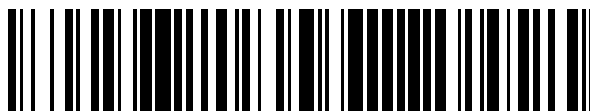


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 573 977**

51 Int. Cl.:

C07C 323/52 (2006.01)
C07C 317/44 (2006.01)
C07C 323/54 (2006.01)
C07C 323/56 (2006.01)
C07C 323/61 (2006.01)
A23L 33/12 (2006.01)
A61K 31/19 (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.07.2009 E 09798181 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.03.2016 EP 2313090**

54 Título: **Lípidos novedosos que contienen azufre para su uso como complemento alimenticio o como medicamento**

30 Prioridad:

15.07.2008 EP 08160450
15.07.2008 US 80804 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
13.06.2016

73 Titular/es:

PRONOVA BIOPHARMA NORGE AS (100.0%)
P.O. Box 420
1327 Lysaker

72 Inventor/es:

HOLMEIDE, ANNE, KRISTIN;
HOVLAND, RAGNAR y
BRÆNDVANG, MORTEN

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 573 977 T3

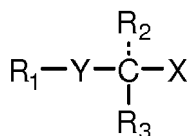
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar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

DESCRIPCIÓN

Lípidos novedosos que contienen azufre para su uso como complemento alimenticio o como medicamento

Campo técnico

La presente invención se refiere a compuestos lipídicos de fórmula general (I):



(I)

5

en la que

• R_1 se selecciona de un alquenoilo $C_{10}-C_{22}$ con 3-6 dobles enlaces metileno interrumpidos en configuración Z, y un alquinoilo $C_{10}-C_{22}$ que tiene 1-6 triples enlaces;

10

• R_2 y R_3 son iguales o diferentes y pueden seleccionarse de un grupo de sustituyentes que consiste en un átomo de hidrógeno y un grupo alquilo, siempre que R_2 y R_3 no sean ambos un átomo de hidrógeno; o

• R_2 y R_3 pueden estar conectados para formar un cicloalcano como ciclopropano, ciclobutano, ciclopentano o ciclohexano;

• Y se selecciona de azufre, sulfóxido y sulfona;

15

• X representa un ácido carboxílico o una carboxamida seleccionada del grupo que consiste en N-metilcarboxamida, N,N-dimetilcarboxamida, N-etilcarboxamida y N,N-dietilcarboxamida;

o una sal, solvato, o solvato de tal sal farmacéuticamente aceptable de los mismos,

con la condición de que el compuesto de fórmula (I) no sea:

ácido 2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaeniltio)butanoico.

20

En aquellos casos en los que R_2 y R_3 son diferentes, los compuestos de fórmula (I) pueden existir en formas estereoisoméricas. Se entenderá que la invención abarca todos los isómeros ópticos de los compuestos de fórmula (I) y mezclas de los mismos.

25

La invención se refiere también a composiciones farmacéuticas y composiciones lipídicas que comprenden tales compuestos, y a tales compuestos para su uso como medicamentos o para su uso en terapia, en particular para el tratamiento de enfermedades relacionadas con el área de enfermedades cardiovasculares, metabólicas e inflamatorias, así como a métodos para la producción de tales compuestos.

Antecedentes de la invención

Hasta la fecha, se ha investigado mucho sobre análogos de ácidos grasos y sus efectos sobre diversos procesos fisiológicos que tienen un impacto en la salud normal y enfermedades crónicas.

30

Por ejemplo, se ha demostrado que los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) de la dieta regulan los niveles de lípidos plasmáticos, funciones cardiovasculares e inmunitarias, la acción de la insulina, y el desarrollo neuronal y la función visual.

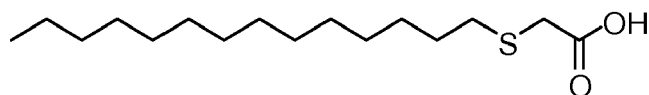
35

Las solicitudes de patente internacionales WO 2006/117664 A1 y WO 2006/117668 A1 dan a conocer derivados del ácido docosahexaenoico como activadores de PPAR y su uso por ejemplo en el tratamiento de obesidad, diabetes y aterosclerosis. Los compuestos de estas solicitudes internacionales no tienen el grupo tio, sulfínico o sulfonilo de los compuestos de la presente invención.

El ácido tetradeciltioacético (TTA) es un ácido graso modificado que tiene varios efectos potentes demostrables tanto *in vivo* como *in vitro*.

40

El TTA tiene propiedades muy similares a los ácidos grasos naturales, siendo la principal diferencia que no puede oxidarse mediante la β -oxidación mitocondrial, pero aumenta significativamente la oxidación de otros ácidos grasos. A pesar del hecho de que el TTA no puede experimentar β -oxidación, se metaboliza en la mayoría de los casos como un ácido graso saturado normal.



TTA

El TTA afecta al estado oxidativo a diferentes niveles al tener el potencial de cambiar el sistema de defensa antioxidante, además de ser un antioxidante por sí mismo gracias a su capacidad de eliminación de radicales libres.

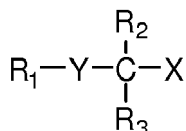
5 La adición de TTA puede impedir la modificación oxidativa de partículas de lipoproteínas de baja densidad (LDL) en el plasma y reducir la generación de peróxidos lipídicos.

Se han preparado varios derivados de ácidos grasos poliinsaturados con azufre en posición 3 (Flock *et al*, Acta Chemica Scand., 1999, 53, 436). Se sometió a ensayo (todo-Z)-3-tia-6,9,12,15-octadecatetraenoato de metilo en un modelo de rata Wistar, y se compararon los efectos con los efectos de TTA. Los resultados sugieren que tanto los ácidos grasos saturados como los insaturados disminuyen los triglicéridos plasmáticos en un grado similar (Willumsen *et al*, J. Lipid Mediators Cell Signalling, 1997, 17, 115)

Se ha encontrado de forma sorprendente que los derivados de ácidos grasos novedosos representados por la fórmula general (I) tienen afinidades superiores por los receptores PPAR α y PPAR γ en comparación con TTA y ácido (todo-Z)-3-tia-6,9,12,15-octadecatetraenoico. Los derivados de ácidos grasos representados por la fórmula general (I) también reducen los niveles de triglicéridos, colesterol y ácidos grasos libres en un modelo de ratón dislipidémico en un grado mayor que TTA y ácido (todo-Z)-3-tia-6,9,12,15-octadecatetraenoico.

Sumario de la invención

Un objeto de la presente invención es proporcionar compuestos lipídicos que tienen una actividad biológica mejorada en comparación con los ácidos grasos 3-tia. Este objeto se logra con un compuesto lipídico de fórmula (I)



(I)

20 En particular, la presente invención se refiere a compuestos de fórmula (I), en la que:

- R₁ se selecciona de un alqueno C₁₀-C₂₂ con 3-6 dobles enlaces metileno metileno en configuración Z, y un alquino C₁₀-C₂₂ que tiene 1-6 triples enlaces;

- R₂ y R₃ son iguales o diferentes y pueden seleccionarse de un grupo de sustituyentes que consiste en un átomo de hidrógeno y un grupo alquilo, siempre que R₂ y R₃ no sean ambos un átomo de hidrógeno; o

25 • R₂ y R₃ pueden estar conectados para formar un cicloalcano como ciclopropano, ciclobutano, ciclopentano o ciclohexano;

- Y se selecciona de azufre, sulfóxido y sulfona;

- X representa una carboxamida de ácido carboxílico seleccionada del grupo que consiste en N-metilcarboxamida, N,N-dimetilcarboxamida, N-etilcarboxamida y N,N-dietilcarboxamida;

30 o una sal, solvato, o solvato de tal sal farmacéuticamente aceptable de los mismos,

con la condición de que el compuesto de fórmula (I) no sea:

ácido 2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaenil)butanoico.

35 En un compuesto según la invención, dicho grupo alquilo puede seleccionarse del grupo que consiste en metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo y n-hexilo; dicho grupo alquino puede seleccionarse del grupo que consiste en propargilo, 2-butinilo y 3-hexinilo.

En una realización de la invención, uno de los sustituyentes R₂ y R₃ del compuesto de fórmula (I) es hidrógeno y el otro se selecciona de un grupo de sustituyentes que consiste en un grupo hidroxilo y un grupo alquilo.

En una realización preferida R₂ y R₃ se seleccionan independientemente de un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo; o R₂ y R₃ pueden estar conectados para formar a cicloalcano.

40 En otra realización preferida R₂ y R₃ se seleccionan independientemente de un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo.

En todavía otra realización preferida R_2 y R_3 se seleccionan independientemente de un átomo de hidrógeno o un grupo etilo; o R_2 y R_3 están conectados para formar un grupo ciclobutano.

5 En otra realización de la invención, los sustituyentes R_2 y R_3 del compuesto de fórmula (I) son iguales o diferentes y pueden seleccionarse de un grupo de sustituyentes que consiste en un grupo alquilo. Preferiblemente R_2 y R_3 son grupos alquilo seleccionados de metilo, etilo, n-propilo o isopropilo, más preferiblemente seleccionados de metilo o etilo, siendo lo más preferible que R_2 y R_3 sean etilo.

Cuando se deriva de un ácido graso poliinsaturado, R_1 es normalmente un alquenilo C_{10} - C_{22} con 3-6 dobles enlaces interrumpidos por metileno en configuración Z. Por ejemplo, R_1 es:

- un alquenilo C_{15} con 4 dobles enlaces metileno interrumpidos en configuración Z
- 10 • un alquenilo C_{18} con 3-5 dobles enlaces, por ejemplo un alquenilo C_{18} con 5 dobles enlaces metileno interrumpidos en configuración Z
- un grupo alquenilo C_{14} - C_{22} con al menos un doble enlace, que tiene configuración Z, y que tiene el primer doble enlace en el tercer enlace carbono-carbono desde el extremo omega (ω) de la cadena de carbono
- un alquenilo C_{20} con 5 dobles enlaces metileno interrumpidos en configuración Z
- 15 • un alquenilo C_{22} con 6 dobles enlaces metileno interrumpidos en configuración Z.

Además, R_1 puede ser un alquínilo C_{16} - C_{22} con 1-6 triples enlaces.

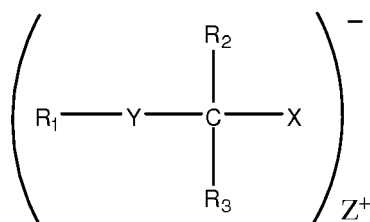
En una realización de la invención, el sustituyente Y del compuesto de fórmula (I) es azufre.

En otra realización de la invención, el sustituyente Y del compuesto de fórmula (I) es sulfóxido.

En todavía otra realización de la invención, el sustituyente Y del compuesto de fórmula (I) es sulfona.

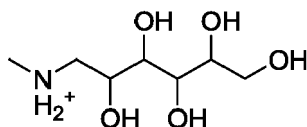
20 En una realización de la invención, el sustituyente X del compuesto de fórmula (I) es un ácido carboxílico en forma de un ácido libre.

La invención se refiere también a sales del compuesto de fórmula (I). Dichas sales pueden estar representadas por

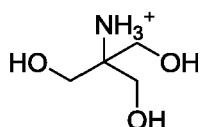


en la que X es COO^- ,

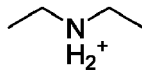
25 Z^+ se selecciona del grupo que consiste en Li^+ , Na^+ , K^+ , NH_4^+ ,



Meglumina

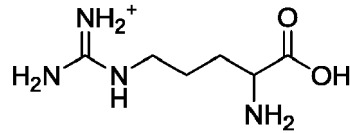


Tris(hidroximetil)aminometano,



Dietilamina

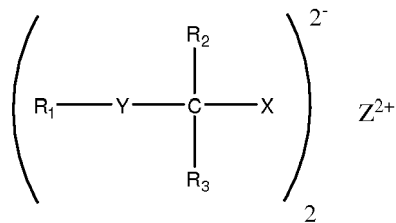
y



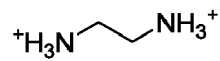
arginina

5

o por



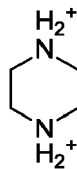
en la que X = COO⁻, Z²⁺ se selecciona del grupo que consiste en Mg²⁺, Ca²⁺,



10

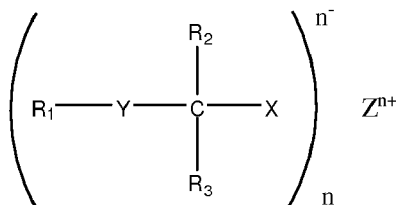
etilendiamina

y



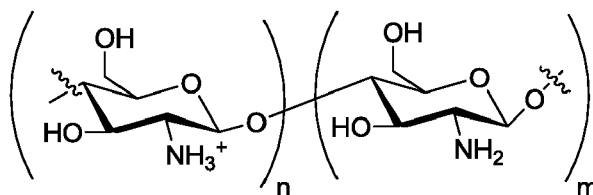
piperazina

Otra sal representativa es



15

en la que X es COO⁻, Znⁿ⁺ es



Chitosano

5 Los compuestos de fórmula (I) pueden existir en formas estereoisoméricas. Se entenderá que la invención abarca todos los isómeros ópticos de los compuestos de fórmula (I) y mezclas de los mismos. Por lo tanto, se incluyen compuestos de fórmula (I) que están presentes como diastereómeros, racematos y enantiómeros.

La presente invención se refiere también a un compuesto lipídico según la fórmula (I) para su uso como medicamento.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un complemento alimenticio, un aditivo alimentario o una preparación nutracéutica que comprende un compuesto lipídico de fórmula (I).

10 Tal complemento alimenticio puede producirse para su administración a través de cualquier vía de administración. Por ejemplo, el complemento alimenticio puede administrarse como un producto nutritivo líquido o como una bebida.

El complemento alimenticio puede estar en forma de una cápsula, por ejemplo una cápsula de gelatina, y la cápsula puede estar saborizada.

15 En todavía un aspecto adicional, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), preferiblemente junto con uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables.

20 Los compuestos lipídicos y composiciones novedosas de la invención pueden formularse en formas de administración oral convencionales, por ejemplo comprimidos, comprimidos recubiertos, cápsulas, polvos, granulados, disoluciones, dispersiones, suspensiones, jarabes, emulsiones, pulverizaciones, etc. usando excipientes convencionales, por ejemplo disolventes, diluyentes, aglutinantes, edulcorantes, aromas, modificadores del pH, modificadores de la viscosidad, antioxidantes, almidón de maíz, lactosa, glucosa, celulosa microcristalina, estearato de magnesio, polivinilpirrolidona, ácido cítrico, ácido tartárico, agua, etanol, glicerol, sorbitol, polietilenglicol, propilenglicol, alcohol cetosteárico, carboximetilcelulosa o sustancias grasas tales como grasa dura o mezclas adecuadas de los mismos, etc. Pueden usarse técnicas de formulación convencionales, bien conocidas en la técnica.

25 Las composiciones pueden administrarse asimismo por vías de administración convencionales, es decir por vía oral. Se prefiere especialmente el uso de composiciones que pueden administrarse por vía oral, por ejemplo comprimidos, comprimidos recubiertos, cápsulas, jarabes, etc.

30 Una dosis diaria adecuada del compuesto según la fórmula (I) es de desde 1 mg hasta 10 g de dicho compuesto; desde 50 mg hasta 1 g de dicho compuesto, o desde 50 mg hasta 200 mg de dicho compuesto.

La composición farmacéutica según la invención puede usarse como medicamento.

La presente invención se refiere también a una composición lipídica que comprende un compuesto lipídico según la fórmula (I). De manera adecuada, al menos el 60% en peso, o al menos el 80% en peso de la composición lipídica se compone de dicho compuesto.

35 La composición lipídica puede comprender además un antioxidante farmacéuticamente aceptable, por ejemplo tocoferol.

Además, la presente invención se refiere a una composición lipídica para su uso como un medicamento.

Adicionalmente, la presente invención se refiere a un compuesto lipídico según la fórmula (I) para su uso en:

- 40
- activación o modulación de al menos una de las isoformas α , γ o δ de receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPAR) humanos, en la que dicho compuesto por ejemplo es un panagonista o modulador
 - la prevención y/o el tratamiento de un estado dislipidémico, por ejemplo hipertrigliceridemia (HTG)
 - la prevención y/o el tratamiento de niveles de triglicéridos, niveles de colesterol LDL y/o niveles de colesterol VLDL

elevados

- el tratamiento y/o la prevención de obesidad o un estado de sobrepeso
 - la reducción del peso corporal y/o para prevenir el aumento de peso corporal
 - el tratamiento y/o la prevención de una esteatosis hepática, por ejemplo esteatosis hepática no alcohólica (NAFLD).
- 5
- el tratamiento y/o la prevención de aterosclerosis
 - la prevención del infarto de miocardio
 - el tratamiento y/o la prevención de resistencia a la insulina periférica y/o un estado diabético
 - el tratamiento y/o la prevención de diabetes tipo 2
 - la reducción de insulina plasmática, glucemia y/o triglicéridos séricos
- 10
- el tratamiento y/o la prevención de una enfermedad o un estado inflamatorio.

Además, la presente invención abarca métodos para la fabricación de compuestos lipídicos según la fórmula (I). La materia prima puede originarse por ejemplo de una fuente vegetal, microbiana y/o animal, tal como un aceite de pescado marino. Preferiblemente se usa un aceite marino o un aceite de camarón antártico.

Descripción detallada de la invención

- 15 Los presentes inventores han encontrado que los compuestos de fórmula (I) tal como se presentaron anteriormente, tienen una actividad farmacéutica notablemente buena.

Tal como se usa en el presente documento, el término “compuesto lipídico” se refiere a análogos de ácidos grasos derivados de por ejemplo ácidos grasos saturados, ácidos grasos monoinsaturados, ácidos grasos poliinsaturados y lípidos que comprenden 1-6 triples enlaces.

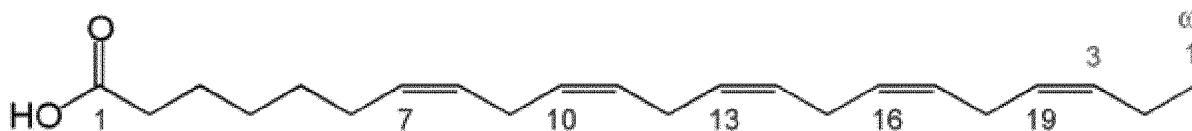
- 20 Una “cantidad farmacéuticamente activa” se refiere a una cantidad que conducirá a los efectos farmacológicos y/o terapéuticos deseados, es decir una cantidad del producto de combinación que es eficaz para lograr su fin pretendido. Aunque las necesidades de los pacientes individuales pueden variar, la determinación de los intervalos óptimos para las cantidades eficaces del producto de combinación está dentro del conocimiento de la técnica. Generalmente, el régimen de dosificación para tratar un estado con el producto de combinación de esta invención se selecciona según una variedad de factores, incluyendo el tipo, la edad, el peso, el sexo, la dieta y la condición médica del paciente.
- 25

Por “una composición farmacéutica” quiere decirse un compuesto lipídico según la invención en cualquier forma adecuada que va a usarse para un fin médico.

- 30 “Tratamiento” incluye cualquier aplicación terapéutica que puede beneficiar a un mamífero humano o no humano. Tanto los tratamientos humanos como los veterinarios están dentro del alcance de la presente invención. El tratamiento puede ser con respecto a un estado existente o puede ser profiláctico.

Nomenclatura y terminología

- 35 Los ácidos grasos son hidrocarburos de cadena lineal que presentan un grupo carboxilo (COOH) en un extremo (α) y (habitualmente) un grupo metilo en el otro extremo (ω). En química, la numeración de los átomos de carbono comienza a partir del extremo α .



El carbono α se refiere al primer carbono después del carbono que se une al grupo funcional, y el segundo carbono es el carbono β .

- 40 Tal como se usa en el presente documento, la expresión “dobles enlaces interrumpidos por metileno” se refiere al caso en el que un grupo metileno se ubica entre medias para separar dobles enlaces en una cadena de carbono de un compuesto lipídico.

Descripción detallada de la invención

Los inventores han encontrado de manera sorprendente que los siguientes compuestos lipídicos mostrados en las

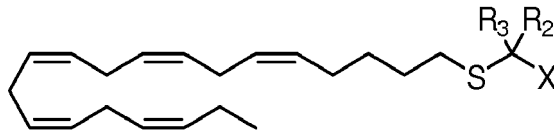
categorías C-E son particularmente preferibles.

Categoría C

- derivados de ácidos grasos poliinsaturados
 - R_1 es un alqueno C_{10} - C_{22} que tiene 3-6 dobles enlaces
- 5 • X representa un ácido carboxílico o una carboxamida

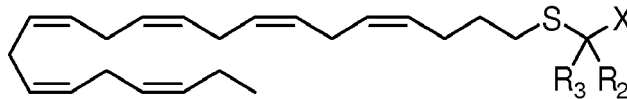
Ejemplo iv:

$R_1 = C_{20}$ con 5 dobles enlaces metileno interrumpidos en configuración Z, $Y = S$



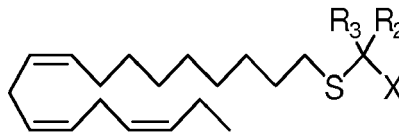
Ejemplo v:

10 $R_1 = C_{22}$ con 6 dobles enlaces metileno interrumpidos en configuración Z, $Y = S$



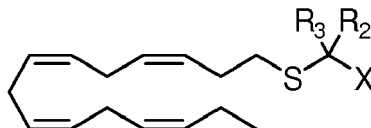
Ejemplo vi:

$R_1 = C_{18}$ con 3 dobles enlaces metileno interrumpidos en configuración Z, $Y = S$



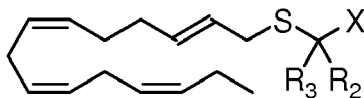
15 Ejemplo vii:

$R_1 = C_{15}$ con 4 dobles enlaces metileno interrumpidos en configuración Z, $Y = S$



Ejemplo viii:

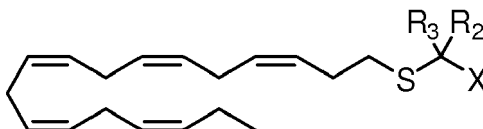
$R_1 = C_{15}$ con 3 dobles enlaces metileno interrumpidos en configuración Z y 1 doble enlace en configuración E, $Y = S$



20

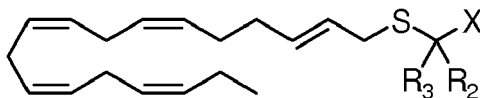
Ejemplo ix:

$R_1 = C_{18}$ con 5 dobles enlaces metileno interrumpidos en configuración Z, $Y = S$



Ejemplo x:

$R_1 = C_{18}$ con 4 dobles enlaces metileno interrumpidos en configuración Z y 1 doble enlace en configuración E, $Y = S$



Categoría D

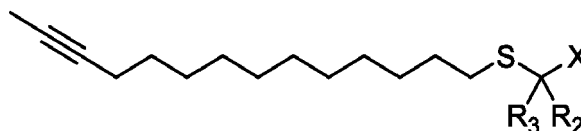
• derivados de lípidos que contienen 1-6 triples enlaces

5 • R_1 es un alquinilo C_{10} - C_{22}

• X representa un ácido carboxílico o una carboxamida

Ejemplo xi:

$R_1 = C_{14}$ con 1 triple enlace, $Y = S$



10 Categoría E

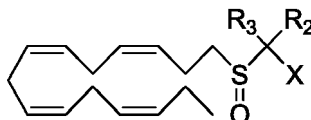
• R_1 se selecciona de un alquenilo C_{10} - C_{22} que tiene 3-6 dobles enlaces, y un alquinilo C_{10} - C_{22} que tiene 1-6 triples enlaces

• X representa un ácido carboxílico o una carboxamida

• Y es sulfóxido o sulfona

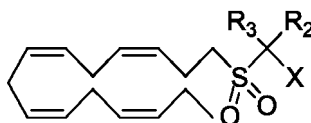
15 Ejemplo xii:

$R_1 = C_{15}$ con 4 dobles enlaces metileno interrumpidos en configuración Z, $Y = SO$



Ejemplo xiii:

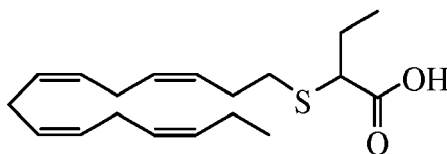
$R_1 = C_{15}$ con 4 dobles enlaces metileno interrumpidos en configuración Z, $Y = SO_2$



20

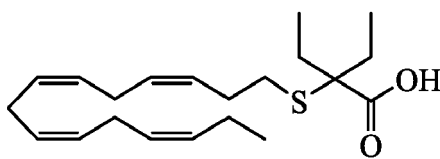
Ejemplos específicos de compuestos lipídicos preferidos según la invención son:

Categoría C - Derivados de ácidos grasos poliinsaturados:



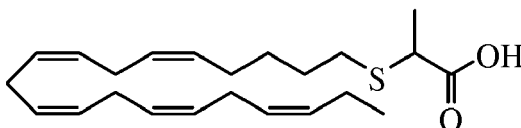
ácido 2-((3Z,6Z,9Z,12Z)-pentadeca-3,6,9,12-tetraenil)butanoico (7)

25 $R_1 = C_{15}H_{23}$, $R_2 =$ etilo, $R_3 =$ un átomo de hidrógeno, $Y = S$ y $X = COOH$



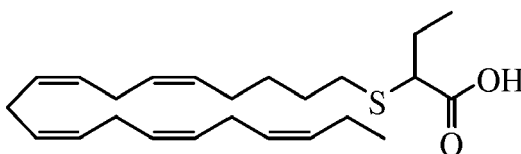
ácido 2-etil-2-((3Z,6Z,9Z,12Z)-pentadeca-3,6,9,12-tetraeniltio)butanoico (8)

$R_1 = C_{15}H_{23}$, $R_2 = R_3 =$ etilo, $Y = S$ y $X = COOH$



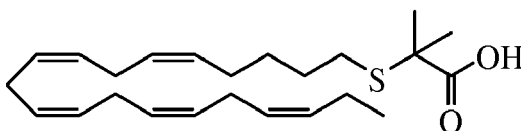
5 ácido 2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaeniltio)propanoico (9)

$R_1 = C_{20}H_{31}$, $R_2 =$ metilo, $R_3 =$ un átomo de hidrógeno, $Y = S$ y $X = COOH$



ácido 2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaeniltio)butanoico (10)

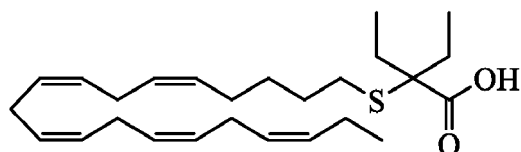
$R_1 = C_{20}H_{31}$, $R_2 =$ etilo, $R_3 =$ un átomo de hidrógeno, $Y = S$ y $X = COOH$



10

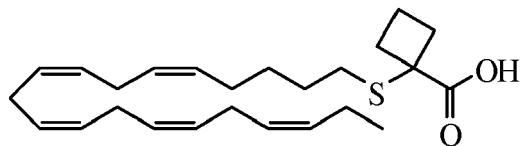
ácido 2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaeniltio)-2-metilpropanoico (11)

$R_1 = C_{20}H_{31}$, $R_2 =$ metilo, $R_3 =$ metilo, $Y = S$ y $X = COOH$



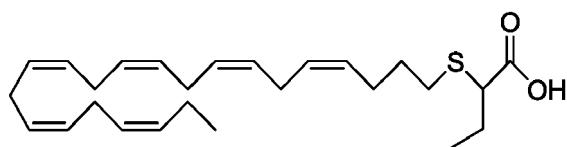
ácido 2-etil-2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaeniltio)butanoico (12)

15 $R_1 = C_{20}H_{31}$, $R_2 = R_3 =$ etilo, $Y = S$ y $X = COOH$



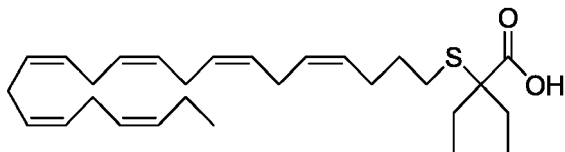
ácido 1-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaeniltio)ciclobutanocarboxílico (13)

$R_1 = C_{20}H_{31}$, R_2 y R_3 se combinan para formar un anillo de ciclobutano, $Y = S$ y $X = COOH$



20 ácido 2-((4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-docosa-4,7,10,13,16,19-hexaeniltio)butanoico (16)

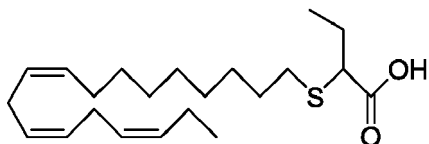
$R_1 = C_{22}H_{33}$, $R_2 =$ etilo, $R_3 =$ un átomo de hidrógeno, $Y = S$ y $X = COOH$



ácido 2-((4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-docosa-4,7,10,13,16,19-hexaeniltio)-2-etilbutanoico (17)

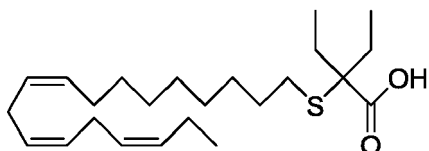
$R_1 = C_{22}H_{33}$, $R_2 = R_3 =$ etilo, $Y = S$ y $X = COOH$

5



ácido 2-((9Z,12Z,15Z)-octadeca-9,12,15-trieniltio)butanoico (18)

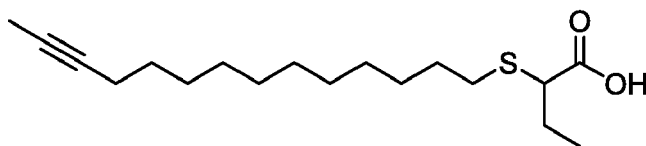
$R_1 = C_{18}H_{31}$, $R_2 =$ etilo, $R_3 =$ un átomo de hidrógeno, $Y = S$ y $X = COOH$



ácido 2-etil-2-((9Z,12Z,15Z)-octadeca-9,12,15-trieniltio)butanoico (19)

10 $R_1 = C_{18}H_{31}$, $R_2 = R_3 =$ etilo, $Y = S$ y $X = COOH$

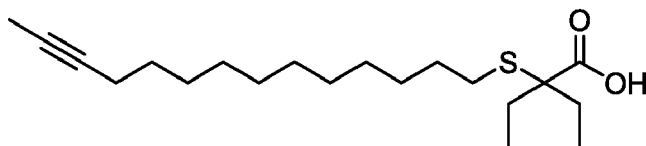
Categoría D - Ácidos grasos que contienen triples enlaces:



ácido 2-(tetradec-12-yniltio)butanoico (21)

$R_1 = C_{14}H_{25}$, $R_2 =$ etilo, $R_3 =$ un átomo de hidrógeno, $Y = S$ y $X = COOH$

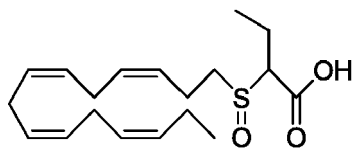
15



ácido 2-etil-2-(tetradec-12-yniltio)butanoico (22)

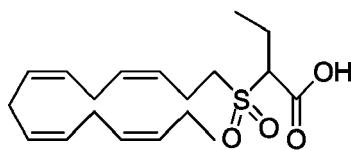
$R_1 = C_{14}H_{25}$, $R_2 = R_3 =$ etilo, $Y = S$ y $X = COOH$

Categoría E - Sulfonas y sulfóxidos:



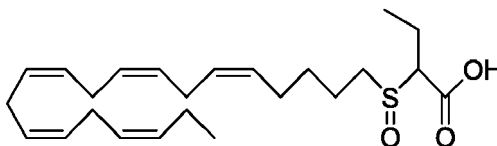
20 ácido 2-((3Z,6Z,9Z,12Z)-pentadeca-3,6,9,12-tetraenilsulfinil)butanoico (24)

$R_1 = C_{15}H_{23}$, $R_2 =$ etilo, $R_3 =$ un átomo de hidrógeno, $Y = SO$ y $X = COOH$



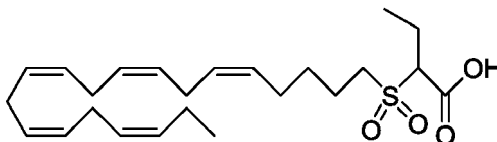
ácido 2-((3Z,6Z,9Z,12Z)-pentadeca-3,6,9,12-tetraenilsulfonil)butanoico (25)

$R_1 = C_{15}H_{23}$, $R_2 =$ etilo, $R_3 =$ un átomo de hidrógeno, $Y = SO_2$ y $X = COOH$



5 ácido 2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaenilsulfonil)butanoico (26)

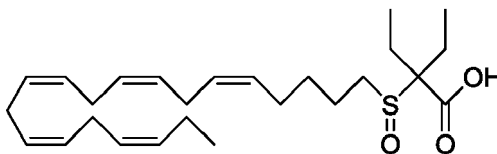
$R_1 = C_{20}H_{31}$, $R_2 =$ etilo, $R_3 =$ un átomo de hidrógeno, $Y = SO$ y $X = COOH$



ácido 2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaenilsulfonil)butanoico (27)

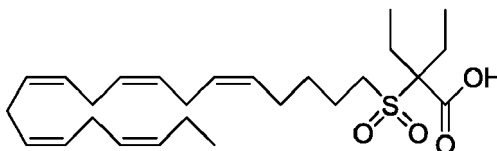
$R_1 = C_{20}H_{31}$, $R_2 =$ etilo, $R_3 =$ un átomo de hidrógeno, $Y = SO_2$ y $X = COOH$

10



ácido 2-etil-2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaenilsulfonil)butanoico (28)

$R_1 = C_{20}H_{31}$, $R_2 = R_3 =$ etilo, $Y = SO$ y $X = COOH$



ácido 2-etil-2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaenilsulfonil)butanoico (29)

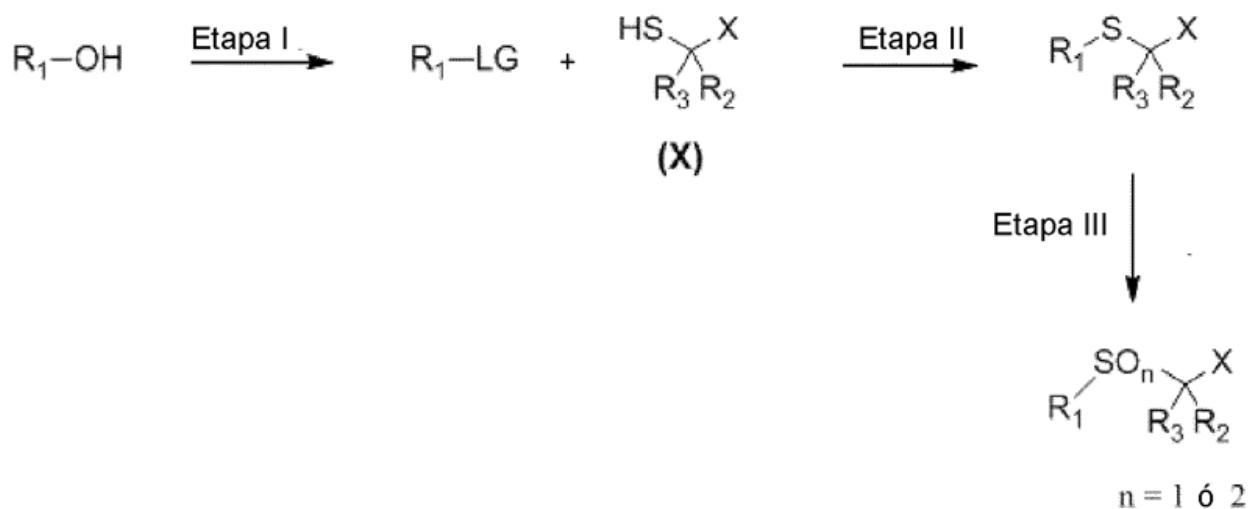
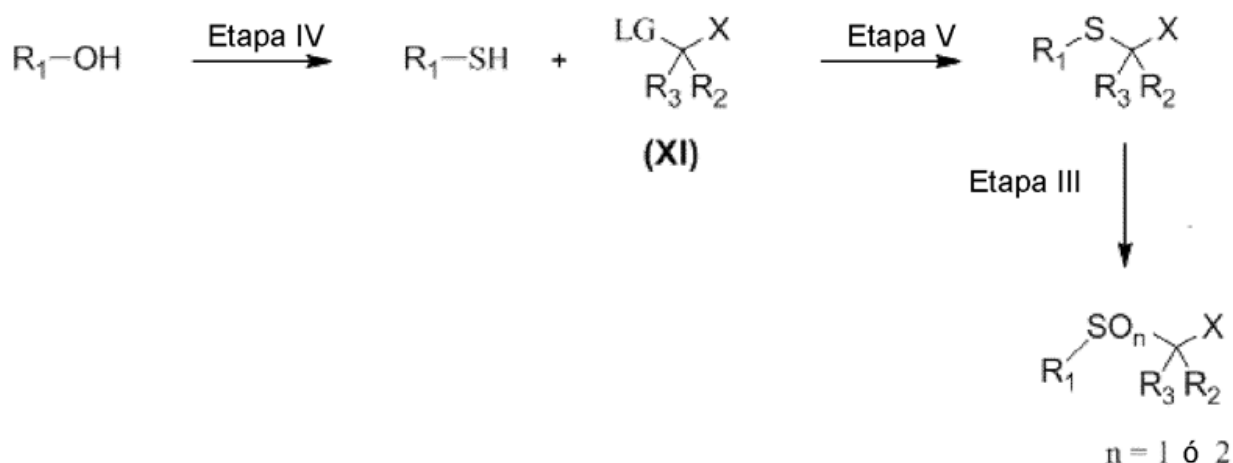
15 $R_1 = C_{20}H_{31}$, $R_2 = R_3 =$ etilo, $Y = SO_2$ y $X = COOH$

Los compuestos de las categorías C-E anteriores, en los que R_2 y R_3 son diferentes, pueden existir en formas estereoisoméricas, es decir se abarcan todos los isómeros ópticos de los compuestos y mezclas de los mismos. Por lo tanto, dichos compuestos pueden estar presentes como diastereómeros, racematos y enantiómeros.

Métodos de síntesis generales para los compuestos descritos en el presente documento

20 Los compuestos de fórmula general (I) pueden prepararse por los procedimientos generales siguientes:

Método I

Método II

5 Los alcoholes descritos en los métodos I y II pueden prepararse directamente a partir de los ésteres carboxílicos de, por ejemplo, ácidos grasos que se producen de manera natural; por ejemplo ácido alfa-linolénico, ácido linolénico conjugado, ácido eicosapentaenoico (EPA), etc. mediante reducción con un agente reductor como hidruro de litio y aluminio o hidruro de diisobutilaluminio a de -10 a 0°C. Los alcoholes pueden también prepararse mediante degradación de los ácidos grasos poliinsaturados EPA y DHA, tal como se describe por Holmeide *et al.* (J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1, 2000, 2271). En este caso puede comenzarse con EPA o DHA, pero también es posible comenzar con aceite de pescado que contiene mezcla de EPA y DHA.

Los compuestos de fórmula (X) y (XI) están disponibles comercialmente, o se conocen en la bibliografía, o se prepararan mediante procedimientos convencionales conocidos en la técnica. El grupo saliente (LG) presente en los compuestos de fórmula (XI) puede ser, por ejemplo, mesilato, tosilato o un halógeno adecuado, tal como bromo.

15 Usando el método I, los alcoholes resultantes pueden convertirse, usando la interconversión de grupos funcionales, mediante métodos conocidos por los expertos en la técnica (etapa I), en compuestos en los que el grupo hidroxilo terminal se ha transformado en un grupo saliente (LG) adecuado. Los grupos salientes adecuados incluyen bromo, mesilato y tosilato. Estos compuestos pueden reaccionar además (etapa II) en una reacción de sustitución con los derivados de ácido tioacético sustituidos apropiadamente (X), en presencia de una base.

20 Usando el método II, los alcoholes pueden convertirse en los tioles correspondientes (etapa IV) mediante métodos conocidos para los expertos en la técnica. Los tioles pueden reaccionar entonces adicionalmente (etapa V) en una reacción de sustitución con compuestos de fórmula (XI), en presencia de una base en un sistema de disolventes apropiado.

25 Los sulfóxidos y sulfonas correspondientes (Y = SO o SO₂) pueden prepararse mediante oxidación de los tioéteres (Y = S) con un agente de oxidación adecuado (etapa III). Ejemplos de agentes de oxidación son ácido m-cloro-perbenzoico (MCPBA), peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y Oxone (peroximonosulfato de potasio). Usando 1 equivalente o menos del agente de oxidación, el producto principal será el sulfóxido. Usando un exceso de agente de oxidación, el producto principal será la sulfona.

Si los derivados de ácido usados son ésteres carboxílicos, puede llevarse a cabo una hidrólisis para obtener los ácidos grasos libres. Puede eliminarse un grupo esterificante tal como un metilo de un grupo etilo, por ejemplo, mediante hidrólisis alcalina usando una base tal como un hidróxido de metal alcalino, por ejemplo LiOH, NaOH o KOH o usando una base orgánica, por ejemplo Et₃N junto con una sal inorgánica, por ejemplo LiCl en un sistema de disolventes apropiado. Puede eliminarse un grupo terc-butilo, por ejemplo, mediante el tratamiento con un ácido, por ejemplo un ácido orgánico tal como ácido trifluoroacético o ácido fórmico en un sistema de disolventes apropiado. Puede eliminarse un grupo arilmetilo tal como un grupo bencilo, por ejemplo, mediante hidrogenación sobre un catalizador tal como paladio sobre carbono en un sistema de disolventes apropiado.

La preparación de compuestos de fórmula I, según el método I o II, puede dar como resultado mezclas de estereoisómeros. Si se requiere, estos isómeros pueden separarse por medio de agentes de resolución quiral y/o mediante cromatografía en columna quiral a través de métodos conocidos para el experto en la técnica.

Preparación, caracterización y pruebas biológicas de derivados de ácidos grasos específicos de fórmula (I)

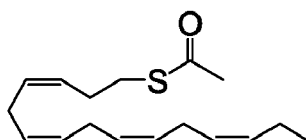
La invención se describirá ahora adicionalmente mediante los siguientes ejemplos no limitativos, en los que pueden usarse cuando sea apropiado técnicas convencionales conocidas para los químicos expertos y técnicas análogas a las descritas en estos ejemplos. A menos que se establezca lo contrario:

- las evaporaciones se llevaron a cabo por una evaporación rotativa en vacío;
- todas las reacciones se llevaron a cabo a temperatura ambiente, normalmente en el intervalo de entre 18-25°C con disolventes de calidad para HPLC en condiciones anhidras;
- la cromatografía en columna se llevó a cabo mediante el procedimiento ultrarrápido sobre gel de sílice de 40-63 μm (Merck) o mediante un instrumento Armen Spotflash usando las columnas de gel de sílice preempaquetadas "MiniVarioFlash", "SuperVarioFlash", "SuperVarioPrep" o "EasyVarioPrep" (Merck);
- se proporcionan los rendimientos sólo a modo de ilustración y no son necesariamente los máximos que pueden obtenerse;
- se registraron los valores de desplazamiento de resonancia magnética nuclear (RMN) en un instrumento Bruker Avance DPX 200 ó 300, y se muestran las multiplicidades de pico tal como sigue: s, singlete; d, doblete; dd, doblete doble; t, triplete; q, cuartete; p, pentete; m, multiplete; a, ancho;
- se registraron los espectros de masas en un espectrómetro de CL/EM. Se realizó la separación usando un módulo de la serie Agilent 1100 en una columna Eclipse XDB-C18 2,1 x 150 mm con elución en gradiente. Se usaron como eluyente un gradiente del 5-95% de acetonitrilo en tampones que contenían ácido trifluoroacético al 0,01% o formiato de sodio al 0,005%. Se registraron los espectros de masas en un espectrómetro de masas G 1956 A (electrospray, 3000 V) cambiando entre el modo de ionización positivo y negativo.

Preparación de productos intermedios

Ejemplo 1:

Preparación de etanoato de S-(3Z,6Z,9Z,12Z)-pentadeca-3,6,9,12-tetraenoilo.

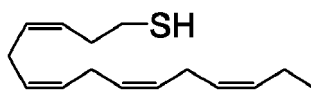


Se disolvió trifetilfosfina (PPh₃) (41,7 g, 159 mmol) en tetrahidrofurano seco (THF) (250 ml) a 0°C bajo atmósfera inerte y se añadió azodicarboxilato de diisopropilo (DIAD) (30,8 ml, 159 mmol). Se agitó la mezcla a 0°C durante 40 minutos y después se añadió gota a gota una disolución de (todo Z)-3,6,9,12-pentadecatetraenoil (17,5 g, 79,4 mmol) y ácido tioacético (11,4 ml, 159 mmol) en THF seco (150 ml). Se agitó la mezcla turbia resultante a 0°C durante 40 minutos, después a temperatura ambiental durante dos horas. Se añadió heptano (300 ml), se agitó la mezcla durante diez minutos y se retiró el sólido blanco precipitado por filtración. Se repitió este procedimiento dos veces y finalmente se agitó el residuo tras la concentración en heptano (100 ml) durante 16 horas. La filtración y purificación del residuo por cromatografía ultrarrápida (EtOAc al 1% en heptano) proporcionaron 13,7 g (rendimiento del 62%) del compuesto del título como un aceite.

¹H-RMN (200 MHz, CDCl₃): δ 0,96 (t, 3H), 2,05 (m, 2H), 2,31 (s+m, 5H), 2,76-2,92 (m, 8H), 5,32-5,45 (m, 8H).

Ejemplo 2:

Preparación de (3Z,6Z,9Z,12Z)-pentadeca-3,6,9,12-tetraeno-1-tiol.

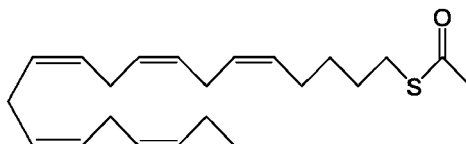


Se suspendió LiAlH_4 (2,05 g, 54,1 mmol) en dietil éter seco (100 ml) a 0°C bajo atmósfera inerte. A esta suspensión se le añadió gota a gota una disolución de etanotioato de S-(3Z,6Z,9Z,12Z)-pentadeca-3,6,9,12-tetraenilo (13,7 g, 49,2 mmol) en dietil éter seco (50 ml) y se agitó la mezcla gris resultante a 0°C durante diez minutos y después a temperatura ambiental durante 30 minutos. Se enfrió la mezcla hasta -5°C , se añadió HCL 1 M hasta $\text{pH}=2$ y se filtró a través de un lecho corto de Celite. El lecho se lavó con agua y dietil éter, se separaron las fases y se extrajo la fase acuosa dos veces con dietil éter (100 ml cada vez). Se secaron los extractos orgánicos combinados (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar 7,8 g (rendimiento del 67%) del compuesto del título como un aceite.

$^1\text{H-RMN}$ (200 MHz, CDCl_3): δ 0,96 (t, 3H), 2,06 (m, 2H), 2,39 (m, 2H), 2,51 (m, 2H), 2,81 (m, 6H), 5,28-5,54 (m, 8H); EM (ESI): 235 $[\text{M-H}]^-$.

Ejemplo 3:

Preparación de etanotioato de S-(5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaenilo.



Se disolvió trifetilfosfina (21,0 g, 80 mmol) en THF seco (170 ml) a 0°C bajo atmósfera inerte y se añadió DIAD (15,8 ml, 80 mmol) gota a gota. Después de 40 minutos a 0°C se añadió gota a gota la suspensión blanca a una disolución de (5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaen-1-ol (11,5 g, 40 mmol) y ácido tioacético (5,7 ml, 80 mmol) en THF seco (50 ml) durante 15 minutos. Se agitó la mezcla turbia resultante a 0°C durante 30 minutos, seguido por temperatura ambiental durante 1,5 horas. Se añadió heptano (200 ml), se agitó la mezcla durante diez minutos y se retiró el sólido blanco precipitado por filtración y se aclaró con heptano (150 ml). Se concentró el residuo para eliminar la mayor parte del THF y se agitó a temperatura ambiental durante 18 horas. Se filtró la mezcla, se concentró y se añadió heptano (200 ml). Se agitó la mezcla resultante durante 2 horas, se filtró y se evaporó. Se purificó el residuo por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice, usando EtOAc:heptano (2:98), seguido por EtOAc:heptano (4:96) y finalmente EtOAc:heptano (5:95). La concentración de las fracciones apropiadas proporcionó 11,0 g (rendimiento del 79%) del compuesto del título como un aceite.

$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 0,95 (t, 3H, $J=7,5$ Hz), 1,40 (m, 2H), 1,58 (m, 2H), 2,06 (m, 4H), 2,29 (s, 3H), 2,77 - 2,87 (m, 10H), 5,25 - 5,42 (m, 10H); EM (CI (CH_4)): 387 $[\text{M}+\text{C}_3\text{H}_5]^+$, 375 $[\text{M}+\text{C}_2\text{H}_5]^+$, 347 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 333 $[\text{M}-\text{CH}_2]^+$, 305 $[\text{R}-\text{SH}]^+$.

Ejemplo 4:

Preparación de (5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaeno-1-tiol.

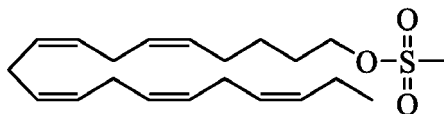


Se disolvió etanotioato de S-(5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaenilo (7,00 g, 20,2 mmol) en Me-OH (100 ml) agitando 10 minutos hasta que se disolvieron las gotas de aceite, antes de que se añadiera carbonato de potasio anhidro, K_2CO_3 (2,79 g, 20,2 mmol) en una porción. Se agitó la mezcla durante 1 hora y 20 minutos a temperatura ambiental y se extinguió por la adición de HCl 1 M (50 ml) y agua (150 ml). A la mezcla blanca enturbada se le añadió Et_2O (250 ml) y se separaron las fases. Se extrajo la fase acuosa con Et_2O (2x250 ml). Se lavaron las fases orgánicas combinadas con salmuera (250 ml) y se secaron (MgSO_4). La filtración y evaporación dio el compuesto del título como un aceite (5,99 g, rendimiento del 97%), que se usó sin purificación adicional.

$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 0,96 (t, 3H, $J=7,5$ Hz), 1,31 (t, 1 H, $J=7,8$ Hz), 1,44 (m, 2H), 1,61 (m, 2H), 2,06 (m, 4H), 2,51 (m, 2H), 2,77 - 2,85 (m, 8H), 5,28 - 5,41 (m, 10H); EM (CI (CH_4)): 345 $[\text{M}+\text{C}_3\text{H}_5]^+$, 333 $[\text{M}+\text{C}_2\text{H}_5]^+$, 305 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 271 $[\text{M}-\text{SH}]^+$.

Ejemplo 5:

Preparación de metanosulfonato de (5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaenilo

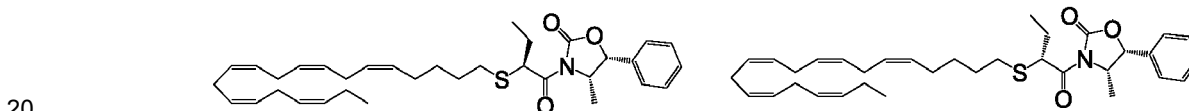


Se añadieron Et₃N (1,50 ml, 10,8 mmol) y cloruro de metanosulfonilo (402 μ l, 5,20 mmol) a una disolución de (5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaen-1-ol (1,15 g, 4,0 mmol) en CH₂Cl₂ (40 ml) mantenida a 0°C bajo nitrógeno. Se agitó la mezcla a 0°C durante una hora, y se vertió en agua con hielo (100 g) y se extrajo la fase acuosa con Et₂O (50 ml). A los extractos orgánicos combinados se les añadió H₂SO₄ 0,5 M (35 ml), se lavó la fase orgánica con NaHCO₃ (ac. sat.) (25 ml), antes de secarse (Mg₂SO₄, 10 gramos). La filtración y concentración a vacío proporcionaron 1,24 gramos de aceite en bruto. La purificación en columna Armen, SVP D26 empaquetada con 30 gramos de sílice de 15-40 μ m de Merck, flujo de 20 ml/min, UV 210 nm y recogiendo 15 ml de fracción, se realizó usando elución en gradiente: (comenzando con heptano:EtOAc (100:0) y aumentando durante 10 min hasta el 10% de EtOAc, después aumentando 5 min hasta el 20% de EtOAc (manteniendo 10 min), después aumentando en 5 min hasta el 40% de EtOAc (manteniendo 0 min). Las fracciones 6-14 dieron 1,16 g (rendimiento del 79%) del compuesto del título como un aceite.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 0,97 (t, 3H), 1,50 (m, 2H), 1,75 (m, 2H), 2,03-2,15 (m, 4H), 2,76-2,86 (m, 8H), 2,99 (s, 3H), 4,22 (t, 2H), 5,27-5,40 (m, 10H); EM (electrospray): 389,2 [M+Na]⁺.

Ejemplo 6:

Preparación de (4S,5R)-3-((S)-2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaeniltio)butanoil)-4-metil-5-feniloxazolidin-2-ona y (4S,5R)-3-((R)-2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaeniltio)butanoil)-4-metil-5-feniloxazolidin-2-ona



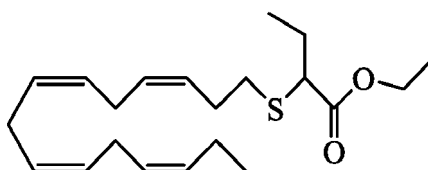
A una mezcla de ácido 2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaeniltio)butanoico (3,0 g, 7,9 mmol) en diclorometano seco (40 ml) mantenido a 0°C bajo nitrógeno se le añadió DMAP (1,0 g, 9,5 mmol) y 1,3-diciclohexilcarbodiimida (DCC) (1,8 g, 8,7 mmol). Se agitó la mezcla resultante a 0°C durante 20 minutos, se añadió (4S,5R)-4-metil-5-fenil-2-oxazolidinona (1,7 g, 9,5 mmol) y se agitó la mezcla turbia resultante a temperatura ambiental durante 24 horas. Se filtró la mezcla y se concentró a presión reducida para dar un producto en bruto que contenía el producto deseado como una mezcla de dos diastereómeros. Se purificó el residuo por cromatografía ultrarrápida con un instrumento Armen Spotflash sobre gel de sílice usando acetato de etilo al 2% en heptano como eluyente. Se separaron los dos diastereómeros y se concentraron las fracciones apropiadas. (4S,5R)-3-((R)-2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaeniltio)butanoil)-4-metil-5-feniloxazolidin-2-ona eluyó en primer lugar y se obtuvieron 0,95 g (rendimiento del 47%) como un aceite. Se obtuvieron 1,47 g (rendimiento del 67%) de (4S,5R)-3-((S)-2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaeniltio)butanoil)-4-metil-5-feniloxazolidin-2-ona como un aceite.

(4S,5R)-3-((R)-2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-Icosa-5,8,11,14,17-pentaeniltio)butanoil)-4-metil-5-feniloxazolidin-2-ona (E1): ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 0,93-1,06 (m, 9H), 1,45-1,60 (m, 4H), 1,75-1,85 (m, 1 H), 2,05-2,15 (m, 5H), 2,55-2,70 (m, 2H), 2,87 (m, 8H), 4,69 (t, 1 H), 4,79 (p, 1 H), 5,30-5,45 (m, 10H), 5,72 (d, 1 H), 7,32 (m, 2H), 7,43 (m, 3H).

(4S,5R)-3-((S)-2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-Icosa-5,8,11,14,17-pentaeniltio)butanoil)-4-metil-5-feniloxazolidin-2-ona: ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 0,93 (d, 3H), 0,99 (t, 3H), 1,05 (t, 3H), 1,40-1,56 (m, 4H), 1,50-1,75 (m, 1 H), 2,00-2,15 (m, 5H), 2,47-2,65 (m, 2H), 2,83 (m, 8H), 4,62 (t, 1 H), 4,85 (p, 1 H), 5,25-5,45 (m, 10H), 5,70 (d, 1 H), 7,32 (m, 2H), 7,43 (m, 3H).

Ejemplo 7:

Preparación de 2-((3Z,6Z,9Z,12Z)-pentadeca-3,6,9,12-tetraeniltio)butanoato de etilo (30)



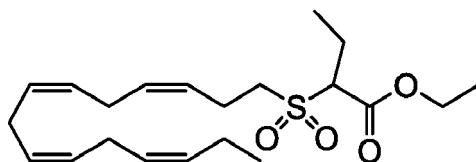
A una disolución de 3Z,6Z,9Z,12Z)-pentadeca-3,6,9,12-tetraeno-1-tiol (9,80 g, 41,5 mmol) en dimetilformamida seca (DMF) (70 ml) a 0°C bajo atmósfera inerte se le añadió NaH (el 60% en aceite mineral, 1,82 g, 45,6 mmol) y se agitó

a esta temperatura durante diez minutos. Se añadió bromobutirato de etilo (6,39 ml, 43,5 mmol) y se agitó la mezcla a temperatura ambiental durante 30 minutos. Se repartió la mezcla entre NH_4Cl saturado (150 ml) y heptano (150 ml). Se extrajo la fase acuosa dos veces con heptano (100 ml cada vez) y se lavó el extracto combinado orgánico con agua (100 ml) y salmuera (100 ml). Se secó la fase orgánica (Na_2SO_4), se filtró y se concentró. Se purificó el residuo por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (heptano : EtOAc 99:1 después 95:5). La concentración de las fracciones apropiadas proporcionó 14,1 g (rendimiento del 97%) del compuesto del título como un aceite.

^1H -RMN (200 MHz, CDCl_3): δ 0,92-1,01 (2 x t, 6H), 1,27 (t, 3H), 1,60-1,80 (m, 1H), 1,80-1,95 (m, 1H), 2,00-2,15 (m, 2H), 2,25-2,45 (m, 2H), 2,60-2,75 (m, 2H), 2,80 (m, 6H), 3,15 (t, 1 H), 4,17 (q, 2H), 5,31-5,43 (m, 8H); EM (ESI): 373 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

Ejemplo 8:

Preparación de 2-((3Z,6Z,9Z,12Z)-pentadeca-3,6,9,12-tetraenilsulfonil)butanoato de etilo (31).



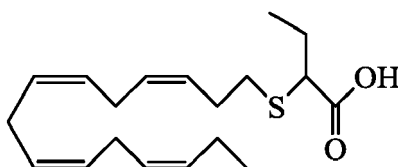
Se disolvió 2-((3Z,6Z,9Z,12Z)-pentadeca-3,6,9,12-tetraeniltio)butanoato de etilo (2,7 g, 7,7 mmol) en CHCl_3 seco (40 ml) y se enfrió la disolución hasta -20°C bajo atmósfera inerte. Se añadió gota a gota ácido metacloroperóxido (mCPBA) (~77%, 4,0 g, 18 mmol) disuelto en CHCl_3 seco (10 ml) y agitó la disolución resultante se a -20°C durante 30 minutos, se dejó que alcanzara lentamente la temperatura ambiente y después se agitó durante la noche. Se evaporaron los disolventes a vacío, al residuo se le añadió heptano (30 ml) y se retiró el precipitado blanco resultante por filtración. Se concentró el filtrado a vacío y al residuo se le añadió heptano (10 ml). Se retiró el precipitado blanco resultante por filtración otra vez. Se concentró el filtrado a vacío y se purificó el residuo por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (heptano : EtOAc 4:1). La concentración de las fracciones apropiadas proporcionó 0,37 g (rendimiento del 13%) del compuesto del título como un aceite.

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 0,96 (t, 3H), 1,03 (t, 3H), 1,31 (t, 3H), 2,02-2,15 (m, 4H), 2,62 (m, 2H), 2,82 (m, 6H), 3,05 (m, 1 H), 3,20 (m, 1 H), 3,70 (dd, $J=10,3$ Hz, $J=4,7$ Hz, 1 H), 4,28 (q, 2H), 5,26-5,41 (m, 7H), 5,46-5,52 (m, 1 H); EM (electrospray): 405,2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

Preparación de moléculas objetivo

Ejemplo 9:

Preparación de ácido 2-((3Z,6Z,9Z,12Z)-pentadeca-3,6,9,12-tetraeniltio)butanoico (7).

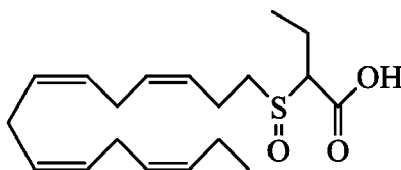


Se disolvió 2-((3Z,6Z,9Z,12Z)-pentadeca-3,6,9,12-tetraeniltio)butanoato de etilo (14,1 g, 40,2 mmol) en etanol (200 ml) y se añadió una disolución de $\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (13,5 g, 322 mmol) en agua (50 ml). Se agitó la disolución turbia resultante a 70°C bajo atmósfera inerte durante 90 minutos, se enfrió, se añadió agua (100 ml) y HCl 3 M hasta $\text{pH}=2$. Se extrajo la mezcla tres veces con heptano (100 ml cada vez). Se secaron los extractos orgánicos combinados (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar 11,8 g (rendimiento del 91%) del compuesto del título como un aceite.

^1H -RMN (200 MHz, CDCl_3): δ 0,91-1,06 (2 x t, $J=7,2$ Hz, $J=7,5$ Hz, 6H), 1,60-1,80 (m, 1 H), 1,80-1,95 (m, 1 H), 2,05 (p, $J=7,2$ Hz, 2H), 2,35 (m, 2H), 2,60-2,75 (m, 2H), 2,75-2,90 (m, 6H), 3,14 (t, $J=7,1$ Hz, 1 H), 5,31-5,47 (m, 8H); EM (ESI): 321 $[\text{M}-\text{H}]^-$.

Ejemplo 10:

Preparación de ácido 2-((3Z,6Z,9Z,12Z)-pentadeca-3,6,9,12-tetraenilsulfonil)butanoico (24)

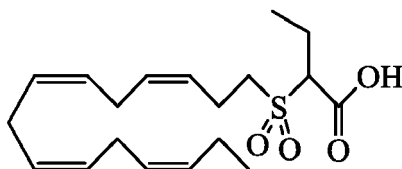


Se disolvió ácido 2-((3Z,6Z,9Z,12Z)-pentadeca-3,6,9,12-tetraenilthio)butanoico (0,20 g, 0,62 mmol) en CHCl_3 seco (10 ml) y se enfrió la disolución hasta -20°C bajo atmósfera inerte. Se añadió gota a gota *m*CPBA (~77%, 0,15 g, 0,68 mmol) disuelto en CHCl_3 seco (2 ml) y se agitó la disolución resultante a -20°C durante 35 minutos. Se evaporaron los disolventes a vacío, al residuo se le añadió heptano (10 ml) y se retiró el precipitado blanco resultante por filtración. Se concentró el filtrado a vacío y al residuo se le añadió heptano (10 ml). Se retiró el precipitado blanco resultante por filtración otra vez. Se concentró el filtrado a vacío y se purificó el residuo por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (heptano:EtOAc + w /HCOOH al 1% 4:1 - 1:1). La concentración de las fracciones apropiadas proporcionó 100 mg (rendimiento del 48%) del compuesto del título como un aceite.

^1H -RMN (200 MHz, CDCl_3): δ 0,95 (t, 3H), 1,10 (2 x q, 3H), 1,70-1,80 (m, 1H), 2,05 (m, 3,5H), 2,20-2,40 (m, 0,5H), 2,60 (m, 2H), 2,81 (m, 7H), 2,90-3,00 (m, 0,5H), 3,10-3,25 (m, 1 H), 3,70 (dd, 0,5H), 5,25-5,55 (m, 8H); EM (electrospray): 337,1 [M-H]⁻

Ejemplo 11:

Preparación de ácido 2-((3Z,6Z,9Z,12Z)-pentadeca-3,6,9,12-tetraenilsulfonil)butanoico (25)

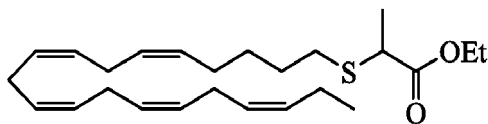


Se disolvió 2-((3Z,6Z,9Z,12Z)-pentadeca-3,6,9,12-tetraenilsulfonil)butanoato de etilo (370 mg, 0,97 mmol) en etanol (10 ml) y se añadió una disolución de LiOH en H_2O (1 M, 3,9 ml, 3,9 mmol). Se agitó la mezcla resultante a 60°C durante tres horas, se enfrió, se añadió HCl 0,1 M hasta pH=2 y se extrajo dos veces con dietil éter (15 ml cada vez). Se lavó la fase orgánica combinada con salmuera (15 ml), se secó, se filtró, se concentró a vacío y se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (heptano : EtOAc w /HCOOH al 5% 4:1). La concentración de las fracciones apropiadas proporcionó 250 mg (rendimiento del 73%) del compuesto del título como un aceite.

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 0,96 (t, 3H), 1,09 (t, 3H), 2,02-2,25 (m, 4H), 2,65 (m, 2H), 2,82 (m, 6H), 3,10 (m, 1 H), 3,20 (m, 1 H).

Ejemplo 12 (preparación de producto intermedio):

Preparación de 2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaenilthio)propanoato de etilo (32).

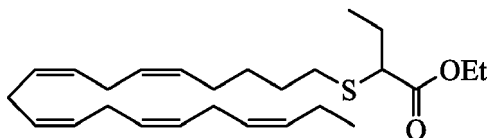


Se añadió (5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaeno-1-tiol (305 mg, 1,00 mmol) a una disolución de NaH (al 60% en aceite mineral, 44 mg, 1,10 mmol) en DMF anhidra (10 ml) mantenida a 0°C bajo atmósfera inerte. Después de diez minutos se añadió bromopropionato de etilo (136 μl , 1,05 mmol) y se agitó la mezcla durante 1,5 horas a 0°C . A la mezcla de reacción se le añadió NH_4Cl ac. sat. (20 ml) y heptano (50 ml). Se separaron las fases y se extrajo la fase acuosa con heptano (2x25 ml). Se lavaron las fases orgánicas combinadas con salmuera (25 ml), se secaron (MgSO_4), se filtraron y se evaporaron para dar 376 mg del compuesto del título como un aceite en bruto. La purificación por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice usando elución en gradiente (comenzando con heptano puro y aumentando paso a paso hasta heptano:EtOAc 95:5) proporcionó 318 mg (rendimiento del 79%) del compuesto del título como un aceite.

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 0,95 (t, 3H), 1,25 (t, 3H), 1,41 (d, 3H), 1,44 (m, 2H), 1,58 (m, 2H), 2,06 (m, 4H), 2,60 (m, 2H), 2,71-2,85 (m, 8H), 3,36 (d, 1 H), 4,17 (m, 2H), 5,25 - 5,40 (m, 10H); EM (CI (CH_4)): 445 [M+C₃H₅]⁺, 433 [M+C₂H₅]⁺, 405 [M+H]⁺, 359 [M-OEt]⁺, 331 [M-CO₂Et]⁺, 303 [R-S]⁺.

Ejemplo 13 (Preparación de producto intermedio):

Preparación de 2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaeniltio)butanoato de etilo (33).

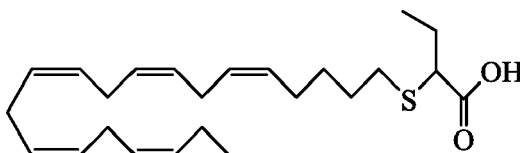


A una disolución de (5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaeno-1-tiol (305 mg, 1,00 mmol) en DMF anhidra (10 ml) a 0°C bajo atmósfera inerte se le añadió NaH (al 60% en aceite mineral, 44 mg, 1,1 mmol). Después de quince minutos se añadió bromobutirato de etilo (154 μ l, 1,05 mmol). Se agitó la mezcla durante 1 hora a 0°C. Se añadieron NH₄Cl ac. sat. (20 ml), agua (20 ml) y heptano (50 ml). Se separaron las fases y se extrajo la fase acuosa con heptano (2x25 ml). Se lavaron las fases orgánicas combinadas con agua (25 ml) y salmuera (25 ml), se secaron (MgSO₄), se filtraron y se evaporaron para dar 379 mg del compuesto del título como un aceite en bruto. La purificación por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice usando elución en gradiente (comenzando con heptano puro y aumentando paso a paso hasta heptano:EtOAc 95:5) proporcionó 345 mg (rendimiento del 82%) del compuesto del título como un aceite.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 0,93 - 1,00 (m, 6H), 1,25 (t, 3H), 1,44 (m, 2H), 1,59 (m, 2H), 1,68 (m, 1 H), 1,87 (m, 1 H), 2,07 (m, 4H), 2,57 (m, 2H), 2,73 - 2,88 (m, 8H), 3,12 (m, 1 H), 4,17 (m, 2H), 5,27 - 5,46 (m, 10H); EM (Cl (CH₄)): 459 [M+C₃H₅]⁺, 447 [M+C₂H₅]⁺, 419 [M+H]⁺, 373 [M-OEt]⁺, 345 [M-CO₂Et]⁺, 303 [R-S]⁺.

Ejemplo 14:

Preparación de ácido 2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaeniltio)butanoico (10)

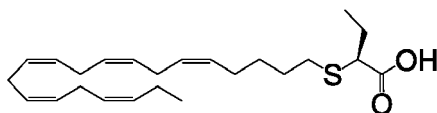


Se disolvió 2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaeniltio)butanoato de etilo (209 mg, 0,50 mmol) en etanol (2,5 ml) y se añadió a una disolución de LiOH x H₂O (168 mg, 4,0 mmol) en agua (2,5 ml). Se agitó la disolución turbia resultante a 70°C bajo atmósfera inerte durante 2 horas, se enfrió y se añadió agua (10 ml) y HCl 1 M (5 ml) hasta pH = 1-2. Se extrajo la mezcla con heptano (2 x 20 ml) y dietil éter (20 ml). Se secaron los extractos orgánicos combinados (MgSO₄), se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar 154 mg del compuesto del título como un aceite en bruto. La purificación por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice usando elución en gradiente (comenzando con heptano puro y aumentando paso a paso hasta heptano:EtOAc (con HOAc al 5%) 80:20) proporcionó 151 mg (rendimiento del 77%) del compuesto del título como un aceite.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 0,95 (t, 3H), 1,02 (t, 3H), 1,46 (m, 2H), 1,52 - 1,78 (m, 3H), 1,90 (m, 1 H), 2,05 (m, 4H), 2,63 (m, 2H), 2,75 - 2,90 (m, 8H), 3,14 (t, 1H) (m, 1 H), 4,17 (m, 2H), 5,27 - 5,46 (m, 10H).

Ejemplo 15:

Preparación de ácido (S)-2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaeniltio)butanoico (34).

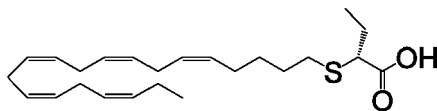


Se añadieron peróxido de hidrógeno (al 30% en agua, 0,71 ml, 6,91 mmol) e hidróxido de litio monohidratado (0,15 g, 3,46 mmol) a una disolución de (4S,5R)-3-((S)-2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaeniltio)butanoil)-4-metil-5-feniloxazolidin-2-ona (0,95 g, 1,73 mmol) en tetrahidrofurano (12 ml) y agua (4 ml) mantenida a 0°C bajo nitrógeno. Se agitó la mezcla de reacción a 0°C durante 30 minutos. Se añadió Na₂SO₃ al 10% (ac.) (30 ml), se ajustó el pH a ~2 con HCl 5 M y se extrajo la mezcla dos veces con heptano (30 ml). Se secó el extracto orgánico combinado (Na₂SO₄), se filtró y se concentró. Se sometió el residuo a cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice usando como eluyente mezclas con polaridad creciente de heptano y acetato de etilo (98:8 \rightarrow 1:1). La concentración de las fracciones apropiadas proporcionó 0,15 g (rendimiento del 17%) del producto del título como un aceite.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 1,00 (t, 3H), 1,07 (t, 3H), 1,46 (m, 2H), 1,60-1,75 (m, 3H), 1,85 (m, 1H), 2,10 (m, 4H), 2,66 (m, 2H), 2,80-2,90 (m, 8H), 3,21 (t, 1H), 5,35-5,45 (m, 10H); EM (electrospray): 389,3 [M-H]⁻; [α]_D²⁰ (c=0,12, etanol).

Ejemplo 16:

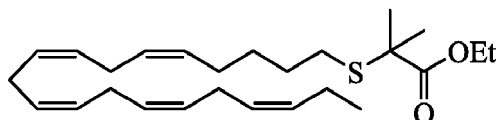
Preparación de ácido (R)-2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaenil)butanoico (35).



5 Se añadieron peróxido de hidrógeno (al 30% en agua, 1,04 ml, 10,2 mmol) e hidróxido de litio monohidratado (0,21 g, 5,09 mmol) a una disolución de (4S,5R)-3-((R)-2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaenil)butanoil)-4-metil-5-feniloxazolidin-2-ona (1,40 g, 2,55 mmol) en tetrahidrofurano (15 ml) y agua (5 ml) mantenida a 0°C bajo nitrógeno. Se agitó la mezcla de reacción a 0°C durante 45 minutos. Se añadió Na₂SO₃ al 10% (ac.) (35 ml), se ajustó el pH a ~2 con HCl 5 M y se extrajo la mezcla dos veces con heptano (35 ml). Se secó el extracto orgánico combinado (Na₂SO₄), se filtró y se concentró. Se sometió el residuo a cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice usando como eluyente mezclas con polaridad creciente de heptano y acetato de etilo (98:8 → 1:1). La concentración de las fracciones apropiadas proporcionó 0,17 g (rendimiento del 22%) del producto del título como un aceite. ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 1,00 (t, 3H), 1,07 (t, 3H), 1,46 (m, 2H), 1,60-1,75 (m, 3H), 1,85 (m, 1 H), 2,10 (m, 4H), 2,66 (m, 2H), 2,80-2,90 (m, 8H), 3,21 (t, 1H), 5,35-5,45 (m, 10H); EM (electrospray): 389,3 [M-H]⁻; [α]_D+50° (c=0,14, etanol).

15 Ejemplo 17 (Preparación de producto intermedio):

Preparación de 2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaenil)-2-metilpropanoato de etilo (36)

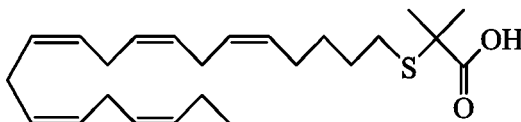


20 A una disolución de (5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaeno-1-tiol (305 mg, 1,00 mmol) en DMF anhidra (10 ml) a 0°C bajo atmósfera inerte se le añadió NaH (al 60% en aceite mineral, 44 mg, 1,1 mmol). Después de quince minutos se añadió 2-bromo-2-metilbutirato de etilo (154 μl, 1,05 mmol) y se agitó la mezcla durante 1,5 horas a 0°C. Se extinguió la mezcla de reacción por la adición de NH₄Cl ac. sat. (20 ml). Se añadieron agua (20 ml) y heptano (50 ml) y se separaron las fases. Se extrajo la fase acuosa con heptano (2x25 ml). Se lavaron las fases orgánicas combinadas con agua (25 ml) y salmuera (2 x 25 ml), se secaron (MgSO₄), se filtraron y se evaporaron para dar 377 mg del compuesto del título como un aceite en bruto. La purificación por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice usando elución isocrática (heptano:EtOAc 98:2) proporcionó 307 mg (rendimiento del 77%) del compuesto del título como un aceite.

25 ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 0,95 (t, 3H), 1,28 (t, 3H), 1,42 (m, 2H), 1,48 (s, 6H), 1,54 (m, 2H), 2,06 (m, 4H), 2,58 (m, 2H), 2,71 - 2,85 (m, 8H), 4,15 (m, 2H), 5,22 - 5,48 (m, 10H); EM (CI (CH₄)): 459 [M+C₃H₅]⁺, 447 [M+C₂H₅]⁺, 419 [M+H]⁺, 373 [M-OEt]⁺, 345 [M-CO₂Et]⁺, 303 [R-S]⁺.

30 Ejemplo 18:

Preparación de ácido 2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaenil)-2-metilpropanoico (11)

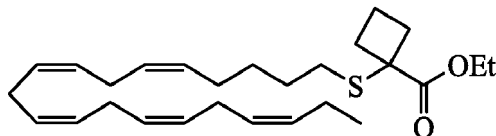


35 Se disolvió 2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaenil)-2-metilpropanoato de etilo (209 mg, 0,50 mmol) en etanol (2,5 ml) y se añadió a una disolución de LiOH x H₂O (168 mg, 4,0 mmol) en agua (2,5 ml). Se agitó la disolución turbia resultante a 70°C bajo atmósfera inerte durante 2 horas, se enfrió y se añadió agua (10 ml) y HCl 1 M (5 ml) hasta pH = 1-2. Se extrajo la mezcla tres veces con heptano (3 x 20 ml). Se secaron los extractos orgánicos combinados (MgSO₄), se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar 101 mg del compuesto del título como un aceite en bruto. La purificación por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice usando elución en gradiente (comenzando con heptano puro y aumentando paso a paso hasta heptano:EtOAc (con HOAc al 5%) 80 : 20) proporcionó 78 mg (40%) del compuesto del título como un aceite.

40 ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 0,95 (t, 3H), 1,35 - 1,66 (m, 4H), 1,50 (s, 6H), 2,07 (m, 4H), 2,63 (t, 3H), 2,70 - 2,92 (m, 8H), 5,13 - 5,50 (m, 10H).

Ejemplo 19 (preparación de producto intermedio):

Preparación de 1-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaeniltio)ciclobutanocarboxilato de etilo (37).

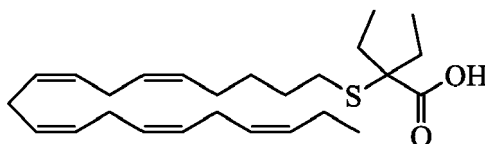


A una disolución de (5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaeno-1-tiol (305 mg, 1,00 mmol) en DMF seca (10 ml) a 0°C bajo atmósfera inerte se le añadió NaH (al 60% en aceite mineral, 44 mg, 1,1 mmol). Después de quince minutos se añadió 2-bromo-ciclobutanocarboxilato de etilo (170 μ l, 1,05 mmol) y se agitó la mezcla durante 1,5 horas a 0°C. Se extinguió la reacción por la adición de NH_4Cl ac. sat. (20 ml). Se añadió heptano (50 ml), y se separaron las fases. Se extrajo la fase acuosa con heptano (2x25 ml). Se lavaron las fases orgánicas combinadas con agua (25 ml) y salmuera (25 ml), se secaron (MgSO_4), se filtraron y se evaporaron para dar 409 mg del compuesto del título como un aceite en bruto. La purificación por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice usando elución isocrática (heptano:acetona 98:2) proporcionó 243 mg (rendimiento del 56%) del compuesto del título como un aceite.

$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 0,95 (t, 3H), 1,27 (t, 3H), 1,42 (d, 3H), 1,54 (m, 2H), 1,84 (m, 1 H), 1,96 - 2,23 (m, 7H), 2,51 (m, 2H), 2,60 (m, 2H), 2,73 - 2,90 (m, 8H), 4,18 (m, 2H), 5,23 - 5,43 (m, 10H); EM (CI (CH_4)): 471 [$\text{M}+\text{C}_3\text{H}_5$] $^+$, 459 [$\text{M}+\text{C}_2\text{H}_5$] $^+$, 431 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$, 385 [$\text{M}-\text{OEt}$] $^+$, 357 [$\text{M}-\text{CO}_2\text{Et}$] $^+$, 303 [$\text{R}-\text{S}$] $^+$.

Ejemplo 20:

Preparación de ácido 2-etil-2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaeniltio)butanoico (12).



Se añadió NaOEt (al 21% en peso en EtOH, 0,37 ml, 0,98 mmol) gota a gota a una disolución de ácido 2-mercapto-2-etilbutírico (0,08 g, 0,49 mmol) en EtOH seco (7 ml) mantenida a 0°C bajo atmósfera inerte. Se agitó la mezcla resultante a 0°C durante 30 minutos antes de que se añadiera gota a gota una disolución de (5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaenilmetanosulfonato de etilo (0,15 g, 0,41 mmol) en EtOH seco (3 ml). Se agitó la mezcla turbia resultante a temperatura ambiente durante 24 horas, se vertió en NH_4Cl (ac.) (sat.) (15 ml), se añadió HCl 3 M hasta pH \sim 2 antes de que se extrajera dos veces con EtOAc (2x20 ml). Se lavaron los extractos orgánicos combinados con salmuera (10 ml), se secaron (MgSO_4), se filtraron y se evaporaron a vacío. Se purificó el residuo por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice usando un gradiente de acetato de etilo al 10-25% en heptano como eluyente. La concentración de las fracciones apropiadas proporcionó 0,12 g (rendimiento del 70%) del compuesto del título como un aceite.

$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 0,88-1,02 (m, 9H), 1,45-1,58 (2xm, 4H), 1,72 (m, 2H), 1,82 (m, 2H), 2,09 (m, 4H), 2,53 (t, 2H), 2,76-2,86 (m, 8H), 5,29-5,39 (m, 10H). EM (electrospray): 417,3 [$\text{M}-\text{H}$] $^-$.

30 Pruebas biológicas

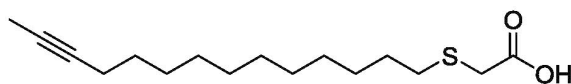
Ejemplo 22: Evaluación de la activación de PPAR *in vitro*

Se llevó a cabo el ensayo *in vitro* en tres líneas celulares indicadoras estables, PPAR α , PPAR δ o PPAR γ , que expresan respectivamente una proteína quimérica que contiene el dominio de unión a ligando (LBD) de PPAR α humano, PPAR δ humano o PPAR γ humano fusionado al dominio de unión a ADN de GAL4 de transactivador de levadura (DBD).

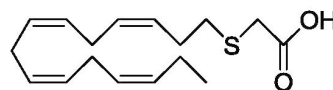
El gen indicador luciferasa (Luc) está dirigido por un pentámero de la secuencia de reconocimiento de GAL4 delante de un promotor de β -globina. El uso de los receptores quiméricos GAL4-PPAR α , GAL4-PPAR δ y GAL4-PPAR γ permite la eliminación de la actividad de fondo a partir de los receptores endógenos y la cuantificación de la actividad relativa a lo largo de los tres subtipos de PPAR con el mismo gen indicador.

Se sometieron a prueba dos sustancias de referencia no sustituidas, referencia 1 y 2, y cinco sustancias de prueba, (7), (10), (11), (24) y (25) en una concentración de 10 μM .

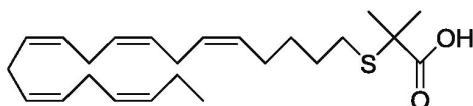
A continuación se muestran las fórmulas estructurales de las sustancias sometidas a prueba:



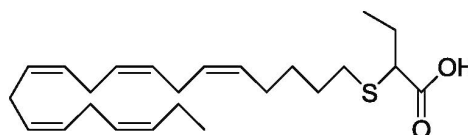
Referencia 1



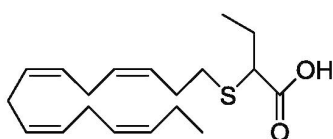
Referencia 2



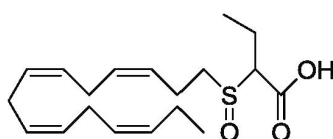
(11)



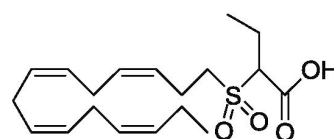
(10)



(7)



(24)



(25)

Se determinó la selectividad por PPAR de las sustancias mediante comparación con referencias de fármacos conocidos (GW7647 1 μM para PPAR α , L-165041 1 μM para PPAR δ y BRL49653 1 μM para PPAR γ) fijados al 100% de actividad.

5 En la figura 1 se presentan los resultados.

Ejemplo 23:

Evaluación de la activación de PPAR α *in vitro* (datos de concentración-respuesta)

10 Se llevó a cabo el ensayo *in vitro* usando ensayos híbridos en un mamífero (M1H) que comprenden constructos de fusión de dominio de unión a ADN de GAL4-PPAR α -LBD conjuntamente con constructo de indicador luciferasa de *Photinus pyralis* dirigido por sitios 5xGAL4 en células HEK293 transfectadas de manera transitoria.

Se sometieron a prueba el compuesto (12) y el control positivo (GW7647) a diferentes concentraciones. En la tabla 1 se presentan los resultados.

Compuesto	PPAR α	
	CE50 (nM)	Eficacia (%)
GW7647	0,45	100
(12)	286	84

Tabla 1

15 Ejemplo 24: Evaluación de los efectos sobre el metabolismo lipídico *in vivo* en un modelo dislipidémico (ratones transgénicos APOE*3Leiden)

20 Se ha demostrado que este modelo animal es representativo de la situación en seres humanos con respecto a los niveles de lipoproteína plasmáticos, perfiles de lipoproteína, su receptividad a fármacos hipolipidémicos (como estatinas, fibratos, etc.) y nutrición. Además, dependiendo del nivel de colesterol plasmático los ratones APOE*3Leiden desarrollan lesiones ateroscleróticas en la aorta que se asemejan a las encontradas en seres humanos con respecto a la composición celular y las características morfológicas e inmunohistoquímicas.

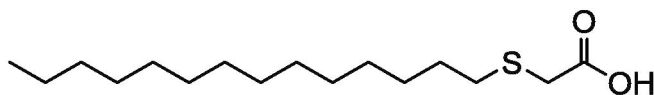
25 Se sometieron ratones APOE*3Leiden hembra a una dieta semisintética de tipo Western (WTD, manteca de cacao al 15%, sacarosa al 40% y colesterol al 0,25%; todo p/p). Con esta dieta el nivel de colesterol plasmático alcanzó niveles medianamente elevados de aproximadamente 12-15 mmol/l. Después de un periodo de estudio de 4 semanas los ratones se subdividieron en grupos de 10 ratones cada uno, coincidentes para el colesterol, los triglicéridos plasmáticos y el peso corporal (t=0).

Se administraron las sustancias de prueba por vía oral como una mezcla con la dieta de tipo Western. Para facilitar el mezclado de los compuestos se añadió aceite de girasol hasta un volumen total de aceite de 10 ml/kg de dieta.

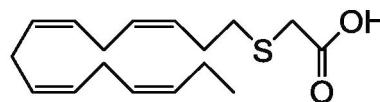
Después de tres semanas de tratamiento (t = 3 semanas) se sometieron a ayuno los ratones durante la noche (o/n) y

se tomaron muestras de sangre para medir los cuerpos cetónicos plasmáticos y los ácidos grasos libres. A t = 0 y 4 semanas se tomaron muestras de sangre después de un periodo de ayuno de 4 horas para medir el colesterol y los triglicéridos plasmáticos.

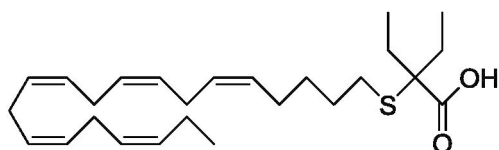
- 5 Se dosificaron dos sustancias de referencia no sustituidas, referencia 3 y 2, y tres sustancias de prueba, (7), (10) y (12), a 0,3 mmol/kg de peso corporal/día. Las fórmulas estructurales de las sustancias sometidas a prueba son tal como se muestra a continuación:



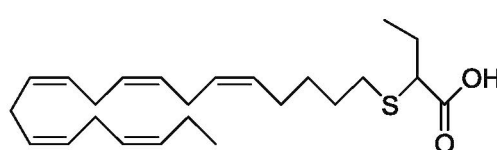
Referencia 3



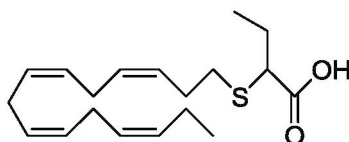
Referencia 2



(12)



(10)



(7)

En la figura 2 se muestran los resultados.

- 10 Ejemplo 25: Evaluación de los efectos sobre el metabolismo de la glucosa en un modelo de diabetes tipo II (ratones macho ob/ob)

15 Pueden usarse ratones ob/ob como modelo para la diabetes tipo II. Los ratones son homocigotos para la mutación espontánea obesa (Lep^{ob}) que conduce a deficiencia de leptina. Además de la obesidad (los ratones ob/ob pueden alcanzar tres veces el peso corporal normal de los controles silvestres), los ratones ob/ob muestran un síndrome de hiperglucemia similar a una diabetes tipo II, intolerancia a la glucosa, insulina plasmática elevada, infertilidad, disfunción en la cicatrización de heridas y un aumento en la producción de hormonas tanto de la hipófisis como de las glándulas suprarrenales.

Se sometieron ratones macho ob/ob a una dieta baja en grasas normal durante unas cuantas semanas para su aclimatación. Después del periodo de aclimatación los ratones se subdividieron en tres grupos de 10 ratones cada uno, emparejados según el peso corporal, la glucosa plasmática y la insulina (t=0).

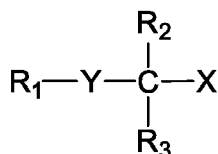
- 20 Todos los compuestos se administraron por vía oral como una mezcla con la dieta AM II. Para facilitar el mezclado de los compuestos se añadió aceite de girasol hasta un volumen total de aceite de 10 ml/kg de dieta.

Se midieron a t=0, 2 y 4 semanas el peso corporal y la ingesta de alimento. Se tomaron muestras de sangre a t=0, 2 y 4 semanas después de un periodo de ayunas de 4 horas para medir HbA1c en sangre completa y glucosa plasmática, insulina, colesterol y triglicéridos.

- 25 Se usó como referencia pioglitazona (15 mg/kg de peso corporal/día). El compuesto (10) se dosificó a 0,6 mmol/kg de peso corporal/día. En las figuras 3-6 se muestran los resultados (t = 4).

REIVINDICACIONES

1. Compuesto lipídico de fórmula (I):



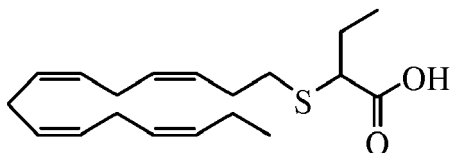
(I)

en la que

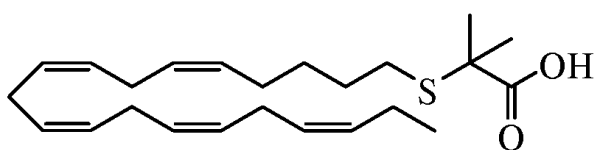
- 5
- R₁ se selecciona de un alqueno C₁₀-C₂₂ con 3-6 dobles enlaces metileno interrumpidos en configuración Z, y un alquino C₁₀-C₂₂ que tiene 1-6 triples enlaces;
 - R₂ y R₃ son iguales o diferentes y pueden seleccionarse de un grupo de sustituyentes que consiste en un átomo de hidrógeno y un grupo alquilo, siempre que R₂ y R₃ no sean ambos un átomo de hidrógeno; o
 - R₂ y R₃ pueden estar conectados para formar un cicloalcano como ciclopropano, ciclobutano, ciclopentano o ciclohexano;
 - Y se selecciona de azufre, sulfóxido y sulfona;
 - X representa un ácido carboxílico o una carboxamida seleccionada del grupo que consiste en N-metilcarboxamida, N,N-dimetilcarboxamida, N-etilcarboxamida y N,N-dietilcarboxamida;
- 10
- o una sal, solvato o solvato de tal sal farmacéuticamente aceptable de los mismos,
- 15 con la condición de que el compuesto de fórmula (I) no sea:
ácido 2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaenil)butanoico.
2. Compuesto lipídico según la reivindicación 1, en el que R₂ y R₃ se seleccionan independientemente de un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo.
3. Compuesto lipídico según la reivindicación 1, en el que R₂ y R₃ se seleccionan independientemente de un átomo de hidrógeno o un grupo etilo; o R₂ y R₃ están conectados para formar un grupo ciclobutano.
- 20
4. Compuesto lipídico según la reivindicación 1, en el que uno de R₂ y R₃ es hidrógeno y el otro es un grupo alquilo.
5. Compuesto lipídico según la reivindicación 4, en el que uno de R₂ y R₃ es hidrógeno y el otro es etilo.
6. Compuesto lipídico según la reivindicación 1, en el que R₂ y R₃ son grupos alquilo.
- 25
7. Compuesto lipídico según la reivindicación 6, en el que R₂ y R₃ son iguales o diferentes y se seleccionan de metilo, etilo, n-propilo o isopropilo.
8. Compuesto lipídico según la reivindicación 6, en el que R₂ y R₃ son iguales y se seleccionan de etilo.
9. Compuesto según la reivindicación 1, en el que R₁ es un grupo alqueno C₁₄-C₂₂ que tiene el primer doble enlace en el tercer enlace carbono-carbono a partir del extremo omega (ω) de la cadena de carbono.
- 30
10. Compuesto según la reivindicación 9, en el que R₁ es un alqueno C₁₄-C₂₂ con 5-6 dobles enlaces.
11. Compuesto lipídico según la reivindicación 1, en el que R₁ es un alqueno C₁₀-C₂₂, derivándose dicho compuesto lipídico de lípidos que comprenden 1-6 triples enlaces.
12. Compuesto lipídico según la reivindicación 1, en el que dicha sal de dicho compuesto lipídico comprende un catión monovalente tal como Li⁺, Na⁺, K⁺, NH₄⁺, meglumina, tris(hidroximetil)aminometano, dietilamina, arginina; un catión divalente tal como Mg²⁺, Ca²⁺, etilendiamina, piperazina; o un catión polivalente tal como quitosano.
- 35
13. Compuesto lipídico según la reivindicación 12, en el que dicha sal de dicho compuesto lipídico comprende un catión divalente tal como Mg²⁺, Ca²⁺, etilendiamina, piperazina.

14. Compuesto lipídico según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en una mezcla de isómeros diastereoméricos o en forma racémica.
15. Compuesto lipídico según la reivindicación 14, en forma de un diastereómero o un enantiómero.
16. Compuesto lipídico según la reivindicación 14, en forma de su estereoisómero R o su estereoisómero S.

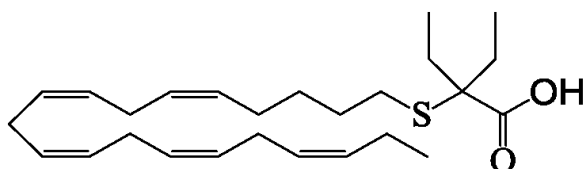
5 17. Compuesto lipídico según la reivindicación 1, en el que dicho compuesto es:



ácido 2-((3Z,6Z,9Z,12Z)-pentadeca-3,6,9,12-tetraeniltio)butanoico;

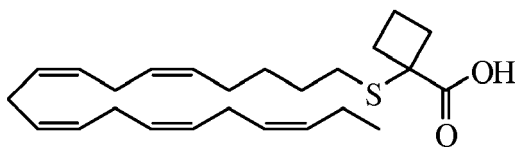


ácido 2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaeniltio)-2-metilpropanoico;

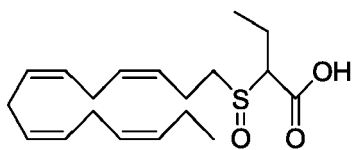


10

ácido 2-etil-2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaeniltio)butanoico;

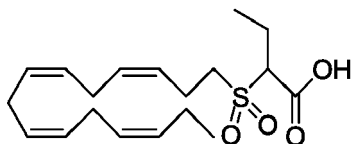


ácido etil-1-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaeniltio)-ciclobutanocarboxílico;

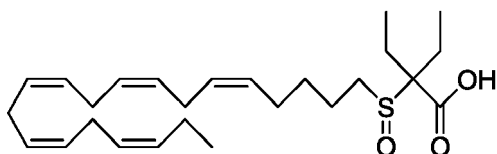


15

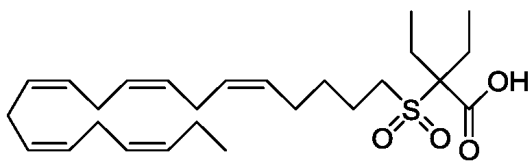
ácido 2-((3Z,6Z,9Z,12Z)-pentadeca-3,6,9,12-tetraenilsulfinil)butanoico;



ácido 2-((3Z,6Z,9Z,12Z)-pentadeca-3,6,9,12-tetraenilsulfonil)butanoico;

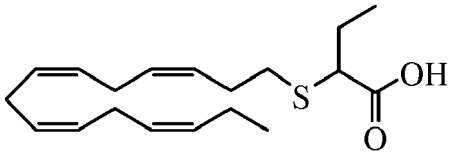


ácido 2-etil-2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaenilsulfinil)butanoico; o

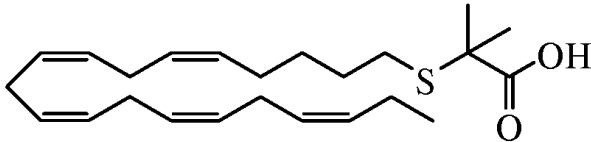


ácido 2-etil-2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaenilsulfonil)butanoico.

18. Compuesto lipídico según la reivindicación 1, en el que
- 5 R_1 es un alquínilo C_{10} - C_{22} , derivándose dicho compuesto lipídico de lípidos que contienen 1-6 triples enlaces;
- X representa un ácido carboxílico o una carboxamida seleccionada del grupo que consiste en N-metilcarboxamida, N,N-dimetilcarboxamida, N-etilcarboxamida y N,N-dietilcarboxamida; e
- Y es azufre.
19. Compuesto lipídico según la reivindicación 1, en el que
- 10 R_1 es un alquínilo C_{10} - C_{22} que tiene 1-6 triples enlaces;
- X representa un ácido carboxílico o una carboxamida seleccionada del grupo que consiste en N-metilcarboxamida, N,N-dimetilcarboxamida, N-etilcarboxamida y N,N-dietilcarboxamida; e
- Y es sulfóxido o sulfona.
20. Composición lipídica que comprende un compuesto lipídico según cualquiera de las reivindicaciones 1-19.
- 15 21. Composición lipídica según la reivindicación 20, en la que al menos el 60% en peso de dicha composición lipídica se compone de dicho compuesto lipídico.
22. Composición lipídica según la reivindicación 21, en la que al menos el 80% en peso de dicha composición lipídica se compone de dicho compuesto lipídico.
- 20 23. Composición de complemento alimenticio según la reivindicación 20, que comprende un compuesto lipídico según cualquiera de las reivindicaciones 1-19.
24. Composición farmacéutica según la reivindicación 20, que comprende un compuesto lipídico según cualquiera de las reivindicaciones 1-19.
25. Composición farmacéutica según la reivindicación 24, que comprende además un portador, excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable, o cualquier combinación de los mismos.
- 25 26. Composición farmacéutica según la reivindicación 24 ó 25, formulada para administración oral.
27. Composición farmacéutica según la reivindicación 26, en forma de una cápsula o un comprimido.
28. Composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 24-27, formulada para proporcionar una dosificación diaria de 1 mg a 10 g de dicho compuesto lipídico.
29. Composición farmacéutica según la reivindicación 28, formulada para proporcionar una dosificación diaria de 50 mg a 1 g de dicho compuesto lipídico.
- 30 30. Composición farmacéutica según la reivindicación 29, formulada para proporcionar una dosificación diaria de 50 mg a 200 mg de dicho compuesto lipídico.
31. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 20-22 ó 24-30, que comprende además un antioxidante farmacéuticamente aceptable.
- 35 32. Composición según la reivindicación 31, en el que dicho antioxidante es tocoferol.
33. Composición farmacéutica según la reivindicación 24, que comprende un compuesto lipídico y en la que dicho compuesto es:

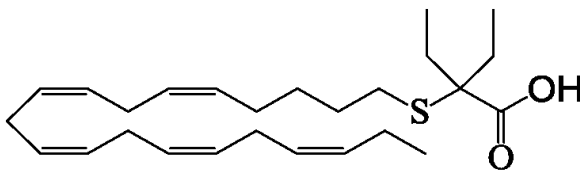


ácido 2-((3Z,6Z,9Z,12Z)-pentadeca-3,6,9,12-tetraeniltio)butanoico;

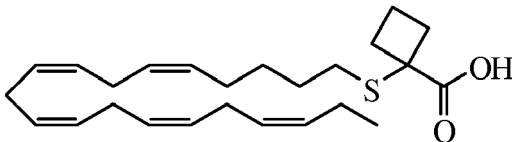


ácido 2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaeniltio)-2-metilpropanoico;

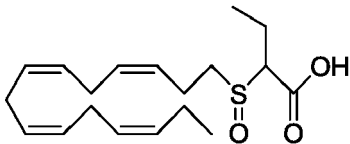
5



ácido 2-etil-2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaeniltio)butanoico;

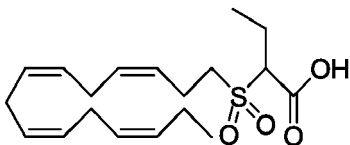


ácido etil-1-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaeniltio)-ciclobutanocarboxílico;

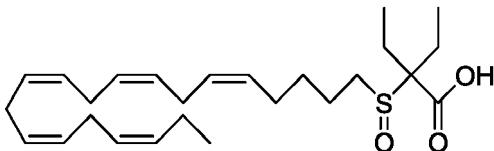


10

ácido 2-((3Z,6Z,9Z,12Z)-pentadeca-3,6,9,12-tetraenilsulfinil)butanoico;

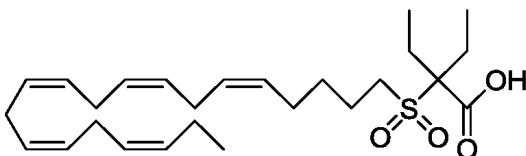


ácido 2-((3Z,6Z,9Z,12Z)-pentadeca-3,6,9,12-tetraenilsulfonil)butanoico;



ácido 2-etil-2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaenilsulfinil)butanoico; o

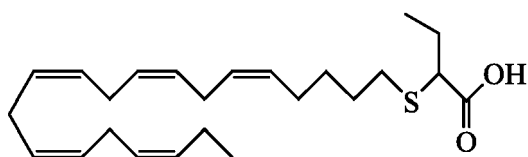
15



ácido 2-etil-2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaenilsulfonil)butanoico.

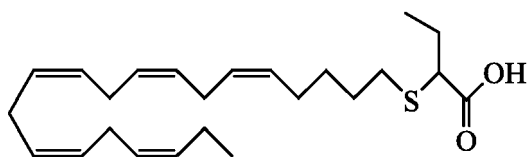
34. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 20-22 ó 24-33, para su uso como medicamento.

35. Compuesto lipídico según cualquiera de las reivindicaciones 1-19, para su uso en la activación o modulación de al menos una de las isoformas α , γ o δ de receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPAR) humanos.
36. Compuesto lipídico según la reivindicación 35, en el que dicho compuesto es un panagonista o modulador.
- 5 37. Compuesto lipídico según cualquiera de las reivindicaciones 1-19, para su uso en la prevención y/o el tratamiento de un estado dislipidémico.
38. Compuesto lipídico según la reivindicación 37, en el que dicho estado dislipidémico es hipertrigliceridemia (HTG).
- 10 39. Compuesto lipídico según cualquiera de las reivindicaciones 1-19, para su uso en la prevención y/o el tratamiento de niveles de triglicéridos, niveles de colesterol LDL y/o niveles de colesterol VLDL elevados.
40. Compuesto lipídico según cualquiera de las reivindicaciones 1-19, para su uso en el tratamiento y/o la prevención de obesidad o un estado de sobrepeso.
41. Compuesto lipídico según cualquiera de las reivindicaciones 1-19, para su uso en la reducción del peso corporal y/o para prevenir el aumento de peso corporal.
- 15 42. Compuesto lipídico según cualquiera de las reivindicaciones 1-19, para su uso en el tratamiento y/o la prevención de una esteatosis hepática.
43. Compuesto lipídico según la reivindicación 42, en el que dicha esteatosis hepática es esteatosis hepática no alcohólica (NAFLD).
- 20 44. Compuesto lipídico según cualquiera de las reivindicaciones 1-19, para su uso en el tratamiento y/o la prevención de aterosclerosis.
45. Compuesto lipídico según cualquiera de las reivindicaciones 1-19, para su uso en la prevención de infarto de miocardio.
46. Compuesto lipídico según cualquiera de las reivindicaciones 1-19, para su uso en el tratamiento y/o la prevención de resistencia a la insulina periférica y/o un estado diabético.
- 25 47. Compuesto lipídico según cualquiera de las reivindicaciones 1-19, para su uso en el tratamiento y/o la prevención de diabetes tipo 2.
48. Compuesto lipídico según cualquiera de las reivindicaciones 1-19, para su uso en la reducción de la insulina plasmática, glucemia y/o los triglicéridos séricos.
- 30 49. Compuesto lipídico según cualquiera de las reivindicaciones 1-19, para su uso en el tratamiento y/o la prevención de una enfermedad o un estado inflamatorio.
50. Compuesto lipídico:



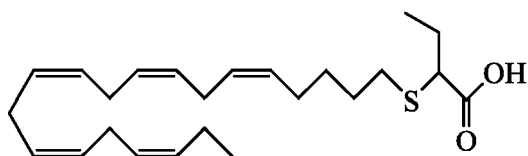
ácido 2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaenilthio)butanoico,

- 35 para su uso en la activación o modulación de al menos una de las isoformas α , γ o δ de receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPAR) humanos, por ejemplo dicho compuesto es un panagonista o modulador; la prevención y/o el tratamiento de un estado dislipidémico, por ejemplo hipertrigliceridemia (HTG); la prevención y/o el tratamiento de niveles de triglicéridos, niveles de colesterol LDL y/o niveles de colesterol VLDL elevados; la prevención y/o el tratamiento de obesidad o un estado de sobrepeso; la reducción del peso corporal y/o para prevenir el aumento de peso corporal; el tratamiento y/o
- 40 la prevención de una esteatosis hepática, por ejemplo esteatosis hepática no alcohólica (NAFLD); el tratamiento y/o la prevención de aterosclerosis; la prevención de infarto de miocardio; el tratamiento y/o la prevención de resistencia a la insulina periférica y/o un estado diabético, por ejemplo diabetes tipo 2; la reducción de la insulina plasmática, glucemia y/o los triglicéridos séricos; o el tratamiento y/o la prevención de una enfermedad o un estado inflamatorio.
- 45 51. Composición de complemento alimenticio que comprende el compuesto lipídico



ácido 2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaeniltio)butanoico.

52. Composición farmacéutica que comprende el compuesto lipídico



5 ácido 2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaeniltio)butanoico.

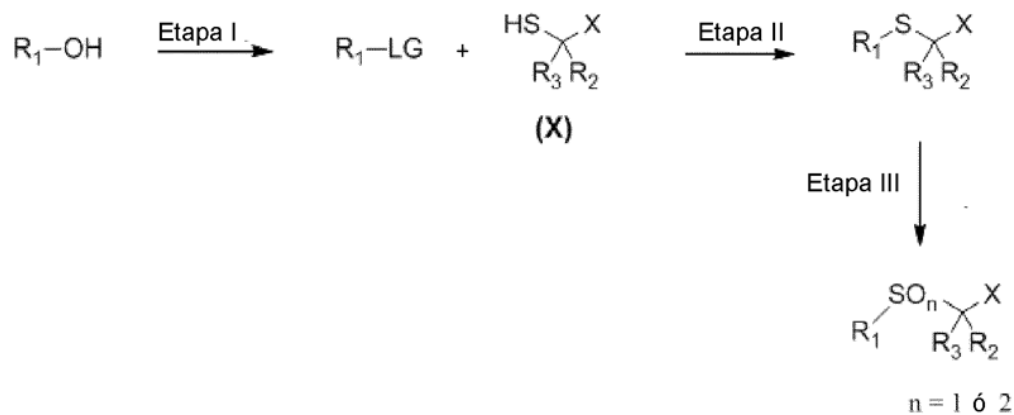
53. Composición farmacéutica según la reivindicación 52, que comprende además un portador, excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable, o cualquier combinación de los mismos.

54. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 52 ó 53, que comprende además un antioxidante farmacéuticamente aceptable.

10 55. Compuesto según la reivindicación 50 o composición según cualquiera de las reivindicaciones 52-54, para su uso como medicamento.

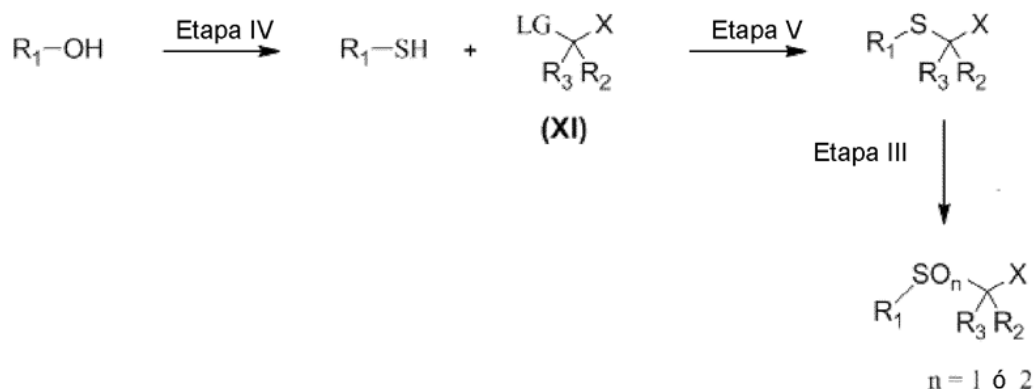
56. Método para la producción de un compuesto lipídico según cualquiera de las reivindicaciones 1-19, que comprende uno de los métodos siguientes:

Método I



15 en el que R₁, R₂, R₃ y X son tal como se definieron en las reivindicaciones 1-19, y LG representa un grupo saliente tal como mesilato, tosilato o un halógeno adecuado;

Método II



en el que R₁, R₂, R₃ y X son tal como se definieron en las reivindicaciones 1-19.

57. Método según la reivindicación 56, en el que la materia prima puede originarse de una fuente vegetal, microbiana y/o animal.
 58. Método según la reivindicación 57, en la que la fuente animal es un aceite marino, un aceite de pescado o un aceite de camarón antártico.
- 5

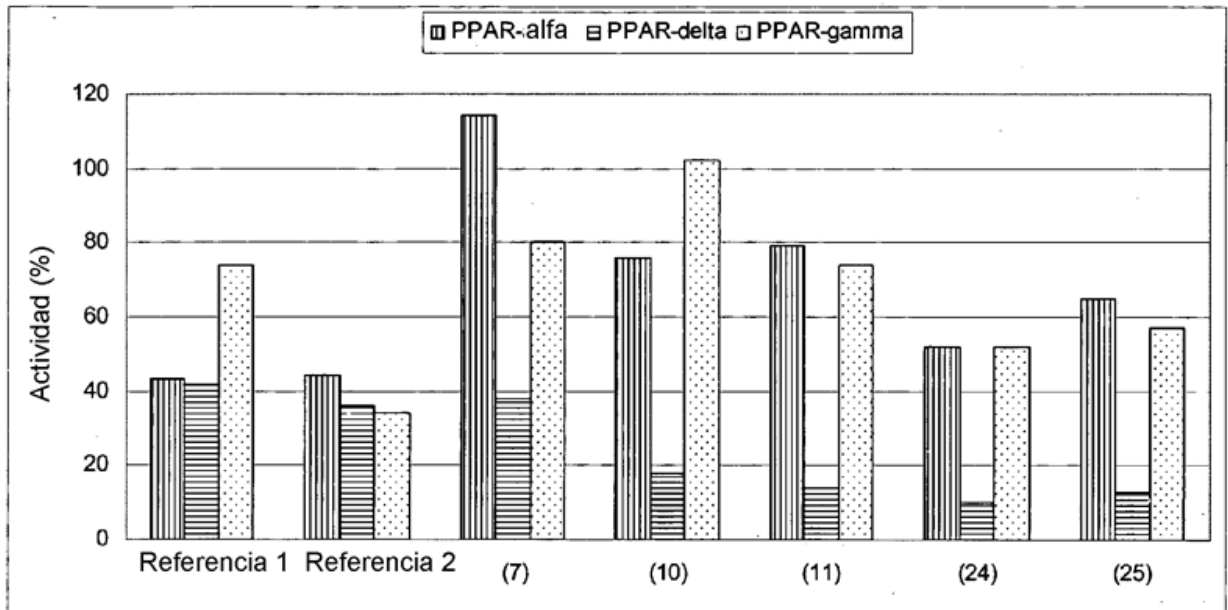


Figura 1

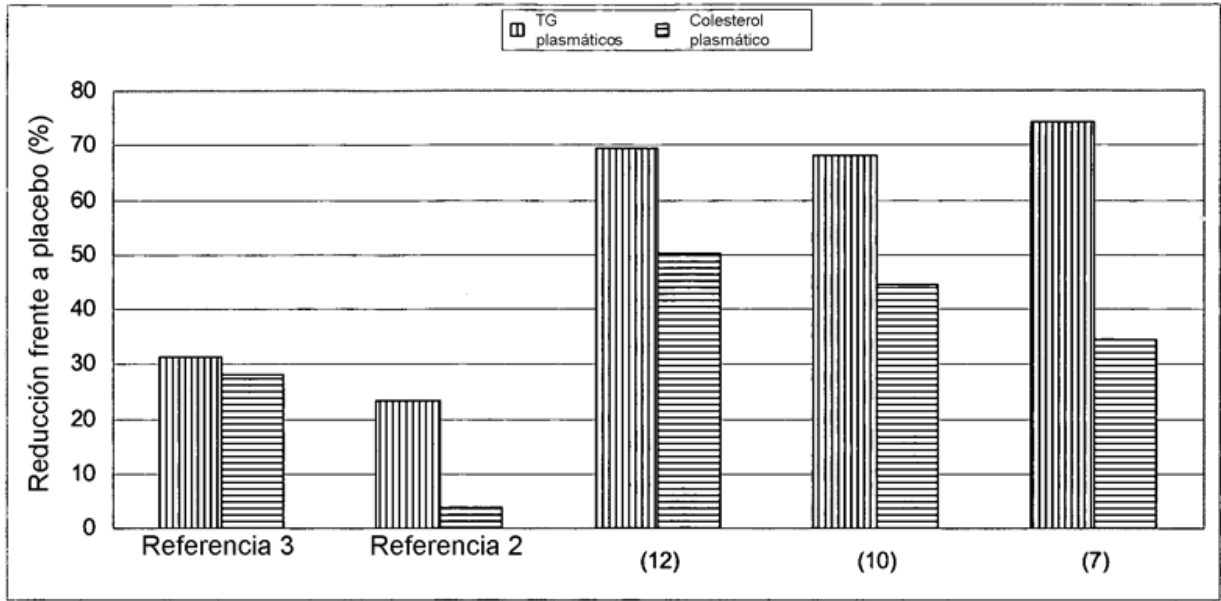


Figura 2

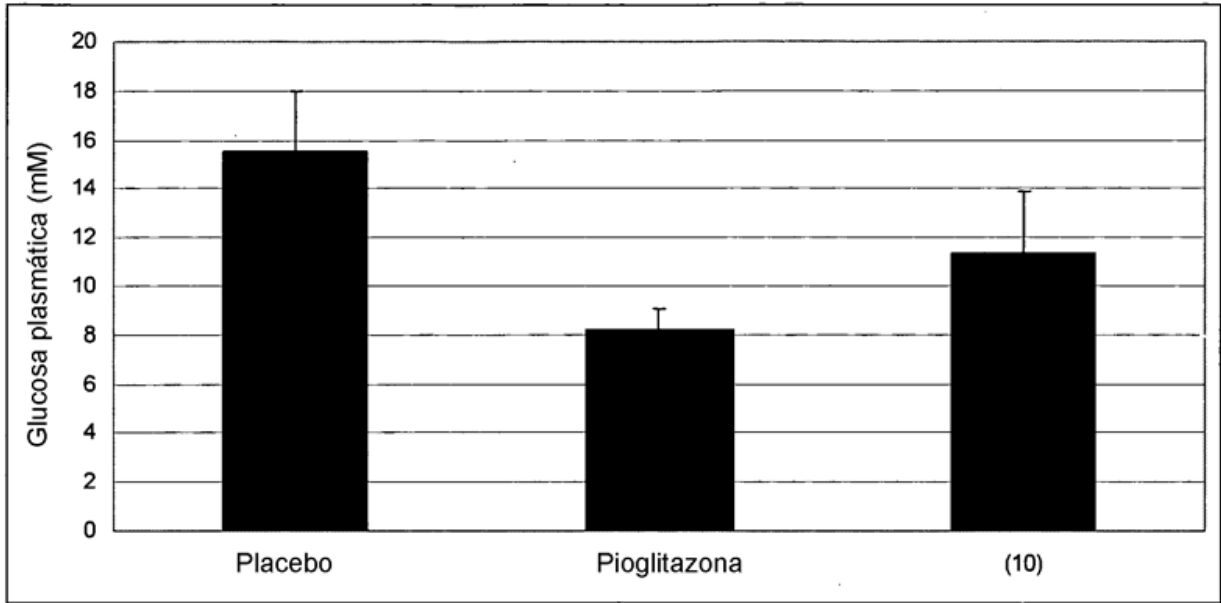


Figura 3

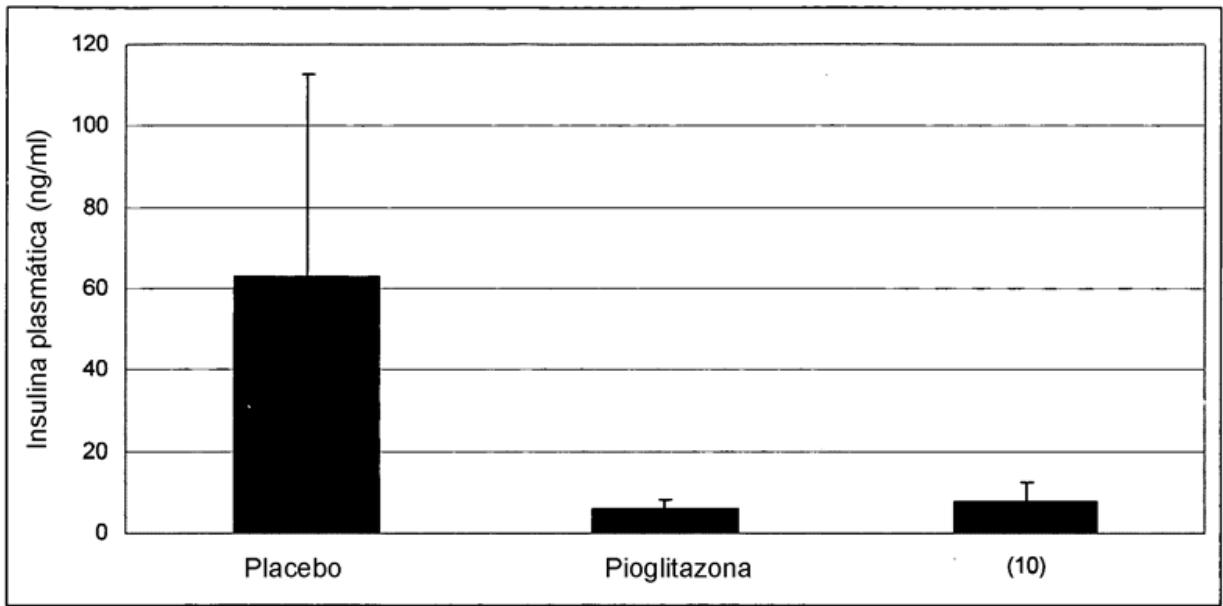


Figura 4

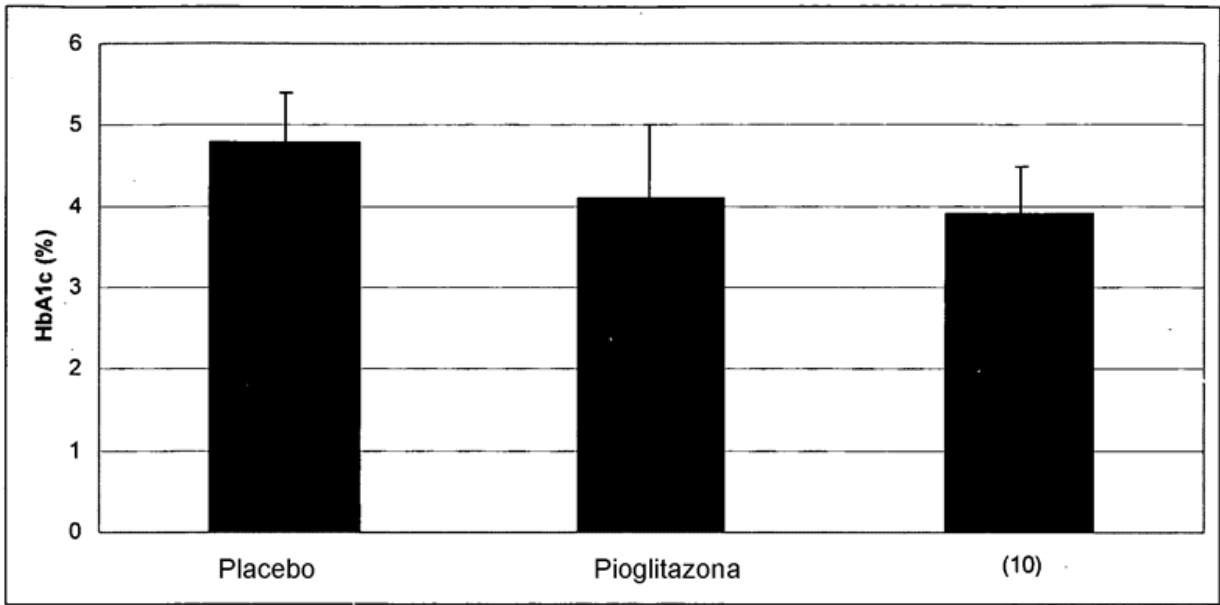


Figura 5

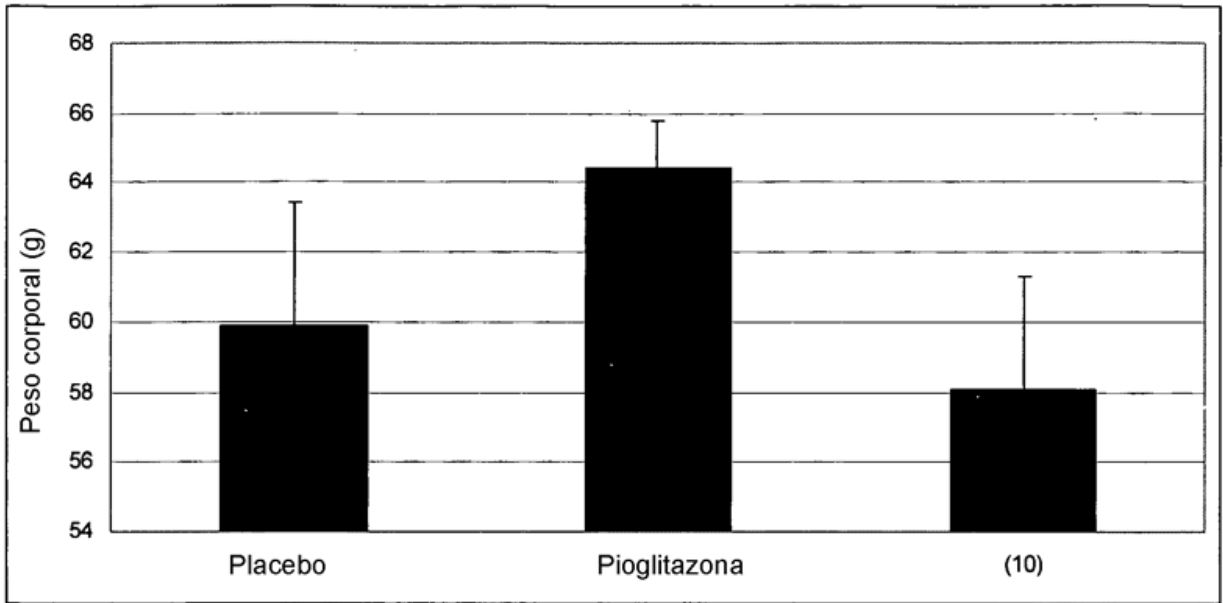


Figura 6