

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 777 533**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/075** (2006.01)

**C07F 9/58** (2006.01)

**A61K 31/24** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.11.2015 PCT/IB2015/059134**

87 Fecha y número de publicación internacional: **02.06.2016 WO16084024**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.11.2015 E 15862487 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.01.2020 EP 3223806**

54 Título: **Lípidos oxidados y sus métodos de uso**

30 Prioridad:

**26.11.2014 US 201462085153 P**

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

**05.08.2020**

73 Titular/es:

**VASCULAR BIOGENICS LTD. (100.0%)  
8 Hasat St.  
Modiin 7178106, IL**

72 Inventor/es:

**ISHAI, ETI KOVALEVSKI;  
MENDEL, ITZHAK;  
SALEM, YANIV;  
YACOV, NIVA y  
BREITBART, EYAL**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

ES 2 777 533 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 oxidados y sus métodos de uso

**Campo de la invención**

5 La presente invención, en algunas de sus realizaciones, se refiere a compuestos lipídicos oxidados y a las composiciones farmacéuticas que los comprenden. La invención también se refiere a métodos para preparar tales compuestos y composiciones, y a tales compuestos y composiciones para usar en el tratamiento o prevención de la fibrosis o enfermedades o trastornos inflamatorios.

**Antecedentes de la invención**

10 La fibrosis es la formación de un exceso de tejido conectivo fibroso en un órgano o tejido, típicamente como resultado de una inflamación o lesión. La fibrosis abarca el estado patológico de un exceso de deposición del tejido fibroso, así como el proceso de deposición de tejido conectivo en la curación. La fibrosis es similar al proceso de cicatrización, ya que ambas involucran a células estimuladas (por ejemplo, los fibroblastos) que depositan tejido conectivo, incluido el colágeno y los glucosaminoglucanos.

15 La fibrosis puede considerarse como un proceso de cicatrización consecuencia de enfermedades crónicas en las que un depósito excesivo de la matriz extracelular (MEC) conduce a daños irreversibles en los tejidos y a la disfunción o alteración de algunas funciones orgánicas determinadas. Generalmente la fisiopatología de la fibrosis se estudia en el contexto de los órganos o tejidos particulares afectados, incluyendo los pulmones, riñones, hígado, corazón y piel. La pérdida de una homeostasis metabólica y las inflamaciones crónicas en bajo grado pueden desempeñar una función en la patogénesis de la fibrosis. La fibrogénesis es un proceso dinámico y ocurre en cuatro  
20 fases: i) iniciación, debido a una lesión del órgano/tejido; ii) inflamación y activación de células efectoras; iii) síntesis mejorada de ECM; y iv) depósito de ECM con progresión a disfunción del órgano diana.

25 La fibrosis puede aparecer en diversos tejidos dentro del cuerpo. Los ejemplos de la fibrosis incluyen la fibrosis pulmonar (pulmones), fibrosis pulmonar idiopática (pulmones), fibrosis quística (pulmones), fibrosis masiva progresiva (pulmones), fibrosis hepática, cirrosis (hígado), esteatohepatitis (enfermedad del hígado graso), enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD), esteatohepatitis no alcohólica (NASH), fibrosis endomiocárdica (corazón), infarto de miocardio (corazón), fibrosis auricular (corazón), fibrosis mediastinal (tejido blando del mediastino), mielofibrosis (médula ósea), fibrosis retroperitoneal (tejido blando del retroperitoneo), fibrosis sistémica nefrogénica (piel), queloides (piel), enfermedad de Crohn (intestino), esclerodermia/esclerosis sistémica (piel, pulmones), artrofibrosis (rodilla, hombro, otras articulaciones), enfermedad de Peyronie (pene), contractura de Dupuytren (manos, dedos), capsulitis adhesiva (hombro), fibrosis renal y glomeruloesclerosis focal y segmentaria (riñón).  
30

35 Una de las principales complicaciones de la resistencia a la insulina y el síndrome metabólico es la enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD), que puede progresar desde la inflamación del hígado graso al hígado (NASH) y la fibrosis hepática. Se cree que, debido a las filtraciones de la barrera intestinal, que vienen acompañadas de un crecimiento excesivo y cambios en la composición de la flora intestinal, los componentes bacterianos viajan a través de la vena porta hacia el hígado, donde se encuentran con los receptores tipo toll (TLR).

40 Los TLR son una familia de receptores imprescindibles para las respuestas inmunes innatas contra las invasiones microbianas. Los TLR se pueden dividir en dos subgrupos principales en función de su localización celular. Los TLR expresados en la membrana plasmática incluyen TLR1, TLR2, TLR4, TLR5 y TLR6, mientras que los TLR intracelulares incluyen TLR3, TLR7, TLR8 y TLR9. La interacción entre los TLR con sus agonistas afines instiga una cascada de señales que incluyen el reclutamiento de las moléculas adaptadoras MyD88/TRIF y la fosforilación posterior de las MAPK quinasas y NF- $\kappa$ B. Estos eventos culminan en la secreción de citocinas proinflamatorias, incluidas IL-12/23, IL-6 y TNF- $\alpha$ . TLR2 forma un heterodímero con TLR1 que reconoce los lipopéptidos bacterianos triacilados, y un heterodímero con TLR6 que reconoce los lipopéptidos bacterianos diacilados. TLR4 acoplado a MD2 complejo con la proteína de unión a lipopolisacárido (LBP) y el correceptor CD14 se une a los lipopolisacáridos (LPS) de las bacterias gram negativas.  
45

50 Las células de Kupffer residentes en el hígado y las células estrelladas hepáticas (HSC) expresan TLR2, que reconoce los lipopéptidos triacilados de bacterias Gram negativas y micoplasma y los lipopéptidos diacilados de bacterias Gram negativas y micoplasma y TLR4 y su correceptor CD14 que reconoce los lipopolisacáridos (LPS) de bacterias Gram negativas. Tanto TLR2 como TLR4 pueden unirse también a los patrones moleculares asociados al daño liberados desde los tejidos lesionados. Estos complejos TLR2 y TLR4 median la producción de citocinas proinflamatorias y la respuesta fibrogénica por las células de Kupffer y estrelladas. Los estudios preclínicos mostraron que la esteatohepatitis no alcohólica y la fibrosis hepática se inhiben en ratones con deficiencia de TLR2 y TLR4, lo que indica su papel en la patogénesis de la enfermedad. En los seres humanos, los niveles plasmáticos de LPS son altos en pacientes con NAFLD y las alteraciones en los genes TLR4 y CD14 están asociadas con el riesgo  
55 de desarrollar esteatohepatitis no alcohólica y fibrogénesis.

Los monocitos son elementos clave en el sistema inmune, con funciones críticas con respecto a la inmunidad innata y adaptativa, la vigilancia inmune y la eliminación de partículas. Cuando los subconjuntos de monocitos están "presentes", y son reclutados para los tejidos independientemente de los estímulos inflamatorios que aparezcan para ayudar en la vigilancia del estado estacionario, la curación de heridas y el progreso de las inflamaciones, la mayoría absoluta (80-90%) de los monocitos circulantes humanos se clasifica entonces como "inflamatorios". Estos monocitos pueden detectar estímulos inflamatorios y migrar rápidamente a través del endotelio vascular o linfático hacia la periferia, donde pueden diferenciarse en macrófagos y células dendríticas (DC) que cooperan con subconjuntos de células adicionales (como las células Th1) para promover la inflamación. Al mismo tiempo que desempeñan una función necesaria en la defensa del huésped, los monocitos fueron identificados también como mediadores críticos de diversas enfermedades inflamatorias, incluidas la aterosclerosis, la artritis reumatoide (AR) y la esclerosis múltiple (EM). La supresión de la acumulación de monocitos/macrófagos no deseados en un tejido inflamado crónicamente tiene potencial terapéutico, y los inhibidores de la migración han demostrado resultados antiinflamatorios prometedores en modelos animales y ensayos clínicos.

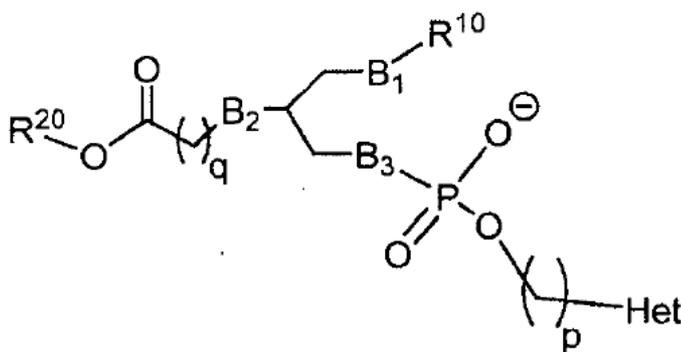
La fibrosis renal (fibrosis renal) es una respuesta de curación/cicatrización de los daños producidos después de lesiones renales que aparecen en muchas formas de enfermedad renal crónica (ERC). Después de la lesión renal, los fibroblastos residentes se activan mediante diversos estímulos proinflamatorios y pro-fibróticos. Los fibroblastos activados, también llamados miofibroblastos, producen un exceso de proteínas ECM que se acumulan en el intersticio y, por lo tanto, se consideran mediadoras de la fibrosis renal. Independientemente de la lesión primaria que conduce a la fibrosis renal, la inflamación crónica parece ser un proceso que anticipa a la fibrogénesis renal. Los niveles elevados de marcadores inflamatorios se asociaron con un mayor riesgo de desarrollar CKD. La inducción de varias citocinas proinflamatorias interleucina (IL) -6, IL-8, IL-10, quimiocina (motivo CC) ligando 2 (CCL2), factor de necrosis tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) y moléculas de adhesión (molécula de adhesión intercelular - 1 y molécula de adhesión de células vasculares - 1) atrajo la trans migración de macrófagos y células T desde la circulación al intersticio, mejorando así el estado inflamatorio. Las pruebas sugieren que los TLR y los macrófagos están asociados con la patogénesis de la fibrosis renal.

La fibrosis o las enfermedades o trastornos inflamatorios pueden dar lugar a una morbilidad severa y a efectos nocivos sobre la función diaria de los pacientes, la actividad de la vida diaria (AVD) y la calidad de vida, y pueden conducir a un mal pronóstico. Por ejemplo, la fibrosis pulmonar idiopática (FPI) es una enfermedad crónica intratable asociada con el empeoramiento y debilitamiento por la falta de aliento. Los pacientes con FPI se vuelven dependientes del oxígeno y tienen una supervivencia media promedio de tres años y una tasa de supervivencia de cinco años de 20% a 40% después del diagnóstico. El documento WO 2004/083155 A2 describe ésteres lipídicos de nucleótidos de adenina halogenada y su uso para tratar tumores. Por lo tanto, se necesita el desarrollo de nuevas terapias para la fibrosis y las enfermedades o trastornos inflamatorios.

### Sumario de la invención

La presente invención es tal y como se define en las reivindicaciones adjuntas.

En algunos aspectos de la descripción, un lípido oxidado es un compuesto que tiene una estructura según la Fórmula 1,



Fórmula 1

o su estereoisómero, una mezcla estereoisomérica o su sal,

en el que cada uno de  $B_1$ ,  $B_2$  y  $B_3$  se selecciona independientemente del grupo que consiste en oxígeno, azufre, nitrógeno, fósforo y silicio, en el que cada uno de dichos nitrógeno, fósforo y silicio está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en alquilo, halo, cicloalquilo, arilo, hidroxilo, tiohidroxilo, alcoxi, ariloxi, tioariloxi, tioalcoxi y oxo;

en el que  $R^{10}$  es un alquilo  $C_{2-28}$  opcionalmente sustituido con uno a cinco sustituyentes  $R^{11}$ , en el que cada  $R^{11}$  se selecciona independientemente del grupo que consiste en alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, halo, trihalometilo, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, tiohidroxilo, tioalcoxi, tioariloxi, fosfonato, fosfato, fosfinilo, sulfonilo, sulfonilo, sulfonamida, amida, carbonilo, tiocarbonilo, C-carboxi, O-carboxi, C-carbamato, N-carbamato, C-tiocarboxi, S-tiocarboxi y amino;

en el que  $p$  es un número entero seleccionado de 1 a 10;

en el que  $q$  es un número entero seleccionado de 1-26;

en el que  $R^{20}$  se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, arilo y heteroarilo; y

10 en el que Het es un anillo heterocíclico o un heteroarilo.

Los  $B_1$ ,  $B_2$  y  $B_3$  adecuados para la Fórmula 1 se definen en este documento. En algunas realizaciones,  $B_1$  es O. En algunas realizaciones,  $B_2$  es O. En algunas realizaciones,  $B_3$  es O. En algunas realizaciones, al menos dos de  $B_1$ ,  $B_2$  y  $B_3$  son O, por ejemplo,  $B_1$ ,  $B_2$  son O y  $B_3$  es O o S;  $B_1$ ,  $B_3$  son O y  $B_2$  es O o S; o  $B_2$ ,  $B_3$  son O y  $B_1$  es O o S. En algunas realizaciones,  $B_1$  es S. En algunas realizaciones,  $B_2$  es S. En algunas realizaciones,  $B_3$  es S. En algunas realizaciones, al menos dos de  $B_1$ ,  $B_2$  y  $B_3$  son S, por ejemplo,  $B_1$ ,  $B_2$  son S y  $B_3$  es O o S;  $B_1$ ,  $B_3$  son S y  $B_2$  es O o S; o  $B_2$ ,  $B_3$  son S y  $B_1$  es O o S. En algunas realizaciones, todos  $B_1$ ,  $B_2$  y  $B_3$  son O. En algunas realizaciones, todos  $B_1$ ,  $B_2$  y  $B_3$  son S.

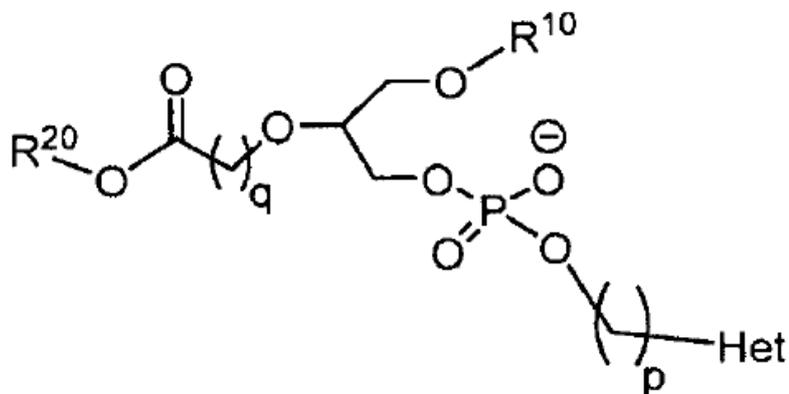
Se definen  $R^{10}$  adecuados para la Fórmula 1 en el presente documento. En algunas realizaciones,  $R^{10}$  es un alquilo  $C_{2-28}$ . En algunas realizaciones,  $R^{10}$  es un alquilo  $C_{2-28}$  de cadena lineal, por ejemplo, una cadena alquilo que tiene 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27 o 28 carbonos, sustituidos o no sustituidos. En algunas realizaciones,  $R^{10}$  es un alquilo  $C_{2-28}$  de cadena lineal, por ejemplo, una cadena alquilo que tiene 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27 o 28 carbonos, sustituidos por uno a cinco sustituyentes  $R^{11}$ , en el que cada  $R^{11}$  es independientemente como se define en el presente documento, por ejemplo, un halógeno (p. ej., F) o un alquilo (p. ej., un alquilo  $C_{1-10}$ ). En algunas realizaciones,  $R^{10}$  se selecciona del grupo que consiste en hexadecilo, dodecilo, octadecilo, octilo, eicosanilo, cis-9-hexadeceno, (2'-octil)-dodecilo y (15'-carboxi)-pentadecilo. En algunas realizaciones,  $R^{10}$  es hexadecilo. En algunas realizaciones,  $R^{10}$  es (2'-octil)-dodecilo. En algunas realizaciones,  $R^{10}$  es eicosanilo.

$R^{20}$  adecuados para la Fórmula 1 se definen en el presente documento. En algunas realizaciones,  $R^{20}$  es un hidrógeno o un alquilo. En algunas realizaciones,  $R^{20}$  es hidrógeno. En algunas realizaciones,  $R^{20}$  es un alquilo, por ejemplo, un alquilo  $C_{1-4}$  (por ejemplo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo o terc-butilo). En algunas realizaciones,  $R^{20}$  es metilo.

Los valores adecuados para  $p$  y  $q$  en la Fórmula 1 se definen en el presente documento. En algunas realizaciones,  $q$  es un número entero de 1-10, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10. En algunas realizaciones,  $q$  es 4. En algunas realizaciones,  $p$  es un número entero de 1-7, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7. En algunas realizaciones,  $p$  es 2.

Los Het adecuados para la Fórmula 1 se definen en el presente documento. En algunas realizaciones, Het es un heteroarilo. En algunas realizaciones, Het es un heteroarilo monocíclico. En algunas realizaciones, Het es un heteroarilo que contiene nitrógeno (por ejemplo, heteroarilo monocíclico). En algunas realizaciones, Het es un heteroarilo monocíclico que contiene 1, 2, 3 o 4 átomos de nitrógeno. En algunas realizaciones, Het es un heteroarilo monocíclico de anillo de 6 miembros, por ejemplo, piridina, pirimidina, piridazina, pirazina, triazina, etc. En algunas realizaciones, Het es un heteroarilo monocíclico de anillo de 5 miembros, por ejemplo, imidazol, tiazol, isotiazol, oxazol, isoxazol, oxidiazol, pirazol, triazol, etc. En algunas realizaciones, Het es un heteroarilo bicíclico que contiene, por ejemplo, 1-3 átomos de nitrógeno, por ejemplo, quinolina, isoquinolina, quinazolina, tienopiridina, tienopirimidina, pirrolopiridina, imidazopiridina, etc. En cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, Het puede ser un heteroarilo que contiene nitrógeno, en el que un átomo de nitrógeno del heteroarilo está conectado directamente a la cadena de alqueno, es decir,  $-(CH_2)_p-$  en la Fórmula 1 para formar un catión. En algunas realizaciones, Het es piridina, donde el átomo de nitrógeno de la piridina está directamente conectado a la cadena de alqueno, es decir,  $-(CH_2)_p-$  en la Fórmula 1 para formar una sal de piridinio (por ejemplo, una sal interna o una sal externa como se describe en este documento). En algunas realizaciones, Het es una piridina no sustituida, en la que el átomo de nitrógeno de la piridina está directamente conectado a la cadena de alqueno, es decir,  $-(CH_2)_p-$  en la Fórmula 1. En algunas realizaciones, Het es una piridina sustituida, en la que el átomo de nitrógeno de la piridina está directamente conectado a la cadena de alqueno, es decir,  $-(CH_2)_p-$  en la Fórmula 1, en la que la piridina está sustituida por uno a cinco (por ejemplo, 1, 2, 3, 4 o 5) sustituyentes  $R^{12}$ , en el que cada  $R^{12}$  es independientemente como se define en este documento, por ejemplo, un halógeno (por ejemplo, F, Cl), un arilo  $C_{6-10}$  (por ejemplo, fenilo), un heteroarilo o un alquilo (por ejemplo, un alquilo  $C_{1-10}$ , por ejemplo, un alquilo  $C_{1-4}$  (por ejemplo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, iso-butilo, terc-butilo). En algunas realizaciones, Het es una piridina sustituida y la piridina está sustituida por un sustituyente  $R^{12}$  en la posición 2, 3 o 4 de la piridina, en la que  $R^{12}$  es como se define en este documento, por ejemplo, un halógeno (p. ej., F, Cl), un fenilo o un metilo. En algunas realizaciones, Het es 3-fluoro-piridina o 3-fenil-piridina.

En algunos aspectos de la descripción, un lípido oxidado es un compuesto que tiene una estructura según la Fórmula 2:

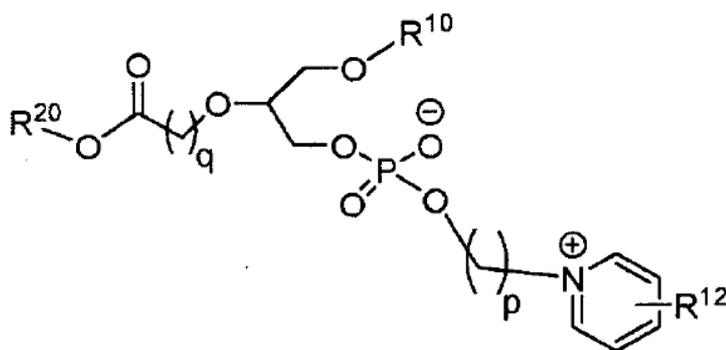


Fórmula 2

5 o su estereoisómero, una mezcla estereoisomérica o su sal.  $R^{10}$ ,  $R^{20}$ ,  $p$ ,  $q$  y  $Het$  adecuados son los definidos en la presente memoria para la Fórmula 1.

En algunas realizaciones según la Fórmula 2,  $R^{10}$  se selecciona del grupo que consiste en hexadecilo, dodecilo, octadecilo, octilo, eicosanilo, cis-9-hexadecenilo, (2'-octil)-dodecilo y (15'-carboxi)-pentadecilo;  $R^{20}$  es hidrógeno o un alquilo, por ejemplo, un alquilo  $C_{1-4}$  (por ejemplo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo o terc-butilo);  $q$  es un número entero de 1-10, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10;  $p$  es un número entero de 1-7, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7; y  $Het$  es una piridina no sustituida, donde el átomo de nitrógeno de la piridina está directamente conectado a la cadena alqueno, es decir,  $-(CH_2)_p-$  en la Fórmula 1, o  $Het$  es una piridina sustituida, donde el átomo de nitrógeno de la piridina está directamente conectado a la cadena de alqueno, es decir,  $-(CH_2)_p-$  en la Fórmula 1, donde la piridina está sustituida con uno a cinco (por ejemplo, 1, 2, 3, 4 o 5) sustituyentes  $R^{12}$ , en el que cada  $R^{12}$  es independientemente como se define en el presente documento, por ejemplo, un halógeno (por ejemplo, F, Cl), un arilo  $C_{6-10}$  (por ejemplo, fenilo), un heteroarilo (por ejemplo, heteroarilo monocíclico) o un alquilo (por ejemplo, un alquilo  $C_{1-10}$ , por ejemplo, un alquilo  $C_{1-4}$  (por ejemplo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, iso-butilo, terc-butilo). En algunas realizaciones,  $Het$  es una piridina sustituida y la piridina está sustituida por un sustituyente  $R^{12}$  en la posición 2, 3 o 4 de la piridina, en la que  $R^{12}$  es como se define en este documento, por ejemplo, un halógeno (p. ej., F, Cl), un fenilo o un metilo. En algunas realizaciones,  $Het$  es 3-fluoro-piridina o 3-fenil-piridina.

En algunos aspectos de la descripción, un lípido oxidado es un compuesto que tiene una estructura según la Fórmula 3:



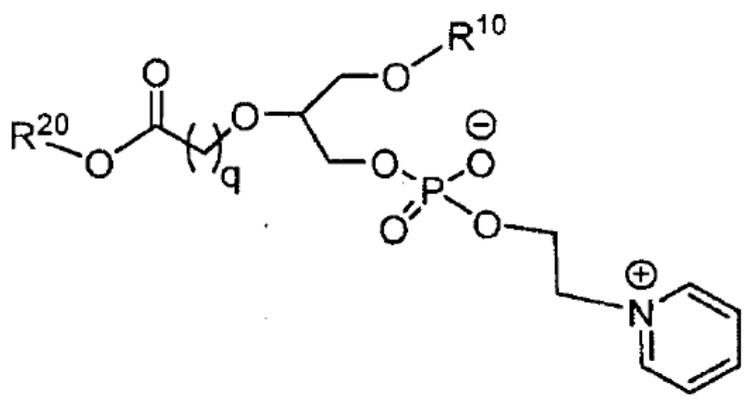
Fórmula 3

25 o un estereoisómero, una mezcla estereoisomérica, o su sal, donde  $R^{10}$ ,  $R^{11}$ ,  $R^{12}$ ,  $R^{20}$ ,  $p$  y  $q$  son como se definen en este documento para la Fórmula 1.

En algunas realizaciones según la Fórmula 3,  $R^{10}$  se selecciona del grupo que consiste en hexadecilo, eicosanilo y (2'-octil)-dodecilo;  $R^{20}$  es hidrógeno o un alquilo  $C_{1-4}$  (por ejemplo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo o terc-butilo);  $q$  es un número entero de 2-6, por ejemplo, 2, 3, 4, 5 o 6;  $p$  es un número entero de 2-5, por ejemplo, 2, 3, 4 o 5; y la piridina está sustituida por 0 a 3 (por ejemplo, 0, 1, 2 o 3) sustituyentes  $R^{12}$ , en el que cada  $R^{12}$  es independientemente como se define en este documento, por ejemplo, un halógeno (por ejemplo, F, Cl), un

arilo C<sub>6-10</sub> (por ejemplo, fenilo), un heteroarilo o un alquilo C<sub>1-4</sub> (por ejemplo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, terc-butilo). En algunas realizaciones, R<sup>10</sup> se selecciona del grupo que consiste en hexadecilo, eicosanilo y (2'-octil)-dodecilo; R<sup>20</sup> es hidrógeno o metilo; q es 2, 3, 4, 5 o 6; p es 2, 3, 4 o 5; y la piridina está sustituida por 0 a 3 (por ejemplo, 0, 1, 2 o 3) sustituyentes R<sup>12</sup>, en el que cada R<sup>12</sup> es independientemente un halógeno (por ejemplo, F, Cl), un arilo C<sub>6-10</sub> (por ejemplo, fenilo), un heteroarilo o un alquilo C<sub>1-4</sub> (por ejemplo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, iso-butilo, terc-butilo). En algunas realizaciones, R<sup>10</sup> se selecciona del grupo que consiste en hexadecilo, eicosanilo y (2'-octil)-dodecilo; R<sup>20</sup> es hidrógeno o metilo; q es 4; p es 2; y la piridina está sustituida por 0, 1 o 2 sustituyentes R<sup>12</sup>, en el que cada R<sup>12</sup> es independientemente un halógeno (por ejemplo, F, Cl), un fenilo o un metilo. En algunas realizaciones, la piridina está sustituida por un sustituyente R<sup>11</sup> en la posición 2, 3 o 4 de la piridina, en la que R<sup>11</sup> es como se define en el presente documento, por ejemplo, un halógeno (por ejemplo, F, Cl), un fenilo o un metilo. En algunas realizaciones, el anillo de piridina está sustituido con un sustituyente R<sup>12</sup>, en el que el sustituyente R<sup>12</sup> es flúor o fenilo. En algunas realizaciones, el anillo de piridina es 3-fluoro-piridina o 3-fenil-piridina.

En algunos aspectos de la descripción, un lípido oxidado es un compuesto que tiene una estructura según la Fórmula 4:



Fórmula 4

o su estereoisómero, una mezcla estereoisomérica o su sal. Los R<sup>10</sup>, R<sup>20</sup> y q adecuados son los definidos en la presente memoria para la Fórmula 1.

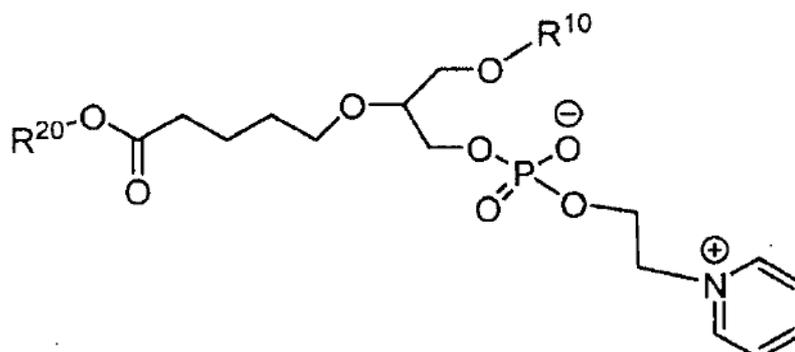
En algunas realizaciones según la Fórmula 4, R<sup>10</sup> se selecciona del grupo que consiste en hexadecilo, dodecilo, octadecilo, octilo, eicosanilo, cis-9-hexadecenilo, (2'-octil)-dodecilo y (15'-carboxi) pentadecilo. En algunas realizaciones, R<sup>10</sup> es hexadecilo. En algunas realizaciones, R<sup>10</sup> es (2'-octil)-dodecilo. En algunas realizaciones, R<sup>10</sup> es eicosanilo.

En algunas realizaciones, R<sup>20</sup> es un hidrógeno o un alquilo. En algunas realizaciones, R<sup>20</sup> es hidrógeno. En algunas realizaciones, R<sup>20</sup> es un alquilo, por ejemplo, un alquilo C<sub>1-4</sub> (por ejemplo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo o terc-butilo). En algunas realizaciones, R<sup>20</sup> es metilo.

En algunas realizaciones, q es un número entero de 1-10, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10. En algunas realizaciones, q es 4.

En algunas realizaciones, R<sup>10</sup> se selecciona del grupo que consiste en hexadecilo, eicosanilo y (2'-octil)-dodecilo; R<sup>20</sup> es hidrógeno o un alquilo C<sub>1-4</sub> (por ejemplo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo o terc-butilo); y q es un número entero de 2-6, por ejemplo, 2, 3, 4, 5 o 6. En algunas realizaciones, R<sup>10</sup> se selecciona del grupo que consiste en hexadecilo, eicosanilo y (2'-octil)-dodecilo; R<sup>20</sup> es hidrógeno; y q es un número entero de 2-6, por ejemplo, 2, 3, 4, 5 o 6. En algunas realizaciones, R<sup>10</sup> se selecciona del grupo que consiste en hexadecilo, eicosanilo y (2'-octil)-dodecilo; R<sup>20</sup> es metilo; y q es un número entero de 2-6, por ejemplo, 2, 3, 4, 5 o 6.

En algunos aspectos de la descripción, un lípido oxidado es un compuesto que tiene una estructura según la Fórmula 5:



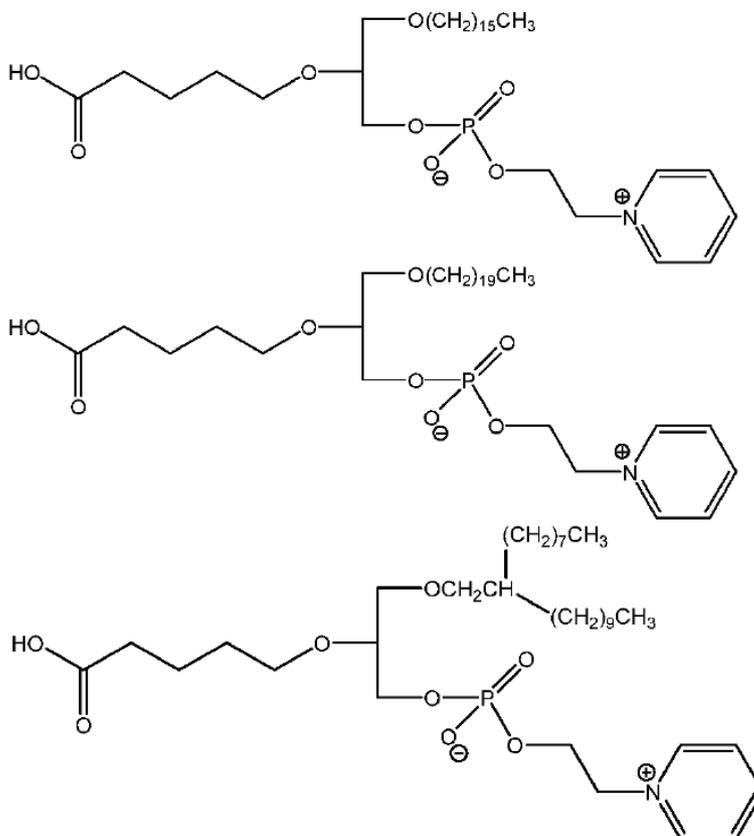
Fórmula 5

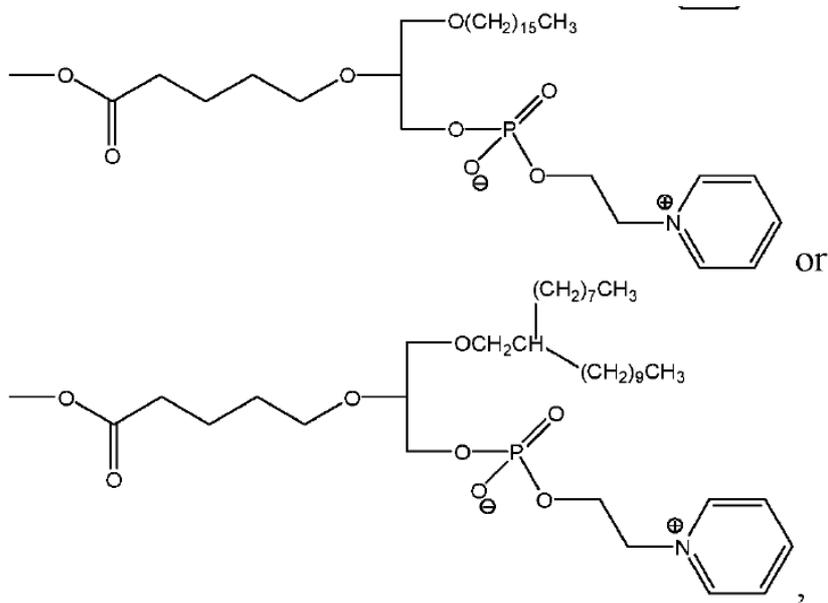
o un estereoisómero, una mezcla estereoisomérica, o su sal, en el que  $R^{10}$  y  $R^{20}$  son como se definen en este documento para la Fórmula 1.

5 En algunas realizaciones según la Fórmula 5,  $R^{10}$  se selecciona del grupo que consiste en hexadecilo, dodecilo, octadecilo, octilo, eicosano, cis-9-hexadeceno, (2'-octil)-dodecilo y (15'-carboxi) pentadecilo. En algunas realizaciones,  $R^{10}$  es hexadecilo. En algunas realizaciones,  $R^{10}$  es (2'-octil)-dodecilo. En algunas realizaciones,  $R^{10}$  es eicosano.

10 En algunas realizaciones,  $R^{20}$  es un hidrógeno o un alquilo. En algunas realizaciones,  $R^{20}$  es hidrógeno. En algunas realizaciones,  $R^{20}$  es un alquilo, por ejemplo, un alquilo  $C_{1-4}$  (por ejemplo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo o terc-butilo). En algunas realizaciones,  $R^{20}$  es metilo.

En algunas realizaciones, un lípido oxidado de la invención es un compuesto que tiene una estructura de:

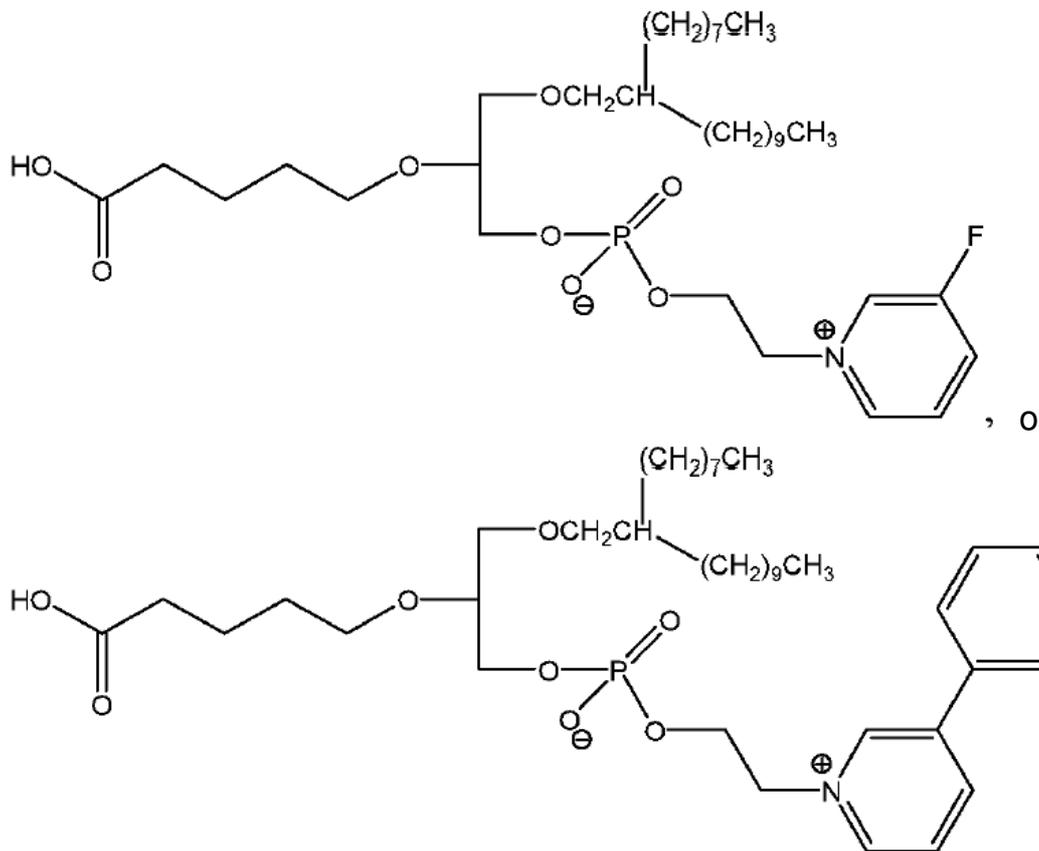




o su estereoisómero, una mezcla estereoisomérica o su sal.

5 En algunas realizaciones, la invención proporciona un compuesto seleccionado del grupo que consiste en el piridin-etil-éster del ácido (R)-1-hexadecil-2-(4'-carboxi)butil-sn-glicero-3-fosfórico (VB-701); piridin-etil-éster del ácido (R)-1-eicosanil-2-(4'-carboxi)butil-sn-glicero-3-fosfórico (VB-702); piridin-etil-éster del ácido (R)-1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboxi)butil-sn-glicero-3-fosfórico (VB-703); piridin-etil-éster del ácido (R)-1-hexadecil-2-(4'-carboximetil)butil-sn-glicero-3-fosfórico (VB-704); y piridin-etil-éster del ácido (R)-1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboximetil)butil-sn-glicero-3-fosfórico (VB-705). El prefijo "(R)-" se refiere a la configuración del carbono C-2 de la cadena principal de glicerol.

En algunas realizaciones, la invención proporciona un lípido oxidado que tiene una estructura de:



o su estereoisómero, una mezcla estereoisomérica o su sal.

En algunas realizaciones, la invención proporciona un compuesto seleccionado del grupo que consiste en el 3-fluoro-piridin-etil-éster del ácido (R)-1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboxi)butil-glicero-sn-3-fosfórico (VB-706) y 3-fenil-piridin-etil-éster del ácido (R)-1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboxi)butil-glicero-sn-3-fosfórico (VB-707). El prefijo "(R)-" se refiere a la configuración del carbono C-2 de la cadena principal de glicerol.

En otras realizaciones más, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden un lípido oxidado de la invención, métodos para fabricar un lípido oxidado de la invención y dichos compuestos o composiciones para su uso en prevenir o tratar la fibrosis o una enfermedad o trastorno inflamatorio.

#### Breve descripción de los dibujos

Algunas realizaciones de la invención se describen en este documento, solo a modo de ejemplo, con referencia a los dibujos adjuntos. Con referencia específica ahora a los dibujos en detalle, se enfatiza que los detalles mostrados son a modo de ejemplo y para propósitos de discusión ilustrativa de las realizaciones de la invención.

La FIG. 1A muestra las estructuras de los compuestos lipídicos oxidados VB-701, VB-702, VB-703, VB-704 y VB-705. La FIG. 1B muestra las estructuras de los compuestos lipídicos oxidados VB-706 y VB-707.

La FIG. 2 muestra que VB-701 inhibe la señalización inducida por lipopolisacáridos (LPS) (TLR4) en monocitos humanos (CD14+ primario).

La FIG. 3 muestra que VB-701 inhibe la señalización inducida por PGN (TLR2) en monocitos humanos (línea celular THP-1).

La FIG. 4 muestra que VB-701 inhibe la señalización inducida por MCP-1 en monocitos humanos (línea celular THP-1).

La FIG. 5 muestra que VB-701 inhibe la migración inducida por quimiocinas de monocitos humanos (CD14+ primario).

La FIG. 6 muestra que VB-702 inhibe la señalización inducida por LPS (TLR4) en monocitos humanos (CD14+ primario).

La FIG. 7 muestra que VB-702 inhibe la señalización inducida por RANTES en monocitos humanos (CD14+ primario).

La FIG. 8 muestra que VB-702 inhibe la migración inducida por quimiocinas de monocitos humanos (CD14+ primario).

Las FIG. 9A-9B muestran que VB-701 y VB-702 inhiben los niveles de IL-12p40 en monocitos humanos (CD14+ primario) que están estimulados con LPS (TLR4) (FIG. 9A) y estimulados con Pam3CSK4 (TLR2) (FIG. 9B).

Las FIG. 10A-10B muestran el efecto de VB-703 y VB-201 sobre la señalización inducida por LPS en monocitos humanos (CD14+ primario) y el ensayo de inhibición de unión a LPS. Los monocitos primarios humanos se pretrataron con VB-201 o VB-703 a las concentraciones indicadas, seguido de una activación con LPS. Las muestras se analizaron mediante transferencia Western para determinar la inhibición de la fosforilación (Figura 10A). La proteína de choque térmico HSP90 se usó para el control de carga. La FIG. 10B muestra resultados de muestras incubadas con VB-201 o VB-703 a las concentraciones indicadas durante 20 minutos antes de agregar biotina-LPS (100 ng/ml) durante 15 minutos adicionales. Los resultados son la intensidad de fluorescencia media (MFI) de los triplicados.

Las FIG. 11A-11B muestra el efecto de VB-703 sobre la fibrosis hepática. NASH fue inducida por inyección de ratones con 200 µg de estreptozotocina (STZ) dos días después del nacimiento y mediante una dieta alta en grasas (HFD) a partir de las 4 semanas de edad. Los ratones fueron tratados con vehículo (control negativo), VB-703 (4 mg/kg) o telmisartán (10 mg/kg; control positivo) a las seis semanas de edad durante tres semanas. También se usaron ratones normales (no inducidos por NASH) como control. Los ratones fueron sacrificados a las nueve semanas de edad. La tinción de muestras histológicas hepáticas con rojo Sirius se usó para determinar el grado de fibrosis. La FIG. 11A muestra el área de fibrosis media después del tratamiento (% de la sección del hígado analizada; Media ± S.E; Normal - n = 5, Vehículo - n = 8, Telmisartán - n = 6). La FIG. 11B muestra una tinción roja Sirius representativa de muestras de hígado después del tratamiento (aumento de 200X).

Las FIGS. 12A-12B muestran el efecto de VB-703 sobre la inflamación del hígado. Los ratones fueron tratados y evaluados como se explica en los ejemplos. La FIG. 12A muestra la puntuación media de inflamación del hígado después del tratamiento (media ± S.E; Normal - n = 5, Vehículo - n = 8, VB-703- n = 8, Telmisartán - n = 6). La FIG. 12B muestra una tinción representativa de H&E de muestras de hígado después del tratamiento (aumento de 200X).

La FIG. 13 muestra que VB-703 inhibe la señalización inducida por PGN (TLR2) en monocitos humanos (línea celular THP-1).

La FIG. 14 muestra que VB-703 inhibe la secreción de IL-6 en la señalización inducida por LPS (TLR4) en células dendríticas derivadas de monocitos.

- 5 La FIG. 15 muestra que VB-703 inhibe la secreción de IL-12p40 en la señalización inducida por LPS (TLR4) en células dendríticas derivadas de monocitos.

La FIG. 16 muestra que VB-704 no inhibe la unión de LPS-biotina a monocitos humanos (CD14+ primario).

La FIG. 17 muestra que VB-704 inhibe la migración celular inducida por quimiocinas de monocitos humanos (CD14+ primario).

- 10 La FIG. 18 muestra que VB-705 y VB-201 inhiben la señalización inducida por TLR4 en monocitos humanos (CD14+ primario).

La FIG. 19 muestra que VB-703 y VB-705 inhiben la unión de LPS en monocitos humanos (CD14+ primario).

La FIG. 20 muestra que VB-705 no inhibe la migración celular inducida por SDF1 en monocitos humanos (línea celular THP-1).

- 15 La FIG. 21A-21C presentan diagramas de barras que muestran los niveles de expresión de dos citocinas proinflamatorias, IL-12/23p40 (FIG. 21A) e IL-1 $\beta$  (FIG. 21C), y la quimiocina, MCP-1 (FIG. 21B), en hígados tomados de ratones inducidos por NASH. Estos datos muestran que la expresión de IL-12/23p40, MCP-1 e IL-1 $\beta$  se inhibió significativamente en hígados tomados de ratones inducidos por NASH que fueron tratados con VB-703.

- 20 La FIG. 22 presenta gráficos de barras que muestran el efecto de VB-703 sobre la albúmina/creatinina (mg/mg/día). Albúmina/Creatinina/Día en ratas sanas (n = 3) (barra blanca), ratas operadas simuladas (n = 3) (barra blanca con rayas), ratas nefrectomizadas tratadas con control de solvente (etanol al 0,5%/PBS) (barra negra) (n = 7), las ratas nefrectomizadas VB-703 4 mg/kg tratadas (n = 7) (barra gris claro) o las ratas nefrectomizadas telmisartán 10 mg/kg tratadas (n = 8) (barra gris oscuro) se evaluaron a las 8 semanas. Los datos estadísticos frente a las ratas nefrectomizadas tratadas con disolvente control (etanol 0,5%/PBS) se presentan de la siguiente manera: \*  
25 representa p = 0,002; y \*\* representa p  $\leq$ 0,001. Las abreviaturas son: Nx, nefrectomizado; Eth, etanol.

- FIG. 23 presenta gráficos de barras que muestran el efecto de VB-703 en la reducción del número de glomérulos dañados (%). Se evaluaron glomérulos dañados (%) en ratas sanas (n = 3) (barra blanca), ratas operadas simuladas (n = 3) (barra blanca con rayas), ratas nefrectomizadas tratadas con disolvente control (0,5% de etanol/PBS) (barra negra) (n = 7), ratas nefrectomizadas VB-703 4 mg/kg tratadas (n = 7) (barra gris claro) o ratas nefrectomizadas telmisartán 10 mg/kg tratadas (n = 8) (barra gris oscuro) en 8 semanas. Los datos estadísticos versus las ratas nefrectomizadas tratadas con disolvente control (0,5% de etanol/PBS) se presentan de la siguiente manera: \*  
30 representa p  $\leq$ 0,005; y \*\* representa p  $\leq$ 0,001. Las abreviaturas son: Nx, nefrectomizado; Eth, etanol.

- FIG. 24 presenta gráficos de barras que muestran el efecto de VB-703 en la reducción de la esclerosis glomerular (%>). Esclerosis glomerular (%>) en ratas sanas (n = 3) (barra blanca) y se evaluaron en 8 semanas ratas operadas simuladas (n = 3) (barra blanca con rayas), ratas nefrectomizadas tratadas con disolvente control (0,5%> etanol/PBS) (barra negra) (n = 7), ratas nefrectomizadas tratadas con 4 mg/kg de VB-703 (n = 7) (barra gris claro) o ratas nefrectomizadas tratadas con 10 mg/kg de telmisartán (n = 8) (barra gris oscuro). Los datos estadísticos frente a las ratas nefrectomizadas tratadas con disolvente control (0,5%) etanol/PBS) se presentan como sigue: \*  
35 representa p <0,005; y \*\* representa p <0,001. Las abreviaturas son: Nx, nefrectomizado; Eth, etanol.

- FIG. 25 presenta imágenes de tinción de PAS (x400) que muestran el efecto de VB-703 en la reducción de la esclerosis glomerular. La morfología renal se evaluó con un microscopio óptico en secciones teñidas con PAS de ratas sanas (Sanas x400), ratas operadas simuladas (Simuladas x400), ratas nefrectomizadas tratadas con disolvente control (0,5% etanol/PBS) (Nx PBS 0,5% Eth x400), ratas nefrectomizadas tratadas con 4 mg/kg de VB-703 (Nx VB-703 4 mg/kg x400) o ratas nefrectomizadas tratadas con 10 mg/kg de telmisartán (Nx Telmisartán 10 mg/kg x400) a las 8 semanas después de la primera cirugía. Las abreviaturas son: Nx, nefrectomizado; Eth, etanol, PAS, ácido periódico-Schiff.  
40  
45

- Las figs. 26A-26C presentan gráficos de barras que muestran el efecto de VB-703 en marcadores pro-fibróticos. La expresión relacionada con colágeno IV (figura 26A), fibronectina (figura 26B) y TGF- $\beta$  (figura 26C) en riñón se evaluó en ratas sanas (barra blanca), ratas operadas simuladas (barra blanca con rayas), ratas nefrectomizadas tratadas con disolvente control (0,5% etanol/PBS) (barra negra), ratas nefrectomizadas tratadas con 4 mg/kg de VB-703 (barra gris claro) o ratas nefrectomizadas tratadas con 10 mg/kg de telmisartán (barra gris oscuro) a las 8 semanas. Las abreviaturas son: Nx, nefrectomizado; Eth, etanol. Los valores p en las Figs. 26A-26C representan diferencias estadísticamente significativas de las ratas nefrectomizadas tratadas con PBS.  
50

Las figs. 27A-27B muestran la salida de un experimento que evalúa el efecto de VB-703 sobre la infiltración de células de monocitos/macrófagos en los glomérulos (Figura 27A) o en el intersticio (Figura 27B). Las células CD68 positivas en los glomérulos (células/glomérulos) y en el intersticio (células/mm<sup>2</sup>) se evaluaron en ratas sanas (n = 3) (barra blanca), ratas operadas simuladas (n = 3) (barra blanca con rayas), ratas nefrectomizadas tratadas con control de disolvente (etanol al 0,5%/PBS) (barra negra) (n = 7), ratas nefrectomizadas tratadas con 4 mg/kg de VB-703 (n = 7) (barra gris claro), o ratas nefrectomizadas tratadas con 10 mg/kg de telmisartán (n = 8) (barra gris oscuro) a las 8 semanas. Las abreviaturas son: Nx, nefrectomizado; Eth, etanol.

### Descripción detallada de la invención

Antes de explicar las realizaciones de la invención con detalle, debe entenderse que la invención no está limitada en su aplicación a los detalles establecidos en la siguiente descripción o ejemplificados por los Ejemplos; la invención queda definida por las reivindicaciones. La invención es capaz de otras realizaciones o de ser puesta en práctica o llevada a cabo de varias maneras. Además, debe entenderse que la fraseología y la terminología empleadas en el presente documento tienen fines descriptivos y no deben considerarse limitantes.

### Definiciones generales

Los términos "comprende", "que comprende", "incluye", "que incluye", "que tiene", y sus conjugados significan "incluido entre otros".

La palabra "opcionalmente" se usa en el presente documento para denotar "que se proporciona en algunas realizaciones y no se proporciona en otras realizaciones". Cualquier realización particular de la invención puede incluir una pluralidad de características "opcionales" a menos que tales características entren en conflicto.

Como se usa en este documento, la forma singular "una/o", "un" y "la/el" incluyen las referencias en plural, a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Por ejemplo, la expresión "un compuesto" o "al menos un compuesto" puede incluir una pluralidad de compuestos, incluyendo mezclas de los mismos.

Como se usa en el presente documento, el término "aproximadamente" modificando una cantidad relacionada con la invención se refiere a la variación en la cantidad numérica que puede darse, por ejemplo, a través de pruebas y manipulaciones de rutina; por error inadvertido en tales pruebas y manejo; a través de diferencias en la fabricación, fuentes o purezas de los ingredientes empleados en la invención; etc. Ya sea modificado o no por el término "aproximadamente", las reivindicaciones incluyen equivalentes de las cantidades citadas. En una realización, el término "aproximadamente" significa dentro del 10% del valor numérico informado.

La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz", como se usa en el presente documento, se refiere a esa cantidad de un agente terapéutico dado suficiente para dar como resultado la mejora de uno o más síntomas de un trastorno o afección, o prevenir la aparición o el avance de un trastorno o afección, o causar la regresión o la cura del trastorno o afección. En algunas realizaciones, la cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto descrito en este documento es de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 160 mg del compuesto al día.

Como se usa en todo este documento, el término "alquilo" se refiere a un hidrocarburo alifático saturado que incluye grupos de cadena lineal y de cadena ramificada. En algunas realizaciones, el grupo alquilo tiene de 1 a 20 átomos de carbono. Siempre que un intervalo numérico; por ejemplo, "1-20", se indica en el presente documento, implica que el grupo, en este caso el grupo alquilo, puede contener 1 átomo de carbono, 2 átomos de carbono, 3 átomos de carbono, etc., hasta 20 átomos de carbono inclusive. En algunas realizaciones, el alquilo es un alquilo de tamaño medio que tiene de 1 a 10 átomos de carbono. En algunas realizaciones, el alquilo es un alquilo inferior que tiene de 1 a 4 átomos de carbono. El grupo alquilo puede estar sustituido (por ejemplo, con 1 a 5 grupos sustituyentes) o no estar sustituido. En cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el alquilo puede estar sin sustituir. En cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el alquilo también puede estar sustituido con uno a cinco grupos sustituyentes, en el que el grupo sustituyente puede ser, por ejemplo, cicloalquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, heteroarilo, heteroalíclico, halo, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, tiohidroxilo, tioalcoxi, tioariloxi, sulfonilo, sulfonilo, ciano, nitro, azida, sulfonilo, sulfinilo, sulfonamida, fosfonilo, fosfinilo, oxo, carbonilo, tiocarbonilo, urea, tiourea, O-carbamilo, N-carbamilo, O-tiocarbamilo, C-amido, N-amido, C-carboxi, O-carboxi, sulfonamido y amino, como estos términos se definen en el presente documento.

Un grupo "cicloalquilo" se refiere a un grupo monocíclico o fusionado carbonado (es decir, anillos que comparten un par adyacente de átomos de carbono) en el que uno o más anillos no disponen de un sistema de electrones pi completamente conjugado. Ejemplos, sin limitación, de grupos cicloalquilo son ciclopropano, ciclobutano, ciclopentano, ciclohexano, ciclohexadieno, cicloheptano, cicloheptatrieno y adamantano. Un grupo cicloalquilo puede estar sustituido (por ejemplo, con 1 a 5 grupos sustituyentes) o no sustituido. En cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el cicloalquilo puede estar sin sustituir. En cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el cicloalquilo también puede estar sustituido con uno a cinco grupos sustituyentes, en el que el grupo sustituyente puede ser, por ejemplo, alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, heteroarilo, heteroalíclico, halo, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, tiohidroxilo, tioalcoxi, tioariloxi, sulfonilo, sulfonilo, ciano, nitro, azida, sulfonilo, sulfinilo, sulfonamida, fosfonilo, fosfinilo, oxo, carbonilo, tiocarbonilo, urea, tiourea, O-carbamilo, N-

carbamilo, O-tiocarbamilo, C-amido, N-amido, C-carboxi, O-carboxi, sulfonamido y amino, como estos términos se definen en el presente documento.

5 El grupo "alquenilo" se refiere a un grupo hidrocarbonado alifático que contiene al menos dos átomos de carbono y al menos un doble enlace carbono-carbono, que puede ser lineal o ramificado. Un grupo alquenilo puede estar sustituido o no sustituido.

El grupo "alquinilo" se refiere a un grupo hidrocarbonado alifático que contiene al menos dos átomos de carbono y al menos un triple enlace carbono-carbono. Un grupo alquinilo puede estar sustituido o no sustituido.

10 Un grupo "arilo" se refiere a grupos monocíclicos o policíclicos carbonados de anillos condensados (es decir, anillos que comparten pares adyacentes de átomos de carbono) que tienen un sistema de electrones pi completamente conjugado. En cualquiera de las realizaciones descritas en este documento, los grupos arilo pueden tener de 6 a 14 carbonos, por ejemplo, de 6 a 10 carbonos. Ejemplos, sin limitación, de grupos arilo son fenilo, naftalenilo y antraceno. El grupo arilo puede estar sustituido (por ejemplo, con 1 a 5 grupos sustituyentes) o no sustituido. Cuando está sustituido, el grupo sustituyente puede ser, por ejemplo, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, heteroalíclico, halo, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, tiohidroxilo, tioalcoxi, tioariloxi, sulfinilo, sulfonilo, ciano, nitro, 15 azida, sulfonilo, sulfinilo, sulfonamida, fosfonilo, fosfinilo, oxo, carbonilo, tiocarbonilo, urea, tiourea, O-carbamilo, N-carbamilo, O-tiocarbamilo, N-tiocarbamilo, C-amido, N-amido, C-carboxi, O-carboxi, sulfonamido y amino, como estos términos se definen en el presente documento. En cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el grupo arilo puede ser un grupo fenilo, opcionalmente sustituido, por ejemplo, con uno a cinco sustituyentes tales como halógenos (por ejemplo, flúor o cloro), grupos alquilo (por ejemplo, un alquilo C<sub>1-4</sub>), o alquilos sustituidos con halógeno (por ejemplo, trifluorometilo).

20 El grupo "heteroarilo" se refiere a un grupo monocíclico o anillo condensado (es decir, anillos que comparten un par adyacente de átomos) que tiene en el anillo o anillos uno o más átomos, tales como, por ejemplo, nitrógeno, oxígeno y azufre y, además, tienen un sistema de pi electrones completamente conjugado. En cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, los grupos heteroarilo pueden tener de 5 a 14 átomos en el anillo, por ejemplo, 25 de 5 a 10 átomos en el anillo (por ejemplo, 5 o 6 átomos en el anillo). Ejemplos, sin limitación, de grupos heteroarilo incluyen pirrol, furano, tiofeno, imidazol, oxazol, tiazol, pirazol, piridina, pirimidina, quinolina, isoquinolina y purina. El grupo heteroarilo puede estar sustituido (por ejemplo, con 1 a 5 grupos sustituyentes) o no sustituido. Cuando está sustituido, el grupo sustituyente puede ser, por ejemplo, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, heteroalíclico, halo, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, tiohidroxilo, tioalcoxi, tioariloxi, sulfinilo, sulfonilo, ciano, nitro, azida, 30 sulfonilo, sulfinilo, sulfonamida, fosfonilo, fosfinilo, oxo, carbonilo, tiocarbonilo, urea, tiourea, O-carbamilo, N-carbamilo, O-tiocarbamilo, N-tiocarbamilo, C-amido, N-amido, C-carboxi, O-carboxi, sulfonamido y amino, como estos términos se definen en el presente documento.

35 El grupo "heteroalíclico" se refiere a un grupo de anillo monocíclico o condensado que tiene en el anillo o anillos uno o más heteroátomos tales como nitrógeno, oxígeno y azufre. Los anillos también pueden tener uno o más dobles enlaces. Sin embargo, los anillos no tienen un sistema pi-electrón completamente conjugado. En cualquiera de las realizaciones descritas en este documento, los grupos heteroalíclicos pueden tener de 3 a 10 átomos en el anillo, por ejemplo, de 5 a 10 átomos en el anillo (por ejemplo, 5 o 6 átomos en el anillo). El heteroalíclico puede estar sustituido (por ejemplo, con 1 a 5 grupos sustituyentes) o no sustituido. Cuando está sustituido, el grupo 40 sustituido puede ser, por ejemplo, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, heteroalíclico, halo, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, tiohidroxilo, tioalcoxi, tioariloxi, sulfinilo, sulfonilo, ciano, nitro, azida, sulfonilo, sulfinilo, sulfonamida, fosfonilo, fosfinilo, oxo, carbonilo, tiocarbonilo, urea, tiourea, O-carbamilo, N-carbamilo, O-tiocarbamilo, N-tiocarbamilo, C-amido, N-amido, C-carboxi, O-carboxi, sulfonamido y amino, como estos términos se definen en el presente documento. Ejemplos representativos son piperidina, piperazina, tetrahidrofurano, tetrahidropirano, morfolina y similares.

45 El grupo "alcoxi" se refiere tanto a un grupo -O-alquilo como a un grupo -O-cicloalquilo, en el que el alquilo o cicloalquilo puede ser cualquiera de los definidos en este documento.

El grupo "ariloxi" se refiere tanto a un grupo -O-arilo como a un grupo -O-heteroarilo, en el que el arilo o el heteroarilo pueden ser cualquiera de los definidos en este documento.

El grupo "tiohidroxilo" se refiere a un grupo -SH.

50 El grupo "tioalcoxi" se refiere tanto a un grupo -S-alquilo como a un grupo -S-cicloalquilo, en el que el alquilo o cicloalquilo puede ser cualquiera de los definidos en este documento.

El grupo "tioariloxi" se refiere tanto a un grupo -S-arilo como a un grupo -S-heteroarilo, en el que el arilo o el heteroarilo puede ser cualquiera de los definidos en este documento.

55 El grupo "carbonilo" se refiere a un grupo -C(=O)-R, en el que R es hidrógeno, alquilo, alquenilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo (unido a través de un anillo de carbono) o heteroalíclico (unido a través de un anillo de carbono) como se define en este documento.

- El grupo "aldehído" se refiere a un grupo carbonilo, en el que R es hidrógeno.
- El grupo "tiocarbonilo" se refiere a un grupo  $-C(=S)-R$ , en el que R es como se define en este documento.
- El grupo "C-carboxi" se refiere a un grupo  $-C(=O)-O-R$ , en el que R es como se define en este documento.
- El grupo "O-carboxi" se refiere a un grupo  $RC(=O)-O-$ , en el que R es como se define en este documento.
- 5 El grupo "oxo" se refiere a un grupo  $=O$ .
- El grupo "ácido carboxílico" se refiere a un grupo C-carboxilo en el que R es hidrógeno.
- El grupo "halo" o "halógeno" se refiere a flúor, cloro, bromo o yodo.
- El grupo "trihalometilo" se refiere a un grupo  $-CX_3$  en el que X es un grupo halo como se define en el presente documento, por ejemplo, un grupo  $CF_3$ .
- 10 El grupo "sulfinilo" se refiere a un grupo  $-S(=O)-R$ , en el que R es como se define en este documento.
- El grupo "sulfonilo" se refiere a un grupo  $-S(=O)_2-R$ , en el que R es como se define en este documento.
- El grupo "S-sulfonamido" se refiere a un grupo  $-S(=O)_2-NR_2$ , con cada uno de R como se define en este documento.
- El grupo "N-sulfonamido" se refiere a un grupo  $RS(=O)_2-R$ , en el que cada uno de R es como se define en este documento.
- 15 El grupo "O-carbamilo" se refiere a un grupo  $-OC(=O)-NR_2$ , en el que cada uno de R es como se define en este documento.
- El grupo "N-carbamilo" se refiere a un grupo  $ROC(=O)-NR-$ , en el que cada uno de R es como se define en este documento.
- 20 El grupo "O-tiocarbamilo" se refiere a un grupo  $-OC(=S)-NR_2$ , en el que cada uno de R es como se define en este documento.
- El grupo "N-tiocarbamilo" se refiere a un grupo  $ROC(=S)NR-$ , en el que cada uno de R es como se define en este documento.
- El grupo "amino" se refiere a un grupo  $-NR_2$  en el que cada uno de R es como se define en este documento.
- 25 El grupo "C-amido" se refiere a un grupo  $-C(=O)-NR_2$ , en el que cada uno de R es como se define en este documento.
- El grupo "N-amido" se refiere a un grupo  $RC(=O)-NR-$ , en el que cada uno de R es como se define en este documento.
- El grupo "urea" se refiere a un grupo  $-NRC(=O)-NR_2$ , en el que cada uno de R es como se define en este documento.
- 30 El grupo "guanidino" se refiere a un grupo  $-RNC(=N)-NR_2$ , en el que cada uno de R es como se define en este documento.
- El grupo "guanilo" se refiere a un grupo  $R_2NC(=N)$ , en el que cada uno de R es como se define en este documento.
- El término "fosfonilo" o "fosfonato" describe un grupo  $-P(=O)(OR)_2$ , en el que R es como se define en este documento.
- 35 El término "fosfato" describe un grupo  $-O-P(=O)(OR)_2$ , en el que cada uno de R es como se define en este documento.
- Un "ácido fosfórico" es un grupo fosfato en el que cada uno de R es hidrógeno.
- El término "fosfinilo" describe un grupo  $-PR_2$ , en el que cada uno de R es como se define en el presente documento.
- 40 El término "tiourea" describe un grupo  $-R-C(=S)-NR-$ , en el que cada uno de R es como se define en este documento.
- El término "sacárido" se refiere a una o más unidades de azúcar, ya sea una unidad de azúcar de cadena abierta o una unidad de azúcar cíclica (por ejemplo, unidades basadas en piranosa o furanosa), y abarca cualquier monosacárido, disacárido y oligosacárido, a menos que se indique lo contrario.

El término "estereoisómero" incluye isómeros geométricos, tales como los isómeros E o Z, enantiómeros, diastereómeros y similares.

La expresión "mezcla estereoisomérica" incluye cualquier mezcla en cualquier proporción de estereoisómeros definidos en este documento. En algunas realizaciones, la mezcla estereoisomérica incluye una mezcla racémica. En algunas realizaciones, la mezcla estereoisomérica incluye una mezcla enriquecida enantiómericamente. En algunas realizaciones, la mezcla estereoisomérica incluye una mezcla de diastereómeros en cualquier proporción.

La expresión "exceso enantiomérico" o "ee" se refiere a una medida de cuánto de un enantiómero está presente en comparación con el otro. Para una mezcla de enantiómeros R y S, el porcentaje de exceso enantiomérico se define como  $|R - S| * 100$ , donde R y S son las respectivas fracciones molares o en peso de enantiómeros en una mezcla tal que  $R+S = 1$ . Con el conocimiento de la rotación óptica de una sustancia quiral, el porcentaje de exceso enantiomérico se define como  $([\alpha]_{\text{obs}}/[\alpha]_{\text{max}})*100$ , donde  $[\alpha]_{\text{obs}}$  es la rotación óptica de la mezcla de enantiómeros y  $[\alpha]_{\text{max}}$  es la rotación óptica del enantiómero puro.

El término "sal" incluye tanto la sal interna como la sal externa. En algunas realizaciones, la sal es una sal interna, es decir, una estructura de ion híbrido. En algunas realizaciones, la sal es una sal externa. En algunas realizaciones, la sal externa es una sal farmacéuticamente aceptable que tiene un contraión adecuado. Los contraiones adecuados para uso farmacéutico son conocidos en la técnica.

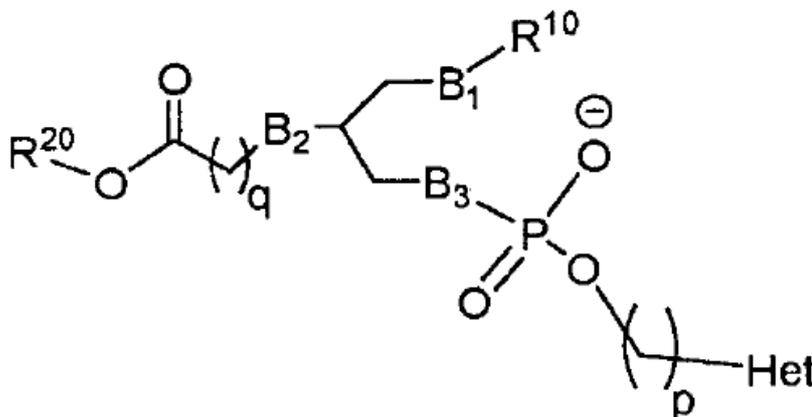
A lo largo de esta solicitud, se pueden presentar varias realizaciones de esta invención en un rango de formato. Debe entenderse que la descripción en el rango de formato es meramente por conveniencia y brevedad y no debe interpretarse como una limitación inflexible en el alcance de la invención. En consecuencia, se debe considerar que la descripción del rango ha descrito específicamente todos los subrangos posibles, así como los valores numéricos individuales dentro de ese rango. Por ejemplo, se debe considerar que la descripción de un intervalo, como de 1 a 6, comprende específicamente subintervalos tales como de 1 a 3, de 1 a 4, de 1 a 5, de 2 a 4, de 2 a 6, de 3 a 6, etc., así como los números individuales dentro de ese intervalo, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5 y 6. Esto se aplica independientemente de la amplitud del intervalo.

Se aprecia que ciertas características de la invención, que, por claridad, se describen en el contexto de realizaciones separadas, también se puedan proporcionar en combinación en una sola realización. A la inversa, diversas características de la invención, que, por brevedad, se describen en el contexto de una sola realización, también se pueden proporcionar por separado o en cualquier subcombinación adecuada o como sea adecuado en cualquier otra realización descrita de la invención. Ciertas características descritas en el contexto de diversas realizaciones no deben considerarse características esenciales de esas realizaciones, a menos que la realización no funcione sin esos elementos.

### Lípidos oxidados

La presente invención se refiere, en parte, a compuestos lipídicos oxidados como se define en las reivindicaciones.

En algunos aspectos de la descripción, el lípido oxidado de la invención es un compuesto según la Fórmula 1:



Fórmula 1

en el que cada uno de B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> y B<sub>3</sub> se selecciona independientemente del grupo que consiste en oxígeno, azufre, nitrógeno, fósforo y silicio, en el que cada uno de dichos nitrógeno, fósforo y silicio está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en alquilo, halo, cicloalquilo, arilo, hidroxilo, tiohidroxilo, alcoxi, aliloxi, tioariloxi, tioalcoxi y oxo;

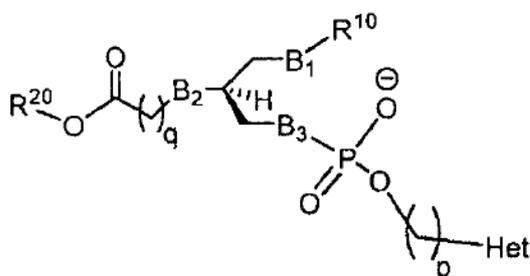
donde  $R^{10}$  es un alquilo  $C_{2-28}$  opcionalmente sustituido con uno a cinco sustituyentes  $R^{11}$ , en el que cada  $R^{11}$  se selecciona independientemente del grupo que consiste en alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, halo, trihalometilo, hidroxilo, alcoxi, ailoxi, tiohidroxilo, tioalcoxi, tioarilo, fosfonato, fosfato, fosfinilo, sulfonilo, sulfonilo, sulfonamida, amida, carbonilo, tiocarbonilo, C-carboxilo, O-carboxilo, C-carbamato, N-carbamato, C-tiocarboxilo, S-tiocarboxilo y amino;

donde p es un número entero seleccionado de 1 a 10;

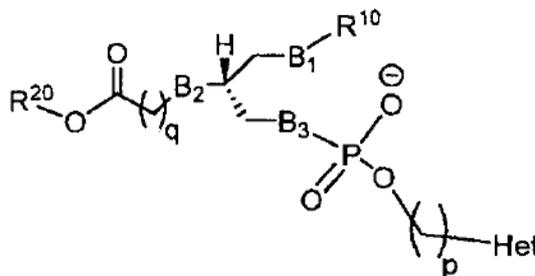
en el que q es un número entero seleccionado de 1-26;

donde  $R^{20}$  se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, arilo y heteroarilo; y

donde Het es un anillo heterocíclico o un heteroarilo. En otras realizaciones, el lípido oxidado es un compuesto según la Fórmula 1, o su estereoisómero, una mezcla estereoisomérica o su sal. En algunos aspectos, el lípido oxidado que tiene una estructura según la Fórmula 1 tiene una estructura zwitteriónica. En algunos aspectos, el lípido oxidado es una sal externa (por ejemplo, una sal farmacéuticamente aceptable) del compuesto que tiene una estructura según la Fórmula 1. En algunos aspectos, el compuesto según la Fórmula 1 tiene una estructura según la Fórmula la o Fórmula lb:



Fórmula 1a



Fórmula 1b,

o su sal.

En algunos aspectos de la descripción, el compuesto tiene una estructura según la Fórmula 1a, donde el compuesto tiene una pureza enantiomérica de aproximadamente 80% ee o más, por ejemplo, aproximadamente 80% ee, aproximadamente 85% ee, aproximadamente 90% ee, aproximadamente 91% ee, aproximadamente 92% ee, aproximadamente 93% ee, aproximadamente 94% ee, aproximadamente 95% ee, aproximadamente 96% ee, aproximadamente 97% ee, aproximadamente 98% ee, aproximadamente 99% ee, aproximadamente 99,5% ee o más. En algunos aspectos, el compuesto tiene una estructura según la Fórmula 1b, donde el compuesto tiene una pureza enantiomérica de aproximadamente 80% ee o más, por ejemplo, aproximadamente 80% ee, aproximadamente 85% ee, aproximadamente 90% ee, aproximadamente 91% ee, aproximadamente 92% ee, aproximadamente 93% ee, aproximadamente 94% ee, aproximadamente 95% ee, aproximadamente 96% ee, aproximadamente 97% ee, aproximadamente 98% ee, aproximadamente 99% ee, aproximadamente 99,5% ee o más. En otros aspectos, el compuesto tiene una pureza enantiomérica de aproximadamente 80% ee a aproximadamente 100% ee, aproximadamente 85% ee a aproximadamente 100% ee, aproximadamente 90% ee a aproximadamente 100% ee, aproximadamente 95% ee a aproximadamente 100%, aproximadamente 80% ee a aproximadamente 99,5% ee, aproximadamente 85% ee a aproximadamente 99,5% ee, aproximadamente 90% ee a aproximadamente 99,5% ee, aproximadamente 95% ee a aproximadamente 99,5%, o cualquier intervalo de los mismos.

Los  $B_1$ ,  $B_2$  y  $B_3$  adecuados para la Fórmula 1 se definen en este documento. En algunas realizaciones,  $B_1$  es O. En algunas realizaciones,  $B_2$  es O. En algunas realizaciones,  $B_3$  es O. En algunas realizaciones, al menos dos de  $B_1$ ,  $B_2$  y  $B_3$  son O, por ejemplo,  $B_1$ ,  $B_2$  son O y  $B_3$  es O o S;  $B_1$ ,  $B_3$  son O y  $B_2$  es O o S; o  $B_2$ ,  $B_3$  son O y  $B_1$  es O o S. En algunas realizaciones,  $B_1$  es S. En algunas realizaciones,  $B_2$  es S. En algunas realizaciones,  $B_3$  es S. En algunas realizaciones, al menos dos de  $B_1$ ,  $B_2$  y  $B_3$  son S, por ejemplo,  $B_1$ ,  $B_2$  son S y  $B_3$  es O o S;  $B_1$ ,  $B_3$  son S y  $B_2$  es O o S; o  $B_2$ ,  $B_3$  son S y  $B_1$  es O o S. En algunas realizaciones, todos  $B_1$ ,  $B_2$  y  $B_3$  son O. En algunas realizaciones, todos  $B_1$ ,  $B_2$  y  $B_3$  son S.

Los  $R^{10}$  adecuados para la Fórmula 1 se definen en el presente documento. En algunas realizaciones,  $R^{10}$  es un alquilo  $C_{2-28}$ . En algunas realizaciones,  $R^{10}$  es un alquilo  $C_{2-28}$  de cadena lineal, por ejemplo, una cadena alquilo que tiene 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27 o 28 carbonos, sustituidos o no sustituidos. En algunas realizaciones,  $R^{10}$  es un alquilo  $C_{2-28}$  de cadena lineal, por ejemplo, una cadena alquilo que tiene 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27 o 28 carbonos, sustituidos con uno a cinco sustituyentes  $R^{11}$ , en el que cada  $R^{11}$  es independientemente como se define en el presente documento, por ejemplo, un halógeno (p. ej., F) o un alquilo (p. ej., un alquilo  $C_{1-10}$ ). En algunas

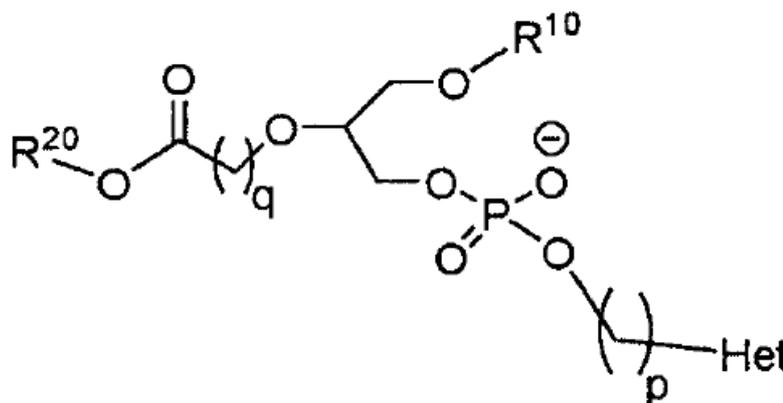
realizaciones,  $R^{10}$  se selecciona del grupo que consiste en hexadecilo, dodecilo, octadecilo, octilo, eicosanilo, cis-9-hexadecenilo, (2'-octil)-dodecilo y (15'-carboxi)pentadecilo. En algunas realizaciones,  $R^{10}$  es hexadecilo. En algunas realizaciones,  $R^{10}$  es (2'-octil)-dodecilo. En algunas realizaciones,  $R^{10}$  es eicosanilo.

5 Los  $R^{20}$  adecuados para la Fórmula 1 se definen en el presente documento. En algunas realizaciones,  $R^{20}$  es un hidrógeno o un alquilo. En algunas realizaciones,  $R^{20}$  es hidrógeno. En algunas realizaciones,  $R^{20}$  es un alquilo, por ejemplo, un alquilo  $C_{1-4}$  (por ejemplo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo o terc-butilo). En algunas realizaciones,  $R^{20}$  es metilo.

10 Los valores adecuados para p y q en la Fórmula 1 se definen en el presente documento. En algunas realizaciones, q es un número entero de 1-10, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10. En algunas realizaciones, q es 4. En algunas realizaciones, p es un número entero de 1-7, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7. En algunas realizaciones, p es 2.

15 Los Het adecuados para la Fórmula 1 se definen en el presente documento. En algunas realizaciones, Het es un heteroarilo. En algunas realizaciones, Het es un heteroarilo monocíclico. En algunas realizaciones, Het es un heteroarilo que contiene nitrógeno (por ejemplo, heteroarilo monocíclico). En algunas realizaciones, Het es un heteroarilo monocíclico que contiene 1, 2, 3 o 4 átomos de nitrógeno. En algunas realizaciones, Het es un heteroarilo monocíclico de anillo de 6 miembros, por ejemplo, piridina, pirimidina, piridazina, pirazina, triazina, etc. En algunas realizaciones, Het es un heteroarilo monocíclico de anillo de 5 miembros, por ejemplo, imidazol, tiazol, isotiazol, oxazol, isoxazol, oxidiazol, pirazol, triazol, etc. En algunas realizaciones, Het es un heteroarilo bicíclico que contiene átomos de nitrógeno, por ejemplo, 1-3 átomos de nitrógeno, por ejemplo, quinolina, isoquinolina, quinazolina, tienopiridina, tienopirimidina, pirrolopiridina, imidazopiridina, etc. En cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, Het puede ser un heteroarilo que contiene nitrógeno, en el que un átomo de nitrógeno del heteroarilo está conectado directamente a la cadena de alquileo, es decir,  $-(CH_2)_p-$  en la Fórmula 1 para formar un catión. En algunas realizaciones, Het es piridina, donde el átomo de nitrógeno de la piridina está directamente conectado a la cadena de alquileo, es decir,  $-(CH_2)_p-$  en la Fórmula 1 forma una sal de piridinio (por ejemplo, una sal interna o una sal externa como se describe en este documento). En algunas realizaciones, Het es una piridina no sustituida, en la que el átomo de nitrógeno de la piridina está directamente conectado a la cadena de alquileo, es decir,  $-(CH_2)_p-$  en la Fórmula 1. En algunas realizaciones, Het es una piridina sustituida, en la que el átomo de nitrógeno de la piridina está directamente conectado a la cadena de alquileo, es decir,  $-(CH_2)_p-$  en la Fórmula 1, en la que la piridina está sustituida por uno a cinco (por ejemplo, 1, 2, 3, 4 o 5) sustituyentes  $R^{12}$ , en el que cada  $R^{12}$  se selecciona independientemente del grupo que consiste en alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, halo, trihalometilo, hidroxilo, alcóxido, ariloxi, tiohidroxilo, tioalcóxido, tioariloxi, fosfonato, fosfato, sulfonato, sulfonilo, sulfonamida, amida, carbonilo, tiocarbonilo, C-carboxi, O-carboxi, C-carbamato, N-carbamato, C-tiocarboxi, S-tiocarboxi y amino como se define en este documento. En algunas realizaciones, cada  $R^{12}$  es independientemente, por ejemplo, un halógeno (por ejemplo, F, Cl), un arilo  $C_{6-10}$  (por ejemplo, fenilo), un heteroarilo o un alquilo (por ejemplo, un alquilo  $C_{1-10}$ , por ejemplo, un alquilo  $C_{1-4}$  (por ejemplo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, iso-butilo, terc-butilo). En algunas realizaciones, Het es una piridina sustituida y la piridina está sustituida por un sustituyente  $R^{12}$  en la posición 2, 3 o 4 de la piridina, en la que  $R^{12}$  es como se define en este documento, por ejemplo, un halógeno (p. ej., F, Cl), un fenilo o un metilo.

En algunos aspectos de la descripción, el lípido oxidado es un compuesto que tiene una estructura según la Fórmula 2:

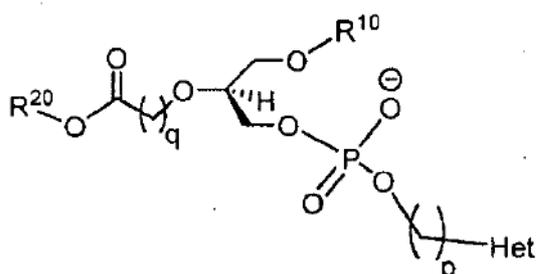


40

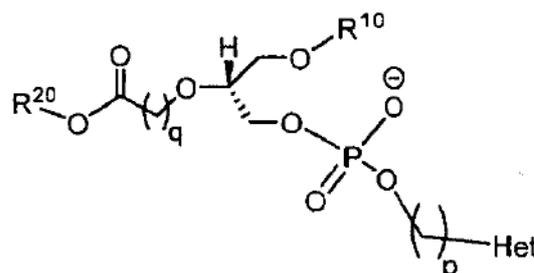
Formula 2

o su estereoisómero, una mezcla estereoisomérica o su sal. Los  $R^{10}$ ,  $R^{20}$ , p, q y Het adecuados son los definidos en la presente memoria para la Fórmula 1. En algunos aspectos, el lípido oxidado que tiene una estructura según la Fórmula 2 tiene una estructura zwitteriónica. En algunos aspectos, el lípido oxidado es una sal externa (por ejemplo, una sal farmacéuticamente aceptable) del compuesto que tiene una estructura según la Fórmula 2. En algunos aspectos, el compuesto según la Fórmula 2 tiene una estructura según la Fórmula 2a o la Fórmula 2b:

45



Fórmula 2a

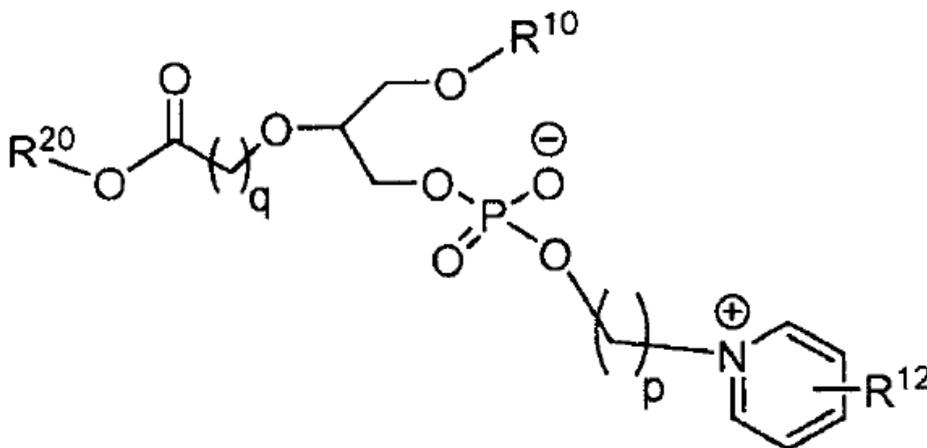


Fórmula 2b, o su sal.

En algunos aspectos de la descripción, el compuesto es un isómero S que tiene una estructura según la Fórmula 2a, donde el compuesto tiene una pureza enantiomérica de aproximadamente 80% ee o más, por ejemplo, aproximadamente 80% ee, aproximadamente 85% ee, aproximadamente 90% ee, aproximadamente 91% ee, aproximadamente 92% ee, aproximadamente 93% ee, aproximadamente 94% ee, aproximadamente 95% ee, aproximadamente 96% ee, aproximadamente 97% ee, aproximadamente 98% ee, aproximadamente 99% ee, aproximadamente 99,5% ee o más. En algunos aspectos, el compuesto es un isómero R que tiene una estructura según la Fórmula 2b, donde el compuesto tiene una pureza enantiomérica de aproximadamente 80% ee o más, por ejemplo, aproximadamente 80% ee, aproximadamente 85% ee, aproximadamente 90% ee, aproximadamente 91% ee, aproximadamente 92% ee, aproximadamente 93% ee, aproximadamente 94% ee, aproximadamente 95% ee, aproximadamente 96% ee, aproximadamente 97% ee, aproximadamente 98% ee, aproximadamente 99% ee, aproximadamente 99,5% ee o más. En otros aspectos, el compuesto tiene una pureza enantiomérica de aproximadamente 80% ee a aproximadamente 100% ee, aproximadamente 85% ee a aproximadamente 100% ee, aproximadamente 90% ee a aproximadamente 100% ee, aproximadamente 95% ee a aproximadamente 100%, aproximadamente 80% ee a aproximadamente 99,5% ee, aproximadamente 85% ee a aproximadamente 99,5% ee, aproximadamente 90% ee a aproximadamente 99,5% ee, aproximadamente 95% ee a aproximadamente 99,5%, o cualquier intervalo de los mismos.

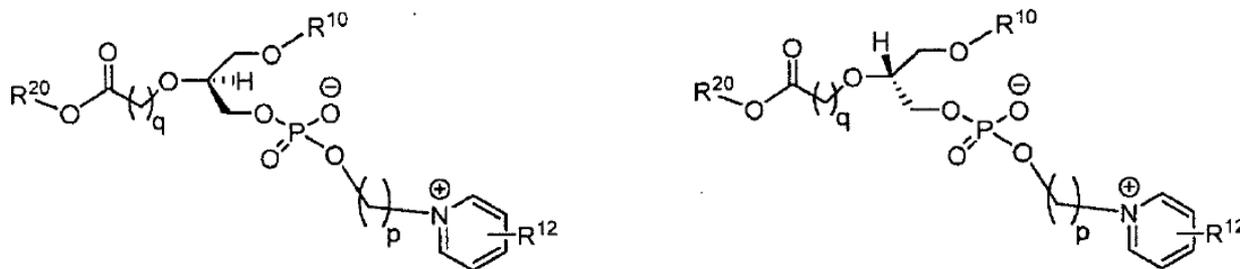
En algunas realizaciones según la Fórmula 2,  $R^{10}$  se selecciona del grupo que consiste en hexadecilo, dodecilo, octadecilo, octilo, eicosanilo, cis-9-hexadecenilo, (2'-octil)-dodecilo y (15'-carboxi)pentadecilo;  $R^{20}$  es hidrógeno o un alquilo, por ejemplo, un alquilo  $C_{1-4}$  (por ejemplo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo o terc-butilo); q es un número entero de 1-10, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10; p es un número entero de 1-7, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7; y Het es una piridina no sustituida, donde el átomo de nitrógeno de la piridina está directamente conectado a la cadena de alquileo, es decir,  $-(CH_2)_p-$  en la Fórmula 2, o Het es una piridina sustituida, donde el átomo de nitrógeno de la piridina está directamente conectado a la cadena de alquileo, es decir,  $-(CH_2)_p-$  en la Fórmula 2, donde la piridina está sustituida con uno a cinco (por ejemplo, 1, 2, 3, 4 o 5) sustituyentes  $R^{12}$ , en el que cada  $R^{12}$  es independientemente como se define en este documento, por ejemplo, un halógeno (por ejemplo, F, Cl), un arilo  $C_{6-10}$  (por ejemplo, fenilo), un heteroarilo o un alquilo (por ejemplo, un alquilo  $C_{1-10}$ , por ejemplo, un alquilo  $C_{1-4}$  (por ejemplo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, iso-butilo, terc-butilo). En algunas realizaciones, Het es una piridina sustituida y la piridina está sustituida por un sustituyente  $R^{12}$  en la posición 2, 3 o 4 de la piridina, en la que  $R^{12}$  es como se define en este documento, por ejemplo, un halógeno (p. ej., F, Cl), un fenilo o un metilo.

En algunos aspectos de la descripción, el lípido oxidado es un compuesto que tiene una estructura según la Fórmula 3:



Fórmula 3

o su estereoisómero, una mezcla estereoisomérica o su sal, donde  $R^{10}$ ,  $R^{12}$ ,  $R^{20}$ ,  $p$  y  $q$  son como se definen en el presente documento para la Fórmula 1. En algunos aspectos, el lípido oxidado es una estructura zwitteriónica según la Fórmula 3. En algunos aspectos, el lípido oxidado es una sal externa (por ejemplo, una sal farmacéuticamente aceptable) del compuesto que tiene una estructura según la Fórmula 3. En algunos aspectos, el lípido oxidado según la Fórmula 3 tiene una estructura según la Fórmula 3a o la Fórmula 3b:

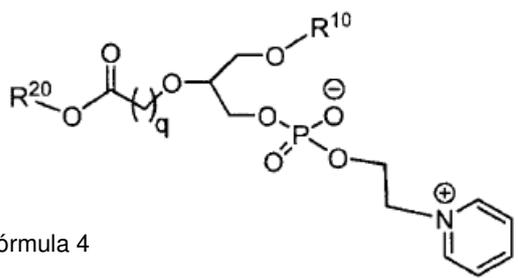


o su sal.

En algunos aspectos de la descripción, el compuesto es un isómero S que tiene una estructura según la Fórmula 3a, donde el compuesto tiene una pureza enantiomérica de aproximadamente 80% ee o más, por ejemplo, aproximadamente 80% ee, aproximadamente 85% ee, aproximadamente 90% ee, aproximadamente 91% ee, aproximadamente 92% ee, aproximadamente 93% ee, aproximadamente 94% ee, aproximadamente 95% ee, aproximadamente 96% ee, aproximadamente 97% ee, aproximadamente 98% ee, aproximadamente 99% ee, aproximadamente 99,5% ee o más. En algunos aspectos, el compuesto es un isómero R que tiene una estructura según la Fórmula 3b, donde el compuesto tiene una pureza enantiomérica de aproximadamente 80% ee o más, por ejemplo, aproximadamente 80% ee, aproximadamente 85% ee, aproximadamente 90% ee, aproximadamente 91% ee, aproximadamente 92% ee, aproximadamente 93% ee, aproximadamente 94% ee, aproximadamente 95% ee, aproximadamente 96% ee, aproximadamente 97% ee, aproximadamente 98% ee, aproximadamente 99% ee, aproximadamente 99,5% ee o más. En otros aspectos, el compuesto tiene una pureza enantiomérica de aproximadamente 80% ee a aproximadamente 100% ee, aproximadamente 85% ee a aproximadamente 100% ee, aproximadamente 90% ee a aproximadamente 100% ee, aproximadamente 95% ee a aproximadamente 100%, aproximadamente 80% ee a aproximadamente 99,5% ee, aproximadamente 85% ee a aproximadamente 99,5% ee, aproximadamente 90% ee a aproximadamente 99,5% ee, aproximadamente 95% ee a aproximadamente 99,5%, o cualquier intervalo de los mismos.

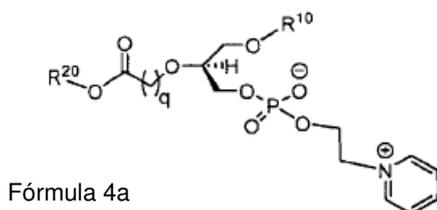
En algunas realizaciones según la Fórmula 3,  $R^{10}$  se selecciona del grupo que consiste en hexadecilo, eicosanilo y (2'-octil)-dodecilo;  $R^{20}$  es hidrógeno o un alquilo  $C_{1-4}$  (por ejemplo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo o terc-butilo);  $q$  es un número entero de 2-6, por ejemplo, 2, 3, 4, 5 o 6;  $p$  es un número entero de 2-5, por ejemplo, 2, 3, 4 o 5; y la piridina está sustituida por 0 a 3 (por ejemplo, 0, 1, 2 o 3) sustituyentes  $R^{12}$ , en el que cada  $R^{12}$  es independientemente como se define en este documento, por ejemplo, un halógeno (por ejemplo, F, Cl), un arilo  $C_{6-10}$  (por ejemplo, fenilo), un heteroarilo o un alquilo  $C_{1-4}$  (por ejemplo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, terc-butilo). En algunas realizaciones,  $R^{10}$  se selecciona del grupo que consiste en hexadecilo, eicosanilo y (2'-octil)-dodecilo;  $R^{20}$  es hidrógeno o metilo;  $q$  es 2, 3, 4, 5 o 6;  $p$  es 2, 3, 4 o 5; y la piridina está sustituida por 0 a 3 (por ejemplo, 0, 1, 2 o 3) sustituyentes  $R^{12}$ , en el que cada  $R^{12}$  es independientemente un halógeno (por ejemplo, F, Cl), un arilo  $C_{6-10}$  (por ejemplo, fenilo), un heteroarilo o un alquilo  $C_{1-4}$  (por ejemplo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, iso-butilo, terc-butilo). En algunas realizaciones,  $R^{10}$  se selecciona del grupo que consiste en hexadecilo, eicosanilo y (2'-octil)-dodecilo;  $R^{20}$  es hidrógeno o metilo;  $q$  es 4;  $p$  es 2; y la piridina está sustituida por 0, 1 o 2 sustituyentes  $R^{12}$ , en el que cada  $R^{12}$  es independientemente un halógeno (por ejemplo, F, Cl), un fenilo o un metilo. En algunas realizaciones según las Fórmulas 3, 3a y 3b,  $R^{10}$  se selecciona del grupo que consiste en hexadecilo, eicosanilo y (2'-octil)-dodecilo. En algunas realizaciones según las Fórmulas 3, 3a y 3b,  $R^{20}$  es un hidrógeno o un alquilo  $C_{1-4}$ . En algunas realizaciones según las fórmulas 3, 3a y 3b,  $q$  es un número entero de 2-6. En algunas realizaciones según las Fórmulas 3, 3a y 3b,  $p$  es un número entero de 2-5. En algunas realizaciones según las Fórmulas 3, 3a y 3b, la piridina está sustituida por 0 a 3 (por ejemplo, 0, 1, 2 o 3) sustituyentes  $R^{12}$ , en el que cada  $R^{12}$  es independientemente como se define en este documento, por ejemplo, un halógeno (por ejemplo, F, Cl), un arilo  $C_{6-10}$  (por ejemplo, fenilo), un heteroarilo o un alquilo  $C_{1-4}$  (por ejemplo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, terc-butilo). En algunas realizaciones según las Fórmulas 3, 3a y 3b, el anillo de piridina está sustituido con uno, dos o tres sustituyentes  $R^{12}$ . En algunas realizaciones según las Fórmulas 3, 3a y 3b, el anillo de piridina está sustituido por un sustituyente  $R^{12}$ , en el que el sustituyente  $R^{12}$  es un flúor o un fenilo, por ejemplo, el anillo de piridina es 3-fluoro-piridina o 3-fenil-piridina. En algunas realizaciones según las Fórmulas 3, 3a y 3b,  $R^{10}$  se selecciona del grupo que consiste en hexadecilo, eicosanilo y (2'-octil)-dodecilo;  $R^{20}$  es hidrógeno o metilo;  $q$  es 4;  $p$  es 2; y la piridina es 3-fluoro-piridina o 3-fenilpiridina.

En algunos aspectos de la descripción, un lípido oxidado es un compuesto que tiene una estructura según la Fórmula 4:

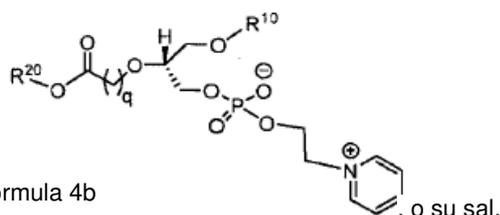


Fórmula 4

o su estereoisómero, una mezcla estereoisomérica o su sal. Los  $R^{10}$ ,  $R^{20}$  y  $q$  adecuados son los que se definen en este documento para la Fórmula 1. En algunos aspectos, el lípido oxidado tiene una estructura zwitteriónica según la Fórmula 4. En algunos aspectos, el lípido oxidado es una sal externa (por ejemplo, una sal farmacéuticamente aceptable) del compuesto que tiene una estructura según la Fórmula 4. En algunos aspectos, el lípido oxidado según la Fórmula 4 tiene una estructura según la Fórmula 4a o la Fórmula 4b:



Fórmula 4a



Fórmula 4b

, o su sal.

En algunos aspectos, el compuesto es un isómero S que tiene una estructura según la Fórmula 4a, en la que el compuesto tiene una pureza enantiomérica de aproximadamente 80% ee o más, por ejemplo, aproximadamente 80% ee, aproximadamente 85% ee, aproximadamente 90% ee, aproximadamente 91% ee, aproximadamente 92% ee, aproximadamente 93% ee, aproximadamente 94% ee, aproximadamente 95% ee, aproximadamente 96% ee, aproximadamente 97% ee, aproximadamente 98% ee, aproximadamente 99% ee, aproximadamente 99,5% ee o más. En algunos aspectos, el compuesto es un isómero R que tiene una estructura según la Fórmula 4b, donde el compuesto tiene una pureza enantiomérica de aproximadamente 80% ee o más, por ejemplo, aproximadamente 80% ee, aproximadamente 85% ee, aproximadamente 90% ee, aproximadamente 91% ee, aproximadamente 92% ee, aproximadamente 93% ee, aproximadamente 94% ee, aproximadamente 95% ee, aproximadamente 96% ee, aproximadamente 97% ee, aproximadamente 98% ee, aproximadamente 99% ee, aproximadamente 99,5% ee o más. En otros aspectos, el compuesto tiene una pureza enantiomérica de aproximadamente 80% ee a aproximadamente 100% ee, aproximadamente 85% ee a aproximadamente 100% ee, aproximadamente 90% ee a aproximadamente 100% ee, aproximadamente 95% ee a aproximadamente 100%, aproximadamente 80% ee a aproximadamente 99,5% ee, aproximadamente 85% ee a aproximadamente 99,5% ee, aproximadamente 90% ee a aproximadamente 99,5% ee, aproximadamente 95% ee a aproximadamente 99,5%, o cualquier intervalo de los mismos.

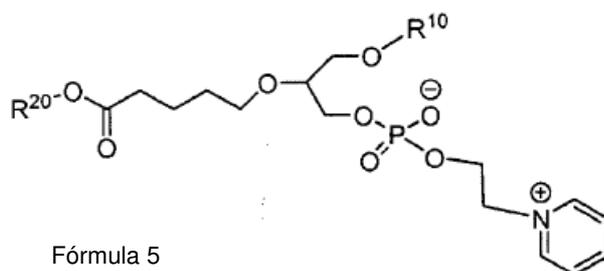
En algunas realizaciones según la Fórmula 4,  $R^{10}$  se selecciona del grupo que consiste en hexadecilo, dodecilo, octadecilo, octilo, eicosanilo, cis-9-hexadecenilo, (2'-octil)-dodecilo y (15'-carboxi)pentadecilo. En algunas realizaciones,  $R^{10}$  es hexadecilo. En algunas realizaciones,  $R^{10}$  es (2'-octil)-dodecilo. En algunas realizaciones,  $R^{10}$  es eicosanilo.

En algunas realizaciones,  $R^{20}$  es un hidrógeno o un alquilo. En algunas realizaciones,  $R^{20}$  es hidrógeno. En algunas realizaciones,  $R^{20}$  es un alquilo, por ejemplo, un alquilo  $C_{1-4}$  (por ejemplo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo o terc-butilo). En algunas realizaciones,  $R^{20}$  es metilo.

En algunas realizaciones,  $q$  es un número entero de 1-10, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10. En algunas realizaciones,  $q$  es 4.

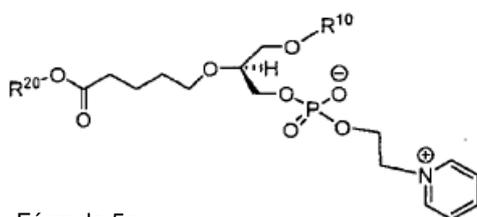
En algunas realizaciones,  $R^{10}$  se selecciona del grupo que consiste en hexadecilo, eicosanilo y (2'-octil)-dodecilo;  $R^{20}$  es hidrógeno o un alquilo  $C_{1-4}$  (por ejemplo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo o terc-butilo); y  $q$  es un número entero de 2-6, por ejemplo, 2, 3, 4, 5 o 6. En algunas realizaciones,  $R^{10}$  se selecciona del grupo que consiste en hexadecilo, eicosanilo y (2'-octil)-dodecilo;  $R^{20}$  es hidrógeno; y  $q$  es un número entero de 2-6, por ejemplo, 2, 3, 4, 5 o 6. En algunas realizaciones,  $R^{10}$  se selecciona del grupo que consiste en hexadecilo, eicosanilo y (2'-octil)-dodecilo;  $R^{20}$  es metilo; y  $q$  es un número entero de 2-6, por ejemplo, 2, 3, 4, 5 o 6.

En algunos aspectos de la descripción, un lípido oxidado de la invención es un compuesto que tiene una estructura según la Fórmula 5

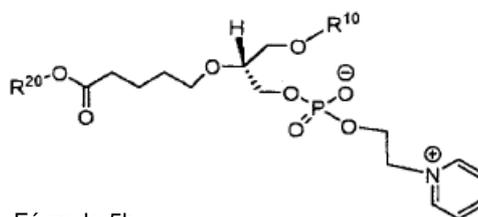


Fórmula 5

o un estereoisómero, una mezcla estereoisomérica, o su sal, donde  $R^{10}$  y  $R^{20}$  son como se definen en este documento para la Fórmula 1. En algunos aspectos, el lípido oxidado tiene una estructura zwitteriónica según la Fórmula 5. En algunos aspectos, el lípido oxidado es una sal externa (por ejemplo, una sal farmacéuticamente aceptable) del compuesto que tiene una estructura según la Fórmula 5. En algunos aspectos, el lípido oxidado es un compuesto según la Fórmula 5 que tiene una estructura según la Fórmula 5a o Fórmula 5b:



Fórmula 5a



Fórmula 5b

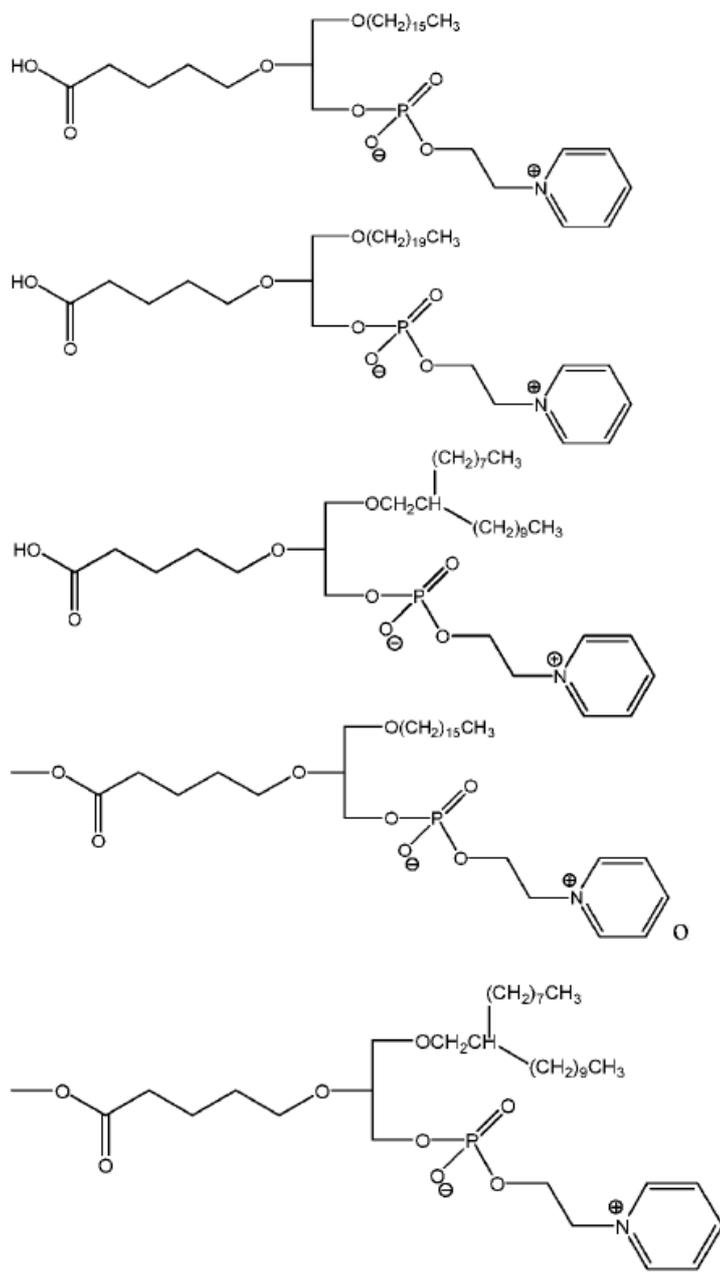
, o su sal.

En algunos aspectos de la descripción, el compuesto es un isómero S que tiene una estructura según la Fórmula 5a, donde el compuesto tiene una pureza enantiomérica de aproximadamente 80% ee o más, por ejemplo, aproximadamente 80% ee, aproximadamente 85% ee, aproximadamente 90% ee, aproximadamente 91% ee, aproximadamente 92% ee, aproximadamente 93% ee, aproximadamente 94% ee, aproximadamente 95% ee, aproximadamente 96% ee, aproximadamente 97% ee, aproximadamente 98% ee, aproximadamente 99% ee, aproximadamente 99,5% ee o más. En algunos aspectos, el compuesto es un isómero R que tiene una estructura según la Fórmula 5b, donde el compuesto tiene una pureza enantiomérica de aproximadamente 80% ee o más, por ejemplo, aproximadamente 80% ee, aproximadamente 85% ee, aproximadamente 90% ee, aproximadamente 91% ee, aproximadamente 92% ee, aproximadamente 93% ee, aproximadamente 94% ee, aproximadamente 95% ee, aproximadamente 96% ee, aproximadamente 97% ee, aproximadamente 98% ee, aproximadamente 99% ee, aproximadamente 99,5% ee o más. En otros aspectos, el compuesto tiene una pureza enantiomérica de aproximadamente 80% ee a aproximadamente 100% ee, aproximadamente 85% ee a aproximadamente 100% ee, aproximadamente 90% ee a aproximadamente 100% ee, aproximadamente 95% ee a aproximadamente 100%, aproximadamente 80% ee a aproximadamente 99,5% ee, aproximadamente 85% ee a aproximadamente 99,5% ee, aproximadamente 90% ee a aproximadamente 99,5% ee, aproximadamente 95% ee a aproximadamente 99,5%, o cualquier intervalo de los mismos.

En algunas realizaciones según la Fórmula 5,  $R^{10}$  se selecciona del grupo que consiste en hexadecilo, dodecilo, octadecilo, octilo, eicosanilo, cis-9-hexadecenilo, (2'-octil)-dodecilo y (15'-carboxi)pentadecilo. En algunas realizaciones,  $R^{10}$  es hexadecilo. En algunas realizaciones,  $R^{10}$  es (2'-octil)-dodecilo. En algunas realizaciones,  $R^{10}$  es eicosanilo.

En algunas realizaciones,  $R^{20}$  es un hidrógeno o un alquilo. En algunas realizaciones,  $R^{20}$  es hidrógeno. En algunas realizaciones,  $R^{20}$  es un alquilo, por ejemplo, un alquilo  $C_{1-4}$  (por ejemplo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo o terc-butilo). En algunas realizaciones,  $R^{20}$  es metilo.

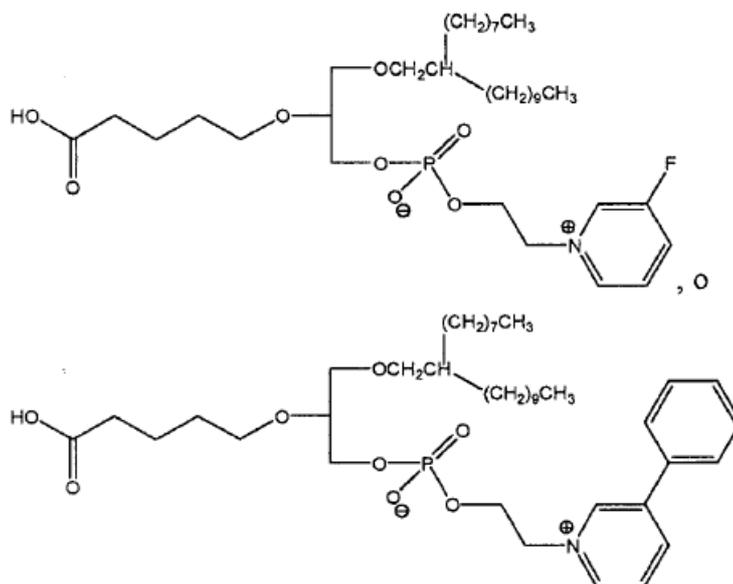
En algunas realizaciones, un lípido oxidado de la invención es un compuesto que tiene una estructura de:



o su estereoisómero, una mezcla estereoisomérica o su sal.

En algunas realizaciones, la invención proporciona un compuesto seleccionado del grupo que consiste en piridinio-  
 5 etil-éster del ácido (R)-1-hexadecil-2-(4'-carboxi)butil-sn-glicero-3-fosfórico (VB-701); piridin-etil-éster del ácido (R)-1-eicosanil-2-(4'-carboxi)butil-sn-glicero-3-fosfórico (VB-702); piridinio-etil-éster del ácido (R)-1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboxi)butil-sn-glicero-3-fosfórico (VB-703); (R)-1-hexadecil-2-(4'-carboximetil)butil-sn-glicero-3-éster de piridinoetilo del ácido fosfórico (VB-704); y piridinio-etil-éster del ácido (R)-1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboximetil)butil-sn-glicero-3-fosfórico (VB-705). El prefijo "(R)-" se refiere a la configuración del carbono C-2 de la cadena principal de glicerol. En algunos aspectos, el compuesto tiene una pureza enantiomérica de aproximadamente 80% ee o más, por ejemplo,  
 10 aproximadamente 80% ee, aproximadamente 85% ee, aproximadamente 90% ee, aproximadamente 91% ee, aproximadamente 92% ee, aproximadamente 93% ee, aproximadamente 94% ee, aproximadamente 95% ee, aproximadamente 96% ee, aproximadamente 97% ee, aproximadamente 98% ee, aproximadamente 99% ee, aproximadamente 99,5% ee o más.

En algunas realizaciones, el lípido oxidado de la invención es un compuesto que tiene una estructura de:



o su estereoisómero, una mezcla estereoisomérica o su sal.

En algunas realizaciones, la invención proporciona un compuesto seleccionado del grupo que consiste en 3-fluoro -  
 5 piridin-etil-éster del ácido (R)-1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboxi)butilglicero-sn-3-fosfórico (VB-706) y 3-fenil-piridin-etil-  
 éster del ácido (R)-1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboxi)butil-glicero-sn-3-fosfórico (VB-707). El prefijo "(R)-" se refiere a la  
 configuración del carbono C-2 de la cadena principal de glicerol. En algunos aspectos, el compuesto tiene una  
 pureza enantiomérica de aproximadamente 80% ee o más, por ejemplo, aproximadamente 80% ee,  
 aproximadamente 85% ee, aproximadamente 90% ee, aproximadamente 91% ee, aproximadamente 92% ee,  
 10 aproximadamente 93% ee, aproximadamente 94% ee, aproximadamente 95% ee, aproximadamente 96% ee,  
 aproximadamente 97% ee, aproximadamente 98% ee, aproximadamente 99% ee, aproximadamente 99,5% ee o  
 más. En otros aspectos, el compuesto tiene una pureza enantiomérica de aproximadamente 80% ee a  
 aproximadamente 100% ee, aproximadamente 85% ee a aproximadamente 100% ee, aproximadamente 90% ee a  
 aproximadamente 100% ee, aproximadamente 95% ee a aproximadamente 100%, aproximadamente 80% ee a  
 15 aproximadamente 99,5% ee, aproximadamente 85% ee a aproximadamente 99,5% ee, aproximadamente 90% ee a  
 aproximadamente 99,5% ee, aproximadamente 95% ee a aproximadamente 99,5%, o cualquier intervalo de los  
 mismos.

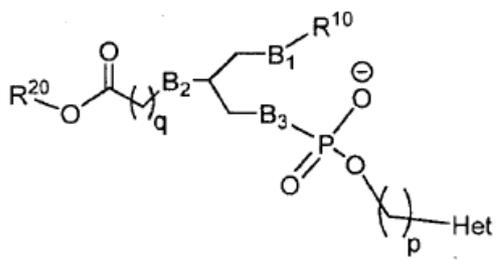
En otras realizaciones, el compuesto lipídico oxidado de la invención trata o previene la fibrosis (por ejemplo, fibrosis  
 hepática, fibrosis renal, glomeruloesclerosis focal y segmentaria, o cualquier otra fibrosis descrita en este  
 20 documento), como el telmisartán, o mejor que éste. En otras realizaciones, un compuesto lipídico oxidado de la  
 invención reduce la inflamación del hígado como el telmisartán, o mejor que éste. En otras realizaciones, un  
 compuesto lipídico oxidado de la invención reduce la fibrosis hepática así como el telmisartán, o mejor que éste. En  
 otras realizaciones, el compuesto lipídico oxidado de la invención trata o previene la fibrosis renal como el  
 telmisartán, o mejor que éste. En otras realizaciones, un compuesto lipídico oxidado de la invención trata o previene  
 la glomeruloesclerosis focal y segmentaria, como el telmisartán, o mejor que éste.

En otros aspectos, el compuesto lipídico oxidado de la descripción inhibe la formación de la fosforilación inducida por  
 25 ligando de IKK, ERK, AKT o p38 a un nivel comparable o mayor que el VB-201 (1-hexadecil-2-(4'-carboxi)butil-  
 glicero-3-fosfocolina o 1-hexadecil-2-(4'-carboxibutil)-glicerol-3-fosfocolina) inhibe la formación de la fosforilación  
 inducida por ligando de IKK, ERK, AKT o p38. En otros aspectos, el compuesto lipídico oxidado de la descripción  
 inhibe la migración celular inducida por ligando a un nivel comparable o mayor que el VB-201 inhibe la migración  
 30 celular inducida por ligando. En otros aspectos, el ligando es LPS, PGN, PAM3 o MCP1. En otros aspectos, la  
 migración celular es la migración de monocitos.

#### Métodos de síntesis

Otras realizaciones de la invención se refieren a métodos para sintetizar lípidos oxidados de la invención.

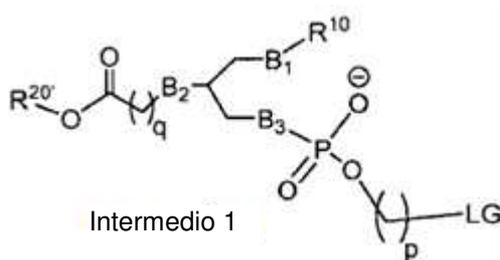
En algunos aspectos, la descripción proporciona un método para sintetizar un compuesto de Fórmula 1:



Fórmula 1

o un estereoisómero, una mezcla estereoisomérica, o su sal, donde  $B_1$ ,  $B_2$ ,  $B_3$ ,  $R^{10}$ ,  $R^{20}$ , Het, p y q se han definido en este documento anteriormente para la Fórmula 1,

5 comprendiendo el método

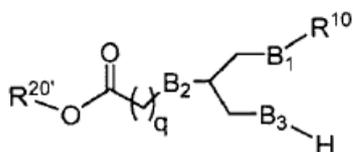


Intermedio 1

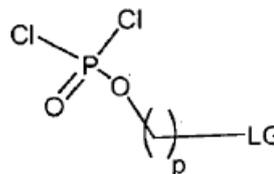
a) hacer reaccionar el Intermedio 1 con Het para formar el compuesto de Fórmula 1,

10 donde  $B_1$ ,  $B_2$ ,  $B_3$ ,  $R^{10}$ , Het, p y q son como se definieron anteriormente en la Fórmula 1; y donde LG es un grupo saliente. En algunas realizaciones,  $R^{20}$  es igual que  $R^{20'}$ . Sin embargo, como se describe en la sección de Ejemplos, cuando el Intermedio 1 se calentó en piridina (por ejemplo, a temperatura de reflujo), también se observó la conversión de  $-\text{COOR}^{20'}$  en  $-\text{COOH}$ . Por lo tanto, en algunas realizaciones,  $R^{20}$  es H,  $R^{20'}$  se selecciona del grupo que consiste en alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo y heteroarilo, la reacción del Intermedio 1 con Het (por ejemplo, piridina o piridina sustituida como se define en este documento) también convierte  $-\text{COOR}^{20'}$  en  $-\text{COOH}$ , o su sal, para formar el compuesto de Fórmula 1. En otras realizaciones,  $R^{20}$  es H,  $R^{20'}$  se selecciona del grupo que consiste en alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo y heteroarilo, la reacción del Intermedio 1 con Het es seguida por una etapa de hidrólisis para convertir  $-\text{COOR}^{20'}$  en  $-\text{COOH}$ , o su sal, para formar el compuesto de Fórmula 1. En realizaciones preferidas,  $R^{20}$  es H,  $R^{20'}$  es metilo, la reacción del Intermedio 1 con Het (por ejemplo, piridina o piridina sustituida como se define en este documento) también convierte  $-\text{COOR}^{20'}$  en  $-\text{COOH}$ , o su sal, para formar el compuesto de Fórmula 1. En algunas realizaciones, LG se selecciona del grupo que consiste en grupos salientes que contienen halógeno y oxígeno (por ejemplo, como se describe en el presente documento).

En algunos aspectos de la descripción, el Intermedio 1 puede ser sintetizado



Reactivo 1



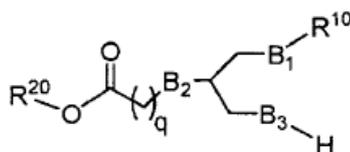
Reactivo 2

25 b) haciendo reaccionar el Reactivo 1 con el Reactivo 2 para formar un producto de reacción monoclorado; y

c) hidrolizar el producto de reacción monoclorado para formar el Intermedio 1,

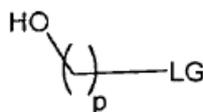
donde  $B_1$ ,  $B_2$ ,  $B_3$ ,  $R^{10}$ ,  $R^{20}$ , p, q y LG son como se definieron anteriormente en el Intermedio 1.

En otros aspectos de la descripción, el Intermedio 1 puede sintetizarse



Reactivo 1

b') haciendo reaccionar el Reactivo 1 con  $\text{POCl}_3$  para formar un producto de reacción  $\text{POCl}_3$ ;



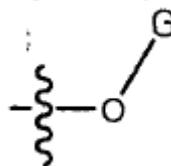
Reactivo 2a

c') haciendo reaccionar el Reactivo 2A con el producto de reacción  $\text{POCl}_3$  para formar un segundo producto de reacción; y

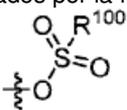
d') hidrolizar el segundo producto de reacción para formar el intermedio 1,

10 donde  $B_1$ ,  $B_2$ ,  $B_3$ ,  $R^{10}$ ,  $R^{20}$ ,  $p$ ,  $q$ , y  $\text{LG}$  son como se definieron anteriormente en el Intermedio 1. En algunos aspectos, los pasos b') y c') se pueden realizar de una sola vez. En algunos aspectos, el producto de reacción  $\text{POCl}_3$  no se aísla antes de hacerlo reaccionar con el Reactivo 2A.

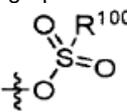
15 Los  $\text{LG}$  adecuados para los métodos de síntesis descritos en el presente documento incluyen cualquier grupo saliente conocido en la técnica. En algunas realizaciones,  $\text{LG}$  es un halógeno, como  $\text{F}$ ,  $\text{Cl}$ ,  $\text{Br}$  o  $\text{I}$ . En algunas realizaciones,  $\text{LG}$  es un grupo saliente que contiene oxígeno, como un tosilato, un mesilato, un triflato, etc. En algunas realizaciones,  $\text{LG}$  es  $\text{Br}$ . El grupo saliente que contiene oxígeno, tal y como se usa en el presente



documento, se refiere a grupos salientes representados por la fórmula  $\text{---O---G}$ , donde  $\text{G}$  es típicamente un

grupo secuestrante de electrones, por ejemplo, . Los ejemplos de grupos salientes que contienen oxígeno incluyen sulfonatos como nonaflato, triflato, fluorosulfonato, tosilato, mesilato o besilato. Otros grupos salientes que contienen oxígeno tales como grupos aciloxy y ariloxy son conocidos en la técnica.

20 En algunos aspectos de la descripción, el  $\text{LG}$  es un grupo saliente seleccionado del grupo que consiste en grupos

salientes que contienen oxígeno representados por . donde  $R^{100}$  se selecciona del grupo que consiste en alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, heteroalícicloalquilo, arilo y heteroarilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con de uno a cinco  $R^{13}$ , en el que cada sustituyente  $R^{13}$  se selecciona independientemente del grupo que consiste en alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, halo, trihalometilo, hidroxilo, alcoxi, ariloxy, tiohidroxilo, tialcoxi, tioariloxy, fosfonato, fosfato, fosfinilo, sulfonilo, sulfonilo, sulfonamida, amida, carbonilo, tiocarbonilo, C-carboxi, O-carboxi, C-carbamato, N-carbamato, C-tiocarboxi, S-tiocarboxilo y amino. En algunos aspectos,  $R^{100}$  es p-tolilo, o-tolilo, fenilo, metilo o trifluorometilo. En algunos aspectos,  $R^{100}$  es p-tolilo.

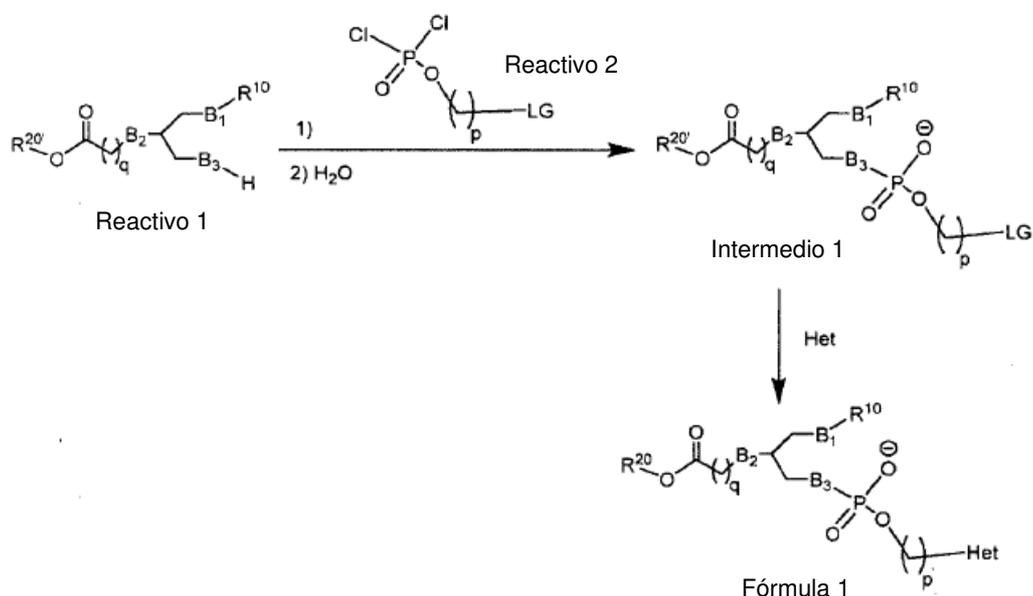
30 En algunas realizaciones, todos los  $B_1$ ,  $B_2$  y  $B_3$  son  $\text{O}$ . En algunas realizaciones,  $\text{Het}$  es una piridina no sustituida, en la que el átomo de nitrógeno de la piridina está directamente conectado a la cadena de alquilenilo, es decir,  $-(\text{CH}_2)_p-$  en la Fórmula 1. En algunas realizaciones,  $\text{Het}$  es 3-fluoro-piridina o 3-fenil-piridina, donde el átomo de nitrógeno de la piridina está directamente conectado a la cadena de alquilenilo, es decir,  $-(\text{CH}_2)_p-$  en la Fórmula 1. En algunas realizaciones,  $R^{10}$  se selecciona del grupo que consiste en hexadecilo, eicosanilo y (2'-octil)-dodecilo. En algunas realizaciones,  $R^{20}$  es hidrógeno o un alquilo  $\text{C}_{1-4}$  (por ejemplo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo o terc-butilo). En algunas realizaciones,  $p$  es 2. En algunas realizaciones,  $q$  es 4.

35 En algunos aspectos de la descripción, el método descrito anteriormente está dirigido a sintetizar compuestos que tienen una estructura según las Fórmulas 2, 3, 4 o 5 (por ejemplo, como se describe en este documento). En tales

5 aspectos, todos los B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> y B<sub>3</sub> son O, y los R<sup>10</sup>, R<sup>11</sup>, R<sup>12</sup>, R<sup>20</sup>, Het, p y q adecuados para los métodos descritos anteriormente son como los definidos en este documento para las Fórmulas respectivas 2, 3, 4 o 5. En algunos aspectos, R<sup>20'</sup> es igual que R<sup>20</sup>. En algunos aspectos, R<sup>20</sup> es H, R<sup>20'</sup> se selecciona del grupo que consiste en alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, arilo y heteroarilo, la reacción del Intermedio 1 con Het (por ejemplo, piridina o piridina sustituida como se define en este documento) también convierte -COOR<sup>20'</sup> en -COOH, o su sal, para formar los compuestos de las Fórmulas 2, 3, 4 o 5. En otros aspectos, R<sup>20</sup> es H, R<sup>20'</sup> se selecciona del grupo que consiste en alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, arilo y heteroarilo, la reacción del Intermedio 1 con Het es seguida por una etapa de hidrólisis para convertir -COOR<sup>20'</sup> en -COOH, o su sal, para formar el compuesto de las Fórmulas 2, 3, 4 o 5. En aspectos preferidos, R<sup>20</sup> es H en las Fórmulas 2, 3, 4 o 5, R<sup>20'</sup> es metilo, la reacción del Intermedio 1 con Het (por ejemplo, piridina o piridina sustituida como se define en el presente documento) también convierte -COOR<sup>20'</sup> en -COOH, o su sal, para formar los compuestos de las Fórmulas 2, 3, 4 o 5.

Los expertos en la técnica pueden determinar los disolventes adecuados, las temperaturas de reacción, así como otros parámetros de reacción para cada uno de los pasos del procedimiento descrito en el presente documento, basándose en los Ejemplos funcionales descritos en este documento.

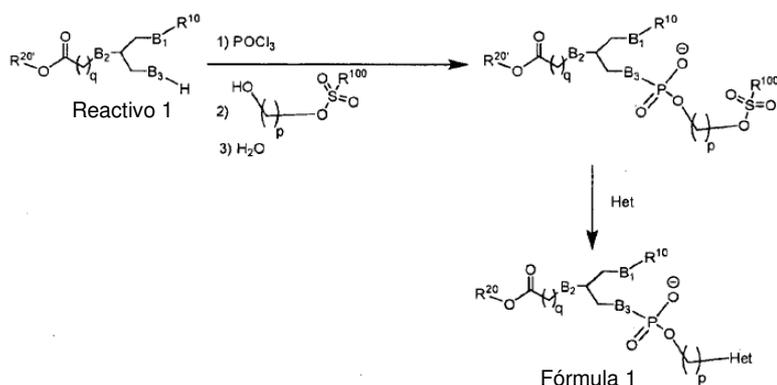
15 Por lo tanto, en algunos aspectos, el compuesto que tiene una estructura según la Fórmula 1 (por ejemplo, como se describe en este documento) puede sintetizarse mediante un método que comprenda los pasos del Método A:



20 Los LG adecuados incluyen cualquier grupo saliente conocido en la técnica. En algunos aspectos, LG es un halógeno, como F, Cl, Br o I. En algunos aspectos, LG es un grupo saliente que contiene oxígeno, como un tosilato, un mesilato, un triflato, etc. En algunos aspectos, LG es Br. En algunos aspectos, LG es tosilato.

En algunos aspectos de la descripción, un compuesto que tiene una estructura según la Fórmula 1 también se puede sintetizar mediante un método que comprende los pasos del Método B:

Método B



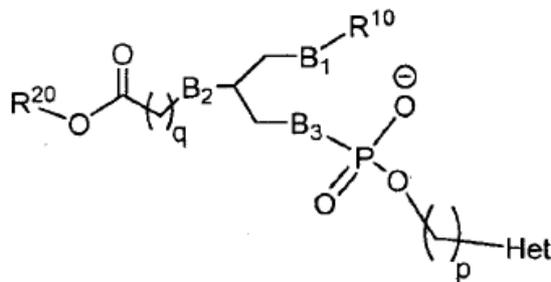
Los  $R^{100}$  adecuados para el Método B incluyen alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, heteroalícicloalquilo, arilo o heteroarilo, opcionalmente sustituidos con de uno a cinco  $R^{13}$ , en el que cada sustituyente  $R^{13}$  se selecciona independientemente del grupo que consiste en alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, halo, trihalometilo, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, tiohidroxilo, tioalcoxi, tioariloxi, fosfonato, fosfato, fosfinilo, sulfonilo, sulfonilo, sulfonamida, amida, carbonilo, tiocarbonilo, C-carboxi, O-carboxi, C-carbamato, N-carbamato, C-tiocarboxi, S-tiocarboxi y amino como se describe en este documento. En algunos aspectos,  $R^{100}$  es un resto p-tolilo, o-tolilo, fenilo, metilo o trifluorometilo. En algunos aspectos,  $R^{100}$  es p-tolilo.

En algunos aspectos de la descripción, el método para sintetizar un compuesto que tiene una estructura según la Fórmula 1 comprende además una etapa de hidrólisis para convertir un éster en un ácido carboxílico.

Los  $B_1$ ,  $B_2$ ,  $B_3$ ,  $R^{10}$ ,  $R^{11}$ ,  $R^{12}$ ,  $R^{20}$ , Het, p y q adecuados para el Método A o B son los definidos en este documento para la Fórmula 1. En algunos aspectos, todos los  $B_1$ ,  $B_2$  y  $B_3$  son O. En algunos aspectos, Het es una piridina no sustituida, donde el átomo de nitrógeno de la piridina está directamente conectado a la cadena de alqueno, es decir,  $-(CH_2)_p-$  en la Fórmula 1. En algunos aspectos,  $R^{10}$  se selecciona del grupo que consiste en hexadecilo, eicosanilo y (2'-octil)-dodecilo. En algunos aspectos,  $R^{20}$  es hidrógeno o un alquilo  $C_{1-4}$  (por ejemplo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, iso-butilo o terc-butilo). En algunos aspectos, p es 2. En algunos aspectos, q es 4. En algunos aspectos,  $R^{20}$  es igual que  $R^{20}$ . En algunos aspectos,  $R^{20}$  es H,  $R^{20}$  se selecciona del grupo que consiste en alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo y heteroarilo, la reacción del Intermedio 1 con Het (por ejemplo, piridina o piridina sustituida como se define en el presente documento) también convierte  $-COOR^{20}$  en  $-COOH$ , o su sal, para formar el compuesto de Fórmula 1. En otros aspectos,  $R^{20}$  es H,  $R^{20}$  se selecciona del grupo que consiste en alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo y heteroarilo, la reacción del Intermedio 1 con Het es seguida por una etapa de hidrólisis para convertir  $-COOR^{20}$  en  $-COOH$ , o su sal, para formar el compuesto de Fórmula 1. En aspectos preferidos,  $R^{20}$  es H,  $R^{20}$  es metilo, la reacción del Intermedio 1 con Het (por ejemplo, piridina o piridina sustituida como se define en este documento) también convierte  $-COOR^{20}$  en  $-COOH$ , o su sal, para formar el compuesto de Fórmula 1.

De manera similar, los compuestos que tienen una estructura según las Fórmulas 2, 3, 4 o 5 (por ejemplo, como se describe en el presente documento) pueden sintetizarse por cualquiera de los métodos descritos anteriormente, por ejemplo, por un método que comprende los pasos en el Método A o los pasos en el Método B. En la síntesis de compuestos que tienen una estructura según las Fórmulas 2, 3, 4 o 5 (por ejemplo, como se describe en este documento), todos los  $B_1$ ,  $B_2$  y  $B_3$  son O, y los  $R^{10}$ ,  $R^{11}$ ,  $R^{12}$ ,  $R^{20}$  adecuados, Het, p, y q para el Método A o B son los definidos en este documento para las Fórmulas 2, 3, 4 o 5 respectivas. En algunos aspectos,  $R^{20}$  es igual que  $R^{20}$ . En algunos aspectos,  $R^{20}$  es H,  $R^{20}$  se selecciona del grupo que consiste en alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo y heteroarilo, la reacción del Intermedio 1 con Het (por ejemplo, piridina o piridina sustituida como se define en este documento) también convierte  $-COOR^{20}$  en  $-COOH$ , o su sal, para formar el compuesto de las Fórmulas 2, 3, 4 o 5. En otros aspectos,  $R^{20}$  es H,  $R^{20}$  se selecciona del grupo que consiste en alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo y heteroarilo, la reacción del Intermedio 1 con Het es seguida por una etapa de hidrólisis para convertir  $-COOR^{20}$  en  $-COOH$ , o su sal, para formar el compuesto de las Fórmulas 2, 3, 4 o 5. En aspectos preferidos,  $R^{20}$  es H,  $R^{20}$  es metilo, la reacción del Intermedio 1 con Het (por ejemplo, piridina o piridina sustituida como se define en este documento) también convierte  $-COOR^{20}$  en  $-COOH$ , o su sal, para formar el compuesto de las Fórmulas 2, 3, 4 o 5.

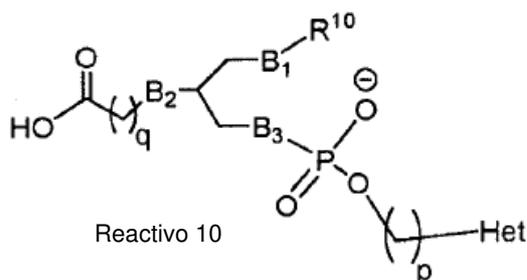
En algunos aspectos de la descripción, la descripción proporciona un método para sintetizar un compuesto de Fórmula 1,



Fórmula 1

o su estereoisómero, una mezcla estereoisomérica o su sal,

comprendiendo el método



a) hacer reaccionar el Reactivo 10 con  $R^{20}$  para formar el compuesto de Fórmula 1,

donde  $B_1$ ,  $B_2$ ,  $B_3$ ,  $R^{10}$ , Het, p y q se definen anteriormente; y donde  $R^{20}$  se selecciona del grupo que consiste en alquilo, alqueniilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo y heteroarilo. Preferiblemente,  $R^{20}$  es un alquilo (por ejemplo, alquilo C-4, por ejemplo, metilo). En algunos aspectos, la reacción es catalizada por un ácido, por ejemplo, HCl. Otros métodos conocidos para formar un éster también se pueden usar en la etapa a).

En algunos aspectos de la descripción, el método está dirigido a sintetizar compuestos que tienen una estructura según las Fórmulas 2, 3, 4 o 5 (por ejemplo, como se describe en este documento). En tales aspectos, todos los  $B_1$ ,  $B_2$  y  $B_3$  son O, y los  $R^{10}$ ,  $R^{11}$ ,  $R^{12}$ , Het, p y q adecuados para los métodos descritos anteriormente son los definidos en este documento para las Fórmulas 2, 3, 4 o 5 respectivas, donde  $R^{20}$  se selecciona del grupo que consiste en alquilo, alqueniilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo y heteroarilo. Preferiblemente,  $R^{20}$  es un alquilo (por ejemplo, alquilo C-4, por ejemplo, metilo).

Los lípidos oxidados de la descripción (por ejemplo, las Fórmulas 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 3b, 4a, 4b, 5a, 5b) que tienen cierta pureza enantiomérica (p. ej., como se describe en este documento) pueden obtenerse a partir de mezclas racémicas mediante técnicas conocidas en la técnica. Los ejemplos incluyen, entre otros, la formación de sales quirales y el uso de cromatografía líquida quiral o de alta resolución "HPLC" y la formación y cristalización de sales quirales. Véase, por ejemplo, Jacques, J., et al., *Enantiomers, Racemates and Resolutions* (Wiley-Interscience, Nueva York, 1981); Wilen, S. H., et al., *Tetrahedron* 33: 2725 (1977); Eliel, E. L., *Stereochemistry of Carbon Compounds* (McGraw-Hill, NY, 1962); y Wilen, S. H., *Tables of Resolving Agents and Optical Resolutions* p. 268 (E. L. Eliel, Ed., Univ. of Notre Dame Press, Notre Dame, Ind., 1972).

Los lípidos oxidados de la descripción (por ejemplo, Fórmulas 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 3b, 4a, 4b, 5a, 5b) que tienen cierta pureza enantiomérica (p. ej., como se describe en este documento) también se pueden sintetizar mediante los Métodos generales A o B descritos en este documento usando un material de partida, o cualquier intermedio sintético, que tenga cierta pureza enantiomérica, por ejemplo, (S)-1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboximetil)butil-glicerol, (S)-1-hexadecil-2-(4'-carboximetil)butil-glicerol, o (S)-1-eicosanil-2-(4'-carboximetil)butil-glicerol. El material de partida, o cualquier intermedio sintético, que tenga cierta pureza enantiomérica se puede obtener por métodos sintéticos conocidos en la técnica o por separación quiral de mezclas racémicas como se describe en el presente documento.

En otras realizaciones, la presente invención se refiere a un compuesto de Fórmula 1 como se define en las reivindicaciones hecho por cualquiera de los métodos de síntesis de la invención como se define en las reivindicaciones.

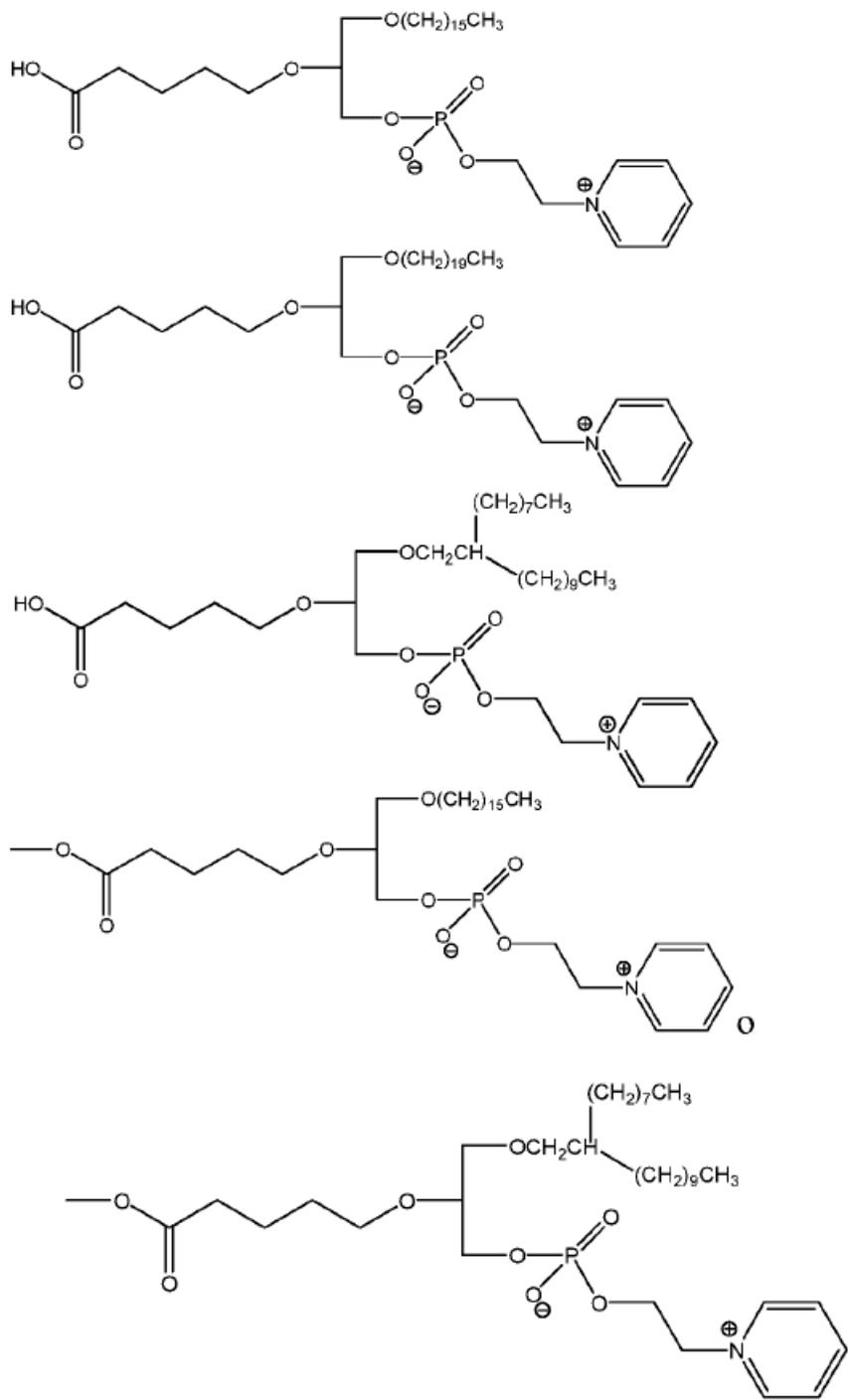
#### Composiciones Farmacéuticas

Otras realizaciones de la invención se refieren a una composición farmacéutica que comprende un lípido oxidado de la invención. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende un lípido oxidado de la invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En otras realizaciones, la composición farmacéutica comprende una cantidad terapéuticamente efectiva del lípido oxidado. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende una cantidad terapéuticamente efectiva del lípido oxidado y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Como se usa en el presente documento, la cantidad terapéuticamente efectiva del lípido oxidado es una cantidad efectiva para tratar o prevenir una enfermedad o trastorno de la presente invención.

En otros aspectos, las composiciones farmacéuticas de la presente descripción pueden administrarse por vía oral.

En algunos aspectos, la composición farmacéutica comprende un compuesto que tiene una estructura según cualquiera de las Fórmulas 1, 2, 3, 4 o 5 como se describe en este documento.

En otras realizaciones, la composición farmacéutica comprende un compuesto que tiene una estructura de:

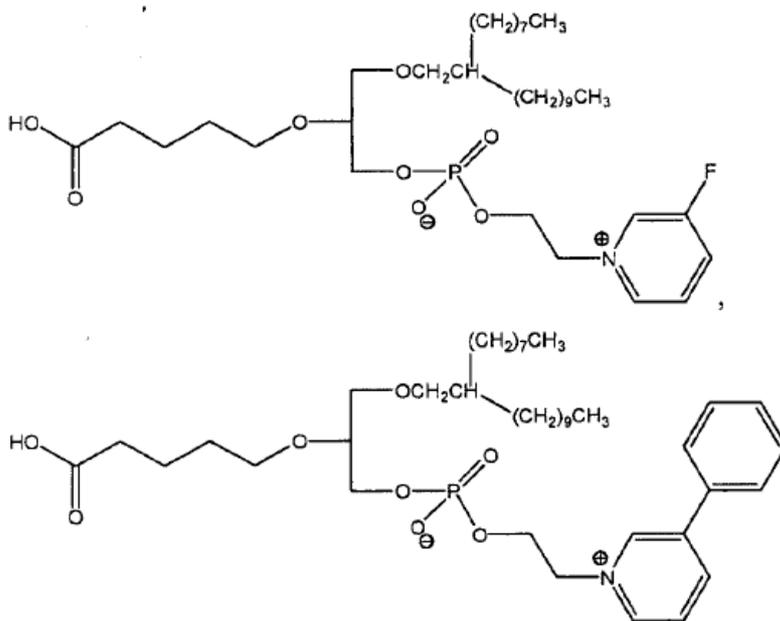


o su estereoisómero, una mezcla estereoisomérica o su sal.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende un compuesto seleccionado del grupo que consiste en el éster de piridinio-etilo del ácido (R)-1-hexadecil-2-(4'-carboxi)butil-sn-glicero-3-fosfórico (VB-701);  
 5 piridinio-etil-éster del ácido (R)-1-eicosanil-2-(4'-carboxi)butil-sn-glicero-3-fosfórico (VB-702); piridinio-etil-éster del ácido (R)-1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboxi)butil-sn-glicero-3-fosfórico (VB-703); piridinio-etil-éster del ácido (R)-1-hexadecil-2-(4'-carboximetil)butil-sn-glicero-3-fosfórico (VB-704); y piridinio-etil-éster del ácido (R)-1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboximetil)butil-sn-glicero-3-fosfórico (VB-705). El prefijo "(R)-" se refiere a la configuración del carbono C-2 de la cadena principal de glicerol. En algunos aspectos, el compuesto tiene una pureza enantiomérica de  
 10 aproximadamente 80% ee o más, por ejemplo, aproximadamente 80% ee, aproximadamente 85% ee, aproximadamente 90% ee, aproximadamente 91% ee, aproximadamente 92% ee, aproximadamente 93% ee, aproximadamente 94% ee, aproximadamente 95% ee, aproximadamente 96% ee, aproximadamente 97% ee, aproximadamente 98% ee, aproximadamente 99% ee, aproximadamente 99,5% ee o más. En otros aspectos, el compuesto tiene una pureza enantiomérica de aproximadamente 80% ee a aproximadamente 100% ee,

aproximadamente 85% ee a aproximadamente 100% ee, aproximadamente 90% ee a aproximadamente 100% ee, aproximadamente 95% ee a aproximadamente 100% ee, aproximadamente 80% ee a aproximadamente 99,5% ee, aproximadamente 85% ee a aproximadamente 99,5% ee, aproximadamente 90% ee a aproximadamente 99,5% ee, aproximadamente 95% ee a aproximadamente 99,5%, o cualquier intervalo de los mismos.

- 5 En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende un compuesto que tiene una estructura de:



o su estereoisómero, una mezcla estereoisomérica o su sal.

- 10 En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende un compuesto seleccionado del grupo que consiste en el 3-fluoro-piridino-etil éster del ácido (R)-1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboxi)butilglicero-sn-3-fosfórico (VB-706) y 3-fenil-piridino-etilo éster (R)-1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboxi)butil-glicero-sn-3-ácido fosfórico (VB-707). El prefijo "(R)-" se refiere a la configuración del carbono C-2 de la cadena principal de glicerol. En algunos aspectos, el compuesto tiene una pureza enantiomérica de aproximadamente 80% ee o más, por ejemplo, aproximadamente 80% ee, aproximadamente 85% ee, aproximadamente 90% ee, aproximadamente 91% ee, aproximadamente 92% ee, aproximadamente 93 % ee, aproximadamente 94% ee, aproximadamente 95% ee, aproximadamente 96% ee, aproximadamente 97% ee, aproximadamente 98% ee, aproximadamente 99% ee, aproximadamente 99,5% ee o más. En otros aspectos, el compuesto tiene una pureza enantiomérica de aproximadamente 80% ee a aproximadamente 100% ee, aproximadamente 85% ee a aproximadamente 100% ee, aproximadamente 90% ee a aproximadamente 100% ee, aproximadamente 95% ee a aproximadamente 100% ee, aproximadamente 80% ee a aproximadamente 99,5% ee, aproximadamente 85% ee a aproximadamente 99,5% ee, aproximadamente 90% ee a aproximadamente 99,5% ee, aproximadamente 95% ee a aproximadamente 99,5%, o cualquier intervalo de los mismos.

- 25 En otras realizaciones, la composición farmacéutica trata o previene la fibrosis (p. ej., la fibrosis hepática, fibrosis renal, glomeruloesclerosis focal y segmentaria, o cualquier otra fibrosis descrita en este documento), como el telmisartán, o mejor que éste. En otras realizaciones, la composición farmacéutica reduce la inflamación del hígado, como el telmisartán, o mejor que éste. En otras realizaciones, la composición farmacéutica reduce la fibrosis hepática como el telmisartán, o mejor que éste. En otras realizaciones, la composición farmacéutica trata o previene la fibrosis renal como el telmisartán, o mejor que éste. En otras realizaciones, la composición farmacéutica trata o previene la glomeruloesclerosis focal y segmentaria, como el telmisartán, o mejor que éste.

- 30 En otros aspectos, la composición farmacéutica inhibe la formación de la fosforilación inducida por ligando de IKK, ERK, AKT o p38 comparable o más que VB-201 (1-hexadecil-2-(4'-carboxi)butil-glicero-3-fosfocolina o 1-hexadecil-2-(4'-carboxibutil)-glicerol-3-fosfocolina) inhibe la formación de la fosforilación inducida por ligando de IKK, ERK, AKT o p38. En otros aspectos, la composición farmacéutica inhibe la migración celular inducida por ligando comparable a VB-201 o más que VB-201 inhibe la migración celular inducida por ligando. En otros aspectos, el ligando es LPS, PGN, PAM3 o MCP1. En otros aspectos, la migración celular es la migración de monocitos.

- 35 Métodos para tratar o prevenir la fibrosis o las enfermedades o trastornos inflamatorios

Las descripciones se refieren a un método para tratar o prevenir la fibrosis o una enfermedad o trastorno inflamatorio que comprende administrar un lípido oxidado de la invención. En otros aspectos, la descripción se refiere a un

método para tratar o prevenir una enfermedad o trastorno inflamatorio. En otros aspectos, el método comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un lípido oxidado de la invención a un sujeto que lo necesite. En otros aspectos, el método comprende administrar una composición farmacéutica de la invención.

5 Los métodos descritos en este documento pueden usarse para tratar o prevenir todos los tipos de fibrosis. En algunos aspectos de los métodos de la invención, la fibrosis es una fibrosis pulmonar, fibrosis hepática, fibrosis cutánea o fibrosis renal. En algunos aspectos de los métodos de la invención, la fibrosis es fibrosis cardíaca, fibrosis de la médula ósea, fibrosis intestinal, fibrosis articular (rodilla, hombro u otras articulaciones), fibrosis de la mano, fibrosis del dedo, fibrosis del músculo esquelético, neurofibrosis y fibrosis del pene. En otros aspectos, la fibrosis es una fibrosis pulmonar idiopática (FPI), fibrosis quística, fibrosis masiva progresiva, cirrosis, esteatohepatitis (enfermedad del hígado graso), enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD), esteatohepatitis no alcohólica (NASH), fibrosis endomiocárdica, infarto de miocardio, fibrosis auricular, fibrosis medastinal, mielofibrosis, fibrosis retroperitoneal, fibrosis sistémica nefrogénica, queloide, enfermedad de Crohn, esclerodermia/esclerosis sistémica, artrofibrosis, enfermedad de Peyronie, contractura de Dupuytren, capsulitis adhesiva o glomeruloesclerosis focal y segmentaria. En algunos aspectos, la fibrosis es fibrosis hepática. En algunos aspectos, la fibrosis es fibrosis renal. En algunos aspectos, el sujeto que necesita tratamiento o prevención de fibrosis renal tiene una enfermedad renal crónica. En algunos aspectos, la fibrosis es la glomeruloesclerosis focal y segmentaria. En algunos aspectos, el sujeto que necesita tratamiento o prevención de la glomeruloesclerosis focal y segmentaria tiene una enfermedad renal crónica.

20 En algunos aspectos, la fibrosis es una fibrosis que no incluye la fibrosis pulmonar idiopática. En otros aspectos, la fibrosis es una fibrosis que no incluye la fibrosis quística. En otros aspectos, la fibrosis es una fibrosis que no incluye la fibrosis masiva progresiva. En algunos aspectos, la fibrosis es una fibrosis que no incluye la cirrosis. En algunos aspectos, la fibrosis es una fibrosis que no incluye la esteatohepatitis (enfermedad del hígado graso). En algunos aspectos, la fibrosis es una fibrosis que no incluye la enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD). En algunos aspectos, la fibrosis es una fibrosis que no incluye la esteatohepatitis no alcohólica (NASH). En algunos aspectos, la fibrosis es una fibrosis que no incluye la fibrosis endomiocárdica. En algunos aspectos, la fibrosis es una fibrosis que no incluye el infarto de miocardio. En algunos aspectos, la fibrosis es una fibrosis que no incluye la fibrosis auricular. En algunos aspectos, la fibrosis es una fibrosis que no incluye la fibrosis medastinal. En algunos aspectos, la fibrosis es una fibrosis que no incluye la mielofibrosis. En algunos aspectos, la fibrosis es una fibrosis que no incluye la fibrosis retroperitoneal. En algunos aspectos, la fibrosis es una fibrosis que no incluye fibrosis sistémica nefrogénica. En algunos aspectos, la fibrosis es una fibrosis que no incluye la queloide. En algunos aspectos, la fibrosis es una fibrosis que no incluye la enfermedad de Crohn. En algunos aspectos, la fibrosis es una fibrosis que no incluye esclerodermia/esclerosis sistémica. En algunos aspectos, la fibrosis es una fibrosis que no incluye artrofibrosis. En algunos aspectos, la fibrosis es una fibrosis que no incluye la enfermedad de Peyronie. En algunos aspectos, la fibrosis es una fibrosis que no incluye la contractura de Dupuytren. En algunos aspectos, la fibrosis es una fibrosis que no incluye la capsulitis adhesiva. En algunos aspectos, la fibrosis es una fibrosis que no incluye la glomeruloesclerosis focal y segmentaria. En algunos aspectos, la fibrosis es una fibrosis que no incluye lesiones fibrosas o placas en las arterias.

35 En algunos aspectos, el lípido oxidado trata o previene la inflamación del hígado, pero no altera la fibrosis hepática. En otras realizaciones, el lípido oxidado trata o previene la fibrosis hepática, pero no altera la inflamación del hígado.

40 En otros aspectos, la enfermedad o trastorno inflamatorio es inflamación del hígado, aterosclerosis, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal, colitis ulcerosa, esclerosis múltiple o psoriasis.

En algunos aspectos, la enfermedad o trastorno inflamatorio es una enfermedad o trastorno cardiovascular inflamatorio, una enfermedad o trastorno cerebrovascular o una enfermedad o trastorno vascular periférico.

45 En algunos aspectos, la enfermedad o trastorno inflamatorio es una enfermedad o trastorno cardiovascular inflamatorio seleccionado del grupo que consiste en enfermedades o trastornos oclusivos, aterosclerosis, enfermedad valvular cardíaca, estenosis, reestenosis, estenosis del implante, infarto de miocardio, enfermedad arterial coronaria, síndromes coronarios agudos, insuficiencia cardíaca congestiva, angina de pecho, isquemia miocárdica, trombosis, granulomatosis de Wegener, arteritis de Takayasu, síndrome de Kawasaki, enfermedades o trastornos autoinmunes anti-factor VIII, vasculitis necrosante de vasos pequeños, poliangeítis microscópica, síndrome de Churg y Strauss, glomerulonefritis necrotizante focal pauci-inmune, glomerulonefritis creciente, síndrome antifosfolípido, insuficiencia cardíaca inducida por anticuerpos, púrpura trombocitopénica, anemia hemolítica autoinmune, autoinmunidad cardíaca, enfermedad o trastorno de Chagas y autoinmunidad de linfocitos anti-adyuvantes T.

50 En algunos aspectos, la enfermedad o trastorno inflamatorio es una enfermedad o trastorno cerebrovascular seleccionado del grupo que consiste en accidente cerebrovascular, inflamación cerebrovascular, hemorragia cerebral e insuficiencia arterial vertebral.

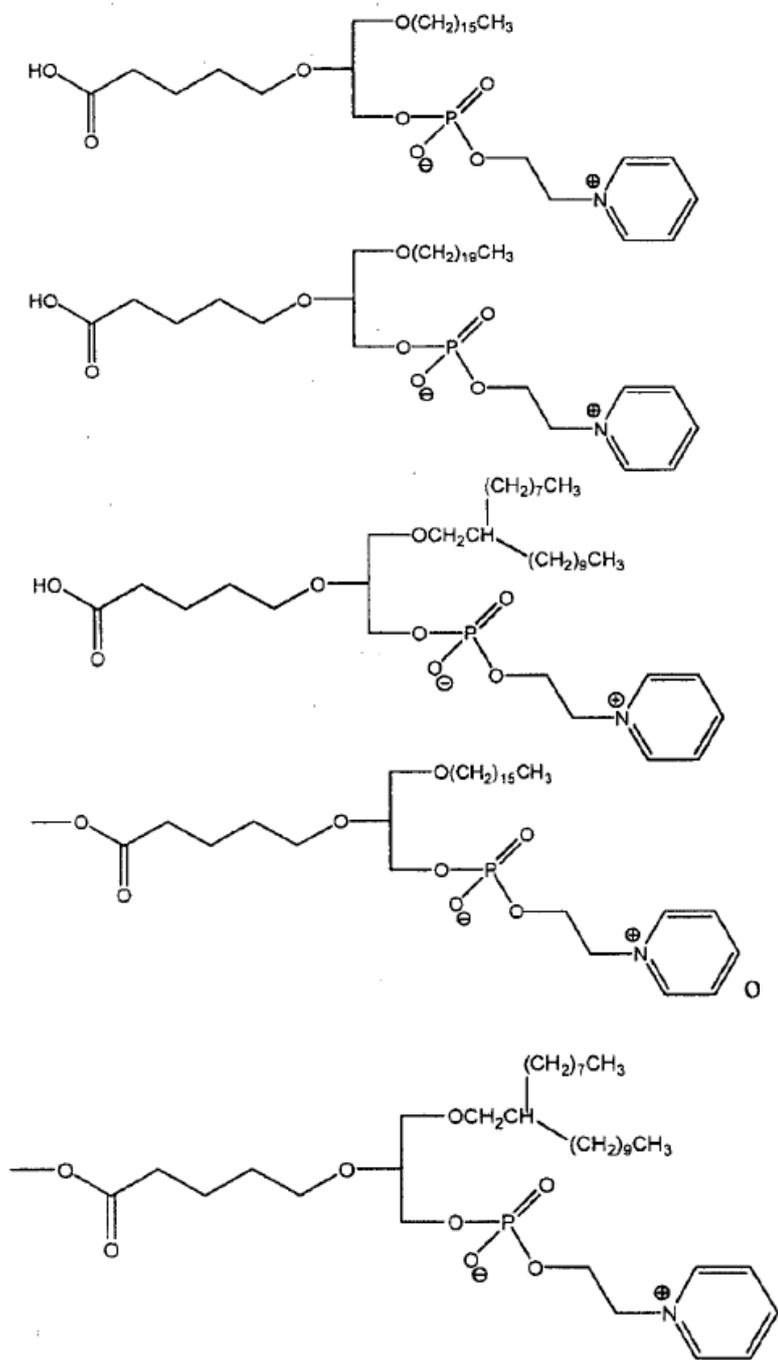
55 En algunos aspectos, la enfermedad o trastorno inflamatorio es una enfermedad o trastorno vascular periférico que se selecciona del grupo que consiste en gangrena, vasculopatía diabética, enfermedad intestinal isquémica, trombosis, retinopatía diabética y nefropatía diabética.

En otros aspectos, la actividad de TLR2, TLR4 y/o CD14 se inhibe en una célula tratada. En algunos aspectos, se inhibe la actividad de TLR2 y TLR4; se inhibe la actividad de TLR4 y CD14; se inhibe la actividad de TLR2 y CD14; o se inhibe la actividad de TLR2, TLR4 y CD14.

5 En otros aspectos, la esteatosis en un sujeto tratado con un lípido oxidado de la invención no se reduce, en comparación con la de los sujetos no tratados o tratados con placebo. En otros aspectos, la formación lobular hepática en un sujeto tratado con un lípido oxidado de la invención disminuye en comparación con la de los sujetos no tratados o tratados con placebo. En otros aspectos, la formulación lobular del hígado en un sujeto tratado con un lípido oxidado de la invención no disminuye, en comparación con la de los sujetos no tratados o tratados con placebo. En otros aspectos, la esteatosis en un sujeto tratado con un lípido oxidado de la invención no se reduce y la formación lobular hepática en un sujeto tratado con un lípido oxidado de la invención se reduce, en comparación con los sujetos no tratados o tratados con placebo, respectivamente. En otros aspectos, la esteatosis en un sujeto tratado con un lípido oxidado de la invención no se reduce, en comparación con los sujetos no tratados o tratados con placebo, respectivamente. En otros aspectos, los macrófagos tipo células espumosas se reducen en un sujeto tratado con un lípido oxidado de la invención, en comparación con los sujetos no tratados o tratados con placebo. En algunos aspectos, la formación lobular hepática y los macrófagos tipo células espumosas en un sujeto tratado con un lípido oxidado de la invención disminuyen, en comparación con los sujetos no tratados o tratados con placebo, respectivamente. En algunos aspectos, la inflamación lobular del hígado en un sujeto tratado con un lípido oxidado de la invención disminuye en comparación con la de los sujetos no tratados o tratados con placebo. En algunos aspectos, la inflamación lobular del hígado y los macrófagos tipo células espumosas en un sujeto tratado con un lípido oxidado de la invención disminuyen, en comparación con los sujetos no tratados o tratados con placebo, respectivamente. En algunos aspectos, la formación lobular hepática, la inflamación lobular hepática y los macrófagos tipo células espumosas en un sujeto tratado con un lípido oxidado de la invención disminuyen, en comparación con los sujetos no tratados o tratados con placebo, respectivamente. En algunos aspectos, la formación lobular hepática en un sujeto tratado con un lípido oxidado de la invención disminuye en aproximadamente 5% a aproximadamente 50% (por ejemplo, aproximadamente 5%, aproximadamente 10%, aproximadamente 20%, aproximadamente 30%, aproximadamente 40%, aproximadamente 50%, o cualquier intervalo entre los valores especificados) comparado con el de sujetos no tratados o tratados con placebo. En algunos aspectos, la formación de macrófagos tipo células espumosas en un sujeto tratado con un lípido oxidado de la invención se reduce en aproximadamente 5% a aproximadamente 50% (por ejemplo, aproximadamente 5%, aproximadamente 10%, aproximadamente 20%, aproximadamente 30%, aproximadamente 40%, aproximadamente 50%, o cualquier intervalo entre los valores especificados) en comparación con el de sujetos no tratados o tratados con placebo. En algunos aspectos, la inflamación lobular del hígado en un sujeto tratado con un lípido oxidado de la invención disminuye en aproximadamente 5% a aproximadamente 50% (por ejemplo, aproximadamente 5%, aproximadamente 10%, aproximadamente 20%, aproximadamente 30%, aproximadamente 40%, aproximadamente 50%, o cualquier intervalo entre los valores especificados) en comparación con el de los sujetos no tratados o tratados con placebo.

En algunos aspectos, el lípido oxidado es un compuesto que tiene una estructura según cualquiera de las Fórmulas 1, 2, 3, 4 o 5 como se describe en este documento.

40 En algunos aspectos, el lípido oxidado es un compuesto que tiene una estructura de:

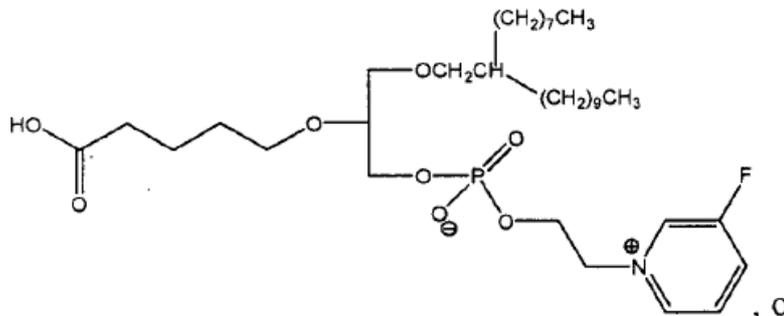


o su estereoisómero, una mezcla estereoisomérica o su sal.

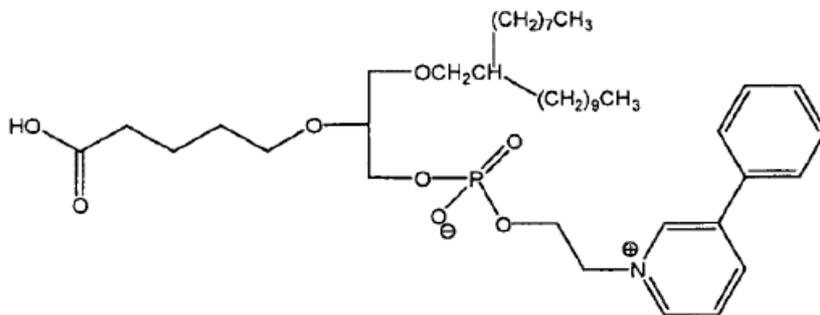
- En algunos aspectos, el lípido oxidado es un compuesto seleccionado del grupo que consiste en éster etílico de piridinio del ácido (R)-1-hexadecil-2-(4'-carboxi)butil-sn-glicero-3-fosfórico (VB-701); piridinio-etil-éster del ácido (R)-1-eicosanil-2-(4'-carboxi)butil-sn-glicero-3-fosfórico (VB-702); piridinio-etil-éster del ácido (R)-1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboxi)butil-sn-glicero-3-fosfórico (VB-703); piridinio-etil-éster del ácido (R)-1-hexadecil-2-(4'-carboximetil)butil-sn-glicero-3-fosfórico (VB-704); y piridinio-etil-éster del ácido (R)-1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboximetil)butil-sn-glicero-3-fosfórico (VB-705). En algunos aspectos, el compuesto tiene una pureza enantiomérica de aproximadamente 80% ee o más, por ejemplo, aproximadamente 80% ee, aproximadamente 85% ee, aproximadamente 90% ee, aproximadamente 91% ee, aproximadamente 92% ee, aproximadamente 93% ee, aproximadamente 94% ee, aproximadamente 95% ee, aproximadamente 96% ee, aproximadamente 97% ee, aproximadamente 98% ee, aproximadamente 99% ee, aproximadamente 99,5% ee o más. En otros aspectos, el compuesto tiene una pureza enantiomérica de aproximadamente 80% ee a aproximadamente 100% ee, aproximadamente 85% ee a aproximadamente 100% ee, aproximadamente 90% ee a aproximadamente 100% ee, aproximadamente 95% ee a

aproximadamente 100%, aproximadamente 80% ee a aproximadamente 99,5% ee, aproximadamente 85% ee a aproximadamente 99,5% ee, aproximadamente 90% ee a aproximadamente 99,5% ee, aproximadamente 95% ee a aproximadamente 99,5%, o cualquier intervalo de los mismos.

En algunos aspectos, el lípido oxidado es un compuesto que tiene una estructura de:



5



o su estereoisómero, una mezcla estereoisomérica o su sal.

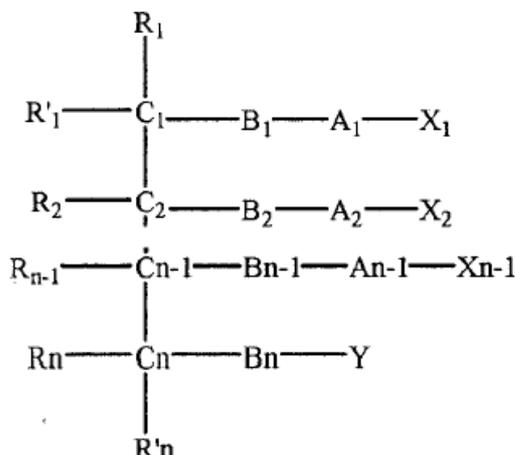
En algunos aspectos, el lípido oxidado es un compuesto seleccionado del grupo que consiste en el 3-fluoro-piridinio-  
 10 etil-éster del ácido (R)-1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboxi)butil-glicero-sn-3-fosfórico (VB-706) y 3-fenil-piridinio-etil-éster  
 del ácido (R)-1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboxi)butil-glicero-sn-3-fosfórico (VB -707). El prefijo "(R)-" se refiere a la  
 configuración del carbono C-2 de la cadena principal de glicerol. En algunos aspectos, el compuesto tiene una  
 pureza enantiomérica de aproximadamente 80% ee o más, por ejemplo, aproximadamente 80% ee,  
 aproximadamente 85% ee, aproximadamente 90% ee, aproximadamente 91% ee, aproximadamente 92% ee,  
 aproximadamente 93% ee, aproximadamente 94% ee, aproximadamente 95% ee, aproximadamente 96% ee,  
 15 aproximadamente 97% ee, aproximadamente 98% ee, aproximadamente 99% ee, aproximadamente 99,5% ee o  
 más. En otros aspectos, el compuesto tiene una pureza enantiomérica de aproximadamente 80% ee a  
 aproximadamente 100% ee, aproximadamente 85% ee a aproximadamente 100% ee, aproximadamente 90% ee a  
 aproximadamente 100% ee, aproximadamente 95% ee a aproximadamente 100%, aproximadamente 80% ee a  
 20 aproximadamente 99,5% ee, aproximadamente 85% ee a aproximadamente 99,5% ee, aproximadamente 90% ee a  
 aproximadamente 99,5% ee, aproximadamente 95% ee a aproximadamente 99,5%, o cualquier intervalo de los  
 mismos.

En otros aspectos, el compuesto lipídico oxidado trata o previene la fibrosis (p. ej., la fibrosis hepática, fibrosis renal,  
 glomeruloesclerosis focal y segmentaria, o cualquier otra fibrosis descrita en este documento), como el telmisartán, o  
 25 mejor que éste. En otros aspectos, el compuesto lipídico oxidado reduce la inflamación del hígado, como el  
 telmisartán, o mejor que éste. En otros aspectos, el compuesto lipídico oxidado reduce la fibrosis hepática como el  
 telmisartán, o mejor que éste. En otros aspectos, el compuesto lipídico oxidado de la invención trata o previene la  
 fibrosis renal como el telmisartán, o mejor que éste. En otros aspectos, el compuesto lipídico oxidado de la invención  
 trata o previene la glomeruloesclerosis focal y segmentaria, como el telmisartán, o mejor que éste.

En otros aspectos, el compuesto lipídico oxidado inhibe la formación de la fosforilación inducida por ligando de IKK,  
 30 ERK, AKT o p38 comparable o más que VB-201 (1-hexadecil-2-(4'-carboxi)butil-glicero-3 -fosfocolina o 1-hexadecil-  
 2-(4'-carboxibutil)-glicerol-3-fosfocolina) inhibe la formación de fosforilación inducida por ligando de IKK, ERK, AKT o  
 p38. En otros aspectos, el compuesto inhibe la migración celular inducida por ligando comparable o más que VB-201  
 inhibe la migración celular inducida por ligando. En otros aspectos, el ligando es LPS, PGN, MCPI o PAM3. En otros  
 aspectos, la migración celular es la migración de monocitos.

35 En otros aspectos, el sujeto es un mamífero o un ser humano. En otros aspectos, el ser humano es una mujer. En  
 otros aspectos, el ser humano es un hombre.

En algunos aspectos, el lípido oxidado de la descripción es un compuesto que tiene una estructura según la Fórmula 6:



Fórmula 6

5 o su estereoisómero, una mezcla estereoisomérica o su sal,

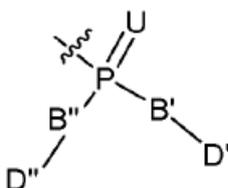
donde:

n es un número entero de 1 a 6, en el que cuando n es 1, C<sub>n</sub>, B<sub>n</sub>, R<sub>n</sub> e Y no están, y C<sub>1</sub> está unido a R'<sub>n</sub>;

10 cada uno de B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, ... B<sub>n-1</sub> y B<sub>n</sub> se seleccionan independientemente del grupo que consiste en oxígeno, azufre, nitrógeno, fósforo y silicio, en el que cada uno de dichos nitrógeno, fósforo y silicio está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en alquilo, halo, cicloalquilo, arilo, hidroxilo, tiohidroxilo, alcoxi, ariloxi, tioariloxi, tioalcoxi y oxo;

cada uno de A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, ... A<sub>n-1</sub> y A<sub>n</sub> se seleccionan independientemente del grupo que consiste en CR<sup>n</sup>R<sup>m</sup>, C=O y C=S,

Y es un resto que tiene la fórmula general:

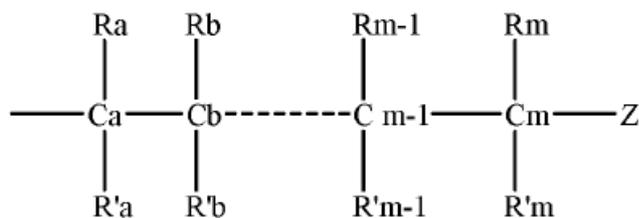


15 donde:

cada uno de U, B' y B'' se selecciona independientemente del grupo que consiste en azufre y oxígeno; y

cada uno de D' y D'' se selecciona independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, una carga negativa, alquilo, alquilo sustituido con amino, alquilo sustituido con heteroalíclico, alquilo sustituido con heteroarilo, cicloalquilo, fosfonato y tiofosfonato; y

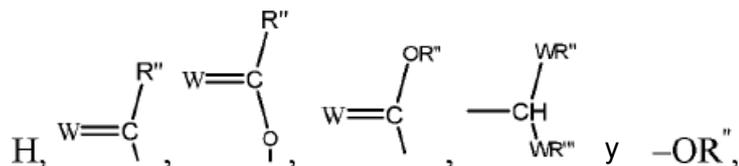
20 cada uno de X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>, ... X<sub>n-1</sub> es independientemente un hidrocarburo saturado o insaturado que tiene la fórmula general 7:



Fórmula 7

donde m es un número entero de 1 a 26; y

Z se selecciona del grupo que consiste en:



donde W se selecciona del grupo que consiste en oxígeno y azufre;

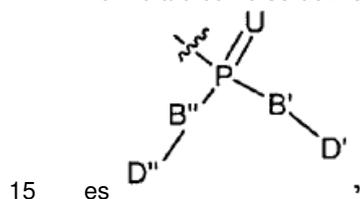
donde al menos uno de  $X_1, X_2, \dots, X_{n-1}$  comprende una Z distinta de hidrógeno,

5 y donde:

cada uno de  $R_1, R'_1, R_2, \dots, R_{n-1}, R_n, R'_n$ , cada uno de  $R''$  y  $R'''$  y cada uno de  $R_a, R'_a, R_b,$

10  $R'_b, \dots, R_{m-1}, R'_{m-1}, R_m$  y  $R'_m$  se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, alquenoilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, halo, trihalometilo, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, tiohidroxilo, tioalcoxi, tioariloxi, fosfonato, fosfato, fosfinilo, sulfonilo, sulfinilo, sulfonamida, amida, carbonilo, tiocarbonilo, C-carboxi, O-carboxi, C-carbamato, N-carbamato, C-tiocarboxi, S-tiocarboxi y amino, o, como alternativa, al menos dos de  $R_1, R'_1, R_2, \dots, R_{n-1}, R_n, R'_n$  y/o al menos dos de  $R_a, R'_a, R_b, R'_b, \dots, R_{m-1}, R'_{m-1}, R_m$  y  $R'_m$  forman al menos un anillo aromático, heteroaromático, alicíclico o heteroalicíclico de cuatro, cinco o seis miembros.

En algunos aspectos, un lípido oxidado de la descripción es un compuesto que tiene una estructura según la Fórmula 6 como se define en este documento, o un estereoisómero, una mezcla estereoisomérica, o su sal, donde Y



donde:

n es 3;

cada uno de U, B' y B'' es oxígeno; y

20 donde uno de D' y D'' es un alquilo heteroalicíclico sustituido o un alquilo heteroarilo sustituido, y el otro de D' y D'' es hidrógeno o una carga negativa. En algunos aspectos, uno de D' y D'' es un alquilo heteroarilo sustituido, y el otro de D' y D'' es hidrógeno o una carga negativa.

En algunos aspectos, la descripción se refiere a análogos deuterados, profármacos, hidratos y solvatos de cualquiera de los lípidos oxidados descritos en este documento (por ejemplo, que tienen una estructura según las Fórmulas 1-6).

## 25 Ejemplos

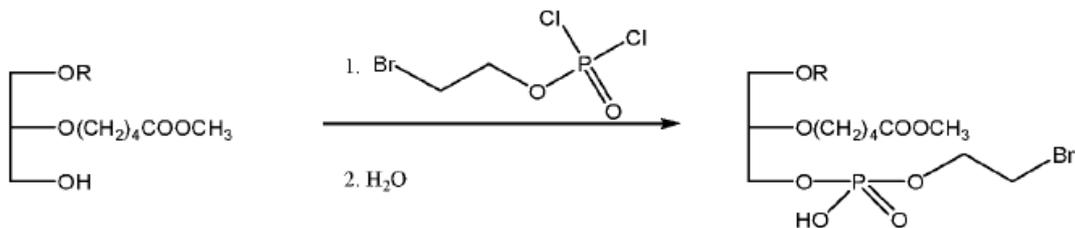
A continuación se hace referencia a los siguientes ejemplos que, junto con las descripciones anteriores, ilustran algunas realizaciones de la invención de manera no limitativa.

### Ejemplo 1

Procedimientos sintéticos generales

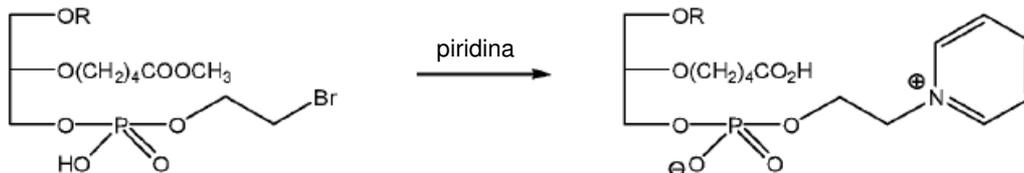
### 30 Procedimiento A

Éster bromoetílico del ácido 1-alkil-2-(4'-carboximetil)butil-glicero-sn-3-fosfórico



5 El 1-alkil-2-(4'-carboximetil)butil-glicerol se secó por destilación azeotrópica con benceno. Después de enfriar a temperatura ambiente con nitrógeno, se añadió cloruro de (2-bromoetil)-fosforilo (1,5 eq) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos. La mezcla de reacción se enfrió luego en un baño de hielo. Luego se añadió piridina (anhidra, 1,2 eq) gota a gota. La mezcla de reacción se dejó agitar a temperatura ambiente durante la noche. Después de lo cual, el disolvente se eliminó a presión reducida. Luego se añadió agua y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 1 hora. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se extrajo con éter. La fase orgánica combinada se lavó con agua, se secó sobre sulfato de sodio, y luego se concentró a presión reducida para producir éster bromoetílico del ácido 1-alkil-2-(4'-carboximetil)butil-glicero-sn-3-fosfórico.

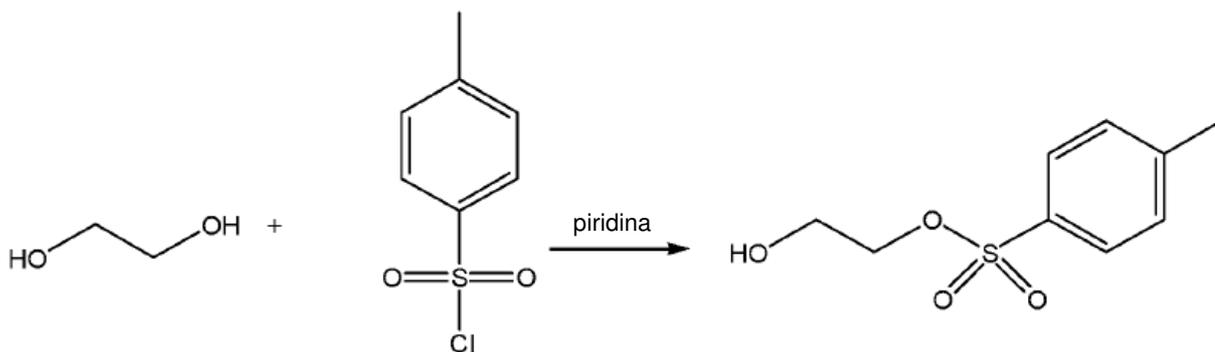
10 Piridinio-etil-éster del ácido 1-alkil-2-(4'-carboxi)butil-glicero-sn-3-fosfórico



15 El éster bromoetílico del ácido 1-alkil-2-(4'-carboximetil)butilglicero-sn-3-fosfórico se disolvió en piridina (anhidra). La mezcla de reacción resultante se calentó a reflujo durante 22 h. Después de eliminar la piridina a presión reducida, el residuo se disolvió en metanol. Luego se añadió bicarbonato de sodio (4,5 eq). La mezcla resultante se calentó a reflujo durante 1 hora y se filtró en caliente. El residuo obtenido después del lavado del filtrado con metanol y la eliminación del disolvente a presión reducida se purificó por cromatografía en una columna de gel de sílice. Elución con mezclas de CHCl<sub>3</sub>: MeOH (5-20%, v/v), seguido de CHCl<sub>3</sub>: MeOH: H<sub>2</sub>O (70:26:4, v/v/v).

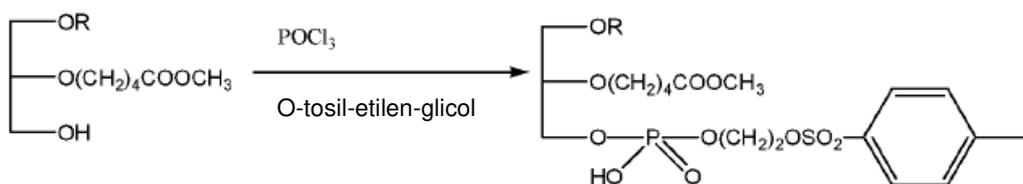
Procedimiento B

20 O-tosil etilenglicol



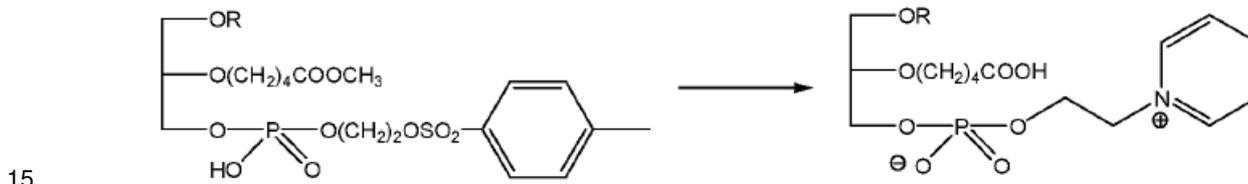
25 Se añadió gota a gota una solución de cloruro de p-toluenosulfonilo (7 g) en diclorometano (anhidro, 50 ml) a 0°C a una solución agitada de etilenglicol (anhidro, 20 ml) en diclorometano (anhidro, 100 ml) y piridina (anhidro, 7 ml). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche y luego se vertió en hielo y se dejó alcanzar la temperatura ambiente. La mezcla de reacción se extrajo con diclorometano (3 x 100 ml) y la fase orgánica combinada se lavó secuencialmente con agua (150 ml), ácido sulfúrico (2%, 100 ml), agua (150 ml), bicarbonato de sodio saturado (150 ml) y nuevamente con agua (150 ml). La eliminación del disolvente a presión reducida produjo O-tosil etilenglicol 7,74 g como un aceite incoloro.

Éster de tosiletilo del ácido 1-alkil-2-(4'-carboximetil)butil-glicero-sn-3-fosfórico



5 A una solución de 1-alkil-2-(4'-carboximetil)butilglicerol (secado por destilación azeotrópica con benceno) y trietilamina (3 eq) en THF seco, una solución enfriada con hielo de oxiclórico de fósforo (1,2 eq) en THF seco se añadió gota a gota (durante 2 horas). La mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 15 minutos adicionales y luego a temperatura ambiente de 45 minutos. Después de lo cual, la mezcla de reacción se enfrió nuevamente a 0°C. Se añadió gota a gota una solución de O-tosil etilenglicol (1,1 eq, secados por destilación azeotrópica a partir de benceno) en THF seco durante 30 minutos. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche y luego se filtró. El disolvente se eliminó a presión reducida. El residuo obtenido se disolvió en agua y se calentó a reflujo durante 1 hora. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se extrajo con éter. La fase orgánica combinada se lavó con agua y se concentró a presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía sobre gel de sílice. La elución con una mezcla de CHCl<sub>3</sub>: MeOH (5-20%, v/v), seguido de la eliminación del disolvente a presión reducida produjo tosiletil éster del ácido 1-alkil-2-(4'-carboximetil)buti-1-glicero-sn-3-fosfórico.

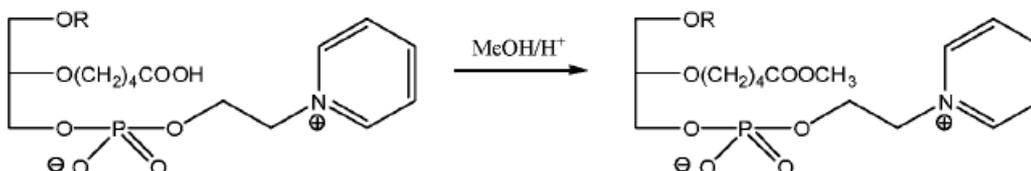
Piridinio-etil-éster del ácido 1-alkil-2-(4'-carboxi)butil-glicero-sn-3-fosfórico



15 Se agitó una solución de tosiletil éster del ácido 1-alkil-2-(4'-carboximetil)butil-glicero-sn-3-fosfórico en piridina y se calentó a 40°C durante 6 horas. La solución se enfrió y se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Después de eliminar el disolvente a presión reducida, el residuo obtenido se purificó por cromatografía sobre gel de sílice. Se usó una mezcla de CHCl<sub>3</sub>: MeOH (5-20%, v/v) como eluyente inicial, que fue seguido por una mezcla de CHCl<sub>3</sub>: MeOH: H<sub>2</sub>O (70: 26: 4, v/v/v). Las fracciones recogidas se concentraron a presión reducida. El residuo obtenido se disolvió luego en cloroformo, que se secó sobre sulfato de sodio. La eliminación de cloroformo a presión reducida produjo el piridinioetil-éster del ácido 1-alkil-2-(4'-carboxi)butil-glicero-sn-3-fosfórico purificado.

25 Los procedimientos generales anteriores son aplicables para la síntesis del lípido oxidado descrito en este documento. Para la metilación del éster metílico, hay un paso adicional en el procedimiento: metilación en metanol y HCl.

Procedimiento general para la formación de éster metílico



30 El piridinio-etil-éster del ácido 1-alkil-2-(4'-carboxi)butil-glicero-sn-3-fosfórico se disolvió en metanol. Se añadió ácido clorhídrico a la solución de metanol y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. Después de lo cual, se añadió agua a la mezcla de reacción. La mezcla resultante se extrajo con CHCl<sub>3</sub>. La fase orgánica se lavó secuencialmente con agua, bicarbonato de sodio saturado y nuevamente con agua, y luego se secó sobre sulfato de sodio. La eliminación del disolvente a presión reducida produjo el éster etílico de piridinio del ácido 1-alkil-2-(4'-carboximetil)butil-glicero-sn-3-fosfórico.

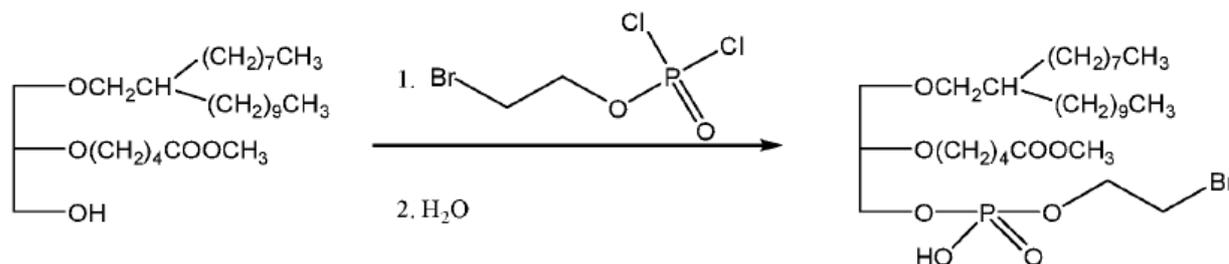
Ejemplo 2

35 Síntesis de VB-703

Se sintetizó VB-703 mediante dos procedimientos sintéticos según los procedimientos generales descritos anteriormente.

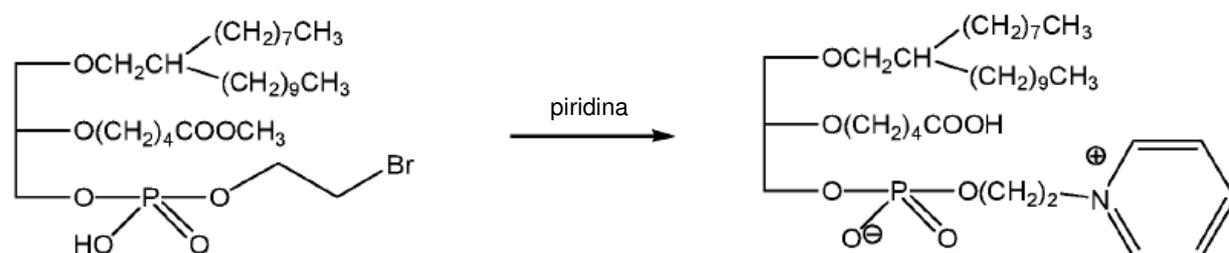
Procedimiento A

Éster bromoetílico del ácido 1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboximetil)butil-glicero-sn-3-fosfórico



5 El 1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboximetil)butilglicerol (13,75 g) se disolvió en benceno (100 ml) y se secó por destilación azeotrópica de 50 ml de benceno. Después de enfriar a temperatura ambiente con nitrógeno, se añadió cloruro de (2-bromoetil)-fosforilo (5,43 ml, 10,25 g). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos y luego se enfrió a 0°C. Se añadió piridina (anhidra, 2,73 ml, 2,68 g) gota a gota. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche y luego el disolvente se eliminó a presión reducida. Se añadió agua (100 ml) y la mezcla se calentó a reflujo durante 1 hora. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se extrajo con éter (3 x 100 ml) y se lavó con agua (100 ml). El secado sobre sulfato de sodio y la eliminación del disolvente a presión reducida produjeron 15,06 g del éster bromoetílico del ácido 1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboximetil)butilglicero-sn-3-fosfórico.

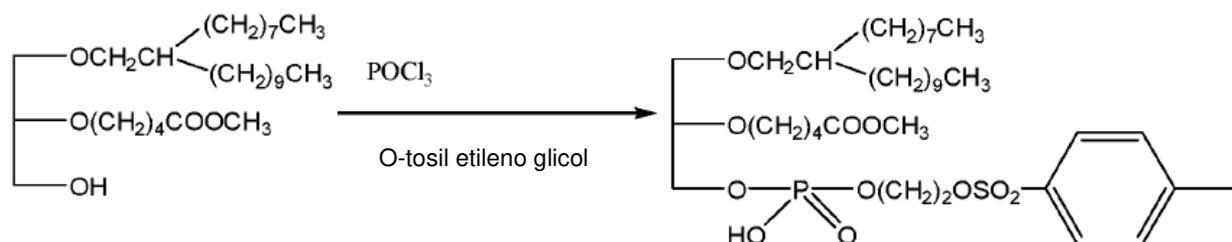
Éster piridinio-etílico del ácido 1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboxi)butil-glicero-sn-3-fosfórico



15 El éster bromoetílico del ácido 1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboximetil)butil-glicero-sn-3-fosfórico (15,06 g) se disolvió en piridina (anhidra, 50 ml) y la mezcla de reacción se sometió a reflujo durante 22 horas. Después de eliminar el disolvente a presión reducida, el residuo se disolvió en metanol (100 ml) y se añadió bicarbonato de sodio (10,68 g). La solución resultante se calentó a reflujo durante 1 hora (h) y se filtró en caliente. El residuo obtenido, después del lavado del filtrado con metanol (2 x 15 ml) y la eliminación del disolvente a presión reducida, se purificó por cromatografía en una columna de gel de sílice (213 g). Elución con mezclas de CHCl<sub>3</sub>: MeOH (5-20%, v/v) seguido de CHCl<sub>3</sub>: MeOH: H<sub>2</sub>O (70: 26: 4, v/v/v). El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se disolvió en cloroformo. El secado de la solución sobre sulfato de sodio, la filtración y la eliminación del disolvente a presión reducida produjeron 2,42 g de éster de piridinioetilo del ácido 1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboxi)butilglicero-sn-3-fosfórico.

Procedimiento B

25 Éster tosiletil del ácido 1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboximetil)butil-glicero-sn-3-fosfórico

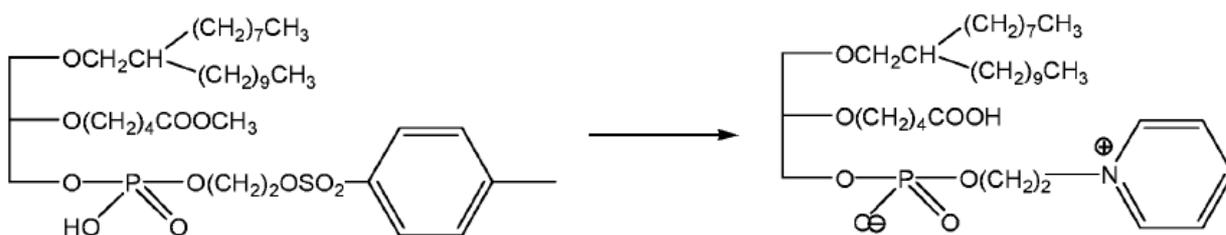


Se añadió gota a gota una solución de 1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboximetil)butilglicerol (7,47 g, secada por destilación azeotrópica con benceno) y trietilamina (7 ml) en THF seco (80 ml) durante 2 horas a 0°C a una solución agitada de oxiclورو de fósforo (2 ml) en THF seco (50 ml). La mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 15

minutos más y a temperatura ambiente durante 45 minutos más. La mezcla de reacción se enfrió nuevamente a 0°C y se añadió gota a gota una solución de O-tosil etilenglicol (3,65 g, secada por destilación azeotrópica con benceno) en THF seco (50 ml) durante 30 minutos. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche, luego se filtró y el disolvente se eliminó a presión reducida. El residuo se disolvió en agua (100 ml), se calentó a reflujo durante 1 hora, luego se enfrió y se extrajo con éter (2 x 100 ml). La fase orgánica combinada se lavó con agua (100 ml) y el disolvente se eliminó a presión reducida. El residuo (9,62 g) se purificó por cromatografía en una columna de gel de sílice (250 g). La elución se realizó con mezclas de CHCl<sub>3</sub>: MeOH (5-20%, v/v) y la eliminación del disolvente a presión reducida produjo 6,90 g de éster tosiletil del ácido 1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboximetil)butilglicero-sn-3-fosfórico.

5

10 Éster de piridinioetilo del ácido 1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboxi)butil-glicero-sn-3-fosfórico



Se agitó una solución de tosiletil éster del ácido 1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboximetil)butil-glicero-sn-3-fosfórico (2,20 g) en piridina (30 ml) y se calentó a 40°C durante 6 horas, luego se enfrió y se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Después de eliminar el disolvente a presión reducida, el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (95 g). La elución se realizó con mezclas de CHCl<sub>3</sub>: MeOH (5-20%, v/v) seguido de CHCl<sub>3</sub>: MeOH: H<sub>2</sub>O (70: 26: 4, v/v/v). El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se disolvió en cloroformo. El secado de la solución sobre sulfato de sodio, la filtración y la eliminación del disolvente a presión reducida produjeron 0,4 g del éster de tosiletilo del ácido 1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboxi)butil-glicero-sn-3-fosfórico.

15

Espectrometría de masas (MS): Calculado para C<sub>35</sub>H<sub>64</sub>NO<sub>8</sub>P 657. Encontrado (ESI +) 658 [M+H]<sup>+</sup>, 680 [M+Na]<sup>+</sup> y 696 [M+K]<sup>+</sup>.

20

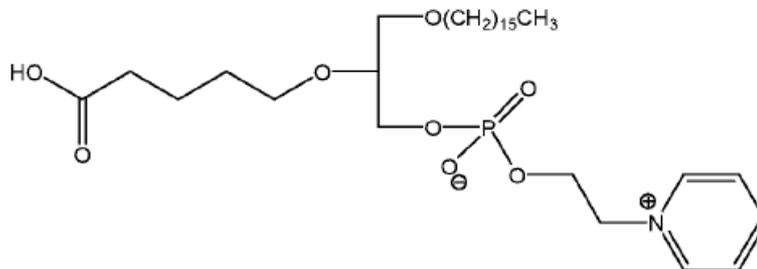
<sup>1</sup>H-RMN (700MHz, CDCl<sub>3</sub>, TMS ref.): δ 0,88 (t, 6H, 2 CH<sub>3</sub>), 1,24-1,29 (m, 32H, 16 CH<sub>2</sub>), 1,53 (m, 1H, CH), 1,59 (tt, 2H, CH<sub>2</sub>), 1,69 (m, 1H, CH<sub>2</sub>), 2,34 (t, 2H, CH<sub>2</sub>), 3,29 (dt, 2H, CH<sub>2</sub>), 3,41 (m, 1H, CH<sub>2</sub>), 3,46 (m, 1H, CH<sub>2</sub>), 3,55 (m, 1H, CH<sub>2</sub>), 3,60 (m, 1H, CH), 3,66 (m, 1H, CH<sub>2</sub>), 3,77 (m, 1H, CH<sub>2</sub>), 3,88 (s ancha, 1H, CH<sub>2</sub>), 4,33 (ancho, 2H, CH<sub>2</sub>), 4,87 ((ancho, 2H, CH<sub>2</sub>), 8,07 (t, 2H, meta-aromático), 8,49 (t, 1H, para-aromático), 9,03 (d, 2H, orto-aromático).

25

<sup>13</sup>C-RMN: δ 14,17, 22,07, 22,85, 26,99, 27,01, 29,50, 29,54, 29,83, 29,84, 29,88, 30,29, 31,42, 31,46, 32,11, 34,09, 38,35, 62,41, 63,86, 65,99, 70,20, 71,16, 75,20, 78,29 (CH), 128,35 (meta aromático), 145,66 (para aromático), 145,75 (orto aromático), 176,67 (CO<sub>2</sub>H).

Ejemplo 3

Síntesis de VB-701

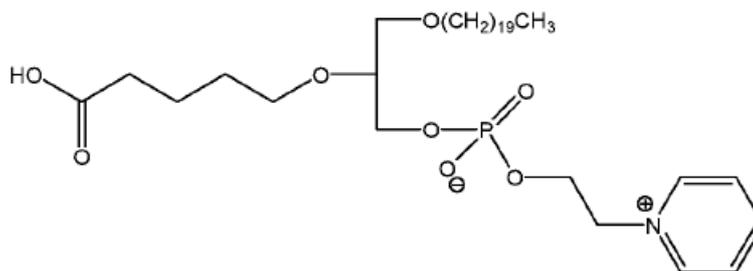


30

Se sintetizó el piridinio-etil-éster del ácido 1-hexadecil-2-(4'-carboxi)butil-glicero-sn-3-fosfórico (VB-701) siguiendo el procedimiento general A como se describe en el Ejemplo 1. Espectrometría de masas (MS): Calculado para C<sub>31</sub>H<sub>56</sub>NO<sub>8</sub>P 601, encontrado (ESI+) 602 [M+H]<sup>+</sup> y 624 [M+Na]<sup>+</sup>.

Ejemplo 4

35 Síntesis de VB-702

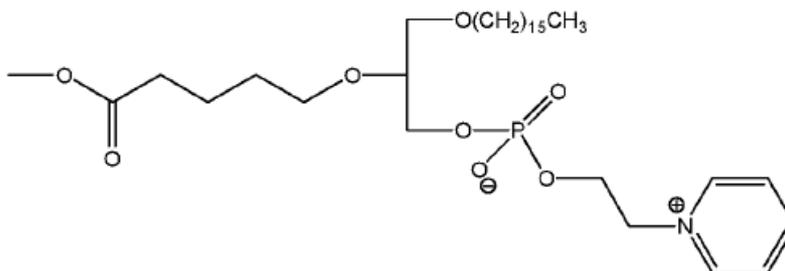


El éster etílico de piridinio del ácido 1-eicosanil-2-(4'-carboxi)butil-glicero-sn-3-fosfórico (VB-702) se sintetizó siguiendo el procedimiento general A como se describe en el Ejemplo 1. Espectrometría de masas (MS): Calculado para  $C_{35}H_{64}NO_8P$  657,4, Encontrado (ESI +) 658,5  $[M+H]^+$  y 680,5  $[M+Na]^+$ .

- 5  $^1H$ -RMN (700MHz,  $CDCl_3$ , TMS ref):  $\delta$  089 (t, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,27-1,32 (m, 34H, 17 CH<sub>2</sub>), 1,54 (tt, 2H, CH<sub>2</sub>), 1,60 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1,66 (m, 1H, CH<sub>2</sub>), 1,73 (m, 1H, CH<sub>2</sub>), 2,31 (ancho, t, 2H, CH<sub>2</sub>), 3,41 (m, 1H, CH<sub>2</sub>), 3,42 (m, 1H, CH<sub>2</sub>), 3,47 (m, 1H, CH<sub>2</sub>), 3,56 (m, 1H, CH), 3,58 (m, 1H, CH<sub>2</sub>), 3,65 (m, 1H, CH<sub>2</sub>), 3,80 (m, 1H, CH<sub>2</sub>), 3,88 (m, 1H, CH<sub>2</sub>), 4,38 (ancho, 2H, CH<sub>2</sub>), 4,95 (ancho, 2H, CH<sub>2</sub>), 8,10 (t, 2H, aromático), 8,52 (t, 1H, aromático), 9,10 (ancho, 2H, aromático).  $^{13}C$ -RMN:  $\delta$  14,22, 22,41, 22,99, 29,68, 29,85, 29,98-30,02, 32,26, 35,24, 62,51, 64,24, 66,02, 70,39, 70,56, 72,17, 78,27 (CH), 128,47 (aromático), 145,72 (aromático), 146,09 (aromático), 179,08 (CO<sub>2</sub>H).
- 10

#### Ejemplo 5

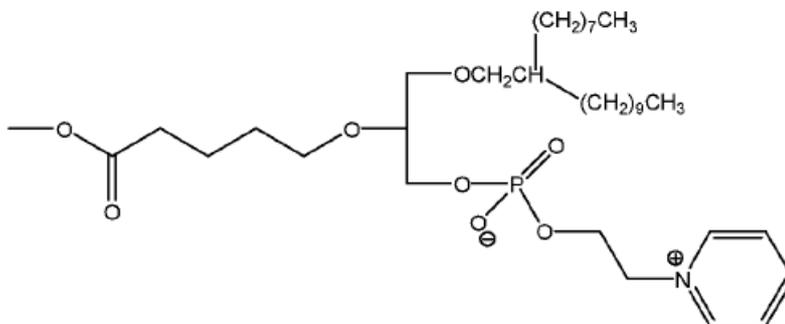
##### Síntesis de VB-704



- 15 Se sintetizó el piridinio-etil-éster del ácido 1-hexadecil-2-(4'-carboximetil)butil-glicero-sn-3-fosfórico (VB-704) siguiendo el procedimiento general para la formación del éster metílico como se describe en el Ejemplo 1. Espectrometría de masas (MS): Calculado para  $C_{32}H_{58}NO_8P$  615; Encontrado (ESI +) 616  $[M+H]^+$  y 638  $[M+Na]^+$ .

#### Ejemplo 6

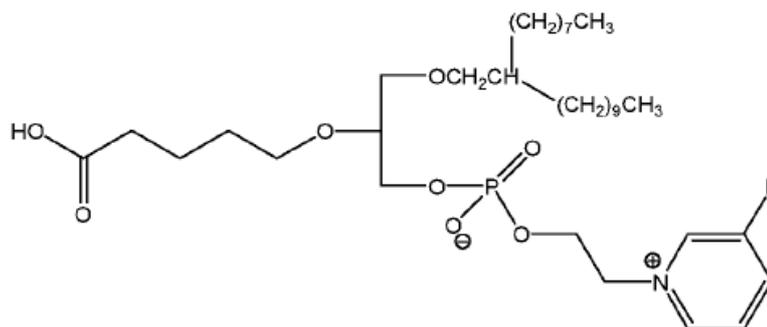
##### Síntesis de VB-705



- 20 El piridinio-etil-éster del ácido 1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboximetil)butil-glicero-sn-3-fosfórico (VB-705) se sintetizó siguiendo el procedimiento general para la formación del éster metílico como se describe en el Ejemplo 1. Espectrometría de masas (MS): Calculado para  $C_{36}H_{66}NO_8P$  671; Encontrado (ESI +) 672  $[M+H]^+$  y 694  $[M+Na]^+$ .

#### Ejemplo 7

##### Síntesis de VB-706



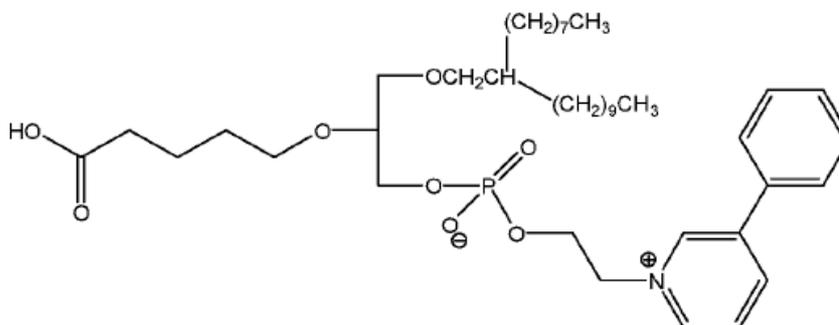
El éster de 3-fluoro-piridinio-etilo del ácido 1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboxi)butil-glicero-sn-3-fosfórico (VB-706) se sintetizó siguiendo el procedimiento general B como se describe en Ejemplo 1. Espectrometría de masas (MS): Calculado para  $C_{35}H_{63}FNO_8P$  675,43. Encontrado (ESI +) 676,58  $[M+H]^+$  y 698,57  $[M+Na]^+$ .

- 5  $^1H$ -RMN (700MHz,  $CDCl_3$ , TMS ref):  $\delta$  0,88 (t, 6H, 2  $CH_3$ ), 1,26-1,30 (m, 32H, 16  $CH_2$ ), 1,53 (m, 1H, CH), 1,60 (tt, 2H,  $CH_2$ ), 1,69 (m, 1H,  $CH_2$ ), 2,31 (t, 2H,  $CH_2$ ), 3,30 (dt, 2H,  $CH_2$ ), 3,42 (m, 1H,  $CH_2$ ), 3,46 (m, 1H,  $CH_2$ ), 3,55 (m, 1H,  $CH_2$ ), 3,60 (m, 1H,  $CH_2$ ), 3,68 (m, 1H,  $CH_2$ ), 3,76 (m, 1H,  $CH_2$ ), 3,89 (m, 1H,  $CH_2$ ), 4,31 (ancho, 2H,  $CH_2$ ), 4,88 (ancho, 2H,  $CH_2$ ), 8,14 (ancho, 1H, meta-aromático), 8,35 (t, 1H, para-aromático), 8,96 (d, 1H, orto-aromático), 9,25 (s, 1H, orto-aromático).
- 10  $^{13}C$ -RMN:  $\delta$  14,18, 22,39, 22,88, 27,02, 27,04, 29,50-30,30, 31,44, 31,48, 32,14, 35,00, 38,37, 63,08, 63,66, 66,08, 70,30, 75,24, 78,37 (CH), 129,65 (meta aromático), 133,36 (para aromático), 135,79 (orto-aromático), 143,05 (orto aromático), 160,81 (CF), 178,16 ( $CO_2H$ ).

$^{19}F$  RMN (376,4 MHz)-111,55.

Ejemplo 8

- 15 Síntesis de VB-707



El éster de 3-fenil-piridinio-etilo del ácido 1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboxi)butil-glicero-sn-3-fosfórico (VB-707) se sintetizó siguiendo el procedimiento general B como se describe en Ejemplo 1. Espectrometría de masas (MS): Calculado para  $C_{41}H_{68}NO_8P$  733. Encontrado (ESI +) 734  $[M+H]^+$  y 756  $[M+Na]^+$ .

- 20 Ejemplo 9

VB-701 inhibe la señalización inducida por LPS(TLR4) en monocitos humanos (CD14+ primarias)

Métodos y materiales

Aislamiento de monocitos.

- 25 Se obtuvieron muestras de sangre venosa de donantes varones sanos de conformidad con la Junta de Revisión Institucional del Centro Médico Sheba, Ramat Gan, Israel. Las PBMC se aislaron en Ficoll-Paque PLUS (GE Healthcare, Uppsala, Suecia) usando tubos de Leucosep de 50 ml (Greiner Bio-One, Frickenhausen, Alemania). Las células se lavaron en PBS (Kibbutz Beit Haemek, Israel) y se incubaron a 4°C durante 15 minutos en un tampón que contenía PBS y albúmina de suero bovino (BSA) al 0,5% con microperlas CD14 humanas (Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Alemania).

- 30 Activación de células y transferencia Western

Las células ( $10^6$ /ml) se pretrataron durante 20 minutos con VB-201 (1-hexadecil-2-(4'-carboxi)butil-glicero-3-fosfocolina o 1-hexadecil-2-(4'-carboxibutil)-glicerol-3-fosfocolina) o VB-701 a las dosis indicadas en la Figura 2, o con disolvente (Sol), seguido de 15 minutos de activación con 100 ng/ml de lipopolisacárido (LPS) o sin tratamiento (Unt). Las células se lavaron y se volvieron a suspender en tampón de lisis que contenía ditiotreitól (DTT) 1: 100, inhibidores de fosfatasa y proteasa (Thermo Scientific). Las muestras se cargaron en un gel Criterion TGX prefabricado (Bio-Rad, Hemel Hempstead, Reino Unido) y se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa. Las transferencias se bloquearon con leche al 5% o BSA en solución salina tamponada con Tris y Tween 20 (TBST) durante 1 h, seguido de incubación con anticuerpos primarios y secundarios. Las membranas se desarrollaron utilizando un kit ECL (Thermo Scientific). Los siguientes anticuerpos se usaron para la inmunotransferencia:

10 Anticuerpos primarios: p-p38 (cat. No. 4511; 1: 1000) y p-IKK (Cat. No. 2697; 1 : 1000) eran de Cell Signaling Technology (Danvers, MA, EE. UU.). p-ERK1/2 (Cat. No. M8159; 1: 10 000) fue comprado en Sigma (Israel). La  $\alpha$ -Tubulina (Tub) sirvió como control de carga.

Anticuerpos secundarios: HRP de burro anti-conejo (1: 5000) y HRP de cabra anti-ratón (1 : 3000) eran de Jackson ImmunoResearch (West Grove, PA, EE. UU.). HRP de burro anti-cabra (1: 5000) era de Santa Cruz Biotechnology.

15 Resultados

La Figura 2 muestra que VB-701 y VB-201 inhiben la formación de p-IKK, p-ERK y p-p38 inducida por LPS en monocitos humanos. En consecuencia, VB-701 y VB-201 inhiben la señalización inducida por LPS(TLR4) en monocitos humanos (CD14+ primario).

Ejemplo 10

20 VB-701 inhibe la señalización inducida por PGN (TLR2) en monocitos humanos (línea celular THP-1)

Métodos y materiales

Activación de células y transferencia Western

25 La línea celular monocítica THP-1 se adquirió de American Type Tissue Culture Collection (ATCC Cat. No. TIB-202). Las células ( $10^6$ /ml) se pretrataron durante 20 minutos con VB-201 o VB-701 a las dosis indicadas en la Figura 3, o con disolvente, seguido de activación con 20  $\mu$ g/ml de peptidoglucano (PGN) (InvivoGen, San Diego, CA) durante 15 minutos, o no fueron tratados ("Unt"). Las células se lavaron y se resuspendieron en tampón de lisis que contenía 1: 100 de ditiotreitól (DTT), inhibidores de fosfatasa y proteasa (Thermo Scientific). Las muestras se cargaron en un gel Criterion TGX prefabricado (Bio-Rad, Hemel Hempstead, Reino Unido) y se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa. Las transferencias se bloquearon con leche al 5% o BSA en solución salina tamponada con Tris y Tween 20 (TBST) durante 1 h, seguido de incubación con anticuerpos primarios y secundarios. Las membranas se desarrollaron utilizando un kit ECL (Thermo Scientific). Los siguientes anticuerpos se usaron para la inmunotransferencia:

30 Anticuerpos primarios: p-p38 (cat. No. 4511; 1: 1000) y p-IKK (Cat. No. 2697; 1 : 1000) eran de Cell Signaling Technology (Danvers, MA, EE. UU.). p-ERK1/2 (Cat. No. M8159; 1: 10000) fue comprado de Sigma (Israel). La tubulina sirvió como control de carga.

35 Anticuerpos secundarios: HRP de burro anti-conejo (1: 5000) y HRP de cabra anti-ratón (1 : 3000) eran de Jackson ImmunoResearch (West Grove, PA, EE. UU.). HRP de burro anti-cabra (1: 5000) era de Santa Cruz Biotechnology.

Resultados

40 La Figura 3 muestra que VB-701 y VB-201 inhiben la formación de p-IKK, p-ERK y p-p38 inducida por PGN en las células THP-1. En consecuencia, VB-701 y VB-201 inhiben la señalización inducida por PGN (TLR2).

Ejemplo 11

VB-701 inhibe la señalización inducida por MCP-1 en monocitos humanos (línea celular THP-1)

Métodos y materiales

Activación de células y transferencia Western

45 Las células THP-1 ( $10^6$ /ml) se pretrataron durante 20 minutos con VB-201 o VB-701 a las dosis indicadas en la Figura 4, o con disolvente, seguido de activación con 50 ng/ml de MCP1, o no se trataron ("Unt"). Las células se lavaron y se volvieron a suspender en tampón de lisis que contenía ditiotreitól (DTT) 1: 100, inhibidores de fosfatasa y proteasa (Thermo Scientific). Las muestras se cargaron en un gel Criterion TGX prefabricado (Bio-Rad, Hemel Hempstead, Reino Unido) y se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa. Las transferencias se bloquearon con leche al 5% o BSA en solución salina tamponada con Tris y Tween 20 (TBST) durante 1 h, seguido de incubación

50

con anticuerpos primarios y secundarios. Las membranas se desarrollaron utilizando un kit ECL (Thermo Scientific). Los siguientes anticuerpos se usaron para la inmunotransferencia:

5 Anticuerpos primarios: p-ERK1/2 (Cat. No. M8159; 1: 10000) fue comprado en Sigma (Israel). p-AKT (Cat. No. 4060; 1: 1000) se adquirió de Cell Signaling Technology (Danvers, MA). La  $\alpha$ -tubulina sirvió como control de carga y fue comprada en Sigma (Israel).

Anticuerpos secundarios: HRP de burro anti-conejo (1: 5000) y HRP de cabra anti-ratón (1 : 3000) eran de Jackson ImmunoResearch (West Grove, PA, EE. UU.). HRP de burro anti-cabra (1: 5000) era de Santa Cruz Biotechnology.

#### Resultados

10 La Figura 4 muestra que VB-701 y VB-201 inhiben la formación de p-AKT y p-ERK inducida por MCP1 en células THP-1. En consecuencia, VB-701 y VB-201 inhiben la señalización inducida por MCP1.

#### Ejemplo 12

VB-701 inhibe la migración inducida por quimiocinas de monocitos humanos (CD14+ primarias)

#### Métodos y materiales

##### Aislamiento de monocitos

15 Se obtuvieron muestras de sangre venosa de donantes varones sanos de conformidad con la Junta de Revisión Institucional del Centro Médico Sheba, Ramat Gan, Israel. Las PBMC se aislaron en Ficoll-Paque PLUS (GE Healthcare, Uppsala, Suecia) usando tubos de Leucosep de 50 ml (Greiner Bio-One, Frickenhausen, Alemania). Las células se lavaron en PBS (Kibbutz Beit Haemek, Israel) y se incubaron a 4°C durante 15 minutos en un tampón que contenía PBS y albúmina de suero bovino (BSA) al 0,5% con microperlas CD14 humanas (Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Alemania).

##### Activación de células y ensayo de migración de células trans-pocillo

Las células ( $10^6$ /ml) se pretrataron durante 20 minutos con VB-201 o VB-701 a las dosis indicadas en la Figura 5, o con disolvente (Sol).

25 Para analizar la migración celular inducida por quimiocinas, RANTES (100 ng/ml; Cat. No. 300-06, PeproTech, Israel) y MCP-1 (50 ng/ml; Cat. Nº. 300-04, PeproTech, Israel) se disolvieron en medio RPMI-1640 suplementado con suero bovino fetal al 0,5% (FBS) y se colocaron en la cámara inferior de placas de ensayo de migración QCM de 24 pocillos, poros de 5 mm (Corning-Costar, Corning, Nueva York). Las células ( $3 \times 10^5$ ) se sembraron en la cámara superior y se incubaron durante 2-4 horas. Posteriormente, el número de células que migraron al compartimento inferior se determinó mediante clasificación celular activada por fluorescencia (FACS).

#### 30 Resultados

La Figura 5 muestra que VB-701 y VB-201 inhiben la migración inducida por quimiocinas de monocitos humanos (CD14+ primarias).

#### Ejemplo 13

VB-702 inhibe la señalización inducida por LPS(TL 4) en monocitos humanos (CD14+ primarias)

35 Se obtuvieron monocitos humanos, se trataron y analizaron mediante transferencia Western como se describe en el Ejemplo 9 y la Figura 6, La Figura 6 muestra que VB-702 y VB-201 inhiben la formación de p-IKK, p-ERK y p-p38 inducida por LPS en monocitos humanos. En consecuencia, VB-702 y VB-201 inhiben la señalización inducida por LPS (TLR4) en monocitos humanos (CD14+ primarias).

#### Ejemplo 14

40 VB-702 inhibe la señalización inducida por RANTES en monocitos humanos (CD14+ primarias)

45 Se obtuvieron monocitos humanos, se trataron y analizaron mediante transferencia Western como se describe en el Ejemplo 9 y la Figura 7, excepto que las células se indujeron con RANTES (100 ng/ml; Cat. No. 300-06, PeproTech, Israel) durante 15 minutos. La Figura 7 muestra que VB-702 y VB-201 inhiben la formación de p-ERK inducida por RANTES en monocitos humanos. En consecuencia, VB-702 y VB-201 inhiben la señalización inducida por RANTES en monocitos humanos (CD14+ primario).

#### Ejemplo 15

VB-702 inhibe la migración inducida por quimiocinas de monocitos humanos (CD14+ primarias)

Se obtuvieron monocitos humanos, se trataron y analizaron la migración celular mediante un ensayo de pocillos trans, como se describe en el Ejemplo 12 y la Figura 8. La Figura 8 muestra que VB-702 y VB-201 inhiben la migración inducida por quimiocinas de monocitos humanos (CD14+ primarias).

Ejemplo 16

- 5 VB-701 y VB-702 inhiben los niveles de IL-12p40 en monocitos humanos (CD14+ primarias) estimulados con LPS (a través de TLR4) o Pam3CSK4 (estimulado por TLR2)

Métodos y materiales

- 10 Se obtuvieron monocitos humanos como se describe en el Ejemplo 9 y la Figura 9A-9B. Se sembraron monocitos humanos ( $10^6/ml$ ) y se pretrataron durante 1 hora con VB-201, VB-701 o VB-702, seguido de activación durante 24 horas con LPS 100 ng/ml de cepa de Escherichia coli 055: B5 (Sigma, Israel) (Figura 9A) o Pam3CSK4 de 300 ng/ml (InvivoGen, San Diego, CA, EE. UU.) (Figura 9B) para inducir la producción de citocinas. Luego se midió la concentración de IL-12/23p40 en el sobrenadante mediante ELISA (R&D systems, Cat. No. DY1240). Las células activadas con disolvente (0,5% de etanol en PBS) se utilizaron como control.

Resultados

- 15 Las Figuras 9A-9B muestran que VB-201, VB-701 y VB-702 inhiben los niveles de IL-12p40 en monocitos humanos (CD14+ primarias) LPS(TLR4) y estimulado Pam3CSK4 (TLR2).

Ejemplo 17

VB-703 inhibe la señalización inducida por LPS (TLR4), la unión a LPS, la inflamación del hígado y la fibrosis

Métodos y materiales

- 20 Aislamiento de monocitos

- 25 Se obtuvieron muestras de sangre venosa de donantes varones sanos de conformidad con la Junta de Revisión Institucional del Centro Médico Sheba, Ramat Gan, Israel. Las PBMC se aislaron en Ficoll-Paque PLUS (GE Healthcare, Uppsala, Suecia) usando tubos de Leucosep de 50 ml (Greiner Bio-One, Frickenhausen, Alemania). Las células se lavaron en PBS (Kibbutz Beit Haemek, Israel) y se incubaron a 4°C durante 15 minutos en un tampón que contenía PBS y albúmina de suero bovino (BSA) al 0,5% con microperlas CD14 humanas (Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Alemania).

Activación de células y transferencia Western

- 30 Las células ( $10^6/ml$ ) se pretrataron durante 20 minutos con VB-201 o VB-703 seguido de una activación de 15 minutos con 100 ng/ml de LPS. Las células se lavaron y se volvieron a suspender en tampón de lisis que contenía ditiotreitól (DTT) 1: 100, inhibidores de fosfatasa y proteasa (Thermo Scientific). Las muestras se cargaron en un gel Criterion TGX prefabricado (Bio-Rad, Hemel Hempstead, Reino Unido) y se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa. Las transferencias se bloquearon con leche al 5% o BSA en solución salina tamponada con Tris y Tween 20 (TBST) durante 1 h, seguido de incubación con anticuerpos primarios y secundarios. Las membranas se desarrollaron utilizando un kit ECL (Thermo Scientific). Los siguientes anticuerpos se usaron para la inmunotransferencia:

- 35 Anticuerpos primarios: p-p38 (cat. No. 4511; 1: 1000) y p-IKK (Cat. No. 2697; 1 : 1000) eran de Cell Signaling Technology (Danvers, MA, EE. UU.). p-ERK1/2 (Cat. No. M8159; 1: 10 000) fue comprado en Sigma (Israel). Proteína de choque térmico (HSP) 90 (Cat. No. 13119; 1: 500) era de Santa Cruz Biotechnology (Santa Cruz, CA, EE. UU.).

- 40 Anticuerpos secundarios: HRP de burro anti-conejo (1: 5000) y HRP de cabra anti-ratón (1 : 3000) eran de Jackson ImmunoResearch (West Grove, PA, EE. UU.). HRP de burro anti-cabra (1: 5000) era de Santa Cruz Biotechnology.

Ensayo de inhibición de unión a LPS

- 45 Para evaluar la interferencia con la unión del lipopolisacárido (LPS), se incubaron VB-201 o VB-703 durante 20 minutos con células ( $10^6/ml$ ) después de lo cual se añadieron 100 ng/ml de biotina – LPS (InvivoGen) por un período adicional de 15 minutos, todo a 4°C. Las células se lavaron, se resuspendieron en tampón FACS y se analizaron en un dispositivo FACS-Calibur.

Inducción de NASH y fibrosis hepática.

- 50 Los ratones macho neonatales expuestos a estreptozotocina en dosis bajas (STZ) desarrollan esteatosis hepática con diabetes. La dieta continua alta en grasas (HFD) aumenta la inflamación lobular con macrófagos tipo células espumosas, lo que muestra una patología de la esteatohepatitis no alcohólica (NASH). NASH se indujo en 40 ratones macho mediante una inyección subcutánea única de 200 µg por ratón de STZ dos días después del

nacimiento y alimentación HFD [57 kcal% de grasa] a partir de las cuatro semanas de edad. El vehículo, VB-703 (4 mg/kg) o telmisartán (10 mg/kg) como control positivo, se administraron una vez al día durante tres semanas, a partir de las seis semanas de edad. Los ratones fueron sacrificados a las nueve semanas de edad.

#### Evaluación de esteatohepatitis y fibrosis

5 La patología hepática se utilizó para determinar el efecto de VB-703 sobre la inflamación y la fibrosis hepáticas. Los portaobjetos de histología se tiñeron con hematoxilina/eosina (H&E) para evaluar la inflamación. La puntuación de inflamación se determinó de la siguiente manera:

0 - sin focos inflamatorios

1 - <2 focos inflamatorios

10 2 - 2-4 focos inflamatorios

3 - > 4 focos inflamatorios

Los portaobjetos de histología se tiñeron con rojo de Sirius para determinar el contenido de colágeno como marcador de la extensión de la fibrosis.

#### Q-PCR

15 El ARN se preparó a partir de hígados de ratones normales y ratones inducidos por NASH tratados con vehículo, VB-703 o telmisartán, usando el mini kit RNeasy (Qiagen). Para la preparación de ADNc, se combinaron 2 µg de ARN con la mezcla de reacción qScript y la transcriptasa inversa qScript (Quanta Biosciences) durante 5 minutos a 22°C y luego durante 30 minutos a 42°C. La reacción se terminó por incubación durante 5 minutos adicionales a 85°C. Todas las reacciones de PCR en tiempo real se realizaron utilizando el Sistema de PCR en tiempo real 7300 (Applied Biosystems). Q-PCR con ratón kit preparado de sonda con cebador se utilizó para IL-1β, IL-12/23p40 y MCP-1 (Applied Biosystems). GAPDH se utilizó para normalizar los niveles de ARN.

20

#### Resultados

##### Efecto de VB-703 y VB-201 en eventos de señalización mediados por TLR4

25 Para determinar el efecto de VB-201 y VB-703 en las vías de señalización mediadas por TLR4, los monocitos primarios humanos aislados se preincubaron con VB-201 o VB-703 y luego se activaron con LPS. La Figura 10A muestra que VB-703 inhibió las moléculas de señalización de células inflamatorias fosforiladas ERK quinasas (p-ERK), p38 fosforiladas (p-p38) e IKK quinasas fosforiladas (p-IKK) de una manera dependiente de la dosis. Además, VB-703 tenía al menos una eficacia 10 veces mayor en la inhibición de la fosforilación de proteínas impulsada por TLR4 que VB-201. Luego se probó el efecto de VB-703 sobre la unión de LPS al complejo TLR4. La Figura 10B muestra que VB-703 inhibía la unión de LPS con una IC50 de ~ 0,5 µg/ml, más de una IC50 10 veces menor que la de VB-201 (~ 7 µg/ml).

30

##### VB-703 inhibe la fibrosis hepática

35 Se probó el efecto de VB-703 sobre la inflamación del hígado y la fibrosis en un modelo de ratón NASH. El tratamiento con VB-703 disminuyó significativamente la fibrosis en un 58% en comparación con los ratones tratados con vehículo (Figuras 11A-11B). Este efecto fue mayor que el del control positivo telmisartán (47%). Sin embargo, VB-703 no pareció alterar significativamente la esteatosis (Figuras 12A-12B).

##### VB-703 inhibe la expresión de mediadores de inflamación

40 Las Figuras 21A-21C muestran que la expresión de dos citocinas proinflamatorias, IL-1β e IL-12/23p40, y la quimiocina MCP-1 se inhibieron significativamente en hígados tomados de ratones inducidos por NASH que fueron tratados con VB-703.

##### Ejemplo 18

##### VB-703 inhibe la señalización inducida por PGN (TLR2) en monocitos humanos (línea celular THP-1)

45 Se obtuvieron células THP-1, se trataron y analizaron mediante transferencia Western como se describe en el Ejemplo 10 y la Figura 13. La Figura 13 muestra que VB-703 y VB-201 inhiben la formación de p-IKK, p-ERK y p-p38 inducida por las células PGN THP-1. En consecuencia, VB-703 y VB-201 inhiben la señalización inducida por PGN (TLR2) en monocitos humanos (línea celular THP-1).

##### Ejemplo 19

VB-703 inhibe la secreción de IL-6 en células dendríticas derivadas de monocitos estimulados por LPS (TLR4) (DC derivadas de Mo)

## Métodos y materiales

Para generar DC derivadas de monocitos (Mo-DC), se contaron los monocitos CD14 +, se lavaron y sembraron ( $10^6$ /ml) en medio que contenía RPMI-1640, L-glutamina,  $\beta$ -mercaptoetanol, suero de ternera fetal al 10% (FCS), piruvato sódico, aminoácidos no esenciales, HEPES 0,01 M, antibióticos (penicilina, estreptomina), 50 ng/ml de factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos humanos (GM-CSF) y 20 ng/ml de IL-4 humana (ambos de PeproTech Asia, Israel). El medio se reemplazó cada 2-3 días. Las Mo-DC se recogieron 5-6 días después del cultivo, se contaron y sembraron ( $10^6$ /ml). Las células se pretrataron durante 1 hora con VB-201 o VB-703, seguido de 24 horas de activación con 100 ng/ml de LPS de cepa 055: B5 de Escherichia coli (Sigma, Israel) para inducir la producción de citocinas. La concentración de IL-6 (Figura 14) y la concentración de IL-12/23p40 (Figura 15) en el sobrenadante se midieron por ELISA (R&D Systems, cat. No. DY1240 y Cat. No. DY206, respectivamente). Las células activadas con disolvente (0,5% de etanol en PBS) se utilizaron como control.

## Resultados

Las Figuras 14 y 15 muestran que VB-703 y VB-201 inhiben IL-6 (Figura 14) y la secreción de IL-12p40 (Figura 15) en DC derivadas de Mo estimuladas por LPS (TLR4).

## Ejemplo 20

VB-704 no inhibe la unión de LPS-biotina a monocitos humanos (CD14+ primarias)

Se obtuvieron monocitos humanos, se trataron y analizaron mediante un ensayo de inhibición de unión a LPS como se describe en el Ejemplo 17 y la Figura 16. La Figura 16 muestra que VB-704 no inhibe la unión de LPS-biotina a monocitos humanos (CD14+ primarias).

## Ejemplo 21

VB-704 inhibe la migración inducida por quimiocinas en monocitos humanos (CD14+ primarias)

Se obtuvieron monocitos humanos, se trataron y analizaron para determinar la migración celular mediante un ensayo de pocillos trans como se describe en el Ejemplo 12 y la Figura 17. La Figura 17 muestra que VB-704 inhibe la migración inducida por quimiocinas en monocitos humanos (CD14+ primarias).

## Ejemplo 22

VB-705 inhibe la señalización mediada por TLR4 en monocitos humanos (CD14+ primarias)

Se obtuvieron monocitos humanos, se trataron y analizaron mediante transferencia Western como se describe en el Ejemplo 9 y la Figura 18. La Figura 18 muestra que VB-705 y VB-201 inhiben la formación de p-ERK y p-AKT inducida por LPS en monocitos humanos. En consecuencia, VB-705 y VB-201 inhiben la señalización inducida por LPS (TLR4) en monocitos humanos (CD14+ primarias).

## Ejemplo 23

VB-705 inhibe la unión de LPS en monocitos humanos (CD14+ primarias)

Se obtuvieron monocitos humanos, se trataron y analizaron con un ensayo de inhibición de unión a LPS como se describe en el Ejemplo 17 y la Figura 19, La Figura 19 muestra que VB-705 inhibe la unión de LPS-biotina a monocitos humanos (CD14+ primarias).

## Ejemplo 24

VB-705 no inhibe la migración inducida por SDF1 de monocitos humanos (células THP-1)

## Métodos y materiales

Las células THP-1 ( $10^6$ /ml) se pretrataron durante 20 minutos con VB-201 o VB-705 a 5  $\mu$ g/ml, o con disolvente (Sol). Para analizar la migración celular inducida por quimiocinas, RANTES (100 ng/ml, cat. N<sup>o</sup>. 300-06) (PeproTech, Israel) y MCP-1 (50 ng/ml, cat. No. 300-04) (PeproTech, Israel) se disolvieron en medio RPMI-1640 suplementado con suero bovino fetal al 0,5% (FBS) y se colocaron en la cámara inferior de placas de ensayo de migración QCM de 24 pocillos, poros de 5 mm (Corning-Costar, Corning, Nueva York). Las células ( $3 \times 10^5$ ) se sembraron en la cámara superior y se incubaron durante 2-4 horas. Posteriormente, el número de células que migraron al compartimento inferior se determinó mediante clasificación celular activada por fluorescencia (FACS).

## Resultados

La Figura 20 muestra que VB-705 no inhibe la migración de monocitos humanos inducida por SDF1 (línea celular THP-1).

Ejemplo 25

VB-703 y glomeruloesclerosis focal y segmentaria

Métodos y materiales

Animales y protocolo experimental

5 Las ratas macho Sprague Dawley (SD) (Harlan Laboratories, Israel) con un peso inicial de 200 g se alojaron 2-3 por jaula en jaulas IVC en instalaciones de HVAC dedicadas (calefacción, ventilación, aire acondicionado para animales a una temperatura de  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  y HR (humedad relativa) de  $55 \pm 15\%$ ). La temperatura y la humedad fueron monitoreadas continuamente. La instalación no tenía exposición a la luz exterior y se mantenía en ciclos alternos automáticos de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. A los animales se les proporcionó una dieta comercial de roedores (Harlan Teklad TRM Rat/Mouse Diet) ad libitum y se les permitió el libre acceso al agua esterilizada en autoclave, suministrada a cada jaula a través de botellas de polisulfona con tubos de acero inoxidable. Todo el trabajo con animales fue aprobado por el Comité de Cuidado y Uso de Animales de Israel (IL-13-03-027).

Inducción de la enfermedad renal crónica por nefrectomía 5/6

15 Las ratas se dividieron en tres grupos: (1) ratas sanas ( $n = 3$ ) en el grupo A, (2) grupo simulado - sometido a un proceso quirúrgico pero sin reducción de la masa renal ( $n = 3$ ) en el grupo B, y (3) el resto se indujo con insuficiencia renal crónica ( $n = 32$ ). La insuficiencia renal crónica fue inducida por una nefrectomía (Nx) en dos etapas (5/6), con la sustracción en primer lugar de aproximadamente 2/3 del riñón izquierdo por incisión en el flanco izquierdo y, una semana después, la extracción completa del riñón derecho. La anestesia general consistió en una inyección intraperitoneal de 100 mg/kg de ketamina y 20 mg/kg de xilazina (0,85 ml de ketamina+0,15 ml de xilacina para cada preparación de ml; se inyectó 1  $\mu\text{l/g}$  de BW).

Grupos experimentales

Una semana después de la segunda cirugía, las ratas fueron asignadas aleatoriamente a los siguientes grupos experimentales:

- 25 Sano, administrado por vía oral con vehículo - PBS 0,5% de etanol ( $n = 3$ );
- Operado simulado, administrado por vía oral con vehículo - PBS 0,5% de etanol ( $n = 3$ );
- Nefrectomizado, administrado por vía oral con vehículo - PBS 0,5% de etanol ( $n = 8$ );
- Nefrectomizado, administrado por vía oral con VB-703 4 mg/kg ( $n = 8$ ); y
- Nefrectomizado, administrado por vía oral con telmisartán 10 mg/kg como control positivo ( $n = 8$ ).

30 Se controló el peso corporal (BW) durante todo el estudio y las ratas se trataron por sonda oral según su peso corporal durante 7 semanas. Las ratas se sacrificaron por inhalación de  $\text{CO}_2$  a las 8 semanas de la extracción del riñón derecho (segunda cirugía).

Análisis de sangre, albuminuria y depuración de creatinina

35 La proteinuria y la albuminuria se determinaron en muestras de orina y fueron recolectadas durante un período de 24 horas a partir de animales alojados en jaulas a las 4 semanas (3 semanas de tratamiento) y 8 semanas (7 semanas de tratamiento) después de la nefrectomía subtotal (2ª cirugía). Las muestras de orina se analizaron para: glucosa, urea, sodio, potasio, creatinina, proteínas totales y albúmina.

Se recogió suero a las 8 semanas después de la nefrectomía subtotal (2ª cirugía). El suero recolectado también se analizó para glucosa, urea, sodio, potasio, creatinina, proteína total, albúmina y globulina.

Colección de riñón

40 Tras el sacrificio, a las 8 semanas, se recogieron los riñones, se pesaron y se fijaron en formaldehído al 4%.

Morfología Renal y Análisis Morfométrico

Para la microscopía óptica, se tiñeron portaobjetos de tejido con parafina de 4  $\mu\text{m}$  con reactivo de ácido periódico-Schiff (PAS), tricromo de Masson y hematoxilina y eosina.

45 Índice de esclerosis glomerular. La glomeruloesclerosis se evaluó mediante secciones teñidas con PAS utilizando un sistema de puntuación semicuantitativo. La extensión de la glomeruloesclerosis se evaluó examinando en su mayoría 100 glomérulos seleccionados al azar con un aumento de  $\times 400$  y aplicando un sistema de puntuación según el porcentaje del área glomerular esclerosada. La puntuación se calificó de 0 a 4: (0 = 0% de área; 1 = 1-25%; 2 = 26-50%, 3 = 51-75%, 4 = 76% y más). Se presentó la media de todos los glomérulos puntuados. Además, el grado

de glomeruloesclerosis global y segmentaria se evaluó en los mismos glomérulos, donde <80% de la esclerosis se denominó segmentaria y >80% se denominó global.

5 Área glomerular. El área glomerular de la mayoría de los 100 glomérulos seleccionados al azar con un aumento de x100 se cuantificó contando cuadrados cubiertos por el área de glomérulos utilizando una cuadrícula y se calculó el área de glomérulos promedio.

Inmunohistoquímica

10 Los tejidos renales se fijaron en formaldehído al 4% y se incrustados en parafina. Los tejidos incrustados en parafina se cortaron para formar portaobjetos de tejido de 4 µm. El análisis inmunológico de los portaobjetos de tejido incrustados en parafina se analizó utilizando anticuerpos en la siguiente concentración: ratón monoclonal anti-rata CD-68 (ED-1, Serotec MCA341) 1:25. Para la cuantificación de la tinción intersticial de CD68+, se contó el número de células positivas en 20 campos no superpuestos seleccionados al azar por animal, y se presentó el valor medio.

PCR en tiempo real

15 El ARN del riñón se extrajo con un kit RNeasy Fibrous Tissue Mini (Qiagen) y después del tratamiento con ADNsa I, se sintetizó el ADNc monocatenario a partir de 2 µg de ARN total utilizando el kit de síntesis de ADNc qScript (Quanta Biosciences) y se diluyó para PCR en tiempo real. La expresión de colágeno 4α, fibronectina y TGFβ se cuantificó utilizando el 7300 Real Time PCR System (Applied Biosystems). El ensayo se realizó según las instrucciones del fabricante utilizando los cebadores (Assay ID) representados en la tabla siguiente suministrada por Applied Biosystems. Los datos se normalizaron con el gen de referencia TATA box Binding Protein (TBP) y se presentaron como niveles relativos de ARNm en comparación con el tratamiento con Sham PBS 0,5% Eth (Tabla 1).

20 Tabla 1: Referencias de expresión génica

Ensayo ID	Símbolo del gen	Nombre del gen
Rn01482927_ml	Col IVα1;	Colágeno; tipo IV; alfa 1
Rn00572010_ml	TGFβ1	Factor de crecimiento transformante; beta 1
Rn00569575_ml	Fn1	Fibronectina 1
Rn01455646_ml	TBP	Proteína de unión de caja TATA

Estadísticas

25 Los datos se expresan como medias ± SEM. La significación estadística se determinó mediante ANOVA unidireccional o la prueba t de Student, según corresponda. Los análisis estadísticos se realizaron con el software Sigma Stat.

Resultados

Efecto del tratamiento VB-703 sobre los parámetros fisiológicos

El tratamiento con VB-703 mejoró significativamente la proporción de albúmina urinaria/creatinina/día al final del estudio (Figura 22).

30 Efecto del tratamiento VB-703 sobre el daño glomerular

35 Los glomérulos se evaluaron para determinar su grado de fibrosis mediante la puntuación y el cálculo del porcentaje de glomérulos con esclerosis segmentaria, esclerosis global y la suma de los glomérulos escleróticos globales y segmentarios. Además, se calculó el área de los glomérulos y se calculó el porcentaje de glomérulos hipertrofiados. Los glomérulos dañados incluyeron los hipertrofiados (al menos x 1,5 del área normal) y/o los glomérulos escleróticos.

40 El tratamiento con VB-703 y telmisartán redujo significativamente el porcentaje de glomérulos dañados en un 38% (p ≤0,005) y un 31% (p ≤0,005) respectivamente (figura 23). Este efecto estaba parcialmente influido por la reducción en la hipertrofia de los glomérulos. La principal contribución a la reducción del daño de los glomérulos se debió a la reducción de los glomérulos escleróticos. El tratamiento con VB-703 y telmisartán resultó en una reducción del 49% (p ≤0,005) y del 57% (p ≤0,005) de los glomérulos escleróticos, respectivamente (Figura 24, Tabla 2).

Tabla 2: Efecto de VB-201 sobre la esclerosis glomerular (media ± SE)\*

Tratamiento	PBS sano 0,5% Et	PBS simulado 0,5% Et	Nx PBS 0,5% Et	Nx VB-703 4 mg/kg	Nx Telmisartán 10 mg/kg
Esclerosis glomerular					
% Segmentario	1,0 ±0,58 (n = 3) p ≤0,001	1,3±0,88 (n = 3) p ≤0,001	41,0±4,81 (n = 7)	22,9±2,83 (n = 7) p <0,001	19,1±4,30 (n = 8) p <0,005
% Global	0,0 ±0,00 (n = 3) n.s	0,0±0,00 (n = 3) n.s	7,1±4,39 (n = 7)	1,9±1,55 (n = 7) n.s	1,9±1,60 (n = 8) n.s
% Global & Segmentario	1,0 ±0,58 (n = 3) p ≤0,001	1,3±0,88 (n = 3) p ≤0,001	48,3±5,38 (n = 7)	24,7±3,77 (n = 7) p ≤0,005	21,0±5,45 (n = 8) p ≤0,005

\*Se presenta el número de animales probados por grupo y el valor de p versus el grupo Nx PBS 0,5% Eth

5 La FIG. 25 muestra cambios escleróticos típicos en glomérulos (tinción con PAS) de animales nefrectomizados tratados con vehículo en contraste con animales sanos u operados de forma simulada o con animales tratados con VB-703, o animales tratados con telmisartán.

Efecto del tratamiento de VB-703 en marcadores pro-fibróticos

10 La expresión de ARNm de colágeno IV se incrementó en 7 u 8 veces, respectivamente, en ratas nefrectomizadas tratadas con vehículo (7,5 ± 1,51) en contraste con animales sanos (1,1 ± 0,12) u operados simulados (1,0 ± 0,32). El tratamiento con VB-703 redujo significativamente (p <0,05) la expresión de colágeno IV en un 51% (3,7 ± 0,52) en comparación con los observados para el tratamiento con Nx PBS 0,5% Eth. Se observó una reducción del 41% en la expresión de colágeno IV en las ratas nefrectomizadas tratadas con telmisartán (4,4 ± 0,23) en comparación con las observadas para el tratamiento con Nx PBS 0,5% Eth, con significación marginal (p =0,064) (FIG. 26A).

15 La expresión de ARNm de fibronectina se incrementó en 16 o 13 veces, respectivamente, en ratas nefrectomizadas tratadas con vehículo (12,7 ± 1,01) en contraste con animales sanos (0,8 ± 0,08) u operados simulados (1,0 ± 0,31). El tratamiento con VB-703 redujo significativamente (p <0,005) la expresión de fibronectina en un 47% (6,7 ± 0,98) en comparación con los observados para el tratamiento con Nx PBS 0,5% Eth. El tratamiento con telmisartán redujo moderadamente la expresión de fibronectina en un 23% (9,8 ± 2,09); sin embargo, esta reducción no fue estadísticamente significativa (figura 26B).

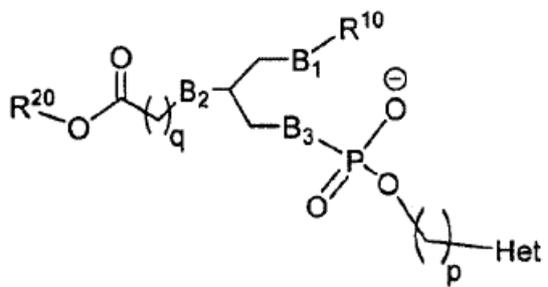
20 La expresión de ARNm de TGF-β aumentó en 10 u 8 veces, respectivamente, en ratas nefrectomizadas tratadas con vehículo (8,4 ± 0,49) en contraste con animales sanos (0,9 ± 0,24) u operados simulados (1,0 ± 0,23) (p <0,001). El tratamiento con VB-703 y telmisartán redujo significativamente (p <0,001) la expresión de TGF-β en un 42% (4,8 ± 0,32) y en un 44% (4,7 ± 0,52), respectivamente, en comparación con los observados para el tratamiento con Nx PBS 0,5% Eth (Figura 26C).

25 Efecto del tratamiento de VB-703 sobre la infiltración de monocitos/macrófagos glomerulares e intersticiales

Las figs. 27A-27B muestran el efecto de VB-703 sobre la infiltración de monocitos/células de macrófagos en los glomérulos (Figura 27A) o en el intersticio (Figura 27B). En este experimento, VB-703 y telmisartán no produjeron ningún efecto significativo en la reducción de la infiltración glomerular e intersticial de monocitos/macrófagos.

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene una estructura según la Fórmula 1,



5 o un estereoisómero, una mezcla estereoisomérica o su sal, en el que el término sal incluye tanto la sal interna como la externa,

en el que

cada uno de B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> y B<sub>3</sub> es independientemente oxígeno o azufre;

10 R<sup>10</sup> es un alquilo C<sub>2-28</sub> opcionalmente sustituido con uno a cinco sustituyentes R<sup>11</sup>, en el que cada R<sup>11</sup> se selecciona independientemente del grupo que consiste en alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, halo, trihalometilo, hidroxilo, alcoxi, arilo, tiohidroxilo, tioalcoxi, fosfonato, fosfato, fosfinilo, sulfonilo, sulfinilo, sulfonamida, amida, carbonilo, tiocarbonilo, C-carboxi, O-carboxi, C-carbamato, N-carbamato, C-tiocarboxi, S-tiocarboxi y amino;

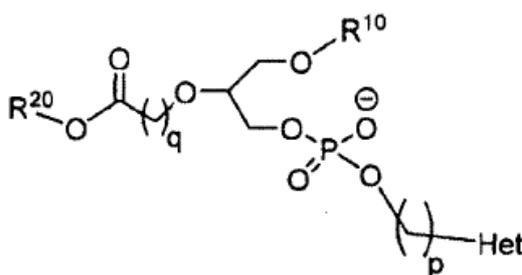
p es un número entero seleccionado de 1 a 10;

15 q es un número entero seleccionado de 1-26;

R<sup>20</sup> se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo y heteroarilo; y

Het es un anillo heterocíclico o un heteroarilo.

2. El compuesto de la reivindicación 1, que tiene una estructura según la Fórmula 2,



20

Fórmula 2

en el que

Het es piridina,

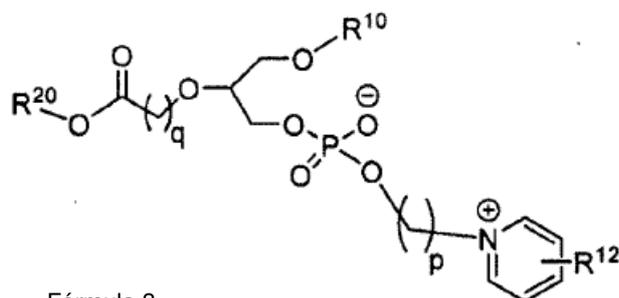
y donde el átomo de nitrógeno de la piridina está directamente conectado a la cadena de alquilenilo, -(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>;

25 la piridina no está sustituida

o está sustituida por de uno a cinco R<sup>12</sup>

y cada R<sup>12</sup> es independientemente un halógeno, un arilo C<sub>6-10</sub>, un heteroarilo o un alquilo.

3. El compuesto de la reivindicación 1 o 2 que tiene una estructura según la Fórmula 3,



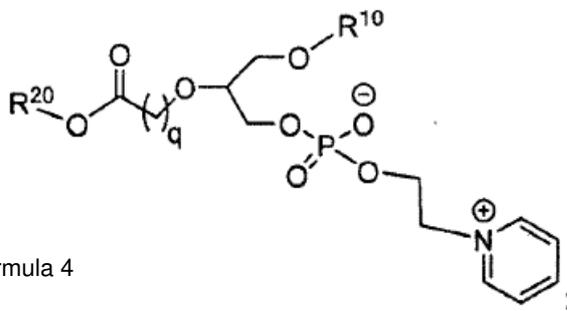
Fórmula 3

opcionalmente en el que R<sup>10</sup> se selecciona del grupo que consiste en hexadecilo, eicosanilo y (2'-octil)-dodecilo;  
opcionalmente en el que R<sup>20</sup> es un hidrógeno o un alquilo C<sub>1-4</sub>;

opcionalmente en el que q es un número entero de 2-6; y

5 opcionalmente en el que p es un número entero de 2-5.

4. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2 o 3, que tiene una estructura según la Fórmula 4,



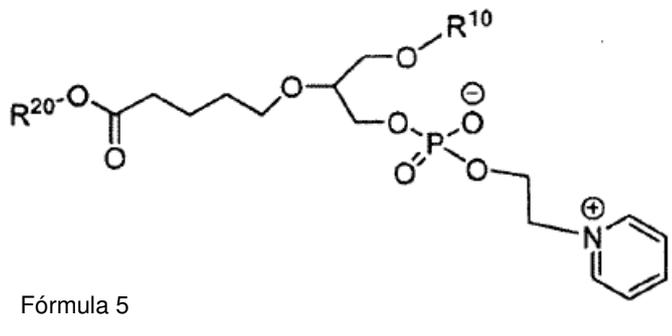
Fórmula 4

opcionalmente en el que R<sup>10</sup> se selecciona del grupo que consiste en hexadecilo, dodecilo, octadecilo, octilo, eicosanilo, cis-9-hexadecenilo, (2'-octil)-dodecilo y (15'-carboxi)pentadecilo;

10 opcionalmente en el que R<sup>20</sup> es un hidrógeno o un alquilo, y

opcionalmente en el que q es un número entero de 1-10.

5. El compuesto de la reivindicación 4, que tiene una estructura según la Fórmula 5,

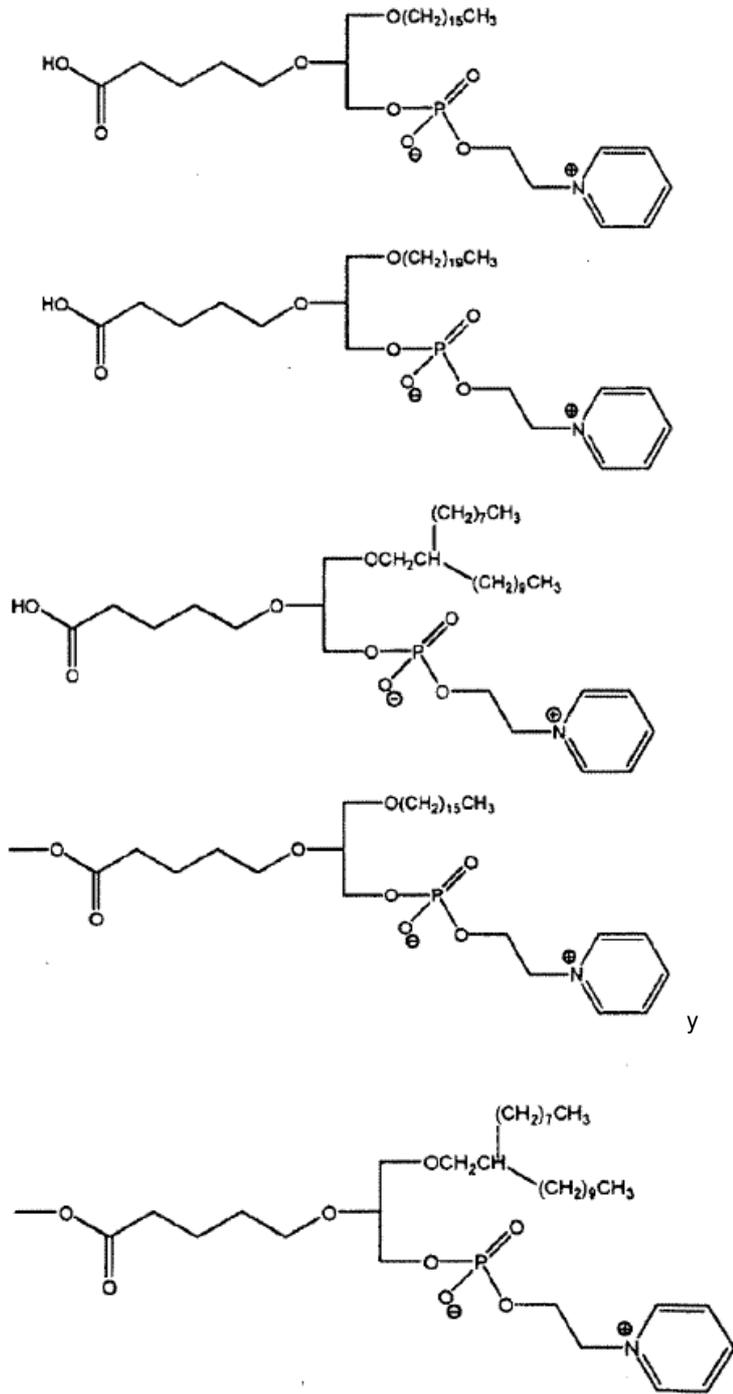


Fórmula 5

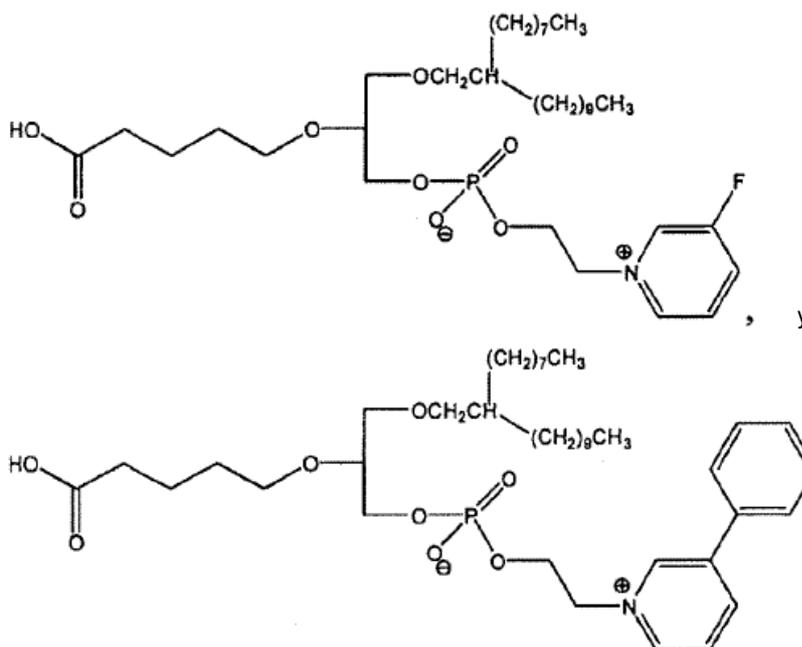
opcionalmente en el que R<sup>10</sup> se selecciona del grupo que consiste en hexadecilo, eicosanilo y (2'-octil)-dodecilo; y

15 opcionalmente en el que R<sup>20</sup> es un hidrógeno o un alquilo C<sub>1-4</sub>.

6. El compuesto de la reivindicación 1 que tiene una estructura seleccionada del grupo que consiste en:



7. El compuesto de la reivindicación 6 seleccionado del grupo que consiste en piridin-etil-éster del ácido (R)-1-hexadecil-2-(4'-carboxi)butil-sn-glicero-3-fosfórico (VB-701); piridin-etil-éster del ácido (R)-1-eicosanil-2-(4'-carboxi)butil-sn-glicero-3-fosfórico (VB-702); piridin-etil-éster del ácido (R)-1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboxi)butil-sn-glicero-3-fosfórico (VB-703); piridin-etil-éster del ácido (R)-1-hexadecil-2-(4'-carboximetil)butil-sn-glicero-3-fosfórico (VB-704); y piridin-etil-éster del ácido (R)-1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboximetil)butil-sn-glicero-3-fosfórico (VB-705).
8. El compuesto de la reivindicación 7, que es piridinio-etil-éster del ácido (R)-1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboxi)butil-sn-glicero-3-fosfórico (VB-703).
9. El compuesto de la reivindicación 1, seleccionado del grupo que consiste en:



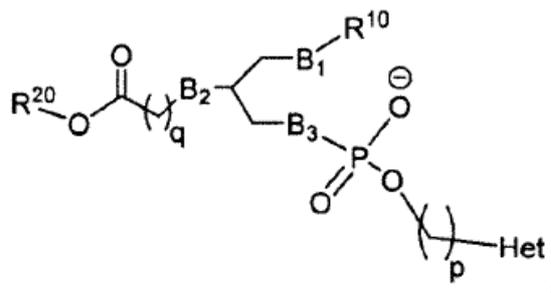
10. El compuesto de la reivindicación 9 seleccionado del grupo que consiste en éster de 3-fluoro-piridinio-etilo del ácido (R)-1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboxi)butil-glicero-sn-3-fosfórico (VB-706) y 3-fenil-piridinio-etilo del ácido (R)-1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboxi)butil-glicero-sn-3-fosfórico (VB-707).

5 11. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

10 12. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10 o la composición farmacéutica de la reivindicación 11 para usar en el tratamiento o prevención de la fibrosis, donde la fibrosis es opcionalmente fibrosis pulmonar, fibrosis hepática, fibrosis de la piel, fibrosis renal, fibrosis pulmonar idiopática, fibrosis quística, fibrosis masiva progresiva, cirrosis, esteatohepatitis, enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD), esteatohepatitis no alcohólica (NASH), fibrosis endomiocárdica, infarto de miocardio, fibrosis auricular, fibrosis mediastínica, mielofibrosis, fibrosis retroperitoneal, fibrosis sistémica nefrogénica, fibrosis sistémica, fibrosis sérico, enfermedad de Crohn, esclerodermia/esclerosis sistémica, artrofibrosis, enfermedad de Peyronie, contractura de Dupuytren, capsulitis adhesiva o glomeruloesclerosis focal y segmentaria.

15 13. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10 o la composición farmacéutica de la reivindicación 11 para uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad o trastorno inflamatorio, en el que la enfermedad o trastorno inflamatorio es opcionalmente aterosclerosis, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal, colitis ulcerosa, esclerosis múltiple o psoriasis o enfermedad o trastorno inflamatorio es opcionalmente una enfermedad o trastorno cardiovascular inflamatorio, una enfermedad o trastorno cerebrovascular o una enfermedad o trastorno vascular periférico.

20 14. Un método para sintetizar un compuesto de Fórmula 1,



Fórmula 1

o su estereoisómero, una mezcla estereoisomérica o su sal,

25 en el que

cada uno de B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> y B<sub>3</sub> es independientemente oxígeno o azufre;

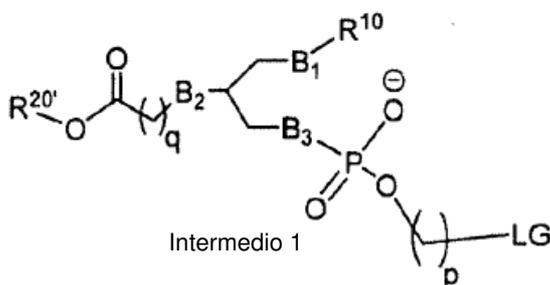
R<sup>10</sup> es un alquilo C<sub>2-28</sub> opcionalmente sustituido con de uno a cinco sustituyentes R<sup>11</sup>, en el que cada R<sup>11</sup> se selecciona independientemente del grupo que consiste en alquilo, alqueniilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, halo, trihalometilo, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, tiohidroxilo, tioalcoxi, tioariloxi, fosfonato, fosfato, fosfinilo, sulfonilo, sulfinilo, sulfonamida, amida, carbonilo, tiocarbonilo, C-carboxi, O-carboxi, C-carbamato, N-carbamato, C-tiocarboxi, S-tiocarboxi, y amino;

p es un número entero seleccionado de 1 a 10;

q es un número entero seleccionado de 1-26;

R<sup>20</sup> se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, alqueniilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo y heteroarilo; y Het es un heteroarilo opcionalmente sustituido, comprendiendo el método:

a) hacer reaccionar el intermedio 1



con Het para formar el compuesto de Fórmula 1,

en el que B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, R<sup>10</sup>, Het, p y q son como se definieron anteriormente en la Fórmula 1;

en el que LG es un grupo saliente seleccionado del grupo que consiste en grupos salientes que contienen halógeno y oxígeno;

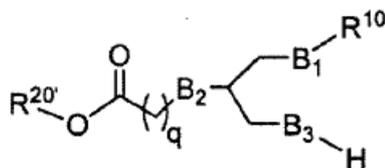
en el que R<sup>20'</sup> es igual que R<sup>20</sup>; y

R<sup>20</sup> es H, R<sup>20'</sup> se selecciona del grupo que consiste en alquilo, alqueniilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo y heteroarilo, la reacción del Intermedio 1 con Het es seguida por una etapa de hidrólisis para convertir -COOR<sup>20'</sup> en -COOH, o su sal, para formar el compuesto de Fórmula 1; o

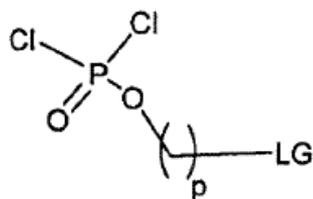
R<sup>20</sup> es H, R<sup>20'</sup> se selecciona del grupo que consiste en alquilo, alqueniilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo y heteroarilo, la reacción del Intermedio 1 con Het convierte -COOR<sup>20'</sup> en -COOH, o su sal, para formar el compuesto de Fórmula 1.

15. El método de la reivindicación 14, que comprende además

b) hacer reaccionar el Reactivo 1



con el Reactivo 2



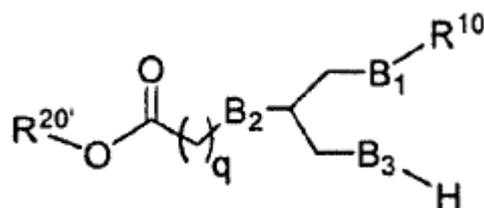
Reactivo 2

para formar un producto de reacción monoclorado; y

c) hidrolizar el producto de reacción monoclorado para formar el Intermedio 1,

o en el que el método comprende además:

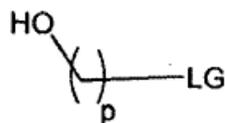
5 b') hacer reaccionar el Reactivo 1



Reactivo 1

con POCl<sub>3</sub> para formar el producto de reacción de POCl<sub>3</sub>;

c') hacer reaccionar el Reactivo 2A



Reactivo 2A

con el producto de reacción de POCl<sub>3</sub> para formar un segundo producto de reacción; e

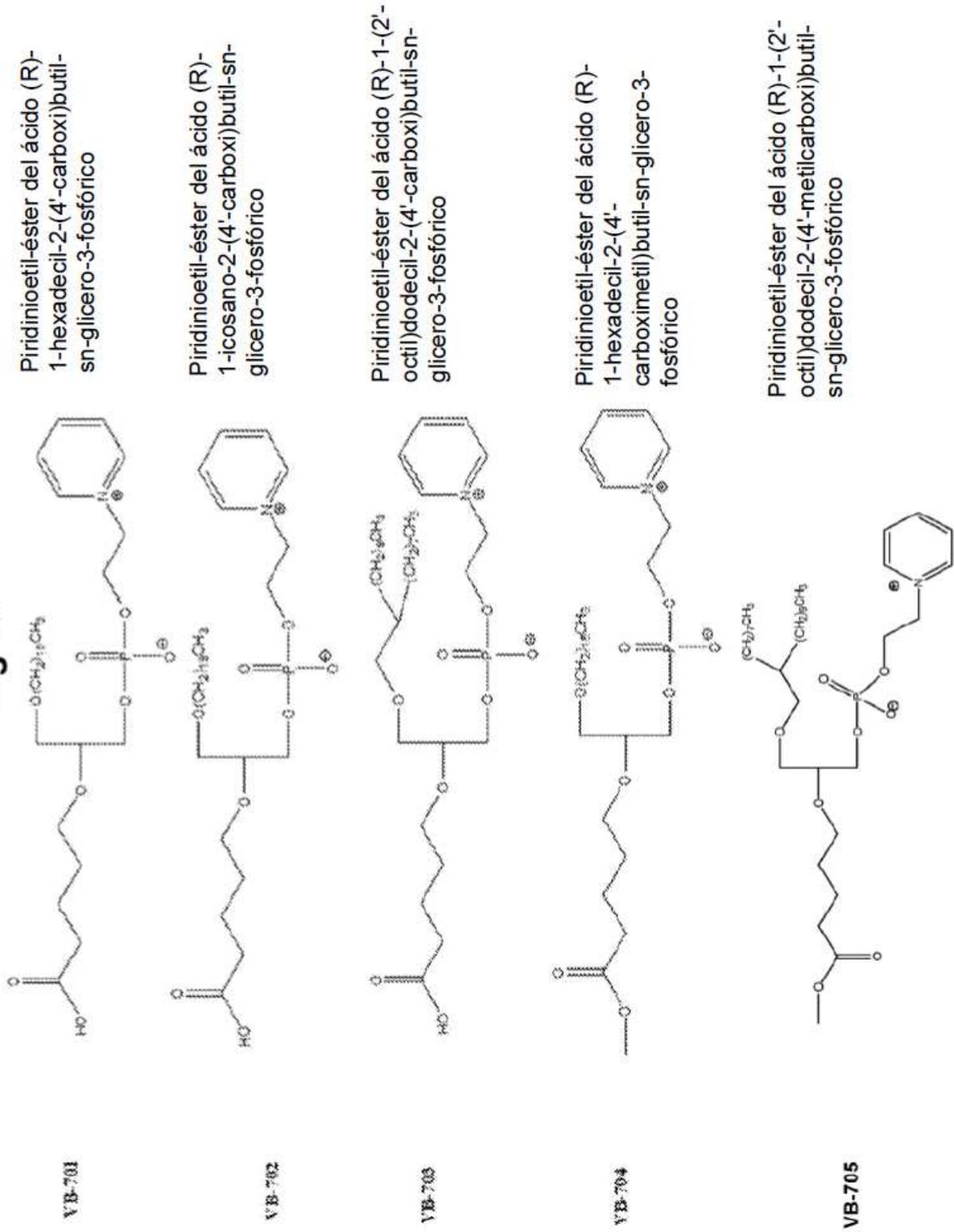
d') hidrolizar el segundo producto de reacción para formar el Intermedio 1,

en el que B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, R<sup>10</sup>, R<sup>20</sup>, p y q y LG son como se definieron anteriormente en el Intermedio 1.

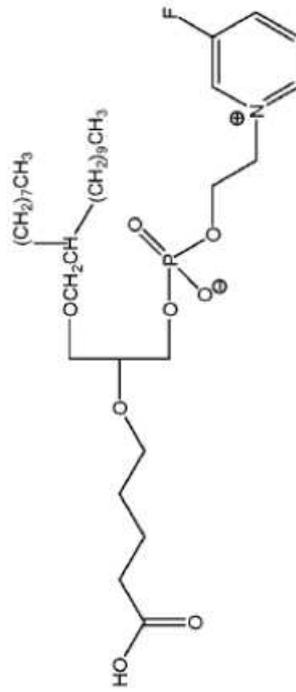
10

15

**Fig 1A**

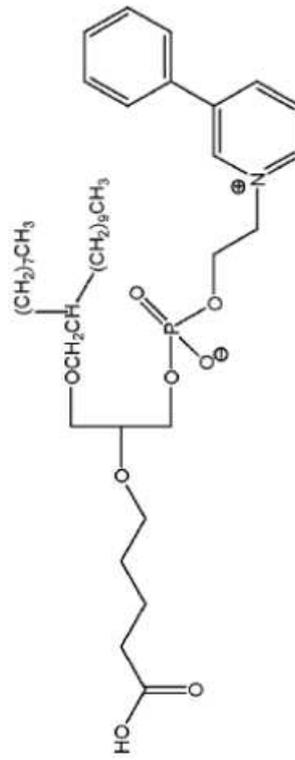


**Fig 1B**



3-Fluoro-piridinioetil-éster del ácido (R)-1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboxi)butil-glicero-sn-3-fosfórico

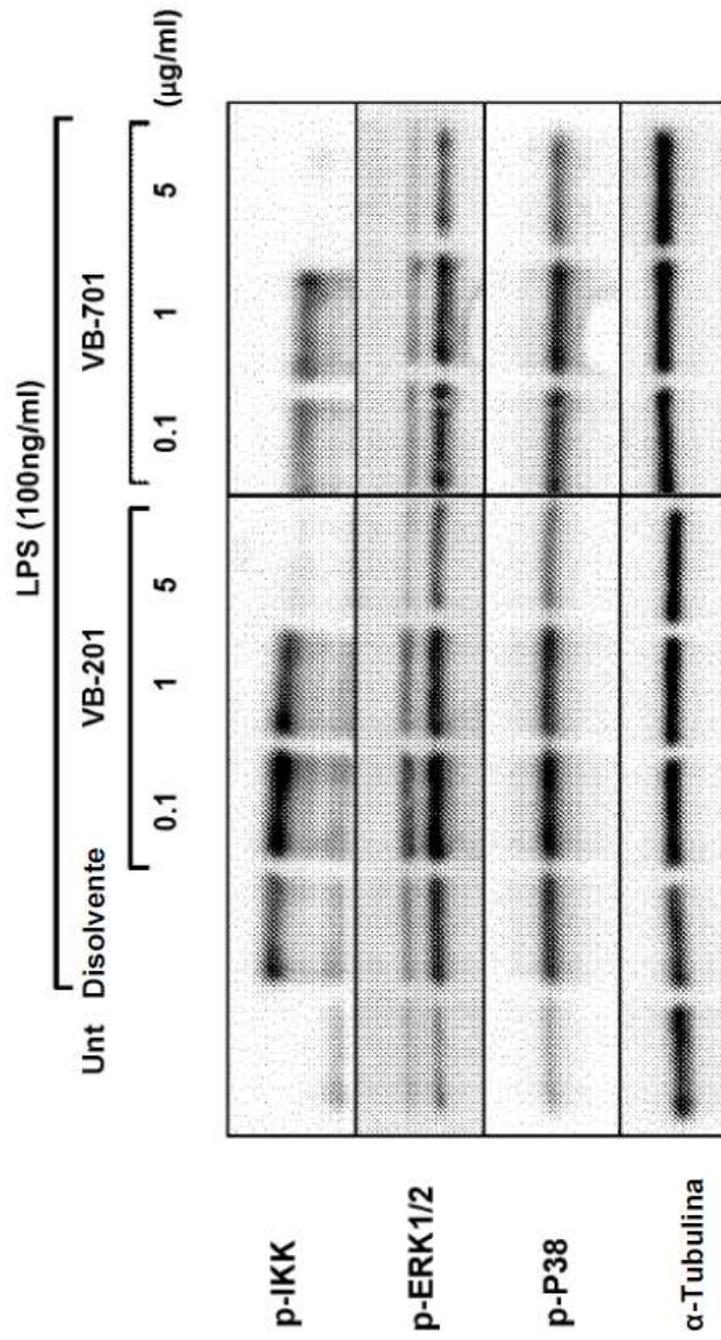
**VB-706**



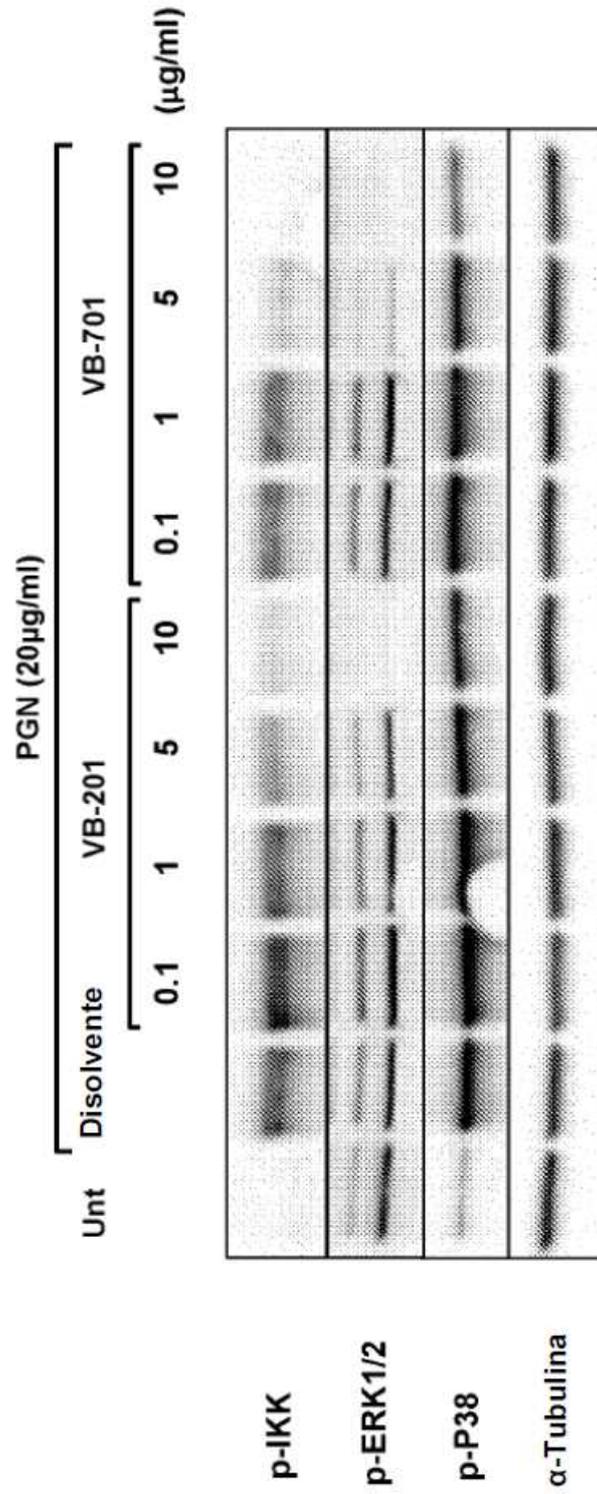
3-Fenil-piridinioetil-éster del ácido (R)-1-(2'-octil)dodecil-2-(4'-carboxi)butil-glicero-sn-3-fosfórico

**VB-707**

**Fig 2**



**Fig 3**



**Fig 4**

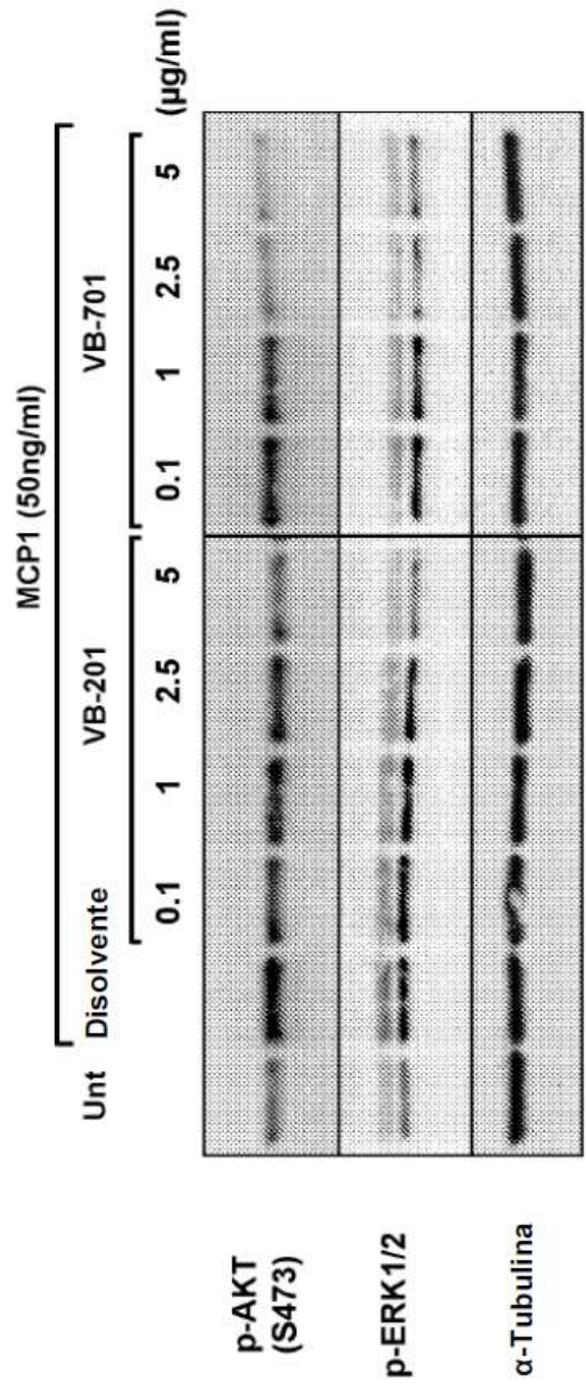
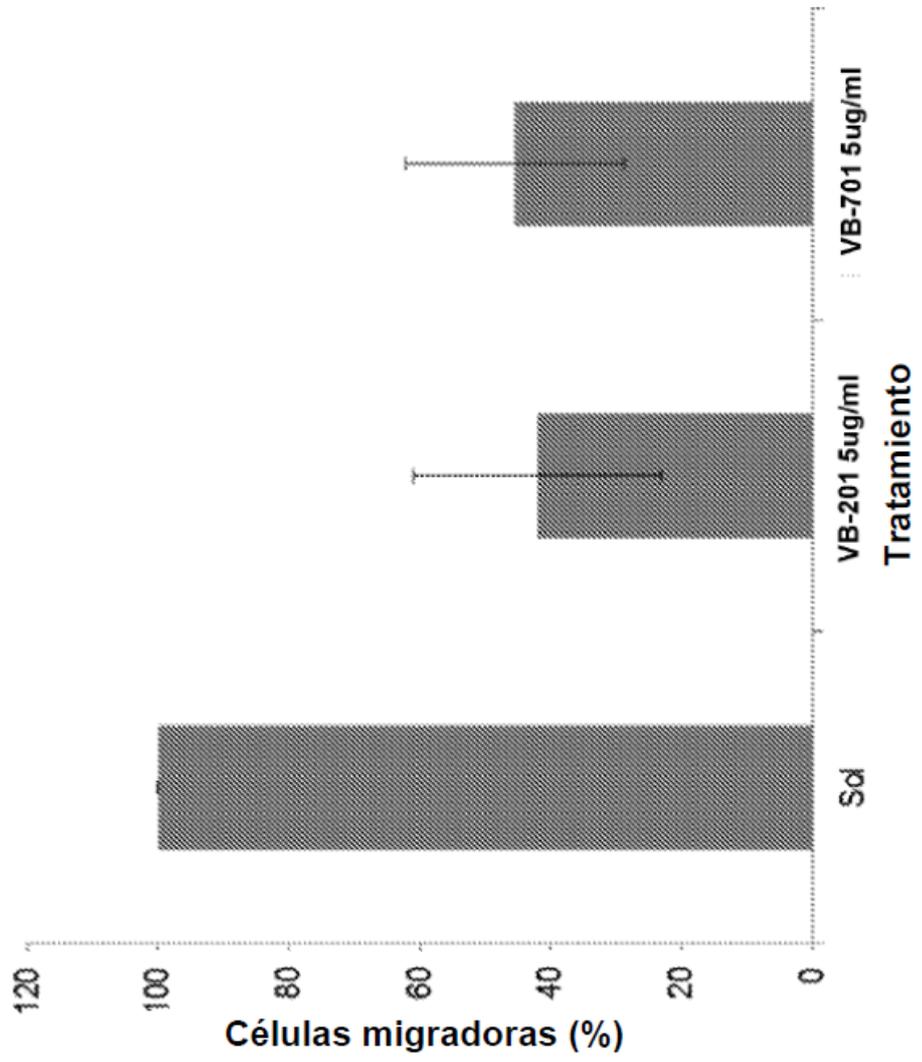


Fig 5



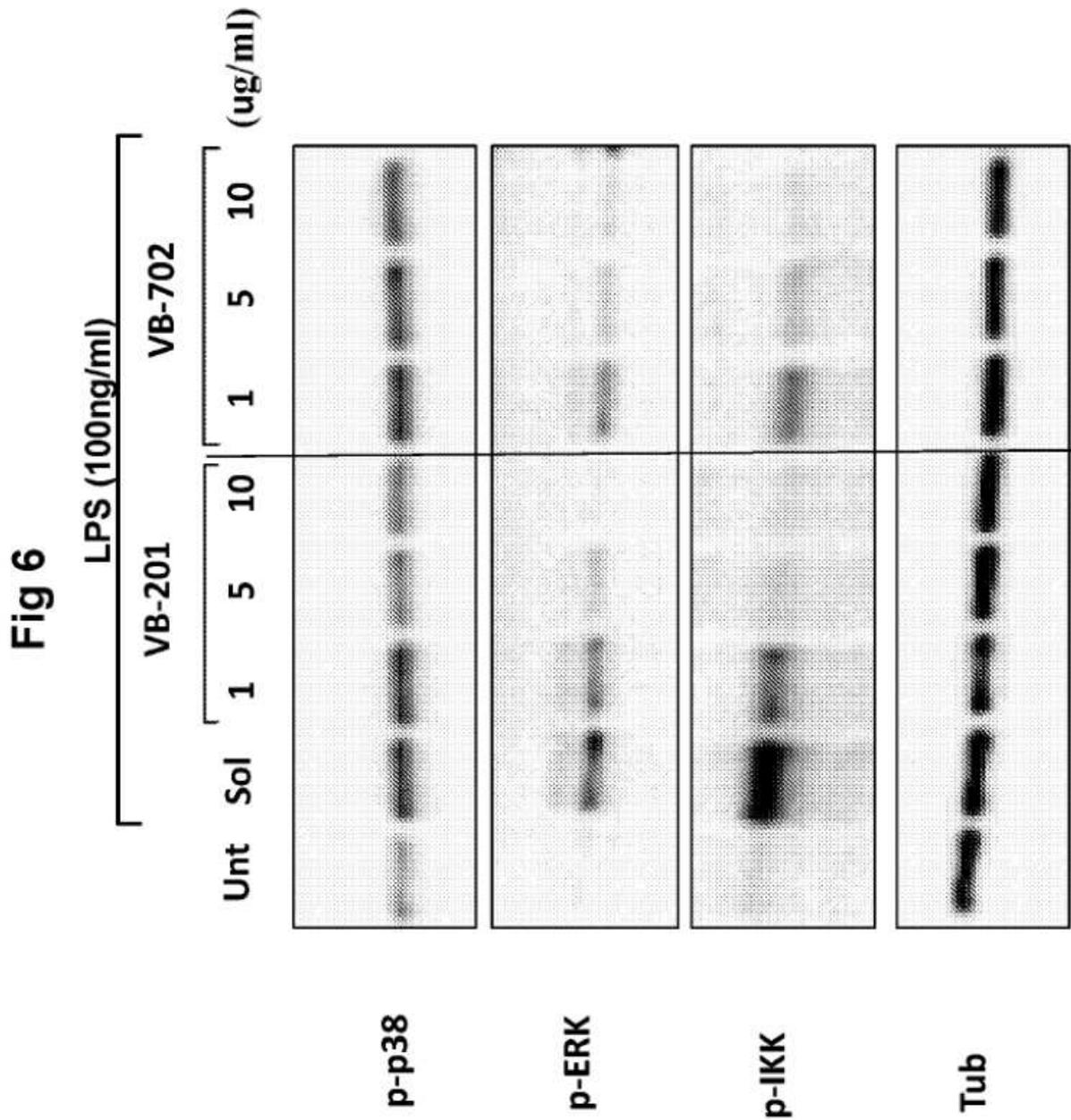
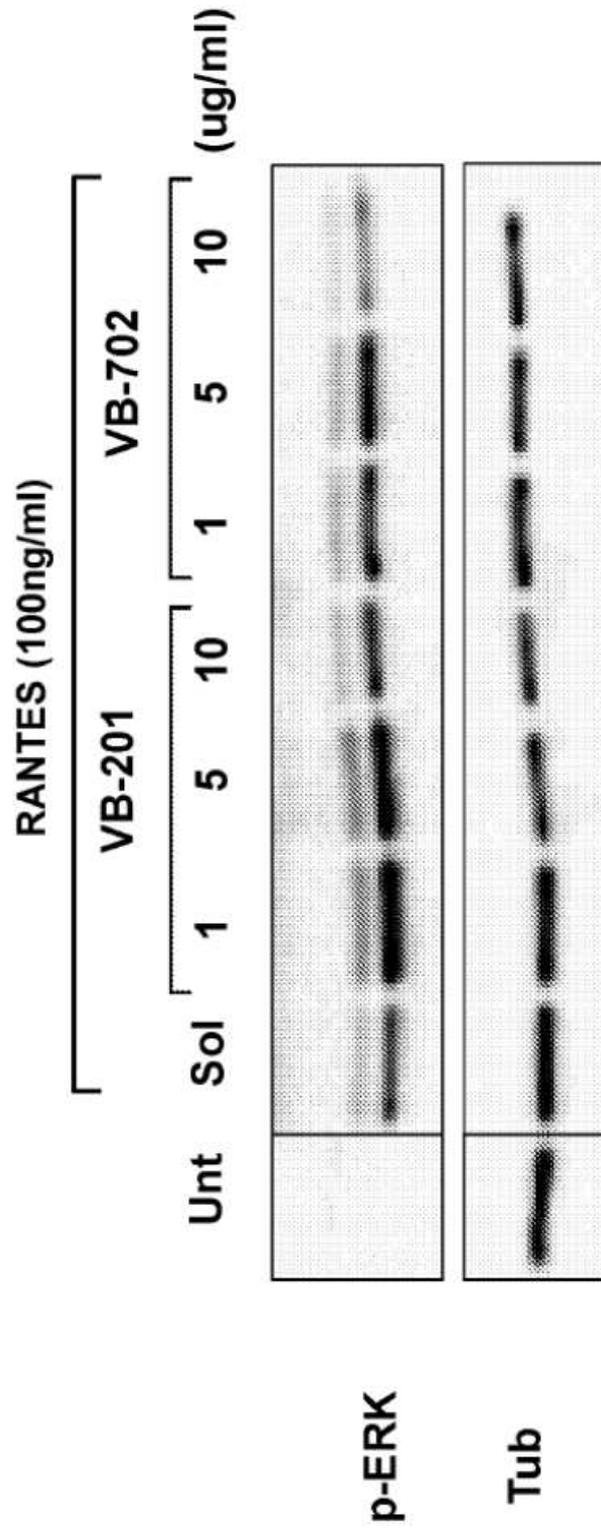


Fig 7



**Fig 8**

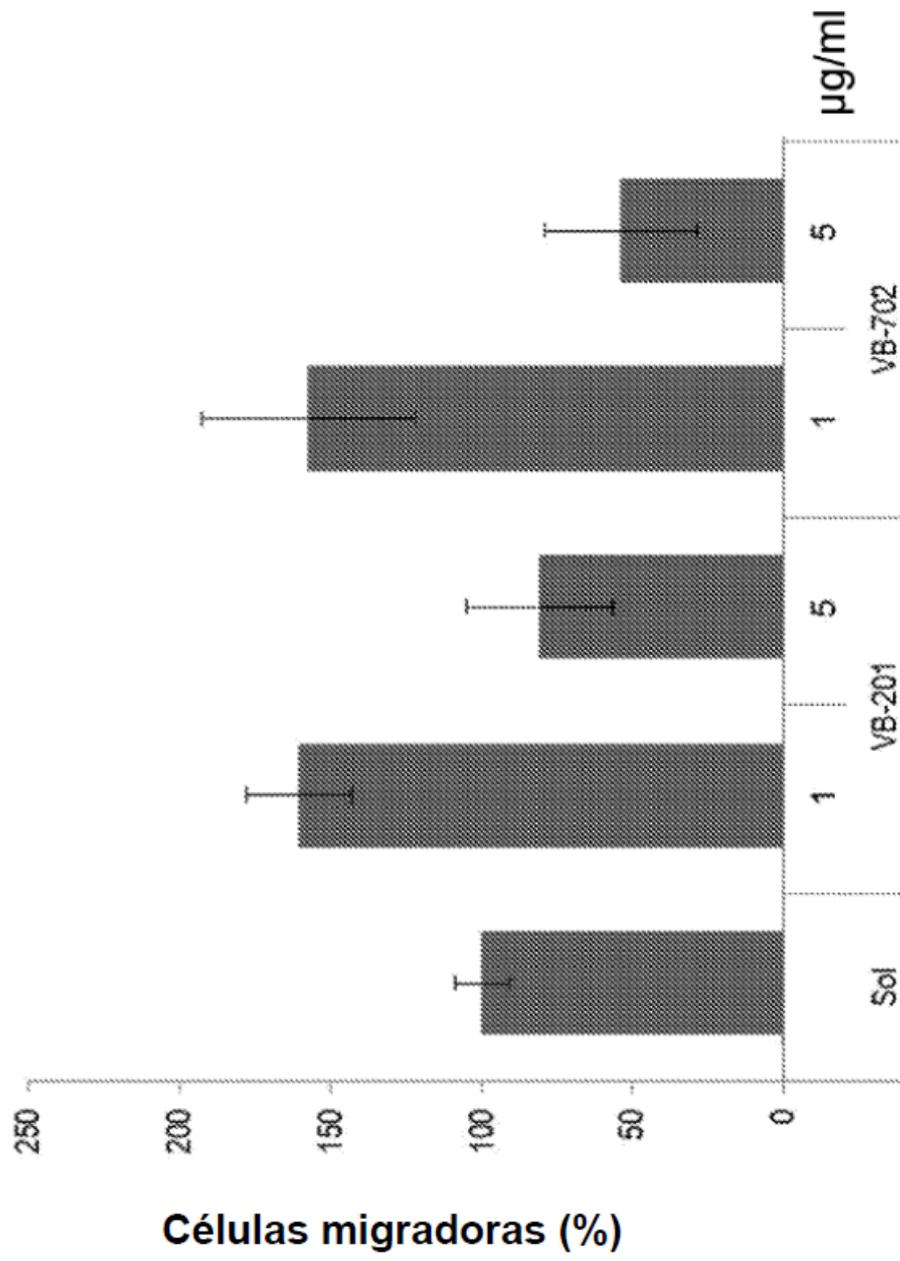


Fig 9A

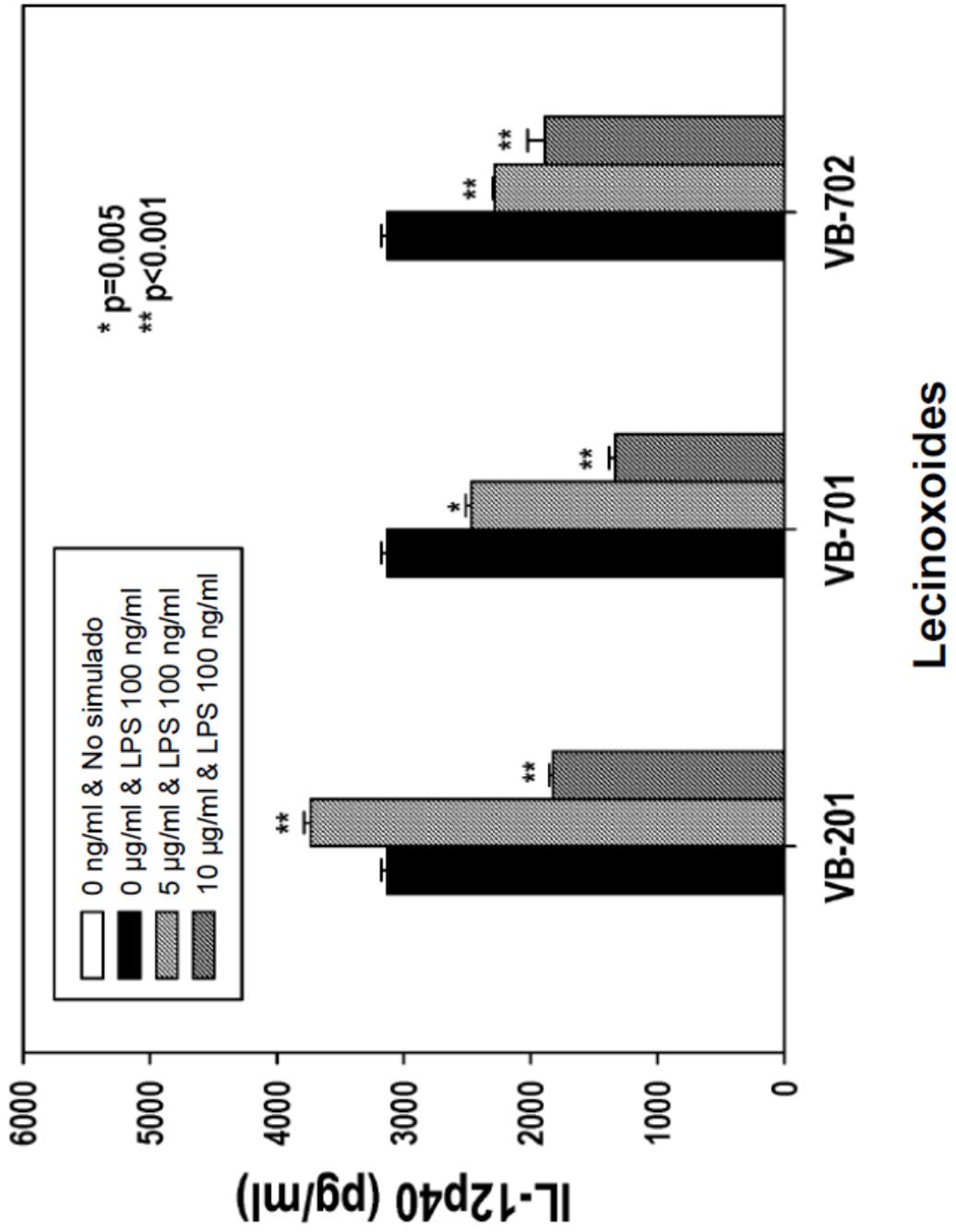
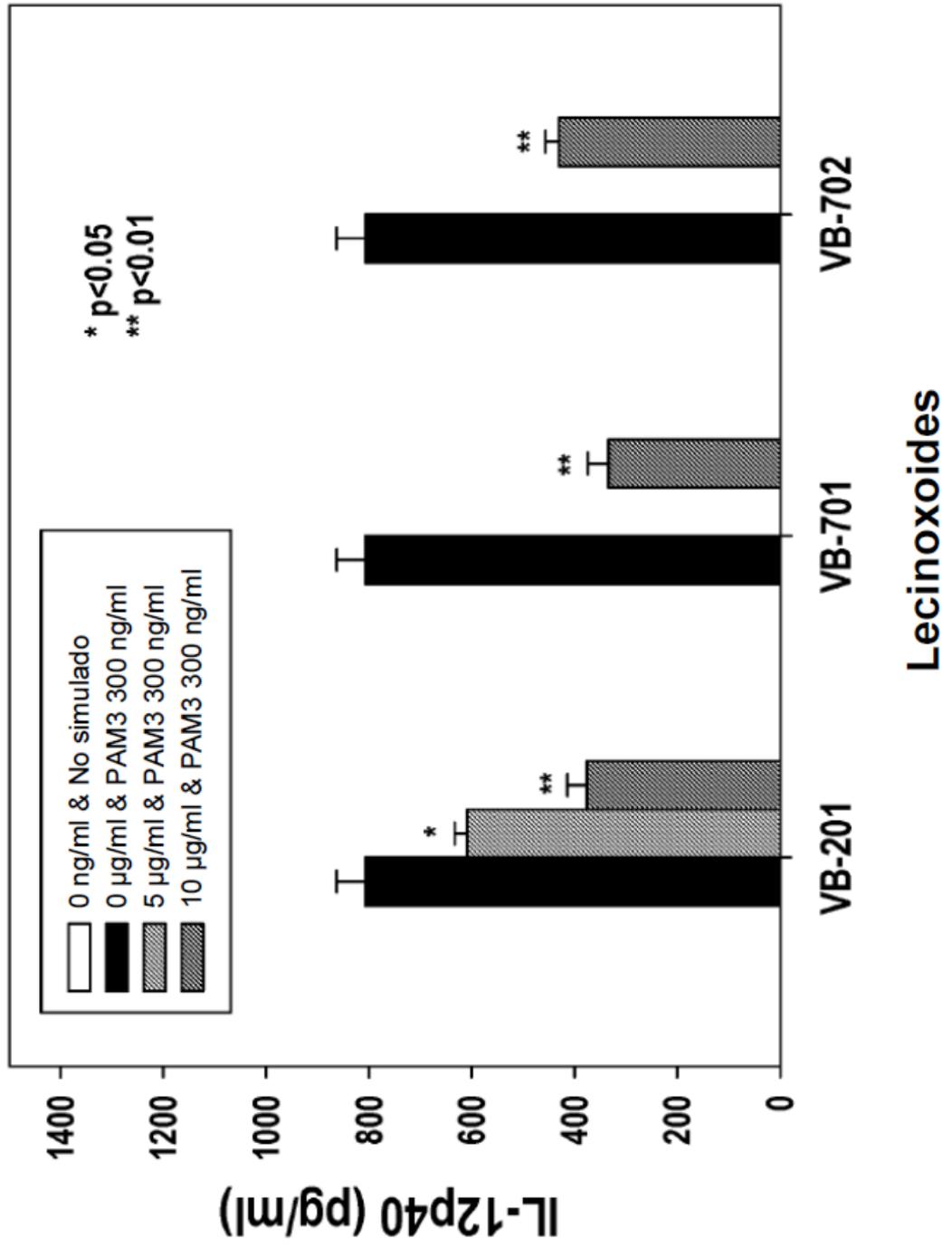


Fig 9B



**Fig 10A**

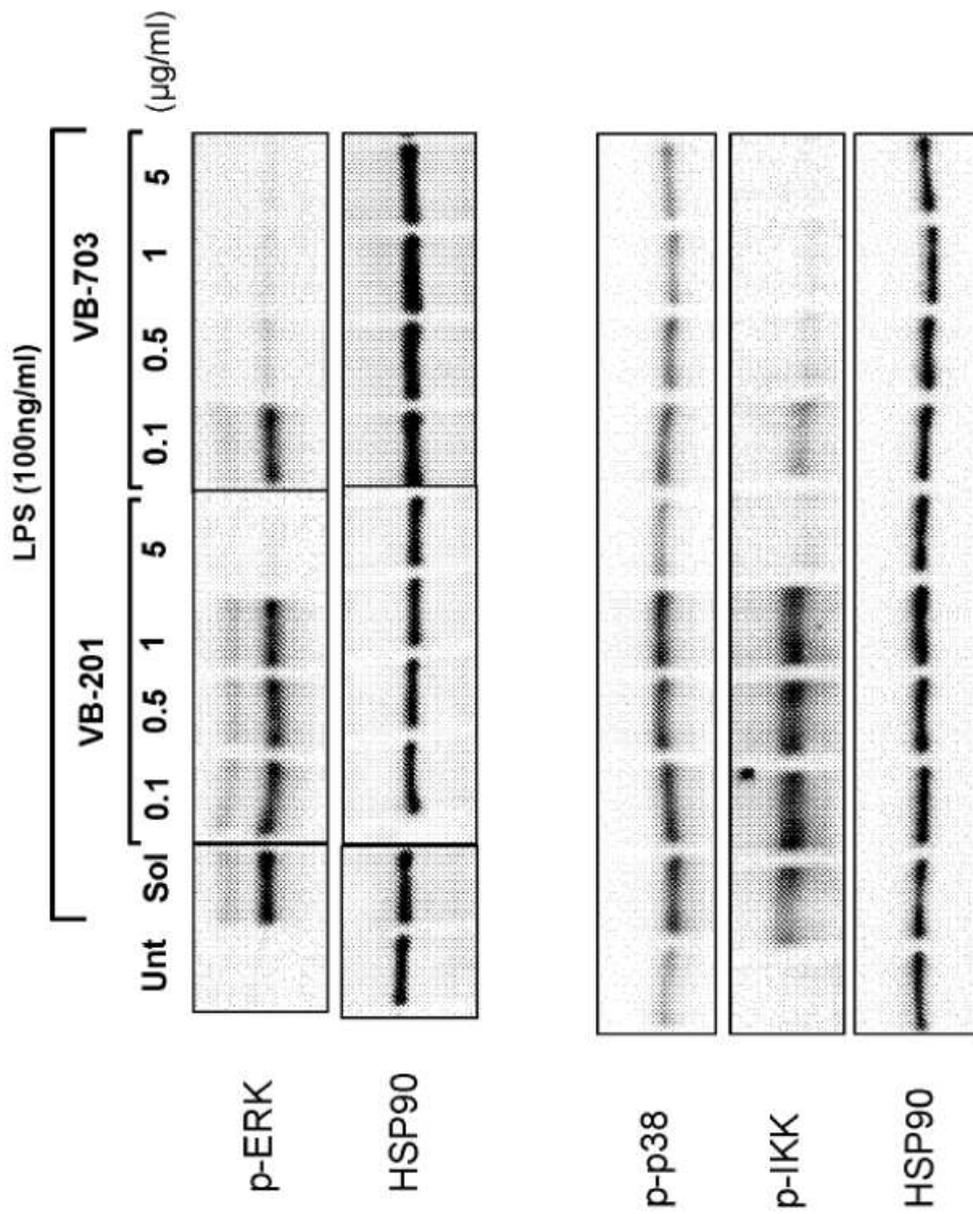


Fig 10B

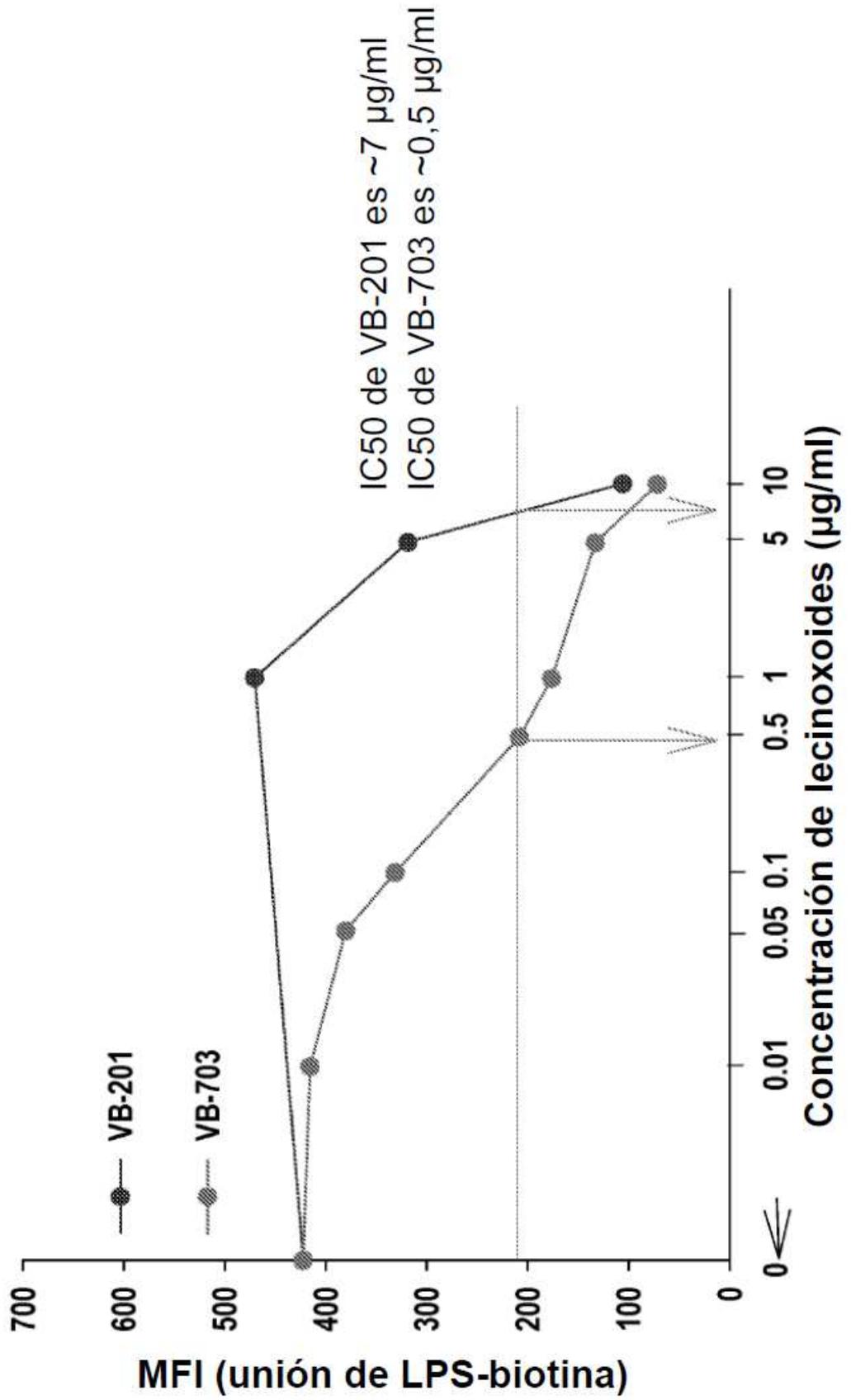
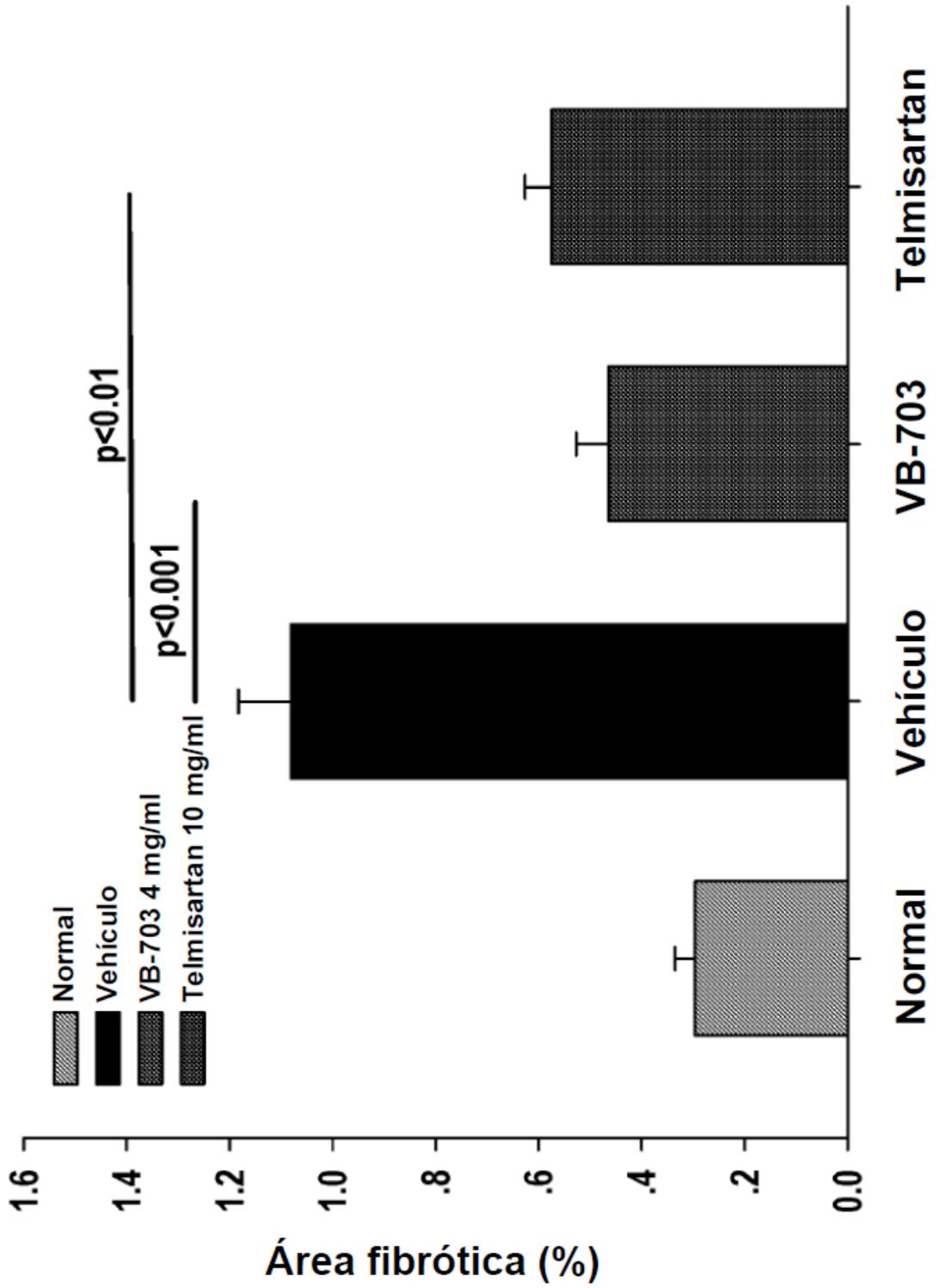


Fig 11A



**Fig 11B**

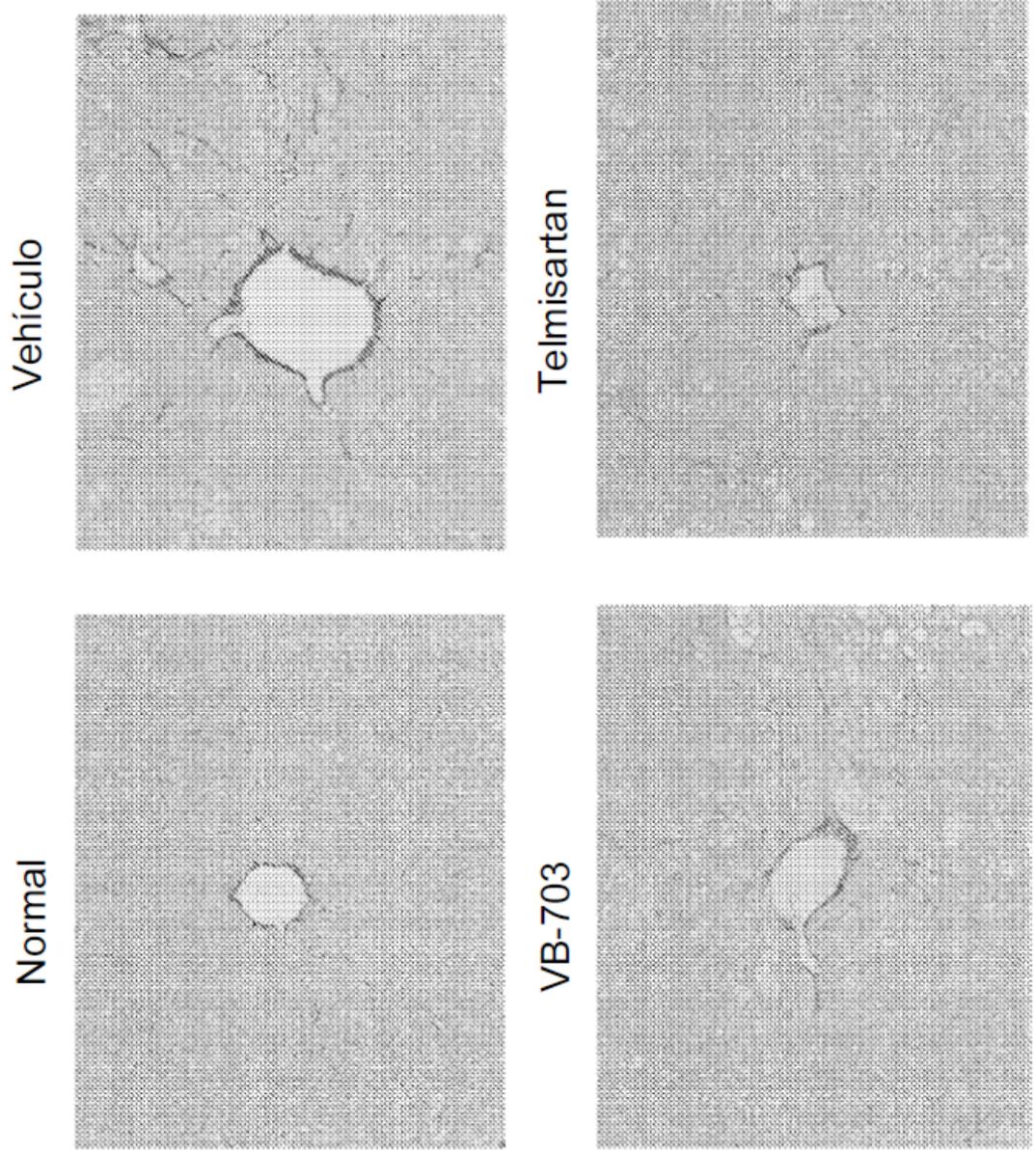
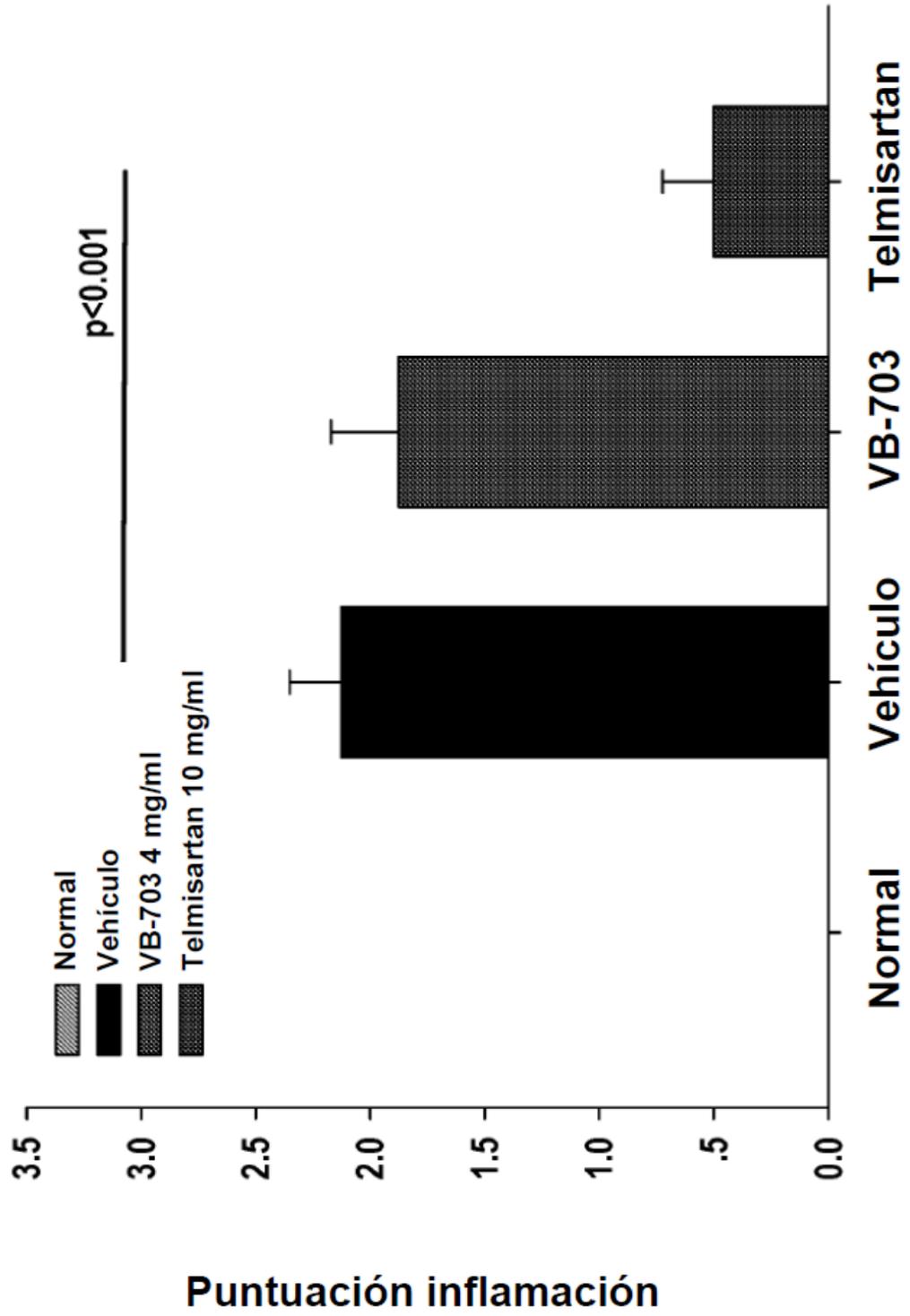
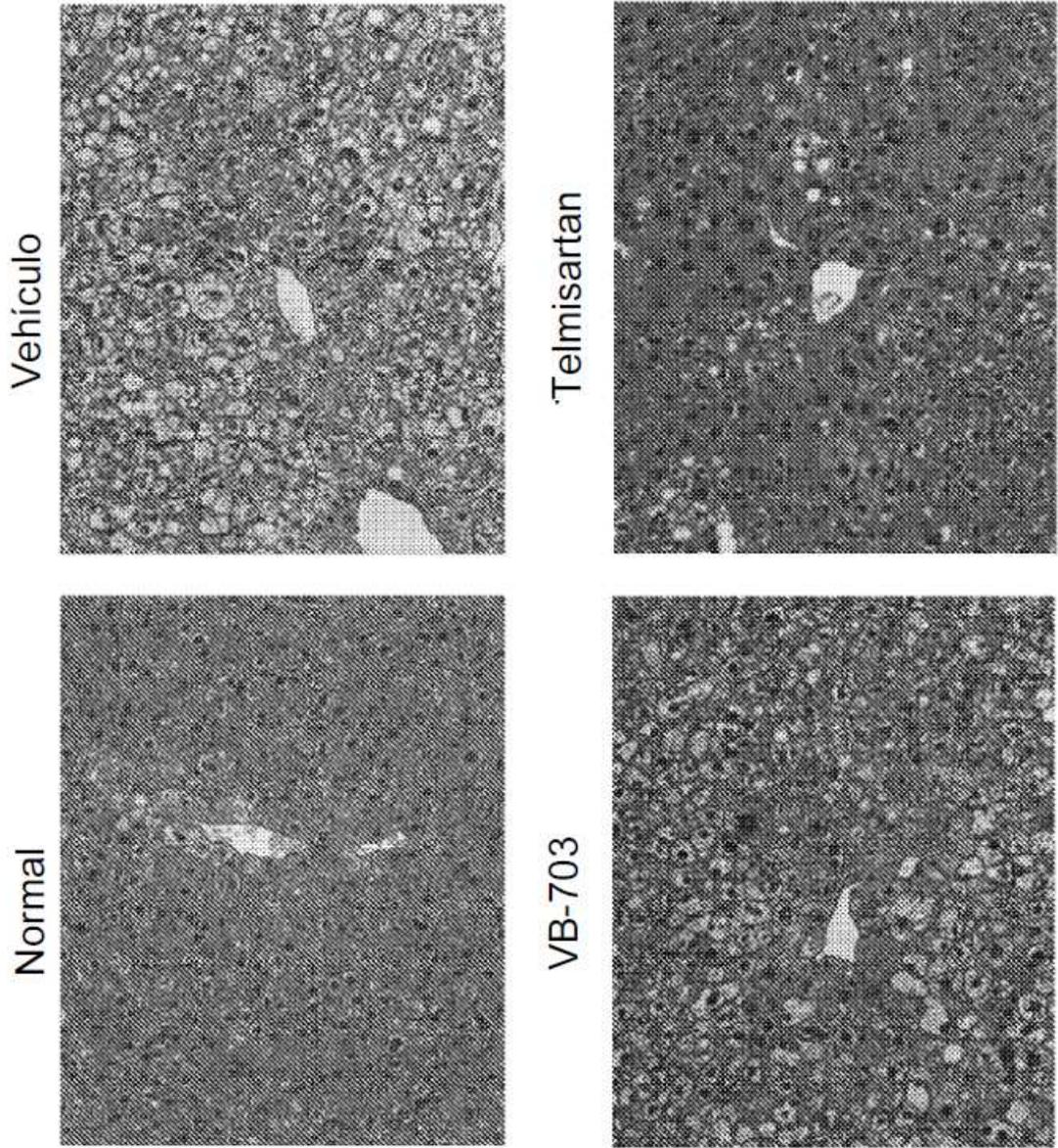


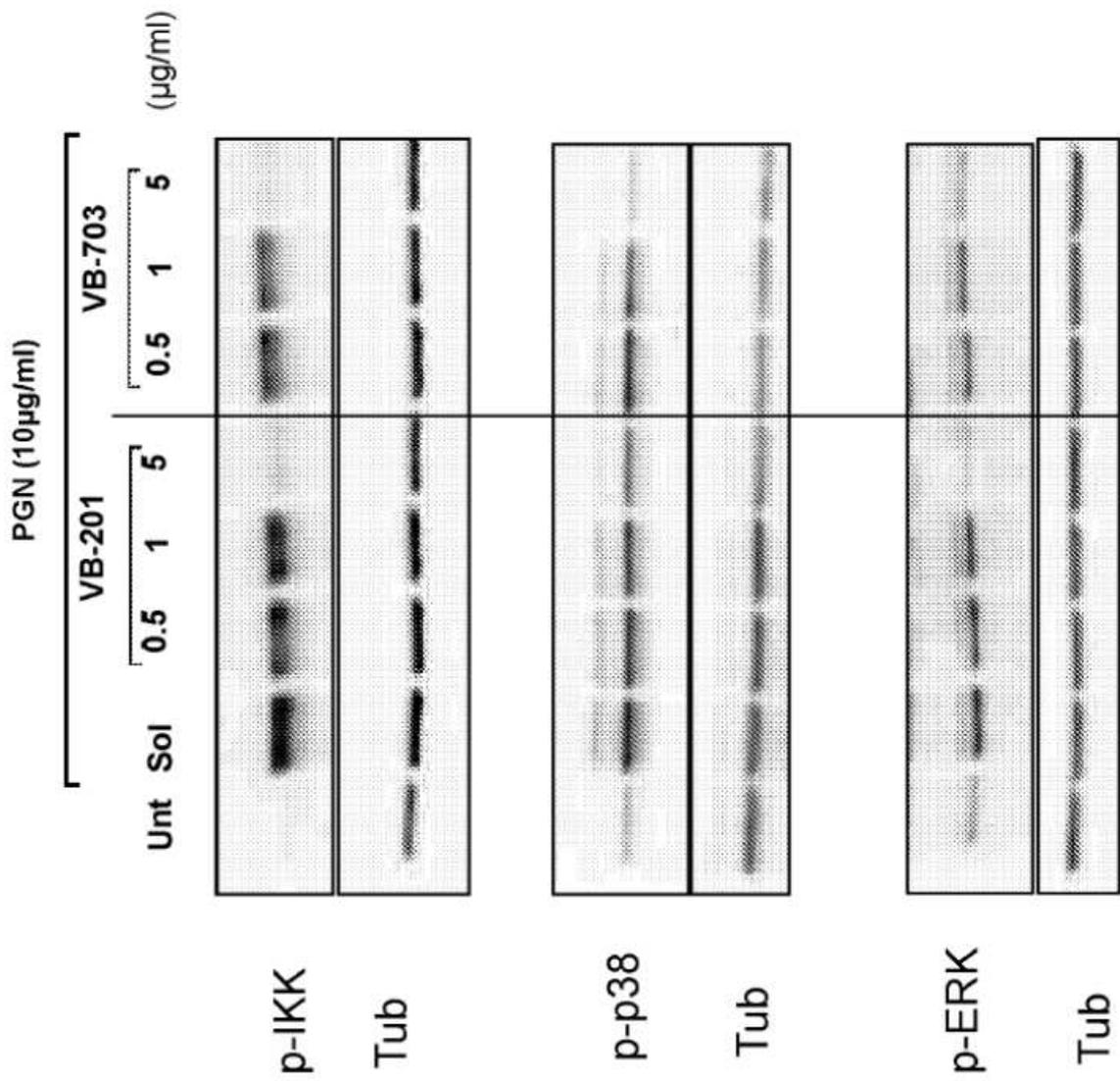
Fig 12A



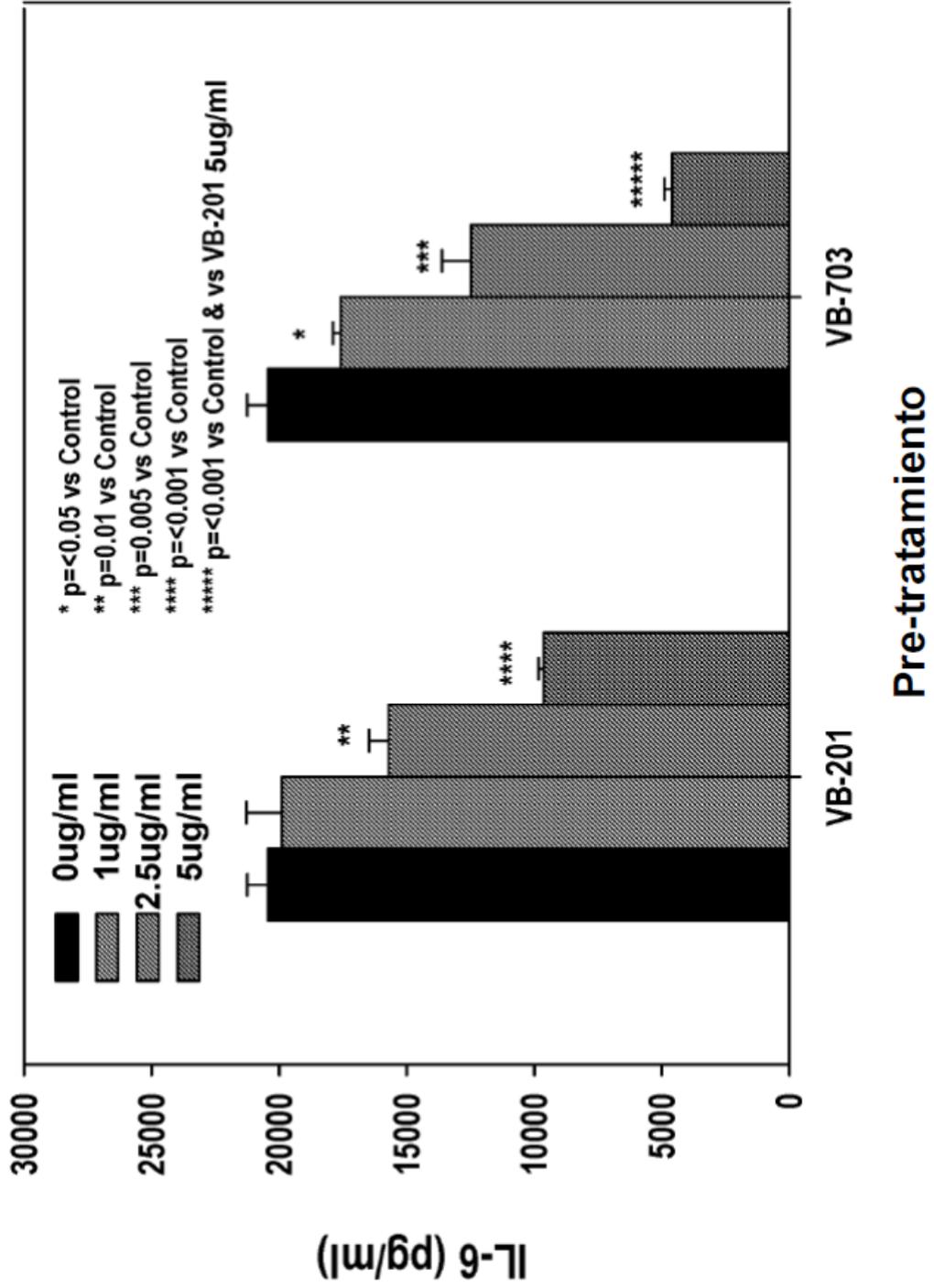
**Fig 12B**



**Fig 13**



**Fig 14**  
**LPS DC Mo-derivado (100 ng/ml) simulado (O.N)**



**Fig 15**  
**LPS DC Mo-derivado (100 ng/ml) simulado (O.N)**

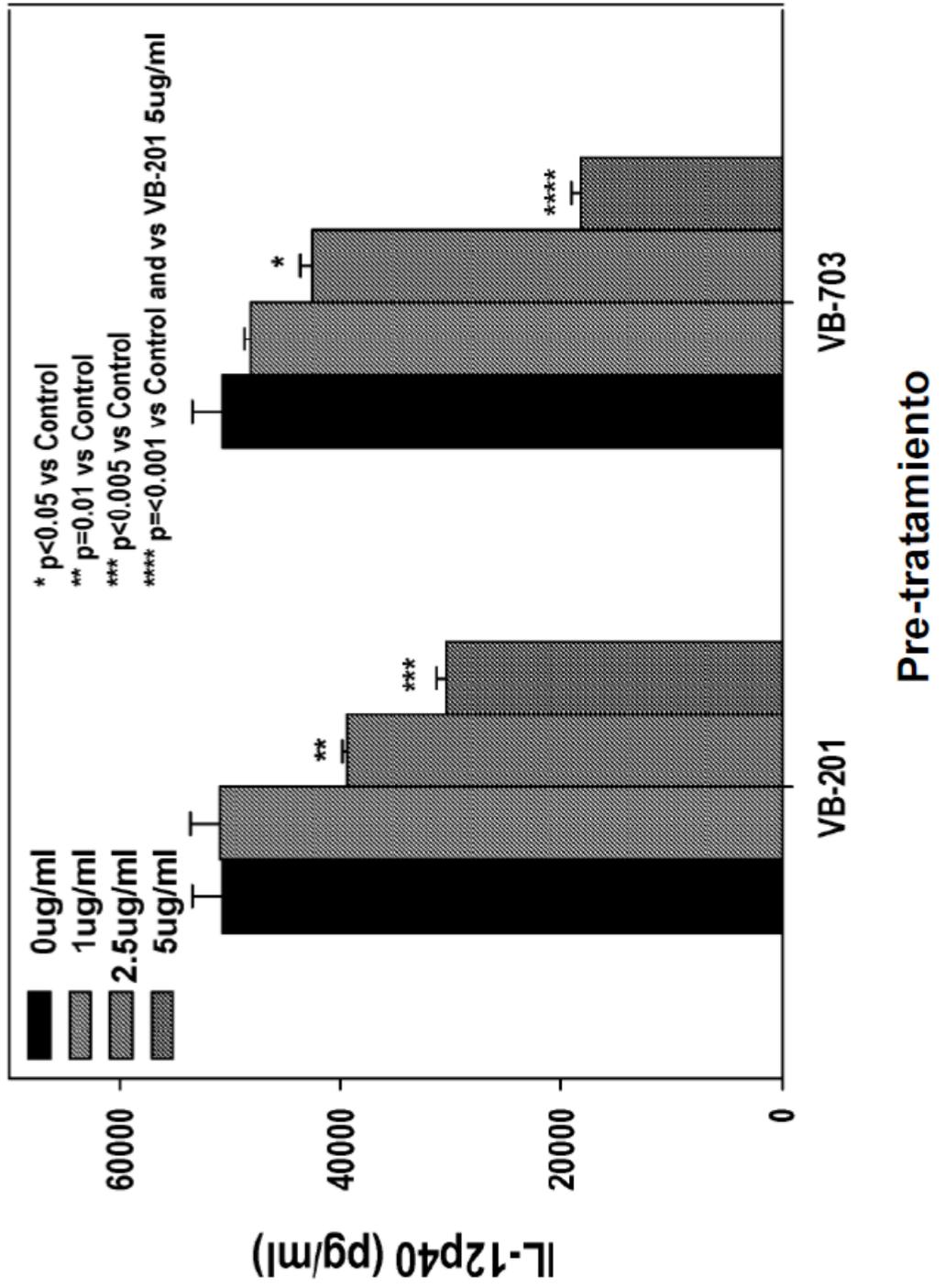


Fig 16

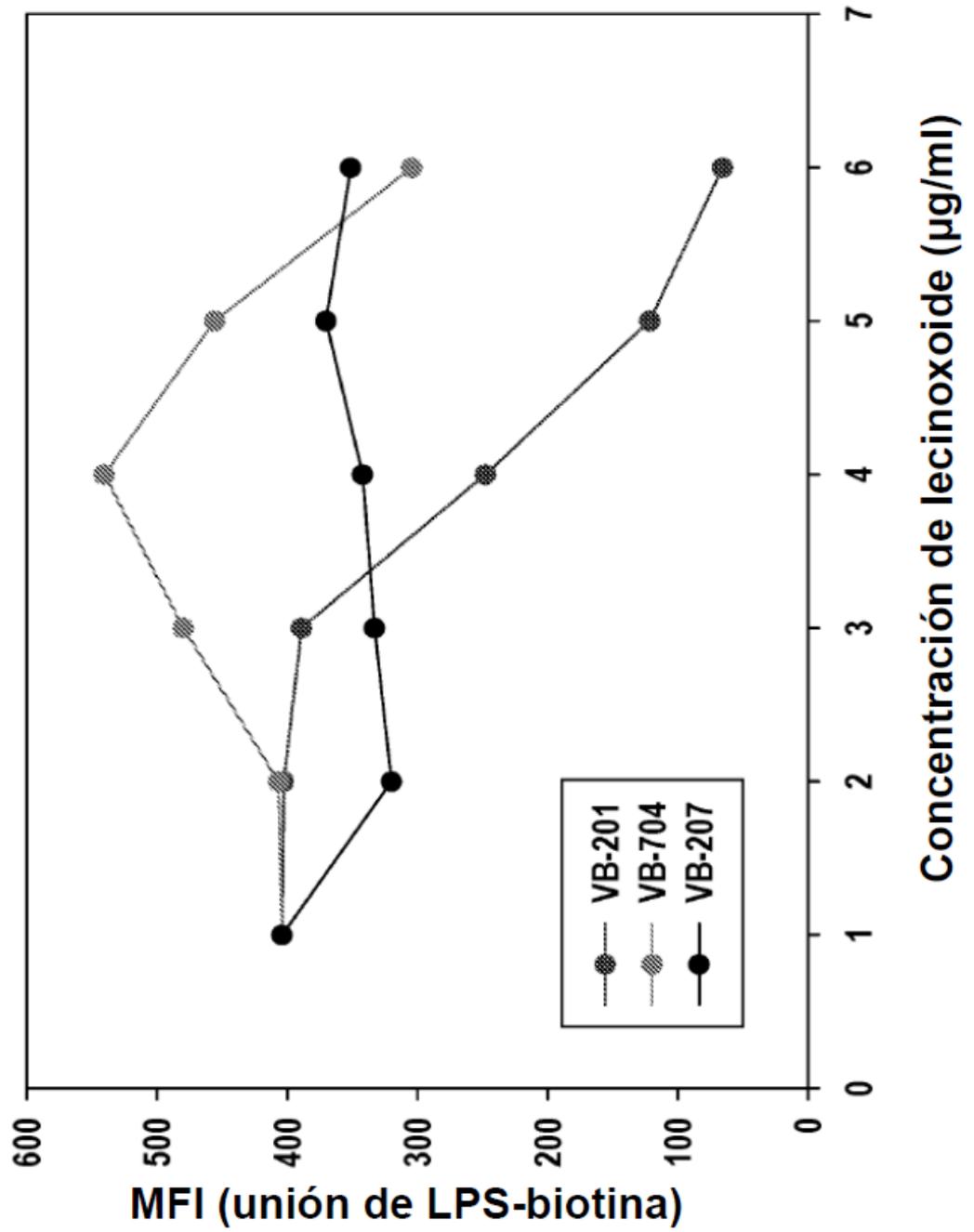


Fig 17

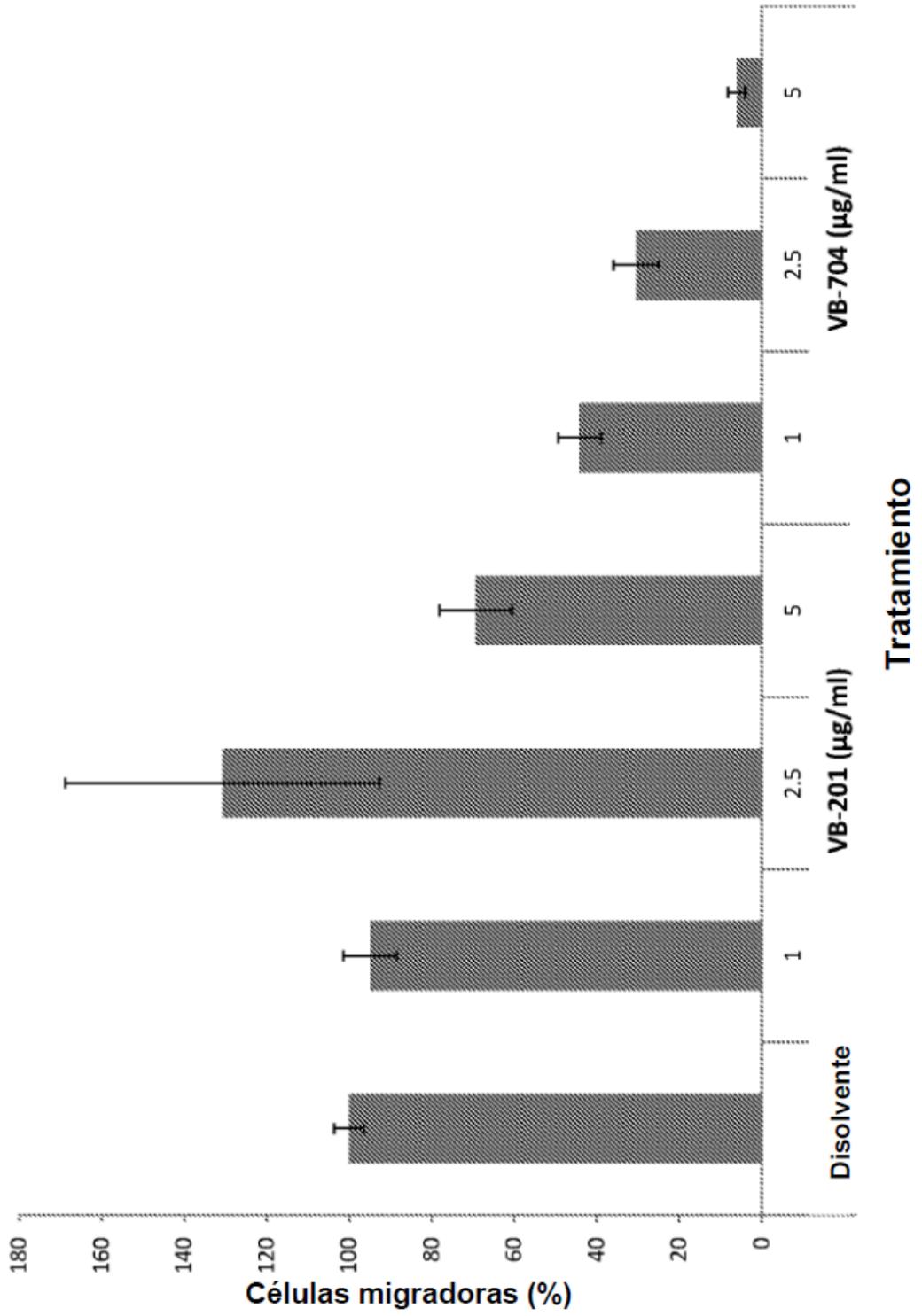


Fig 18

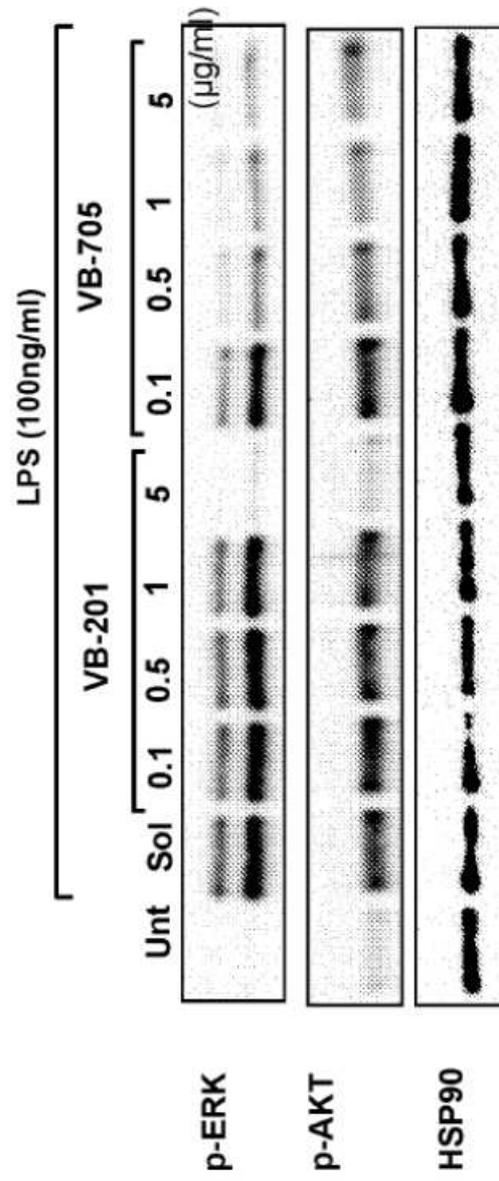


Fig 19

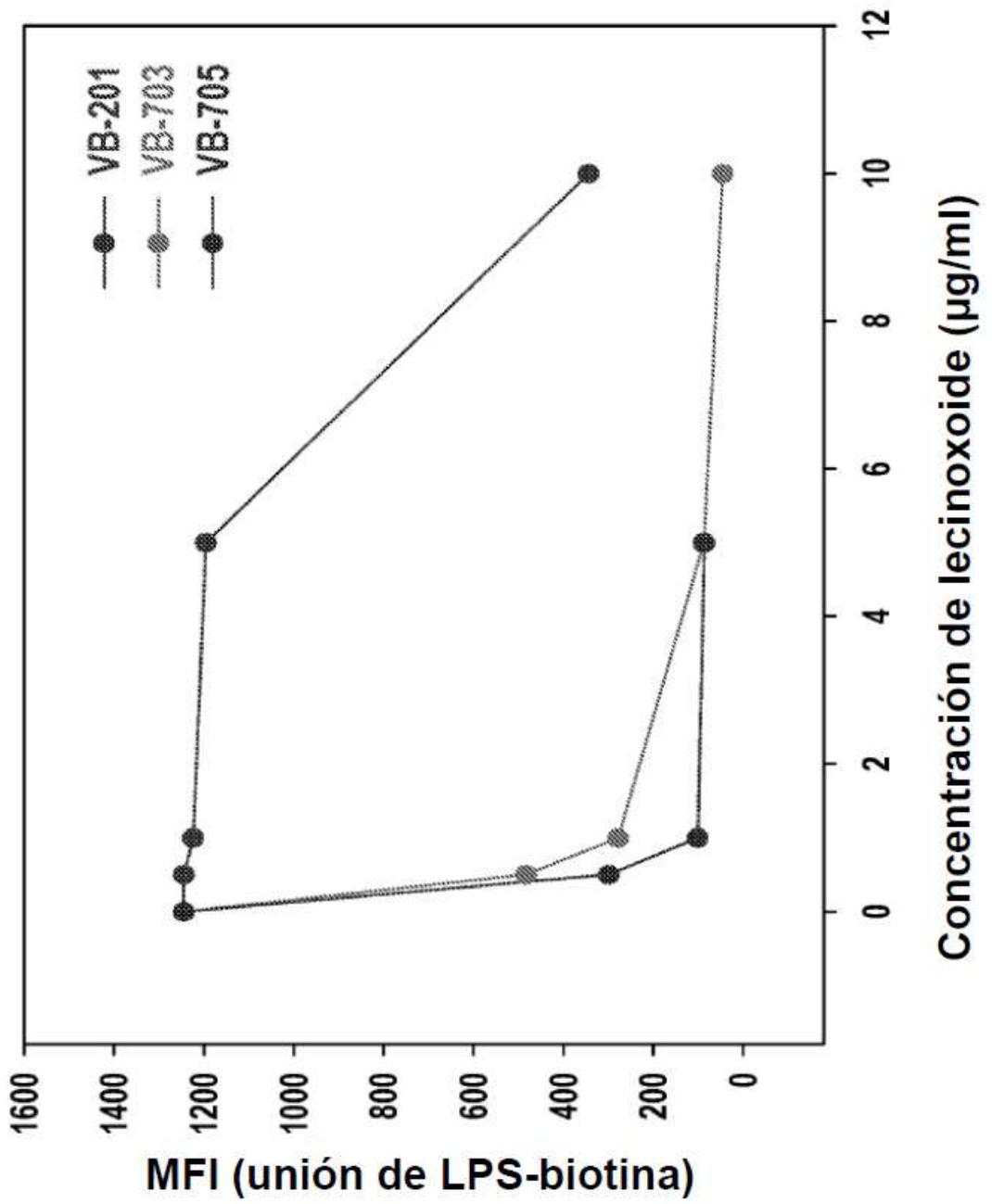


Fig 20

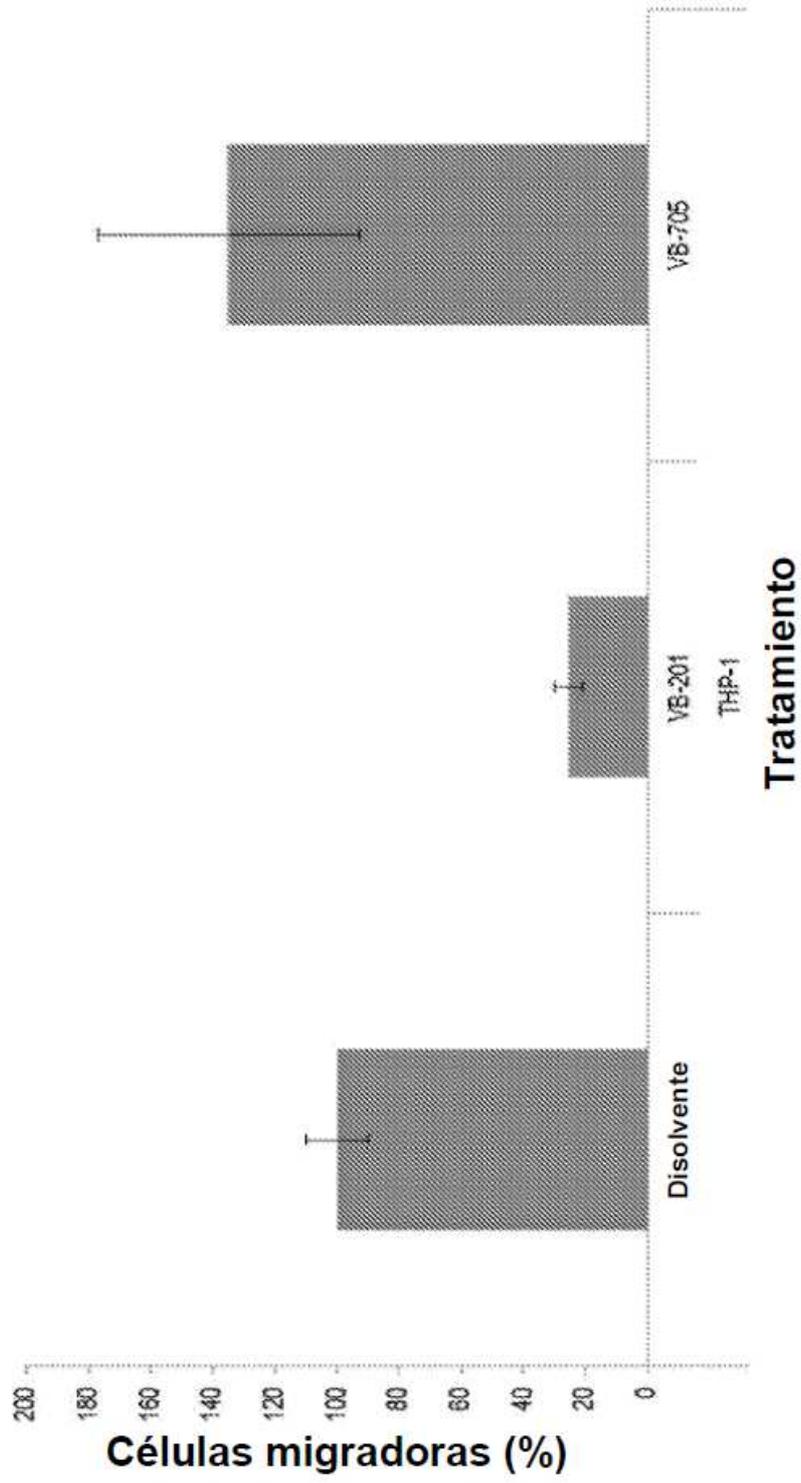


Fig 21A

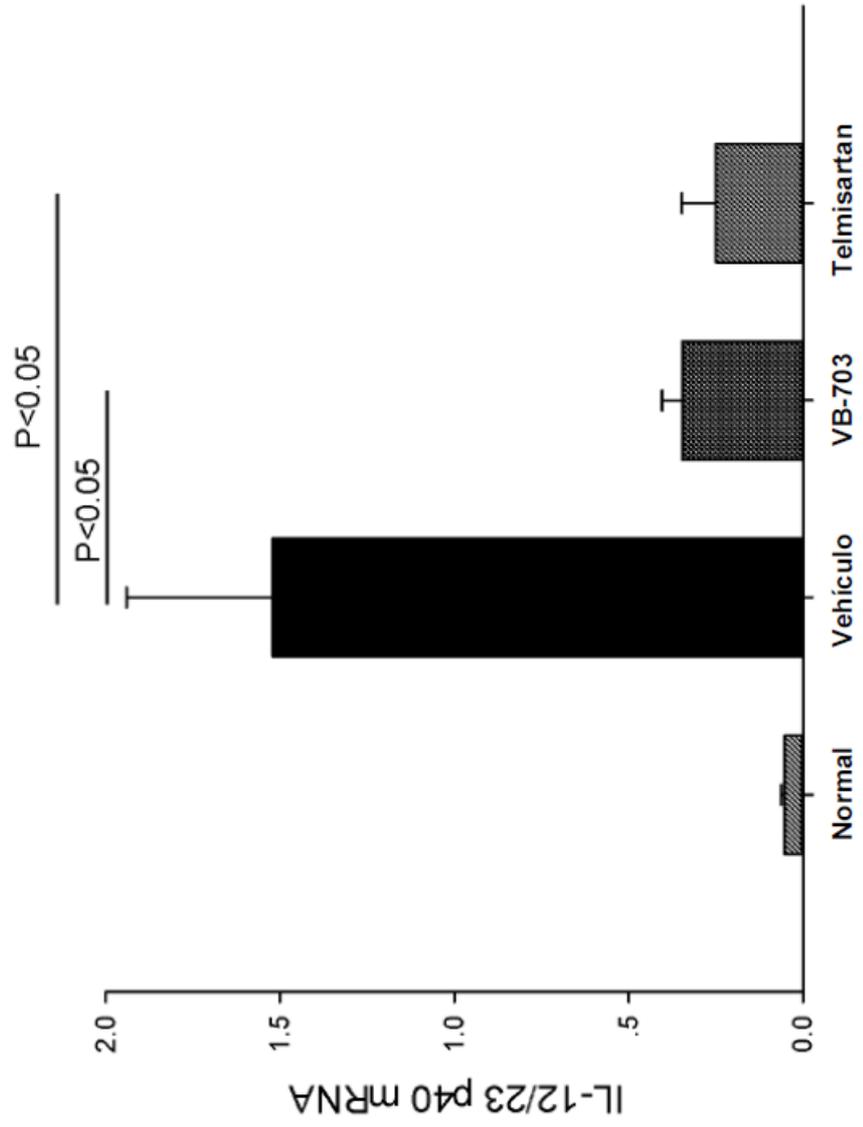


Fig 21B

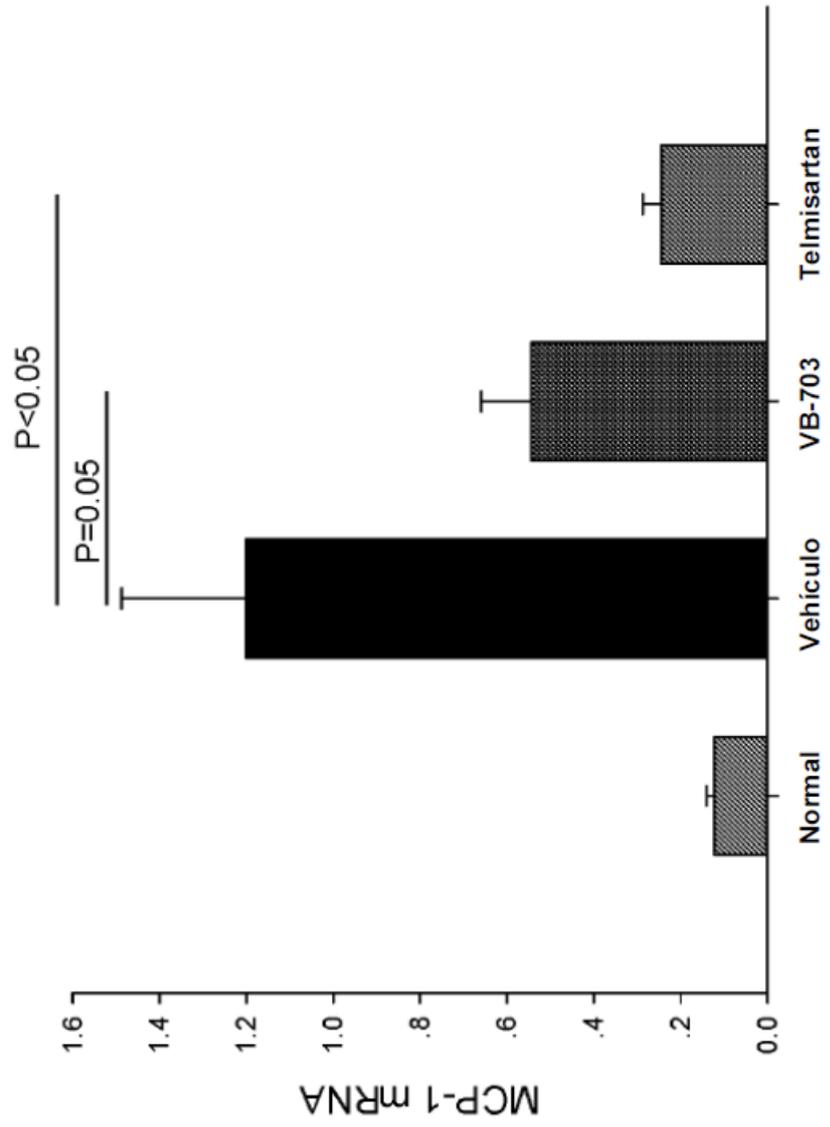


Fig 21C

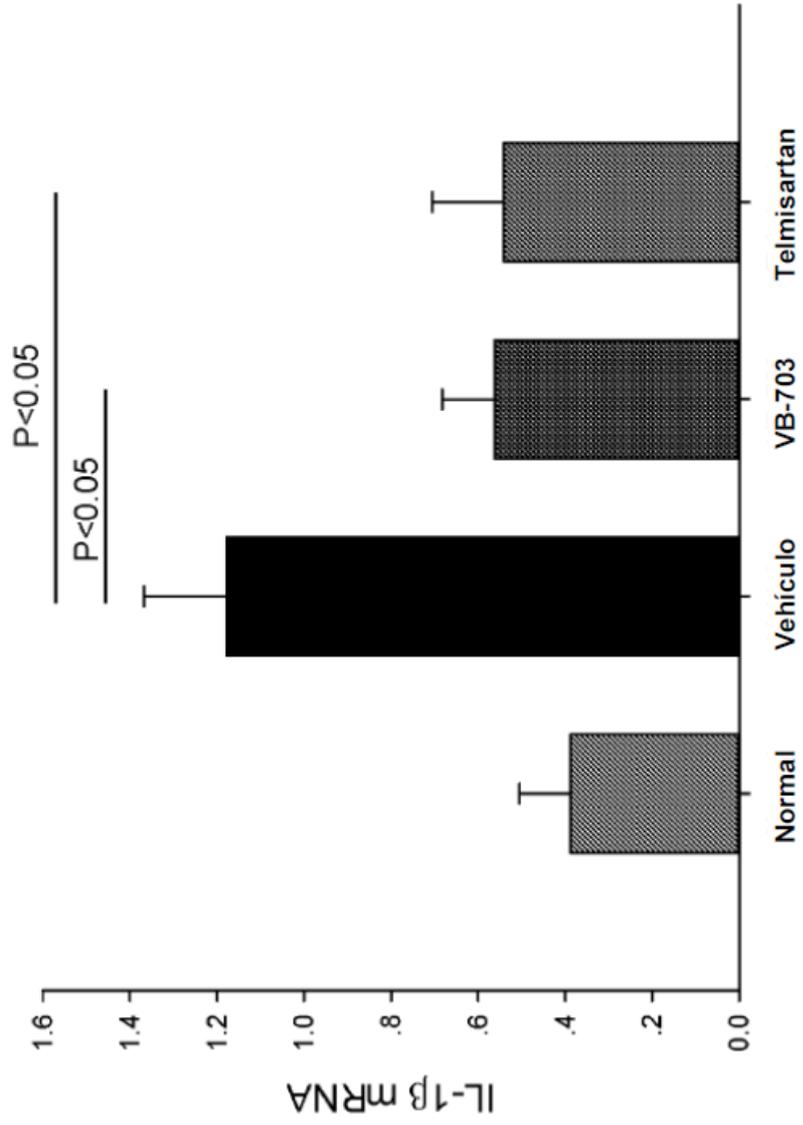


Fig 22

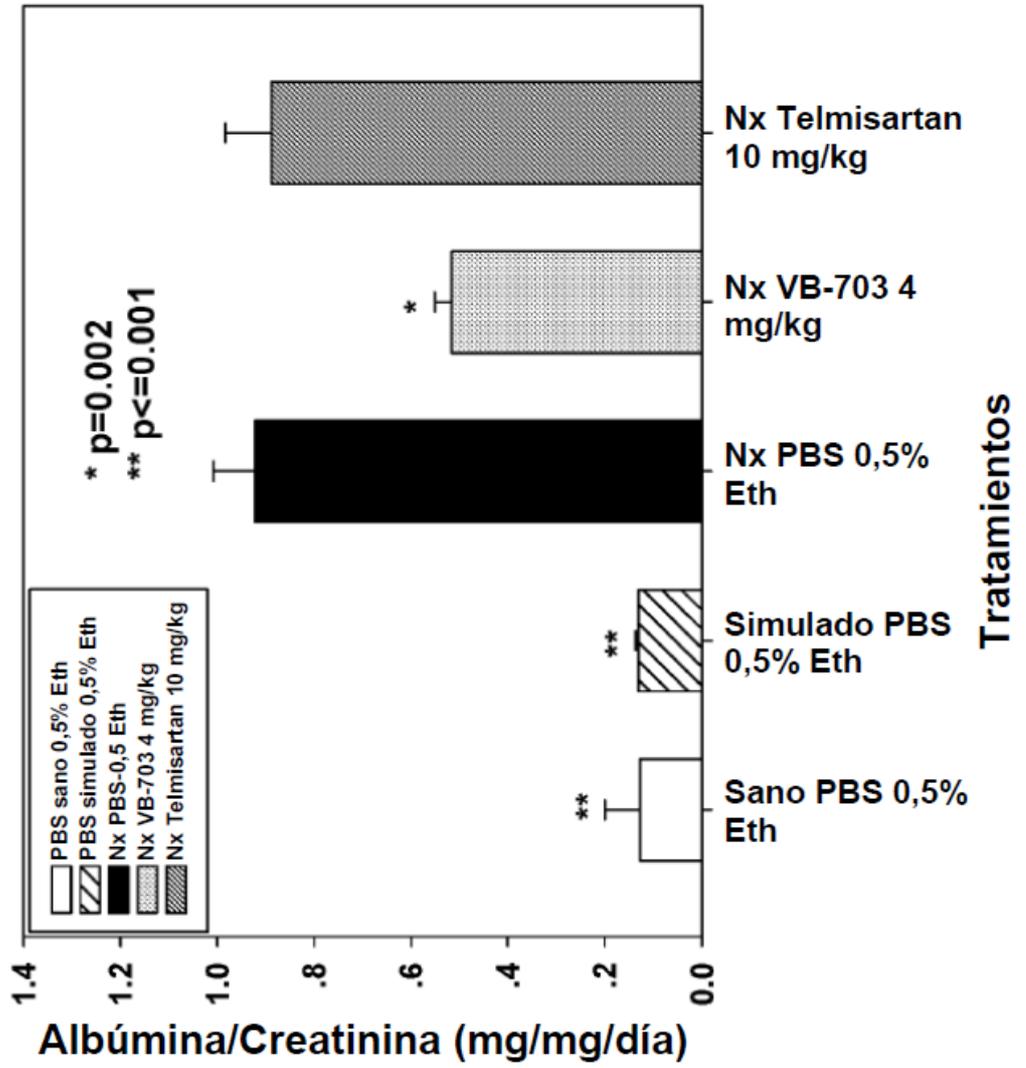


Fig 23

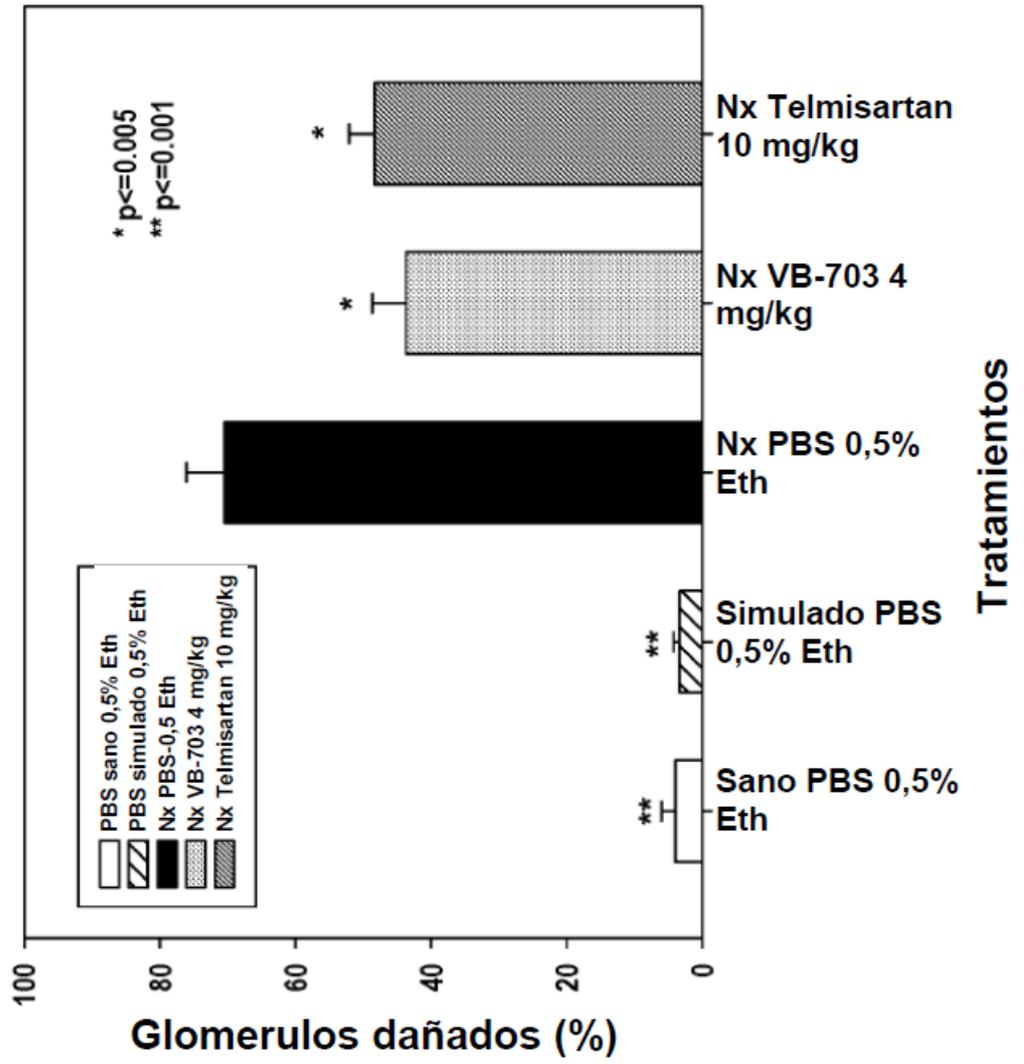
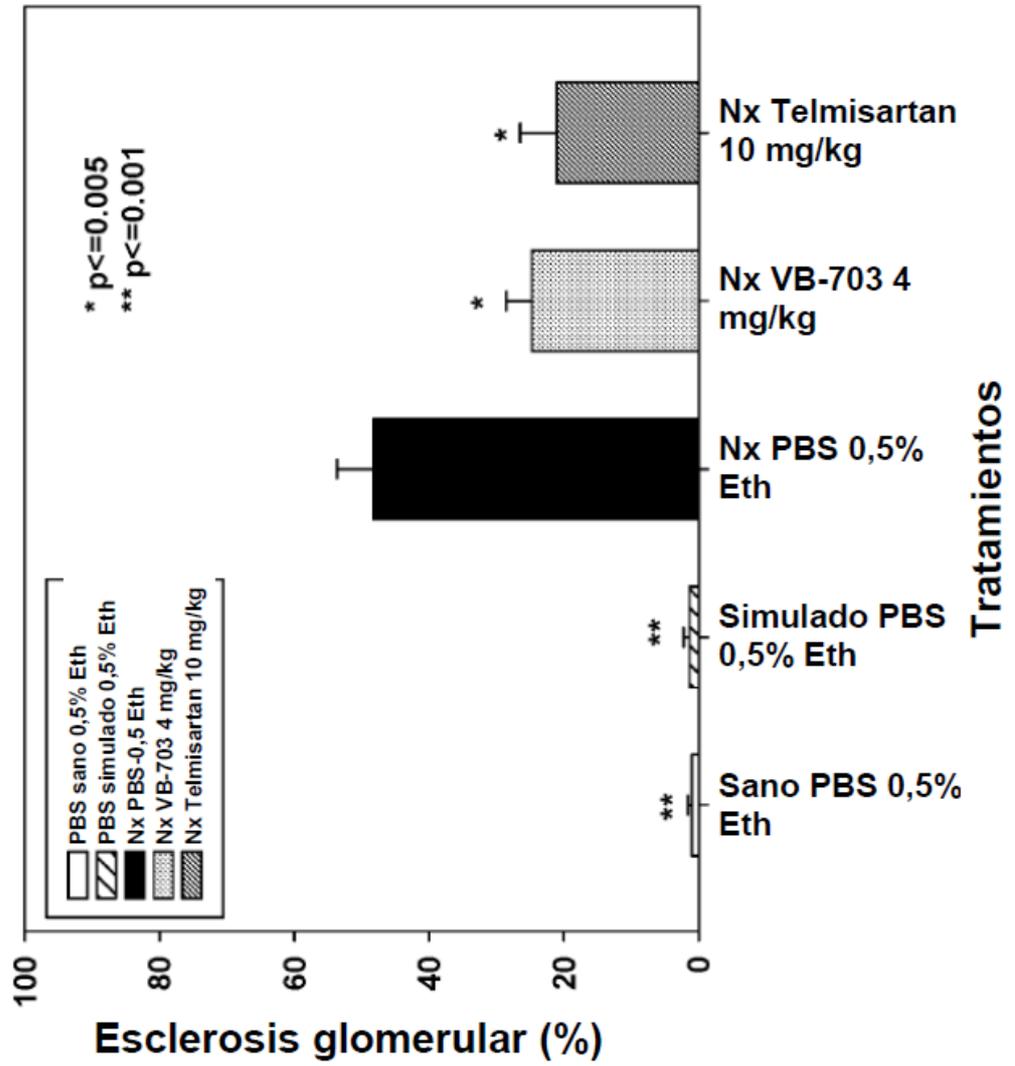
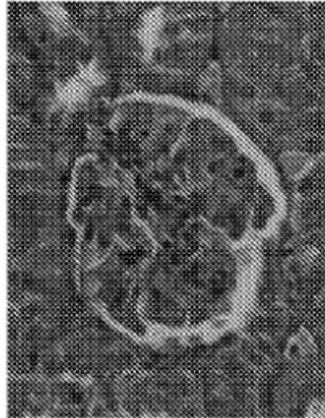


Fig 24



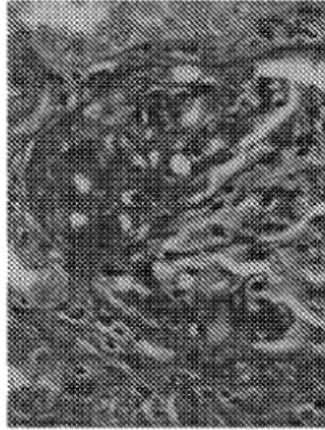
**Fig 25**



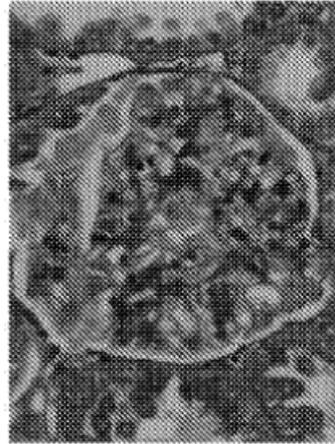
Sano x400



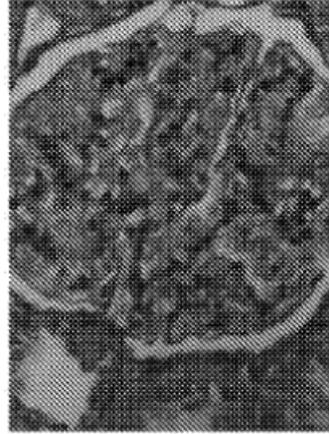
Simulado x400



Nx PBS 0,5%Eth x400



Nx VB-703  
4 mg/kg x400



Nx Telmisartan  
10 mg/kg x400

Fig 26A

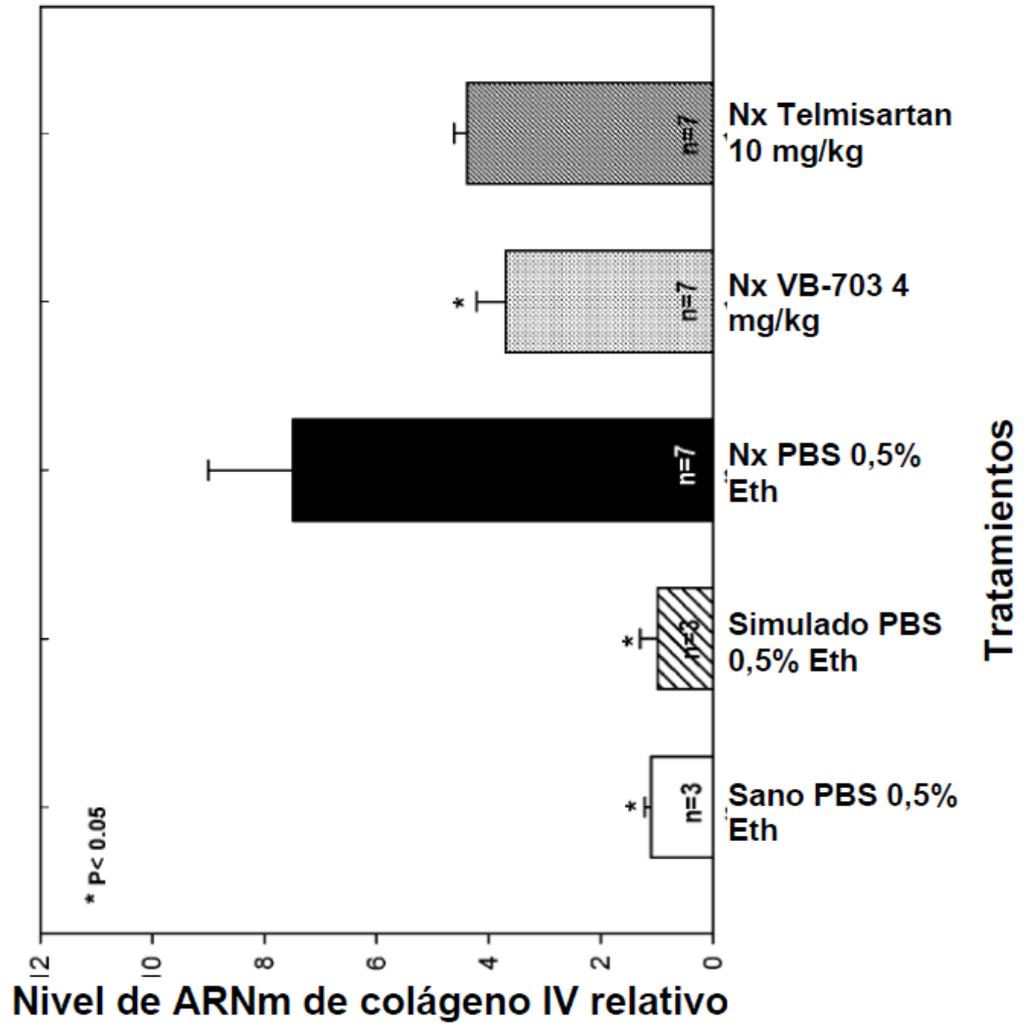


Fig 26B

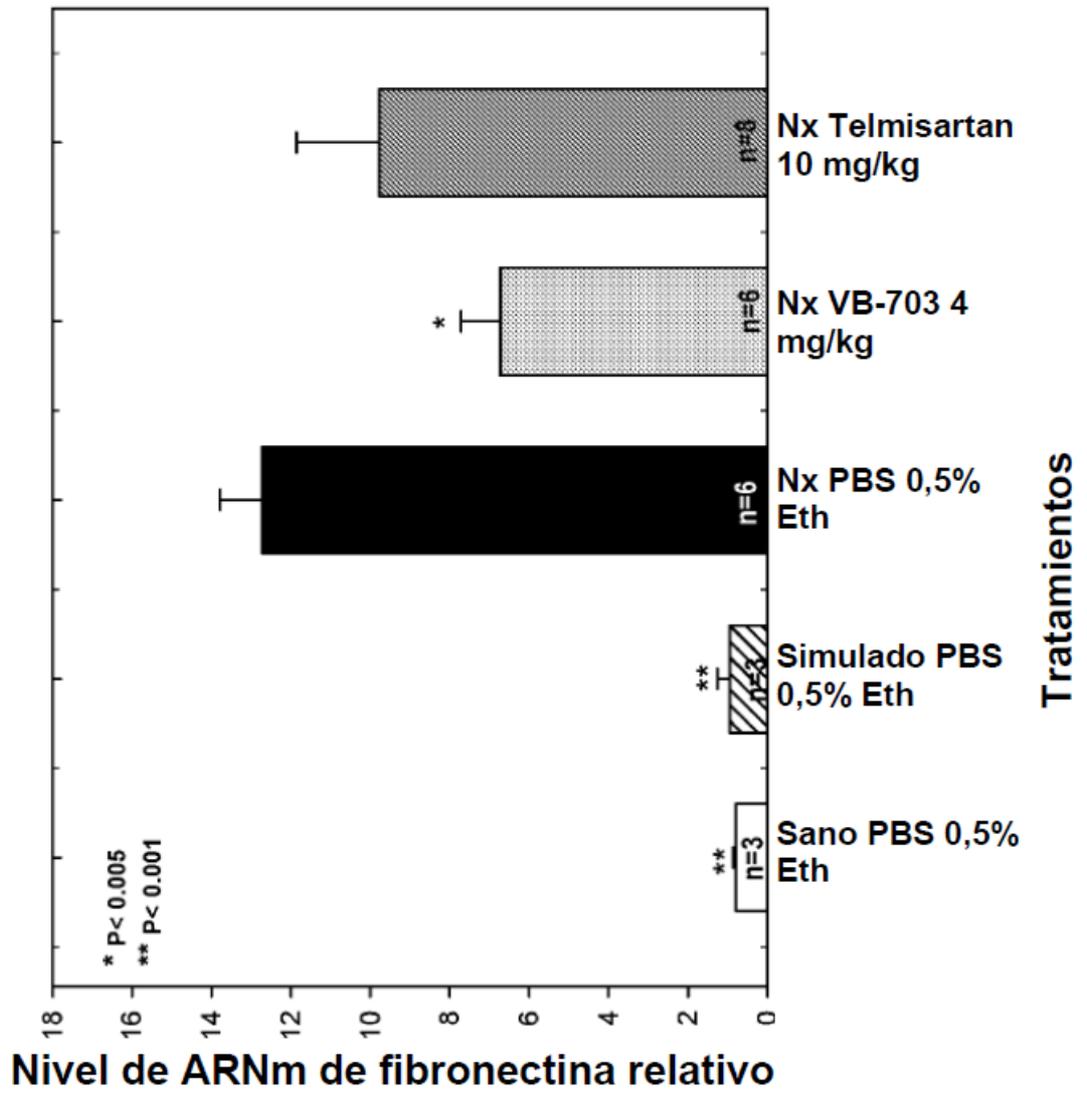


Fig 26C

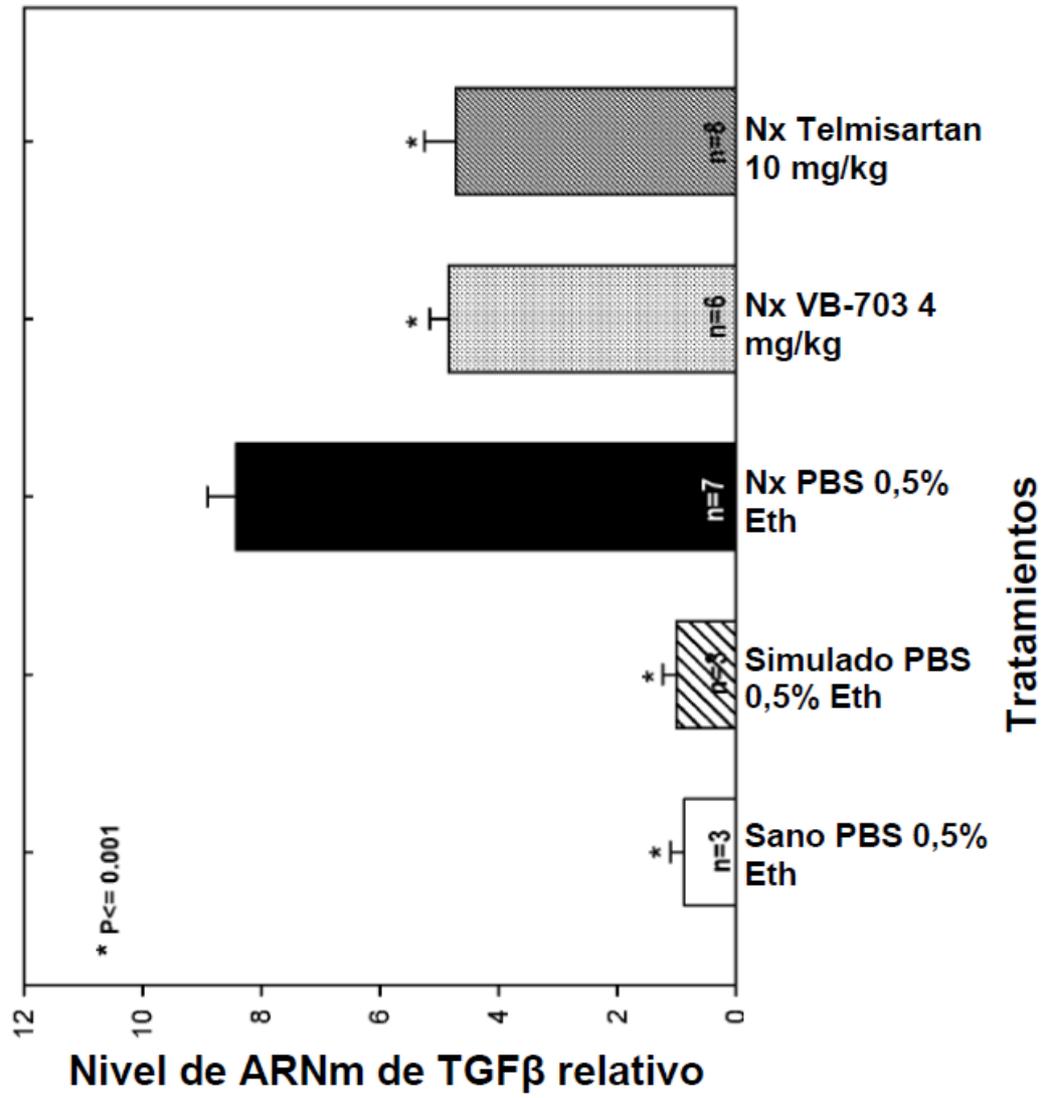


Fig 27A

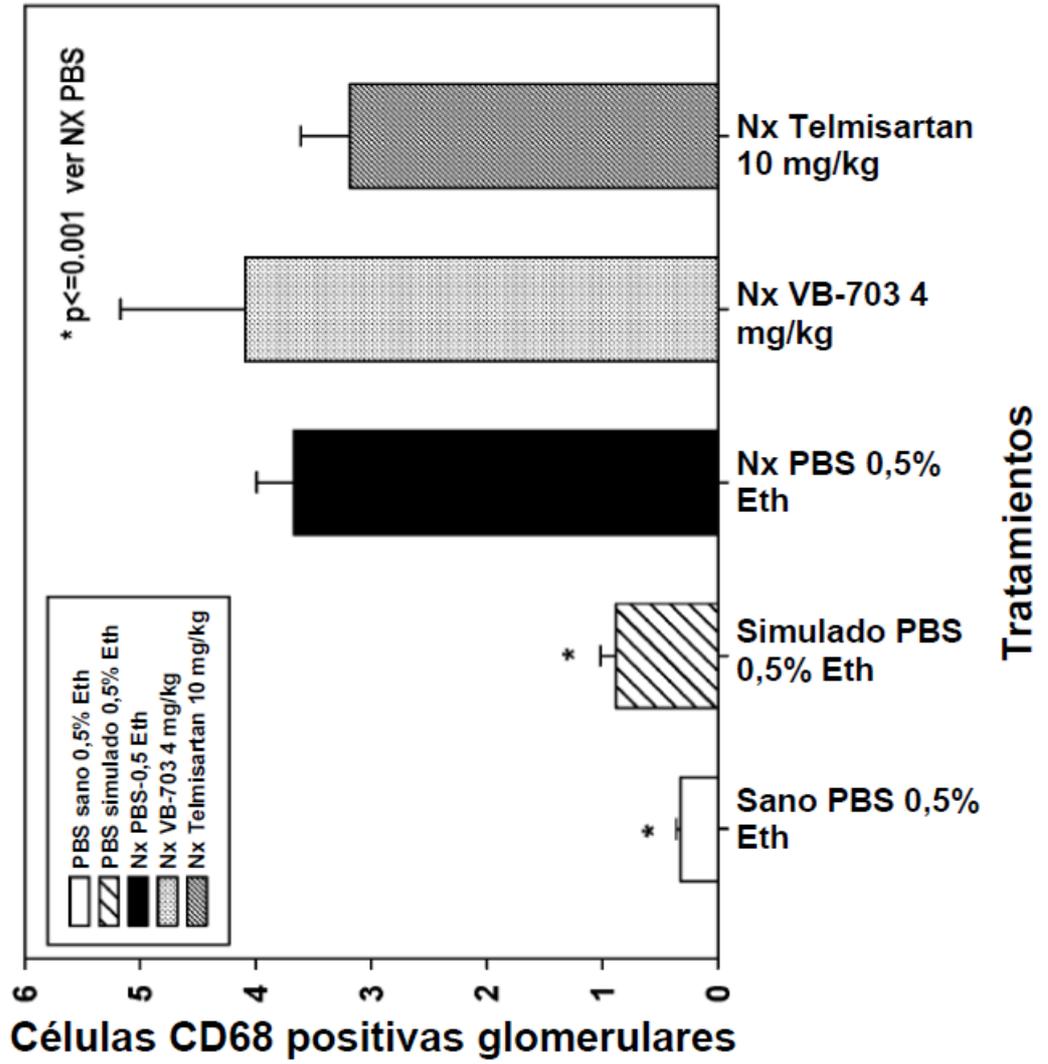


Fig 27B

