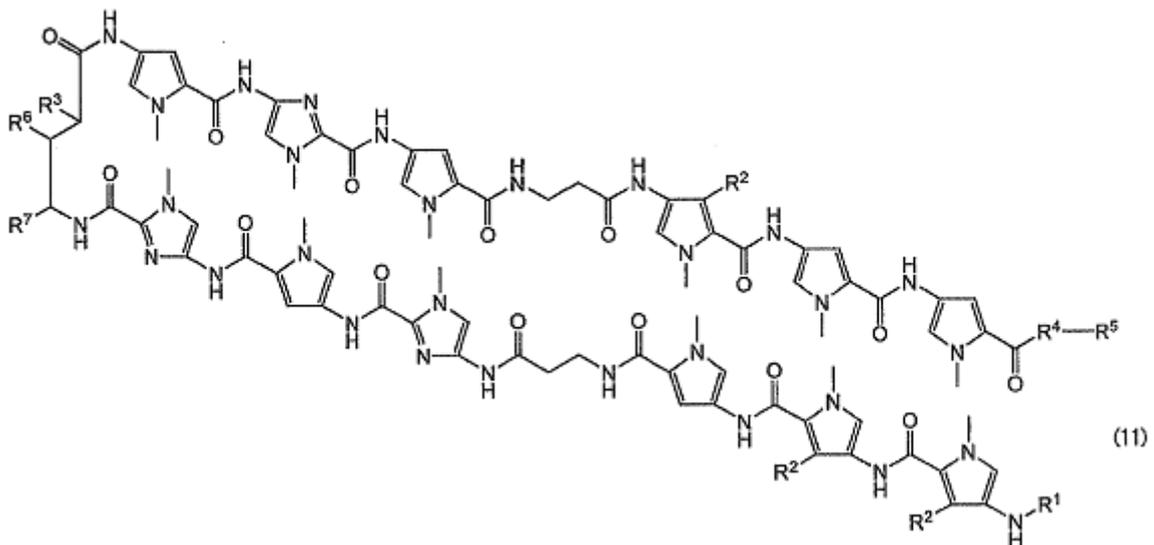
[Quím. 42]



[en la que, R<sup>1</sup> es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo hidroxilo, un grupo amino, un grupo carboxilo, o un grupo acilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, R<sup>2</sup> es independientemente un átomo de hidrógeno, o un grupo hidroxilo, R<sup>3</sup>, R<sup>6</sup>, y R<sup>7</sup> son independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo amino, o -NH<sub>3</sub>, R<sup>4</sup> es un enlace sencillo o resto de β-alanina, R<sup>5</sup> es un grupo hidroxilo, o resto de N,N-dimetilaminopropilo, y el átomo de hidrógeno del resto Im, el resto Py, el resto Hp, el resto β, el resto de ácido γ-aminobutírico, o resto de ácido (R) 2,4-diaminobutírico puede estar sustituido con un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo amino, un grupo hidroxilo, o un grupo carboxilo]. Sin embargo el ADN bicatenario diana representado por la fórmula (21) contiene adenina (A) y timina (T) en abundancia. Por lo tanto, el resto Hp es preferente en forma de un resto que corresponde a T. Es decir, el grupo hidroxilo es preferente para R<sup>2</sup>. Con respecto al compuesto de poliámidas específico, se puede mencionar, por ejemplo Ac-Py-Py-Py-Im-β-Im-Py-Py-γ-Py-Py-Py-Im-β-Py-Py-β-Dp (en el que, γ es resto de ácido γ-aminobutírico, Dp es resto de N,N-dimetilaminopropilo, y el "resto" está abreviado de forma conveniente; en lo sucesivo en el presente documento en ocasiones se denomina realización e1) que se muestra en la Figura 2(e1) and Ac-Hp-Py-Hp-Im-β-Im-Py-Hp-γ-Py-Hp-Py-Im-β-Py-Hp-Py-β-Dp (en el que, γ es un resto de ácido γ-aminobutírico, Dp es un resto de N,N-dimetilaminopropilo, y el "resto" está abreviado de forma conveniente; en lo sucesivo en el presente documento en ocasiones se denomina realización e1-Hp). La realización e1-Hp es más preferente.

Como una realización del compuesto de poliámidas que se dirige al ADN bicatenario diana de la fórmula (22) que se ha mencionado anteriormente, se puede mencionar un compuesto de poliámidas (en lo sucesivo en el presente documento en ocasiones se denomina realización F1) de la siguiente fórmula (11):

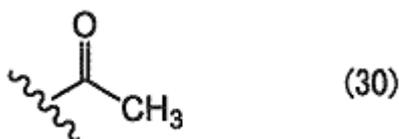
[Quím. 43]



5 [en la que, R<sup>1</sup> es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo hidroxilo, un grupo amino, un grupo carboxilo, o un grupo acilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, R<sup>2</sup> es  
 10 independientemente un átomo de hidrógeno, o un grupo hidroxilo, R<sup>3</sup>, R<sup>6</sup>, y R<sup>7</sup> son independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo amino, o -NH<sub>3</sub>, R<sup>4</sup> es un enlace sencillo o resto de β-alanina, R<sup>5</sup> es un grupo hidroxilo, o resto de N,N-dimetilaminopropilo, y el átomo de hidrógeno del resto Im, el resto Py, el resto Hp, el resto β, el resto de  
 15 ácido γ-aminobutírico, o resto de ácido (R) 2,4-diaminobutírico puede estar sustituido con un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo amino, un grupo hidroxilo, o un grupo carboxilo]. Sin embargo el ADN bicatenario diana representado por la fórmula (22) contiene adenina (A) y timina (T) en abundancia. Por lo tanto, el resto Hp es preferente en forma de un resto que corresponde a T. Es decir, el grupo hidroxilo es preferente para R<sup>2</sup>.  
 Con respecto al compuesto de poliamida específico, se puede mencionar, por ejemplo Ac-Py-Py-Py-β-Im-Py-Im-γ-Py-Im-Py-β-Py-Py-Py-β-Dp (en el que, γ es un resto de ácido γ-aminobutírico, Dp es un resto de N,N-dimetilaminopropilo, y el "resto" está abreviado de forma conveniente; en lo sucesivo en el presente documento en ocasiones se denomina realización f1) que se muestra en la Figura 2(f1) y Ac-Hp-Hp-Py-β-Im-Py-Im-γ-Py-Im-Py-β-Hp-Py-Py-β-Dp (en el que, γ es un resto de ácido γ-aminobutírico, Dp es un resto de N,N-dimetilaminopropilo, y el "resto" está abreviado de forma conveniente; en lo sucesivo en el presente documento en ocasiones se denomina realización f1-Hp). La realización f1-Hp es más preferente.

R<sup>1</sup> es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo hidroxilo, un grupo amino, un grupo carboxilo, o un grupo acilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, pero preferentemente un grupo acetilo de la siguiente fórmula (30):

[Quím. 44]



20 R<sup>2</sup> es independientemente un átomo de hidrógeno, o un grupo hidroxilo. Cuando R<sup>2</sup> es un átomo de hidrógeno, resto de unión a R<sup>2</sup> es resto Py. Cuando R<sup>2</sup> es un grupo hidroxilo, el resto de unión a R<sup>2</sup> es un resto Hp.

25 R<sup>3</sup>, R<sup>6</sup>, y R<sup>7</sup> son independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo amino, o -NH<sub>3</sub>. Cuando R<sup>3</sup>, R<sup>6</sup>, y R<sup>7</sup> son átomos de hidrógeno, los restos de unión a R<sup>3</sup>, R<sup>6</sup>, y R<sup>7</sup> son restos de ácido γ-aminobutírico. Cuando R<sup>3</sup> es un grupo amino, y R<sup>6</sup> y R<sup>7</sup> son átomos de hidrógeno, los restos de unión a R<sup>3</sup>, R<sup>6</sup>, y R<sup>7</sup> son restos de ácido (R) 2,4-diaminobutírico. Además, R<sup>3</sup>, R<sup>6</sup>, y R<sup>7</sup> pueden ser independientemente -NH<sub>3</sub> de la fórmula (32):

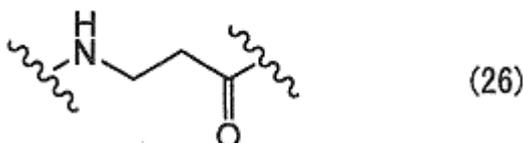
[Quím. 45]



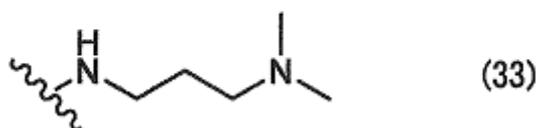
Cuando R<sup>3</sup>, R<sup>6</sup>, y R<sup>7</sup> son -NH<sub>3</sub>, el compuesto de poliamida tiene una carga positiva, y se une fácilmente a la de. Por lo tanto, es preferente.

30 R<sup>4</sup> es un enlace sencillo, o un resto de β-alanina de fórmula (26):

[Quím. 46]



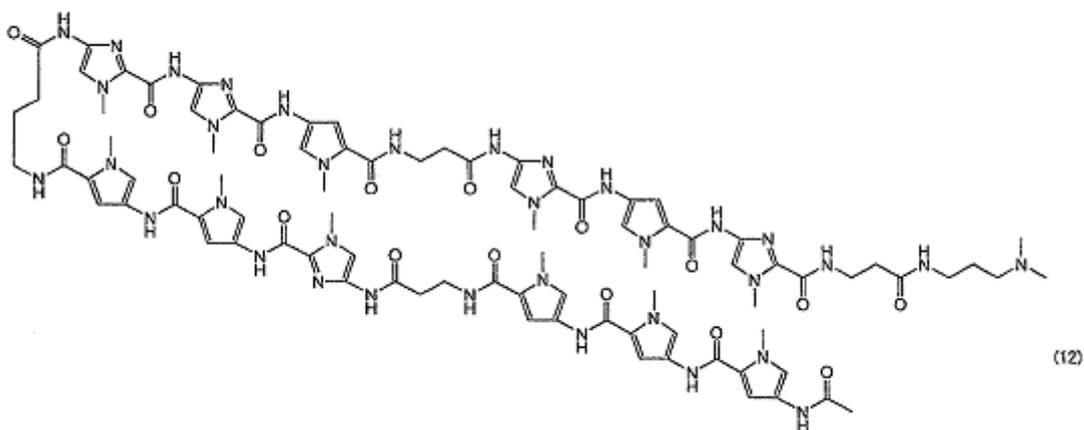
R<sup>5</sup> es un grupo hidroxilo o un N,N-dimetilaminopropilo de fórmula (33):

**[Quím. 47]**

5 Un átomo de hidrógeno del resto Im, el resto Py, el resto Hp, o resto  $\beta$ , puede estar sustituido con un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo amino, un grupo hidroxilo, o un grupo carboxilo. Sin embargo, un átomo de hidrógeno es preferente. Además, un átomo de hidrógeno de un resto de ácido  $\gamma$ -aminobutírico, el resto de ácido (R) 2,4-diaminobutírico, o el resto de ácido 5-aminovalérico puede estar sustituido con un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo amino, un grupo hidroxilo, o un grupo carboxilo, o  $\text{-NH}_3$ . Sin embargo, un átomo de hidrógeno o  $\text{-NH}_3$  es preferente.

(Poliamida ML1)

La "realización a1" preferente en la realización A1 es la poliamida ML1 de la siguiente fórmula (12):

**[Quím. 48]**

10 (Procedimiento de síntesis del compuesto de poliamida)

El compuesto de poliamida de la presente invención se puede sintetizar con el procedimiento de Fmoc. El procedimiento de Fmoc es un procedimiento de síntesis peptídica en fase sólida que usa Fmoc (9fluorenilmetiloxicarbonilo), y se puede usar el péptido Synthesizers disponible en el mercado.

15 Por ejemplo, la Resina NovaPEG Wang se usa en forma de una fase sólida. A continuación, Py, Im,  $\beta$ -alanina, o similar se añade a esta a través de una síntesis de deshidratación (unión a amida), y una longitud de cadenas se amplía de forma secuencial. Después de acabar una síntesis del compuesto de poliamida de interés, a esto se le añade la N,N-dimetil-1,3-propanodiamina. A continuación, el compuesto de poliamida en la superficie de la fase sólida se escinde a aproximadamente 60 °C y a continuación se recoge.

20 [2] Agente para estimular la replicación de ADNmt de tipo silvestre

Un agente para estimular la replicación de ADNmt de tipo silvestre de la presente invención comprende el compuesto de poliamida de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como un principio activo.

25 El compuesto de poliamida con el agente para estimular la replicación del ADNmt de tipo silvestre no está limitado en particular, siempre y cuando sea el compuesto de poliamida que se escrito en el párrafo "[1] Compuesto de poliamida" que se ha mencionado anteriormente. Se puede usar todo el compuesto de poliamida como se ha mencionado anteriormente.

30 Cuando el agente para estimular la replicación del ADNmt de tipo silvestre de la presente invención se administra a pacientes con enfermedades genéticas mitocondriales o sujetos normales (animales, en particular seres humanos), se puede estimular una replicación del ADNmt de tipo silvestre. En particular, en pacientes con enfermedad genética mitocondrial, la enfermedad genética mitocondrial se puede prevenir y tratar mediante estimulación de forma

selectiva de la replicación del ADNmt de tipo silvestre.

La formulación del agente para estimular la replicación del ADNmt de tipo silvestre de la presente invención no está limitada. Sin embargo, se pueden mencionar agentes orales, tales como polvos, gránulos sutiles, gránulos, comprimidos, cápsulas, suspensiones, emulsiones, jarabes, extractos, o bolas; o agentes parentales, tales como inyecciones, líquidos para uso externo, pomadas, supositorios, cremas para administración local, o gotas para los ojos.

El agente oral que se ha mencionado anteriormente se puede preparar de acuerdo con procedimientos convencionales, usando cargas tales como gelatina, alginato de sodio, almidón, almidón de maíz, sacarosa, lactosa, glucosa, manitol, carboximetil-celulosa, dextrina, polivinil pirrolidona, celulosa cristalina, lecitina de soja, sacarosa, éster de ácido graso, talco, estearato de magnesio, polietilenglicol, silicato de magnesio, anhídrido silícico, o silicato de aluminio sintético; aglutinantes, agentes disgregantes, detergentes, lubricantes, aceleradores de flujo, diluyentes, conservantes, colorantes, sabores, agentes correctores, estabilizantes, humectantes, antisépticos, antioxidantes, o similares.

Los ejemplos de la administración parental incluyen inyección (por ejemplo, inyección subcutánea o inyección intravenosa), administración rectal, o similares. Entre estos, las inyecciones son preferentes.

Por ejemplo, en la preparación de las inyecciones, se puede usar opcionalmente un solvente acuoso tal como una solución salina normal o una solución de Ringer, soluciones no acuosas tales como aceite vegetal o éster de ácido graso, un agente de tonicidad tal como glucosa o cloruro sódico, un agente auxiliar de solubilidad, un agente estabilizante, un agente antiséptico, un agente de suspensión o un agente emulsionante, además del principio activo.

Además, el agente de la presente invención se puede administrar por medio de una formulación de liberación sostenida usando un polímero de liberación sostenida. Por ejemplo, el agente de la presente invención se introduce en un gránulo de polímero de acetato etileno y vinilo, y a continuación el gránulo se puede implantar quirúrgicamente en un tejido para tratamiento o prevención.

El agente para estimular la replicación del ADNmt de tipo silvestre de la presente invención puede contener, pero no se limita a, de un 0,01 a un 99 % en peso, preferentemente de un 0,1 a un 80 % en peso, del principio activo.

Una dosis del agente para estimular la replicación del ADNmt de tipo silvestre de la presente invención se puede determinar de forma apropiada de acuerdo con, por ejemplo, edad, sexo, peso corporal, o grado de síntomas de cada paciente, el tipo de cada principio activo, tipo de cada enfermedad, vía de administración, o similares, y la dosificación determinada se puede administrar por vía oral o por vía parenteral.

Además, la forma de dosificación para la administración del agente para estimular la replicación del ADNmt de tipo silvestre de la presente invención no se limita a un medicamento farmacológico. Es decir, se puede administrar como alimento y bebida de diversas formas, tales como alimentos funcionales, alimentos saludables (incluyendo bebidas), o alimentos para animales.

### [3] Composición farmacéutica

Una composición farmacéutica de la presente invención comprende el compuesto de poliamida de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como un principio activo. El compuesto de poliamida dentro de la composición farmacéutica de la presente invención no está limitado en particular, siempre y cuando sea el compuesto de poliamida que se ha descrito en el párrafo "[1] Compuesto de poliamida" que se ha mencionado anteriormente. Se puede usar todo el compuesto de poliamida como se ha mencionado anteriormente.

La composición farmacéutica de la presente invención puede estar compuesta por uno o más del compuesto de poliamidas. La composición farmacéutica de la presente invención puede ser una forma de dosificación, dos formas de dosificación, o más. Por ejemplo, cuando dos o más compuestos de poliamida están contenidos en la composición farmacéutica, dos o más compuestos de poliamida se pueden proporcionar como una forma de dosificación, o dos o más formas de dosificación.

(Composición farmacéutica para tratar o prevenir enfermedades genéticas mitocondriales)

La composición farmacéutica de la presente invención se puede usar para tratar o prevenir enfermedades genéticas mitocondriales. En las enfermedades genéticas mitocondriales tales como MELAS, el ADNmt mutante y el ADNmt de tipo silvestre (tipo normal) coexisten en una célula. Este estado de la célula se denomina heteroplasmia. Cuando la cantidad del ADNmt mutante en la célula supera un cierto nivel o más (es decir, de un 60 % a un 95 %), enfermedades genéticas mitocondriales tales como el inicio de la MELAS. La composición farmacéutica de la presente invención puede desplazar una heteroplasmia en la que el ADNmt de tipo silvestre es dominante con respecto al ADNmt de tipo silvestre, y de modo que se puede evitar el desarrollo de las enfermedades genéticas mitocondriales. Además, en el caso de que una tasa del ADNmt mutante no supere el nivel de umbral, y por lo tanto se desarrollan las enfermedades genéticas mitocondriales, la composición farmacéutica de la presente invención

puede suprimir un desplazamiento de una heteroplasma en la que el ADNmt mutante es dominante, mediante la administración de la composición farmacéutica de la presente invención. Por lo tanto, la composición farmacéutica de la presente invención es eficaz para prevenir el desarrollo de las enfermedades genéticas mitocondriales.

(Composición farmacéutica para tratar o prevenir enfermedades genéticas mitocondriales)

5 (Enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación A3236G)

Una enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación A3236G se presenta con síntomas de neuropatía óptica bilateral esporádica.

10 La enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación A3236G se puede tratar o prevenir con una composición farmacéutica que comprende un compuesto de poliamida que tiene un resto que se une a un par A/T que consiste en la primera A del ADN de cadena codificante 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1), y la T correspondiente. Por ejemplo, la primera genética mitocondrial causada por la mutación A3236G se puede tratar o prevenir con la composición farmacéutica que comprende el compuesto de poliamida de la realización C2.

(Las enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación A3243G)

15 Las enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación A3243G se presentan con síntomas de miopatía mitocondrial, encefalopatía, acidosis láctica, episodios similares a la apoplejía; diabetes e hipoacusia; miopatía mitocondrial; síndrome de Leigh; sordera sensorial; oftalmoplejía externa progresiva crónica; diabetes con hipoacusia de origen materno; o glomerulosclerosis segmentaria focal.

20 Las enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación A3243G se pueden tratar o prevenir con una composición farmacéutica que comprende un compuesto de poliamida que tiene un resto que se une a un par A/T que consiste en la octava A del ADN de cadena codificante 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1), y la T correspondiente. Por ejemplo, las enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación A3243G se pueden tratar o prevenir con la composición farmacéutica que comprende el compuesto de poliamida de la realización A1, A2, A3, B1, B2, C1 o C2.

25 (Enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación A3243T)

Las enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación A3243T se presentan con síntomas de miopatía mitocondrial, encefalopatía, acidosis láctica, episodios similares a la apoplejía; miopatía mitocondrial; sordera sensorial; u oftalmoplejía externa progresiva crónica.

30 Las enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación A3243T se pueden tratar o prevenir con una composición farmacéutica que comprende un compuesto de poliamida que tiene un resto que se une a un par A/T que consiste en la octava A del ADN de cadena codificante 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1) y la T correspondiente; y el resto que corresponde a T del par A/T es un resto Hp. Por ejemplo, las enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación A3243T se pueden tratar o prevenir con la composición farmacéutica que comprende el compuesto de poliamida de la realización A1-A3243T, A2-A3243T o 35 A3-A3243T.

(Enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación G3244A)

Una enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación G3244A se presenta con síntomas de miopatía mitocondrial, encefalopatía, acidosis láctica, episodios similares a la apoplejía.

40 La enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación G3244A se puede tratar o prevenir con una composición farmacéutica que comprende un compuesto de poliamida que tiene un resto que se une a un par G/C que consiste en la novena G del ADN de cadena codificante 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1), y la C correspondiente. Por ejemplo, la enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación G3244A se puede tratar o prevenir con la composición farmacéutica que comprende el compuesto de poliamida de la realización A1, A2, A3, B1 o B2.

45 (Enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación G3249A)

Una enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación G3249A se presenta con síntomas de síndrome de Kearns-Sayre.

50 La enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación G3249A se puede tratar o prevenir con una composición farmacéutica que comprende un compuesto de poliamida que tiene un resto que se une a un par G/C que consiste en la decimocuarta G del ADN de cadena codificante 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1), y la C correspondiente. Por ejemplo, la enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación G3249A se puede tratar o prevenir con la composición farmacéutica que comprende el compuesto de poliamida de la realización B1 o B2.

(Enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación T3250C)

Las enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación T3250C se presentan con síntomas de miopatía mitocondrial u oftalmoplejía externa progresiva crónica.

5 Las enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación T3250C se pueden tratar o prevenir con una composición farmacéutica que comprende un compuesto de poliamida que tiene un resto que se une a un par T/A que consiste en la decimoquinta T del ADN de cadena codificante 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1), y la A correspondiente. Por ejemplo, las enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación T3250C se pueden tratar o prevenir con la composición farmacéutica que comprende el compuesto de poliamida de la realización B1, B2 o D1.

10 (Enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación A3251G)

Una enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación A3251G se presenta con síntomas de miopatía mitocondrial u oftalmoplejía externa progresiva crónica.

15 La enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación A3251G se puede tratar o prevenir con una composición farmacéutica que comprende un compuesto de poliamida que tiene un resto que se une a un par A/T que consiste en la decimosexta A del ADN de cadena codificante 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1), y la T correspondiente. Por ejemplo, la enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación A3251G se puede tratar o prevenir con la composición farmacéutica que comprende el compuesto de poliamida de la realización B1, D2 o E1.

(Enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación A3252G)

20 Una enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación A3252G se presenta con síntomas de miopatía mitocondrial, encefalopatía, acidosis láctica, episodios similares a la apoplejía.

25 La enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación A3252G se puede tratar o prevenir con una composición farmacéutica que comprende un compuesto de poliamida que tiene un resto que se une a un par A/T que consiste en la decimoséptima A del ADN de cadena codificante 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1), y la T correspondiente. Por ejemplo, la enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación A3252G se puede tratar o prevenir con la composición farmacéutica que comprende el compuesto de poliamida de la realización D1 o E1.

(Enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación C3254A)

30 Una enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación C3254A se presenta con síntomas de diabetes en el embarazo.

35 La enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación C3254A se puede tratar o prevenir con una composición farmacéutica que comprende un compuesto de poliamida que tiene un resto que se une a un par C/G que consiste en la decimonovena C del ADN de cadena codificante 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1), y la G correspondiente. Por ejemplo, la enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación C3254A se puede tratar o prevenir con la composición farmacéutica que comprende el compuesto de poliamida de la realización D1, E1 o F1.

(Enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación C3254G)

Una enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación C3254G se presenta con síntomas de miopatía mitocondrial.

40 La enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación C3254G se puede tratar o prevenir con una composición farmacéutica que comprende un compuesto de poliamida que tiene un resto que se une a un par C/G que consiste en la decimonovena C del ADN de cadena codificante 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1), y la G correspondiente. Por ejemplo, la enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación C3254G se puede tratar o prevenir con la composición farmacéutica que comprende el compuesto de poliamida de la realización D1, E1 o F1.

45 (Enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación G3255A)

Una enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación G3255A se presenta con síntomas de síndrome de solapamiento de MERRF/KSS.

50 La enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación G3255A se puede tratar o prevenir con una composición farmacéutica que comprende un compuesto de poliamida que tiene un resto que se une a un par G/C que consiste en la vigésima G del ADN de cadena codificante 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1), y la C correspondiente. Por ejemplo, la enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación G3255A

se puede tratar o prevenir con la composición farmacéutica que comprende el compuesto de poliamida de la realización D1, E1 o F1.

(Enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación C3256T)

5 Las enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación C3256T se presentan con síntomas de miopatía mitocondrial, encefalopatía, acidosis láctica, episodios similares a la apoplejía/epilepsia mioclónica con fibras de color rojo rasgadas.

10 Las enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación C3256T se pueden tratar o prevenir con una composición farmacéutica que comprende un compuesto de poliamida que tiene un resto que se une a un par C/G que consiste en la vigesimoprimer C del ADN de cadena codificante 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1), y la G correspondiente. Por ejemplo, las enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación C3256T se pueden tratar o prevenir con la composición farmacéutica que comprende el compuesto de poliamida de la realización D1, E1 o F1.

(Enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación T3258C)

15 Las enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación T3258C se presentan con síntomas de miopatía mitocondrial, encefalopatía, acidosis láctica, episodios similares a la apoplejía/miopatía.

20 Las enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación T3258C se pueden tratar o prevenir con una composición farmacéutica que comprende un compuesto de poliamida que tiene un resto que se une a un par T/A que consiste en la vigesimotercera T del ADN de cadena codificante 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1), y la A correspondiente. Por ejemplo, las enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación T3258C se pueden tratar o prevenir con la composición farmacéutica que comprende el compuesto de poliamida de la realización D1, E1 o F1.

(Enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación A3260G)

Las enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación A3260G se presentan con síntomas de miopatía de origen materno del adulto y miopatía cardíaca.

25 Las enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación A3260G se pueden tratar o prevenir con una composición farmacéutica que comprende un compuesto de poliamida que tiene un resto que se une a un par A/T que consiste en la vigesimoquinta A del ADN de cadena codificante 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1), y la T correspondiente. Por ejemplo, las enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación A3260G se pueden tratar o prevenir con la composición farmacéutica que comprende el compuesto de poliamida de la realización F1.

30 La formulación de la composición farmacéutica de la presente invención no está limitada. Sin embargo, se pueden mencionar agentes orales, tales como polvos, gránulos sutiles, gránulos, comprimidos, cápsulas, suspensiones, emulsiones, jarabes, extractos, o bolas; o agentes parentales, tales como inyecciones, líquidos para uso externo, pomadas, supositorios, cremas para administración local, o gotas para los ojos.

35 El agente oral que se ha mencionado anteriormente se puede preparar de acuerdo con procedimientos convencionales, usando cargas tales como gelatina, alginato de sodio, almidón, almidón de maíz, sacarosa, lactosa, glucosa, manitol, carboximetil-celulosa, dextrina, polivinil pirrolidona, celulosa cristalina, lecitina de soja, sacarosa, éster de ácido graso, talco, estearato de magnesio, polietilenglicol, silicato de magnesio, anhídrido silícico, o silicato de aluminio sintético; aglomerantes, agentes disgregantes, detergentes, lubricantes, aceleradores de flujo, diluyentes, conservantes, colorantes, sabores, agentes correctores, estabilizantes, humectantes, antisépticos, antioxidantes, o similares.

40 Los ejemplos de la administración parental incluyen inyección (por ejemplo, inyección subcutánea o inyección intravenosa), administración rectal, o similares. Entre estos, las inyecciones son preferentes.

45 Por ejemplo, en la preparación de las inyecciones, un disolvente acuoso tal como solución salina normal o solución de Ringer, soluciones no acuosas tales como aceite vegetal o éster de ácido graso, un agente de tonicidad tal como glucosa o cloruro sódico, un agente auxiliar de solubilidad, un agente estabilizante, un agente antiséptico, un agente de suspensión o un agente emulsionante, además del principio activo.

50 Además, la composición farmacéutica de la presente invención se puede administrar por medio de una formulación de liberación sostenida usando un polímero de liberación sostenida. Por ejemplo, la composición farmacéutica de la presente invención se introduce en un gránulo de polímero de acetato de etileno y vinilo, y a continuación el gránulo se puede implantar quirúrgicamente en un tejido para tratamiento o prevención.

La composición farmacéutica puede contener, pero no se limita a, de un 0,01 a un 99 % en peso, preferentemente de un 0,1 a un 80 % en peso, del principio activo.

Una dosis de la composición farmacéutica de la presente invención se puede determinar de forma apropiada de acuerdo con, por ejemplo, edad, sexo, peso corporal, o grado de los síntomas de cada paciente, el tipo de cada principio activo, el tipo de cada enfermedad, la vía de administración, o similares, y la dosificación determinada se puede administrar por vía oral o por vía parenteral.

- 5 Además, la forma de dosificación para la administración de la composición farmacéutica de la presente invención no se limita a un medicamento farmacológico. Es decir, se puede administrar como alimentos y bebidas de diversas formas, tales como alimentos funcionales, alimentos saludables (incluyendo bebidas), o alimentos para animales.

10 La formulación del medicamento de la presente invención no está limitada. Sin embargo, se pueden mencionar agentes orales, tales como polvos, gránulos sutiles, gránulos, comprimidos, cápsulas, suspensiones, emulsiones, jarabes, extractos, o bolas; o agentes parentales, tales como inyecciones, líquidos para uso externo, pomadas, supositorios, cremas para administración local, o gotas para los ojos.

15 El agente oral que se ha mencionado anteriormente se puede preparar de acuerdo con los procedimientos convencionales, usando cargas, tales como gelatina, alginato de sodio, almidón, almidón de maíz, sacarosa, lactosa, glucosa, manitol, carboximetil-celulosa, dextrina, polivinil pirrolidona, celulosa cristalina, lecitina de soja, sacarosa, éster de ácido graso, talco, estearato de magnesio, polietilenglicol, silicato de magnesio, anhídrido silícico, o silicato de aluminio sintético; aglomerantes, agentes disgregantes, detergentes, lubricantes, aceleradores de flujo, diluyentes, conservantes, colorantes, sabores, agentes correctores, estabilizantes, humectantes, antisépticos, antioxidantes, o similares.

20 Los ejemplos de la administración parental incluyen inyección (por ejemplo, inyección subcutánea o inyección intravenosa), administración rectal, o similares. Entre estos, las inyecciones son preferentes.

Por ejemplo, en la preparación de las inyecciones, un disolvente acuoso tal como una solución salina normal o una solución de Ringer, soluciones no acuosas tales como aceite vegetal o éster de ácido graso, un agente de tonicidad tal como glucosa o cloruro sódico, un agente auxiliar de solubilidad, un agente estabilizante, un agente antiséptico, un agente de suspensión o un agente emulsionante, se puede usar opcionalmente, además del principio activo.

25 Además, el medicamento de la presente invención se puede administrar por medio de una formulación de liberación sostenida usando un polímero de liberación sostenida. Por ejemplo, la composición farmacéutica de la presente invención se introduce en un gránulo de polímero de acetato de etileno y vinilo, y a continuación el gránulo se puede implantar quirúrgicamente en un tejido que se va a tratar o prevenir.

30 El medicamento puede contener, pero no se limita a, de un 0,01 a un 99 % en peso, preferentemente de un 0,1 a un 80 % en peso, del principio activo.

Una dosis del medicamento de la presente invención se puede determinar de forma apropiada de acuerdo con, por ejemplo, edad, sexo, peso corporal, o grado de síntoma de cada paciente, el tipo de cada principio activo, tipo de cada enfermedad, vía de administración, o similares, y la dosificación determinada se puede administrar por vía oral o por vía parenteral.

35 Además, una forma de dosificación para la administración del medicamento de la presente invención no se limita a un medicamento farmacológico. Es decir, se puede administrar como alimentos y bebidas en diversas formas, como alimentos funcionales, alimentos saludables (incluyendo bebidas), o alimentos para animales.

#### [4] Procedimiento para tratar o prevenir enfermedades genéticas mitocondriales

40 Un procedimiento para tratar o prevenir enfermedades genéticas mitocondriales de la presente invención comprende la administración, a un sujeto con necesidad de tratamiento de enfermedad genética mitocondrial, del compuesto de poliamida en una cantidad eficaz del mismo. La poliamida administrada no está limitada en particular, siempre y cuando sea el compuesto de poliamida que se ha descrito en el párrafo "[1] Compuesto de poliamida" que se ha mencionado anteriormente. Se puede usar todo el compuesto de poliamida como se ha mencionado anteriormente. En los procedimientos de tratamiento o prevención de la presente invención, se puede administrar uno o más compuestos de poliamida.

45 Como la enfermedad genética mitocondrial, se puede mencionar una enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación A3236G, Las enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación A3243G, enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación A3243T, una enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación G3244A, una enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación G3249A, enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación T3250C, una enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación A3251G, una enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación A3252G, una enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación C3254A, una enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación C3254G, una enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación G3255A, enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación C3256T, enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación T3258C, enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación A3260G. La composición de poliamida apropiada que se describe en el párrafo "[3] Composición farmacéutica" se puede seleccionar y usar de

acuerdo con cada mutación.

[5] Compuesto de poliamida para tratar o prevenir enfermedades genéticas mitocondriales

Un compuesto de poliamida para tratar o prevenir enfermedades genéticas mitocondriales de la presente invención solo se usa para el tratamiento de enfermedades genéticas mitocondriales. El compuesto de poliamida para tratar o prevenir enfermedades genéticas mitocondriales de la presente invención no está limitado en particular, siempre y cuando sea el compuesto de poliamida que se ha descrito en el párrafo "[1] Compuesto de poliamida" que se ha mencionado anteriormente. Se puede usar todo el compuesto de poliamida como se ha mencionado anteriormente. Un compuesto de poliamida o una combinación de dos o más compuestos de poliamida para tratar o prevenir enfermedades genéticas mitocondriales de la presente invención se puede administrar a pacientes con enfermedades genéticas mitocondriales.

Con respecto a las enfermedades genéticas mitocondriales, se puede mencionar una enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación A3236G, enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación A3243G, enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación A3243T, una enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación G3244A, una enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación G3249A, enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación T3250C, una enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación A3251G, una enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación A3252G, una enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación C3254A, una enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación C3254G, una enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación G3255A, enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación C3256T, enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación T3258C, enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación A3260G. La composición de poliamida apropiada que se describe en el párrafo "[3] Composición farmacéutica" se puede seleccionar y usar de acuerdo con cada mutación.

[5] Uso para preparar medicamentos para prevenir o tratar enfermedades genéticas mitocondriales

Un uso de la presente invención es preparar un medicamento para prevenir o tratar enfermedades genéticas mitocondriales. El compuesto de poliamida no está limitado en particular, siempre y cuando sea el compuesto de poliamida que se ha descrito en el párrafo "[1] Compuesto de poliamida" que se ha mencionado anteriormente. Se puede usar todo el compuesto de poliamida como se ha mencionado anteriormente. En la preparación de medicamentos para prevenir o tratar enfermedades genéticas mitocondriales, se puede usar uno o más compuestos de poliamida.

Con respecto a las enfermedades genéticas mitocondriales, se puede mencionar una enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación A3236G, enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación A3243G, enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación A3243T, una enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación G3244A, una enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación G3249A, enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación T3250C, enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación A3251G, una enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación A3252G, una enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación C3254A, una enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación C3254G, una enfermedad genética mitocondrial causada por la mutación G3255A, enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación C3256T, enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación T3258C, enfermedades genéticas mitocondriales causadas por la mutación A3260G. La composición de poliamida apropiada que se describe en el párrafo "[3] Composición farmacéutica" se puede seleccionar de acuerdo con cada mutación, y usar para preparar medicamentos para prevenir o tratar enfermedades genéticas mitocondriales.

<<Mecanismo de aumento de ADNmt de tipo silvestre>>

El ADN bicatenario diana corresponde a la secuencia de bases de 3236 a 3260 en el ADNmt, y está presente en el gen de ARNt<sup>Leu(UUR)</sup> mitocondrial. El compuesto de poliamida de la presente invención se diseña de acuerdo con la secuencia de bases del ADNmt de tipo silvestre. Por lo tanto, se supone que el compuesto de poliamida de la presente invención se une al ADNmt de tipo silvestre de forma selectiva, en la afirmación en la que el ADNmt de tipo silvestre y el ADNmt mutante coexisten. Es decir, el compuesto de poliamida de la presente invención se puede unir de forma selectiva al ADNmt de tipo silvestre en comparación con el ADNmt mutante. Por lo tanto, se supone que el compuesto de poliamida puede estimular la replicación del ADNmt de tipo silvestre. En relación con esto, se sabe que una proteína denominada mTERF (factor de terminación de transcripción mitocondrial) se une a una región de la posición de 3229 a 3256 en la secuencia del ADNmt. Un mecanismo para estimular la replicación del ADNmt de tipo silvestre con el compuesto de poliamida de la presente invención no está limitado. Sin embargo, supone que el compuesto de poliamida inhibe la unión de mTERF al ADNmt de tipo silvestre.

Por lo tanto, un efecto de la presente invención se puede obtener usando compuestos que se unen a un nucleótido de una secuencia de las bases 3236 a 3260 o de la base 3229 a la base 3256 en el ADNmt, en lugar del compuesto de poliamida de la presente invención. Con respecto al compuesto que se puede unir a los nucleótidos que se han mencionado anteriormente (en lo sucesivo en el presente documento, denominado compuesto de unión a

nucleótido) distinto al compuesto de poliamida, se puede mencionar, por ejemplo, PNA o compuesto de bajo peso molecular. El compuesto de poliamida de la presente invención no se une al ADNmt mutante, pero se une al ADNmt de tipo silvestre. Si el PNA fue compuesto de bajo peso molecular no se une al ADNmt mutante y se une al ADNmt de tipo silvestre, se puede obtener el mismo efecto que el compuesto de poliamida de la presente invención. Una longitud de la región de nucleótidos a la que se une el compuesto de unión a nucleótido, no está limitada, siempre y cuando sea de 3 o más nucleótidos, pero preferentemente 4 o más nucleótidos, más preferentemente 5 o más nucleótidos, además preferentemente 6 o más nucleótidos.

Los efectos ventajosos del compuesto de poliamida de la presente invención se muestran en la replicación del ADNmt de tipo silvestre, el ADN bicatenario que tiene una secuencia de las bases de 3236 a 3260 o de las bases 3229 a 3256 en el ADNmt y que compite con el ADNmt mutante. Es decir, los efectos que se han mencionado anteriormente no se muestran en un compuesto de poliamida que se une al ADNmt de tipo silvestre de otra región que tiene el ADNmt mutante. En otras palabras, el compuesto de poliamida de la presente invención se une de forma selectiva al ADNmt de tipo silvestre que tiene una secuencia de las bases 3236 a 3260 en el ADNmt, como resultado, la tasa de replicación del ADNmt de tipo silvestre se puede aumentar en comparación con una del ADNmt mutante.

(Citotoxicidad del compuesto de poliamida)

Para usar un compuesto para tratar enfermedades, es importante que el compuesto no tenga defectos adversos en un sujeto (ser humano o animales distintos al ser humano) con necesidad de una administración del compuesto. Como se muestra en el Ejemplo 4, el compuesto de poliamida de la presente invención no era citotóxico para las células 143B y las células HeLa. Por lo tanto, se supone que el agente para estimular la replicación del ADNmt de tipo silvestre, o la composición farmacéutica de la presente invención no tiene efectos secundarios en el ser humano o similares.

La secuencia de nucleótidos del ADN bicatenario diana en la que se une el compuesto de poliamida de la presente invención se solapa con la secuencia de nucleótidos de unión a mTERF de 28 pb. Se supone que mTERF se une a 28 pb de la secuencia de nucleótidos presente cerca de los límites del 16S ARNr y ARNt<sup>Leu(UUR)</sup>, y se refiere a una terminación de transcripción de la misma. Se cree que una función principal de mTERF es sintetizar de forma eficaz los ARNr mitocondriales. La región de unión del compuesto de poliamida de la presente invención se solapa con la región de unión de mTERF, y por lo tanto, se considera que el compuesto de poliamida inhibe la función (es decir, la síntesis de los ARNr mitocondriales) de mTERF, y tiene efectos adversos en las células. Sin embargo, el compuesto de poliamida de la presente invención no es citotóxico, y por lo tanto se supone que el agente para estimular la replicación del ADNmt de tipo silvestre o la composición farmacéutica de la presente invención no conduce a efectos secundarios.

### **Ejemplos**

La presente invención se ilustrará a continuación con, pero en modo alguno se limita a, los siguientes Ejemplos.

#### **<<Ejemplo 1>>**

En este Ejemplo, una poliamida ML1 se produjo de acuerdo con un procedimiento de Fmoc mediante una síntesis en fase sólida. La poliamida ML1 tiene la siguiente secuencia: Ac-Py-Py-Py-β-Im-Py-Py-γ-Im-Im-Py-β-Im-Py-Im-β-Dp.

En la síntesis, se usó la Resina NovaPEG Wang en forma de una fase sólida, y Py(N-metilpirrol), Im(N-metilimidazol), β-alanina, o ácido γ-aminobutírico se añadió secuencialmente mediante deshidratación condensación (unión de amida), y una cadena se prolongó. Por último, se añadió N,N-dimetil-1,3-propanodiamina, y el conjunto se retiró de la superficie de la fase sólida a aproximadamente 60 °C para obtener un compuesto de poliamida. Un peso molecular del compuesto de poliamida resultante se confirmó mediante una espectroscopía de masas (Shimadzu Corporation).

La poliamida ML1 resultante se purificó por hasta elución a partir de un gradiente de acetato al 0,1 %/acetonitrilo en cromatografía de fase inversa (solución de Prominence/LC, Shimadzu Corporation). La poliamida ML1 resultante se liofilizó en un vacío mediante FDU-1200 (Tokyo Rikakikai Co., Ltd.; EYELA) para retirar el disolvente. Se obtuvo un sólido en polvo de color amarillo claro o de color blanco.

La poliamida ML1 se disolvió en ddH<sub>2</sub>O o solución de DMSO al 50 % y las soluciones se usaron en los Ejemplos posteriores.

La poliamida en polvo se disolvió en ddH<sub>2</sub>O o solución acuosa de DMSO al 50 %, y la absorbancia de la solución de poliamida ML1 a la longitud de onda de absorción máxima se midió con espectrofotómetro (longitud de la trayectoria de la luz = 1 cm). La concentración (M) de la poliamida ML1 se puede calcular a partir de la absorbancia de acuerdo con las siguientes ecuaciones:

<Cuando el disolvente es ddH<sub>2</sub>O>

$$\text{Concentración (M)} = \text{Absorbancia} / [8600 \times 12]$$

< Cuando el disolvente es DMSO, o DMF>

$$\text{Concentración (M)} = \text{Absorbancia} / [9800 \times 12]$$

### 5 <<Ejemplo 2>>

En este Ejemplo, una unión específica a la secuencia de bases se confirmó *in vitro* entre la poliamida MLI1 y la diana. El ensayo se realizó en EMSA (ensayo del desplazamiento de movilidad electroforética). El oligo-ADN de tipo silvestre con 21 bases que contiene la base 3243 en la que existe la mutación A3243G y el oligo-ADN del mismo con la mutación la mutación A3243G se produjeron. Un ADN de cadena codificante con FITC unido en el extremo 5' terminal y un ADN de cadena no codificante se desnaturalizaron por vía térmica, se enfriaron lentamente, y se hibridaron para obtener los ADNds que tienen la siguiente secuencia:

<Molde de ADNmt normal (tipo silvestre)>

5'-FITC-TGTTAAAGATGGCAGAGCCCG-3'  
3'-ACAATTTCTACCGTCTCGGGC-5'

15 <Molde de ADNmt con la mutación A3243G>

5'-FITC-TGTTAAAGATGGCAGGGCCCG-3'  
3'-ACAATTTCTACCGTCCCGGGC-5'

Las partes subrayadas son dominios de reconocimiento de la poliamida MLI.

20 Al ADNds (50 pmol/10 µl), se añadieron 40 µl de ddH<sub>2</sub>O y el conjunto se diluyó a 1 pmol/µl. 4 pmol del ADNds resultante se mezclaron con la solución de poliamida MLI de modo que la concentración llevó a ser 10<sup>-4</sup> M, y se incubó durante 1 hora a 37 °C. A continuación, la muestra se mezcló con un tampón de carga y se aplicó sobre gel de acrilamida no desnaturalizado al 20 % (0,5 X TBE) que se desarrolló previamente durante 10 minutos a 350 V. Una electroforesis se realizó a 4 °C di 100 V hasta que BPB alcanzó 3/4 del extremo inferior del gel, y un desplazamiento de la banda se detectó con LAS-3000 (Fuji Film).

25 La composición del gel de acrilamida no desnaturalizado usado en EMSA se muestra como sigue a continuación:

<Composición del gel de EMSA>

Acrilamida al 30 %	16,5 ml
10XTBE	2,5 ml
APS al 10 %	188 µl
glicerol	878 µl
ddH <sub>2</sub> O	14,0 ml
TEMED	11,3 ml
	<hr/>
	25,0 ml

30 Como se ilustra en la Fig. 3, existe un claro desplazamiento de la banda debido a la unión de la poliamida MLI y el ADNds de tipo silvestre a 10<sup>-4</sup> M poliamida MLI. Este dato experimental muestra que la poliamida MLI se une rápida y firmemente al ADNds diana *in vitro*. Además, un desplazamiento de la banda debido a la unión de la poliamida MLI y el ADNds mutante no se observó claramente a la concentración (10<sup>-4</sup> M) en la que se observó el desplazamiento debido a la unión del ADNds que tenía la secuencia diana. Esto significa que la poliamida MLI puede reconocer una diferencia de una base, y realmente se une a la secuencia de bases específica *in vitro*.

### <<Ejemplo 3>>

35 En este Ejemplo, se confirmó el efecto de facilitar la replicación de los ADNmt de tipo silvestre por la poliamida MLI en células.

La poliamida MLI se proporcionó a las células híbridas MELAS cultivadas para confirmar si los ADNmt de tipo silvestre se reproducían en células de forma positiva.

Las células híbridas 2SD se sembraron en una placa de 10 cm, y la poliamida MLI disuelta en DMSO al 50 % se añadió al DMEM completo de modo que una concentración final de la misma llegó a ser 1 µM, 5 µM, o 10 µM. El

medio al que se añadió la poliamida MLI se sustituyó cada tres días. En los experimentos de control, el DMSO con la misma tasa diluida se añadió al medio. La solución de poliamida en solución de DMSO al 50 % se diluyó con ddH<sub>2</sub>O de modo que la concentración de DMSO en el medio llegó a ser de un 0,1 % o inferior, o un 0,05 % como máximo.

5 Los ADN totales se extrajeron de las células híbridas tratadas con la poliamida MLI 14 días más tarde, a continuación se llevó a cabo una PCR-RFLP, las bandas se analizaron de forma cuantitativa mediante electroforesis de microchip (MCE-202 MultiNA; Shimadzu Corporation), y se analizó una tasa de mutación de las células híbridas.

10 Como resultado, un nivel de aumento dependiente de la concentración de los ADNmt de tipo silvestre se lo salvo claramente en las células híbridas tratadas con la poliamida MLI durante 14 días. En particular, la disminución de la tasa de mutación se observó a 1  $\mu$ M o 5  $\mu$ M, acompañada por el aumento de la replicación de los ADNmt normales (tipo silvestre) (véase la Fig. 4).

Además, los efectos a largo plazo se analizaron cuando la concentración de la poliamida MLI en el medio era 1  $\mu$ M, 500 nM, o 100 nM. Los ADN totales se extrajeron de las células híbridas 7 días, 15 días, o 35 días más tarde, a continuación se llevó a cabo una PCR-RFLP, se realizó electroforesis en gel de agarosa al 2 % (1 X TAE), y se midió un aumento del nivel de los ADNmt de tipo silvestre.

15 Como resultado, un nivel de aumento claramente visible de los ADNmt de tipo silvestre se confirma en todas las células tratadas a la concentración de 1  $\mu$ M, 500 nM, o 100 nM, y electroforesis en gel de agarosa después de PCR-RFLP, en comparación con el control. La Fig. 5 muestra el aumento de los ADNmt de tipo silvestre después de 15 días.

20 Además, las células híbridas 2SD se cultivaron durante 35 días a 500 nM de la poliamida MLI, y se observó un aumento continuo de los ADNmt de tipo silvestre (véase la Fig. 6).

#### <<Ejemplo 4>>

En este Ejemplo, la citotoxicidad de la poliamida MLI se examinó para confirmar los efectos secundarios de la composición farmacéutica y otros de acuerdo con la presente invención.

25 Las células 143B o las células HeLa se cultivaron en un medio preparado por adición de 1  $\mu$ M de poliamida ML1 a un medio DMEM con adición de FBS al 10 % (libre de piruvato de sodio y uridina) en el que las células con defecto de cadena respiratoria son inviables. La síntesis de las proteínas de la cadena respiratoria en las mitocondrias es esencial para el soporte de la vida, y solamente una ligera disfunción de la misma da como resultado la muerte celular.

30 Las células 143B o las células HeLa se cultivaron durante una semana en DMEM normal, DMEM completo (que contenía 0,1 mg/ml de piruvato de sodio, y 50  $\mu$ g/ml de uridina), DMEM completo con la poliamida ML1, o DMEM con la poliamida ML1, y se observó la supervivencia o la muerte.

35 En el cultivo de las células 143B, la poliamida MLI se añadió a la concentración de 100 nM, 500 nM, o 1  $\mu$ M, mientras que en el cultivo de las células HeLa, la poliamida MLI se añadió a la concentración de 1  $\mu$ M. La Fig. 7 muestra células 143B con adición de 1  $\mu$ M (Fig. 7A), células 143B con adición de 500 nM o 100 nM (Fig. 7B), y células HeLa con adición de 1  $\mu$ M (Fig. 7C) después de 30 horas desde el comienzo del cultivo. Las células 143B o las células HeLa cultivadas en DMEM sin uridina y piruvato de sodio no mostraron ningún cambio morfológico o citotoxicidad celular después de cultivo durante 30 horas o 1 semana adicional.

#### **Aplicabilidad industrial**

40 El compuesto de poliamida de acuerdo con la presente invención se puede usar como un ingrediente eficaz de un agente para estimular la replicación de un ADNmt de tipo silvestre o una composición farmacéutica para tratar una enfermedad genética mitocondrial. Una enfermedad genética mitocondrial se puede tratar o prevenir con el presente agente para estimular la replicación del ADNmt de tipo silvestre o la presente composición farmacéutica para tratar una enfermedad genética mitocondrial. En particular, la composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención puede tratar o prevenir una enfermedad genética mitocondrial causada por al menos una mutación seleccionada entre el grupo que consiste en la mutación A3236G, la mutación A3243G, la mutación A3243T, la mutación G3244A, la mutación G3249A, la mutación T3250C, la mutación A3251G, mutación A3252G, la mutación C3254A, la mutación C3254G, la mutación G3255A, la mutación C3256T, la mutación T3258C, y la mutación A3260G.

50 Aunque la presente invención se ha descrito con referencia a realizaciones específicas, diversos cambios y modificaciones evidentes para las personas con experiencia en la materia son posibles siempre y cuando dichos cambios y modificaciones estén cubiertos por las reivindicaciones adjuntas.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> YANO, Takamitsu

<120> compuesto de poliamida y composición farmacéutica para enfermedad mitocondrial

<130> YAN-903

<150> JP 2011-080804  
 <151> 31-03-2011

5 <160> 12

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1  
 <211> 25  
 <212> ADN  
 10 <213> *Homo sapiens*

<400> 1  
 atggcagagc ccggaatcg cataa 25

<210> 2  
 <211> 25  
 <212> ADN  
 15 <213> *Homo sapiens*

<400> 2  
 ttatgcgatt accgggctct gccat 25

<210> 3  
 <211> 8  
 <212> ADN  
 20 <213> *Homo sapiens*

<400> 3  
 tggcagag 8

25 <210> 4  
 <211> 11  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 4  
 30 tggcagagcc c 11

<210> 5  
 <211> 12  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

35 <400> 5  
 tggcagagcc cg 12

<210> 6  
 <211> 8  
 <212> ADN  
 40 <213> *Homo sapiens*

<400> 6  
 agcccggg 8

<210> 7  
 <211> 9  
 <212> ADN  
 45 <213> *Homo sapiens*

<400> 7  
 agcccggta 9

<210> 8  
 <211> 7  
 50

	<212> ADN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 8	
	tggcaga	7
5	<210> 9	
	<211> 8	
	<212> ADN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
10	<400> 9	
	atggcaga	8
	<210> 10	
	<211> 9	
	<212> ADN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
15	<400> 10	
	taatcgcac	9
	<210> 11	
	<211> 9	
20	<212> ADN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 11	
	aatcgcata	9
	<210> 12	
	<211> 8	
25	<212> ADN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 12	
	tcgcataa	8

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de poliamida que se une a un ADN bicatenario diana, en el que dicho ADN bicatenario diana comprende al menos un par de nucleótidos seleccionados entre el grupo que consiste en un par A/T que consiste en la primera A del siguiente ADN de cadena codificante y la T correspondiente, un par A/T que consiste en la 8ª A del siguiente ADN de cadena codificante y la T correspondiente, un par G/C que consiste en la 9ª G del siguiente ADN de cadena codificante y la C correspondiente, un par G/C que consiste en la 14ª G del siguiente ADN de cadena codificante y la C correspondiente, un par T/A que consiste en la 15ª T del siguiente ADN de cadena codificante y la A correspondiente, un par A/T que consiste en la 16ª A del siguiente ADN de cadena codificante y la T correspondiente, un par A/T que consiste en la 17ª A del siguiente ADN de cadena codificante y la T correspondiente, un par C/G que consiste en la 19ª C del siguiente ADN de cadena codificante y la G correspondiente, un par G/C que consiste en la 20ª G del siguiente ADN de cadena codificante y la C correspondiente, un par C/G que consiste en la 21ª C del siguiente ADN de cadena codificante y la G correspondiente, un par T/A que consiste en la 23ª T del siguiente ADN de cadena codificante y la A correspondiente, un par A/T que consiste en la 25ª A del siguiente ADN de cadena codificante y la T correspondiente, en el ADN bicatenario de la siguiente fórmula(1):

[Quím. 1]



que consiste en el ADN de cadena codificante que tiene una secuencia de bases 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1) y el ADN de cadena no codificante que tiene una secuencia de bases 5'-TTATGCGATTACCGGGCTCTGCCAT-3' (SEQ ID NO: 2); y al menos un extremo de dicho ADN bicatenario diana es un par A/T o un par T/A;

(1) un resto del compuesto de poliamida, que corresponde al par A/T o al par T/A en un extremo del mismo es una estructura de vuelta seleccionada entre el grupo que consiste en resto de ácido  $\gamma$ -aminobutírico, el resto de ácido (R)2,4-diaminobutírico, y resto de ácido 5-aminovalérico, en el que un átomo de hidrógeno de los restos puede estar sustituido con un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo amino, un grupo hidroxilo, un grupo carboxilo, o -NH<sub>3</sub>;

(2) la región de unión del compuesto de poliamida, que corresponde al ADN bicatenario diana excepto por el par A/T o el par T/A en un extremo del mismo, está compuesta por

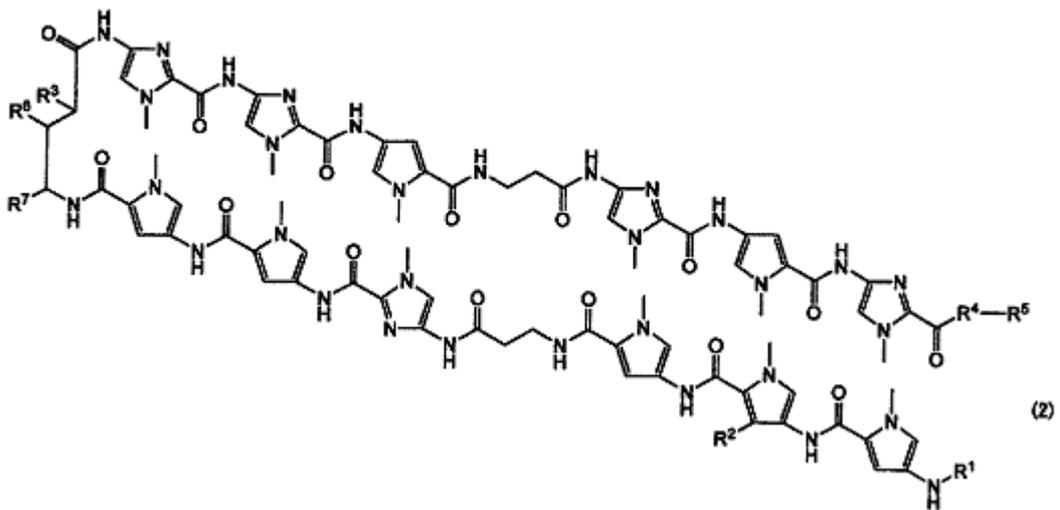
- (a) Im/Py, o Im/ $\beta$ , que corresponde al par G/C del ADN bicatenario diana,
- (b) Py/Im, o  $\beta$ /Im, que corresponde al par C/G del ADN bicatenario diana,
- (c) Py/Py, Py/Hp, Py/ $\beta$ ,  $\beta$ /Py, o  $\beta$ / $\beta$  que corresponde al par A/T del ADN bicatenario diana, y
- (d) Py/Py, H $\beta$ /Py, Py/ $\beta$ ,  $\beta$ /Py, o  $\beta$ / $\beta$ , que corresponde al par T/A del ADN bicatenario diana,

(en el que Im es N-metilimidazol, Py es N-metilpirrol, Hp es 3-hidroxi-N-metilpirrol, y  $\beta$  es  $\beta$ -alanina; y Im/ $\beta$  que corresponde al par G/C y  $\beta$ /Im que corresponde al par C/G solo se puede usar en el caso de un Im  $\cdot$   $\beta$ /Im  $\cdot$   $\beta$  sucesivo que corresponde a un par G  $\cdot$  C/G  $\cdot$  C sucesivo o un  $\beta$   $\cdot$  Im/ $\beta$   $\cdot$  Im que corresponde a un par C  $\cdot$  G/C  $\cdot$  G sucesivo; y un átomo de hidrógeno del resto Im, el resto Py, el resto Hp, o resto  $\beta$  puede estar sustituido con un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo amino, un grupo hidroxilo, un grupo carboxilo, o -NH<sub>3</sub>),

(3) un extremo del compuesto de poliamida que corresponde al extremo 5' terminal del otro extremo del ADN bicatenario diana es un grupo amino de resto Im, un grupo amino de resto Py, un grupo amino de resto Hp, un grupo amino de  $\beta$ -alanina, un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo hidroxilo, un grupo carboxilo, o un grupo acilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono; un extremo del compuesto de poliamida que corresponde al extremo 3' terminal del otro extremo del ADN bicatenario diana es un grupo carboxilo de resto Im, un grupo carboxilo de resto Py, un grupo carboxilo de resto Hp, un grupo carboxilo de  $\beta$ -alanina, un resto de N,N-dimetilaminopropilo, o un resto de  $\beta$ -alanina  $\cdot$  N,N-dimetilaminopropilo.

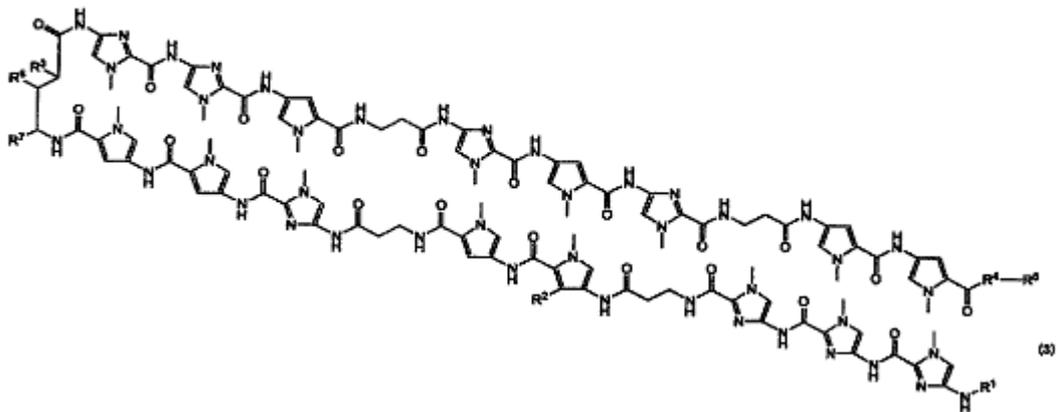
2. El compuesto de poliamida de acuerdo con la reivindicación 1, de la fórmula seleccionada entre el grupo que consiste en la Fórmula (2):

[Quim. 2]



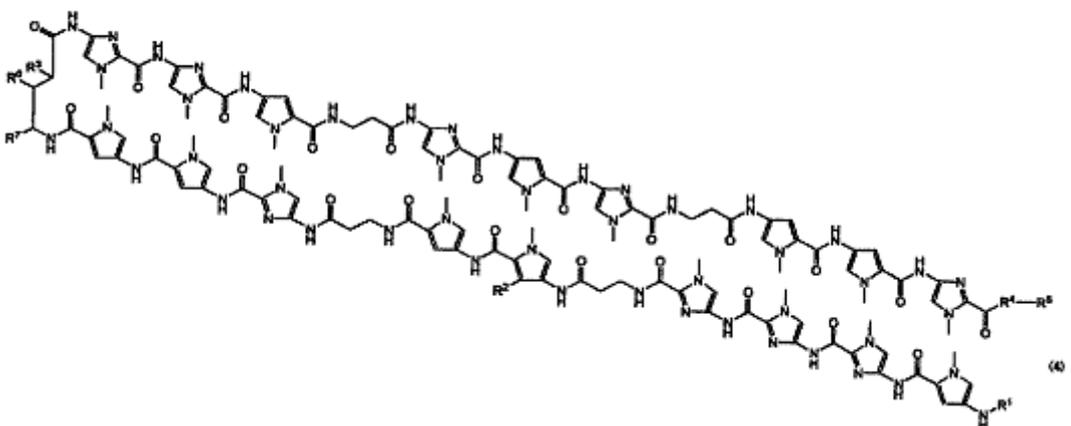
Fórmula (3):

[Quim. 3]



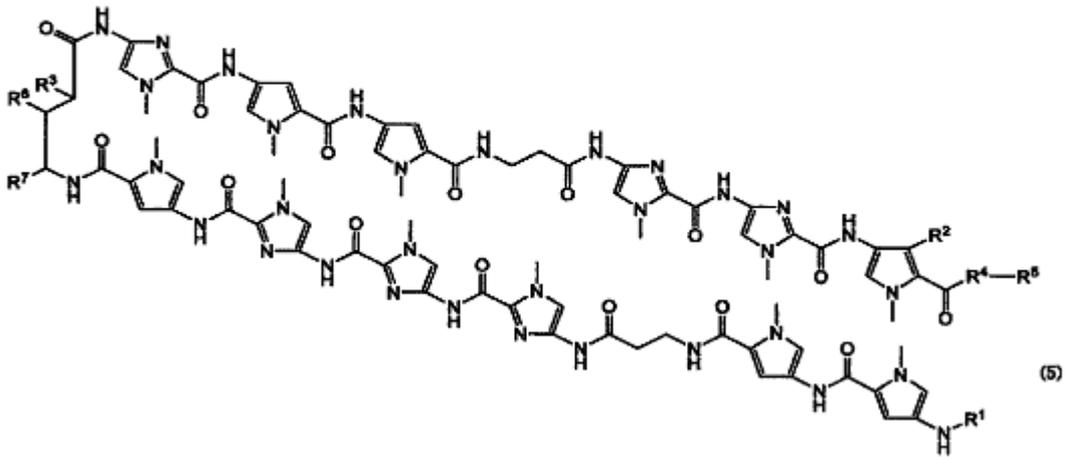
Fórmula (4):

[Quim. 4]



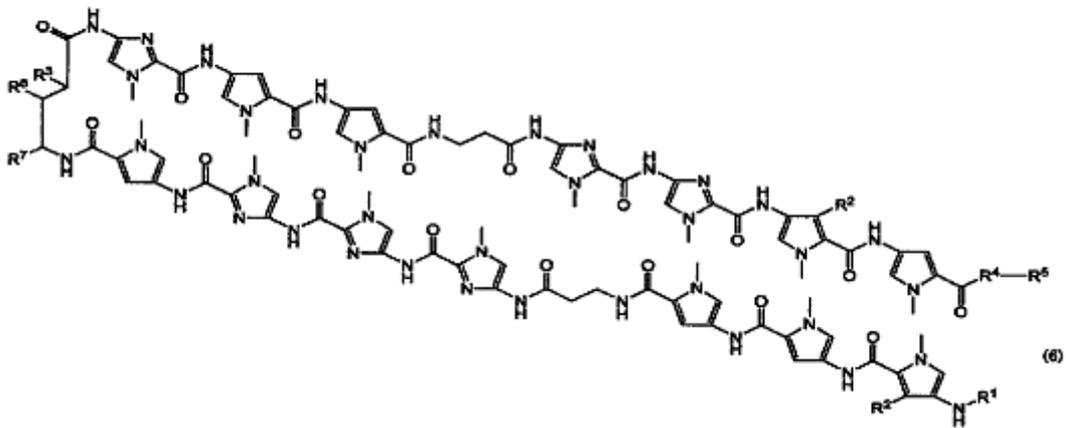
Fórmula (5):

[Quim. 5]



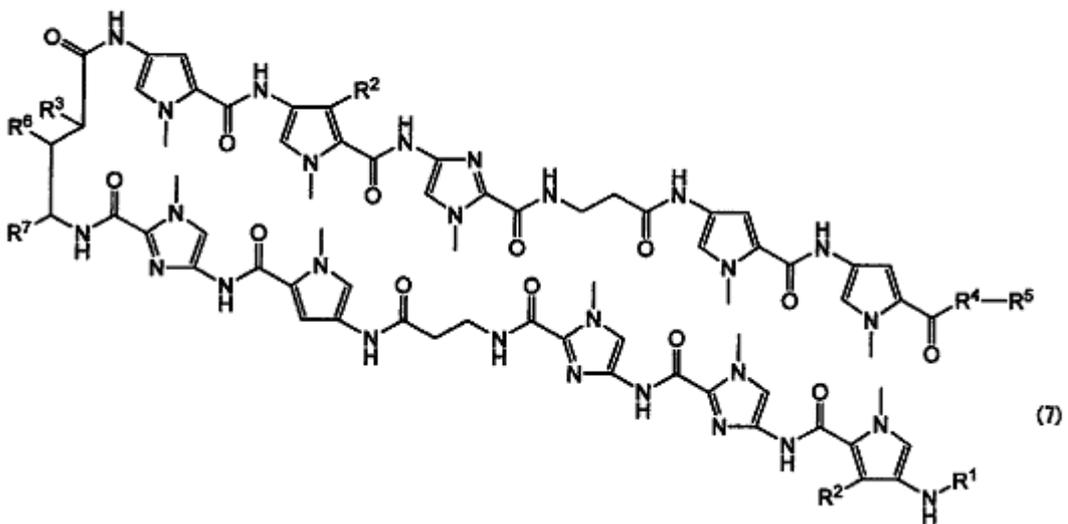
Fórmula (6):

[Quim. 6]



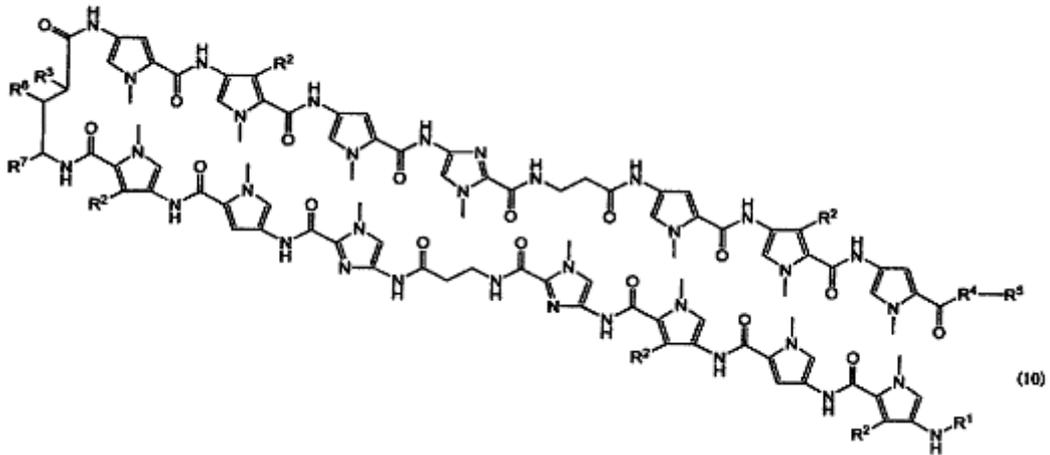
Fórmula (7):

[Quim. 7]



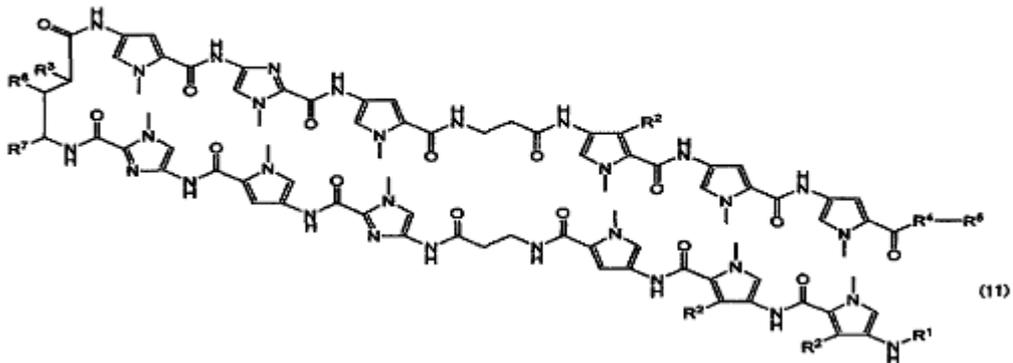


[Quim. 10]



y  
Fórmula (11):

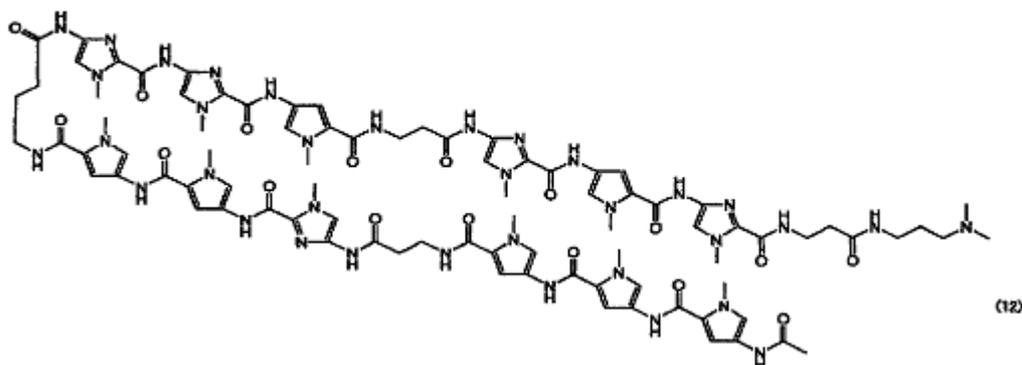
[Quim. 11]



- 5 [en las que, R<sup>1</sup> es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo hidroxilo, un grupo amino, un grupo carboxilo, o un grupo acilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, R<sup>2</sup> es independientemente un átomo de hidrógeno, o un grupo hidroxilo, R<sup>3</sup>, R<sup>6</sup>, y R<sup>7</sup> son independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo amino, o -NH<sub>3</sub>,  
R<sup>4</sup> es un enlace sencillo, o resto de β-alanina,
- 10 R<sup>5</sup> es un grupo hidroxilo, o resto de N,N-dimetilaminopropilo; y un átomo de hidrógeno del resto Im, resto Py, resto Hp, resto β, resto de ácido γ-aminobutírico, o resto de ácido (R) 2,4-diaminobutírico puede estar sustituido con un grupo alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un grupo amino, un grupo hidroxilo, o un grupo carboxilo].

3. El compuesto de poliamida de acuerdo con la reivindicación 2, de Fórmula (12):

## [Quim. 12]



4. Un agente para su uso en prevención y tratamiento de una enfermedad genética mitocondrial **caracterizado porque** comprende el compuesto de poliamida de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como un principio activo.
5. Una composición farmacéutica **caracterizada porque** comprende el compuesto de poliamida de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como un principio activo.
6. Una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento o prevención de neuropatía óptica bilateral esporádica con una mutación A3236G, **caracterizada porque** comprende el compuesto de poliamida de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, que tiene un resto que corresponde a un par A/T que consiste en la primera A del ADN de cadena codificante 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1) y la T correspondiente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como un principio activo.
7. Una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento o prevención de miopatía mitocondrial, encefalopatía, acidosis láctica, episodios similares a la apoplejía; diabetes e hipoacusia; miopatía mitocondrial; síndrome de Leigh; sordera sensorial; oftalmoplejía externa progresiva crónica; diabetes con hipoacusia de origen materno; o glomerulosclerosis segmentaria focal, con una mutación A3243G, **caracterizada porque** comprende el compuesto de poliamida de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que tiene un resto que corresponde a un par A/T que consiste en la 8ª A del ADN de cadena codificante 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1) y la T correspondiente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como un principio activo.
8. Una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento o prevención de miopatía mitocondrial, encefalopatía, acidosis láctica, episodios similares a la apoplejía; miopatía mitocondrial; sordera sensorial; oftalmoplejía externa progresiva crónica, con una mutación A3243T, **caracterizada porque** comprende el compuesto de poliamida de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que tiene un resto que corresponde a un par A/T que consiste en la 8ª A del ADN de cadena codificante 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1) y la T correspondiente, y el resto que corresponde a T del par A/T es resto Hp, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como un principio activo.
9. Una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento o prevención de miopatía mitocondrial, encefalopatía, acidosis láctica, episodios similares a la apoplejía con una mutación G3244A, **caracterizada porque** comprende el compuesto de poliamida de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que tiene un resto que corresponde a un par G/C que consiste en la 9ª G del ADN de cadena codificante 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1) y la C correspondiente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como un principio activo.
10. Una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento o prevención del síndrome de Kearns-Sayre con una mutación G3249A, **caracterizada porque** comprende el compuesto de poliamida de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, que tiene un resto que corresponde a un par G/C que consiste en la 14ª G del ADN de cadena codificante 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1) y la C correspondiente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como un principio activo.
11. Una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento o prevención de miopatía mitocondrial, oftalmoplejía externa progresiva crónica con una mutación T3250C, **caracterizada porque** comprende el compuesto de poliamida de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, que tiene un resto que corresponde a un par T/A que consiste en la 15ª T del ADN de cadena codificante 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1) y la A correspondiente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como un principio activo.
12. Una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento o prevención de miopatía mitocondrial con una

mutación A3251G, **caracterizada porque** comprende el compuesto de poliamida de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, que tiene un resto que corresponde a un par A/T que consiste en la 16ª A del ADN de cadena codificante 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1) y la T correspondiente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como un principio activo.

- 5 13. Una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento o prevención de miopatía mitocondrial, encefalopatía, acidosis láctica, episodios similares a la apoplejía con una mutación A3252G, **caracterizada porque** comprende el compuesto de poliamida de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, que tiene un resto que corresponde a un par A/T que consiste en la 17ª A del ADN de cadena codificante 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1) y la T correspondiente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como un principio activo.
- 10 14. Una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento o prevención de diabetes en el embarazo con una mutación C3254A, o miopatía mitocondrial con una mutación C3254G, **caracterizada porque** comprende el compuesto de poliamida de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, que tiene un resto que corresponde a un par C/G que consiste en la 19ª C del ADN de cadena codificante 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1) y la G correspondiente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como un principio activo.
- 15 15. Una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento o prevención de síndrome de solapamiento de MERRF/KSS con una mutación G3255A, **caracterizada porque** comprende el compuesto de poliamida de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, que tiene un resto que corresponde a un par G/C que consiste en la 20ª G del ADN de cadena codificante 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1) y la C correspondiente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como un principio activo.
- 20 16. Una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento o prevención de miopatía mitocondrial, encefalopatía, acidosis láctica, episodios similares a la apoplejía/epilepsia mioclónica con fibras de color rojo rasgadas con una mutación C3256T, **caracterizada porque** comprende el compuesto de poliamida de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, que tiene un resto que corresponde a un par C/G que consiste en la 21ª C del ADN de cadena codificante 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1) y la G correspondiente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como un principio activo.
- 25 17. Una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento o prevención de miopatía mitocondrial, encefalopatía, acidosis láctica, episodios similares a la apoplejía/miopatía con una mutación T3258C, **caracterizada porque** comprende el compuesto de poliamida de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, que tiene un resto que corresponde a un par T/A que consiste en la 23ª T del ADN de cadena codificante 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1) y la A correspondiente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como un principio activo.
- 30 18. Una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento o prevención de miopatía de origen materno del adulto y miopatía cardíaca con una mutación A3260G, **caracterizada porque** comprende el compuesto de poliamida de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, que tiene un resto que corresponde a un par A/T que consiste en la 25ª A del ADN de cadena codificante 5'-ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3' (SEQ ID NO: 1) y la T correspondiente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como un principio activo.
- 35

Figura 1

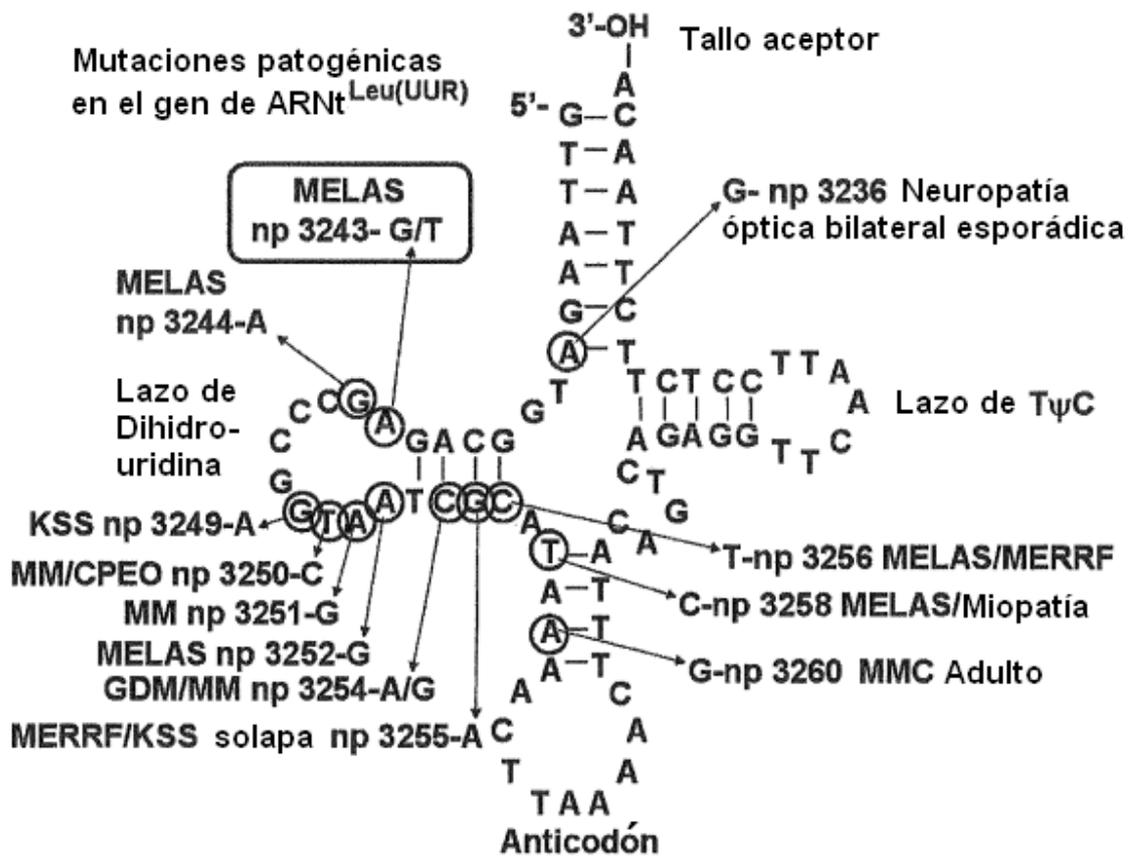


Figura 2

**Tipo normal (Tipo silvestre)**

5' -ATGGCAGAGCCCGGTAATCGCATAA-3'  
 3' -TACCGTCTCGGGCCATTAGCGTATT-5'

(a 1)

5' -TGGCAGAG-3'  
 γ ●●●β ●●●β Dp  
 γ ●●●β ●●●Ac  
 3' -ACCGTCTC-5'

(a 2)

5' -TGGCAGAGCCC-3'  
 γ ●●●β ●●●β ●●●β Dp  
 γ ●●●β ●●●β ●●●Ac  
 3' -ACCGTCTCGGG-5'

(a 3)

5' -TGGCAGAGCCCG-3'  
 γ ●●●β ●●●β ●●●β Dp  
 γ ●●●β ●●●β ●●●Ac  
 3' -ACCGTCTCGGGC-5'

(b 1)

5' -AGCCCGGT-3'  
 γ ●●●β ●●●β Dp  
 γ ●●●β ●●●Ac  
 3' -TCGGGCCA-5'

(b 2)

5' -AGCCCGGTA-3'  
 γ ●●●β ●●●β ●●●β Dp  
 γ ●●●β ●●●β ●●●Ac  
 3' -TCGGGCCAT-5'

(c 1)

5' -TGGCAGA-3'  
 Ac ●●●β ●●●γ  
 Dp β ●●●β ●●●γ  
 3' -ACCGTCT-5'

(c 2)

5' -ATGGCAGA-3'  
 Ac ●●●β ●●●γ  
 Dp β ●●●β ●●●γ  
 3' -TACCGTCT-5'

(d 1)

5' -TAATCGCAT-3'  
 ●●●β ●●●β Dp  
 γ ●●●β ●●●Ac  
 3' -ATTAGCGTA-5'

(e 1)

5' -AATCGCATA-3'  
 ●●●β ●●●β Dp  
 γ ●●●β ●●●β ●●●Ac  
 3' -TTAGCGTAT-5'

(f 1)

5' -TCGCATAA-3'  
 ●●●β ●●●β Dp  
 γ ●●●β ●●●β ●●●Ac  
 3' -AGCGTATT-5'

Figura 3

*Unión de poliamida a la secuencia de ADN diana*

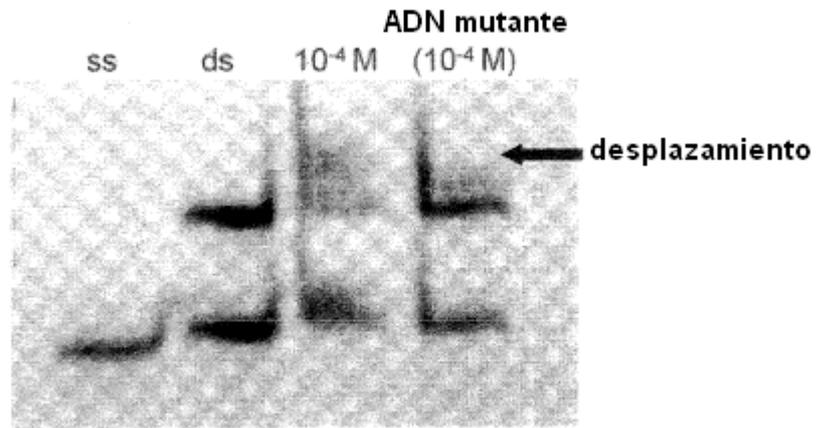


Figura 4

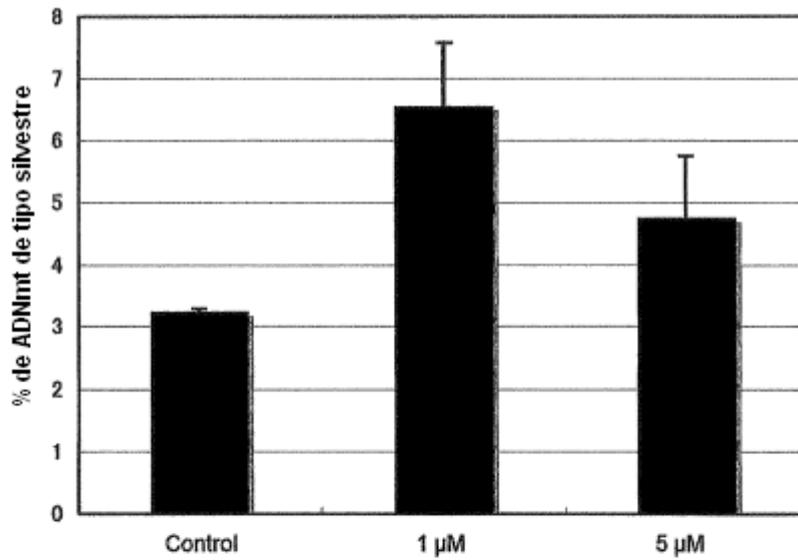


Figura 5

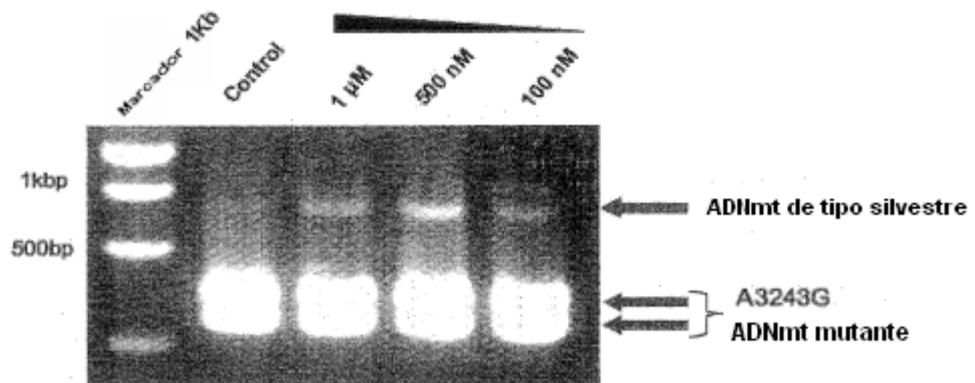


Figura 6

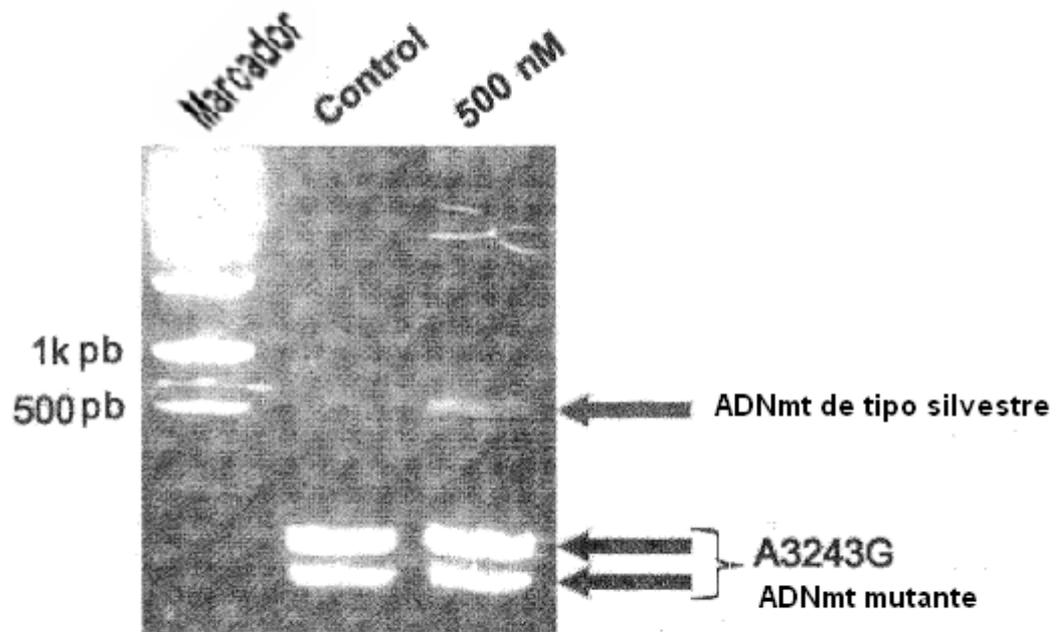
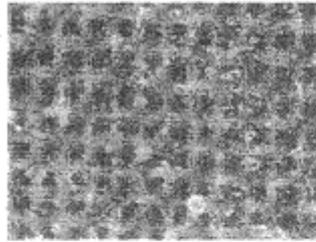
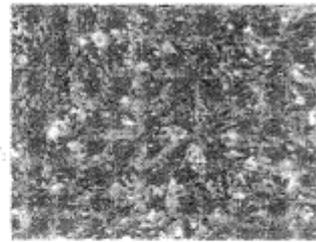


Figura 7

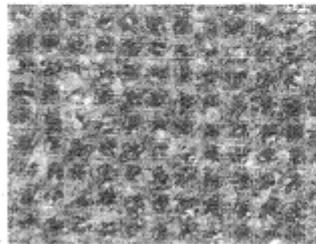
(A)



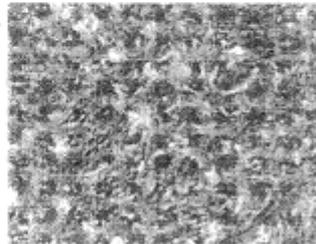
**DMEM Completo 143B**



**DMEM 143B**

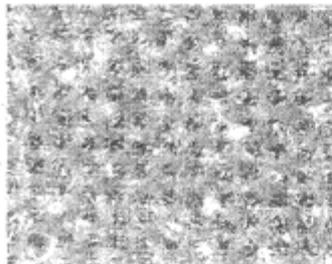


**DMEM Completo 143B  
con ML1 1 µM**

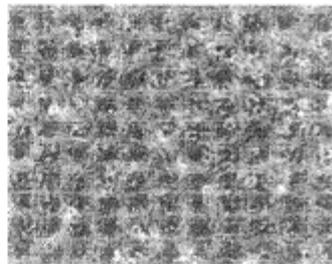


**DMEM 143B  
con ML1 1 µM**

(B)



**DMEM 143B con ML1 500 nM**

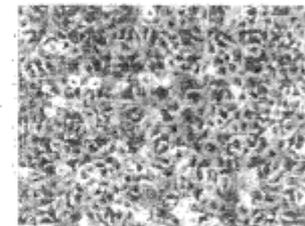


**DMEM 143B con ML1 100 nM**

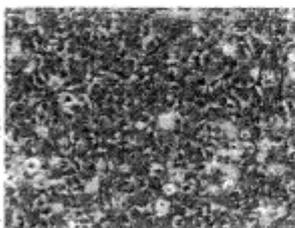
(C)



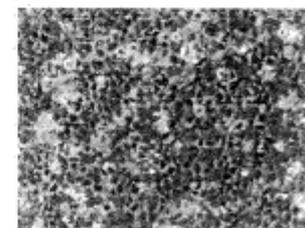
**DMEM Completo de HeLa**



**DMEM de HeLa**



**DMEM Completo de HeLa  
con ML1 1 µM**



**DMEM de HeLa con ML1 1 µM**