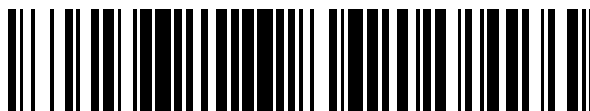


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 391 662**

51 Int. Cl.:

C07F 9/28 (2006.01)

A61K 33/42 (2006.01)

A61P 7/02 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

A61P 21/02 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 35/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07834884 .4**

96 Fecha de presentación: **26.09.2007**

97 Número de publicación de la solicitud: **2066680**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **10.06.2009**

54 Título: **Donadores de óxido nítrico de tionitrilo de trifenilfosfonio**

30 Prioridad:
28.09.2006 US 847686 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
28.11.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
28.11.2012

73 Titular/es:
MEDICAL RESEARCH COUNCIL (50.0%)
20 PARK CRESCENT
LONDON W1N 4AL, GB y
UNIVERSITY OF OTAGO (50.0%)

72 Inventor/es:
SMITH, ROBIN ANDREW JAMES y
MURPHY, MICHAEL PATRICK

74 Agente/Representante:
PÉREZ BARQUÍN, Eliana

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).

ES 2 391 662 T3

DESCRIPCIÓN

Donadores de óxido nítrico de tionitrito de trifenilfosfonio

5 Campo técnico

La invención se refiere a compuestos donadores de óxido nítrico y a usos de los mismos, en particular compuestos donadores de óxido nítrico que comprenden un tionitrito conjugado con catión de trifenilfosfonio.

10 Antecedentes de la invención

La formación endógena de óxido nítrico (NO) desempeña un papel clave en muchos sistemas biorreguladores incluyendo inmunoestimulación, inhibición de plaquetas, neurotransmisión y relajación del músculo liso (Wang, P. G., Xian, M., Tang, X., Wu, X., Wen, Z., Cai, T., Janczuk, A. J. Chem. Rev. 2002, 102, 1091-1134). Debido a la inestabilidad y e inconveniencia de la manipulación de disoluciones acuosas de NO, existe un interés creciente en compuestos que puedan generar NO *in situ*, es decir, donadores de NO.

Todos los compuestos con unión de nitrógeno-oxígeno tienen la posibilidad de descomponerse, oxidarse o reducirse para producir especies reactivas de nitrógeno. Por consiguiente, se ha desarrollado una diversa gama de donadores de NO incluyendo nitritos y nitratos orgánicos, complejos metal-NO, N-nitrosaminas, tionitritos, furoxanos y benzofuroxanos, oximas y N-hidroxiguanidinas. Sin embargo, los donadores de NO desarrollados hasta la fecha se captan escasamente por las células y no se dirigen a compartimentos particulares de la célula. Por tanto, los donadores de NO actualmente conocidos principalmente producen NO en la circulación y por tanto exponen una gama de receptores de NO a NO.

Además de la liberación de NO libre, los donadores de NO también pueden transferir un grupo nitrosonio a un tiol proteico para formar un producto S-nitrosilado. La modulación de la S-nitrosilación puede estar implicada en la regulación de varias rutas importantes en el metabolismo celular (Nature Reviews: Molecular Cell Biology, 2005, 6:2, págs. 150-166).

Recientemente, se ha demostrado que la citocromo c oxidasa (complejo IV de la cadena respiratoria mitocondrial) se inhibe de manera reversible mediante NO (Brown, G. C. y Cooper, C. E. FEBS Lett. 1994, 356, 295 - 298; Cleeter, M. J. W., Cooper, J. M., Darley-Usmer, V. M., Moncada, S. y Schapira, A. H. V. FEBS Lett. 1994, 345, 50-54; Schweizer, M. y Richter, C. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1994, 204, 169-175).

Esto puede ser un mecanismo fisiológicamente relevante para limitar el consumo de oxígeno, producción de ROS mitocondrial (especie reactiva de oxígeno), apoptosis y morfología y biogénesis mitocondrial.

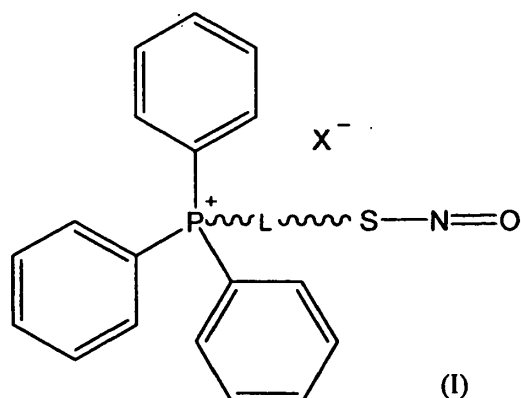
La transferencia del grupo nitrosonio a los tioles proteicos también puede estar implicada en la regulación de la función mitocondrial, por ejemplo en el complejo I (Dahm, C. C., Moore, K., Murphy, M. P., J. Biol. Chem. 2006, 281, págs. 10056-10065). La S-nitrosilación de proteínas tiol mitocondriales particulares tales como complejo I puede desempeñar un papel protector en estados tales como lesión por isquemia-reperfusión (Journal of Molecular and Cellular Cardiology, 2007, 42:4, págs. 812-825).

Con el fin de investigar esta función del NO, sería útil tener un compuesto donador de NO que liberase selectivamente NO en las mitocondrias. Además, varios estados médicos se ven influidos por la inhibición selectiva, reversible de las mitocondrias. Por tanto un donador de NO dirigido a mitocondrias tendría potencial como agente terapéutico.

Por tanto un objeto de la invención es proporcionar un compuesto donador de NO dirigido o al menos proporcionar al público una elección útil.

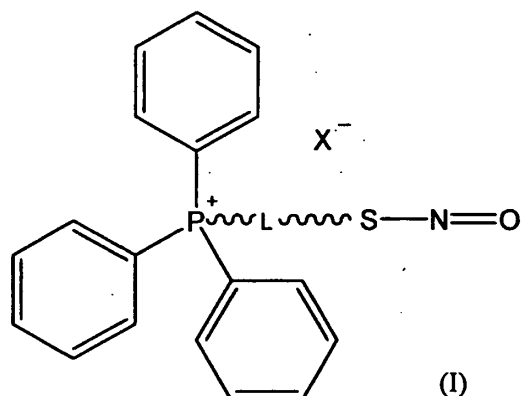
Sumario de la invención

En un aspecto la invención proporciona un compuesto de fórmula (I)



en la que ~L~ es un grupo de unión y X es un anión opcional.

5 En otro aspecto la invención proporciona un compuesto de fórmula (I)



10 en la que ~L~ es un grupo de unión y X es un anión opcional, en la que el grupo de unión se selecciona del grupo que comprende:

(a) alquilenos (C_1-C_{30}),

(b) alquilen (C_1-C_x)-NR-alquilenos (C_1-C_y), en el que R es H, alquilo o arilo,

(c) alquilen (C_1-C_x)-NR-C(=O)-alquilenos (C_1-C_y), en el que R es H, alquilo o arilo,

(d) alquilen (C_1-C_x)-C(=O)-NR-alquilenos (C_1-C_y), en el que R es H, alquilo o arilo,

(e) alquilen (C_1-C_x)-O-alquilenos (C_1-C_y),

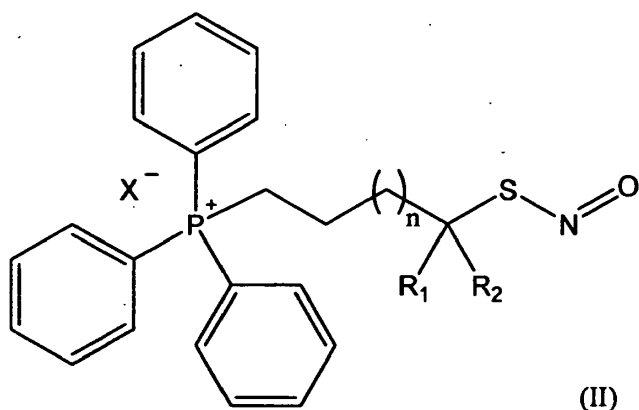
(f) alquilen (C_1-C_x)-O-C(=O)-alquilenos (C_1-C_y),

(g) alquilen (C_1-C_x)-S-alquilenos (C_1-C_y), y

(h) alquilen (C_1-C_x)-aril-alquilenos (C_1-C_y),

en donde $x + y = 30$ y en donde el grupo alquilenos está opcionalmente sustituido con uno o más grupos funcionales seleccionados independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, alqueno, alquino, haloalquilo, arilo, aminoalquilo, hidroxialquilo, alcoxialquilo, alquiltio, alquilsulfino, alquilsulfonilo, carboxialquilo, ciano, oxilo, amino, alquilamino, aminocarbonilo, alcoxycarbonilo, ariloxycarbonilo, alquilaminocarbonilo, arilaminocarbonilo, aralquilaminocarbonilo, alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, aralquilcarbonilamino, alquilcarbonilo, heterociclocarbonilo, aminosulfonilo, alquilaminosulfonilo, alquilsulfonilo y heterociclosulfonilo, o los grupos sustituyentes de átomos de carbono adyacentes en el grupo de unión pueden tomarse junto con los átomos de carbono a los que están unidos para formar un carbociclo o un heterociclo.

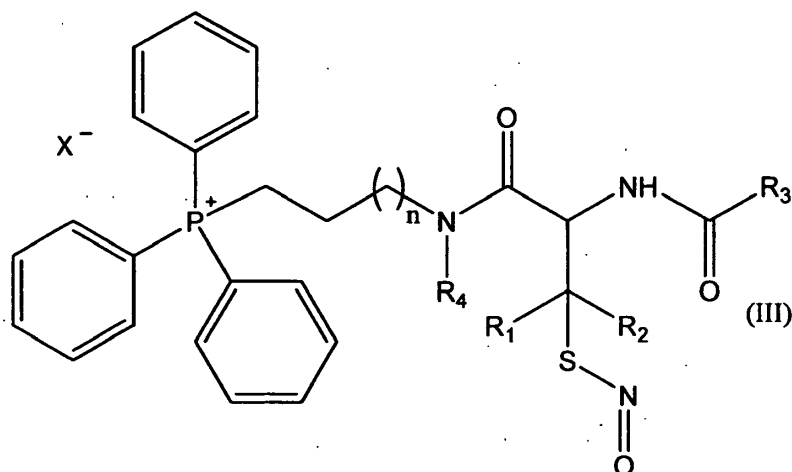
En otro aspecto la invención proporciona un compuesto de fórmula (II)



en la que n es desde 0 hasta 27, X es un anión opcional y R₁ y R₂ se seleccionan independientemente del grupo que comprende hidrógeno, alquilo y arilo.

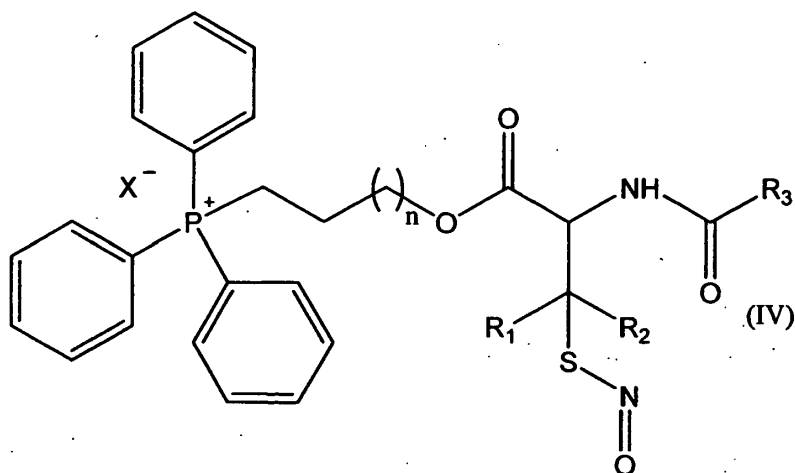
5

En otro aspecto la invención proporciona un compuesto de fórmula (III)



10 en la que n es desde 0 hasta 27, X es un anión opcional y R₁, R₂, R₃ y R₄ se seleccionan independientemente del grupo que comprende hidrógeno, alquilo y arilo.

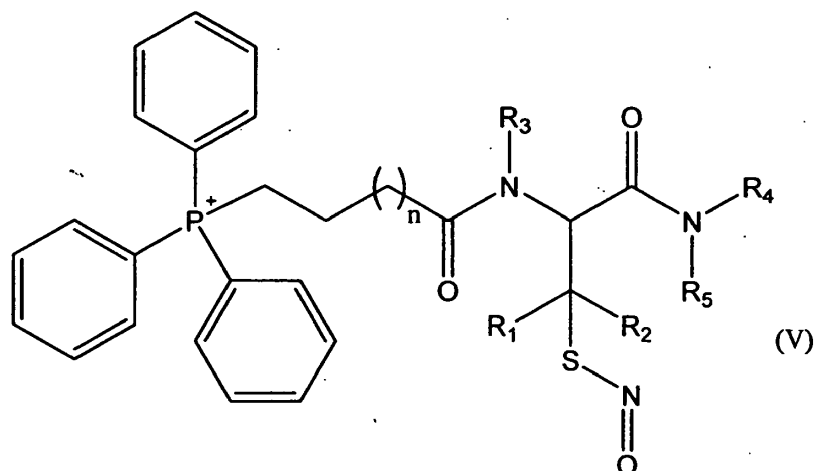
En otro aspecto la invención proporciona un compuesto de fórmula (IV)



15

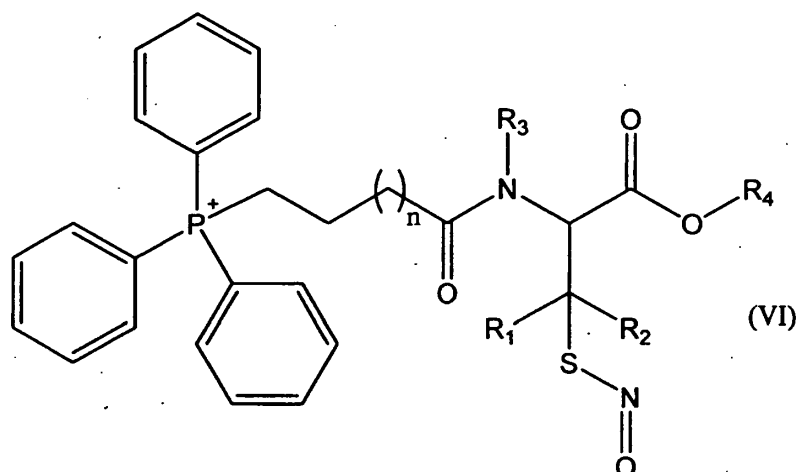
en la que n es desde 0 hasta 27, X es un anión opcional y R₁, R₂ y R₃ se seleccionan independientemente del grupo que comprende hidrógeno, alquilo y arilo.

20 En otro aspecto la invención proporciona un compuesto de fórmula (V)



5 en la que n es desde 0 hasta 24, X es un anión opcional y R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ se seleccionan independientemente del grupo que comprende hidrógeno, alquilo y arilo.

En otro aspecto la invención proporciona un compuesto de fórmula (VI)



10 en la que n es desde 0 hasta 24, X es un anión opcional y R₁, R₂, R₃, y R₄ se seleccionan independientemente del grupo que comprende hidrógeno, alquilo y arilo.

15 En otro aspecto la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención en combinación con uno o más diluyentes, vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables.

20 En otro aspecto la invención proporciona un uso de un compuesto de la invención en la preparación de un medicamento para el tratamiento de lesión por isquemia-reperfusión.

En otro aspecto la invención proporciona un uso de un compuesto de la invención en la preparación de un medicamento para inhibir la angiogénesis.

25 En otro aspecto la invención proporciona un uso de un compuesto de la invención en la preparación de un medicamento para tratar neoplasmas, crecimiento tumoral y/o metástasis.

En otro aspecto la invención proporciona un uso de un compuesto de la invención en la preparación de un medicamento para el tratamiento del cáncer.

30 En otro aspecto la invención proporciona un uso de un compuesto de la invención en la preparación de un medicamento para el tratamiento de enfermedad de Alzheimer.

En otro aspecto la invención proporciona un uso de un compuesto de la invención en la preparación de un medicamento para el tratamiento de enfermedad de Parkinson.

En otro aspecto la invención proporciona un uso de un compuesto de la invención en la preparación de un medicamento para generar NO en las mitocondrias de un sujeto.

- 5 En otro aspecto la invención proporciona un uso de un compuesto de la invención en la preparación de un medicamento para S-nitrosilar proteínas en las mitocondrias de un sujeto.

En otro aspecto la invención proporciona un uso de un compuesto de la invención en la preparación de un medicamento para inhibir la citocromo oxidasa en las mitocondrias de un sujeto.

- 10 En otro aspecto la invención proporciona un método de tratamiento de lesión por isquemia-reperfusión en un sujeto que necesita el mismo, comprendiendo dicho método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención o una composición farmacéutica que comprende el mismo.

- 15 En otro aspecto la invención proporciona un método de inhibición de la angiogénesis en un sujeto que necesita el mismo, comprendiendo dicho método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención o una composición farmacéutica que comprende el mismo.

- 20 En otro aspecto la invención proporciona un método de tratamiento de neoplasmas, crecimiento tumoral y/o metástasis en un sujeto que necesita el mismo, comprendiendo dicho método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención o una composición farmacéutica que comprende el mismo.

- 25 En otro aspecto la invención proporciona un método de tratamiento de cáncer en un sujeto que necesita el mismo, comprendiendo dicho método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención o una composición farmacéutica que comprende el mismo.

- 30 En otro aspecto la invención proporciona un método de tratamiento de enfermedad de Alzheimer en un sujeto que necesita el mismo, comprendiendo dicho método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención o una composición farmacéutica que comprende el mismo.

- En otro aspecto la invención proporciona un método de tratamiento de enfermedad de Parkinson en un sujeto que necesita el mismo, comprendiendo dicho método administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención o una composición farmacéutica que comprende el mismo.

- 35 En otro aspecto la invención proporciona un método para generar NO en las mitocondrias de un sujeto que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención o una composición farmacéutica que comprende el mismo.

- 40 En otro aspecto la invención proporciona un método para S-nitrosilar proteínas en las mitocondrias de un sujeto que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención o una composición farmacéutica que comprende el mismo.

- 45 En otro aspecto la invención proporciona un método para inhibir la citocromo oxidasa en las mitocondrias de un sujeto que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención o una composición farmacéutica que comprende el mismo.

Breve descripción de los dibujos

- 50 Se describirán características preferidas de la invención, sólo a modo de ejemplo, con referencia a las siguientes figuras.

- 55 La figura 1 es un diagrama esquemático que muestra los efectos de un compuesto de la invención (MitoSNO) cuando se suministra a una célula. El MitoSNO se acumula dentro de las mitocondrias y libera NO, inhibiendo citocromo oxidasa mediante competición con oxígeno.

- La figura 2 es un perfil que muestra la liberación de NO a partir de un compuesto de la invención (MitoSNO) medida usando un electrodo de NO en presencia y ausencia de glutatión (GSH). El perfil mostrado es típico de dos experimentos.

- 60 La figura 3 es un perfil que muestra la captación de MitoSNO en mitocondrias que respiran energizadas de manera dependiente de $\Delta\psi$. Se midieron simultáneamente las concentraciones de oxígeno (perfil negro) y catión TPP (perfil discontinuo). El perfil mostrado es típico de dos experimentos.

- 65 La figura 4 es un perfil que muestra la captación de MitoSNO, en mitocondrias que respiran, de manera dependiente de $\Delta\psi$. Se midieron las concentraciones de oxígeno (perfil negro) y catión TPP (trifenilfosfonio) (perfil discontinuo). El perfil mostrado es típico de dos experimentos. La captación de MitoSNO conduce a la producción de NO dentro de

las mitocondrias lo que gradualmente inhibe la respiración, tal como se indica mediante la forma del perfil del electrodo de oxígeno. Esto también disminuye el potencial de la membrana, tal como se muestra mediante la captación disminuida de MitoSNO.

- 5 La figura 5 es una gráfica que muestra la concentración de nitrato formado a lo largo del tiempo a partir de un compuesto de la invención (MitoSNAP) en comparación con SNAP. El NO liberado a partir de MitoSNAP reacciona con oxígeno para formar nitrato.

- 10 La figura 6 es un perfil que muestra la liberación de NO a partir de MitoSNAP, tal como se evaluó midiendo la formación de NO con un electrodo de NO, luego degradando el NO a nitrato mediante la adición de oxihemoglobina (OxiHb).

- 15 La figura 7 es un perfil que muestra la interacción de mitocondrias aisladas con MitoSNAP. El perfil muestra los resultados de un electrodo de NO (que mide NO) y un electrodo de oxígeno (que mide la respiración de las mitocondrias). En el perfil superior; la adición de succinato para energizar las mitocondrias conduce a un gran aumento de la formación de NO debido a la acumulación de MitoSNAP en las mitocondrias y la posterior liberación de NO. El NO liberado interacciona entonces con la citocromo oxidasa para disminuir la respiración, tal como se indica mediante la disminución de la curva del perfil del electrodo de oxígeno. Por el contrario, en el perfil inferior, los efectos de MitoSNAP sobre la producción de NO y la inhibición de la respiración son mucho menores en presencia de moléculas de FCCP desacoplantes. El FCCP suprime el potencial de la membrana evitando la captación de MitoSNAP en las mitocondrias.

Descripción detallada de la invención

25 1. Definiciones

- El término “alquilo”, por sí mismo o como parte de otro sustituyente, significa, a menos que se indique lo contrario, un radical hidrocarbonado de cadena lineal o ramificada, o cíclico, o combinación de los mismos, que puede estar completamente saturado, mono- o poliinsaturado y puede incluir radicales di- y multivalentes, que tienen el número de átomos de carbonos indicados (es decir C₁-C₁₀ significa de uno a diez carbonos). Los ejemplos de radicales hidrocarbonados saturados incluyen grupos tales como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, t-butilo, isobutilo, sec-butilo, ciclohexilo, (ciclohexil)etilo, ciclopropilmetilo, homólogos e isómeros de, por ejemplo, n-pentilo, n-hexilo, n-heptilo, n-octilo y similares. Un grupo alquilo insaturado es uno que tiene uno o más dobles enlaces o triples enlaces. Los ejemplos de grupos alquilo insaturados incluyen vinilo, 2-propenilo, crotilo, 2-isopentenilo, 2-(butadienilo), 2,4-pentadienilo, 3-(1,4-pentadienilo), etinilo, 1- y 3-propinilo, 3-butinilo, y los isómeros y homólogos superiores. El término “alquilo”, a menos que se indique lo contrario, también pretende incluir los derivados de alquilo definidos con más detalle a continuación tales como “cicloalquilo” y “alquilenos.” El término “alquilenos” por sí mismo o como parte de otro sustituyente significa un radical divalente derivado de un alcano, tal como se muestra a modo de ejemplo mediante -CH₂CH₂CH₂CH₂-. Normalmente, un grupo alquilo tendrá desde 1 hasta 24 átomos de carbono, prefiriéndose en la presente invención los grupos que tienen 10 o menos átomos de carbono. Un “alquilo inferior” o “alquilenos inferior” es un grupo alquilo o alquilenos de cadena más corta, que tiene generalmente ocho o menos átomos de carbono.

- 45 El término “cicloalquilo” por sí mismo o en combinación con otros términos, representa, a menos que se indique lo contrario, versiones cíclicas de “alquilo”. Los ejemplos de cicloalquilo incluyen ciclopentilo, ciclohexilo, 1-ciclohexenilo, 3-ciclohexenilo, cicloheptilo y similares.

- El término “alqueno”, tal como se usa en el presente documento, significa un radical hidrocarbonado que tiene al menos un doble enlace incluyendo, pero sin limitarse a, etenilo, propenilo, 1-butenilo, 2-butenilo y similares.

- 50 El término “alquino”, tal como se usa en el presente documento, significa un radical hidrocarbonado que tiene al menos un triple enlace incluyendo, pero sin limitarse a, etinilo, propinilo, 1-butinilo, 2-butinilo y similares.

- Los términos “halo” o “halógeno”, por sí mismos o como parte de otro sustituyente, significan, a menos que se indique lo contrario, un átomo de flúor, cloro, bromo o yodo. Adicionalmente, términos tales como “fluoroalquilo”, pretenden incluir monofluoroalquilo y polifluoroalquilo.

- 60 El término “arilo”, empleado solo o en combinación con otros términos (por ejemplo, ariloxilo, ariltioxilo, arilalquilo) significa, a menos que se indique lo contrario, un sustituyente aromático que puede ser un único anillo o múltiples anillos (hasta tres anillos) que están condensados entre sí o unidos de manera covalente. Los anillos pueden contener cada uno desde cero hasta cuatro heteroátomos seleccionados de N, O y S, en el que los átomos de nitrógeno y azufre están opcionalmente oxidados, y el/los átomo(s) de nitrógeno está(n) opcionalmente cuaternizado(s). Los grupos arilo que contienen heteroátomos pueden denominarse “heteroarilo” y pueden estar unidos al resto de la molécula a través de un heteroátomo. Los ejemplos no limitativos de grupos arilo incluyen fenilo, 1-naftilo, 2-naftilo, 4-bifenilo, 1-pirrolilo, 2-pirrolilo, 3-pirrolilo, 3-pirazolilo, 2-imidazolilo, 4-imidazolilo, pirazinilo, 2-oxazolilo, 4-oxazolilo, 2-fenil-4-oxazolilo, 5-oxazolilo, 3-isoxazolilo, 4-isoxazolilo, 5-isoxazolilo, 2-tiazolilo, 4-tiazolilo,

5-tiazolilo, 2-furilo, 3-furilo, 2-tienilo, 3-tienilo, 2-piridilo, 3-piridilo, 4-piridilo, 2-pirimidilo, 4-pirimidilo, 2-benzotiazolilo, 5-benzotiazolilo, 2-benzoxazolilo, 5-benzoxazolilo, purinilo, 2-bencimidazolilo, 5-indolilo, 1-isoquinolinilo, 5-isoquinolinilo, 2-quinoxalinilo, 5-quinoxalinilo, 3-quinolinilo y 6-quinolinilo. Sustituyentes para cada uno de los sistemas cíclicos arilo indicados anteriormente se seleccionan del grupo de sustituyentes aceptables descritos en el presente documento.

El término “alcoxilo”, tal como se usa en el presente documento, significa un grupo O-alquilo en el que “alquilo” se definió anteriormente.

El término “sulfonilo” se refiere a un radical $-S(O)_2R$ en el que R es un grupo alquilo, alquilo sustituido, cicloalquilo sustituido, heterocicloalquilo sustituido, arilo sustituido o heteroarilo sustituido tal como se define en el presente documento. Los ejemplos representativos incluyen, pero no se limitan a, metilsulfonilo, etilsulfonilo, propilsulfonilo, butilsulfonilo y similares.

El término “sulfinito” se refiere a un radical $-S(O)R$ en el que R es un grupo alquilo, alquilo sustituido, cicloalquilo sustituido, heterocicloalquilo sustituido, arilo sustituido o heteroarilo sustituido tal como se define en el presente documento. Los ejemplos representativos incluyen, pero no se limitan a, metilsulfinito, etilsulfinito, propilsulfinito, butilsulfinito y similares.

El término “aralquilo” o “arilalquilo” significa un grupo aril-alquilo en el que el arilo y el alquilo son tal como se describieron anteriormente. Aralquilos preferidos comprenden un grupo alquilo inferior unido al grupo arilo. Los ejemplos no limitativos de grupos aralquilo adecuados incluyen fenilmetileno, 2-fenetilo y naftalenilmetilo. El enlace al resto original es a través del alquilo.

El término “farmacéuticamente aceptable” tal como se usa en el presente documento se refiere a compuestos, componentes, materiales, composiciones, formas farmacéuticas y similares, que están dentro del alcance del criterio médico razonable, adecuados para su uso en contacto con los tejidos del sujeto en cuestión (por ejemplo ser humano) sin respuesta alérgica, irritación, toxicidad excesiva u otro problema o complicación, acorde con una razón riesgo/beneficio razonable. Cada vehículo, diluyente, excipiente, etc., también debe ser “aceptable” en el sentido de ser compatible con los demás componentes de la formulación.

El término “sujeto” tal como se usa en el presente documento se refiere a un mamífero humano o no humano. Los ejemplos de mamíferos no humanos incluyen animales de granja tales como ovejas, caballos, vacas, cerdos, cabras, conejos, ciervos, avestruces y emúes; y animales de compañía tales como gatos, perros, roedores y caballos.

El término “tratamiento” tal como se usa en el presente documento en el contexto de tratar un estado, se refiere de manera general al tratamiento y terapia, ya sea de ser humano o animal, en el que se logra algún efecto terapéutico deseado, por ejemplo, la inhibición del progreso del estado, e incluye una reducción de la velocidad de progreso, una detención de la velocidad de progreso, mejora del estado y cura del estado. También se incluye el tratamiento como medida profiláctica (es decir, profilaxis).

“Tratamiento” también incluye terapias y tratamientos de combinación, en los que se combinan dos o más terapias o tratamientos, por ejemplo, secuencial o simultáneamente. Por ejemplo, una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención puede combinarse o usarse conjuntamente con terapia por radiación o quimioterapia en el tratamiento del cáncer.

El término “cantidad terapéuticamente eficaz” tal como se usa en el presente documento, se refiere a la cantidad de un compuesto activo, o un material, composición o forma farmacéutica que comprende un compuesto activo, que es eficaz para producir algún efecto profiláctico o terapéutico deseado, acorde con una razón riesgo/beneficio razonable.

Tal como se usa en el presente documento el término “que comprende” significa “que consiste al menos en parte en”. Cuando se interpreta cada afirmación en esta memoria descriptiva que incluye el término “que comprende”, también pueden estar presentes características distintas de las precedidas por el término. Términos relacionados tales como “comprender” y “comprende” deben interpretarse de la misma manera.

Las afirmaciones en las que, por ejemplo, se dice que R^1 , R^2 y R^3 se seleccionan independientemente de un grupo de sustituyentes, significan que R^1 , R^2 y R^3 se seleccionan independientemente, pero también que cuando aparece una variable R , R^1 , R^2 y R^3 más de una vez en una molécula, cada aparición se selecciona independientemente (por ejemplo, si R es $-OR^6$ en el que R^6 es hidrógeno, R^2 puede ser $-OR^6$ en el que R^6 es un alquilo inferior). Los expertos en la técnica reconocerán que el tamaño y la naturaleza del/de los sustituyente(s) afectarán al número de sustituyentes que puede estar presentes.

Algunos compuestos de la invención tienen al menos un átomo de carbono asimétrico y por tanto se contempla que todos los isómeros, incluyendo enantiómeros, estereoisómeros, rotámeros, tautómeros y racematos de los compuestos son parte de esta invención. La invención incluye isómeros d y l tanto en forma pura como en mezcla,

incluyendo mezclas racémicas. Los isómeros pueden prepararse usando técnicas convencionales, o bien haciendo reaccionar materiales de partida ópticamente puros u ópticamente enriquecidos o bien separando isómeros de un compuesto de la invención. Los isómeros también pueden incluir isómeros geométricos, por ejemplo, cuando está presente un doble enlace.

5 Los expertos en la técnica apreciarán que para algunos de los compuestos de la invención, un isómero puede mostrar mayor actividad farmacológica que otros isómeros.

10 Se pretende que la referencia a un intervalo de números dado a conocer en el presente documento (por ejemplo, de 1 a 10) también incorpore referencia a todos los números racionales dentro del intervalo (por ejemplo, 1, 1,1, 2, 3, 3,9, 4, 5, 6, 6,5, 7, 8, 9 y 10) y también cualquier intervalo de números racionales dentro de ese intervalo (por ejemplo, de 2 a 8, de 1,5 a 5,5 y de 3,1 a 4,7) y, por tanto, en el presente documento se dan a conocer expresamente todos los subintervalos de todos los intervalos dados a conocer expresamente en el presente documento. Estos son sólo ejemplos de lo que se pretende específicamente y se considera que todas las posibles combinaciones de valores numéricos entre el valor más bajo y el valor más alto indicados se mencionan expresamente en esta solicitud de manera similar.

20 En esta memoria descriptiva cuando se hace referencia a memorias descriptivas de patente, otros documentos externos u otras fuentes de información, esto es generalmente con el fin de proporcionar un contexto para tratar las características de la invención. A menos que se indique específicamente lo contrario, la referencia a tales documentos externos no debe interpretarse como una admisión de que tales documentos o tales fuentes de información, en ninguna jurisdicción, son técnica anterior o forman parte del conocimiento general común en la técnica.

25 2. Compuestos de la invención

Los tionitritos (RSNO) son una clase importante de moléculas donadoras de NO. Se producen en sistemas biológicos en respuesta al NO y se cree que desempeñan un papel importante en el almacenamiento, transporte y liberación de NO en condiciones fisiológicas. Ahora se ha demostrado que la conjugación de una molécula que contiene tionitrito con un catión trifenilfosfonio produce un compuesto que entra rápidamente en la célula mediante paso directo a través de la membrana plasmática.

30 Estos compuestos permiten la producción de NO en el entorno reductor de tiol dentro de la célula. Por tanto, el uso de los compuestos de catión trifenilfosfonio de la invención puede permitir una producción intracelular de NO más eficaz y regulada. La producción intracelular de NO puede tener aplicaciones para regular las rutas de señalización dependientes de NO tales como vasodilatación, regulación de la actividad de las rutas de señalización intracelular que tienen un impacto sobre la función celular y sobre la regulación de la biogénesis mitocondrial.

40 Además, el propio NO puede actuar como antioxidante, por tanto la producción intracelular de NO puede proteger contra daño oxidativo en patologías (Current Medicinal Chemistry: Anti-inflammatory and Anti-Allergy agents, 2004, 3:3, págs. 181-188).

45 Los compuestos de la invención no sólo liberan NO libre sino que también pueden transferir un grupo nitrosonio a un tiol proteico, formando así un producto S-nitrosilado. Por tanto, los compuestos de la invención permiten la manipulación tanto de NO libre como del estado de S-nitrosilación de las células, con el fin de manipular y modificar la función y el metabolismo de la célula.

50 Además de provocar rápidamente la liberación de NO dentro de la célula, la conjugación con un catión lipófilo permite que el donador de NO se acumule dentro de las mitocondrias. Por tanto, los compuestos de la invención pueden liberar NO selectivamente en las mitocondrias y/o pueden S-nitrosilar proteínas en las mitocondrias.

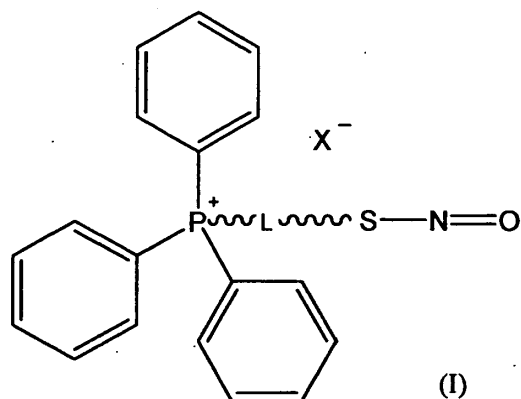
55 Las mitocondrias tienen un potencial de membrana sustancial de hasta 180 mV a lo largo de su membrana interna (interior negativo). Debido al potencial, cationes lipófilos que penetran en la membrana tales como el catión trifenilfosfonio se acumulan varios cientos de veces dentro de la matriz mitocondrial. Esto se ilustra en la figura 1 que muestra el efecto de un compuesto de la invención (MitoSNO) cuando se suministra a una célula entera.

60 El MitoSNO se capta por las células, gracias al potencial de membrana plasmática ($\Delta\psi_p$), y se acumula además en la matriz mitocondrial, impulsado por el potencial de membrana mitocondrial ($\Delta\psi_m$). Una vez dentro de las mitocondrias, el MitoSNO libera NO, lo que da como resultado la inhibición directa de la respiración en el complejo (IV) de la cadena respiratoria (Brown, G. C. y Cooper, C. E. FEBS Lett. 1994, 356, 295 - 298; Cleeter, M. J. W., Cooper, J. M., Darley-Usmer, V. M., Moncada, S. y Schapira, A. H. V. FEBS Lett. 1994, 345, 50-54; Schweizer, M. y Richter, C. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1994, 204, 169-175).

65 Previamente, se han usado donadores de NO para modificar la tensión arterial. Sin embargo, estos donadores de NO producen principalmente NO en la circulación y por tanto exponen una gama de receptores de NO a NO, afectando así a la tensión arterial así como a las mitocondrias. Los compuestos de la presente invención producen

NO selectivamente dentro de las mitocondrias, centrándose así en los efectos del NO sobre la cadena respiratoria.

En un aspecto la invención proporciona un compuesto de fórmula (I)



en la que ~L~ es un grupo de unión y X es un anión opcional.

El grupo de unión ~L~ puede ser cualquier grupo creador de distancia químicamente no activo (espaciador) que une el resto de catión trifenílfosfonio al resto tionitrito, y permite que los dos restos permanezcan unidos entre sí cuando cruzan las membranas plasmática y mitocondrial. En particular el ~L~ es estable en condiciones fisiológicas.

En una realización el grupo de unión será un grupo alquileno. El término "alquileno" tal como se usa en el presente documento, significa un resto bidentado obtenido mediante eliminación de dos átomos de hidrógeno, o bien ambos del mismo átomo de carbono o bien uno de cada uno de dos átomos de carbono diferentes, de un compuesto hidrocarbonado que tiene desde 1 hasta 30 átomos de carbono, preferiblemente de 2 a 20, más preferiblemente de 2 a 10, incluso más preferiblemente de 3 a 5 y lo más preferiblemente 4, que puede ser alifático o alicíclico, y que puede estar saturado, parcialmente insaturado o completamente insaturado. Por tanto, el término "alquileno" incluye las subclases alquenileno, alquilileno y cicloalquileno.

En una realización el grupo de unión es alquileno (C₁-C₃₀) o alquileno (C₁-C₃₀) sustituido. Preferiblemente el grupo de unión es alquileno (C₂-C₂₀) o alquileno (C₂-C₂₀) sustituido. Más preferiblemente, el grupo de unión es alquileno (C₂-C₁₀) o alquileno (C₂-C₁₀) sustituido. Lo más preferiblemente, el grupo de unión es alquileno (C₃-C₅) o alquileno (C₃-C₅) sustituido.

El grupo de unión también puede estar sustituido con uno o más grupos sustituyentes que aumentan la solubilidad de la molécula, aumentan la captación de la molécula a través de las membranas plasmática y/o mitocondrial o disminuyen la velocidad de degradación de la molécula *in vivo*.

En una realización el grupo de unión está sustituido con uno o más grupos funcionales seleccionados independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, alquenilo, alquilileno, haloalquilo, arilo, aminoalquilo, hidroxialquilo, alcoxialquilo, alquilileno, alquilsulfonilo, alquilsulfonilo, carboxialquilo, ciano, oxilo, amino, alquilamino, aminocarbonilo, alcoxycarbonilo, ariloxycarbonilo, alquilaminocarbonilo, arilaminocarbonilo, aralquilaminocarbonilo, alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, aralquilcarbonilamino, alquilcarbonilo, heterociclocarbonilo, aminosulfonilo, alquilaminosulfonilo, alquilsulfonilo y heterociclosulfonilo, o los grupos sustituyentes de átomos de carbono adyacentes en el grupo de unión pueden tomarse junto con los átomos de carbono a los que están unidos para formar un carbociclo o un heterociclo.

En una realización el grupo de unión puede estar sustituido con grupos alquilo, hidroxilo, tio, amino, carboxilo, amido o grupos derivados de azúcares o derivados de azúcar.

En una realización el grupo de unión está sustituido con alquilo o arilo. Preferiblemente el grupo de unión está sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que comprende hidrógeno, metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo y arilo.

En una realización el grupo de unión está sustituido en el carbono α con respecto al átomo de S. Preferiblemente, el grupo de unión está disustituido con alquilo o arilo en el carbono α con respecto al átomo de S. Más preferiblemente, el grupo de unión está disustituido con grupos metilo en el carbono α con respecto al átomo de S.

En una realización el grupo de unión está sustituido en el carbono β con respecto al átomo de S. Preferiblemente, el grupo de unión está sustituido con un grupo seleccionado de alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, alquilaminocarbonilo, arilaminocarbonilo, alcoxycarbonilo y ariloxycarbonilo. Más preferiblemente, el grupo de unión

está sustituido con alquilcarbonilamino en el carbono β con respecto al átomo de S.

En una realización el grupo de unión es alquileo (C_3-C_5) sustituido con alquilo, preferiblemente butileno sustituido con alquilo, más preferiblemente, butileno sustituido con dimetilo.

5 En una realización el grupo de unión es alquileo (C_1-C_{30}) sustituido en el carbono α con respecto al átomo de S. Preferiblemente el grupo de unión es alquileo (C_2-C_{20}) sustituido en el carbono α con respecto al átomo de S. Más preferiblemente el grupo de unión es alquileo (C_2-C_{10}) sustituido en el carbono α con respecto al átomo de S. Lo más preferiblemente el grupo de unión es alquileo (C_3-C_5) sustituido en el carbono α con respecto al átomo de S.
10 Preferiblemente, el grupo de unión está sustituido con dimetilo en el carbono α con respecto al átomo de S.

El grupo de unión también puede incluir dentro de su estructura uno o más grupos arilo. El/los grupo(s) arilo puede(n) estar situado(s) en cualquier parte en el grupo de unión.

15 En una realización el grupo de unión es una cadena de alquileo que contiene arilo. Preferiblemente, el grupo de unión es alquilen (C_1-C_x)-aril-alquileo (C_1-C_y), o alquilen (C_1-C_x) sustituido-aril-alquileo (C_1-C_y) sustituido en el que $x + y = 30$. Preferiblemente el grupo de unión es alquilen (C_2-C_{15})-aril-alquileo (C_2-C_{15}) o alquilen (C_2-C_{15}) sustituido-aril-alquileo (C_2-C_{15}) sustituido. Más preferiblemente el grupo de unión es alquilen (C_2-C_{10})-aril-alquileo (C_2-C_{10}) o alquilen (C_2-C_{10}) sustituido-aril-alquileo (C_2-C_{10}) sustituido. Lo más preferiblemente el grupo de unión es
20 alquilen (C_2-C_5)-aril-alquileo (C_2-C_5) o alquilen (C_2-C_5) sustituido-aril-alquileo (C_2-C_5) sustituido.

En una realización el grupo arilo del grupo de unión está sustituido. Preferiblemente, el grupo arilo está sustituido con uno o más grupos funcionales seleccionados independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, alqueno, alquino, haloalquilo, arilo, aminoalquilo, hidroxialquilo, alcóxialquilo, alquiltio, alquilsulfonilo, alquilsulfonilo, carboxialquilo, ciano, amino, alquilamino, aminocarbonilo, alquilaminocarbonilo, arilaminocarbonilo, aralquilaminocarbonilo, alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, aralquilcarbonilamino, alquilcarbonilo, heterociclocarbonilo, aminosulfonilo, alquilaminosulfonilo, alquilsulfonilo y heterociclosulfonilo.
25

El grupo de unión también puede incluir dentro de su estructura uno o más heteroátomos tales como N, O y S. El heteroátomo puede estar situado en cualquier parte del grupo de unión.
30

En una realización el grupo de unión es alquilen (C_1-C_x)-NR-alquileo (C_1-C_y), o alquilen (C_1-C_x) sustituido-NR-alquileo (C_1-C_y) sustituido, en el que R es hidrógeno, alquilo o arilo, y $x + y = 30$. Preferiblemente el grupo de unión es alquilen (C_2-C_{15})-NR-alquileo (C_2-C_{15}) o alquilen (C_2-C_{15}) sustituido-NR-alquileo (C_2-C_{15}) sustituido. Más
35 preferiblemente el grupo de unión es alquilen (C_2-C_{10})-NR-alquileo (C_2-C_{10}) o alquilen (C_2-C_{10}) sustituido-NR-alquileo (C_2-C_{10}) sustituido. Lo más preferiblemente el grupo de unión es alquilen (C_2-C_5)-NR-alquileo (C_2-C_5) o alquilen (C_2-C_5) sustituido-NR-alquileo (C_2-C_5) sustituido. Preferiblemente, R es hidrógeno.

Preferiblemente, el grupo de unión está sustituido con un grupo seleccionado de alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, alquilaminocarbonilo, arilaminocarbonilo, alcóxicarbonilo y ariloxicarbonilo. Más preferiblemente, el grupo de unión está sustituido con alquilcarbonilamino en el carbono β con respecto al átomo de S. Preferiblemente, el grupo de unión está sustituido con un grupo alquilo o arilo en el carbono α con respecto al átomo de S.
40

En una realización el grupo de unión es alquilen (C_1-C_x)-NR-C(=O)-alquileo (C_1-C_y) o alquilen (C_1-C_x) sustituido-NR-C(=O)-alquileo (C_1-C_y) sustituido, en el que R es hidrógeno, alquilo o arilo y $x + y = 30$. Preferiblemente el grupo de unión es alquilen (C_2-C_{15})-NR-C(=O)-alquileo (C_2-C_{15}) o alquilen (C_2-C_{15}) sustituido-NR-C(=O)-alquileo (C_2-C_{15}) sustituido. Más preferiblemente el grupo de unión es alquilen (C_2-C_{10})-NR-C(=O)-alquileo (C_2-C_{10}) o alquilen (C_2-C_{10}) sustituido-NR-C(=O)-alquileo (C_2-C_{10}) sustituido. Lo más preferiblemente el grupo de unión es alquilen (C_2-C_5)-NR-C(=O)-alquileo (C_2-C_5) o alquilen (C_2-C_5) sustituido-NR-C(=O)-alquileo (C_2-C_5) sustituido. Preferiblemente, R es hidrógeno.
45
50

Cuando el grupo de unión es alquilen (C_1-C_x)-NR-C(=O)-alquileo (C_1-C_y), cualquier extremo del grupo de unión puede estar unido al ión trifenilfosfonio. En otras palabras, en una realización el grupo de unión es alquilen (C_1-C_x)-C(=O)-NR-alquileo (C_1-C_y), o alquilen (C_1-C_x) sustituido-C(=O)-NR-alquileo (C_1-C_y) sustituido en el que R es hidrógeno, alquilo o arilo y $x + y = 30$. Preferiblemente el grupo de unión es alquilen (C_2-C_{15})-C(=O)-NR-alquileo (C_2-C_{15}) o alquilen (C_2-C_{15}) sustituido-C(=O)-NR-alquileo (C_2-C_{15}) sustituido. Más preferiblemente el grupo de unión es alquilen (C_2-C_{10})-C(=O)-NR-alquileo (C_2-C_{10}) o alquilen (C_2-C_{10}) sustituido-C(=O)-NR-alquileo (C_2-C_{10}) sustituido. Lo más preferiblemente el grupo de unión es alquilen (C_2-C_5)-C(=O)-NR-alquileo (C_2-C_5) o alquilen (C_2-C_5) sustituido-C(=O)-NR-alquileo (C_2-C_5) sustituido. Preferiblemente, R es hidrógeno.
55
60

Preferiblemente, el grupo de unión está orientado de manera que el NR está sobre el extremo trifenilfosfonio del grupo -C(=O)NR- en la cadena.

Preferiblemente, el grupo de unión está sustituido con un grupo seleccionado de alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, alquilaminocarbonilo, arilaminocarbonilo, alcóxicarbonilo y ariloxicarbonilo. Más preferiblemente, el
65

grupo de unión está sustituido con alquilcarbonilamino en el carbono β con respecto al átomo de S. Preferiblemente, el grupo de unión está sustituido con un grupo alquilo o arilo en el carbono α con respecto al átomo de S.

5 En una realización el grupo de unión es alquilen (C_1-C_x)-O-alquilen (C_1-C_y), o alquilen (C_1-C_x) sustituido-O-alquilen (C_1-C_y) sustituido en el que $x + y = 30$. Preferiblemente el grupo de unión es alquilen (C_2-C_{15})-O-alquilen (C_2-C_{15}) o alquilen (C_2-C_{15})-O-alquilen (C_2-C_{15}) sustituido. Más preferiblemente el grupo de unión es alquilen (C_2-C_{10})-O-alquilen (C_2-C_{10}) o alquilen (C_2-C_{10}) sustituido-O-alquilen (C_2-C_{10}) sustituido. Lo más preferiblemente el grupo de unión es alquilen (C_2-C_5)-O-alquilen (C_2-C_5) o alquilen (C_2-C_5) sustituido-O-alquilen (C_2-C_5) sustituido.

10 Preferiblemente, el grupo de unión está sustituido con un grupo seleccionado de alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, alquilaminocarbonilo, arilaminocarbonilo, alcocarbonilo y ariloxicarbonilo. Más preferiblemente, el grupo de unión está sustituido con alquilcarbonilamino en el carbono β con respecto al átomo de S. Preferiblemente, el grupo de unión está sustituido con un grupo alquilo o arilo en el carbono α con respecto al átomo de S.

15 En una realización el grupo de unión es alquilen (C_1-C_x)-O-C(O)-alquilen (C_1-C_y) o alquilen (C_1-C_x) sustituido-O-C(O)-alquilen (C_1-C_y) sustituido en el que $x + y = 30$. Preferiblemente el grupo de unión es alquilen (C_2-C_{15})-O-C(O)-alquilen (C_2-C_{15}) o alquilen (C_2-C_{15}) sustituido-O-C(O)-alquilen (C_2-C_{15}) sustituido. Más preferiblemente el grupo de unión es alquilen (C_2-C_{10})-O-C(O)-alquilen (C_2-C_{10}) o alquilen (C_2-C_{10}) sustituido-O-C(O)-alquilen (C_2-C_{10}) sustituido. Lo más preferiblemente el grupo de unión es alquilen (C_2-C_5)-O-C(O)-alquilen (C_2-C_5) o alquilen (C_2-C_5) sustituido-O-C(O)-alquilen (C_2-C_5) sustituido.

20 Preferiblemente, el grupo de unión está sustituido con un grupo seleccionado de alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, alquilaminocarbonilo, arilaminocarbonilo, alcocarbonilo y ariloxicarbonilo. Más preferiblemente, el grupo de unión está sustituido con alquilcarbonilamino en el carbono β con respecto al átomo de S. Preferiblemente, el grupo de unión está sustituido con un grupo alquilo o arilo en el carbono α con respecto al átomo de S.

25 En una realización el grupo de unión es alquilen (C_1-C_x)-S-alquilen (C_1-C_y) o alquilen (C_1-C_x) sustituido-S-alquilen (C_1-C_y) sustituido en el que $x + y = 30$. Preferiblemente el grupo de unión es alquilen (C_2-C_{15})-S-alquilen (C_2-C_{15}) o alquilen (C_2-C_{15}) sustituido-S-alquilen (C_2-C_{15}) sustituido. Más preferiblemente el grupo de unión es alquilen (C_2-C_{10})-S-alquilen (C_2-C_{10}) o alquilen (C_2-C_{10}) sustituido-S-alquilen (C_2-C_{10}) sustituido. Lo más preferiblemente el grupo de unión es alquilen (C_2-C_5)-S-alquilen (C_2-C_5) o alquilen (C_2-C_5) sustituido-S-alquilen (C_2-C_5) sustituido.

30 Preferiblemente, el grupo de unión está sustituido con un grupo seleccionado de alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, alquilaminocarbonilo, arilaminocarbonilo, alcocarbonilo y ariloxicarbonilo. Más preferiblemente, el grupo de unión está sustituido con alquilcarbonilamino en el carbono β con respecto al átomo de S. Preferiblemente, el grupo de unión está sustituido con un grupo alquilo o arilo en el carbono α con respecto al átomo de S.

35 Grupos de unión que contienen arilo y/o heteroátomos también pueden estar sustituidos en otras posiciones dentro del grupo de unión. En una realización el grupo de unión está opcionalmente sustituido con uno o más grupos funcionales seleccionados independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, alqueno, alquino, haloalquilo, arilo, aminoalquilo, hidroxialquilo, alcóxialquilo, alquiltio, alquilsulfonilo, alquilsulfonilo, carboxialquilo, ciano, oxilo, amino, alquilamino, aminocarbonilo, alquilaminocarbonilo, arilaminocarbonilo, aralquilaminocarbonilo, alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, aralquilcarbonilamino, alquilcarbonilo, heterociclocarbonilo, aminosulfonilo, alquilaminosulfonilo, alquilsulfonilo y heterociclosulfonilo.

40 Preferiblemente, el grupo de unión está opcionalmente sustituido con uno o más grupos funcionales seleccionados independientemente del grupo que consiste en alquilo, arilo, alcocarbonilo, ariloxicarbonilo, alquilaminocarbonilo, arilaminocarbonilo, alquilcarbonilamino y arilcarbonilamino.

45 El anión opcional comprende un anión orgánico o inorgánico adecuado conocido en la técnica y está presente cuando se requiere para una neutralidad eléctrica global. Los ejemplos de aniones inorgánicos adecuados incluyen, pero no se limitan a, los derivados de ácido clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, sulfúrico, sulfuroso, nítrico, nitroso, fosfórico o fosforoso o de un ácido arilsulfónico o uno alquilsulfónico.

50 Los ejemplos de aniones orgánicos adecuados incluyen, pero no se limitan a, los derivados de los siguientes ácidos orgánicos: 2-acetoxibenzoico, acético, ascórbico, aspártico, benzoico, canforsulfónico, cinámico, cítrico, edético, etanodisulfónico, etanosulfónico, fumárico, glucoheptónico, glucónico, glutámico, glicólico, hidroximaleico, carboxílico, isetiónico, láctico, lactobiónico, láurico, maleico, málico, metanosulfónico, mícico, oleico, oxálico, palmítico, pamoico, pantoténico, fenilacético, fenilsulfónico, propiónico, piúvico, salicílico, esteárico, succínico, sulfanílico, tartárico, toluenosulfónico y valérico. Todos se reconocen generalmente como sales farmacéuticamente aceptables.

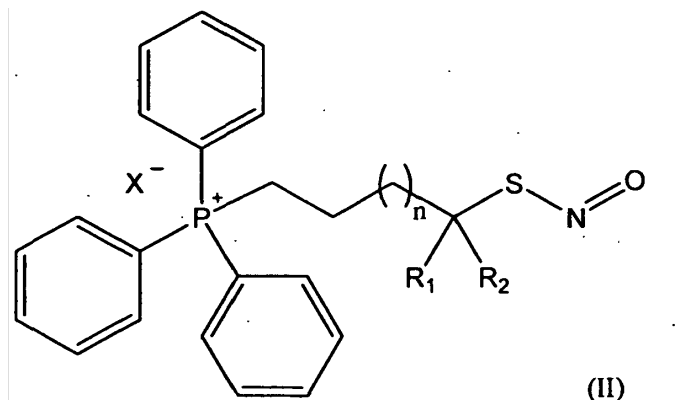
55 En una realización el anión es un anión derivado de ácido clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, sulfúrico, sulfuroso, nítrico, nitroso, fosfórico o fosforoso, o de un ácido arilsulfónico o uno alquilsulfónico.

65

En una realización el anión es cloruro, bromuro, yoduro, lo más preferiblemente bromuro.

En otra realización el anión es metanosulfonato.

5 En otro aspecto la invención proporciona un compuesto de fórmula (II)



10 en la que n es desde 0 hasta 27, X es un anión opcional y R₁ y R₂ se seleccionan independientemente del grupo que comprende hidrógeno, alquilo y arilo.

En una realización n es desde 0 hasta 20. Preferiblemente n es desde 0 hasta 10. Más preferiblemente n es desde 0 hasta 2. Lo más preferiblemente, n es 1.

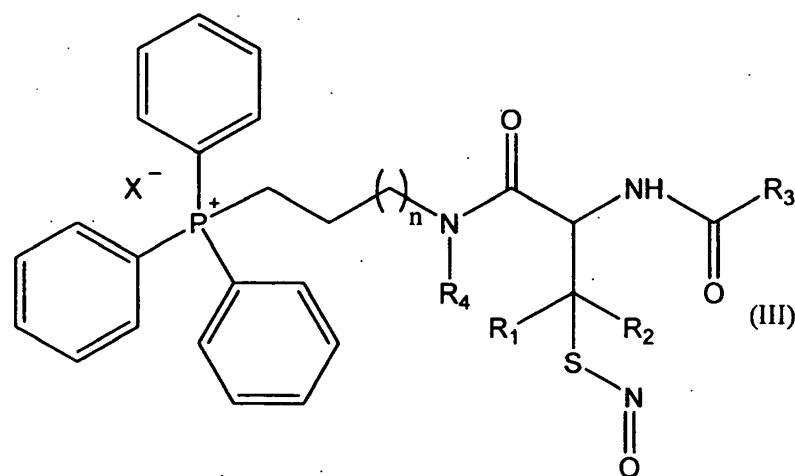
15 En una realización R₁ y R₂ se seleccionan independientemente del grupo que comprende hidrógeno, metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo y arilo. Preferiblemente, R₁ y R₂ son metilo.

En una realización el anión es un anión inorgánico derivado de ácido clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, sulfúrico, sulfuroso, nítrico, nitroso, fosfórico o fosforoso, o de un ácido arilsulfónico o uno alquilsulfónico.

20 En una realización el anión es cloruro, bromuro, yoduro o metanosulfonato. Preferiblemente, el anión es bromuro o metanosulfonato.

25 En el compuesto de fórmula (II) el grupo de unión comprende alquileo (C₃-C₃₀) opcionalmente sustituido con alquilo o arilo en el carbono α con respecto al átomo de azufre.

En otro aspecto la invención proporciona un compuesto de fórmula (III)



30 en la que n es desde 0 hasta 27, X es un anión opcional y R₁, R₂, R₃ y R₄ se seleccionan independientemente del grupo que comprende hidrógeno, alquilo y arilo.

35 En una realización n es desde 0 hasta 20. Preferiblemente n es desde 0 hasta 10. Más preferiblemente n es desde 1 hasta 5. Lo más preferiblemente, n es 3.

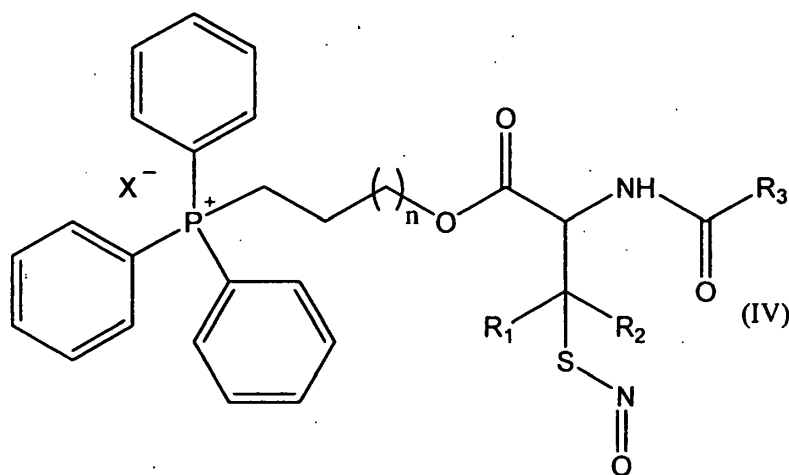
En una realización R_1 , R_2 , R_3 y R_4 se seleccionan independientemente del grupo que comprende hidrógeno, metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo y arilo. Preferiblemente, R_1 , R_2 y R_3 son metilo y R_4 es hidrógeno.

En una realización el anión es un anión inorgánico derivado de ácido clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, sulfúrico, sulfuroso, nítrico, nitroso, fosfórico o fosforoso, o de un ácido arilsulfónico o uno alquilsulfónico.

En una realización el anión es cloruro, bromuro, yoduro o metanosulfonato. Preferiblemente, el anión es bromuro o metanosulfonato.

En los compuestos de fórmula (III) el grupo de unión comprende alquilen (C_2 - C_{29})-NR-C(=O)-alquilen C_2 sustituido con alquilcarbonilamino o arilcarbonilamino en el carbono β con respecto al átomo de S y sustituido con alquilo o arilo en el carbono α con respecto al átomo de S.

En otro aspecto la invención proporciona un compuesto de fórmula (IV)



en la que n es desde 0 hasta 27, X es un anión opcional y R_1 , R_2 y R_3 se seleccionan independientemente del grupo que comprende hidrógeno, alquilo y arilo.

En una realización n es desde 0 hasta 20. Preferiblemente n es desde 0 hasta 10. Más preferiblemente n es desde 1 hasta 5. Lo más preferiblemente, n es 3.

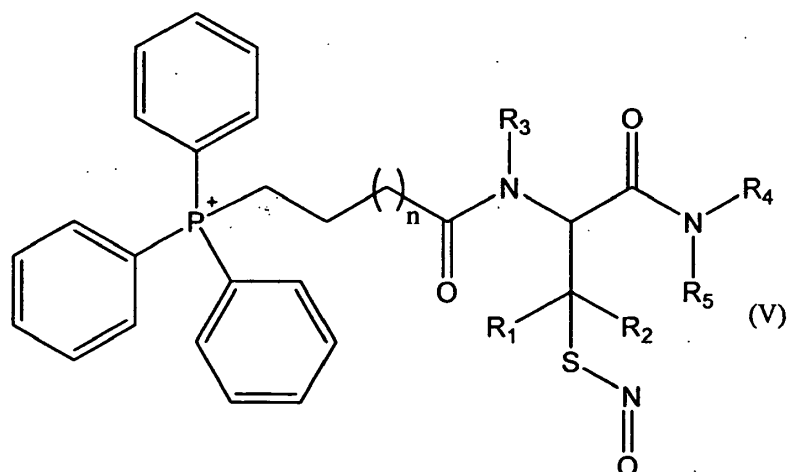
En una realización R_1 , R_2 y R_3 se seleccionan independientemente del grupo que comprende hidrógeno, metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo y arilo. Preferiblemente, R_1 , R_2 y R_3 son metilo.

En una realización el anión es un anión inorgánico derivado de ácido clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, sulfúrico, sulfuroso, nítrico, nitroso, fosfórico o fosforoso, o de un ácido arilsulfónico o uno alquilsulfónico.

En una realización el anión es cloruro, bromuro, yoduro o metanosulfonato. Preferiblemente, el anión es bromuro o metanosulfonato.

En el compuesto de fórmula (IV) el grupo de unión comprende alquilen (C_2 - C_{29})-O-C(=O)-alquilen C_2 sustituido con alquilcarbonilamino en el carbono β con respecto al átomo de S y sustituido con alquilo o arilo en el carbono α con respecto al átomo de S.

En otro aspecto la invención proporciona un compuesto de fórmula (V)



en la que n es desde 0 hasta 27, X es un anión opcional y R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ se seleccionan independientemente del grupo que comprende hidrógeno, alquilo y arilo.

5 En una realización n es desde 0 hasta 20. Preferiblemente n es desde 0 hasta 10. Más preferiblemente n es desde 1 hasta 5. Lo más preferiblemente, n es 3.

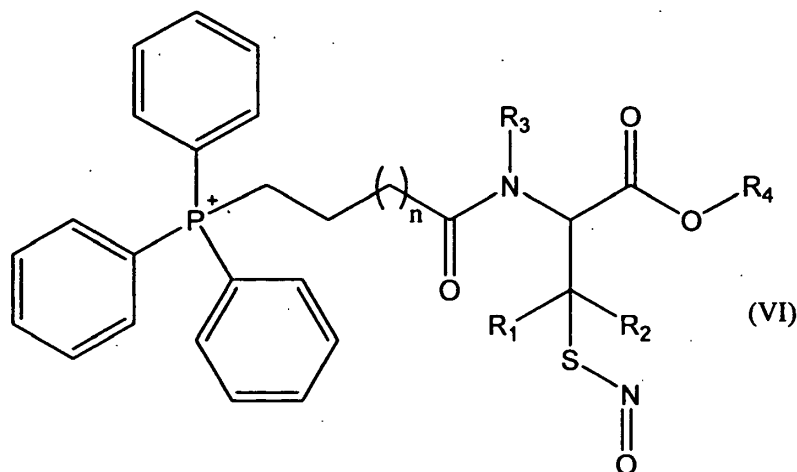
10 En una realización R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ se seleccionan independientemente del grupo que comprende hidrógeno, metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo y arilo. Preferiblemente, R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ son metilo.

En una realización el anión es un anión inorgánico derivado de ácido clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, sulfúrico, sulfuroso, nítrico, nitroso, fosfórico o fosforoso, o de un ácido arilsulfónico o uno alquilsulfónico.

15 En una realización el anión es cloruro, bromuro, yoduro o metanosulfonato. Preferiblemente, el anión es bromuro o metanosulfonato.

20 En el compuesto de fórmula (V) el grupo de unión comprende alquilen (C₂-C₂₉)-C(=O)-NR-alquilen C₂ sustituido con alquilaminocarbonilo o arilcarbonilamino en el carbono β con respecto al átomo de S y sustituido con alquilo o arilo en el carbono α con respecto al átomo de S.

En otro aspecto la invención proporciona un compuesto de fórmula (VI)



25 en la que n es desde 0 hasta 27, X es un anión opcional y R₁, R₂, R₃ y R₄ se seleccionan independientemente del grupo que comprende hidrógeno, alquilo y arilo.

30 En una realización n es desde 0 hasta 20. Preferiblemente n es desde 0 hasta 10. Más preferiblemente n es desde 1 hasta 5. Lo más preferiblemente, n es 3.

En una realización R₁, R₂, R₃ y R₄ se seleccionan independientemente del grupo que comprende hidrógeno, metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo y arilo. Preferiblemente, R₁, R₂, R₃ y R₄ son metilo.

En una realización el anión es un anión inorgánico derivado de ácido clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, sulfúrico, sulfuroso, nítrico, nitroso, fosfórico o fosforoso, o de un ácido arilsulfónico o uno alquilsulfónico.

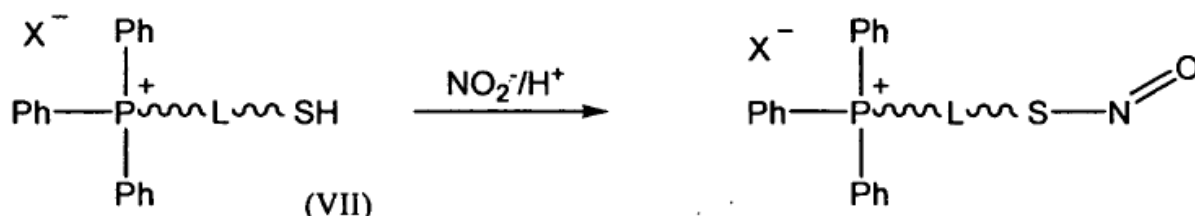
En una realización el anión es cloruro, bromuro, yoduro o metanosulfonato. Preferiblemente, el anión es bromuro o metanosulfonato.

En el compuesto de fórmula (IV) el grupo de unión comprende alquilen (C_2-C_{29})-C(=O)-NR-alquilen C_2 sustituido con alcóxicarbonilo o arilóxicarbonilo en el carbono β con respecto al átomo de S y sustituido con alquilo o arilo en el carbono α con respecto al átomo de S.

3. Síntesis de compuestos de la invención

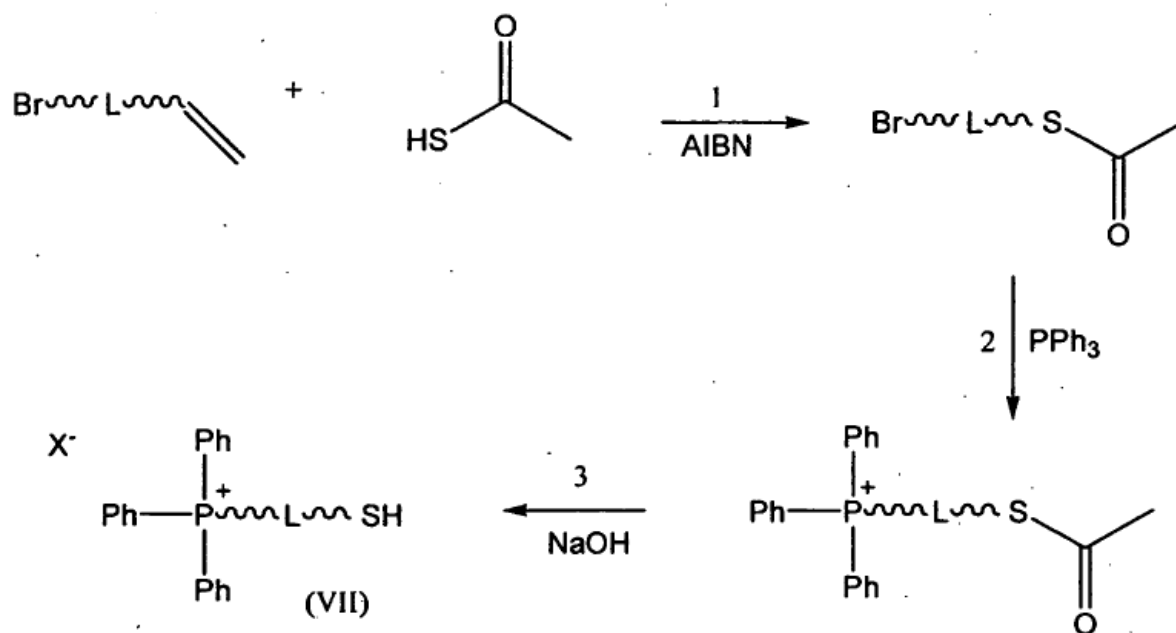
Los compuestos de la invención pueden prepararse usando cualquier procedimiento sintético conveniente. En una realización los compuestos de la invención pueden sintetizarse haciendo reaccionar el tiol intermedio conveniente de fórmula (VII) con ácido nitroso bajo una atmósfera inerte tal como se muestra en el esquema 1 a continuación.

Esquema 1



El tiol intermedio (VII) puede prepararse de varias maneras dependiendo del compuesto final requerido. Por ejemplo, en una realización el tiol intermedio (VII) puede prepararse usando el esquema 2 tal como se explica a continuación (Bums, R. J., Smith, R. A. J. y Murphy, M. P. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1995, 322, 60-68).

Esquema 2



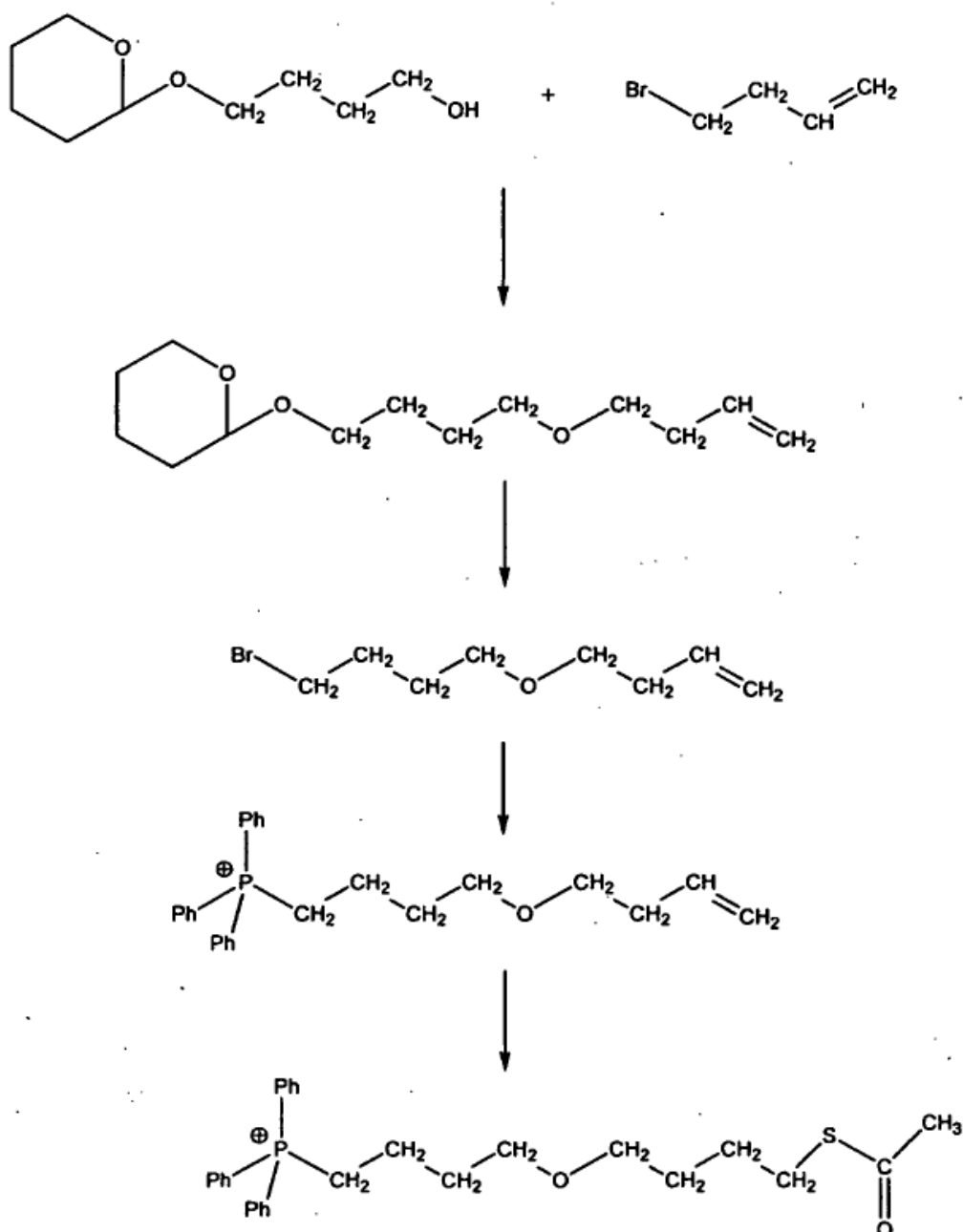
1. Se hace reaccionar un grupo de unión que incluye un grupo bromo en un extremo y un grupo alquilen en otro extremo con ácido tioacético usando el generador de radicales 2,2'-azobisisobutironitrilo (AIBN).

2. Entonces se condensa el producto de la etapa 1 junto con trifenilfosfina (PPh_3).

3. Se genera el tiol intermedio (VII) mediante hidrólisis básica con NaOH e intercambio aniónico.

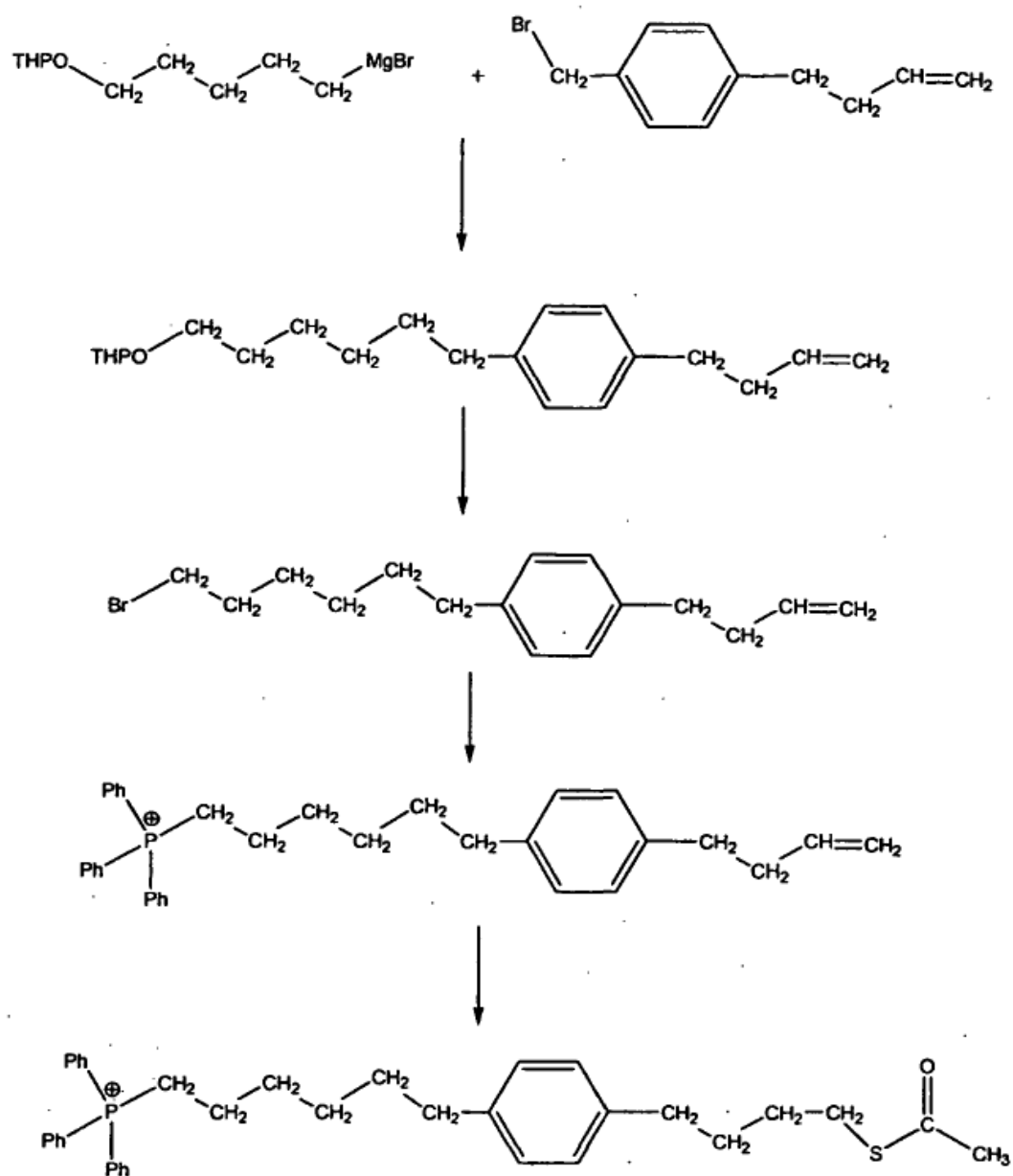
Usando los esquemas sintéticos proporcionados anteriormente, pueden prepararse varios compuestos diferentes de la invención por medio de reacción de ácido nitroso con el tiol intermedio de fórmula (VII). Por ejemplo, los esquemas 3 a 5 demuestran cómo pueden prepararse compuestos de la invención que incorporan grupos de unión sustituidos usando estos esquemas sintéticos.

Esquema 3



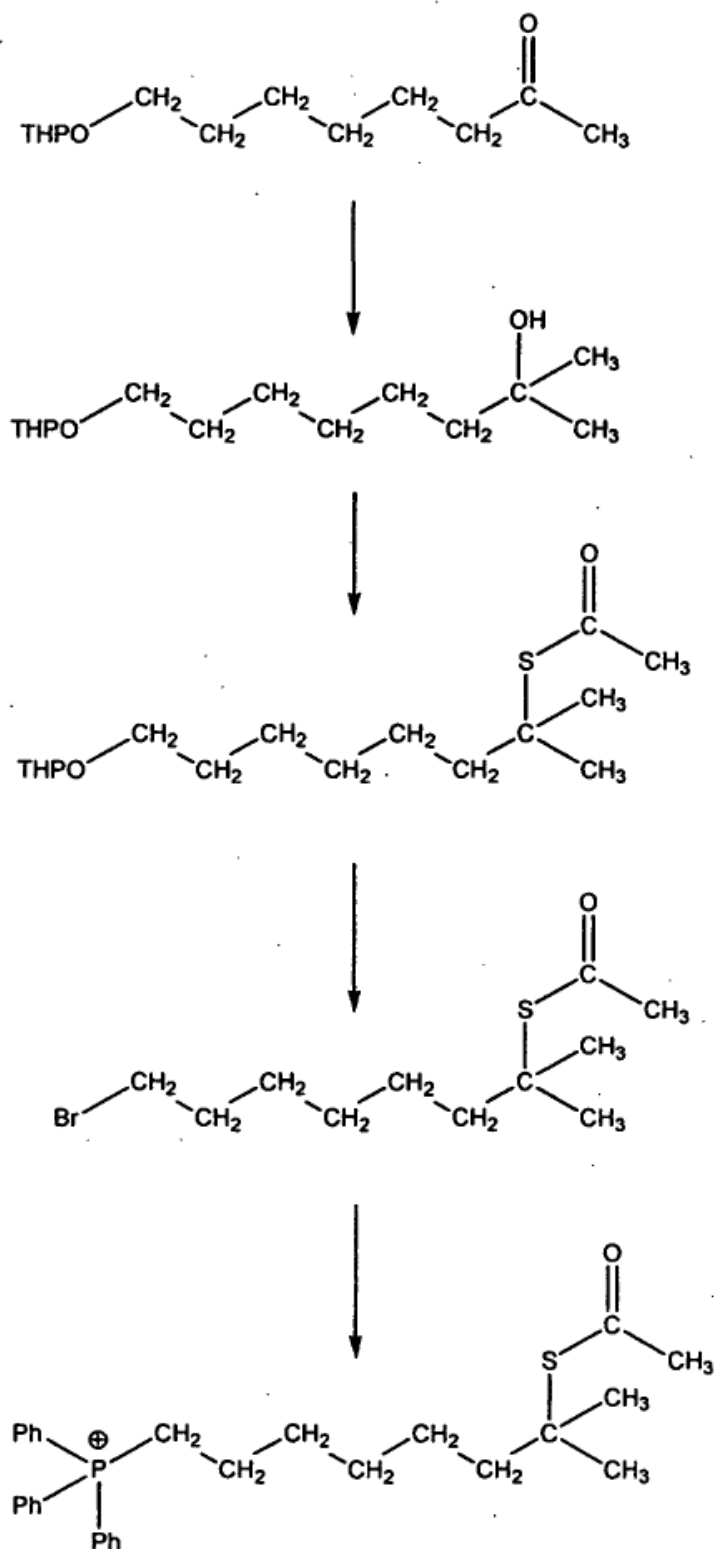
El esquema 3 explica la síntesis de un compuesto intermedio de tiol protegido que incorpora una funcionalidad éter en el grupo de unión. La hidrólisis básica proporciona un compuesto de la invención en el que el grupo de unión es alquilen C_4 -O- alquilen C_4 .

Esquema 4



El esquema 4 explica la síntesis de un compuesto intermedio de tiol protegido que incorpora una funcionalidad benceno en el grupo de unión. THP es tetrahidropirano. La hidrólisis básica proporciona un compuesto de la invención en el que el grupo de unión es una cadena de alquileo que contiene arilo, alquilen C₆-aril-alquilen C₄.

Esquema 5



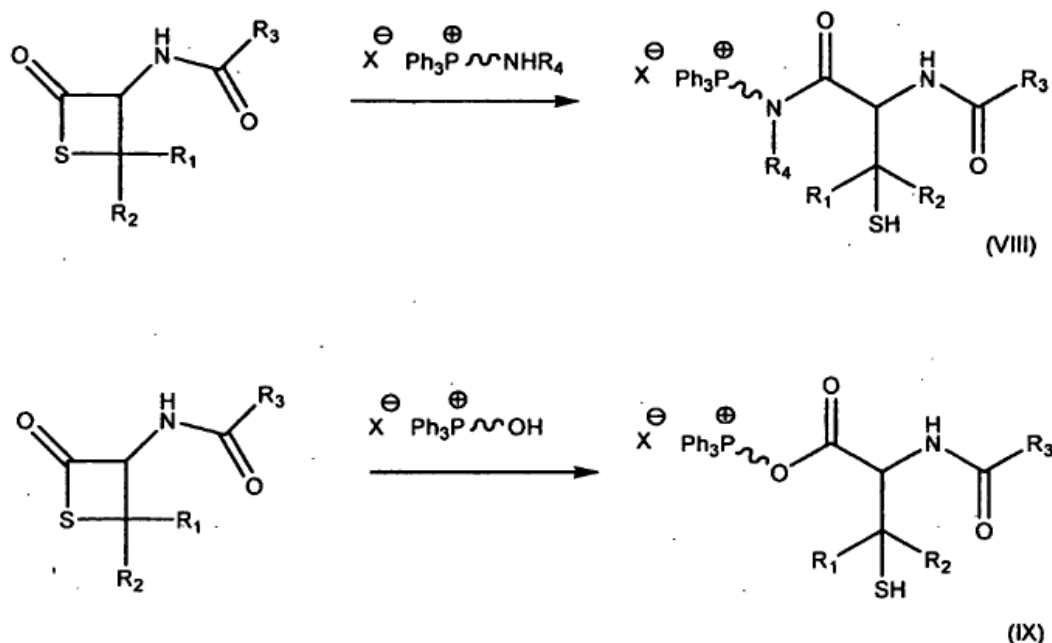
El esquema 5 explica la síntesis de un compuesto intermedio de tior protegido que está sustituido con dimetilo en el carbono α con respecto al átomo de S.

5

Pueden prepararse convenientemente compuestos de la invención que incluyen grupos $-\text{NR}-\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{C}(=\text{O})-\text{NR}$ o $-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-$ en el grupo de unión usando productos intermedios de tietano. Los tietanos son compuestos cíclicos de 4 miembros que contienen azufre.

El esquema 6 muestra la síntesis de compuestos de tioles intermedios que incluyen estas funcionalidades en la cadena del grupo de unión y que están sustituidos con grupos alquilcarboxilamina. La reacción de estos productos intermedios con ácido nitroso proporciona los tionitritos equivalentes de la invención

5 Esquema 6



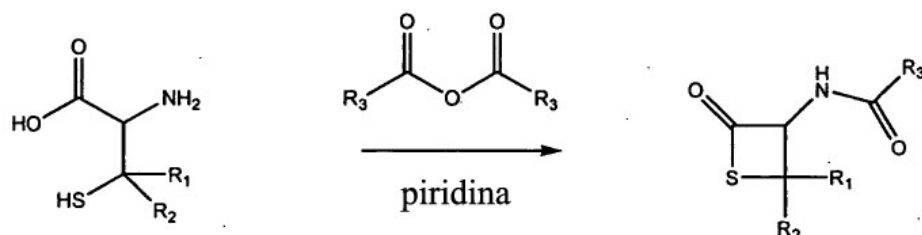
Los compuestos de fórmula (VIII) se preparan usando un catión trifenilfosfonio unido a un grupo de unión que incluye un grupo amina en el extremo opuesto. Los compuestos de fórmula (IX) se preparan usando un catión trifenilfosfonio con un hidroxilo unido al extremo del grupo de unión. Generalmente el resto del grupo de unión es una cadena de alquileo pero el grupo de unión del producto intermedio de tior puede alterarse adicionalmente usando cationes trifenilfosfonio unidos a los grupos hidroxilo o amina por medio de otras cadenas, por ejemplo, cadenas de alquileo sustituido.

15 Cuando se hace reaccionar con el compuesto tietano, el grupo alcohol o amina en el extremo del grupo de unión abre el anillo tietano para proporcionar el producto intermedio de tior. Si el grupo amina es una amina secundaria (R_4 es alquilo o arilo), el compuesto resultante de fórmula (VIII) está sustituido con N-alquilo o arilo.

La reacción con el tietano mostrada anteriormente proporciona un producto intermedio de tior que está sustituido con un grupo amida en la posición β con respecto al átomo de azufre y también está sustituido en el carbono α con respecto al átomo de azufre. La naturaleza de la sustitución en R_1 , R_2 y R_3 depende del tietano usado. Muchos tietanos están disponibles comercialmente, por ejemplo, N-(2-etil-2-metil-4-oxo-3-tietanil)acetamida. Pueden introducirse otros grupos arilo y alquilo usando tietanos con sustituyentes R_1 , R_2 y R_3 diferentes. Tales tietanos pueden prepararse fácilmente por un experto en la técnica usando técnicas conocidas.

25 Por ejemplo, también pueden prepararse tietanos para su uso en la síntesis de compuestos de la invención mediante la reacción de cisteína modificada, tal como se muestra en el esquema 7 a continuación.

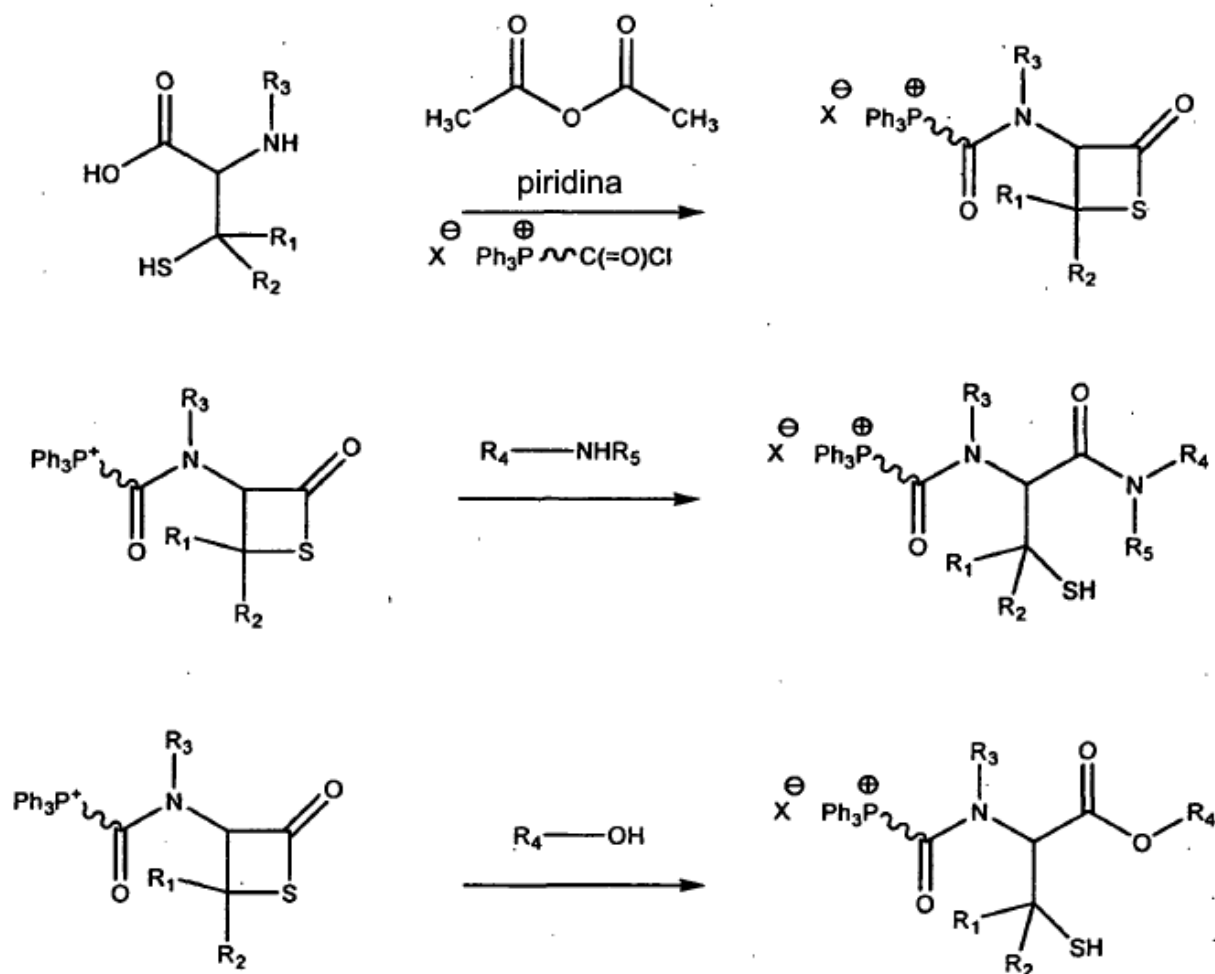
Esquema 7



Generalmente, R_1 , R_2 y R_3 serán alquilo o arilo.

Sin embargo, si se añade un cloruro de ácido ligado a catión trifenilfosfonio a la reacción en el esquema 7, es posible preparar un producto intermedio de tetano que incorpora la funcionalidad ligada a catión trifenilfosfonio en la posición R_3 . Entonces puede abrirse este compuesto con una amina o un alcohol para proporcionar compuestos intermedios de tior en los que el $C(=O)$ está sobre el extremo trifenilfosfonio del grupo $-C(=O)NR-$ en la cadena del grupo de unión. Adicionalmente, la apertura del alcohol proporciona un producto intermedio de tior en el que el grupo de unión está sustituido en el carbono α con respecto al azufre con un grupo éster. Estas reacciones se muestran en el esquema 8 a continuación.

Esquema 8



Pueden prepararse compuestos de la invención según la metodología general descrita anteriormente. Debe entenderse que un experto podrá, sin experimentación excesiva y con respecto a esa habilidad y esta descripción, seleccionar condiciones y reactivos apropiados para modificar esta metodología para producir compuestos de la invención.

Los expertos en la técnica también apreciarán que pueden usarse otras rutas sintéticas para sintetizar los compuestos de la invención. Además, los expertos en la técnica apreciarán que, en el transcurso de la preparación de los compuestos de la invención, puede necesitar protegerse los grupos funcionales de los compuestos intermedios mediante grupos protectores. Los grupos funcionales que es deseable proteger incluyen, pero no se limitan a, hidroxilo, amino y ácido carboxílico. Pueden añadirse y eliminarse grupos protectores según técnicas que conocen bien los expertos en la técnica. El uso de grupos protectores se describe completamente en "Protective Groups in Organic Chemistry", editado por J.W.F. McOmie, Plenum Press (1973), y "Protective Groups in Organic Synthesis", 2ª Ed., T.W. Greene y P.G.M. Wutz, Wiley-Interscience (1991).

4. Usos de compuestos de la invención

En otro aspecto la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención en combinación con uno o más diluyentes, vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables.

5 Pueden encontrarse diluyentes, vehículos y excipientes adecuados en textos farmacéuticos convencionales. Véase, por ejemplo, Handbook for Pharmaceutical Additives, 2ª edición (eds. M. Ash and I. Ash), 2001 (Synapse Information Resources, Inc., Endicott, Nueva York, EE.UU.) y Remington's Pharmaceutical Science, (ed. A. L. Gennaro) 2000 (Lippincott, Williams and Wilkins, Filadelfia, EE.UU.) que se incorporan en el presente documento como referencia.

10 Los excipientes para su uso en las composiciones de la invención incluyen, pero no se limitan a, celulosa microcristalina, citrato de sodio, carbonato de calcio, fosfato de dicalcio y glicina pueden emplearse junto con diversos disgregantes tales como almidón (y preferiblemente almidón de tapioca, patata o maíz), ácido algínico y determinados silicatos complejos, junto con aglutinantes de granulación tales como polivinilpirrolidona, sacarosa, gelatina y goma arábiga. Adicionalmente, a menudo son muy útiles agentes lubricantes tales como estearato de magnesio, laurilsulfato de sodio y talco para fines de formación de los comprimidos. También pueden emplearse
15 composiciones sólidas de un tipo similar como cargas en cápsulas de gelatina; los materiales preferidos con respecto a esto también incluyen lactosa o azúcar de leche así como polietilenglicoles de alto peso molecular. Cuando se desean elixires y/o suspensiones acuosas para administración oral, el principio activo puede combinarse con diversos agentes aromatizantes o edulcorantes, materia de coloración o colorantes, y, si se desea, también
20 agentes de suspensión y/o emulsionantes, junto con diluyentes tales como agua, etanol, propilenglicol, glicerina y diversas combinaciones similares de los mismos.

Los vehículos farmacéuticos incluyen cargas o diluyentes sólidos, medios acuosos estériles y diversos disolventes orgánicos no tóxicos, y similares.

25 Entre otros efectos, los tionitritos protegen contra toxicidad celular asociada con estrés oxidativo. Se cree que esto es debido a que la mayor parte del estrés oxidativo celular se origina en las mitocondrias, (Murphy, M. P.; Smith, R. A. J. Advanced Drug Delivery Reviews 2000, 41, 235-250). Por tanto, compuestos donadores de NO que liberan selectivamente NO en las mitocondrias tienen muchas aplicaciones terapéuticas como antioxidantes.

30 Se ha demostrado que el NO es un inhibidor reversible de la cadena respiratoria mitocondrial mediante competición con el oxígeno en la citocromo oxidasa. El suministro selectivo de NO a las mitocondrias por los compuestos de la invención permite modular de manera reversible la frecuencia respiratoria dentro de los pacientes. En consecuencia, los compuestos de la invención pueden ser útiles en el tratamiento de estados que se ven afectados por la inhibición de la citocromo oxidasa.
35

Los compuestos de la invención no actúan como otros inhibidores de la citocromo oxidasa tales como cianuro, debido a que compiten con el oxígeno y por tanto sólo afectan a la respiración cuando la concentración de oxígeno es baja. Este efecto se invierte una vez que la concentración de oxígeno aumenta. Por consiguiente, los compuestos de la invención pueden considerarse moduladores de la K_m eficaz de la citocromo oxidasa.
40

Puede usarse la inhibición reversible, selectiva de las mitocondrias por los compuestos de la invención para tratar lesión por isquemia-reperfusión evitando que el tejido hipóxico se vuelva totalmente anaeróbico. La isquemia es el estado que presentan los tejidos y órganos cuando se les priva del flujo de sangre. Es principalmente el resultado de
45 suministro de oxígeno y nutrientes inadecuado. La lesión por reperfusión se refiere al daño tisular causado cuando se restablece el flujo de sangre tras un periodo isquémico de más de aproximadamente diez minutos. La isquemia y la reperfusión pueden provocar daño cerebral grave en accidente cerebrovascular o parada cardíaca.

Los compuestos de la invención también tienen actividad como inhibidores de la angiogénesis para prevenir el crecimiento tumoral y la metástasis. Los tumores por encima de un determinado tamaño tienen que atraer vasos sanguíneos hacia ellos con el fin de crecer y el bloqueo de la angiogénesis ha demostrado ser un enfoque satisfactorio para seleccionar cánceres como diana. La ruta de señalización para la angiogénesis implica detectar que la concentración de oxígeno disminuye debido a suministro de sangre escaso. Esto se realiza mediante la degradación dependiente del oxígeno del factor inducible por hipoxia 1- α (HIF-1 α). Con hipoxia, HIF-1 α ya no se
50 degrada y actúa como factor de transcripción que induce una gama de procesos incluyendo la angiogénesis. Se ha demostrado que la exposición a NO puede facilitar la degradación de HIF-1 α inhibiendo parcialmente la respiración y aumentando así la concentración de oxígeno local (Hagen, T., Taylor, C. T., Lam, F., Moncada, S. Science, 2003, 302, 1975-1978).
55

Los compuestos de la invención actúan como inhibidores de la angiogénesis inhibiendo la citocromo oxidasa aumentando así la concentración de oxígeno local en tumores hipóxicos. Esto desestabiliza el factor inducible por hipoxia 1- α (HIF-1 α) del factor de transcripción bloqueando así la angiogénesis hacia el tumor.
60

Por tanto, la producción selectiva de NO dentro de las mitocondrias por los compuestos de la invención puede actuar para inactivar la angiogénesis en tumores sin afectar la respiración en tejidos completamente aeróbicos. Esto dará como resultado una ralentización del desarrollo tumoral.
65

También se ha implicado el óxido nítrico en la patología de neurodegeneración de las enfermedades de Alzheimer y Parkinson (Stamler, J.S., Jaraki, O., Osborne, J., Simon, D.I., Keaney, J., Vita, J., Singel, D., Valeri, C.R., Loscalzo, J. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1992, 89, págs. 7674-7).

Se cree que el NO afecta estos trastornos por medio de interacciones con la citocromo c oxidasa y el complejo I, respectivamente. Por tanto, los compuestos donadores de NO de la invención pueden tener aplicación terapéutica en el tratamiento y el manejo de las enfermedades de Alzheimer y de Parkinson.

Los compuestos de la invención también pueden usarse conjuntamente con otras terapias tales como agentes anticancerígenos y otros productos farmacéuticos.

Los conjugados o las composiciones farmacéuticas de la invención pueden administrarse por vías oral, parenteral (tal como técnicas subcutánea, intravenosa, intramuscular, intracisternal e infusión), rectal, intranasal o tópicas. En general, estos compuestos se administran en dosis que oscilan entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente 500 mg al día, en dosis únicas o divididas (tal como desde 1 hasta 4 dosis al día).

Un experto en la técnica apreciará que las dosificaciones apropiadas de los compuestos, y composiciones que comprenden los compuestos, pueden variar de paciente a paciente. La determinación de la dosificación óptima supondrá generalmente el equilibrio del nivel de beneficio terapéutico frente a cualquier riesgo o efecto secundario perjudicial. El nivel de dosificación seleccionado dependerá de una variedad de factores incluyendo, pero sin limitarse a, la actividad del compuesto particular, la vía de administración, el tiempo de administración, la tasa de excreción del compuesto, la duración del tratamiento, otros fármacos, compuestos y/o materiales usados en combinación, la gravedad del estado y la salud general e historia clínica previa del paciente.

Los compuestos activos de esta invención pueden administrarse solos o en combinación con diluyentes, vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables mediante cualquiera de las vías indicadas anteriormente, y tal administración puede llevarse a cabo en dosis únicas o múltiples.

Más particularmente, los agentes terapéuticos novedosos de esta invención pueden administrarse en una amplia variedad de formas farmacéuticas diferentes, pueden combinarse con diversos vehículos inertes farmacéuticamente aceptables en forma de comprimidos, cápsulas, pastillas para chupar, trociscos, caramelos duros, polvos, pulverizaciones, cremas, bálsamos, supositorios, gelatinas, geles, pastas, lociones, pomadas, disoluciones inyectables de suspensiones acuosas, elixires, jarabes, y similares. Tales vehículos incluyen cargas o diluyentes sólidos, medios acuosos estériles y diversos disolventes orgánicos no tóxicos, y similares. Se prefieren las formas inyectables.

Además, las composiciones farmacéuticas orales pueden aromatizarse y/o edulcorarse adecuadamente. En general, los conjugados de la invención están presentes en tales formas farmacéuticas a niveles de concentración que oscilan entre aproximadamente el 1,0% y aproximadamente el 70% en peso, preferiblemente de aproximadamente el 1,0% a aproximadamente el 70% en peso.

Para su uso oral en el tratamiento de los diversos trastornos y estados denominados anteriormente, los conjugados pueden administrarse, por ejemplo, en forma de comprimidos o cápsulas, o como suspensión o disolución acuosa. Los comprimidos pueden contener diversos excipientes tal como se describió anteriormente.

Para la administración parenteral, pueden emplearse disoluciones de un compuesto de la presente invención en aceites tales como aceite de cacahuate o sésamo, o un propilenglicol acuoso. Las disoluciones acuosas deben tamponarse adecuadamente (preferiblemente pH inferior a 8) si es necesario y el diluyente líquido debe volverse isotónico en primer lugar. Estas disoluciones acuosas son adecuadas para fines de inyección intravenosa. Las disoluciones oleosas son adecuadas para fines de inyección subcutánea e intramuscular. La preparación de todas estas disoluciones en condiciones estériles se logra fácilmente mediante técnicas farmacéuticas convencionales bien conocidas por los expertos en la técnica.

Pueden prepararse disoluciones estériles del principio activo para su uso intravenoso, parenteral e intramuscular, y el pH de las disoluciones debe ajustarse y tamponarse adecuadamente. Para su uso intravenoso, debe controlarse la concentración total de solutos para hacer que la preparación sea isotónica.

Ahora se ilustrarán diversos aspectos de la invención de manera no limitativa mediante referencia a los siguientes ejemplos.

Ejemplo 1

Se preparó un compuesto de fórmula (X) tal como se describió en los esquemas 1 y 2 anteriormente.

Se encontró que el compuesto, denominado en el presente documento MitoSNO, tenía un espectro de masas de alta resolución de 380,1238 (calc. para $C_{22}H_{23}PSNO$ es 380,1). También se encontró que el compuesto tenía un coeficiente de extinción de $16 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (a $\lambda=549 \text{ nm}$).

Se usó un electrodo selectivo de NO para demostrar la liberación de NO a partir de MitoSNO. Se incubó MitoSNO $50 \mu\text{M} \pm \text{GSH } 10 \text{ mM}$ en tampón de KPi, pH 8, a 37°C durante 30 min., entonces se añadió oxihemoglobina ($5 \mu\text{M}$) al final de la incubación para degradar el NO libre a nitrato (NO_3^-) y devolver la respuesta del electrodo al nivel inicial. Esto demostró que MitoSNO libera NO tanto en presencia como en ausencia de GSH tal como puede observarse en la figura 2.

Se incubaron mitocondrias de hígado de rata (1 mg de proteína/ml) en tampón de KCl a 37°C con MitoSNO 5 μ M. Se realizaron secuencialmente adiciones de 1 μ M de MitoSNO antes de la adición de succinato 10 mM. Entonces se añadió FCCP 200 nM para desacoplar las mitocondrias. Se midieron simultáneamente las concentraciones de O₂ y MitoSNO en disolución usando un electrodo de O₂ de tipo Clark en combinación con un electrodo selectivo de iones para catión trifenílfosfonio (TPP⁺). Se encontró que MitoSNO se captaba por mitocondrias aisladas e inhibía la respiración mediante liberación de NO. Esto puede observarse en la figura 3.

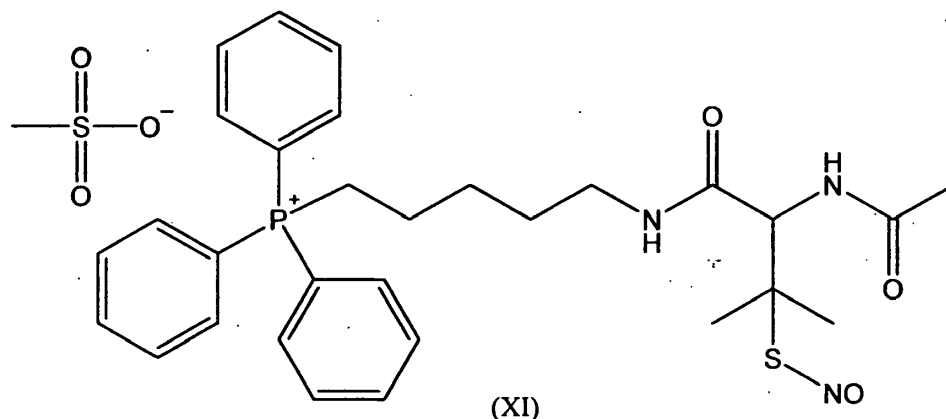
Quando se añadió succinato, las mitocondrias comenzaron a respirar y establecieron un $\Delta\psi$, lo que provocó una disminución de la concentración de MitoSNO, tal como se detectó mediante el electrodo selectivo de iones (figura 3). Cuando se desacoplaron las mitocondrias mediante el FCCP, se detectó un aumento concomitante en la concentración de MitoSNO, o sus derivados, en el medio mediante el electrodo selectivo de iones. La cantidad de MitoSNO captado en las mitocondrias a partir del perfil en la figura 3 corresponde a $\sim 2,5 \mu\text{M}$ de la concentración externa inicial de $5 \mu\text{M}$. Por tanto se han captado $7,5 \text{ nmol}$ de MitoSNO en 3 mg de proteína, y como el volumen mitocondrial es de $\sim 0,5 \mu\text{l/mg}$ de proteína (Brown, G. C. y Brand, M. D. Biochem J., 1985, 225, 399-405), la concentración de MitoSNO dentro de las mitocondrias es de $\sim 5 \text{ mM}$. Esto representa una concentración de 2000 veces con respecto a los $2,5 \mu\text{M}$ presentes en el medio externo, y concuerda con una captación nernstiana de MitoSNO.

Para demostrar que MitoSNO liberó NO dentro de las mitocondrias energizadas e inhibió la respiración mitocondrial, se incubó MitoSNO 5 μM con una concentración baja de mitocondrias de hígado de rata (0,5 mg de proteína/ml) en tampón de KCl a 37°C, para permitir un periodo de incubación más largo con el fin de liberar NO suficiente a partir de MitoSNO para afectar a la respiración. Se realizaron secuencialmente adiciones de 1 μM de MitoSNO antes de la adición de succinato 10 mM. Entonces se dejó que las mitocondrias respiraran hasta que el consumo de oxígeno

alcanzó una meseta. A concentraciones de oxígeno bajas, se observaron inhibición de la respiración y redistribución gradual concomitante de MitoSNO, o sus cationes TPP derivados, con respecto a la disolución extramitocondrial mediante a la disminución de $\Delta\psi$ (figura 4).

5 Ejemplo 5

Se preparó un compuesto de fórmula (XI) tal como se describió en el esquema 6 anteriormente.



Se agitó una disolución de bromuro de 5-aminopentiltrifenilfosfonio-bromuro de hidrógeno (McAllister, P. R.; Dotson, M. J.; Grim, S. O.; Hillman, G. R. *Journal of Medicinal Chemistry* 1980, 23, págs. 862-5) (467 mg, 0,917 mmol) y trietilamina (136 μ l, 0,920 mmol) en diclorometano (10 ml) durante 5 min., tiempo tras el cual se añadió una disolución de N-(2,2-dimetil-4-oxo-tietan-3-il)-acetamida (Moynihan, H. A.; Roberts, S. M. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1: Organic and Bio-Organic Chemistry* (1972-1999) 1994, págs. 797-805) (157 mg, 0,917 mmol) en diclorometano (20 ml) en una alícuota y se agitó la mezcla de reacción durante 4 h más. Después de lavarse la mezcla con una disolución saturada de metanosulfonato de sodio (3 x 20 ml), se recogió la fracción orgánica, se secó (MgSO_4), se filtró y se eliminaron los disolventes a vacío para dar un aceite amarillo pálido. Se disolvió el aceite en diclorometano mínimo (2 ml) y entonces se añadió dietil éter en exceso (70 ml). Después de depositarse el precipitado resultante, se decantaron los disolventes y se secó el residuo a vacío (0,1 mmHg) durante 2 h para dar un tiol como polvo de color crema (374 mg, 0,607 mmol, 66%). HRPI ES-EM (CE) calculado para $\text{C}_{30}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_5\text{PS}^+$: 521,2386, hallado: 521,2397. Análisis calculado para $\text{C}_{31}\text{H}_{41}\text{N}_2\text{O}_5\text{PS}_2$: C 60,4, H 6,7, N 4,5, S 10,4%; hallado C 59,8, H 6,9, N 4,8, S 10,2%. UV-vis: 2,7 mg en 10 ml de etanol, ϵ_{268} 2660 $\text{lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$, ϵ_{275} 2292 $\text{lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$. ^1H -RMN (cloroformo- d_1) δ 7,94 (1H, t, J = 5 Hz, $\text{CH}_2\text{-NH}$), 7,82-7,62 (16H, m, ArH, CH-NH), 4,67 (1H, d, J = 10 Hz, CH), 3,58-3,47 (2H, m, $\text{CH}_2\text{-P}^+$), 3,42-3,27 (1H, m, CHH-NH), 3,27-3,14 (1H, m, CHH-NH), 2,76 (3H, s, $\text{SO}_3\text{-CH}_3$), 2,69 (1H, s, SH), 2,13 (3H, s, CO-CH_3), 1,55 (3H, s, CH_3), 1,43 (3H, s, CH_3), 1,80-1,52 (6H, m, CH_2 ppm. ^{13}C -RMN (cloroformo- d_1 , 125 MHz) δ 170,7, (CO), 170,3, (CO), 135,1 (d, J = 3 Hz, para-Ph), 133,6 (d, J = 10 Hz, meta-Ph), 130,6 (d, J = 13 Hz, orto-Ph), 118,5 (d, J = 86 Hz, ipso-Ph), 62,3 (CH), 46,5 (C), 39,8 ($\text{CH}_3\text{-SO}_3$), 38,2 ($\text{CH}_2\text{-NH}$), 30,7 (CH_3), 30,6, (CH_3), 27,6 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$), 27,1 (d, J = 17 Hz, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-P}^+$), 23,4 (CH_3), 22,0 (d, J = 53 Hz, $\text{CH}_2\text{-P}^+$), 21,9 (d, J = 5 Hz, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-P}^+$) ppm. ^{31}P -RMN (cloroformo- d_1) δ 25,4 ppm. HPLC: fase móvil del 50% de acetonitrilo, el 50% de agua (ácido trifluoroacético al 0,1%); Prodigy 5 μ OD53 11A 250x4 mm, detección 275 nm, velocidad de flujo 1,00 ml/min.; tiempo de retención 4,76 min., un pico.

Se disolvió una muestra del tiol (50 mg, 0,081 mmol) en etanol (2 ml) se lavó con argón y se almacenó en la oscuridad. Se añadió disolución madre de ácido metanosulfónico (0,576 ml, 357 mmol) y se agitó con remolino el recipiente de reacción durante 1 min., entonces se añadió nitrito de sodio acuoso (0,420 ml, 323 mmol) y de nuevo se agitó con remolino el recipiente de reacción. Se mantuvo la mezcla de reacción en la oscuridad durante 2 h a temperatura ambiente. Entonces se añadió diclorometano (2 ml) y se agitó suavemente la mezcla durante 10 s. Se añadió agua destilada (2 ml) y se dejó reposar la mezcla de reacción durante 20 s y se eliminó la fase de diclorometano inferior y se seco sobre MgSO_4 anhidro (~200 mg). Entonces se filtró la disolución de diclorometano y se evaporó (30°C, 2 mmHg). Se disolvió el residuo vítreo verde en diclorometano mínimo (0,5 ml) y se añadió a dietil éter (40 ml). Se aisló el precipitado verde pálido resultante mediante decantación y se secó a vacío (2 mmHg) y en la oscuridad para proporcionar el producto (V) (40 mg, 78%). HPLC. 50% de acetonitrilo, 50% de agua (ácido trifluoroacético al 0,1%); Prodigy 5 μ OD53 11A 250x4 mm, detección 275 nm, velocidad de flujo 1,00 ml/min.; tiempo de retención 8,17 min., un pico. UV-vis: etanol $\lambda_{\text{máx}}$ = 268 nm (ϵ 3191 $\text{lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$), λ = 275 nm (ϵ 2730 $\text{lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$), λ = 344 nm (ϵ 601 $\text{lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$). HRPI ES-EM (CE) (CE 6V, QIE 3V) calculado para $\text{C}_{30}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_3\text{PS}$: 550,229, hallado: 550,226. ^1H -RMN δ (metanol- d_4): 8,38 (1H, t. a., $\text{CH}_2\text{-NH}$), 7,73-7,92 (15H, m, Ar-H), 5,30 (1H, d, J = 10 Hz, CH), 3,47-3,35 (2H, m, $\text{P}^+\text{-CH}_2$), 3,22-3,07 (2H, m, $\text{CH}_2\text{-NH}$), 2,68 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-SO}_3$), 2,03 (3H, s, CH_3), 1,99 (3H, s, CH_3), 1,96 (3H, s, CH_3), 1,88-1,40 (6H, m, CH_2) ppm. ^{13}C -RMN δ (metanol- d_4 , 125 MHz): 173,1 (CO), 170,8 (CO), 136,3 (d, J = 3 Hz, para-Ph), 134,8 (d, J = 10 Hz, meta-Ph), 131,5 (d, J = 13 Hz, orto-Ph), 119,9 (d, J = 86 Hz, ipso-Ph), 61,7 (CH), 59,2 (C), 39,8 ($\text{CH}_2\text{-NH}$), 39,5 ($\text{CH}_3\text{-SO}_3$), 29,3 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}$), 28,7 (d, J = 17 Hz, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-P}^+$), 27,1, (CH_3),

25,9, (CH₃), 23,0 (d, J= 9 Hz, CH₂-CH₂-CH₂-P⁺), 22,7 (d, J= 56 Hz, CH₂-P⁺), 22,4 (CH₃) ppm. ³¹P-RMN δ (metanol-d₄) 24,9 ppm. Este compuesto, metanosulfonato de [5-(2-acetilamino-3-metil-3-nitrosotio-butirilamino)-pentil]-trifenilfosfonio, se denomina en el presente documento MitoSNAP.

5 Ejemplo 6

Para demostrar que MitoSNAP podía liberar NO espontáneamente, se incubó S-nitroso-N-acetil-DL-penicilamina (SNAP) (50 μM) o MitoSNAP (50 μM) a 37°C en tubos opacos en tampón de KCl (KCl 120 mM, HEPES 10 mM, ácido etilen-bis(oxietilen-nitrilo)tetracético (EGTA) 1 mM) con ácido dietilentriaminopentacético (DTPA) 100 μM y neocuproína (10 μM) que se había tratado con Chelex (1%). Se tomaron muestras cada hora y se congelaron instantáneamente en nieve carbónica. Se descongelaron las muestras y se sometieron a ensayo para determinar la concentración nitrito usando el ensayo de Griess. Los datos son medias de determinaciones por triplicado de un único experimento que se repitió 3x con resultados similares (figura 5).

15 Ejemplo 7

Para demostrar que MitoSNAP podía liberar NO, se incubó tampón de KCl purgado con nitrógeno (como anteriormente) a 37°C en la cámara con agitación de un electrodo de óxido nítrico (WPI Ltd). Se añadió MitoSNAP (100 μM) y se midió la formación de NO mediante el electrodo de NO. Cuando se indica se añadió oxihemoglobina (~5 μM) para degradar todo el NO acumulado a nitrato.

Ejemplo 8

Para ver la interacción del MitoSNAP con las mitocondrias, se incubaron mitocondrias de hígado de rata (1 mg de proteína /ml) en tampón de KCl (como anteriormente) complementado con rotenona (4 μg/ml) +/- FCCP (0,5 μM) a 37°C y se midieron las concentraciones de oxígeno y NO usando electrodos apropiados. Para la incubación sin FCCP, se añadió MitoSNAP (50 μM) seguido por succinato (10 mM) lo que indujo un potencial de membrana mitocondrial que condujo a la captación de MitoSNAP dentro de las mitocondrias lo que condujo a su activación mediante tioles dentro de las mitocondrias y a la liberación de grandes cantidades de NO. Este NO condujo a la inhibición de la respiración en la citocromo oxidasa y esto se invirtió mediante la adición de oxihemoglobina (~5 μM) para degradar todo el NO acumulado a nitrato.

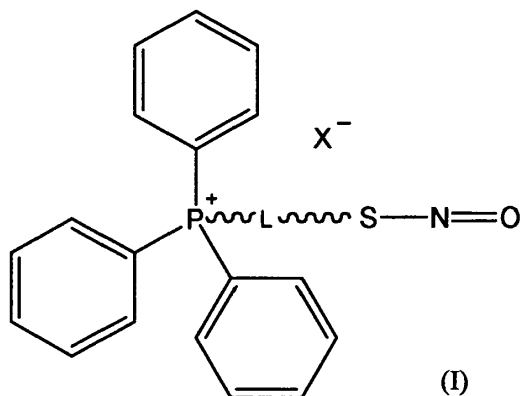
Aplicabilidad industrial

Los compuestos de la invención proporcionan un sistema de suministro de NO directamente en las mitocondrias. Los compuestos se captan selectivamente por las mitocondrias impulsados por el potencial de membrana. El suministro selectivo de NO en las mitocondrias permite seleccionar como diana variables sensibles a NO locales, tales como la inhibición de la respiración. Los compuestos de la invención también pueden S-nitrosilar proteínas presentes en las mitocondrias. Los donadores de NO convencionales producen NO por toda la célula y afectan a un gran número de rutas de señalización de NO.

Los compuestos de la invención son de utilidad en el tratamiento de estados que se ven afectados por la respiración mitocondrial tales como lesión por isquemia-reperfusión. También pueden inhibir la angiogénesis y por tanto son de utilidad en el tratamiento y la prevención del crecimiento tumoral y/o la metástasis.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula (I)



en la que $\sim L \sim$ es un grupo de unión y X es un anión opcional; y

en la que el grupo de unión se selecciona del grupo que comprende:

- (a) alquilenos (C_1-C_{30}),
- (b) alquilen (C_1-C_x)-NR-alquilenos (C_1-C_y), en el que R es H, alquilo o arilo,
- (c) alquilen (C_1-C_x)-NR-C(=O)-alquilenos (C_1-C_y), en el que R es H, alquilo o arilo,
- (d) alquilen (C_1-C_x)-C(=O)-NR-alquilenos (C_1-C_y), en el que R es H, alquilo o arilo,
- (e) alquilen (C_1-C_x)-O-alquilenos (C_1-C_y),
- (f) alquilen (C_1-C_x)-O-C(=O)-alquilenos (C_1-C_y),
- (g) alquilen (C_1-C_x)-S-alquilenos (C_1-C_y), y
- (h) alquilen (C_1-C_x)-aril-alquilenos (C_1-C_y),

en donde $x + y = 30$ y en donde el alquilenos está opcionalmente sustituido con uno o más grupos funcionales seleccionados independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, alqueno, alquino, haloalquilo, arilo, aminoalquilo, hidroalquilo, alcoalquilo, alquiltio, alquilsulfonilo, alquilsulfonilo, carboxialquilo, ciano, oxilo, amino, alquilamino, aminocarbonilo, alcocarbonilo, ariloxycarbonilo, alquilaminocarbonilo, arilaminocarbonilo, aralquilaminocarbonilo, alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, aralquilcarbonilamino, alquilcarbonilo, heterociclocarbonilo, aminosulfonilo, alquilaminosulfonilo, alquilsulfonilo y heterociclosulfonilo, o los grupos sustituyentes de átomos de carbono adyacentes en el grupo de unión pueden tomarse junto con los átomos de carbono a los que están unidos para formar un carbociclo o un heterociclo.

2. Compuesto según la reivindicación 1, en el que el grupo de unión se selecciona del grupo que comprende:

- (a) alquilenos (C_1-C_{30}),
- (b) alquilen (C_1-C_x)-NR-C(=O)-alquilenos (C_1-C_y), en el que R es H, alquilo o arilo,
- (c) alquilen (C_1-C_x)-C(=O)-NR-alquilenos (C_1-C_y), en el que R es H, alquilo o arilo, y
- (d) alquilen (C_1-C_x)-O-C(=O)-alquilenos (C_1-C_y),

en donde $x + y = 30$, en donde el alquilenos está opcionalmente sustituido con uno o más grupos funcionales seleccionados independientemente del grupo que consiste en alquilo, cicloalquilo, alqueno, alquino, haloalquilo, arilo, aminoalquilo, hidroalquilo, alcoalquilo, alquiltio, alquilsulfonilo, alquilsulfonilo, carboxialquilo, ciano, oxilo, amino, alquilamino, aminocarbonilo, alcocarbonilo, ariloxycarbonilo, alquilaminocarbonilo, arilaminocarbonilo, aralquilaminocarbonilo, alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, aralquilcarbonilamino, alquilcarbonilo, heterociclocarbonilo, aminosulfonilo, alquilaminosulfonilo, alquilsulfonilo y heterociclosulfonilo, o los grupos

sustituyentes de átomos de carbono adyacentes en el grupo de unión pueden tomarse junto con los átomos de carbono a los que están unidos para formar un carbociclo o un heterociclo.

3. Compuesto según la reivindicación 2, en el que el grupo de unión se selecciona del grupo que comprende:

(a) alquileo (C_1-C_{12}),

(b) alquilen (C_1-C_7)-NR-C(=O)-alquileo (C_1-C_5), en el que R es H, alquilo o arilo,

(c) alquilen (C_1-C_7)-C(=O)-NR-alquileo (C_1-C_5), en el que R es H, alquilo o arilo, y

(d) alquilen (C_1-C_7)-O-C(=O)-alquileo (C_1-C_5),

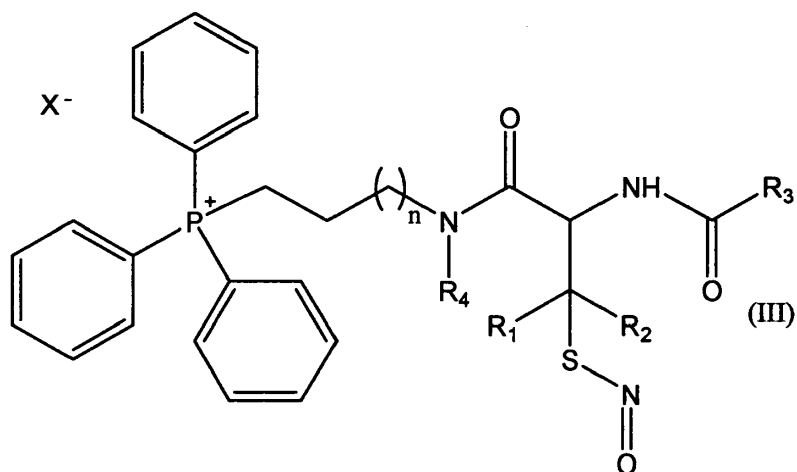
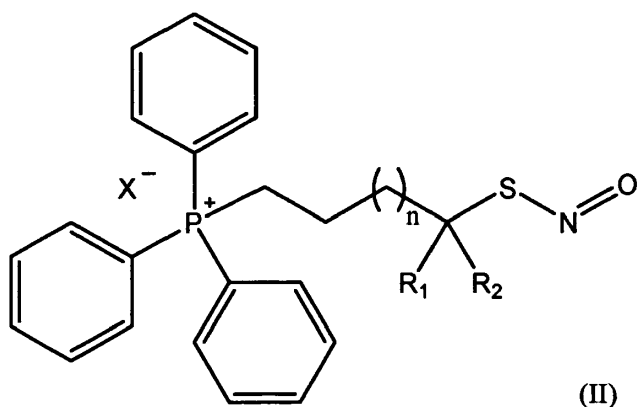
en donde el alquileo está opcionalmente sustituido con uno o más grupos funcionales seleccionados independientemente del grupo que consiste en alquilo, arilo, alcóxicarbonilo, arilóxicarbonilo, alquilaminocarbonilo, arilaminocarbonilo, alquilcarbonilamino y arilcarbonilamino.

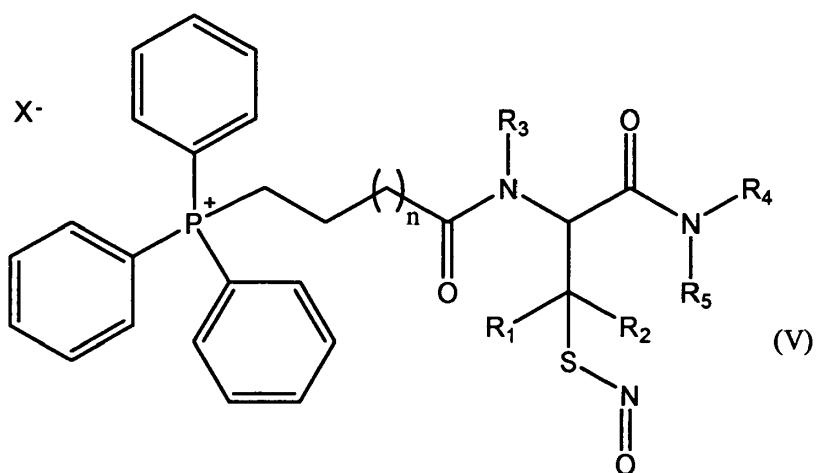
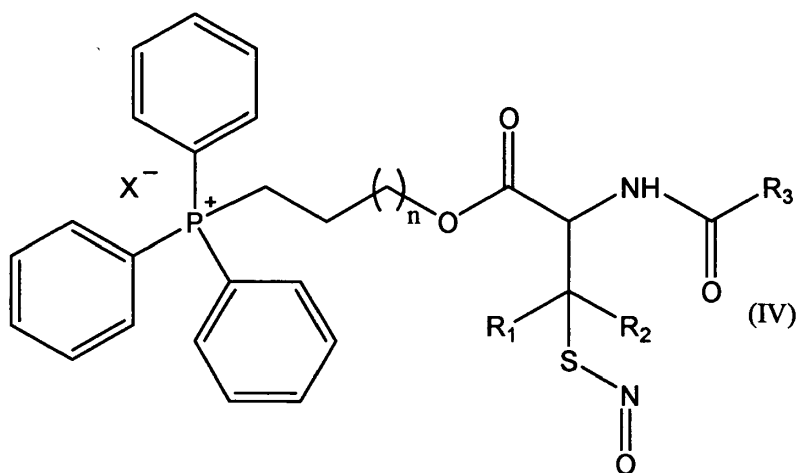
4. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el alquileo está sustituido en el carbono β con respecto al átomo de azufre con uno o más grupos funcionales seleccionados independientemente del grupo que consiste en alcóxicarbonilo, alquilaminocarbonilo y alquilcarbonilamino.

5. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el alquileo está sustituido en el carbono α con respecto al átomo de azufre con alquilo o arilo.

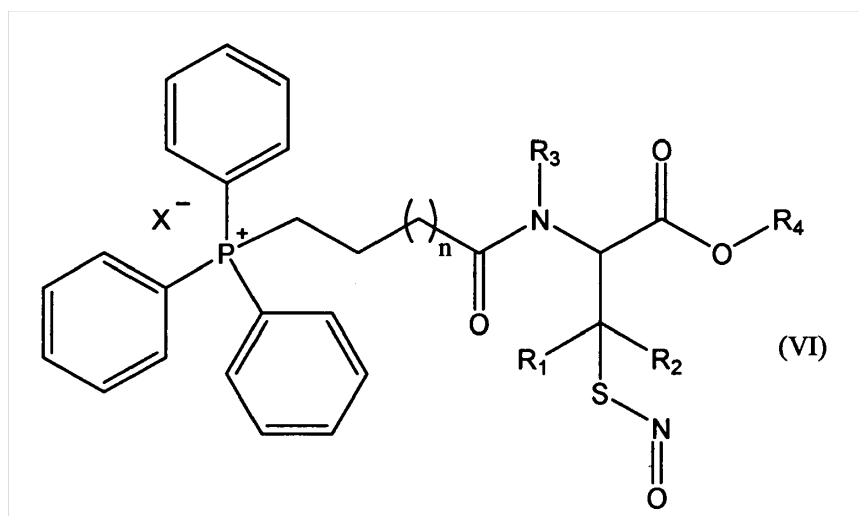
6. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que el anión opcional es un anión derivado de un ácido seleccionado del grupo que comprende ácido clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, sulfúrico, sulfuroso, nítrico, nitroso, fosfórico, fosforoso, alquilsulfónico o arilsulfónico.

7. Compuesto según la reivindicación 1, seleccionándose el compuesto del grupo que comprende





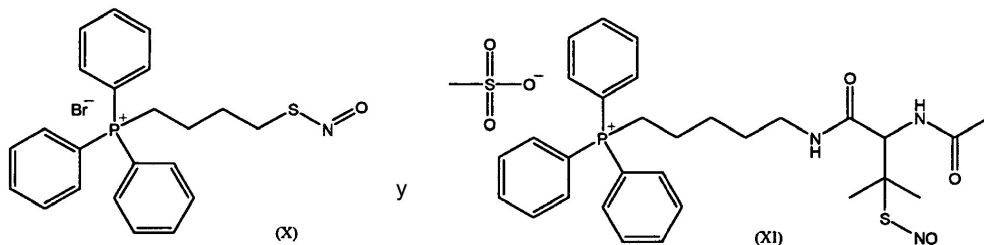
5
o



10 en donde n es desde 0 hasta 27, X es un anión opcional y R₁ y R₂ se seleccionan independientemente del grupo que

comprende hidrógeno, alquilo y arilo.

8. Compuesto según la reivindicación 1, seleccionado del grupo que comprende:



9. Composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8 con uno o más diluyentes, vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables.

10. Uso de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en la preparación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o trastorno seleccionado del grupo que comprende cáncer, neoplasmas, crecimiento tumoral, metástasis, angina de pecho, accidente cerebrovascular, infarto de miocardio y lesión por isquemia-reperfusión.

11. Uso de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en la preparación de un medicamento para inhibir la angiogénesis en un sujeto.

12. Uso de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en la preparación de un medicamento para generar NO en las mitocondrias de un sujeto.

13. Uso de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en la preparación de un medicamento para inhibir la citocromo oxidasa en las mitocondrias de un sujeto.

14. Uso de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en la preparación de un medicamento para S-nitrosilar proteínas en las mitocondrias de un sujeto.

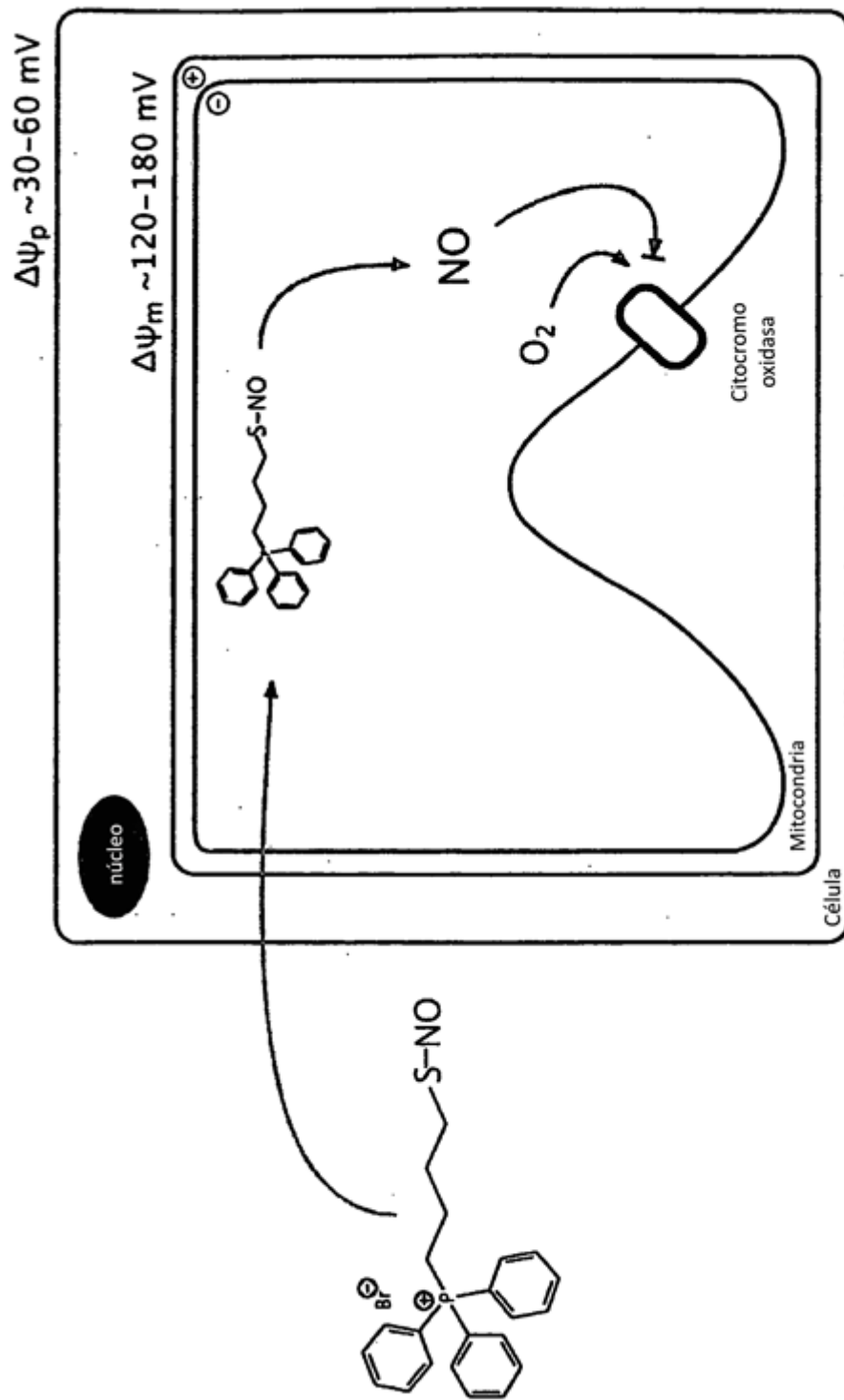


FIGURA 1

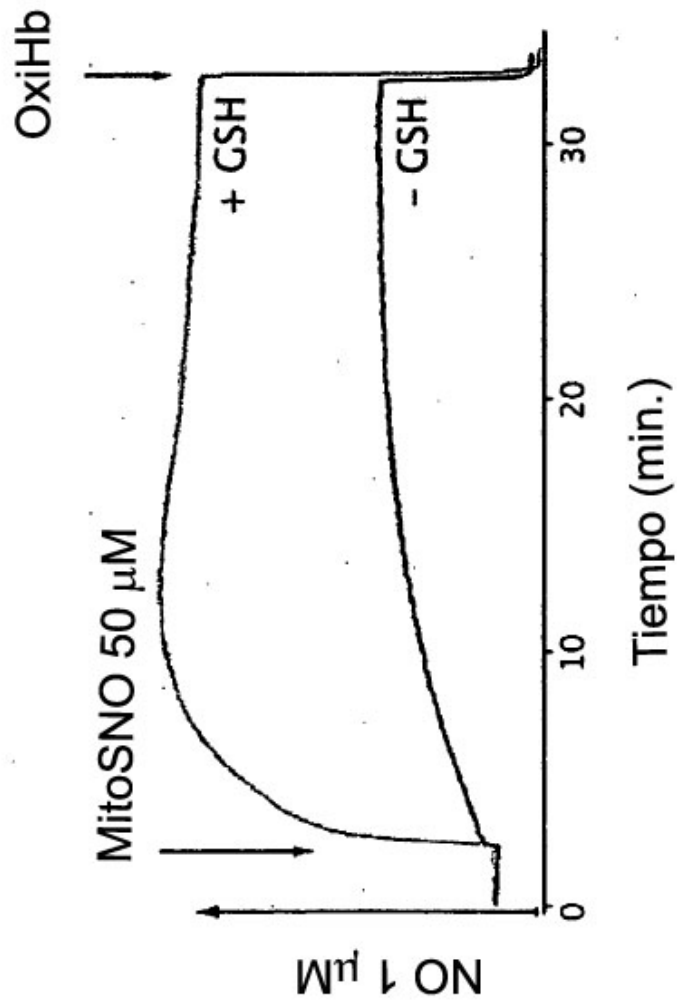


FIGURA 2

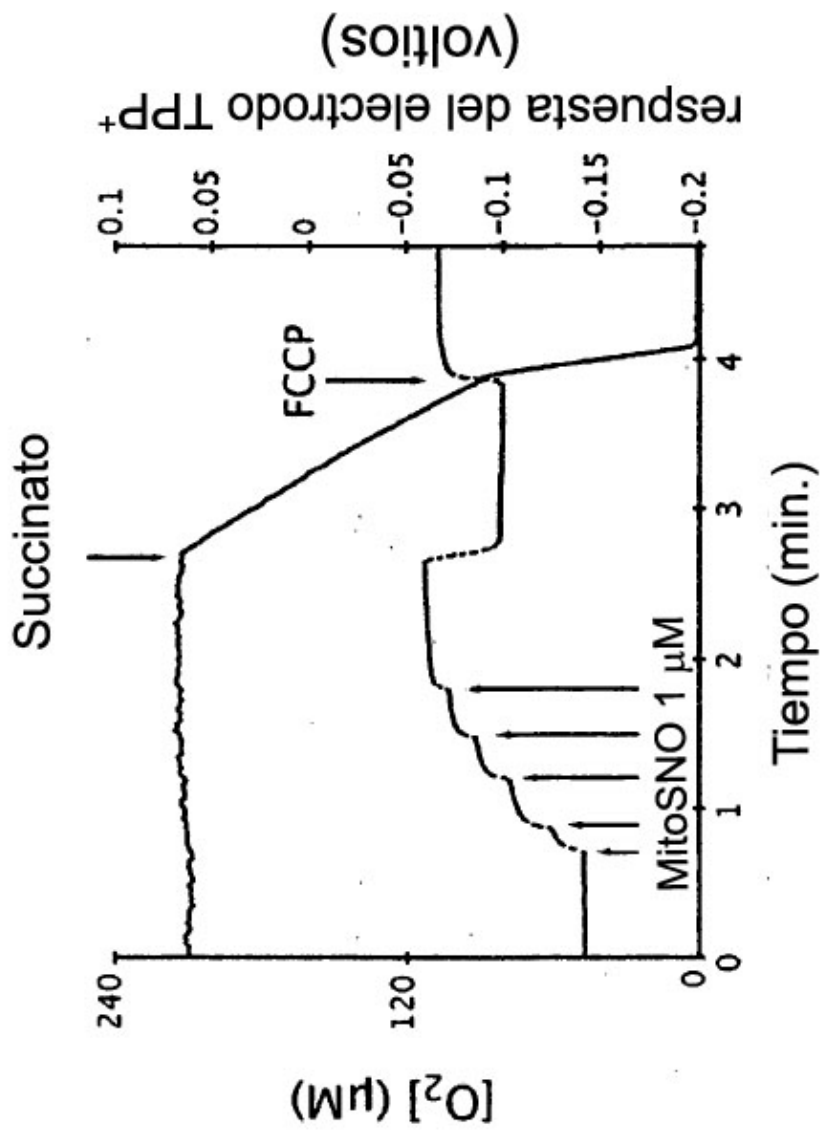


FIGURA 3

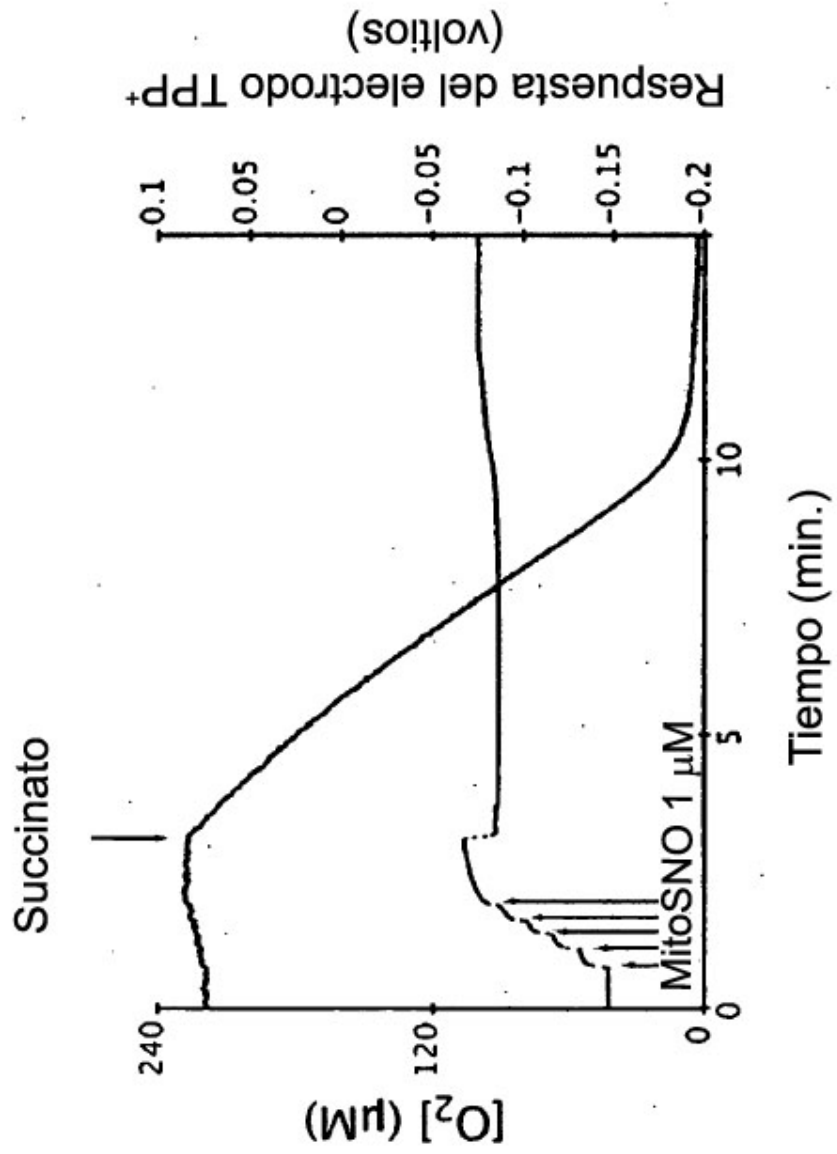
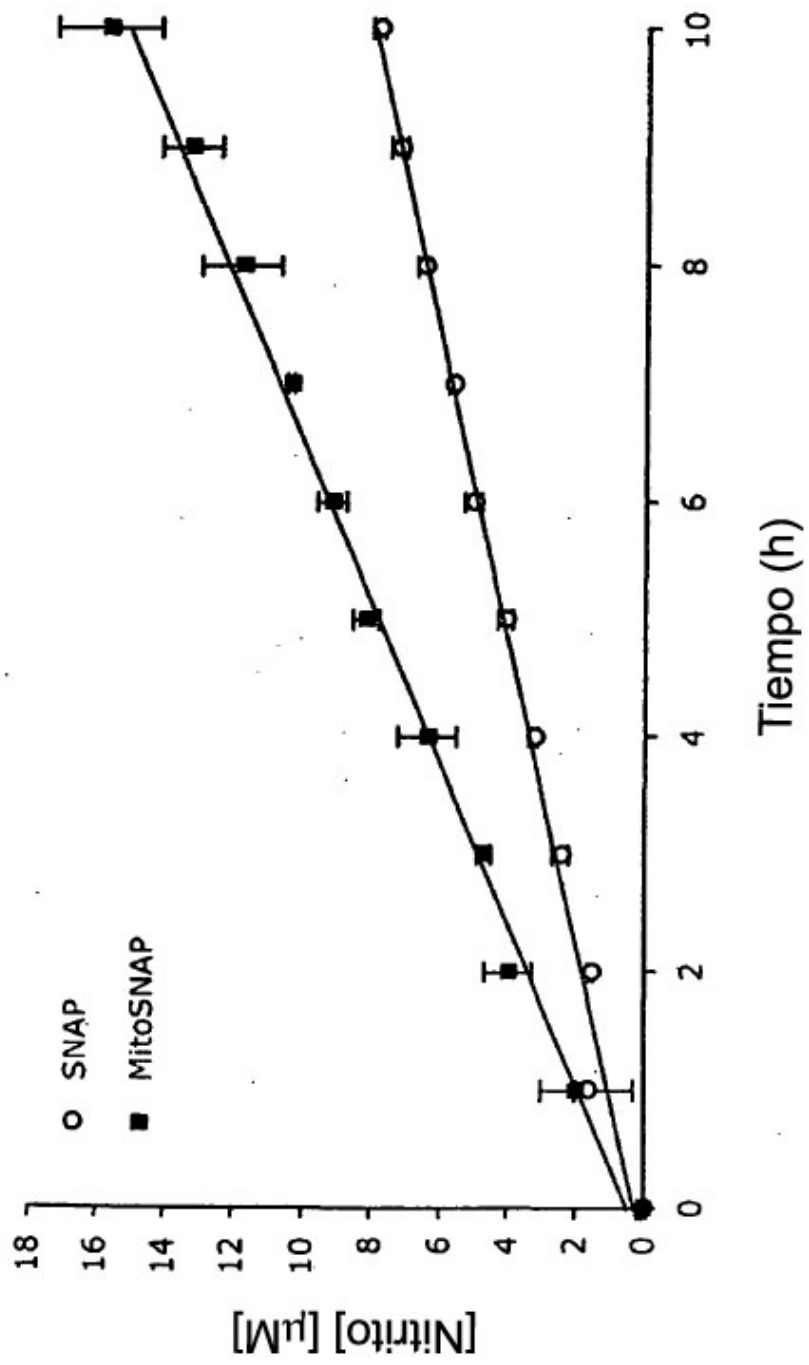
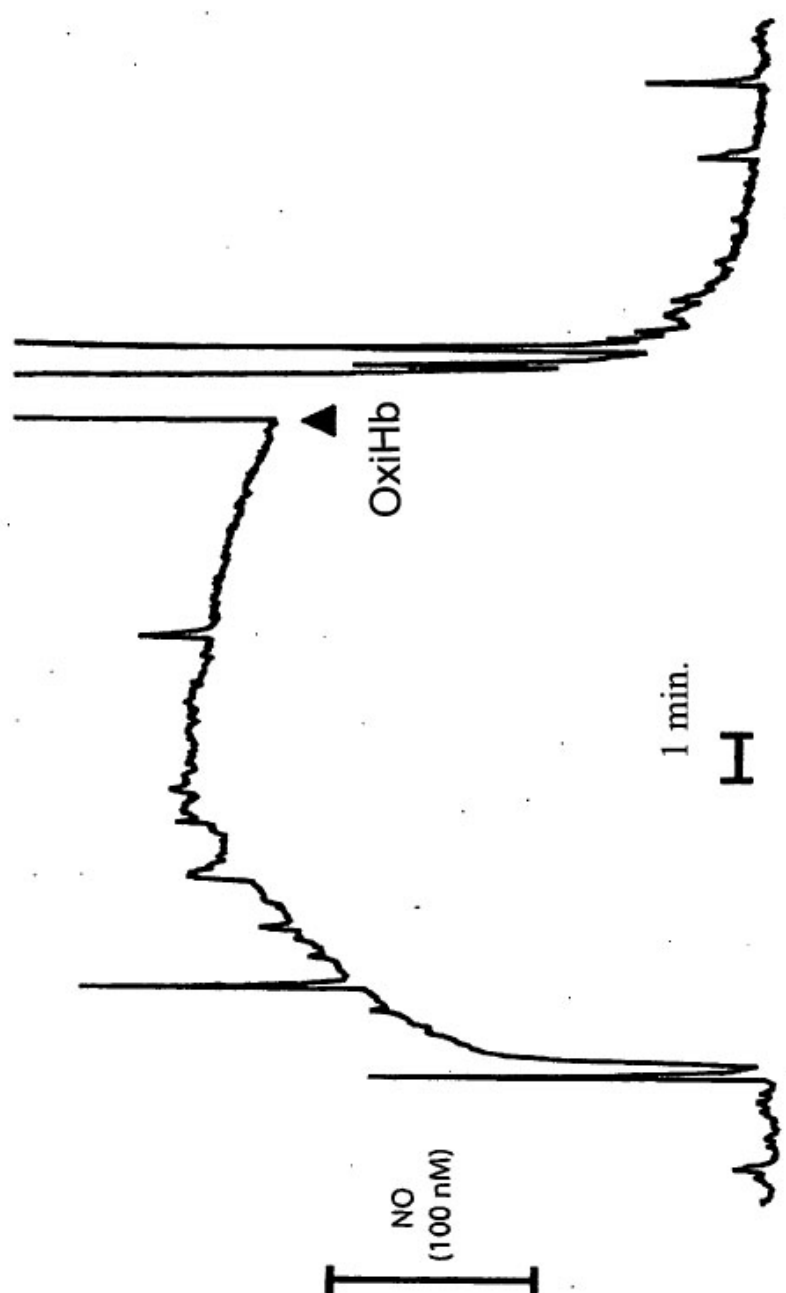


FIGURA 4

**FIGURA 5**



FIRGURA 6

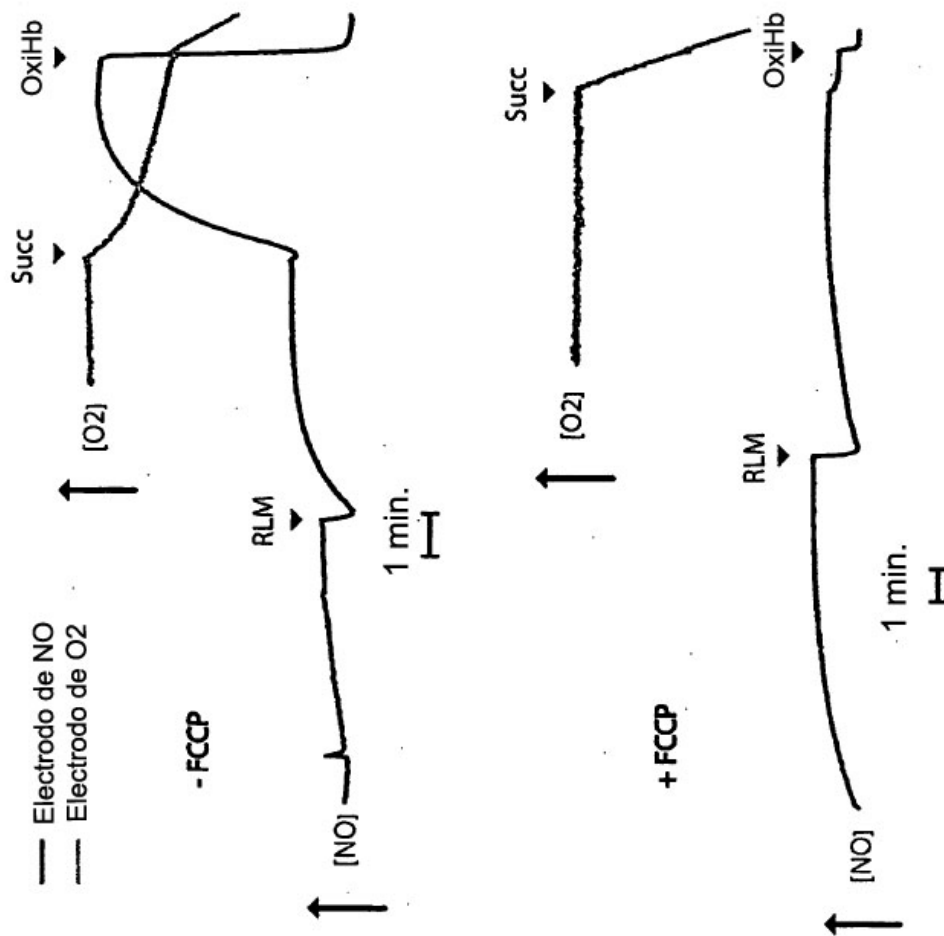


FIGURA 7