(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle
Bureau international

(43) Date de la publication internationale
19 août 2004 (19.08.2004)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2004/069241 A1

(51) Classification internationale des brevets[7] :
A61K 31/25, C07C 323/52, 327/28, A61P 9/10

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2004/000229

(22) Date de dépôt international : 2 février 2004 (02.02.2004)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
03/01144 31 janvier 2003 (31.01.2003) FR

(71) Déposant *(pour tous les États désignés sauf US)* : **GENFIT** [FR/FR]; Parc Eurasanté-Lille Métropole, 885, rue Eugène Avinée, F-59120 Loos (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants *(pour US seulement)* : **DARTEIL, Raphaël** [FR/FR]; 17, rue Saint François, F-59000 Lille (FR). **CAUMONT-BERTRAND, Karine** [FR/FR]; 39, rue du Pont Rouge, F-59236 Frelinghien (FR). **NAJIB, Jamila** [FR/FR]; 185, rue Clémenceau, F-59211 Santes (FR).

(74) Mandataires : **BECKER, Philippe** etc.; Becker et Associés, 35, rue des Mathurins, F-75008 Paris (FR).

(81) États désignés *(sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible)* : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés *(sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible)* : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Déclaration en vertu de la règle 4.17 :
— *relative à la qualité d'inventeur (règle 4.17.iv)) pour US seulement*

Publiée :
— *avec rapport de recherche internationale*
— *avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues*

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

WO 2004/069241 A1

(54) Title: THERAPEUTIC USE OF ACYLGLYCEROLS AND THE NITROGEN- AND SULPHUR-CONTAINING ANALOGUES THEREOF

(54) Titre : UTILISATION THERAPEUTIQUE D'ACYLGLYCEROLS ET DE LEURS ANALOGUES AZOTES ET SULFURES

(57) Abstract: The invention relates to the use of acylglycerols and the nitrogen- and sulphur-containing analogues thereof in therapy, particularly for the treatment of cerebral ischemia. The invention further relates to methods for preparation of said derivatives, novel compounds, in particular acylglycerols, the nitrogen- and sulphur-containing analogues thereof and methods for production thereof.

(57) Abrégé : La présente invention concerne l'utilisation d'acylglycérols et de leurs analogues azotés et sulfurés dans le domaine thérapeutique, notamment pour le traitement de l'ischémie cérébrale. Elle a également trait à des procédés de préparation de ces dérivés. Elle concerne aussi de nouveaux composés particuliers d'acylglycérols et de leurs analogues azotés et sulfurés et leurs procédés de préparation.

UTILISATION THERAPEUTIQUE D'ACYLGLYCEROLS ET DE LEURS ANALOGUES AZOTES ET SULFURES

La présente invention concerne l'utilisation d'acylglycérols et de leurs analogues azotés et sulfurés dans le domaine thérapeutique, notamment pour le traitement de l'ischémie cérébrale. Elle a également trait à des procédés de préparation de ces dérivés. Elle concerne aussi de nouveaux composés particuliers d'acylglycérols et de leurs analogues azotés et sulfurés et leurs procédés de préparation.

Les composés de l'invention possèdent des propriétés pharmacologiques, anti-oxydantes et anti-inflammatoires avantageuses. L'invention décrit également les procédés de traitement thérapeutique utilisant ces composés et des compositions pharmaceutiques les contenant. Les composés de l'invention sont utilisables en particulier pour prévenir ou traiter les accidents vasculaires cérébraux.

En France, la pathologie vasculaire cérébrale (150000 nouveaux cas par an) représente la troisième cause de mortalité et la première cause de handicap chez l'adulte. Les accidents ischémiques et hémorragiques concernent respectivement 80% et 20% de cette pathologie. Les accidents ischémiques cérébraux constituent un enjeu thérapeutique important pour diminuer la morbidité et la mortalité de cette affection. Des avancées ont été faites non seulement dans le traitement de la phase aiguë de l'ischémie mais également dans sa prévention. Il est aussi important de noter que l'identification et la prise en charge des facteurs de risque sont essentielles au traitement de cette pathologie.

Les traitements médicamenteux des accidents ischémiques cérébraux sont fondés sur différentes stratégies. Une première stratégie consiste à prévenir la survenue des accidents ischémiques cérébraux par la prévention des facteurs de risque (hypertension artérielle, hypercholestérolémie, diabète, fibrillation auriculaire, etc.) ou par la prévention de la thrombose, en particulier à l'aide d'anti-aggrégants plaquettaires ou d'anticoagulants (Adams 2002).

Une deuxième stratégie consiste à traiter la phase aiguë de l'ischémie, afin d'en diminuer les conséquences à long terme (Lutsep and Clark 2001).

La physiopathologie de l'ischémie cérébrale peut être décrite de la façon suivante : la zone de pénombre, zone intermédiaire entre le cœur de l'ischémie où les neurones sont nécrosés et le tissu nerveux intact, est le siège d'une cascade physiopathologique qui aboutit en quelques jours à la mort neuronale, si la reperfusion n'est pas assurée ou si la neuroprotection n'est pas assez efficace. Le premier événement, qui survient dans les premières heures, est une libération massive de glutamate qui aboutit à une dépolarisation neuronale ainsi qu'à un œdème cellulaire. L'entrée de calcium dans la cellule induit des dégâts mitochondriaux favorisant la libération de radicaux libres ainsi que l'induction d'enzymes qui provoquent la dégradation membranaire des neurones. L'entrée de calcium et la production de radicaux libres activent à leur tour certains facteurs de transcription, comme NF-κB. Cette activation induit des processus inflammatoires comme l'induction de protéines d'adhésion au niveau endothélial, l'infiltration du foyer ischémique par les polynucléaires neutrophiles, l'activation microgliale, l'induction d'enzymes comme l'oxyde nitrique (NO) synthase de type II ou la cyclooxygénase de type II. Ces processus inflammatoires conduisent à la libération de NO ou de prostanoïdes qui sont toxiques pour la cellule. L'ensemble de ces processus aboutit à un phénomène d'apoptose provoquant des lésions irréversibles (Dirnagl, Iadecola et al. 1999).

Le concept de neuroprotection prophylactique s'appuie sur des bases expérimentales mettant en évidence une résistance vis-à-vis de l'ischémie dans des modèles animaux. En effet, différentes procédures appliquées préalablement à la réalisation d'une ischémie cérébrale expérimentale permettent de rendre celle-ci moins sévère. Différents stimuli permettent d'induire une résistance à l'ischémie cérébrale : le préconditionnement (ischémie brève précédant une ischémie prolongée) ; un stress thermique ; l'administration d'une faible dose de lipopolysaccharide bactérien (Bordet, Deplanque et al. 2000).

Ces stimuli induisent des mécanismes de résistance qui activent des signaux déclenchant les mécanismes de protection. Différents mécanismes de déclenchement ont été mis en évidence : cytokines, voies de l'inflammation, radicaux libres, NO, canaux potassique ATP dépendant, adénosine. Le délai observé entre le déclenchement des évènements précoces et la résistance à l'ischémie provient de la nécessité d'une synthèse protéique. Différents types de protéines ont été décrits comme induisant la résistance à l'ischémie : les protéines du choc thermique, les enzymes anti-oxydantes et les protéines anti-apoptotiques (Nandagopal, Dawson et al. 2001).

Il existe donc un réel besoin de composés capables de prévenir l'apparition des facteurs de risque de l'accident vasculaire cérébral tels que l'athérosclérose, le diabète, l'obésité, etc., capables d'exercer une activité prophylactique en terme de neuroprotection, mais également d'assurer une neuroprotection active dans la phase aiguë des accidents ischémiques cérébraux.

Les PPARs (α,β,γ) appartiennent à la famille des récepteurs nucléaires activés par les hormones. Lorsqu'ils sont activés par une association avec leur ligand, ils s'hétérodimérisent avec le Retinoïd-X-Receptor (RXR) et se fixent alors sur des « Peroxisome Proliferator Response Elements » (PPREs) qui sont localisés dans la séquence des promoteurs des gènes cibles. La fixation de PPAR sur le PPRE induit ainsi l'expression du gène cible (Fruchart, Staels et al. 2001).

Les PPARs sont distribués dans une grande variété d'organes, mais avec une certaine tissu-spécificité pour chacun d'entre eux à l'exception de PPARβ dont l'expression semble ubiquitaire. L'expression de PPARα est particulièrement importante au niveau du foie et le long de la paroi intestinale alors que PPARγ s'exprime principalement dans le tissu adipeux et la rate. Au niveau du système nerveux central les trois sous types (α, β, γ) sont exprimés. Les cellules telles que les oligodendrocytes ainsi que les astrocytes expriment plus particulièrement le sous-type PPARα (Kainu, Wikstrom et al. 1994).

Les gènes cibles des PPARs contrôlent le métabolisme des lipides et des glucides. Cependant, des découvertes récentes suggèrent que les PPARs participent à d'autres processus biologiques. L'activation des PPARs par leurs ligands induit le changement de l'activité transcriptionnelle de gènes qui modulent le processus inflammatoire, les enzymes antioxydantes, l'angiogénèse, la prolifération et la différenciation cellulaire, l'apoptose, les activités des iNOS, MMPases et TIMPs (Smith, Dipreta et al. 2001) (Clark 2002).

Les radicaux libres interviennent dans un spectre très large de pathologies comme les allergies, l'initiation et la promotion cancéreuse, les pathologies cardiovasculaires (athérosclérose, ischémie), les désordres génétiques et métaboliques (diabètes), les maladies infectieuses et dégénératives (Prion, etc.) ainsi que les problèmes ophtalmiques (Mates, Perez-Gomez et al. 1999).

Les espèces réactives oxygénées (ROS) sont produites pendant le fonctionnement normal de la cellule. Les ROS sont constituées de radicaux hydroxyle (OH°), de l'anion superoxyde ($O_2^{\circ -}$), du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et de l'oxyde nitrique (NO). Ces espèces sont très labiles, et, du fait de leur grande réactivité chimique, constituent un danger pour les fonctions biologiques des cellules. Elles provoquent des réactions de peroxydation lipidique, l'oxydation de certaines enzymes et des oxydations très importantes des protéines qui mènent à leur dégradation. La protection vis-à-vis de la peroxydation lipidique est un processus essentiel chez les organismes aérobies, car les produits de peroxydation peuvent causer des dommages à l'ADN. Ainsi un dérèglement ou une modification de l'équilibre entre la production, la prise en charge et l'élimination des espèces radicalaires par les défenses antioxydantes naturelles conduisent à la mise en place de processus délétères pour la cellule ou l'organisme.

La prise en charge des ROS se fait via un système antioxydant qui comprend une composante enzymatique et non enzymatique. Le système enzymatique se compose de plusieurs enzymes dont les caractéristiques sont les suivantes :

- La superoxyde dismutase (SOD) détruit le radical superoxyde en le convertissant en peroxyde. Ce dernier est lui même pris en charge par un

autre système enzymatique. Un faible niveau de SOD est constamment généré par la respiration aérobie. Trois classes de SOD ont été identifiées chez l'homme, elles contiennent chacune du Cu, Zn, Fe, Mn, ou Ni comme cofacteur. Les trois formes de SOD humaines sont réparties de la manière suivante Cu-Zn SOD qui sont cytosoliques, une Mn-SOD mitochondriale et une SOD extracellulaire.

- La catalase est très efficace pour convertir le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et en O_2. Le peroxyde d'hydrogène est catabolisé de manière enzymatique dans les organismes aérobies. La catalase catalyse également la réduction d'une variété d'hydroperoxydes (ROOH).
- La glutathion peroxydase contient du sélénium comme cofacteur et catalyse la réduction d'hydroperoxydes (ROOH et H_2O_2) en utilisant du glutathion, et protège ainsi les cellules contre les dommages oxydatifs.

Les défenses cellulaires antioxydantes non enzymatiques sont constituées par des molécules qui sont synthétisées ou apportées par l'alimentation.

Il existe des molécules antioxydantes présentes dans différents compartiments cellulaires. Les enzymes détoxifiantes sont par exemple chargées d'éliminer les radicaux libres et sont indispensables à la vie de la cellule. Les trois types de composés antioxydants les plus importants sont les caroténoïdes, la vitamine C et la vitamine E (Gilgun-Sherki, Melamed et al. 2001).

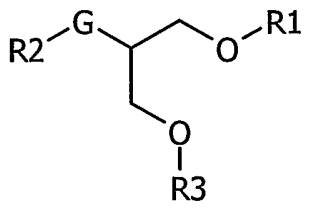
Pour éviter le phénomène d'apoptose induit par l'ischémie cérébrale et ses conséquences, les inventeurs ont mis au point des composés capables de prévenir l'apparition des facteurs de risque décrits ci-dessus et capables d'exercer une activité prophylactique en terme de neuroprotection, mais également d'assurer une neuroprotection active dans la phase aiguë des accidents ischémiques cérébraux.

Les inventeurs ont également mis en évidence que les composés selon l'invention ont à la fois des propriétés d'activateurs PPAR, d'antioxydants et

d'antiinflammatoires et, à ces titres, les composés présentent un haut potentiel thérapeutique ou prophylactique des accidents ischémiques cérébraux.

La présente invention propose ainsi une famille de composés possédant des propriétés pharmacologiques avantageuses et utilisables pour le traitement curatif ou préventif de l'ischémie cérébrale. Elle a également trait à des procédés de préparation de ces dérivés.

Les composés de l'invention répondent à la formule générale (I) :



(I)

dans laquelle :

- G représente un atome d'oxygène, un atome de soufre ou un groupe N-R4
- R4 est un atome d'hydrogène ou un groupe alkyle linéaire ou ramifié, saturé ou non, éventuellement substitué, comportant de 1 à 5 atomes de carbone,
- R1, R2 et R3, identiques ou différents, représentent un atome d'hydrogène, un groupe CO-R ou un groupe de formule $CO-(CH_2)_{2n+1}-X-R'$, l'un au moins des groupes R1, R2 et R3 est un groupe de formule $CO-(CH_2)_{2n+1}-X-R'$,
- R est un groupe alkyle linéaire ou ramifié, saturé ou non, éventuellement substitué, dont la chaîne principale comporte de 1 à 25 atomes de carbone,
- X est un atome de soufre, un atome de sélénium, un groupe SO ou un groupe SO_2,
- n est un nombre entier compris entre 0 et 11,

- R' est un groupe alkyle linéaire ou ramifié, saturé ou non, éventuellement substitué, dont la chaîne principale comporte de 2 à 23, de préférence 10 à 23, atomes de carbone et éventuellement un ou plusieurs hétérogroupes choisis parmi un atome d'oxygène, un atome de soufre, un atome de sélénium, un groupe SO et un groupe SO_2.

Dans les composés de formule générale (I) selon l'invention, le ou les groupes R, identiques ou différents, représentent préférentiellement un groupe alkyle linéaire ou ramifié, saturé ou insaturé, substitué ou non, dont la chaîne principale comporte de 1 à 20 atomes de carbone, encore plus préférentiellement de 7 à 17 atomes de carbone, encore plus préférentiellement de 14 à 17 atomes de carbone. Dans les composés de formule générale (I) selon l'invention, le ou les groupes R, identiques ou différents, peuvent aussi représenter un groupe alkyle inférieur comportant de 1 à 6 atomes de carbone, tel que notamment le radical méthyle, éthyle, propyle, isopropyle, butyle, isobutyle, pentyle ou hexyle.

Selon un aspect particulier de l'invention, les composés de formule (I) sont caractérisés en ce que l'un ou deux des substituants R1, R2 et R3 est un groupe $COCH_3$.

Dans les composés de formule générale (I) selon l'invention, le ou les groupes R', identiques ou différents, représentent préférentiellement un groupe alkyle linéaire ou ramifié, saturé ou insaturé, substitué ou non, dont la chaîne principale comporte de 12 à 23 atomes de carbone, encore plus préférentiellement de 13 à 20 atomes de carbone. Avantageusement, R' représente un groupe alkyle linéaire ou ramifié, saturé ou insaturé, substitué ou non, dont la chaîne principale comporte de 14 à 17 atomes de carbone, encore plus avantageusement 14 atomes de carbone.

Des exemples particuliers de groupes alkyle à chaîne longue saturée pour R ou R' sont notamment les groupes C_7H_{15}, $C_{10}H_{21}$, $C_{11}H_{23}$, $C_{12}H_{25}$, $C_{13}H_{27}$, $C_{14}H_{29}$, $C_{15}H_{31}$, $C_{16}H_{33}$, $C_{17}H_{35}$. Des exemples particuliers de groupes alkyle à chaîne

longue insaturée pour R ou R' sont notamment les groupes $C_{14}H_{25}$, $C_{14}H_{27}$, $C_{15}H_{29}$, $C_{17}H_{29}$, $C_{17}H_{31}$, $C_{17}H_{33}$, $C_{19}H_{29}$, $C_{19}H_{31}$, $C_{21}H_{31}$, $C_{21}H_{35}$, $C_{21}H_{37}$, $C_{21}H_{39}$, $C_{23}H_{45}$, ou les chaînes alkyle des acides eicosapentaènoïque (EPA) $C_{20:5}$ (5, 8, 11, 14, 17) et docosahexaènoïque (DHA) $C_{22:6}$ (4, 7, 10, 13, 16, 19).

Des exemples de groupes alkyle à chaîne longue ramifiée sont notamment les groupes $(CH_2)_{n'}$-$CH(CH_3)C_2H_5$, $(CH=C(CH_3)$-$(CH_2)_2)_{n''}$-$CH=C(CH_3)_2$ ou $(CH_2)_{2x+1}$-$C(CH_3)_2$-$(CH_2)_{n'''}$-CH_3 (x étant un nombre entier égal à ou compris entre 1 et 11, n' étant un nombre entier égal à ou compris entre 1 et 22, n'' étant un nombre entier égal à ou compris entre 1 et 5, n''' étant un nombre entier égal à ou compris entre 0 et 22 et (2x+n''') étant inférieur ou égal à 22, de préférence inférieur ou égal à 20).

Les groupes alkyle R ou R' peuvent éventuellement comprendre un groupe cyclique. Des exemples de groupes cycliques sont notamment le cyclopropyle, le cyclobutyle, le cyclopentyle et le cyclohexyle.

Comme indiqué ci-avant, les groupes alkyle R ou R' peuvent être éventuellement substitués par un ou plusieurs substituants, identiques ou différents. Les substituants sont choisis de préférence parmi un atome d'halogène (iode, chlore, fluor, brome) et un groupe -OH, =O, $-NO_2$, $-NH_2$, -CN, $-CH_2$-OH, -O-CH_3, $-CH_2OCH_3$, $-CF_3$ et -COOZ (Z étant un atome d'hydrogène ou un groupe alkyle, de préférence comportant de 1 à 6 atomes de carbone).

Cette invention concerne également les isomères optiques et géométriques de ces composés, leurs racémates, leurs sels, leurs hydrates et leurs mélanges.

Les composés de formule (Ia) sont les composés de formule (I) selon l'invention dans laquelle un seul des groupes R1, R2 ou R3 représente un atome d'hydrogène.

Les composés de formule (Ib) sont les composés de formule (I) selon l'invention dans laquelle deux des groupes R1, R2 ou R3 représentent un atome d'hydrogène.

Selon un aspect particulier de l'invention, R1 et R3, identiques ou différents, représentent un atome d'hydrogène ou , plus particulièrement, un groupe CO-R.

La présente invention inclut également les prodrogues des composés de formule (I), qui, après administration chez un sujet, vont se transformer en composés de formule (I) et/ou les métabolites des composés (I) qui présentent des activités thérapeutiques comparables aux composés de formule (I).

La présente invention concerne ainsi l'utilisation d'un composé de formule (I) pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à traiter une pathologie vasculaire cérébrale, telle que l'ischémie cérébrale ou un accident hémorragique cérébral.

Elle a également pour objet une composition pharmaceutique comprenant, dans un support acceptable sur le plan pharmaceutique, un composé de formule générale (I) tel que décrit ci-dessus, éventuellement en association avec un autre actif thérapeutique. Cette composition est en particulier destinée à traiter une pathologie vasculaire cérébrale, telle que l'ischémie cérébrale ou un accident hémorragique cérébral.

Dans les composés de formule générale (I) selon l'invention, dans le groupe $CO-(CH_2)_{2n+1}-X-R'$, X représente préférentiellement un atome de soufre ou de sélénium et avantageusement un atome de soufre.

Par ailleurs, dans le groupe $CO-(CH_2)_{2n+1}-X-R'$, n est de préférence compris entre 0 et 3, plus spécifiquement compris entre 0 et 2 et est en particulier égal à 0.

Dans les composés de formule générale (I) selon l'invention, R' peut comporter un ou plusieurs hétérogroupes, de préférence 0, 1 ou 2, plus

préférentiellement 0 ou 1, choisis parmi un atome d'oxygène, un atome de soufre, un atome de sélénium, un groupe SO ou un groupe SO_2.

Un exemple spécifique de groupe $CO-(CH_2)_{2n+1}-X-R'$ selon l'invention est le groupe $CO-CH_2-S-C_{14}H_{29}$.

A cet égard, les inventeurs ont mis au point de nouveaux composés de formule (I) présentant un groupe $CO-CH_2-S-C_{14}H_{29}$. La présente invention a ainsi pour objet les composés de formule (I) choisis parmi :

- 1,3-ditétradécylthioacétyl-2-palmitoylglycérol ;
- 1,3-diacétyl-2-tétradécylthioacétylglycérol ;
- 1,3-dioctanoyl-2-tétradécylthioacétylglycérol ;
- 1,3-diundécanoyl-2-tétradécylthioacétylglycérol ; et
- 1,3-ditétradécylthioacétoxy-2-(2-tétradécylthio)methylcarbonylthio-propane.

D'autre composés préférés au sens de l'invention sont des composés de formule générale (I) ci-dessus dans laquelle au moins un des groupes R1, R2 et R3 représente un groupe $CO-(CH_2)_{2n+1}-X-R'$ dans lequel X représente un atome de soufre ou de sélénium, de préférence un atome de soufre et/ou R' est un groupe alkyle saturé et linéaire comprenant de 13 à 17 atomes de carbone, de préférence de 14 à 16, encore plus préférentiellement 14 atomes de carbone.

A cet égard, des composés particuliers selon l'invention sont ceux dans lesquels R2 est un groupe de formule $CO-(CH_2)_{2n+1}-X-R'$, dans laquelle X représente un atome de soufre ou de sélénium, de préférence un atome de soufre et/ou R' est un groupe tel que défini ci-avant.

D'autres composés particuliers selon l'invention sont des composés de formule générale (I) dans laquelle le groupe G représente avantageusement un atome d'oxygène ou un groupe N-R4, de préférence un atome d'oxygène. D'autre part, lorsque G est N-R4, R4 représente préférentiellement un atome

d'hydrogène ou un groupe méthyle. Dans ces composés, R2 représente avantageusement un groupe CO-$(CH_2)_{2n+1}$-X-R' tel que défini ci-avant.

Selon un autre aspect, les composés particuliers selon l'invention sont des composés de formule générale (I) dans laquelle le groupe G représente un atome de soufre.

D'autres composés particuliers selon l'invention sont ceux dans lesquels deux des groupes R1, R2 et R3, identiques ou différents, sont des groupes CO-$(CH_2)_{2n+1}$-X-R' tels que définis ci-avant, dans lesquels X représente un atome de soufre ou de sélénium, de préférence un atome de soufre.

D'autres composés préférés sont les composés de formule générale (I) dans laquelle R1, R2 et R3, identiques ou différents, de préférence identiques, représentent un groupe CO-$(CH_2)_{2n+1}$-X-R' tel que défini ci-avant, dans lesquels X représente un atome de soufre ou de sélénium et de préférence un atome de soufre et/ou R' représente un groupe alkyle saturé et linéaire comprenant de 13 à 17 atomes de carbone, de préférence de 14 à 17, encore plus préférentiellement 14 atomes de carbone, dans lesquels n est de préférence compris entre 0 et 3, et en particulier égal à 0. De manière plus spécifique, d'autres composés préférés sont les composés de formule générale (I) dans laquelle R1, R2 et R3 représentent des groupes CO-CH_2-S-$C_{14}H_{29}$.

Des exemples de composés préférés selon l'invention sont représentés sur les Figures 1A et 1B.

Un autre objet de la présente invention concerne toute composition pharmaceutique comprenant dans un support acceptable sur le plan pharmaceutique au moins un composé de formule (I) tel que décrit ci-dessus, et en particulier au moins un composé de formule (I) choisi parmi : .

- 1,3-ditétradécylthioacétyl-2-palmitoylglycérol ;
- 1,3-diacétyl-2-tétradécylthioacétylglycérol ;
- 1,3-dioctanoyl-2-tétradécylthioacétylglycérol ;

- 1,3-diundécanoyl-2-tétradécylthioacétylglycérol ; et
- 1,3-ditétradécylthioacétoxy-2-(2-tétradécylthio)methylcarbonylthio-propane.

Il s'agit avantageusement d'une composition pharmaceutique pour le traitement ou la prophylaxie des pathologies vasculaires cérébrales et plus particulièrement de l'ischémie cérébrale ou des accidents vasculaires cérébraux. Il a en effet été trouvé de manière surprenante que les composés de formule (I) possèdent à la fois des propriétés d'activateurs PPAR, d'antioxydants et d'anti-inflammatoires et possèdent une activité de neuroprotection prophylactique et curative pour l'ischémie cérébrale.

L'invention concerne également l'utilisation d'un composé tel que défini ci-avant pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à la mise en œuvre d'une méthode de traitement ou de prophylaxie chez l'Homme ou chez l'animal.

L'invention concerne également une méthode de traitement des pathologies vasculaires cérébrales et plus particulièrement de l'ischémie cérébrale, comprenant l'administration à un sujet, notamment humain, d'une dose efficace d'un composé de formule (I) ou d'une composition pharmaceutique tels que définis ci-avant.

Avantageusement, les composés de formule (I) utilisés sont tels que définis ci-dessus.

Les compositions pharmaceutiques selon l'invention comprennent avantageusement un ou plusieurs excipients ou véhicules, acceptables sur le plan pharmaceutique. On peut citer par exemple des solutions salines, physiologiques, isotoniques, tamponnées, etc., compatibles avec un usage pharmaceutique et connues de l'homme du métier. Les compositions peuvent contenir un ou plusieurs agents ou véhicules choisis parmi les dispersants, solubilisants, stabilisants, surfactants, conservateurs, etc. Des agents ou

véhicules utilisables dans des formulations (liquides et/ou injectables et/ou solides) sont notamment la méthylcellulose, l'hydroxyméthylcellulose, la carboxyméthylcellulose, le polysorbate 80, le mannitol, la gélatine, le lactose, les huiles végétales, etc. Les compositions peuvent être formulées sous forme de suspension injectable, de gels, huiles, comprimés, suppositoires, poudres, gélules, capsules, etc., éventuellement au moyen de formes galéniques ou de dispositifs assurant une libération prolongée et/ou retardée. Pour ce type de formulation, on utilise avantageusement un agent tel que la cellulose, des carbonates ou des amidons.

Les composés ou compositions selon l'invention peuvent être administrés de différentes manières et sous différentes formes. Ainsi, ils peuvent être par exemple administrés de manière systémique, par voie orale, parentérale, par inhalation ou par injection, comme par exemple par voie intraveineuse, intra-musculaire, sous-cutanée, trans-dermique, intra-artérielle, etc. Pour les injections, les composés sont généralement conditionnés sous forme de suspensions liquides, qui peuvent être injectées au moyen de seringues ou de perfusions, par exemple. A cet égard, les composés sont généralement dissous dans des solutions salines, physiologiques, isotoniques, tamponnées, etc., compatibles avec un usage pharmaceutique et connues de l'homme du métier. Ainsi, les compositions peuvent contenir un ou plusieurs agents ou véhicules choisis parmi les dispersants, solubilisants, émulsifiants, stabilisants, surfactants, conservateurs, tampons, etc. Des agents ou véhicules utilisables dans des formulations liquides et/ou injectables sont notamment la méthylcellulose, l'hydroxyméthylcellulose, la carboxyméthylcellulose, le polysorbate 80, le mannitol, la gélatine, le lactose, des huiles végétales, les liposomes, etc.

Les composés peuvent ainsi être administrés sous forme de gels, huiles, comprimés, suppositoires, poudres, gélules, capsules, aérosols, etc., éventuellement au moyen de formes galéniques ou de dispositifs assurant une libération prolongée et/ou retardée. Pour ce type de formulation, on utilise avantageusement un agent tel que la cellulose, des carbonates ou des amidons.

Les composés peuvent être administrés oralement auquel cas les agents ou véhicules utilisés sont choisis préférentiellement parmi l'eau, la gélatine, les gommes, le lactose, l'amidon, le stéarate de magnésium, le talc, une huile, le polyalkylène glycol, etc.

Pour une administration parentérale, les composés sont préférentiellement administrés sous la forme de solutions, suspensions ou émulsions avec notamment de l'eau, de l'huile ou des polyalkylène glycols auxquels il est possible d'ajouter, outre des agents conservateurs, stabilisants, émulsifiants, etc., des sels permettant d'ajuster la pression osmotique, des tampons, etc.

Il est entendu que le débit et/ou la dose injectée peuvent être adaptés par l'homme du métier en fonction du patient, de la pathologie concernée, du mode d'administration, etc. Typiquement, les composés sont administrés à des doses pouvant varier entre 1 μg et 2 g par administration, préférentiellement de 0,1 mg à 1 g par administration. Les administrations peuvent être quotidiennes ou répétées plusieurs fois par jour, le cas échéant. D'autre part, les compositions selon l'invention peuvent comprendre, en outre, d'autres agents ou principes actifs.

L'invention concerne aussi des méthodes de préparation de composés de formule (I) tels que décrits ci-dessus.

Les composés de l'invention peuvent être préparés à partir de produits du commerce, en mettant en œuvre une combinaison de réactions chimiques connues de l'homme du métier. L'invention concerne également des procédés de préparation des composés tels que définis ci-avant.

Selon un premier procédé de l'invention, les composés de formule (I) dans lesquels G est un atome d'oxygène ou de soufre, R1, R2 et R3 identiques ou différents, représentent un groupe CO-R ou un groupe $CO-(CH_2)_{2n+1}-X-R'$, sont obtenus à partir d'un composé de formule (I) dans laquelle G est respectivement

un atome d'oxygène ou de soufre, R2 est un atome d'hydrogène et R1 et R3, identiques ou différents, représentent un groupe CO-R ou CO-$(CH_2)_{2n+1}$-X-R', et d'un composé de formule A°-CO-A dans laquelle A est un groupe réactif choisi par exemple parmi OH, Cl, O-CO-A° et OR", R" étant un groupe alkyle, et A° est le groupe R ou le groupe $(CH_2)_{2n+1}$-X-R', en présence éventuellement d'agents de couplages ou d'activateurs connus de l'homme de métier.

Les composés de formule (I) selon l'invention dans laquelle G est un atome d'oxygène, R2 est un atome d'hydrogène et R1 et R3, identiques ou différents, représentent un groupe CO-R ou CO-$(CH_2)_{2n+1}$-X-R', peuvent être obtenus de différentes façons.

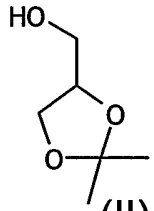
Selon un premier mode, on fait réagir une molécule de glycérol avec un composé de formule A°-CO-A1 dans laquelle A1 est un groupe réactif choisi par exemple parmi OH, Cl et OR", R" étant un groupe alkyle, et A° est le groupe R ou le groupe $(CH_2)_{2n+1}$-X-R', en présence éventuellement d'agents de couplages ou d'activateurs connus de l'homme de métier. Cette réaction permet la synthèse de composés dits symétriques, dans lesquels R1 et R3 ont la même signification. Cette réaction peut être mise en œuvre en adaptant les protocoles décrits par exemple dans (Feuge, Gros et al. 1953), (Gangadhar, Subbarao et al. 1989), (Han, Cho et al. 1999) ou (Robinson 1960).

Les composés de formule (I) selon l'invention dans laquelle G est un atome d'oxygène, R2 est un atome d'hydrogène et R1 et R3, identiques ou différents, représentent un groupe CO-R ou CO-$(CH_2)_{2n+1}$-X-R', peuvent également être obtenus à partir d'un composé de formule (I) selon l'invention dans laquelle G est un atome d'oxygène, R2 et R3 représentent un atome d'hydrogène et R1 est un groupe CO-R ou CO-$(CH_2)_{2n+1}$-X-R' (cette forme particulière de composés de formule (I) étant nommée composés de formule IV), et d'un composé de formule A°-CO-A2 dans laquelle A2 est un groupe réactif choisi par exemple entre OH et Cl, et A° est le groupe R ou le groupe $(CH_2)_{2n+1}$-X-R', en présence éventuellement d'agents de couplages ou d'activateurs connus de l'homme de métier. Cette réaction est avantageusement réalisée selon le protocole décrit par

exemple dans (Daubert, Spiegl et al. 1943), (Feuge and Lovegren 1956) , (Katoch, Trivedi et al. 1999), (Strawn, Martell et al. 1989) ou (Strawn, Martell et al. 1989).

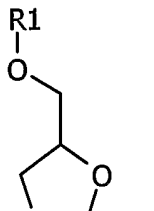
Les composés de formule IV décrits ci-dessus peuvent être préparés par un procédé comprenant :

a) la réaction d'un composé de formule générale (II)



(II)

avec un composé de formule A°-CO-A2 dans laquelle A2 est un groupe réactif choisi par exemple entre OH et Cl, et A° est le groupe R ou le groupe $(CH_2)_{2n+1}$-X-R', en présence éventuellement d'agents de couplages ou d'activateurs connus de l'homme de métier pour donner un composé de formule générale (III)



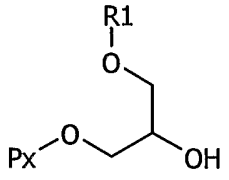
(III)

dans laquelle R1 représente un groupe CO-R ou CO-$(CH_2)_{2n+1}$-X-R' ; et

b) la déprotection du composé (III) par un acide (acide acétique, acide trifluoroacétique, acide borique, acide sulfurique, etc.) pour donner un composé de formule générale (IV) tel que défini ci-avant.

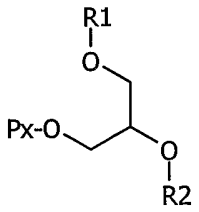
Selon un autre procédé particulier de l'invention les composés de formule (I) dans laquelle G est un atome d'oxygène, R3 est un atome d'hydrogène et R1 et R2, identiques ou différents, représentent un groupe CO-R ou CO-$(CH_2)_{2n+1}$-X-R', peuvent être obtenus à partir d'un composé de formule (I) selon l'invention dans laquelle G est un atome d'oxygène, R2 et R3 représentent un atome d'hydrogène et R1 est un groupe CO-R ou CO-$(CH_2)_{2n+1}$-X-R' (composés IV), selon les étapes suivantes :

a) réaction du composé (IV) avec un composé PxE dans lequel Px est un groupement protecteur ; et E est un groupe réactif choisi par exemple parmi OH ou un halogène, pour donner un composé de formule générale (V) dans laquelle R1 est un groupe CO-R ou CO-$(CH_2)_{2n+1}$-X-R'. La réaction peut avantageusement être mise en œuvre en adaptant le protocole décrit par (Gaffney and Reese 1997) dans lequel PxE peut représenter le composé 9-phénylxanthène-9-ol ou le 9-chloro-9-phénylxanthène



(V)

b) réaction du composé de formule (V) avec un composé de formule A°-CO-A2 dans laquelle A2 est un groupe réactif choisi par exemple entre OH et Cl, et A° est le groupe R ou le groupe $(CH_2)_{2n+1}$-X-R', en présence éventuellement d'agents de couplages ou d'activateurs connus de l'homme de métier pour donner un composé de formule générale (VI), dans laquelle R1 et R2, identiques ou différents, représentent un groupe CO-R ou CO-$(CH_2)_{2n+1}$-X-R' et Px est un groupement protecteur

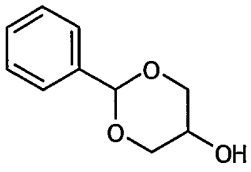


(VI)

c) déprotection du composé (VI), dans des conditions classiques connues de l'homme de métier pour donner un composé de formule générale (I) dans laquelle G est un atome d'oxygène, R3 est un atome d'hydrogène et R1 et R2, identiques ou différents, représentent un groupe CO-R ou CO-$(CH_2)_{2n+1}$-X-R'.

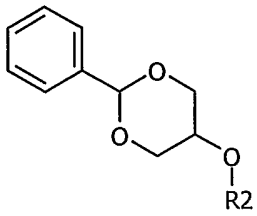
Selon un autre procédé particulier de l'invention, les composés de formule générale (I) dans laquelle G est un atome d'oxygène, R1 et R3 représentent un atome d'hydrogène et R2 représente un groupe CO-R ou CO-$(CH_2)_{2n+1}$-X-R', sont obtenus par un procédé comprenant :

a) la réaction d'un composé de formule (VII)



(VII)

avec un composé de formule A°-CO-A2 dans laquelle A2 est un groupe réactif choisi par exemple entre OH et Cl, et A° est le groupe R ou le groupe $(CH_2)_{2n+1}$-X-R', en présence éventuellement d'agents de couplages ou d'activateurs connus de l'homme de métier pour donner un composé de formule générale (VIII)



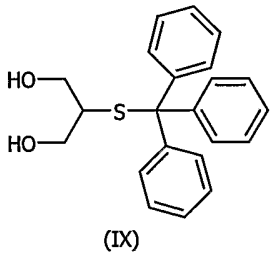
(VIII)

dans laquelle R2 représente un groupe CO-R ou CO-$(CH_2)_{2n+1}$-X-R' ; et

b) déprotection du composé de formule (VIII) en milieu acide ou par hydrogénation catalytique pour donner un composé de formule générale (I) dans laquelle G est un atome d'oxygène, R1 et R3 représentent un atome d'hydrogène et R2 représente un groupe CO-R ou CO-$(CH_2)_{2n+1}$-X-R'.

Les étapes ci-dessus peuvent être réalisées avantageusement selon les protocoles décrits par (Bodai, Novak et al. 1999), (Paris, Garmaise et al. 1980), (Scriba 1993) ou (Seltzman, Fleming et al. 2000).

Les composés de formule (I) selon l'invention dans laquelle G est un atome de soufre, R2 est un atome d'hydrogène et, R1 et R3, identiques ou différents, représentent un groupe CO-R ou CO-$(CH_2)_{2n+1}$-X-R', peuvent être obtenus à partir du composé de formule (IX) par le procédé suivant :



(IX)

a) Réaction du composé IX et d'un premier composé de formule A°-CO-A3 dans laquelle A3 est un groupe réactif choisi par exemple entre OH, O-CO-A° et Cl, et A° est le groupe R ou le groupe $(CH_2)_{2n+1}$-X-R', puis d'un second composé de formule A°-CO-A3 dans laquelle, indépendamment

du premier composé, A3 est un groupe réactif choisi par exemple entre OH, O-CO-A° et Cl, et A° est le groupe R ou le groupe $(CH_2)_{2n+1}$-X-R', en présence éventuellement d'agents de couplages ou d'activateurs connus de l'homme de métier,

b) Déprotection du groupement thiol par l'acétate mercurique.

Ce procédé est avantageusement réalisé selon le protocole décrit dans (Aveta, Brandt et al. 1986).

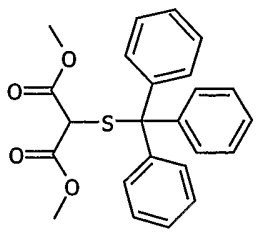
Les composés de formule (I) selon l'invention dans laquelle G est un atome de soufre, R2 et R3 sont des atomes d'hydrogène et, R1 représente un groupe CO-R ou CO-$(CH_2)_{2n+1}$-X-R', peuvent être obtenus à partir du composé de formule (IX) par le procédé suivant :

a) Réaction du composé IX et d'un premier composé de formule A°-CO-A3 dans laquelle A3 est un groupe réactif choisi par exemple entre OH, O-CO-A° et Cl, et A° est le groupe R ou le groupe $(CH_2)_{2n+1}$-X-R' en quantité stoechiométrique, en présence éventuellement d'agents de couplages ou d'activateurs connus de l'homme de métier,

b) Déprotection du groupement thiol par l'acétate mercurique.

Le composé de formule (IX) peut être préparé par un procédé comprenant :

a) réaction d'un 2-halogénomalonate de diméthyle avec le tritylthiol pour donner le composé de formule X



(X)

b) Réduction des fonctions acétate par un agent réducteur connu de l'homme de métier.

Les composés de formule (I) selon l'invention dans laquelle G est un atome de soufre, et R1, R2 et R3, identiques ou différents, représentent un groupe CO-R ou CO-$(CH_2)_{2n+1}$-X-R', peuvent également être obtenus par le procédé suivant (voir aussi schéma 1) :

a) Réaction d'un composé de formule V avec un composé de formule LG-E dans laquelle E représente un halogène et LG un groupe réactif choisi par exemple parmi mésyle, tosyle, etc., pour donner un composé de formule générale XI dans laquelle Px représente un groupement protecteur,

b) Réaction d'un composé de formule XI avec un composé de formule Ac-S^- B^+ dans laquelle Ac représente un groupe acyle court, préférentiellement le groupe acétyle, et B est un contre-ion choisi par exemple parmi le sodium ou le potassium, préférentiellement le potassium pour donner le composé de formule générale XII. Cette réaction peut avantageusement être mise en œuvre en adaptant le protocole décrit par (Gronowitz, Herslöf et al. 1978),

c) Déprotection de l'atome de soufre d'un composé (XII) dans des conditions connues de l'homme de métier, pour donner un composé de formule générale (XIII),

d) Réaction d'un composé de formule générale (XIII) avec un composé de formule A°-CO-A2 dans laquelle A2 est un groupe réactif choisi par exemple entre OH et Cl, et A° est le groupe R ou le groupe $(CH_2)_{2n+1}$-X-R', en présence éventuellement d'agents de couplages ou d'activateurs connus de l'homme de métier pour obtenir un composé de formule générale (XIV) dans laquelle R1 et R2, identiques ou différents, représentent un groupe CO-R ou CO-$(CH_2)_{2n+1}$-X-R',

e) Déprotection d'un composé de formule (XIV) dans des conditions classiques connues de l'homme de métier, pour obtenir un composé de formule (I) selon l'invention dans laquelle (i) G est un atome de soufre, (ii) R3 est un atome d'hydrogène et (iii) R1 et R2 représentent un groupe CO-R ou CO-$(CH_2)_{2n+1}$-X-R', identiques ou différents,

f) Obtention de divers composés de formule (I) selon l'invention, dans laquelle G est un atome de soufre, et R1, R2 et R3, identiques ou différents, représentent un groupe CO-R ou CO-$(CH_2)_{2n+1}$-X-R', par réaction des composés de formule (I) selon l'invention dans laquelle (i) G est un atome de soufre, (ii) R3 est un atome d'hydrogène et (iii) R1 et R2 représentent un groupe CO-R ou CO-$(CH_2)_{2n+1}$-X-R', identiques ou différents, notamment obtenus à l'étape e) ci-dessus, avec un composé de formule A°-CO-A2 dans laquelle A2 est un groupe réactif choisi par exemple entre OH et Cl, et A° est le groupe R ou le groupe $(CH_2)_{2n+1}$-X-R', en présence éventuellement d'agents de couplages ou d'activateurs connus de l'homme de métier.

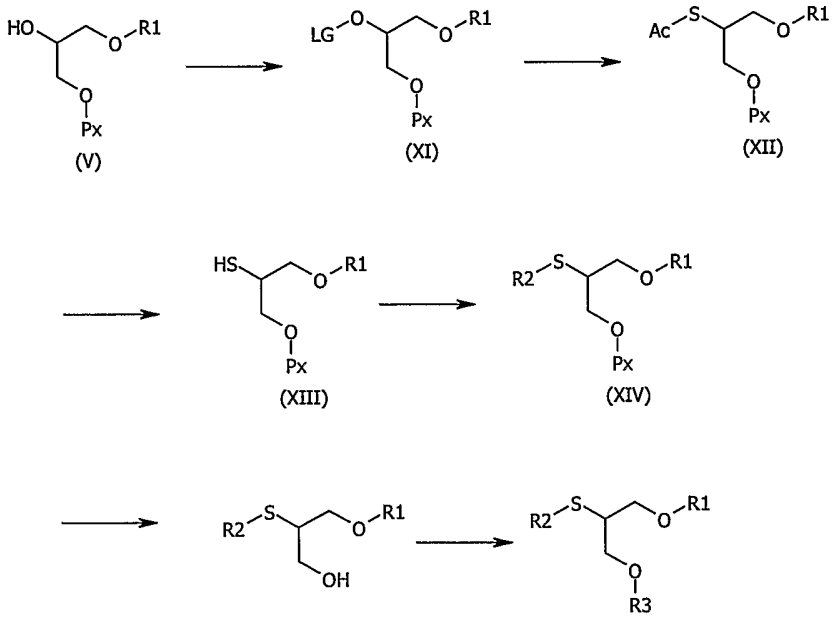
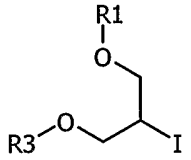


schéma 1

Selon un autre mode, les composés de formule (I) selon l'invention dans laquelle G est un atome de soufre, et R1, R2 et R3, identiques ou différents, représentent un groupe CO-R ou CO-$(CH_2)_{2n+1}$-X-R', peuvent également être obtenus par le procédé suivant :

a) Réaction d'un composé de formule générale (I) selon l'invention dans laquelle (i) G est un atome d'oxygène (ii) R2 représente un atome d'hydrogène et (iii) R1 et R3, identiques ou différents, représentent un groupe CO-R ou CO-$(CH_2)_{2n+1}$-X-R' tels que définis ci-avant avec de l'iode en présence d'agents activateurs connus de l'homme de métier pour donner un composé de formule (XV) dans laquelle R1 et R3, identiques ou différents, représentent un groupe CO-R ou CO-$(CH_2)_{2n+1}$-X-R'.



(XV)

b) Réaction d'un composé de formule (XV) avec un acide thiocarboxylique en présence d'agents de couplage ou d'agents activateurs connus de l'homme de métier.

Les composés de formule (I) dans lesquels G est un groupe N-R4 et dans laquelle R1, R2 et R3 identiques ou différents, représentent un groupe CO-R ou un groupe CO-$(CH_2)_{2n+1}$-X-R', sont obtenus à partir d'un composé de formule (I) dans laquelle G est un groupe N-R4, R1 et R3 sont des atomes d'hydrogène, R2 un groupe CO-R ou un groupe CO-$(CH_2)_{2n+1}$-X-R' (composé XVI) selon le procédé suivant :

Réaction d'un composé XVI et d'un premier composé de formule A°-CO-A2 dans laquelle A2 est un groupe réactif choisi par exemple entre OH et Cl, et A° est le

groupe R ou le groupe $(CH_2)_{2n+1}$-X-R', puis d'un second composé de formule A°-CO-A2 dans laquelle, indépendamment du premier composé, A2 est un groupe réactif choisi par exemple entre OH et Cl, et A° est le groupe R ou le groupe $(CH_2)_{2n+1}$-X-R', en présence éventuellement d'agents de couplages ou d'activateurs connus de l'homme de métier.

Ce procédé est avantageusement réalisé selon le protocole décrit dans (Terradas 1993).

Les composés de formule (I) selon l'invention dans laquelle G est un groupe N-R4 et dans laquelle R1 et R2 représentent un groupe CO-R ou CO-$(CH_2)_{2n+1}$-X-R', et R3 est un atome d'hydrogène peuvent être obtenus par réaction d'un composé XI et d'un composé de formule A°-CO-A2 dans laquelle A2 est un groupe réactif choisi par exemple entre OH et Cl, et A° est le groupe R ou le groupe $(CH_2)_{2n+1}$-X-R' en quantité stœchiométrique, en présence éventuellement d'agents de couplages ou d'activateurs connus de l'homme de métier.

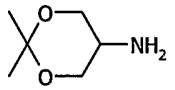
Les composés de formule (I) selon l'invention dans lesquels G est un groupe NH, R1 et R3 sont des atomes d'hydrogène, R2 un groupe CO-R ou un groupe CO-$(CH_2)_{2n+1}$-X-R' (composé XVIa) peuvent être obtenus de différentes façons.

Selon un premier procédé, on fait réagir une molécule de 2-aminopropane-1,3-diol avec un composé de formule A°-CO-A dans laquelle A est un groupe réactif choisi par exemple entre OH, O-CO-A°, OR" et Cl, et A° est le groupe R ou le groupe $(CH_2)_{2n+1}$-X-R' en présence éventuellement d'agents de couplages ou d'activateurs connus de l'homme de métier.

Cette réaction peut être mise en œuvre en adaptant les protocoles décrits par exemple dans (Shaban 1977), (Kurfürst, Roig et al. 1993), (Harada, Morie et al. 1996), (Khanolkar, Abadji et al. 1996), (Daniher and Bashkin 1998) et (Putnam and Bashkin 2000).

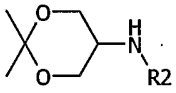
Les composés de formule (I) selon l'invention dans lesquels G est un groupe NH, R1 et R3 sont des atomes d'hydrogène, R2 un groupe CO-R ou un groupe CO-$(CH_2)_{2n+1}$-X-R' (composé XVIa) peuvent également être obtenus selon le procédé suivant :

a) Réaction du composé de formule XVII avec un composé de formule A°-CO-A dans laquelle A est un groupe réactif choisi par exemple entre OH, O-CO-A°, OR" et Cl, et A° est le groupe R ou le groupe $(CH_2)_{2n+1}$-X-R' en présence éventuellement d'agents de couplages ou d'activateurs connus de l'homme de métier



(XVII)

pour donner un composé de formule générale XVIII



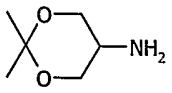
(XVIII)

b) Déprotection du composé XVIII.

Ce procédé peut avantageusement être mis en œuvre selon le protocole décrit dans (Harada, Morie et al. 1996).

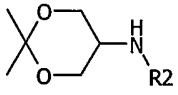
Les composés de formule (I) selon l'invention dans lesquels G est un groupe N-R4 dans lequel R4 n'est pas un atome d'hydrogène, R1 et R3 sont des atomes d'hydrogène, R2 un groupe CO-R ou un groupe CO-$(CH_2)_{2n+1}$-X-R' (composé XVIb) peuvent être obtenus selon le procédé suivant :

a) Réaction du composé de formule XVII avec un composé de formule A°-CO-A dans laquelle A est un groupe réactif choisi par exemple entre OH, O-CO-A°, OR" et Cl, et A° est le groupe R ou le groupe $(CH_2)_{2n+1}$-X-R' en présence éventuellement d'agents de couplages ou d'activateurs connus de l'homme de métier.



(XVII)

pour donner un composé de formule générale XVIII



(XVIII)

b) Réaction du composé XVIII avec un composé de type R4-A4 dans lequel A4 est un groupe réactif choisi par exemple entre Cl ou Br, en milieu basique,

c) Déprotection du composé XVIII.

La faisabilité, la réalisation et d'autres avantages de l'invention sont illustrés plus en détail dans les exemples qui suivent, qui doivent être considérés comme illustratifs et non limitatifs.

Légende des figures :

Figure 1A : Structure d'acylglycérols selon l'invention (exemples 2a, 2c, 4a-r).

Figure 1B : Structure de composés particuliers selon l'invention (exemples 5a-b, 6-c).

Figure 2 : Evaluation des propriétés antioxydantes de composés selon l'invention sur l'oxydation des LDL par le cuivre (Cu).

- **Figure 2-a :** formation de dienes conjugués en fonction du temps ou Lag-Phase.
- **Figure 2-b :** vitesse de formation des dienes.
- **Figure 2-c :** quantité maximum de dienes conjugués formés.

Figure 3: Evaluation des propriétés d'agonistes PPARα de composés selon l'invention avec le système de transactivation Gal4/PPARα.

Figure 4 : Evaluation de l'effet neuroprotecteur de composés selon l'invention.

- **Figure 4-a** : Effet neuroprotecteur prophylactique.
- **Figure 4-b** : Effet neuroprotecteur prophylactique sur les différentes régions de l'encéphale.
- **Figure 4-c** : Effet neuroprotecteur curatif (phase aiguë 24 h).
- **Figure 4-d** : Effet neuroprotecteur curatif sur les différentes régions de l'encéphale (phase aiguë 24 h).
- **Figure 4-e** : Effet neuroprotecteur curatif (phase aiguë 72 h).
- **Figure 4-f** : Effet neuroprotecteur curatif sur les différentes régions de l'encéphale (phase aiguë 72 h).

EXEMPLES :

Pour faciliter la lecture du texte, les composés selon l'invention utilisés dans les exemples de mesure ou d'évaluation d'activité seront notés de manière abrégée telle que « Ex 4g » pour désigner le composé selon l'invention dont la préparation est décrite à l'exemple 4g.

Les chromatographies sur couche mince (CCM) ont été effectuées sur des plaques de gel de silice $60F_{254}$ MERCK d'épaisseur 0.2 mm. On utilise l'abréviation Rf pour désigner le facteur de rétention (retention factor).
Les chromatographies sur colonne ont été réalisées sur gel de silice 60 de granulométrie 40-63 µm (référence 9385-5000 MERCK).
Les points de fusion (PF) ont été mesurés à l'aide d'un appareil BÜCHI B 540 par la méthode des capillaires. Les spectres infra-rouge (IR) ont été réalisés sur un spectromètre à transformée de Fourier BRUKER (Vector 22).
Les spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN) ont été enregistrés sur un spectromètre BRUKER AC 300 (300 MHz). Chaque signal est repéré par son déplacement chimique, son intensité, sa multiplicité (notée s pour singulet, sl pour singulet large, d pour doublet, dd pour doublet dédoublé, t pour triplet, td pour triplet dédoublé, quint pour quintuplet et m pour multiplet) et sa constante de couplage (J).

Les spectres de masse (SM) ont été réalisés sur un spectromètre PERKIN-ELMER SCIEX API 1 (ESI-MS pour ElectroSpray Ionization Mass Spectrometry) ou sur un spectromètre APPLIED BIOSYSTEMS Voyager DE-STR de type MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization – Time Of Flight).

EXEMPLE 1 : Préparation de dérivés d'acides gras

EXEMPLE 1a : Préparation de l'acide tétradécylthioacétique

L'hydroxyde de potassium (34.30 g, 0.611 mol), l'acide mercaptoacétique (20.9 ml, 0.294 mol) et le 1-bromotétradécane (50 ml, 0.184 mol) sont ajoutés dans l'ordre au méthanol (400 ml). Ce mélange est placé sous agitation pendant une nuit à température ambiante. Au mélange réactionnel précédent est alors ajoutée une solution d'acide chlorhydrique concentré (60 ml) dissous dans l'eau (800 ml). L'acide tétradécylthioacétique précipite. Le mélange est laissé sous agitation une nuit à température ambiante. Le précipité est ensuite filtré, lavé cinq fois à l'eau puis séché au dessiccateur. Le produit est recristallisé dans le méthanol.

Rendement 94%
Rf (dichlorométhane-méthanol 9-1) : 0.60
PF : 67-68°C
IR : νCO acide 1726 et 1684 cm^{-1}
RMN (^1H, $CDCl_3$): 0.84-0.95 (t, 3H, -CH_3, J=6.5Hz); 1.20-1.45 (massif, 22H, -CH_2-); 1.55-1.69 (quint, 2H, -**CH_2**-CH_2-S-, J=7Hz); 2.63-2.72 (t, 2H, CH_2-**CH_2**-S-, J=7Hz); 3.27 (s, 2H, S-**CH_2**-COOH)
SM (ESI-MS) : M-1 = 287.

EXEMPLE 1b: Préparation de l'acide 4-(dodécylthio)butanoïque

Le dodécanethiol (2.01 g ; 10 mmol) et le bromobutyrate d'éthyle (1.971 g ; 10 mmol) sont placés sous agitation à température ambiante sous atmosphère inerte. L'hydroxyde de potassium (1.36 g ; 21 mmol) dissous dans 50 ml

d'éthanol est ajouté lentement. Le mélange réactionnel est porté à reflux pendant 3 heures. L'éthanol est évaporé sous vide. Le résidu est repris par l'eau et acidifié. Le précipité formé est filtré, lavé à l'eau et séché.

Rendement 90%

Rf (dichlorométhane-méthanol 9-1) : 0.46

IR : νCO acide 1689 cm^{-1}

RMN (^1H, $CDCl_3$) : 0.86-0.91 (t, 3H, $-CH_3$, J=6.2Hz) ; 1.25-1.45 (massif, 18H, $-CH_2-$) ; 1.53-1.63 (quint, 2H, $-\mathbf{CH_2}-CH_2-S-$, J=6.7Hz) ; 1.87-2.00 (quint, 2H, $-CH_2-S-CH_2-\mathbf{CH_2}-CH_2-COOH$, J=7.2Hz) ; 2.47-2.55 (m, 4H, $-\mathbf{CH_2}-S-\mathbf{CH_2}-CH_2-CH_2-COOH$) ; 2.55-2.62 (t, 2H, $-CH_2-S-CH_2-CH_2-\mathbf{CH_2}-COOH$, J=7.2Hz)

SM (ESI-MS) : M-1 = 287

EXEMPLE 1c : Préparation de l'acide 6-(décylthio)hexanoïque

Le décanethiol (4.57 g ; 25 mmol) et l'acide 4-bromobutyrique (5 g ; 25 mmol) sont placés sous agitation à température ambiante sous atmosphère inerte. L'hydroxyde de potassium dissous dans 50 ml d'éthanol est ajouté lentement. Le mélange réactionnel est porté à reflux pendant 3 heures. L'éthanol est évaporé sous vide. Le résidu est repris par l'eau et acidifié. Le précipité formé est filtré, lavé à l'eau et séché.

Rendement 95%

Rf (dichlorométhane-méthanol 9-1) : 0.37

IR: νCO acide 1690 cm^{-1}

RMN (^1H, $CDCl_3$) : 0.86-0.91 (t, 3H, $-CH_3$, J=6.5Hz) ; 1.22-1.41 (massif, 14H, $-CH_2-$) ; 1.42-1.50 (m, 2H, $CH_2-S-CH_2-CH_2-\mathbf{CH_2}-CH_2-CH_2-COOH$) ; 1.53-1.75 (massif, 6H, $-\mathbf{CH_2}-CH_2-S-CH_2-\mathbf{CH_2}-CH_2-\mathbf{CH_2}-CH_2-COOH$) ; 2.35-2.42 (t, 2H, $-CH_2-S-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-\mathbf{CH_2}-COOH$, J=7Hz) ; 2.48-2.55 (massif, 4H, $-\mathbf{CH_2}-S-\mathbf{CH_2}-$).

SM (ESI-MS) : M-1 = 287

EXEMPLE 1d : Préparation de l'acide tétradécylsélénoacétique

Préparation du tétradécyldisélénure

Sous atmosphère inerte, du sélénium (1.19 g ; 15 mmol) est introduit dans un mélange tétrahydrofuranne/eau (1/1) (50 ml). Le mélange réactionnel est refroidi dans un bain de glace avant d'ajouter lentement le tétraborohydrure de sodium (1.325 g ; 35 mmol). Une seconde fraction de sélénium (1.19 g ; 15 mmol) est ajoutée. Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation à température ambiante pendant 15 min puis chauffé à reflux pour dissoudre tous les réactifs. Le bromotétradécane (9 ml ; 30 mmol) dissous dans 25 ml de tétrahydrofuranne est ajouté. Le mélange réactionnel est laissé sous agitation à température ambiante pendant 3 heures. Le milieu réactionnel est alors extrait au dichlorométhane. Les phases organiques sont groupées, séchées sur du sulfate de magnésium, filtrées et portées à sec. Le produit est utilisé sans autre purification.

Rf (éther de pétrole) : 0.77

PF : 43°C

IR : νCH 2960-2850 cm^{-1}

RMN (^1H, $CDCl_3$) : 0.87-0.93 (t, 6H, $-CH_3$, J=6.5Hz) ; 1.20-1.48 (massif, 44H, $-CH_2-$) ; 1.62-1.80 (m, 4H, $-\mathbf{CH_2}-CH_2-Se-$) ; 2.88-2.96 (t, 4H, $-CH_2-\mathbf{CH_2}-Se-$, J=7Hz).

Préparation de l'acide tétradécylsélénoacétique

Sous atmosphère inerte, le ditétradécyldisélénure (8.5 g ; 17 mmol) est dissous dans un mélange tétrahydrofuranne/eau (150 ml/50 ml) et refroidi dans un bain de glace. Le tétraborohydrure de sodium (2.9 g ; 61 mmol) est ajouté lentement (la solution se décolore) puis est ajouté l'acide bromoacétique (8.5 g ; 61 mmol) dissous dans un mélange tétrahydrofuranne/eau (25 ml / 25 ml). Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation à température ambiante pendant 6 heures. Le mélange réactionnel est extrait à l'éther puis la phase aqueuse est acidifiée. Le précipité obtenu est filtré, lavé plusieurs fois à l'eau et séché.

Rendement 29%

Rf (dichlorométhane-méthanol 9-1) : 0.60

PF : 68°C

IR : νCO acide 1719 et 1680 cm^{-1}

RMN (^1H, $CDCl_3$) : 0.85-0.95 (t, 3H, $-CH_3$, J=6.5Hz) ; 1.25-1.48 (massif, 22H, $-CH_2-$) ; 1.65-1.78 (quint, 2H, $-\mathbf{CH_2}-CH_2-Se-$, J=7Hz) ; 2.78-2.84 (t, 2H, $CH_2-\mathbf{CH_2}-Se-$, J=7Hz) ; 3.18 (s, 2H, $Se-\mathbf{CH_2}-COOH$)

SM (ESI-MS) : M-1 = 335

EXEMPLE 1e : Préparation de l'acide tétradécylsulfoxyacétique

L'acide tétradécylthioacétique (exemple 1a) (5 g ; 17.4 mmol) est dissous dans un mélange méthanol/dichlorométhane (160 ml / 80 ml). Le mélange réactionnel est mis sous agitation et refroidi dans un bain de glace avant d'ajouter lentement l'oxone® (12.8 g ; 21 mmol) dissous dans l'eau (160 ml). Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation à température ambiante pendant 3 heures. Les solvants sont évaporés sous vide. Le précipité formé dans la phase aqueuse résiduelle est essoré, lavé plusieurs fois à l'eau et séché .

Rendement 90%

Rf (dichlorométhane-méthanol 9-1) : 0.27

IR : νCO acide 1723 et 1690 cm^{-1}

RMN (^1H, DMSO) : 0.80-0.92 (t, 3H, $-CH_3$, J=6.4Hz) ; 1.19-1.50 (massif, 22H, $-CH_2-$) ; 1.55-1.71 (quint, 2H, $-\mathbf{CH_2}-CH_2-SO-$) ; 2.70-2.89 (t, 2H, $-CH_2-\mathbf{CH_2}-SO-CH_2-COOH$, J=6.7Hz) ; 3.52-3.70 (d, 1H, $-CH_2-SO-\mathbf{CH_2}-COOH$, J=14.5Hz) ; 3.80-3.95 (d, 1H, $-CH_2-SO-\mathbf{CH_2}-COOH$, J=14.1Hz).

SM (ESI-MS) : M+1 = 305 ; M+23 = 327 ($M+Na^+$) ; M+39 = 343 ($M+K^+$)

EXEMPLE 1f: Préparation de l'acide 6-(décylsulfoxy)hexanoïque

Le produit est préparé selon la procédure précédemment décrite (exemple 1e) à partir de l'acide 6-(décylthio)hexanoïque (exemple 1c).

Rendement 94%.

Rf (dichlorométhane-méthanol 9-1) : 0.18

RMN (^1H, $CDCl_3$) : 0.86-0.91 (t, 3H, $-CH_3$, J = 6.8 Hz) ; 1.20-1.40 (massif, 14H, $-CH_2-$) ; 1.40-1.60 (m, 2H, $CH_2-SO-CH_2-CH_2-\mathbf{CH_2}-CH_2-CH_2-COOH$) ; 1.63-1.95 (massif, 6H, $-\mathbf{CH_2}-CH_2-SO-CH_2-\mathbf{CH_2}-CH_2-\mathbf{CH_2}-CH_2-COOH$) ; 2.35-2.42 (m, 3H, $-CH_2-SO-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-\mathbf{CH_2}-COOH$ et $-CH_2-SO-\mathbf{CH_2}-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-$

COOH) ; 2.60-2.71 (m, 1H, -CH_2-SO-**CH_2**-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-COOH) ; 2.75-2.85 (m, 1H, -**CH_2**-SO-$(CH_2)_5$-COOH) ; 2.80-3.01 (m, 1H, -**CH_2**-SO-$(CH_2)_5$-COOH).

EXEMPLE 1g : Préparation de l'acide tétradécylsulfonylacétique

L'acide tétradécylthioacétique (exemple 1a) (5 g ; 17.4 mmol) est dissous dans un mélange méthanol/dichlorométhane (160 ml / 80 ml). Le mélange réactionnel est placé sous agitation et refroidi dans un bain de glace avant d'ajouter lentement l'oxone® (21.8 g ; 35 mmol) dissous dans l'eau (160 ml). Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation à température ambiante pendant 3 heures. Les solvants sont évaporés sous vide. Le précipité formé dans la phase aqueuse résiduelle est essoré, lavé plusieurs fois à l'eau et séché .

Rendement 89%

Rf (dichlorométhane-méthanol 9-1) : 0.21

IR : νCO acide 1701 cm^{-1}

RMN (^1H, DMSO) : 0.85-0.96 (t, 3H, -CH_3, J=6Hz) ; 1.20-1.40 (massif, 20H, -CH_2-) ; 1.40-1.55 (m, 2H, -**CH_2**-CH_2-CH_2-SO_2-) ; 1.80-1.96 (m, 2H, -**CH_2**-CH_2-SO_2-) ; 3.22-3.34 (t, 2H, -CH_2-**CH_2**-SO_2-CH_2-COOH, J=8 Hz) ; 4.01 (s, 2H, -CH_2-SO_2-**CH_2**-COOH).

SM (ESI-MS) : M-1 = 319

EXEMPLE 1h : Préparation de l'acide 6-(décylsulfonyl)hexanoïque

Le produit est obtenu selon la procédure précédemment décrite (exemple 1g) à partir de l'acide 6-(décylthio)hexanoïque (exemple 1c).

Rendement 87%.

Rf (dichlorométhane-méthanol 9-1) : 0.15

IR : νCO acide 1689 cm^{-1}

RMN (^1H, $CDCl_3$) : 0.85-0.96 (t, 3H, -CH_3, J=6.5Hz) ; 1.22-1.40 (massif, 14H, -CH_2-) ; 1.40-1.61 (m, 2H, -SO_2-CH_2-CH_2-**CH_2**-) ; 1.65-1.95 (massif, 6H, -**CH_2**-CH_2-SO_2-CH_2-**CH_2**-CH_2-**CH_2**-CH_2-COOH) ; 2.35-2.46 (m, 2H, -**CH_2**-COOH) ; 2.60-2.84 (m, 2H, -**CH_2**-SO_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-COOH) ; 2.90-3.02 (m, 2H, -CH_2-SO_2-**CH_2**-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-COOH).

EXEMPLE 1i : Préparation de l'acide docosylthioacétique

Le produit est obtenu selon la procédure précédemment décrite (exemple 1a) à partir de l'acide mercaptoacétique et du bromodocosane.

Rendement 90%

Rf (dichlorométhane-méthanol 9-1) : 0.62

IR : νCO acide 1728 et 1685 cm^{-1}

RMN (^1H, $CDCl_3$) : 0.83-0.94 (t, 3H, $-CH_3$, J=6.6Hz) ; 1.18-1.48 (massif, 38H, $-CH_2-$) ; 1.55-1.69 (quint, 2H, $-\mathbf{CH_2}-CH_2-S-$, J=7Hz) ; 2.63-2.72 (t, 2H, $CH_2-\mathbf{CH_2}-S-$, J=7Hz) ; 3.26 (s, 2H, $S-\mathbf{CH_2}-COOH$)

EXEMPLE 2 : Préparation de monoacylglycérols

EXEMPLE 2a : Préparation du 1-tétradécylthioacétylglycérol

Préparation du 1-tétradécylthioacétyl-2,3-isopropylidèneglycérol

Dans un ballon immergé dans un bain de glace, l'acide tétradécylthioacétique (exemple 1a) (4 g, 13.86 mmol) est dissous dans le tétrahydrofuranne (100 ml) avant d'ajouter l'EDCI (2.658 g, 13.86 mmol), la diméthylaminopyridine (1.694 g, 13.86 mmol) puis le solketal (1.72 ml, 13.86 mmol) dans cet ordre. Le mélange réactionnel est laissé sous agitation à température ambiante pendant 4 jours. Le solvant est évaporé sous vide. Le résidu est repris par le dichlorométhane, lavé par une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 1N puis par une solution aqueuse de bicarbonate de sodium 10% et enfin par une solution saturée en chlorure de sodium. La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée et évaporée sous vide. L'huile résiduelle obtenue est purifiée par chromatographie sur gel de silice (acétate d'éthyle-cyclohexane 1-9). Le produit est obtenu sous forme d'huile jaune.

Rendement 80%

Rf (cyclohexane-acétate d'éthyle 8-2) : 0.65

IR : νCO ester 1736 cm^{-1}

RMN (^{1}H, $CDCl_3$) : 0.86 (t, 3H, -CH_3, J=7.8Hz) ; 1.25 (massif, 20H, -CH_2-) ; 1.33 (s, 3H, CH_3 isopropylidène) ; 1.37 (s, 3H, CH_3 isopropylidène) ; 1.59 (m, 4H, OCO-CH_2-S-CH_2-**CH_2**-**CH_2**-) ; 2.62 (t, 2H, -O-CO-CH_2-S-**CH_2**-, J=7.4Hz) ; 3.25 (s, 2H, -O-CO-**CH_2**-S-CH_2-) ; 3.75 (m, 1H, -CO-O-CH_2-**CH**(O)-CH_2(O) (isopropylidène)) ; 4.08 (m, 2H, -CO-O-CH_2-CH(O)-**CH_2**(O)- (isopropylidène)) ; 4.18 (m, 1H, -CO-O-**CH_2**-CH(O)-CH_2(O)- (isopropylidène) ; 4.35 (m, 1H, -CO-O-**CH_2**-CH(O)-CH_2(O)- (isopropylidène)).

Préparation du 1-tétradécylthioacétylglycérol

Le 1-tétradécylthioacétyl-2,3-isopropylidèneglycérol (4.163 g, 10.356 mmol) est dissous dans l'acide acétique (60 ml) et laissé sous agitation à température ambiante. Après 11 jours de réaction, le mélange réactionnel est dilué dans l'eau puis extrait par de l'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée par une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium puis séchée sur sulfate de magnésium, filtrée et le solvant est évaporé. La poudre blanche obtenue est recristallisée dans l'heptane.

Rendement 90%

Rf (acétate d'éthyle-cyclohexane 5-5) : 0.30

PF : 63-65°C

IR : νCO ester 1720 cm^{-1}

RMN (^{1}H, $CDCl_3$) : 0.89 (t, 3H, -CH_3, J=6.6Hz) ; 1.28 (massif, 20H, -CH_2-) ; 1.59 (massif, 4H, -**CH_2**-**CH_2**-CH_2-S-) ; 2.64 (t, 2H, CH_2-**CH_2**-S-, J=7.2Hz) ; 3.26 (s, 2H, S-**CH_2**-COO) ; 3.64 (m, 2H, -COO-**CH_2**-CHOH-CH_2OH) ; 3.97 (m, 1H, -COO-CH_2-**CH**OH-CH_2OH) ; 4.27 (m, 2H, -COO-CH_2-CHOH-**CH_2**OH).

SM (MALDI-TOF) : M+23 = 385 ($M+Na^+$)

EXEMPLE 2b : Préparation du 1-palmitoylglycérol

Ce composé est synthétisé selon la procédure précédemment décrite (exemple 2a) à partir du solketal et de l'acide palmitique.

1-Palmitoyl-(2,3-isopropylidène)glycérol

Rendement 55%

Rf (dichlorométhane): 0.35

PF : 32-33°C

IR : νCO ester 1733 cm^{-1}

RMN (^1H, $CDCl_3$) : 0.89 (t, 3H, $-CH_3$, J=6.6Hz) ; 1.27 (massif, 24H, $-CH_2-$) ; 1.39 (s, 3H, CH_3 isopropylidène) ; 1.45 (s, 3H, CH_3 isopropylidène) ; 1.62 (m, 2H, $OCO-CH_2-\mathbf{CH_2}-CH_2-$) ; 2.32 (t, 2H, $-O-CO-\mathbf{CH_2}-CH_2-CH_2-$, J=7.4Hz) ; 3.75 (dd, 1H, $CO-O-CH_2-\mathbf{CH}(O)-CH_2(O)$ (isopropylidène), J=8.3Hz et J=2.1Hz) ; 4.10 (m, 2H, $-CO-O-CH_2-CH(O)-\mathbf{CH_2}(O)-$ (isopropylidène)); 4.18 (dd, 1H, $-CO-O-\mathbf{CH_2}-CH(O)-CH_2(O)-$ (isopropylidène), J=11.6Hz et J=4.6Hz) ; 4.33 (m, 1H, $-CO-O-\mathbf{CH_2}-CH(O)-CH_2(O)-$ (isopropylidène))

1-palmitoylglycérol

Rendement 84%

Rf (acétate d'éthyle-cyclohexane 5-5) : 0.30

PF : 72-74°C

IR : νCO ester 1730 cm^{-1}

RMN (^1H, $CDCl_3$) : 0.89 (t, 3H, $-CH_3$, J=6.5Hz) ; 1.26 (massif, 24H, $-CH_2-$) ; 1.64 (m, 2H, $OCO-CH_2-\mathbf{CH_2}-CH_2-$) ; 2.36 (t, 2H, $-O-CO-\mathbf{CH_2}-CH_2-CH_2-$, J=7.4Hz) ; 3.60 (dd, 1H, $-CO-O-CH_2-CHOH-\mathbf{CH_2}OH$, J=11.8Hz et J=6.1Hz) ; 3.71 (dd, 1H, $-CO-O-CH_2-CHOH-\mathbf{CH_2}OH$, J=11.8Hz et J=3.9Hz) ; 3.94 (m, 1H, $-CO-O-CH_2-\mathbf{CH}OH-CH_2OH$) ; 4.19 (m, 2H, $-CO-O-\mathbf{CH_2}-CHOH-CH_2OH$) ;

EXEMPLE 2c : Préparation du 2-tétradécylthioacétylglycérol

Préparation du 1,3-benzylidèneglycérol

Le glycérol (30 g ; 0.326 mol), le benzaldéhyde (34.5 g ; 0.326 mol) et l'acide p-toluène sulfonique (50 mg) sont dissous dans 350 ml de toluène et placés à reflux dans un appareil de Dean-Stark pendant 18 heures. Le mélange réactionnel est porté à sec. Le produit résiduel est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant : cyclohexane/acétate d'éthyle 8/2 puis 7/3) puis recristallisé.

Rendement : 20%

Rf (acétate d'éthyle-cyclohexane 5-5) : 0.34

IR : νOH 3286 cm^{-1}

RMN (^1H, $CDCl_3$) : 3.19 (sl, 1H échangeable, -OH) ; 3.64 (sl, 1H, -O-CH_2-C**H**OH-CH_2O-) ; 3.99-4.16 (dd, 2H, -O-C**Ha**Hb-CHOH-C**Ha**HbO-, J=1.1Hz et J=10.4Hz) ; 4.17-4.23 (dd, 2H, -O-CHa**Hb**-CHOH-CHa**Hb**O-, J=1.6Hz et J=11.5Hz) ; 5.57 (s, 1H, F-CH-) ; 7.34-7.45 (m, 3H, H aromatiques) ; 7.49-7.55 (m, 2H, H aromatiques).

Préparation du 2-tétradécylthioacétyl-1,3-benzylidèneglycérol

Dans un ballon immergé dans un bain de glace, l'acide tétradécylthioacétique (exemple 1a) (0.800 g, 2.774 mmol) est dissous dans le tétrahydrofuranne (75 ml) avant d'ajouter l'EDCI (0.532 g, 2.774 mmol), la diméthylaminopyridine (0.339 g, 2.774 mmol) puis le 1,3-benzylidèneglycérol (0.5 g, 2.774 mmol) dans cet ordre. Le mélange est laissé sous agitation à température ambiante pendant 16 heures. Le solvant est évaporé. Le résidu obtenu est repris par le dichlorométhane, lavé par une solution d'acide chlorhydrique 1N puis par une solution de carbonate de potassium à 10% et enfin par une solution aqueuse saturée en sel. La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée et portée à sec. Le résidu est repris dans l'éther de pétrole. Le précipité formé est filtré puis purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant : acétate d'éthyle-cyclohexane 2-8) et permet d'obtenir le produit souhaité sous forme de poudre blanche.

Rendement 50%

Rf (acétate d'éthyle-cyclohexane 2-8) : 0.53

PF : 51-53°C

IR : νCO ester 1723 cm^{-1}

RMN (^1H, $CDCl_3$) : 0.85-0.96 (t, 3H, CH_3, J=6.8Hz) ; 1.19-1.44 (massif, 20H, -CH_2) ; 1.52-1.69 (massif, 4H, -**CH_2**-**CH_2**-CH_2-S-) ; 2.62-2.80 (t, 2H, -CH_2-CH_2-**CH_2**-S-, J=7.2Hz) ; 3.34 (s, 2H, -CH_2-S-**CH_2**-COO-) ; 4.12-4.29 (dd, 2H, -O-C**Ha**Hb-CH(OCO)-C**Ha**HbO-, J=1.7Hz et J=13.1Hz) ; 4.30-4.41 (dd, 2H, -O-CHa**Hb**-CH(OCO)-CHa**Hb**O-, J=1.3Hz et J=13.1Hz) ; 4.75-4.79 (t, 1H, -O-CH_2-

CH(OCO)-CH_2O-, J=1.7Hz) ; 5.59 (s, 1H, F-CH-) ; 7.35-7.45 (m, 3H, H aromatiques) ; 7.48-7.57 (m, 2H, H aromatiques).

Préparation du 2-tétradécylthioacétylglycérol

Le 2-tétradécylthioacétyl-1,3-benzylidèneglycérol (0.576 g, 1.278 mmol) est dissous dans un mélange de dioxanne et de triéthylborate (50-50 v/v) avant d'ajouter l'acide borique (0.317 g, 5.112 mmol). Le mélange réactionnel est chauffé à 100°C pendant 4 heures. Sont encore ajoutés 2 équivalents d'acide borique (0.158 g, 2.556 mmol) puis 2 équivalents après 5.5 heures et 7 heures de réaction. Après 24 heures de réaction, le triéthylborate est évaporé. Le résidu est repris par de l'acétate d'éthyle et lavé par l'eau. La phase aqueuse est neutralisée avec bicarbonate de sodium puis extraite avec le dichlorométhane. La phase organique est lavée avec de l'eau saturée en sel, séchée sur sulfate de magnésium, filtrée et portée à sec. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant acétate d'éthyle-cyclohexane 5-5).

Rendement 62%

Rf (acétate d'éthyle-cyclohexane 7-3) : 0.51

IR : νCO ester 1739 cm^{-1}

RMN (^1H, $CDCl_3$) : 0.82-0.95 (t, 3H, -CH_3, J=6.9Hz) ; 1.15-1.35 (massif, 22H, -CH_2-) ; 1.55-1.68 (m, 2H, -**CH_2**-CH_2-S-) ; 2.23 (sl, 2H, OH) ; 2.65 (m, 2H, CH_2-**CH_2**-S-) ; 3.26 (s, 2H, S-**CH_2**-COO) ; 3.64-3.73 (m, 4H, HO**CH_2**-CH(OCO-R)-**CH_2**OH) ; 3.97 (m, 1H, HOCH_2-**CH**(OCO-R)-CH_2OH).

EXEMPLE 3 : Préparation de 1,3-diacylglycérols

EXEMPLE 3a : Préparation du 1,3-dipalmitoylglycérol

Le glycérol (10 g ; 0.109 mol ; 1eq), l'acide palmitique (55.69 g ; 0.217 mol ; 2 eq), la dicyclohexylcarbodiimide (44.77 g ; 0.217 mol ; 2eq) et la diméthylaminopyridine (26.51 g ; 0.217 mol ; 2eq) sont dissous dans le dichlorométhane. Le mélange réactionnel est placé sous agitation à température ambiante pendant 48 heures. La dicyclohexylurée formée est filtrée et lavée

plusieurs fois au dichlorométhane. Le filtrat est porté à sec. Le produit résiduel est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant : dichlorométhane).

Rendement : 45%

Rf (dichlorométhane) : 0.30

PF: 70-73°C

IR : νCO ester 1735 et 1716 cm^{-1}

RMN (^1H, $CDCl_3$) : 0.86-91 (t, 6H, $-CH_3$, J=6.5Hz) ; 1.27 (massif, 48H, $-CH_2-$) ; 1.60-1.65 (quint, 4H, $OCOCH_2-\mathbf{CH_2}-$, J=7.4Hz) ; 2.32-2.38 (t, 4H, $OCO\mathbf{CH_2}-CH_2-$, J=7.6Hz) ; 2.51-2.52 (d, 1H, OH (échangeable)) ; 4.06-4.21 (massif, 5H, $-C\mathbf{H_2}-C\mathbf{H}-C\mathbf{H_2}-$)

SM (MALDI-TOF) : M+23 = 591 ($M+Na^+$) ; M+39 = 607 ($M+K^+$)

EXEMPLE 3b : Préparation du 1,3-dilinoléoylglycérol

Ce composé est obtenu selon la procédure précédemment décrite (exemple 3a) à partir du glycérol et de l'acide linoléique. Le produit est obtenu sous forme d'huile incolore.

Rendement 26%

Rf (dichlorométhane) : 0.30

IR : νCO ester 1743 et 1719 cm^{-1}

RMN (^1H, $CDCl_3$) : 0.83-0.93 (t, 6H, $-CH_3$, J=6.5Hz) ; 1.15-1.44 (massif, 28H, $-CH_2-$) ; 1.55-1.70 (quint, 4H, $OCOCH_2-\mathbf{CH_2}-$, J=7.4Hz) ; 1.90-2.15 (massif, 8H, $-\mathbf{CH_2}-CH=CH-CH_2-CH=CH-\mathbf{CH_2}-$) ; 2.30-2.41 (t, 4H, $OCO\mathbf{CH_2}-CH_2-$, J=7.6Hz) ; 2.48-2.52 (d, 1H, OH (échangeable)) ; 2.70-2.83 (t, 4H, $-CH_2-CH=CH-\mathbf{CH_2}-CH=CH-CH_2-$) ; 4.05-4.25 (massif, 5H, $-C\mathbf{HaHb}-C\mathbf{H}-C\mathbf{HaHb}-$) ; 5.25-5.46 (m, 8H, $-CH_2-\mathbf{CH}=\mathbf{CH}-CH_2-\mathbf{CH}=\mathbf{CH}-CH_2-$).

SM (MALDI-TOF) : M+23 = 639 ($M+Na^+$) ; M+39 = 655 ($M+K^+$)

EXEMPLE 3c : Préparation du 1,3-distéaroylglycérol

Ce composé est obtenu selon la procédure précédemment décrite (exemple 3a) à partir du glycérol et de l'acide stéarique. Le produit est obtenu sous forme d'une poudre blanche.

Rendement 21%

Rf (dichlorométhane) : 0.30

IR: νCO ester 1735 et 1716 cm^{-1}

RMN (^1H, $CDCl_3$) : 0.83-0.91 (t, 6H, $-CH_3$, J=6.5Hz) ; 1.27 (massif, 56H,$-CH_2-$) ; 1.59-1.66 (quint, 4H, $OCOCH_2$-**CH_2**-, J=7.4Hz) ; 2.33-2.38 (t, 4H, OCO**CH_2**$-CH_2-$, J=7.5Hz) ; 2.45-2.47 (d, 1H, OH (échangeable), J=4.3Hz) ; 4.08-4.23 (massif, 5H, -C**HaHb**-C**H**-C**HaHb**-).

SM (MALDI-TOF) : M+23 = 647 ($M+Na^+$)

EXEMPLE 3d : Préparation du 1,3-dioléoylglycérol

Ce composé est obtenu selon la procédure précédemment décrite (exemple 3a) à partir du glycérol et de l'acide oléique. Le produit est obtenu sous forme d'huile incolore.

Rendement 15%

Rf (dichlorométhane) : 0.23

IR : νCO ester 1743 et 1720 cm^{-1}

RMN (^1H, $CDCl_3$) : 0.89 (t, 6H, $-CH_3$, J=7.2Hz) ; 1.30 (massif, 40H, $-CH_2-$) ; 1.64 (quint, 4H, $OCOCH_2$-**CH_2**-, J=7.4Hz) ; 2.02 (massif, 8H,-**CH_2**$-CH=CH-$**CH_2**-) ; 2.36 (t, 4H, OCO**CH_2**$-CH_2-$, J=7.2Hz) ; 2.45 (d, 1H, OH (échangeable), J=4.2Hz) ; 4.18 (massif, 5H, -C**HaHb**-C**H**-C**HaHb**-) ; 5.35 (m, 4H, $-CH_2-$**$CH=CH$**$-CH_2-$).

SM (MALDI-TOF) : M+23 = 643 ($M+Na^+$)

EXEMPLE 3e : Préparation du 1,3-ditétradécanoylglycérol

Ce composé est obtenu selon la procédure précédemment décrite (exemple 3a) à partir du glycérol et de l'acide tétradécanoïque. Le produit est obtenu sous forme d'une poudre blanche.

Rendement 30%

Rf (dichlorométhane) : 0.30

IR : νCO ester 1733 et 1707 cm^{-1}

RMN (^1H, $CDCl_3$) : 089 (t, 6H, $-CH_3$, J=6.5Hz) ; 1.26 (massif, 40H, $-CH_2-$) ; 1.62 (quint, 4H, $OCOCH_2$-**CH_2**-, J=7.4Hz) ; 2.36 (t, 4H, OCO**CH_2**$-CH_2-$, J=7.5Hz) ; 2.45 (d, 1H, OH (échangeable), J=4.3Hz) ; 4.15 (massif, 5H, -C**HaHb**-C**H**-C**HaHb**-).

EXEMPLE 3f : Préparation de 1,3-ditétradécylthioacétylglycérol

Ce composé est obtenu selon la procédure précédemment décrite (exemple 3a) à partir du glycérol et de l'acide tétradécylthioacétique (exemple 1a). Le produit est obtenu sous forme d'une poudre blanche.

Rendement 37%

Rf (dichlorométhane) : 0.27

PF : 71-73°C

IR : νCO ester 1704 cm^{-1}

RMN (^1H, $CDCl_3$) : 089 (t, 6H, $-CH_3$, J=6.3Hz) ; 1.27 (massif, 44H, $-CH_2-$) ; 1.58-1.63 (m, 4H, $-OCO-CH_2-S-CH_2-\mathbf{CH_2}-$) ; 2.64 (t, 4H, $-OCO-CH_2-S-\mathbf{CH_2}-CH_2-$, J=7.4Hz) ; 3.26 (s, 4H, $-OCO-\mathbf{CH_2}-S-CH_2-$) ; 4.16-4.29 (massif, 5H, -C**HaHb**-CH-C**HaHb**-).

EXEMPLE 3g : Préparation de 1-oléoyl-3-palmitoylglycérol

Le 1-palmitoylglycérol (exemple 2b) (5.516 g ; 17 mmol) est dissous dans le dichlorométhane (500 ml) avant d'ajouter la dicyclohexylcarbodiimide (5.165 g ; 25 mmol), la diméthylaminopyridine (3.058 g ; 25 mmol) et l'acide oléique (4.714 g ; 17 mmol). Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation à température ambiante pendant 24 heures. Le précipité de dicyclohexylurée est filtré, rincé au dichlorométhane et le filtrat est évaporé sous vide. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant dichlorométhane) et permet d'obtenir le composé souhaité sous forme de solide blanc.

Rendement : 23%

Rf (dichlorométhane) : 0.24

PF : 30°C

IR : νCO ester 1731 et 1710 cm^{-1}

RMN (^1H, $CDCl_3$) : 087 (t, 6H, $-CH_3$, J=6.5Hz) ; 1.26 (massif, 44H, $-CH_2-$) ; 1.62 (quint, 4H, $OCOCH_2-\mathbf{CH_2}-$, J=7.4Hz) ; 2.01 (massif, 4H, $-\mathbf{CH_2}-CH=CH-\mathbf{CH_2}-$) ; 2.36 (t, 4H, $OCO\mathbf{CH_2}-CH_2-$, J=7.3Hz) ; 2.465 (d, 1H, OH (échangeable), J=4.3Hz) ; 4.17 (massif, 5H, -C**HaHb**-CH-C**HaHb**-) ; 5.34 (m, 4H, $-CH_2-\mathbf{CH}=\mathbf{CH}-CH_2-$).

SM (MALDI-TOF) : M+23 = 617 ($M+Na^+$)

EXEMPLE 3h : Préparation du 1,3-diacétylglycérol

Le glycérol (30 g ; 0.326 mol) est dissous dans le dichlorométhane (300 ml) avant d'ajouter la pyridine (79 ml ; 0.977 mol) puis goutte à goutte l'anhydride acétique (61.5 ml ; 0.651 mol). Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation à température ambiante pendant 48 heures. Le milieu est repris par le dichlorométhane. La phase organique est lavée avec de l'acide chlorhydrique 1N puis par une solution de carbonate de potassium à 10% puis par l'eau saturée en sel, séchée sur sulfate de magnésium, filtrée et portée à sec pour fournir une huile incolore qui est utilisée sans autre purification.

Rendement : 34%

IR: νCO ester 1742 cm^{-1}

EXEMPLE 3i : Préparation du 1,3-dioctanoylglycérol

Ce composé est obtenu selon la procédure précédemment décrite (exemple 3a) à partir du glycérol et de l'acide octanoïque. Le produit est obtenu sous forme d'une huile incolore.

Rendement 10%

Rf (acétate d'éthyle-cyclohexane 3-7) : 0.55

PF < 4°C

IR : νCO ester 1742 et 1719 cm^{-1}

RMN (^1H, $CDCl_3$) : 0.89 (t, 6H, $-CH_3$, J=6.9Hz) ; 1.29 (massif, 16H, $-CH_2-$) ; 1.62 (massif, 4H, $OCOCH_2-\mathbf{CH_2}-$) ; 2.36 (t, 4H, $OCO\mathbf{CH_2}-CH_2-$, J=7.4Hz) ; 2.52 (sl, 1H, OH (échangeable)) ; 4.14 (massif, 5H, $-C\mathbf{H_2}-C\mathbf{H}-CH_2-$)

SM (MALDI-TOF) : M+23 = 591 ($M+Na^+$) ; M+39 = 607 ($M+K^+$)

EXEMPLE 3j : Préparation du 1,3-diundécanoylglycérol

Ce composé est obtenu selon la procédure précédemment décrite (exemple 3a) à partir du glycérol et de l'acide undécanoïque. Le produit est obtenu sous forme d'une poudre blanche.

Rendement 28%

Rf (dichlorométhane) : 0.20

IR : νCO ester 1730 et 1705 cm^{-1}

RMN (^1H, $CDCl_3$) : 0.89 (t, 6H, $-CH_3$, J=6.7Hz) ; 1.27 (massif, 28H, $-CH_2-$) ; 1.64 (m, 4H, $OCOCH_2-\mathbf{CH_2}-$) ; 2.36 (t, 4H, $OCO\mathbf{CH_2}-CH_2-$, J=7.4Hz) ; 4.18 (massif, 5H, $-\mathbf{CH_2}-\mathbf{CH}-\mathbf{CH_2}-$)

SM (MALDI-TOF) : M+23 = 451 ($M+Na^+$) ; M+39 = 467 ($M+K^+$)

EXEMPLE 4 : Préparation de 1,2,3-triacylglycérols

EXEMPLE 4a : Préparation du 1,2,3-tritétradécylthioacétylglycérol

Le glycérol (1 g, 10.86 mmol) est dissous dans le dichlorométhane (200 ml) avant d'ajouter la dicyclohexylcarbodiimide (7.84 g, 38.01 mmol), la diméthylaminopyridine (4.64 g, 38.01 mmol) et l'acide tétradécylthioacétique (exemple 1a) (9.40 g, 32.58 mmol). Le mélange est laissé sous agitation à température ambiante. Après 48 heures de réaction, le précipité de dicyclohexylurée est filtré, lavé plusieurs fois au dichlorométhane et le filtrat est évaporé. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice (dichlorométhane-cyclohexane 4-6). Le 1,2,3-tritétradécylthioacétyl-glycérol est obtenu sous forme de poudre blanche .

Rendement 65%

Rf (dichlorométhane-cyclohexane 7-3) : 0.47

PF : 57°C

IR : νCO ester 1738 et 1722 cm^{-1}

RMN (^1H, $CDCl_3$) : 0.89 (t, 9H, $-CH_3$, J=6.5Hz) ; 1.26 (massif, 66H, $-CH_2-$) ; 1.62 (m, 6H, $-CH_2-\mathbf{CH_2}-CH_2-S-$) ; 2.63 (t, 6H, $CH_2-\mathbf{CH_2}-S-$, J=7.3Hz) ; 3.23 (s, 6H, $S-\mathbf{CH_2}-COO$) ; 4.27 (dd, 2H, -C**Ha**Hb-CH-C**Ha**Hb-, J=12Hz et J=6Hz) ; 4.39 (dd, 2H, -CHa**Hb**-CH-CHa**Hb**-, J=12Hz et J=4.3Hz) ; 5.34 (m, 1H, -CHaHb-C**H**-CHaHb-)

SM (MALDI-TOF) : M+23 = 925 ($M+Na^+$) ; M+39 = 941 ($M+K^+$)

EXEMPLE 4b : Préparation du 1,2,3-tri-(4-dodécylthio)butanoylglycérol

Ce composé est obtenu selon la procédure précédemment décrite (exemple 4a) à partir de l'acide 4-(dodécylthio)butanoïque (exemple 1b) et du glycérol.

Rf (dichlorométhane-cyclohexane 7-3) : 0.43

IR : νCO ester 1738 et 1727 cm^{-1}

RMN (^1H, $CDCl_3$) : 0.84-0.92 (t, 9H, $-CH_3$, J=6.3Hz) ; 1.22-1.44 (massif, 54H, $-CH_2-$) ; 1.50-1.64 (massif, 6H, $-\mathbf{CH_2}-CH_2-S-CH_2-CH_2-CH_2-COO$) ; 1.83-1.97 (massif, 6H, $-CH_2-S-CH_2-\mathbf{CH_2}-CH_2-COO$) ; 2.42-2.59 (massif, 18H, $-CH_2-CH_2-\mathbf{CH_2}-S-\mathbf{CH_2}-CH_2-\mathbf{CH_2}-COO$) ; 4.11-4.20 (dd, 2H, -CHaHb-CH-CHaHb-, J=12Hz et J=5.9Hz) ; 4.29-4.36 (dd, 2H, -CHa**Hb**-CH-CHa**Hb**-, J=12Hz et J=4.5Hz) ; 5.22-5.32 (m, 1H, -CHaHb-C**H**-CHaHb-)

SM (MALDI-TOF) : M+23 = 925 ($M+Na^+$) ; M+39 = 941 ($M+K^+$)

EXEMPLE 4c : Préparation du 1,2,3-tri-(6-décylthio)hexanoylglycérol

Ce composé est obtenu selon la procédure précédemment décrite (exemple 4a) à partir de l'acide 6-(décylthio)hexanoïque (exemple 1c) et du glycérol.

Rf (dichlorométhane-cyclohexane 7-3) : 0.43

IR : νCO ester 1730 cm^{-1}

RMN (^1H, $CDCl_3$) : 0.85-0.92 (t, 9H, $-CH_3$, J=6.5Hz) ; 1.21-1.50 (massif, 48H, $-CH_2-$) ; 1.51-1.72 (massif, 18H, $-\mathbf{CH_2}-CH_2-S-CH_2-\mathbf{CH_2}-CH_2-\mathbf{CH_2}-CH_2-COOH$) ; 2.28-2.40 (massif, 6H, $-CH_2-S-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-\mathbf{CH_2}-COO$) ; 2.45-2.57 (massif, 12H, $-\mathbf{CH_2}-S-\mathbf{CH_2}-$) ; 4.10-4.20 (dd, 2H, -CHaHb-CH-CHaHb-, J=12Hz et J=6Hz) ; 4.25-4.38 (dd, 2H, -CHa**Hb**-CH-CHa**Hb**-, J=12Hz et J=4.3Hz) ; 5.22-5.32 (m, 1H, -CHaHb-C**H**-CHaHb-)

SM (MALDI-TOF) : M+23 = 925 ($M+Na^+$) ; M+39 = 941 ($M+K^+$)

EXEMPLE 4d : Préparation du 1,2,3-tritétradécylsulfoxyacétylglycérol

Ce composé est obtenu selon la procédure précédemment décrite (exemple 4a) à partir de l'acide tétradécylsulfoxyacétique (exemple 1e) et du glycérol.

Rf (dichlorométhane-cyclohexane 7-3) : 0.33

IR : νCO ester 1730 cm^{-1}

RMN (^{1}H, $CDCl_3$) : 0.80-0.92 (t, 9H, -CH_3, J=6.4Hz) ; 1.20-1.39 (massif, 60H, -CH_2-) ; 1.40-1.55 (massif, 6H, CH_2-) ; 1.70-1.90 (quint, 6H, -**CH_2**-CH_2-SO-) ; 2.82-2.89 (m, 6H, -CH_2-**CH_2**-SO-CH_2-COO-) ; 3.49-3.90 (m, 6H, -CH_2-SO-**CH_2**-COO) ; 4.10-4.30 (m, 2H, -C**H_2**-CH-C**H_2**-) ; 4.30-4.60 (m, 2H, -C**H_2**-CH-C**H_2**-) ; 5.45 (m, 1H, -CH_2-C**H**-CH_2-).

SM (MALDI-TOF) : M+1 = 951 ; M+23 = 974 ($M+Na^+$) ; M+39 = 990 ($M+K^+$)

EXEMPLE 4e : Préparation du 1,2,3-tri-(tétradécylsulfonyl)acétylglycérol

Ce composé est obtenu selon la procédure précédemment décrite (exemple 4a) à partir de l'acide tétradécylsulfonylacétique (exemple 1g) et du glycérol.

Rf (dichlorométhane-acétate d'éthyle 9-1) : 0.51

PF : 107.0 à 110.6°C

IR : νCO ester 1769, 1754 et 1735 cm^{-1} ; νSO 1120 cm^{-1}

RMN (^{1}H, $CDCl_3$) : 0.87 (t, 9H, -CH_3, J=6.5Hz) ; 1.19-1.35 (massif, 60H, -CH_2-) ; 1.44-1.49 (m, 6H, -**CH_2**-CH_2-CH_2-SO_2-) ; 1.81-1.92 (m, 6H, -**CH_2**-CH_2-SO_2-) ; 3.23 (t, 6H, -CH_2-**CH_2**-SO_2-CH_2-COO, J=7.5Hz) ; 4.01 (s, 4H, -CH_2-SO_2-**CH_2**-COO) ; 4.03 (s, 2H, -CH_2-SO_2-**CH_2**-COO) ; 4.67 (m, 4H, -C**H_2**-CH-C**H_2**-) ; 5.49 (m, 1H, -CH_2-C**H**-CH_2-).

SM (MALDI-TOF) : M+23 = 1021 ($M+Na^+$) ; M+39 = 1037 ($M + K^+$)

EXEMPLE 4f : Préparation du 1,2,3-tri-tétradécylsélénoacétylglycérol

Ce composé est obtenu selon la procédure précédemment décrite (exemple 4a) à partir de l'acide tétradécylsélénoacétique (exemple 1d) et du glycérol.

Rf (dichlorométhane-cyclohexane 7-3) : 0.74

IR : νCO ester 1737 et 1721 cm^{-1}

RMN (^{1}H, $CDCl_3$) : 0.85-0.92 (t, 9H, -CH_3, J=6.2Hz) ; 1.23-1.46 (massif, 66H, -CH_2-) ; 1.62-1.76 (massif, 6H, -CH_2-**CH_2**-CH_2-Se-) ; 2.72-2.79 (t, 6H, CH_2-**CH_2**-Se-, J=7.4Hz) ; 3.15 (s, 6H, Se-**CH_2**-COO) ; ; 4.10-4.30 (m, 2H, -C**H_2**-CH-C**H_2**-) ; 4.30-4.60 (m, 2H, -C**H_2**-CH-C**H_2**-) ; 5.37 (m, 1H, -CH_2-C**H**-CH_2-).

EXEMPLE 4g : Préparation du 1,3-dipalmitoyl-2-tétradécylthioacétylglycérol

Le 1,3-dipalmitoylglycérol (exemple 3a) (5.64 g ; 9.9 mmol ; 1eq), l'acide tétradécylthioacétique (exemple 1a) (5.74 g ; 19.8 mmol ; 2eq), la dicyclohexylcarbodiimide (4.1 g ; 19.8 mmol ; 2eq) et la diméthylaminopyridine (2.42 g ; 19.8 mmol ; 2eq) sont mis en solution dans le dichlorométhane. Le mélange réactionnel est laissé sous agitation à température ambiante pendant 3 jours. La dicyclohexylurée formée est filtrée et lavée plusieurs fois au dichlorométhane. Le filtrat est porté à sec. Le produit résiduel est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant : dichlorométhane/cyclohexane 4/6) .

Rendement : 80%

Rf (dichlorométhane-cyclohexane 7-3) : 0.32

PF : 60-62°C

IR : νCO ester 1744 et 1730 cm^{-1}

RMN (^1H, $CDCl_3$) : 0.86-0.91 (t, 9H, $-CH_3$, J=6.6Hz) ; 1.10-1.45 (massif, 70H, $-CH_2-$) ; 1.57-1.64 (massif, 6H, $-CH_2-\mathbf{CH_2}-CH_2-S-$ et $OCOCH_2-\mathbf{CH_2}$) ; 2.30-2.35 (t, 4H, $OCO\mathbf{CH_2}-CH_2-$, J=7.4Hz) ; 2.60-2.66 (t, 2H, $CH_2-\mathbf{CH_2}-S-$, J=7.4Hz) ; 3.23 (s, 2H, $S-\mathbf{CH_2}-COO$) ; 4.14-4.21 (dd, 2H, -CHaHb-CH-CHaHb-, J=12Hz et J=5.8Hz) ; 4.30-4.36 (dd, 2H, -CHaHb-CH-CHaHb-, J=12Hz et J=4Hz) ; 5.26-5.33 (m, 1H, -CHaHb-CH-CHaHb-)

SM (MALDI-TOF) : M+23 = 861 ($M+Na^+$) ; M+39 = 877 ($M+K^+$)

EXEMPLE 4h : Préparation du 1,3-dilinoléoyl-2-tétradécylthioacétylglycérol

Ce composé est obtenu selon la procédure précédemment décrite (exemple 4g) à partir du 1,3-dilinoléoylglycérol (exemple 3b) et de l'acide tétradécylthioacétique (exemple 1a). Le produit est obtenu sous forme d'huile visqueuse incolore.

Rendement : 56%

Rf (dichlorométhane-cyclohexane 7-3) : 0.32

IR : νCO ester 1745 cm^{-1}

RMN (^1H, $CDCl_3$) : 0.82-0.93 (t, 9H, $-CH_3$, J=6.6Hz) ; 1.15-1.45 (massif, 50H, $-CH_2-$) ; 1.52-1.70 (massif, 6H, $-CH_2-\mathbf{CH_2}-CH_2-S-$ et $OCOCH_2-\mathbf{CH_2}$) ; 1.93-2.14 (massif, 8H, $-\mathbf{CH_2}-CH=CH-\mathbf{CH_2}-$) ; 2.28-2.37 (t, 4H, $OCO\mathbf{CH_2}-CH_2-$, J=7.5Hz) ;

2.59-2.67 (t, 2H, CH_2-**CH_2**-S-, J=7.4Hz) ; 2.70-2.83 (t, 4H, -CH_2-CH=CH-**CH_2**-CH=CH-CH_2-) ; 3.22 (s, 2H, S-**CH_2**-COO) ; 4.12-4.23 (dd, 2H, -C**Ha**Hb-CH-C**Ha**Hb-, J=12Hz et J=6.2Hz) ; 4.28-4.37 (dd, 2H, -CHa**Hb**-CH-CHa**Hb**-, J=12Hz et J=4Hz) ; 5.24-5.45 (m, 1H, -CHaHb-C**H**-CHaHb-)

SM (MALDI-TOF) : M+23 = 909 ($M+Na^+$) ; M+39 = 925 ($M+K^+$)

EXEMPLE 4i : Préparation du 1,3-distéaroyl-2-tétradécylthioacétylglycérol

Ce composé est obtenu selon la procédure précédemment décrite (exemple 4g) à partir du 1,3-distéaroylglycérol (composé 3c) et de l'acide tétradécylthioacétique (composé 1a).

Rendement 41%

Rf (dichlorométhane) : 0.32

IR : νCO ester 1744 et 1731 cm^{-1}

RMN (^1H, $CDCl_3$) : 0.86-0.91 (t, 9H, -CH_3, J=6.6Hz) ; 1.10-1.45 (massif, 78H, -CH_2-) ; 1.57-1.64 (massif, 6H, -CH_2-**CH_2**-CH_2-S- et OCOCH_2-**CH_2**) ; 2.29-2.35 (t, 4H, OCO**CH_2**-CH_2-, J=7.4Hz) ; 2.60-2.66 (t, 2H, CH_2-**CH_2**-S-, J=7.4Hz) ; 3.23 (s, 2H, S-**CH_2**-COOH) ; 4.14-4.21 (dd, 2H, -C**Ha**Hb-CH-C**Ha**Hb-, J=12Hz et J=5.8Hz) ; 4.30-4.36 (dd, 2H, -CHa**Hb**-CH-CHa**Hb**-, J=12Hz et J=4 Hz) ; 5.26-5.32 (m, 1H, -CHaHb-C**H**-CHaHb-)

EXEMPLE 4j : Préparation du 1,3-oléoyl-2-tétradécylthioacétylglycérol

Ce composé est obtenu selon la procédure précédemment décrite (exemple 4g) à partir du 1,3-dioléoylglycérol (composé 3d) et de l'acide tétradécylthioacétique (composé 1a). Le produit est obtenu sous forme d'huile visqueuse incolore.

Rendement : 32%

Rf (dichlorométhane-cyclohexane 7-3) : 0.50

IR : νCO ester 1746 cm^{-1}

RMN (^1H, $CDCl_3$) : 0.89 (t, 9H, -CH_3, J=6.4Hz) ; 1.31 (massif, 66H, -CH_2-) ; 1.60 (massif, 6H, -CH_2-**CH_2**-CH_2-S- et OCOCH_2-**CH_2**) ; 2.02 (massif, 8H, -**CH_2**-CH=CH-**CH_2**-) ; 2.33 (t, 4H, OCO**CH_2**-CH_2-, J=7.3Hz) ; 2.63 (t, 2H, CH_2-**CH_2**-S-, J=7.7Hz) ; 3.23 (s, 2H, S-**CH_2**-COO) ; 4.18 (dd, 2H, -C**Ha**Hb-CH-C**Ha**Hb-,

J=12.4Hz et J=6.4Hz) ; 4.33 (dd, 2H, -CHa**Hb**-CH-CHa**Hb**-, J=12.4Hz et J=4.5Hz) ; 5.33 (massif, 1H, -CHaHb-C**H**-CHaHb- et -CH_2-**CH**=**CH**-CH_2-)

SM (MALDI-TOF) : M+23 = 913 ($M+Na^+$) ; M+39 = 929 ($M+K^+$)

EXEMPLE 4k : Préparation du 1,3-ditétradécanoyl-2-tétradécylthioacétylglycérol

Ce composé est obtenu selon la procédure précédemment décrite (exemple 4g) à partir du 1,3-ditétradécanoylglycérol (composé 3e) et de l'acide tétradécylthioacétique (composé 1a).

Rendement : 28%

Rf (dichlorométhane-cyclohexane 7-3) : 0.30

PF : 60-62°C

IR : νCO ester 1744 et 1730 cm^{-1}

RMN (^1H, $CDCl_3$) : 0.87 (t, 9H, -CH_3, J=7.2Hz) ; 1.27 (massif, 62H, -CH_2-) ; 1.60 (massif, 6H, -CH_2-**CH_2**-CH_2-S- et OCOCH_2-**CH_2**) ; 2.33 (t, 4H, OCO**CH_2**-CH_2-, J=7.7Hz) ; 2.63 (t, 2H, CH_2-**CH_2**-S-, J=7.2Hz) ; 3.23 (s, 2H, S-**CH_2**-COO) ; 4.18 (dd, 2H, -C**Ha**Hb-CH-C**Ha**Hb-, J=12Hz et J=5.8Hz) ; 4.33 (dd, 2H, -CHa**Hb**-CH-CHa**Hb**-, J=11.5Hz et J=5.8Hz) ; 5.30 (m, 1H, -CHaHb-C**H**-CHaHb-).

SM (MALDI-TOF) : M+23 = 805 ($M+Na^+$)

EXEMPLE 4l : Préparation du 1-palmitoyl-2,3-ditétradécylthioacétylglycérol

Le 1-palmitoylglycérol (exemple 2b) (4.804 g ; 14 mmol) est dissous dans le dichlorométhane (300 ml) avant d'ajouter la dicyclohexylcarbodiimide (7.498 g ; 36 mmol), la diméthylaminopyridine (4.439 g ; 0.036 mol) et l'acide tétradécylthioacétique (exemple 1a) (8.386 g ; 29 mmol). Le mélange réactionnel est placé sous agitation à température ambiante pendant 48 heures. Le précipité de dicyclohexylurée est filtré, lavé au dichlorométhane. Le filtrat est porté à sec. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant dichlorométhane-cyclohexane 4-6) et donne le composé souhaité sous forme de poudre blanche.

Rendement 42%

Rf (dichlorométhane-cyclohexane 7-3) : 0.31

PF : 57-59°C

IR : νCO ester 1736 et 1722 cm^{-1}

RMN (^1H, $CDCl_3$) : 0.89 (t, 9H, $-CH_3$, J=6.6Hz) ; 1.27 (massif, 68H, $-CH_2-$) ; 1.60 (massif, 6H, $-CH_2-\mathbf{CH_2}-CH_2-S-$ et $OCOCH_2-\mathbf{CH_2}$) ; 2.33 (t, 2H, $OCO\mathbf{CH_2}-CH_2-$, J=7Hz) ; 2.63 (t, 4H, $CH_2-\mathbf{CH_2}-S-$, J=8.9Hz) ; 3.23 (s, 4H, $S-\mathbf{CH_2}-COO$); 4.23 (m, 2H, -C**Ha**Hb-CH-C**Ha**Hb-) ; 4.37 (m, 2H, -CHa**Hb**-CH-CHa**Hb**) ; 5.31 (m, 1H, -CHaHb-C**H**-CHaHb-)

SM (MALDI-TOF) : M+23 = 893 ($M+Na^+$) ; M+39 = 909 ($M+K^+$)

EXEMPLE 4m : Préparation du 1-oléoyl-3-palmitoyl-2-tétradécylthioacétylglycérol

Le 1-oléoyl-3-palmitoylglycérol (exemple 3g) (2 g ; 3 mmol) est dissous dans le dichlorométhane (150 ml) avant d'ajouter la dicyclohexylcarbodiimide (1.040 g ; 5 mmol), la diméthylaminopyridine (0.616 g ; 5 mmol) et l'acide tétradécylthioacétique (exemple 1a) (1.455 g ; 5 mmol). Le mélange est laissé sous agitation à température ambiante pendant 24 heures, Le précipité de dicyclohexylurée est filtré, rincé au dichlorométhane et le filtrat est concentré. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant dichlorométhane-cyclohexane 4-6) et permet d'obtenir le composé souhaité sous forme d'huile.

Rendement 49%

Rf (dichlorométhane-cyclohexane 7-3) : 0.45

PF < 4°C

IR : νCO ester 1742 cm^{-1}

RMN (^1H, $CDCl_3$) : 0.89 (t, 9H, $-CH_3$, J=6.5Hz) ; 1.26 (massif, 66H, $-CH_2-$) ; 1.60 (massif, 6H, $-CH_2-\mathbf{CH_2}-CH_2-S-$ et $OCOCH_2-\mathbf{CH_2}$) ; 2.03 (massif, 4H, $-\mathbf{CH_2}-CH=CH-\mathbf{CH_2}-$) ; 2.33 (t, 4H, $OCO\mathbf{CH_2}-CH_2-$, J=7.4Hz) ; 2.63 (t, 2H, $CH_2-\mathbf{CH_2}-S-$, J=7.4Hz) ; 3.23 (s, 2H, $S-\mathbf{CH_2}-COO$) ; 4.18 (dd, 2H, -C**Ha**Hb-CH-C**Ha**Hb-, J=12.2Hz et J=6.1Hz) ; 4.33 (dd, 2H, -CHa**Hb**-CH-CHa**Hb**-, J=12.2Hz et J=4.4Hz) ; 5.32 (massif, 3H, -CHaHb-C**H**-CHaHb- et $-CH_2-\mathbf{CH}=\mathbf{CH}-CH_2-$)

SM (MALDI-TOF) : M+23 = 887 ($M+Na^+$) ; M+39 = 903 ($M+K^+$)

EXEMPLE 4n : Préparation du 1,3-dipalmitoyl-2-docosylthioacétylglycérol

Le produit est préparé selon la procédure décrite (exemple 4g) à partir du 1,3-dipalmitoylglycérol (exemple 3a) et de l'acide docosylthioacétique (exemple 1i).

Rendement : 77%

Rf (dichlorométhane-cyclohexane 7-3) : 0.32

IR : νCO ester 1745 et 1730 cm^{-1}

RMN (^1H, $CDCl_3$) : 0.86-0.91 (t, 9H, $-CH_3$, J=6.6Hz) ; 1.10-1.45 (massif, 86H, $-CH_2-$) ; 1.57-1.64 (massif, 6H, $-CH_2-\mathbf{CH_2}-CH_2-S-$ et $OCOCH_2-\mathbf{CH_2}$) ; 2.29-2.34 (t, 4H, $OCO\mathbf{CH_2}-CH_2-$, J=7.5Hz) ; 2.60-2.66 (t, 2H, $CH_2-\mathbf{CH_2}-S-$, J=7.4Hz) ; 3.23 (s, 2H, $S-\mathbf{CH_2}-COO-$) ; 4.13-4.22 (dd, 2H, -C**Ha**Hb-CH-C**Ha**Hb-, J=12Hz et J=5.8Hz) ; 4.30-4.36 (dd, 2H, -CHa**Hb**-CH-CHa**Hb**-, J=12Hz et J=4Hz) ; 5.27-5.34 (m, 1H, -CHaHb-C**H**-CHaHb-)

EXEMPLE 4o : Préparation du 1,3-ditétradécylthioacétyl-2-palmitoylglycérol

Le produit est préparé selon la procédure décrite (exemple 4g) à partir du 1,3-ditétradécylthioacétylglycérol (exemple 3f) et de l'acide palmitique.

Rendement : 36%

PF : 59-61°C

Rf (dichlorométhane-cyclohexane 7-3) : 0.35

IR : νCO ester 1740 cm^{-1}

RMN (^1H, $CDCl_3$) : 0.89 (t, 9H, $-CH_3$, J=6.5Hz) ; 1.26 (massif, 68H, $-CH_2-$) ; 1.55-1.65 (massif, 6H, $-CH_2-\mathbf{CH_2}-CH_2-S-$ et $-OCOCH_2-\mathbf{CH_2}$) ; 2.34 (td, 2H, $OCO\mathbf{CH_2}-CH_2-$, J=7.7Hz et J=1.9Hz) ; 2.63 (td, 4H, $CH_2-\mathbf{CH_2}-S-$, J=7.3Hz et J=1.9Hz) ; 3.23 (s, 4H, $S-\mathbf{CH_2}-COO-$) ; 3.68 (dd, 2H, -C**Ha**Hb-CH-C**Ha**Hb-, J=10.4Hz et J=4.6Hz) ; 4.36 (dd, 2H, -CHa**Hb**-CH-CHa**Hb**-, J=11.9Hz et J=4.2Hz) ; 5.31 (m, 1H, -CHaHb-C**H**-CHaHb-)

SM (MALDI-TOF) : M+23 = 893 ($M+Na^+$) ; M+39 = 909 ($M+K^+$)

EXEMPLE 4p : Préparation du 1,3-diacétyl-2-tétradécylthioacétylglycérol

Le produit est préparé selon la procédure décrite (exemple 4g) à partir du 1,3-diacétylglycérol (exemple 3h) et de l'acide tétradécylthioacétique (exemple 1a).

Rendement : 10%

Rf (acétate d'éthyle-cyclohexane 3-7) : 0.47

PF < 4°C

IR : νCO ester 1748 cm^{-1}

RMN (^1H, $CDCl_3$) : 0.89 (t, 3H, $-CH_3$, J=6.9Hz) ; 1.26 (massif, 20H, $-CH_2-$) ; 1.60 (massif, 4H, **$-CH_2-CH_2-$**CH_2-S-) ; 2.09 (s, 6H, $-OCO\mathbf{CH_3}$) ; 2.64 (t, 2H, CH_2-**CH_2-**$S-$, J=7.4Hz) ; 3.24 (s, 2H, $S-$**CH_2-**COO) ; 4.17 (dd, 2H, -C**Ha**Hb-CH-C**Ha**Hb-, J=12Hz et J=5.8Hz) ; 4.34 (dd, 2H, -CHa**Hb**-CH-CHa**Hb**-, J=12Hz et J=4Hz) ; 5.28 (m, 1H, -CHaHb-C**H**-CHaHb-)

SM (MALDI-TOF) : M+23 = 469 ($M+Na^+$) ; M+39 = 485 ($M+K^+$)

EXEMPLE 4q : Préparation du 1,3-dioctanoyl-2-tétradécylthioacétylglycérol

Le produit est préparé selon la procédure décrite (exemple 4g) à partir du 1,3-dioctanoylglycérol (exemple 3i) et de l'acide tétradécylthioacétique (exemple 1a).

Rendement : 88%

Rf (dichlorométhane 10) : 0.52

PF < 4°C

IR : νCO ester 1745 cm^{-1}

RMN (^1H, $CDCl_3$) : 0.89 (t, 9H, $-CH_3$, J=7.0Hz) ; 1.27 (massif, 38H, $-CH_2-$) ; 1.60 (massif, 6H, $-CH_2-$**CH_2-**CH_2-S- et $OCOCH_2-$**CH_2**) ; 2.32 (t, 4H, OCO**CH_2-**CH_2-, J=7.3Hz) ; 2.63 (t, 2H, CH_2-**CH_2-**$S-$, J = 7.3 Hz) ; 3.23 (s, 2H, $S-$**CH_2-**COO) ; 4.17 (dd, 2H, -C**Ha**Hb-CH-C**Ha**Hb-, J=11.9Hz et J=5.8Hz) ; 4.33 (dd, 2H, -CHa**Hb**-CH-CHa**Hb**-, J=11.9Hz et J=4.3Hz) ; 5.30 (m, 1H, -CHaHb-C**H**-CHaHb-)

SM (MALDI-TOF) : M+23 = 637 ($M+Na^+$) ; M+39 = 653 ($M+K^+$)

EXEMPLE 4r : Préparation du 1,3-diundécanoyl-2-tétradécylthioacétylglycérol

Le produit est préparé selon la procédure décrite (exemple 4g) à partir du 1,3-diundécanoylglycérol (exemple 3j) et de l'acide tétradécylthioacétique (exemple 1a).

Rendement : 28%

Rf (dichlorométhane–cyclohexane 7-3) : 0.16

IR : νCO ester 1738 et 1725 cm^{-1}

RMN (^{1}H, $CDCl_3$) : 0.89 (t, 9H, -CH_3, J=6.9Hz) ; 1.26 (massif, 50H, -CH_2-) ; 1.62 (massif, 6H, -CH_2-**CH_2**-CH_2-S- et OCOCH_2-**CH_2**) ; 2.33 (t, 4H, OCO**CH_2**-CH_2-, J=7.7Hz) ; 2.63 (t, 2H, CH_2-**CH_2**-S-, J=7.3Hz) ; 3.23 (s, 2H, S-**CH_2**-COO) ; 4.20 (dd, 2H, -C**Ha**Hb-CH-C**Ha**Hb-, J=12.1Hz et J=6.1Hz) ; 4.35 (dd, 2H, -CHa**Hb**-CH-CHa**Hb**-, J=12.1Hz et J=4.5Hz) ; 5.29 (m, 1H, -CHaHb-C**H**-CHaHb-)

SM (MALDI-TOF) : M+23 = 722 ($M+Na^+$) ; M+39 = 738 ($M+K^+$)

EXEMPLE 5 : Préparation des dérivés 2-aminoglycérol

EXEMPLE 5a : Préparation du 2-tétradécylthioacétylamino propan-1.3-diol

L'acide tétradécylthioacétique (exemple 1a) (2.878 g ; 10 mmol) et le 2-amino-1,3-propanediol (1 g ; 11 mmol) sont placés dans un ballon et chauffés 190°C pendant 1 heure. Après refroidissement à température ambiante, le milieu est repris par du chloroforme et lavé à l'eau. La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée puis évaporée pour fournir un résidu solide ocre. Ce résidu est placé sous agitation dans l'éther diéthylique pendant 12 heures. Le produit est isolé par filtration et fournit une poudre blanche .

Rendement : 6%

Rf (dichlorométhane-méthanol 9-1) : 0.60

PF : 95-97°C

IR : νCO amide 1640 cm^{-1}

RMN (^{1}H, $CDCl_3$) : 0.84-0.93 (t, 3H, -CH_3, J=6.4Hz) ; 1.21-1.45 (massif, 22H, -CH_2-) ; 1.54-1.72 (m, 2H, -CH_2-**CH_2**-CH_2-S-) ; 2.52-2.59 (t, 2H, CH_2-**CH_2**-S-, J=7.1Hz) ; 2.63 (sl, 2H, OH) ; 3.27 (s, 2H, S-**CH_2**-COO) ; 3.77-3.96 (massif, 4H, -**CH_2**-CH-**CH_2**-) ; 3.97-4.04 (m, 1H, - CH_2-C**H**-CH_2-) ; 7.55 (d, 1H, -CONH-, J=6.7Hz).

SM (MALDI-TOF) : M+1=362 ; M+23 = 384 ($M+Na^+$) ; M+39 = 400 ($M+K^+$)

EXEMPLE 5b : Préparation du 2-tétradécylthioacétylamino-1,3-ditétradécylthioacétyloxypropane

Le 2-tétradécylthioacétylaminopropan-1,3-diol (exemple 5a) (1 g ; 2.77 mmol) est dissous dans le dichlorométhane (180 ml) puis la dicyclohexycarbodiimide (1.427 g ; 6.91 mmol), la diméthylaminopyridine (0.845 g ; 6.91 mmol) et l'acide tétradécylthioacétique (exemple 1a) (1.995 g ; 6.91 mmol) sont ajoutés dans cet ordre. Le mélange réactionnel est laissé sous agitation à température ambiante pendant 48 heures. Le précipité de dicyclohexylurée est filtré et lavé par du dichlorométhane et le filtrat est concentré. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant dichlorométhane-cyclohexane 7-3). Le composé souhaité est obtenu sous forme de poudre blanche.

Rendement : 66%

Rf (dichlorométhane) : 0.18

PF : 82-84°C

IR : νCO ester 1715 et 1730 cm^{-1} ; νCO amide 1648 cm^{-1}

RMN (^1H, $CDCl_3$) : 0.84-0.95 (t, 9H, $-CH_3$, J=6.6Hz) ; 1.22-1.45 (massif, 66H, $-CH_2-$) ; 1.54-1.69 (massif, 6H, $-CH_2-\mathbf{CH_2}-CH_2-S-$) ; 2.48-2.55 (t, 2H, $CH_2-\mathbf{CH_2}-S-CH_2-CONH-$, J=7.5Hz) ; 2.59-2.70 (t, 4H, $CH_2-\mathbf{CH_2}-S-CH_2-COO-$, J=7.2Hz) ; 3.24 (s, 6H, $S-\mathbf{CH_2}-CO-$) ; 4.18-4.35 (massif, 4H, $-\mathbf{CH_2}-CH-\mathbf{CH_2}-$) ; 4.47-4.60 (m, 1H, $-CH_2-\mathbf{CH}-CH_2-$) ; 7.23 (d, 1H, -CONH-, J=8.5Hz).

SM (MALDI-TOF) : M+23 = 924 ($M+Na^+$)

EXEMPLE 6 : Préparation des dérivés 2-thioglycérol

EXEMPLE 6a : Préparation de l'acide 2-(tétradécylthio)thiolacétique

Préparation du 2-(tétradécylthio)thioacétate de S-triphénylméthyle

Le triphénylméthylthiol (9.58 g ; 35 mmol) est dissous dans le dichlorométhane avant d'ajouter la dicyclohexylcarbodiimide (7.15 g ; 35 mmol), la diméthylaminopyridine (4.24 g ; 35 mmol) et l'acide tétradécylthioacétique (exemple 1a) (10 g ; 35 mmol). Le mélange réactionnel est laissé sous agitation à température ambiante pendant 24 heures. La dicyclohexylcarbodiimide est

filtrée et rincée au dichlorométhane. Le filtrat est porté à sec. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant dichlorométhane/cyclohexane 1/9).
Rendement : 30%
Rf (dichlorométhane-cyclohexane 2-8) : 0.43
PF : 45-50°C
IR : νCO ester 1689 cm^{-1}
RMN (^1H, $CDCl_3$) : 0.89 (t, 3H, $-CH_3$, J=6.4Hz) ; 1.26 (massif, 22H, $-CH_2-$) ; 1.51-1.54 (m, 2H, $-CH_2-\mathbf{CH_2}-CH_2-S-$) ; 2.47 (t, 2H, $CH_2-\mathbf{CH_2}-S-CH_2-COS-$, J=7.1Hz) ; 3.30 (s, 2H, $S-\mathbf{CH_2}-COS-$) ; 7.23 (massif, 15H, H aromatiques).

Préparation de l'acide2-(tétradécylthio)thiolacétique

Le 2-(tétradécylthio)thioacétate de S-triphénylméthyle (4.715 g ; 9 mmol) est ajouté à froid à une suspension d'acétate mercurique (5.495 g ; 17 mmol) dans du dichlorométhane (150 ml). Le mélange réactionnel est laissé sous agitation pendant 18 heures. Le milieu est filtré sur célite® et rincé par du dichlorométhane chaud. Le filtrat est évaporé et fournit un résidu poudreux qui est repris par de l'éthanol absolu et filtré. La concentration du filtrat conduit à une huile jaune qui est utilisée sans autre purification.
Rf (dichlorométhane-méthanol 9-1) : 0.58

EXEMPLE 6b : Préparation du 2-iodo-1,3-ditétradécylthioacétoxypropane

Le 1,3-ditétradécylthioacétylglycérol (exemple 3f) (2 g ; 3 mmol) est dissous dans le toluène (180 ml) avant d'ajouter l'imidazole (0.538 g ; 8 mmol), la triphénylphosphine (2.072 g ; 8 mmol) et l'iode (1.604 g ; 6 mmol). Le mélange réactionnel est laissé sous agitation à température ambiante et l'évolution de la réaction est suivie par chromatographie sur couche mince. Après 20 heures de réaction, une solution saturée en sulfite de sodium est ajoutée jusqu'à décoloration totale du milieu. Le milieu est décanté et la phase aqueuse extraite par du toluène. Les phases organiques sont groupées et lavées par une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium. La phase organique est séchée sur

sulfate de magnésium, filtrée et le solvant est évaporé. Le résidu obtenu (4.4 g) est purifié par chromatographie sur colonne Puriflash, (éluant dichlorométhane-cyclohexane 1-9 puis 3-7).

Rendement : 95%

Rf (dichlorométhane-cyclohexane 6-4) : 0.62

PF : 51-53°C

RMN (^{1}H, $CDCl_3$) : 0.89 (t, 6H, -CH_3, J=6.6Hz) ; 1.27 (massif, 44H, -CH_2-) ; 1.63 (massif, 4H, -CH_2-**CH_2**-CH_2-S-) ; 2.66 (t, 4H, CH_2-**CH_2**-S-CH_2-COO-, J=7.4Hz) ; 3.26 (s, 4H, S-**CH_2**-CO-) ; 4.42 (massif, 5H- **CH_2-CH-CH_2**-)).

SM (MALDI-TOF) : M+23 = 765 ($M+Na^+$) ; 781 ($M+K^+$)

EXEMPLE 6c : Préparation du 1,3-ditétradécylthioacétoxy-2-(2-tétradécylthio)methylcarbonylthiopropane

Le 2-iodo-1,3-ditétradécylthioacétoxypropane (exemple 6b) (200 mg ; 0.27 mmol) et l'acide 2-(tétradécylthio)thiolacétique (exemple 6a) (82 mg ; 0.27 mmol) sont dissous dans du tétrahydrofuranne distillé (30 ml). Le mélange réactionnel est refroidi dans un bain de glace avant d'ajouter l'hydrure de sodium (22 mg ; 0.54 mmol). Le milieu est laissé sous agitation à température ambiante. Après 48 heures, le hydrure de sodium est hydrolysé et le tétrahydrofuranne évaporé. Le milieu est extrait par de l'acétate d'éthyle ; la phase organique est lavée par de l'eau, séchée sur sulfate de magnésium, filtrée et évaporée. Le résidu huileux jaune obtenu (164 mg) est purifié par chromatographie courte sur gel de silice (éluant dichlorométhane-cyclohexane 5-5) et permet d'obtenir le composé souhaité sous forme d'huile jaune.

Rf (dichlorométhane-cyclohexane 5-5) : 0.20

IR : νCO ester 1737 cm^{-1}

RMN (^{1}H, $CDCl_3$) : 0.87 (t, 9H, -CH_3, J=6.7Hz) ; 1.26 (massif, 66H, -CH_2-) ; 1.56-1.63 (massif, 6H, -CH_2-**CH_2**-CH_2-S-) ; 2.19 (s, 2H, S-**CH_2**-COS-) ; 2.65 (t, 4H, CH_2-**CH_2**-S-CH_2-COO-, J=7.5Hz) ; 2.87 (t, 2H, CH_2-**CH_2**-S-CH_2-COS-, J=4.6Hz) ; 3.22-3.26 (m, 1H, - CH_2-**CH**-CH_2-) ; 3.27 (s, 4H, S-**CH_2**-COO-) ; 3.97-4.02 (m, 2H, -C**Ha**Hb-CH-C**Ha**Hb-) ; 4.46-4.51 (m, 2H, -CHa**Hb**-CH-CHa**Hb**-).

SM (MALDI-TOF) : M+1 = 919 ($M+H^+$)

EXEMPLE 7 : Méthode de préparation des composés selon l'invention pour les expériences *in vitro*

Pour conduire les expériences *in vitro* décrites dans les exemples suivants, les composés selon l'invention ont été préparés sous forme d'une émulsion telle que décrite ci-après.

L'émulsion comprenant un composé selon l'invention et de la phosphatidylcholine (PC) est préparée selon le protocole de Spooner et al. (Spooner, Clark et al. 1988). Le composé selon l'invention est mélangé à la PC selon un rapport 4:1 (w/w) dans du chloroforme, la mixture est séchée sous azote, puis évaporée toute la nuit sous vide, la poudre qui en résulte est reprise par 0,16 M de KCl contenant 0,01 M d'EDTA puis les particules lipidiques sont dispersées par ultra-sons pendant 30 minutes à 37°C. Les liposomes formés sont ensuite séparés par ultracentrifugation (ultracentrifugeuse XL 80, Beckman Coulter, Villepinte, France) à 25000 tr/m pendant 45 minutes pour récupérer les liposomes dont la taille est supérieure à 100 nm et se rapproche de celle des chylomicrons. Des liposomes constitués uniquement de PC sont préparés en parallèle pour servir de témoin négatif.

La composition des liposomes en composé selon l'invention est estimée en utilisant le kit de dosage enzymocolorimétrique des triglycérides. Le dosage est effectué contre une gamme standard, préparée grâce au calibrateur des lipides CFAS Réf. N° 759350 (Boehringer Mannheim GmbH, Allemagne). La gamme standard a été construite de 16 à 500 µg/ml. 100 µl de chaque dilution d'échantillon ou de gamme étalon sont déposés par puits d'une plaque de titration (96 puits). Ensuite 200 µl de réactifs triglycérides Réf. 701912 (Boehringer Mannheim GmbH, Allemagne) sont rajoutés dans chaque puits, et l'ensemble de la plaque est incubé pendant 30 min. à 37°C. La lecture des Densités Optiques (DO) est effectuée à 492 nm sur le spectrophotomètre. Les concentrations en triglycérides de chaque échantillon sont calculées après

construction de la courbe étalon selon une fonction linéaire y=ax+b, où y représente les DO et x les concentrations en triglycérides.

Les liposomes contenant les composés selon l'invention, ainsi préparés sont utilisés dans les expériences *in vitro* décrites dans les exemples 9, 10 et 11.

Exemple 8 : Evaluation des propriétés antioxydantes des composés selon l'invention

A-/Protection de l'oxydation des LDL par le cuivre ou le dichlorhydrate d'azobis (2-amidinopropane) (AAPH) :

L'oxydation des LDL est une modification importante et joue un rôle prépondérant dans la mise en place et le développement de l'athérosclérose (Jurgens, Hoff et al. 1987). Le protocole suivant permet la mise en évidence des propriétés antioxydantes des composés. Sauf mention différente, les réactifs proviennent de chez Sigma (St Quentin, France).
Les LDL sont préparés suivant la méthode décrite par Lebeau et al. (Lebeau, Furman et al. 2000).
Les solutions de composés à tester sont préparées à 10^{-2} M dans de l'éthanol et diluées dans du PBS pour avoir des concentrations finales allant de 0,1 à 100 µM pour une concentration totale d'éthanol de 1% (v/v).

Avant l'oxydation, l'EDTA est retiré de la préparation de LDL par dialyse. L'oxydation a ensuite lieu à 30°C en ajoutant 100 µl d'une solution à 16,6 µM de CuSO4 ou de 2 mM de AAPH à 800 µL de LDL (125 µg de protéines/ml) et 100 µl d'une solution du composé à tester. La formation de diènes, l'espèce à observer, se mesure par densité optique à 234 nm dans les échantillons traités avec les composés en présence ou en absence de cuivre (ou AAPH). La mesure de la densité optique à 234 nm est réalisée toutes les 10 minutes pendant 8 heures à l'aide d'un spectrophotomètre thermostaté (Kontron Uvikon 930). Les analyses sont réalisées en triplicata. Nous considérons que les composés ont une activité antioxydante lorsqu'ils induisent un décalage de phase par rapport à

l'échantillon témoin. Les inventeurs mettent en évidence que les composés selon l'invention retardent l'oxydation des LDL (induite par le cuivre), ceci indiquant que les composés selon l'invention possèdent un caractère antioxydant intrinsèque. Un exemple de résultats obtenus avec des composés selon l'invention est présenté dans la figure 2.

Sur la figure 2-a, on peut observer que l'incubation des LDL avec les composés selon l'invention, retarde la formation de diènes conjugués. La Lag-Phase est de 104 minutes pour le cuivre seul alors que le délai d'apparition des diènes conjugués atteint 282 minutes lorsque les LDL sont incubés avec le composé selon l'invention Ex 4g (composé selon l'invention décrit à l'exemple 4g ci-dessus) à 10^{-4} M. Le composé selon l'invention Ex 4a décale également la Lag-Phase à 270 minutes. Ces deux composés induisent une augmentation de la lag phase respectivement de 170 et 160%. Les composés Ex 4h, 4q, 4o et 2a permettent un décalage de la lag-phase, correspondant respectivement à 43, 54, 37, 67% d'augmentation. Le retard de formation de diènes conjugués est caractéristique des produits antioxydants. Les composés selon l'invention Ex 4g et 4a sont ceux qui possèdent les propriétés antioxydantes intrinsèques les plus significatives.

La figure 2-b montre que l'incubation des composés selon l'invention avec les LDL en présence de cuivre ralentit la vitesse de formation des diènes conjugués. La vitesse de formation des diènes conjugués est de 3 nmol/min/mg de LDL avec le cuivre seul, cette vitesse est réduite à 1 nmol/min/mg de LDL avec le composé Ex 4a à 10^{-4} M, ce qui correspond à une diminution de 66% de la vitesse d'oxydation. Les composés selon l'invention Ex 4h et Ex 4g ralentissent également la vitesse d'oxydation des LDL qui est alors respectivement de 2,5 et de 1,8 nmol/min/mg de LDL. L'incubation des LDL avec les composés selon l'invention Ex 4q, 4o et 2a ne modifie pas de manière significative la vitesse d'oxydation des LDL.

Les composés selon l'invention Ex 4a, 4g et 4h possèdent des propriétés antioxydantes intrinsèques et favorisent également le ralentissement de la vitesse d'oxydation des LDL par le cuivre.

La figure 2-c montre que l'incubation des LDL avec le cuivre entraîne la formation de 496 nmol/mg de LDL de diènes conjugués. L'incubation avec le

composé Ex 4a (10^{-4} M) entraîne une diminution de 60% de la quantité maximale de dienes conjugués formés. Les composés Ex 4g et 4h (10^{-4} M) limitent également la formation de dienes conjugués. L'incubation des LDL avec ces composés diminue respectivement de 31 et 24% la quantité maximum de dienes formés.

B-/Evaluation de la protection conférée par les composés selon l'invention vis-à-vis de la peroxydation lipidique :

Les composés selon l'invention testés sont les composés dont la préparation est décrite dans les exemples décrits ci-dessus.

La mesure de l'oxydation des LDL est réalisée par la méthode des TBARS.

Selon le même principe que celui décrit précédemment, les LDL sont oxydés avec du CuSO4 et la peroxydation lipidique est déterminée de la manière suivante :

Les TBARS sont mesurés à l'aide d'une méthode spectrophotométrique, l'hydroperoxydation lipidique est mesurée en utilisant l'oxydation peroxyde-lipide dépendante de l'iodure en iode. Les résultats sont exprimés en nmol de malonodialdehyde (MDA) ou en nmol d'hydroperoxyde/mg de protéines.

Les résultats obtenus précédemment, en mesurant l'inhibition de la formation de dienes conjugués, sont confirmés par les expériences de mesure de peroxydation lipidique des LDL. Les composés selon l'invention, protègent donc également de manière efficace les LDL contre la peroxydation lipidique induite par le cuivre (agent oxydant).

Exemple 9 : Mesure des propriétés antioxydantes des composés selon l'invention sur des cultures de cellules

A-/Protocole de culture :

Les lignées cellulaires utilisées pour ce type d'expériences sont de type neuronales, neuroblastomes (humains) et cellules PC12 (rat). Les cellules PC12 ont été préparées à partir d'un pheochromocytome de rat et sont caractérisées

par Greene et Tischler (Greene and Tischler 1976). Ces cellules sont couramment utilisées pour des études de différenciation neuronale, transduction du signal et mort neuronale. Les cellules PC12 sont cultivées comme précédemment décrit (Farinelli, Park et al. 1996), dans du milieu complet RPMI (Invitrogen) complémenté avec 10% de sérum de cheval et 5% de sérum de veau fœtal.

Des cultures (primaires) de cellules endothéliales et de muscles lisses sont également utilisées. Les cellules sont commandées chez Promocell (Promocell GmBH, Heidelberg) et sont cultivées selon les indications du fournisseur.

Les cellules sont traitées avec différentes doses de composés de 5 à 300 µM pendant 24 heures. Les cellules sont alors récupérées et l'augmentation de l'expression des gènes cibles est évaluée par PCR quantitative.

B-/Mesure des ARMm :

Les ARNm sont extraits des cellules en culture traitées ou non avec les composés selon l'invention. L'extraction est réalisée à l'aide des réactifs du kit Absolutely RNA RT-PCR miniprep Kit (Stratagene, France) selon les indications du fournisseur. Les ARNm sont ensuite dosés par spectrométrie et quantifiés par RT-PCR quantitative à l'aide du kit Light Cycler Fast start DNA Master Sybr Green I kit (Roche) sur un appareil Light Cycler System (Roche, France). Des paires d'amorces spécifiques des gènes de la Super Oxyde Dismutase (SOD), de la Catalase et de la Glutathion Peroxydase (GPx), enzymes anti-oxydantes, sont utilisées comme sondes. Des paires d'amorces spécifiques des gènes b-actine et cyclophiline sont utilisées comme sondes témoin.

L'augmentation de l'expression des ARNm, mesurée par RT-PCR quantitative, des gènes des enzymes antioxydantes est mise en évidence dans les différents types cellulaires utilisés, lorsque les cellules sont traitées avec les composés selon l'invention.

C-/Contrôle du stress oxydatif :

Mesure des espèces oxydantes dans les cellules en culture :

Les propriétés antioxydantes des composés sont également évaluées à l'aide d'un indicateur fluorescent dont l'oxydation est suivie par l'apparition d'un signal

fluorescent. La diminution d'intensité du signal fluorescent émis est mesurée dans les cellules traitées avec les composés de la manière suivante : les cellules PC12 cultivées comme précédemment décrit (plaque noire 96 puits fonds transparent, Falcon) sont incubées avec des doses croissantes de H_2O_2 (0,25 mM – 1 mM) dans du milieu sans sérum pendant 2 et 24 heures. Après l'incubation, le milieu est enlevé et les cellules sont incubées avec une solution de diacétate de dichlorodihydrofluorescéine (DCFDA, Molecular Probes, Eugene, USA) 10 µM dans du PBS pendant 30 min à 37°C et dans une atmosphère contenant 5% de CO_2. Les cellules sont ensuite rincées avec du PBS. La détection de la fluorescence émise par l'indicateur de l'oxydation est mesurée à l'aide d'un fluorimètre (Tecan Ultra 384) à une longueur d'onde d'excitation de 495 nm et une longueur d'onde d'émission de 535 nm. Les résultats sont exprimés en pourcentage de protection par rapport au témoin oxydé.

L'intensité de fluorescence est plus faible dans les cellules incubées avec les composés selon l'invention que dans les cellules non traitées. Ces résultats indiquent que les composés selon l'invention favorisent l'inhibition de la production d'espèces oxydantes dans des cellules soumises à un stress oxydatif. Les propriétés antioxydantes décrites précédemment sont également efficaces pour induire une protection antiradicalaire dans des cellules en culture.

D-/Mesure de la peroxydation lipidique :

Les différentes lignées cellulaires (modèles cellulaires cités précédemment) ainsi que les cellules en culture primaire sont traitées comme précédemment. Le surnageant des cellules est récupéré après le traitement et les cellules sont lysées et récupérées pour la détermination de la concentration protéique. La détection de la peroxydation lipidique est déterminée de la manière suivante : la peroxydation lipidique est mesurée à l'aide d'acide thiobarbiturique (TBA) qui réagit avec la lipoperoxydation des aldéhydes tel que le malonodialdéhyde (MDA). Après les traitements, le surnageant des cellules est collecté (900 µl) et 90 µl d'hydroxytoluène butylé y sont ajoutés (Morliere, Moysan et al. 1991). 1 ml d'une solution de TBA à 0,375% dans 0,25M Carbonate de potassium contenant 15% d'acide trichloroacétique est également ajouté aux milieux réactionnels. Le

mélange est chauffé à 80°C pendant 15 min, refroidi sur glace et la phase organique est extraite avec du butanol. L'analyse de la phase organique se fait par spectrofluorométrie (?exc=515 nm et ?em=550 nm) à l'aide du spectrofluorimètre Shimazu 1501 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japon). Les TBARS sont exprimés en équivalents MDA en utilisant comme standard le tétraéthoxypropane. Les résultats sont normalisés par rapport au contenu en protéines.

La diminution de la peroxydation lipidique observée dans les cellules traitées avec les composés selon l'invention confirme les résultats obtenus précédemment.

Les composés selon l'invention présentent avantageusement des propriétés antioxydantes intrinsèques qui permettent de ralentir et/ou d'inhiber les effets d'un stress oxydatif. Les inventeurs montrent également que les composés selon l'invention sont capables d'induire l'expression des gènes d'enzymes antioxydantes. Ces caractéristiques particulières des composés selon l'invention permettent aux cellules de lutter plus efficacement contre le stress oxydatif et donc d'être protégées vis à vis des dommages induits par les radicaux libres.

Exemple 10 : Evaluation de l'activation des PPARs in vitro par les composés selon l'invention

Les récepteurs nucléaires membres de la sous-famille des PPARs qui sont activés par deux classes majeures de composés pharmaceutiques, les fibrates et les glitazones, abondamment utilisées en clinique humaine pour le traitement des dyslipidémies et du diabète, jouent un rôle important dans l'homéostasie lipidique et glucidique. Les données expérimentales suivantes montrent que les composés selon l'invention activent PPARα in vitro.

L'activation des PPARs est évaluée in vitro dans des lignées de type fibroblastique RK13 ou dans une lignée hépatocytaire HepG2, par la mesure de l'activité transcriptionnelle de chimères constituées du domaine de liaison à l'ADN du facteur de transcription Gal4 de levure et du domaine de liaison du

ligand des différents PPARs. L'exemple présenté ci-dessous est donné pour les cellules HepG2.

A-/Protocoles de culture

Les cellules HepG2 proviennent de l'ECACC (Porton Down, UK) et sont cultivées dans du milieu DMEM supplémenté de 10% vol/vol sérum de veau foetal, 100 U/ml pénicilline (Gibco, Paisley, UK) et 2 mM L-Glutamine (Gibco, Paisley, UK). Le milieu de culture est changé tous les deux jours. Les cellules sont conservées à 37°C dans une atmosphère humide contenant 5% de CO2 et 95% d'air.

B-/Description des plasmides utilisés en transfection

Les plasmides pG5TkpGL3, pRL-CMV, pGal4-hPPARα, pGal4-hPPARγ et pGal4-f ont été décrits par Raspe et al. (Raspe, Madsen et al. 1999). Les constructions pGal4-mPPARα et pGal4-hPPARβ ont été obtenues par clonage dans le vecteur pGal4-f de fragments d'ADN amplifiés par PCR correspondants aux domaines DEF des récepteurs nucléaires PPARα de souris et PPARβ humain respectivement.

C-/Transfection

Les cellules HepG2 sont ensemencées dans des boîtes de culture de 24 puits à raison de $5x10^4$ cellules/puit et sont transfectées pendant 2 heures avec le plasmide rapporteur pG5TkpGL3 (50 ng/puit), les vecteurs d'expression pGal4-f, pGal4-mPPARα, pGal4-hPPARα, pGal4-hPPARγ, pGal4-hPPARβ (100 ng/puit) et le vecteur de contrôle de l'efficacité de transfection pRL-CMV (1 ng/puit) suivant le protocole décrit précédemment (Raspe, Madsen et al. 1999) et incubées pendant 36 heures avec les composés testés. A l'issue de l'expérience, les cellules sont lysées (Gibco, Paisley, UK) et les activités luciférase sont déterminées à l'aide du kit de dosage Dual-Luciferase™ Reporter Assay System (Promega, Madison, WI, USA) selon la notice du fournisseur. Le contenu en protéines des extraits cellulaires est ensuite évalué à l'aide du kit de

dosage Bio-Rad Protein Assay (Bio-Rad, München, Allemagne) selon la notice du fournisseur.

Les inventeurs mettent en évidence une augmentation de l'activité luciférase dans les cellules traitées avec les composés selon l'invention et transfectées avec le plasmide pGal4-hPPARα. Cette induction de l'activité luciférase indique que les composés selon l'invention, sont des activateurs de PPARα. Un exemple de résultats obtenus avec des composés selon l'invention est présenté dans la figure 3.

Figure 3 : les cellules HepG2, transfectées avec les plasmides du système Gal4/PPARα, sont incubées avec différentes concentrations des composés selon l'invention (5, 15, 50 et 100 µM) pendant 24h ainsi qu'avec différentes concentrations de véhicule (PC). Les résultats sont représentés par le facteur d'induction (signal luminescent par rapport aux cellules non traitées) en fonction des différents traitements. Plus le facteur d'induction est élevé, meilleure est la propriété d'agoniste pour PPARα. Les résultats montrent que le composé selon l'invention Ex 2a favorise l'induction du signal luminescent d'un facteur maximal de 62 à 100 µM, de 41 à 50 µM, de 31 à 15 µM et de 17 à 5 µM. Le composé selon l'invention Ex 4a induit également une augmentation du facteur d'induction avec un effet dose de 41 à 100µM, 30 à 50µM, 18 à 15µM et 9 à 5µM. Le composé selon l'invention Ex 4p induit aussi une augmentation du signal luminescent, révélateur d'une activité sur le récepteur nucléaire PPARα. Les facteurs d'induction pour le composé Ex 4p sont de 35 à 100 µM, 44 à 50 µM, 36 à 15 µM et 24 à 5 µM. En revanche lorsque les cellules sont incubées avec le véhicule (liposome de PC), aucune induction significative n'est observée.

Ces résultats montrent que les composés selon l'invention testés possèdent, de manière significative, la propriété de ligand vis à vis de PPARα et permettent aussi son activation au niveau transcriptionnel.

Exemple 11 : Evaluation des propriétés anti-inflammatoires des composés selon l'invention

La réponse inflammatoire apparaît dans de nombreux désordres neurologiques, comme les ischémies cérébrales. De plus l'inflammation est l'un des facteurs importants de la neurodégénérescence. Lors d'accidents cérébraux, une des premières réactions des cellules de la glie est de libérer des cytokines et des radicaux libres. La conséquence de cette libération de cytokines et de radicaux libres est une réponse inflammatoire au niveau cérébral et qui peut mener à la mort des neurones (Rothwell 1997).

Les lignées cellulaires et les cellules primaires sont cultivées comme décrit précédemment.

Le lipopolysaccharide (LPS), endotoxine bactérienne (Escherichia coli 0111 :B4) (Sigma, France) est reconstitué dans de l'eau distillée et conservé à 4°C. Les cellules sont traitées avec une concentration de LPS de 1 µg/ml pendant 24 heures. Pour éviter toutes interférences avec d'autres facteurs, le milieu de culture des cellules est totalement changé.

Le TNF-α est un facteur important de la réponse inflammatoire à un stress (oxydant par exemple). Pour évaluer la sécrétion de TNF-α en réponse à une stimulation par des doses croissantes de LPS, le milieu de culture des cellules stimulées est prélevé et la quantité de TNF-α est évaluée avec un kit ELISA-TNF-α (Immunotech, France). Les échantillons sont dilués 50 fois afin d'être en adéquation avec la gamme étalon (Chang, Hudson et al. 2000).

La propriété anti-inflammatoire des composés est caractérisée de la manière suivante : le milieu de culture des cellules est totalement changé et les cellules sont incubées avec les composés à tester pendant 2 heures. Après cette incubation, du LPS est rajouté au milieu de culture à une concentration finale de 1 µg/ml. Après 24 heures d'incubation, le surnageant des cellules est récupéré et stocké à -80°C lorsqu'il n'est pas traité directement. Les cellules sont lysées et la quantité de protéines est mesurée, à l'aide du kit de dosage Bio-Rad Protein Assay (Bio-Rad, München, Allemagne) selon la notice du fournisseur.

La mesure de la diminution de sécrétion de TNF-α favorisée par le traitement avec les composés testés est exprimée en pg/ml/µg de protéine et rapportée en pourcentage par rapport au témoin. Ces résultats montrent que les composés selon l'invention possèdent des propriétés anti-inflammatoires.

Exemple 12 : Evaluation des effets neuro-protecteurs des composés selon l'invention dans un modèle d'ischémie-reperfusion cérébral

A-/Modèle Prophylactique :

1/ Traitement des animaux

1.1 Animaux et administration des composés

Des rats Wistar de 200 à 350 g ont été utilisés pour cette expérience.

Les animaux sont maintenus sous un cycle lumière/obscurité de 12 h à une température de 20 +/- 3°C. Les animaux ont un accès libre à l'eau et à la nourriture. La prise de nourriture et la prise de poids sont enregistrées.

Les animaux sont traités par gavage avec les composés selon l'invention (600 mg/kg/jour) suspendus dans un véhicule ((carboxyméthylcellulose 0,5% (CMC) et Tween 0,1%) ou traités avec le véhicule susmentionné, pendant 14 jours avant l'induction de l'ischémie par occlusion de l'artère cérébrale moyenne.

La carboxyméthylcellulose utilisée est un sel de sodium de carboxyméthylcellulose de viscosité moyenne (Ref. C4888, Sigma-aldrich, France). Le Tween utilisé est le Polyoxyethylenesorbitan Monooleate (Tween 80, Ref. P8074, Sigma-aldrich, France)

1.2 Induction d'une ischémie-reperfusion par occlusion intraluminale de l'artère moyenne cérébrale :

Les animaux ont été anesthésiés à l'aide d'une injection intra-péritonéale de 300 mg/kg d'hydrate de chloral. Une sonde rectale est mise en place et la température du corps est maintenue à 37 +/- 0,5°C. La pression artérielle est mesurée au cours de toute l'expérience.

Sous un microscope chirurgical, la carotide droite est mise à jour à l'aide d'une incision cervicale médiale. L'artère ptérygopalatine a été ligaturée à son origine

et une artériotomie est réalisée dans l'artère carotide externe afin d'y glisser un mono-filament de nylon. Ce filament est alors doucement avancé dans l'artère carotide commune puis dans l'artère carotide interne afin d'obturer l'origine de l'artère cérébrale moyenne. Après 1 heure, le filament est retiré pour permettre la reperfusion.

2/ Mesure du volume de l'infarctus cérébral :

24 heures après la reperfusion, les animaux préalablement traités ou non traités avec les composés selon l'invention sont tués par une overdose de pentobarbital.

Les cerveaux sont rapidement congelés et sectionnés. Les sections sont colorées au violet Cresyl. Les zones non colorées des sections cérébrales ont été considérées comme lésées par l'infarctus. Les aires (de l'infarctus et des deux hémisphères) ont été mesurées, les volumes de l'infarctus et des deux hémisphères ont été calculés et le volume de l'infarctus corrigé a été calculé par la formule suivante (Volume de l'infarctus corrigé = Volume de l'infarctus - (volume de l'hémisphère droit - volume de l'hémisphère gauche)) pour compenser l'œdème cérébral.

L'analyse des coupes de cerveaux d'animaux traités avec les composés selon l'invention révèle une nette diminution du volume de l'infarctus par rapport aux animaux non traités. Lorsque les composés selon l'invention sont administrés aux animaux avant l'ischémie (effet prophylactique), ils sont capables d'induire une neuroprotection.

Un exemple de résultats obtenus avec un composé selon l'invention est présenté dans les figures 4-a et 4-b.

Les résultats de la figure 4-a indiquent que le volume corrigé de l'infarctus total (taille de la lésion après ischémie) est de 186 mm^3. Lorsque les animaux sont traités par voie orale avec le composé Ex 4a (composé selon l'invention décrit à l'exemple 4a), pendant 14 jours avant l'ischémie expérimentale, à 2 fois 300 mg/kg/j, la taille de la lésion est diminuée de 22% (145 mm^3) par rapport à celle des animaux contrôles.

Les résultats de la figure 4-b représentant des infarctus non corrigés indiquent que le caractère curatif et neuroprotecteur du composé selon l'invention Ex 4a observé au niveau de l'infarctus total est composé d'un effet neuroprotecteur au niveau de l'infarctus cortical (22 % de diminution des lésions) mais sans effet au niveau de l'infarctus striatal (pas de diminution significative des lésions).

3/ Mesure de l'activité des enzymes anti-oxydantes :

Les cerveaux des rats sont congelés, écrasés et réduits en poudre puis re-suspendus dans une solution saline. Les différentes activités enzymatiques sont ensuite mesurées comme décrit par les auteurs suivants : superoxide dismutase (Flohe and Otting 1984); glutathion peroxidase (Paglia and Valentine 1967); glutathion reductase (Spooner, Delides et al. 1981); glutathion-S-transferase (Habig and Jakoby 1981); catalase (Aebi 1984).

Les différentes activités enzymatiques mentionnées ci-dessus sont augmentées dans les préparations de cerveaux des animaux traités avec les composés selon l'invention.

B-/Modèle curatif ou traitement de la phase aiguë :

1/ Induction d'une ischémie-reperfusion par occlusion intraluminale de l'artère moyenne cérébrale.

Des animaux tels que décrits précédemment sont utilisés pour cette expérience. Les animaux sont anesthésiés à l'aide d'une injection intra-péritonéale de 300 mg/kg d'hydrate de chloral. Une sonde rectale est mise en place et la température du corps est maintenue à 37 +/- 0,5°C. La pression artérielle est mesurée au cours de toute l'expérience.

Sous un microscope chirurgical, la carotide droite est mise à jour à l'aide d'une incision cervicale médiale. L'artère ptérygopalatine a été ligaturée à son origine et une artériotomie est réalisée dans l'artère carotide externe afin d'y glisser un mono-filament de nylon. Ce filament est ensuite doucement avancé dans l'artère carotide commune puis dans l'artère carotide interne afin d'obturer l'origine de l'artère cérébrale moyenne. Après 1 heure, le filament est retiré pour permettre la reperfusion.

2/ Traitement des animaux :

Les animaux ayant subi une ischémie-reperfusion préalable sont traités par les composés selon l'invention par voie orale (tel que déjà décrit dans un véhicule CMC + Tween) une ou plusieurs fois après la reperfusion (600 mg/kg/j ou 2 administrations de 300 mg/kg/j).

3/ Mesure du volume de l'infarctus cérébral :

24, 48 ou 72 heures après la reperfusion, les animaux préalablement traités ou non traités avec les composés selon l'invention sont tués par une overdose de pentobarbital.

Les cerveaux sont rapidement congelés et sectionnés. Les sections sont colorées au violet Cresyl. Les zones non colorées des sections cérébrales ont été considérées comme lésées par l'infarctus. Les aires (de l'infarctus et des deux hémisphères) ont été mesurées, les volumes de l'infarctus et des deux hémisphères ont été calculés et le volume de l'infarctus corrigé a été calculé par la formule suivante (Volume de l'infarctus corrigé = Volume de l'infarctus - (volume de l'hémisphère droit - volume de l'hémisphère gauche)) pour compenser l'œdème cérébral.

Dans les cas d'un traitement curatif (traitement de la phase aiguë), les animaux traités avec les composés selon l'invention ont des dommages au niveau cérébral réduit par rapport aux animaux non traités. En effet le volume de l'infarctus est diminué lorsque les composés selon l'invention sont administrés une ou plusieurs fois après l'ischémie-reperfusion. Un exemple de résultats obtenus avec un composé selon l'invention est présenté dans les figures 4-c à4-f.

Les résultats de la figure 4-c montrent que les animaux traités (600 mg/kg/j), avec le composé selon l'invention Ex 4a, pendant 24 heures après l'ischémie développent des lésions dont la taille est réduite de 27% par rapport aux animaux contrôles (volume de l'infarctus 132 mm^3 pour les traités contre 180 mm^3 pour les contrôles).

Les résultats de la figure 4-d représentant des infarctus non corrigés indiquent que le caractère curatif et neuroprotecteur du composé selon l'invention Ex 4a

observé au niveau de l'infarctus total est composé d'un effet neuroprotecteur au niveau de l'infarctus cortical (25 % de diminution des lésions) mais sans effet au niveau de l'infarctus striatal (pas de diminution significative des lésions).

Les résultats de la figure 4-e montrent que les animaux traités (600 mg/kg/j), avec le composé selon l'invention Ex 4a, pendant 72 heures après l'ischémie développent des lésions dont la taille est réduite de 40% par rapport aux animaux contrôles (volume de l'infarctus corrigé : 110 mm^3 pour les traités contre 180 mm^3 pour les contrôles).

Les résultats de la figure 4-f représentant des infarctus non corrigés indiquent que le caractère curatif et neuroprotecteur du composé selon l'invention Ex 4a observé au niveau de l'infarctus total est composé d'un effet neuroprotecteur au niveau de l'infarctus cortical (32 % de diminution des lésions) mais également au niveau de l'infarctus striatal (23% de diminution des lésions).

L'utilisation des composés selon l'invention, dans différents modèles expérimentaux, montre que ces composés possèdent une activité antioxydante intrinsèque, capable de retarder et de réduire les effets d'un stress oxydatif. De plus, ils induisent l'expression des gènes des enzymes antioxydantes, ce qui associé à leur caractère antioxydant permet de renforcer les protections anti-radicalaires. Par ailleurs, les composés selon l'invention possèdent un pouvoir anti-inflammatoire et la propriété d'activer le récepteur nucléaire PPARα.

Enfin, l'utilisation des composés selon l'invention dans un modèle d'ischémie reperfusion chez l'animal montre l'effet bénéfique sur la neuroprotection aussi bien avec un traitement préventif que curatif.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Adams, H. P., Jr. (2002). "Emergent use of anticoagulation for treatment of patients with ischemic stroke." Stroke **33**(3): 856-61.

Aebi, H. (1984). "Catalase in vitro." Methods Enzymol **105**: 121-6.

Aveta, R., A. Brandt, et al. (1986). "Syntheses of 2-mercapto- and 2-alkylthio-1,3-propanediol derivatives." Gazz Chim Ital **116**(11): 649-652.

Bodai, Novak, et al. (1999). "Synthesis and lipase-catalyzed enantiope slective acetylation of 2-benzoyloxy-1,3-propanediol." Synlett **6**: 759-761.

Bordet, R., D. Deplanque, et al. (2000). "Increase in endogenous brain superoxide dismutase as a potential mechanism of lipopolysaccharide-induced brain ischemic tolerance." J Cereb Blood Flow Metab **20**(8): 1190-6.

Chang, R. C., P. Hudson, et al. (2000). "Influence of neurons on lipopolysaccharide-stimulated production of nitric oxide and tumor necrosis factor-alpha by cultured glia." Brain Res **853**(2): 236-44.

Clark, R. B. (2002). "The role of PPARs in inflammation and immunity." J Leukoc Biol **71**(3): 388-400.

Daniher, A. and J. Bashkin (1998). "Precise control of RNA cleavage by ribozyme mimics." Chem Commun **10**: 1077-1078.

Daubert, Spiegl, et al. (1943). "Unsaturated synthetic glycerides. II. Unsymmetrical dioleo-monosaturated triglycerides." J Am Chem Soc **65**: 2145.

Dirnagl, U., C. Iadecola, et al. (1999). "Pathobiology of ischaemic stroke: an integrated view." Trends Neurosci **22**(9): 391-7.

Farinelli, S. E., D. S. Park, et al. (1996). "Nitric oxide delays the death of trophic factor-deprived PC12 cells and sympathetic neurons by a cGMP-mediated mechanism." J Neurosci **16**(7): 2325-34.

Feuge, R. O., A. T. Gros, et al. (1953). "Modification of vegetable oils. XIV. Properties of aceto-oleins." J Am Oil Chem Soc **30**: 320-325.

Feuge, R. O. and N. V. Lovegren (1956). "Dilatometric properties of some butyropalmitins, butyrostearins, and acetopalmitins." J Am Oil Chem Soc **33**: 367-372.

Flohe, L. and F. Otting (1984). "Superoxide dismutase assays." Methods Enzymol **105**: 93-104.

Fruchart, J. C., B. Staels, et al. (2001). "PPARS, metabolic disease and atherosclerosis." Pharmacol Res **44**(5): 345-52.

Gaffney, P. R. J. and C. B. Reese (1997). "Preparation of 2-O-arachidonoyl-1-O-stearoyl-sn-glycerol and other di-O-acyl glycerol derivatives." Tetrahedron Lett **38**(14): 2539-2542.

Gangadhar, A., R. Subbarao, et al. (1989). "A facile synthesis of 1(3)-acylglycerols." Synth. Commun. **19**: 2505-2514.

Gilgun-Sherki, Y., E. Melamed, et al. (2001). "Oxidative stress induced-neurodegenerative diseases: the need for antioxidants that penetrate the blood brain barrier." Neuropharmacology **40**(8): 959-75.

Greene, L. A. and A. S. Tischler (1976). "Establishment of a noradrenergic clonal line of rat adrenal pheochromocytoma cells which respond to nerve growth factor." Proc Natl Acad Sci U S A **73**(7): 2424-8.

Gronowitz, S., B. Herslöf, et al. (1978). "Syntheses and chroptical properties of some derivatives of 1-thioglycerol." Chem Phys Lipids **22**: 307-320.

Habig, W. H. and W. B. Jakoby (1981). "Assays for differentiation of glutathione S-transferases." Methods Enzymol **77**: 398-405.

Han, S. Y., S. H. Cho, et al. (1999). "Monoacetyldiglycerides as new Ca2+ mobilizing agents in rat pancreatic acinar cells." Bioorg Med Chem Lett **9**(1): 59-64.

Harada, H., T. Morie, et al. (1996). "An efficient synthesis of 6-substituted aminohexahydro-1H-1,4-diazepines from 2-substituted aminopropenals." Chem Pharm Bull **44**(12): 2205-2212.

Jurgens, G., H. F. Hoff, et al. (1987). "Modification of human serum low density lipoprotein by oxidation-- characterization and pathophysiological implications." Chem Phys Lipids **45**(2-4): 315-36.

Kainu, T., A. C. Wikstrom, et al. (1994). "Localization of the peroxisome proliferator-activated receptor in the brain." Neuroreport **5**(18): 2481-5.

Katoch, R., G. K. Trivedi, et al. (1999). "1-[2-Hydroxy-3-octadecan-1'-oate]propyl-2",2",5",5"-tetramethyl pyrolidine-N-oxyl-3"-carboxylate as a potential spin probe for membrane structure studies." Bioorg Med Chem **7**(12): 2753-8.

Khanolkar, A. D., V. Abadji, et al. (1996). "Head group analogs of arachidonylethanolamide, the endogenous cannabinoid ligand." J Med Chem **39**(22): 4515-9.

Kurfürst, R., V. Roig, et al. (1993). "Oligo-a-deoxyribonucleotides with a modifies nucleic base and covalently linked to reactive agents." Tetrahedron **49**(32): 6975-6990.

Lebeau, J., C. Furman, et al. (2000). "Antioxidant properties of di-tert-butylhydroxylated flavonoids." Free Radic Biol Med **29**(9): 900-12.

Lutsep, H. L. and W. M. Clark (2001). "Current status of neuroprotective agents in the treatment of acute ischemic stroke." Curr Neurol Neurosci Rep **1**(1): 13-8.

Mates, J. M., C. Perez-Gomez, et al. (1999). "Antioxidant enzymes and human diseases." Clin Biochem **32**(8): 595-603.

Morliere, P., A. Moysan, et al. (1991). "UVA-induced lipid peroxidation in cultured human fibroblasts." Biochim Biophys Acta **1084**(3): 261-8.

Nandagopal, K., T. M. Dawson, et al. (2001). "Critical role for nitric oxide signaling in cardiac and neuronal ischemic preconditioning and tolerance." J Pharmacol Exp Ther **297**(2): 474-8.

Paglia, D. E. and W. N. Valentine (1967). "Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase." J Lab Clin Med **70**(1): 158-69.

Paris, G. Y., D. L. Garmaise, et al. (1980). "Glycerides as prodrugs. 3. Synthesis and antiinflammatory activity of [1-(p-chlorobenzoyl)-5-methoxy-2-methylindole-3-acetyl]glycerides (indomethacin glycerides)." J Med Chem **23**(1): 9-13.

Putnam, W. and J. Bashkin (2000). "De novo synthesis of articficial ribonucleases with benign metal catalysts." Chem Commun **9**: 767-768.

Raspe, E., L. Madsen, et al. (1999). "Modulation of rat liver apolipoprotein gene expression and serum lipid levels by tetradecylthioacetic acid (TTA) via PPARalpha activation." J Lipid Res **40**(11): 2099-110.

Robinson, N. (1960). "Micellar size and surface activity of some C18 a-monoglycerides in benzene." J Pharm Pharmacol **12**: 685-689.

Rothwell, N. J. (1997). "Cytokines and acute neurodegeneration." Mol Psychiatry **2**(2): 120-1.

Scriba, G. K. (1993). "Phenytoin-lipid conjugates as potential prodrugs of phenytoin." Arch Pharm (Weinheim) **326**(8): 477-81.

Seltzman, Fleming, et al. (2000). "Facile synthesis and stabilization of 2-arachidonylglycerol via its 1,3-phenylboronate ester." Tetrahedron Lett **41**(19): 3589-3592.

Shaban, M. (1977). "Determination of the position of linkage of 2-acetamido-2-deoxy-D-galactose and 2-acetamido-2-deoxy-D-glucose residues in oligosaccharides and glycoproteins. Synthesis of 2-acetamido-2-deoxy-D-xylitol and 2-acetamido-2-deoxy-L-threitol." Carbohydr Res **59**: 213-233.

Smith, K. J., E. Dipreta, et al. (2001). "Peroxisomes in dermatology. Part II." J Cutan Med Surg **5**(4): 315-22.

Spooner, P. J., S. B. Clark, et al. (1988). "The ionization and distribution behavior of oleic acid in chylomicrons and chylomicron-like emulsion particles and the influence of serum albumin." J Biol Chem **263**(3): 1444-53.

Spooner, R. J., A. Delides, et al. (1981). "Heat stability and kinetic properties of human serum glutathione reductase activity in various disease states." Biochem Med **26**(2): 239-48.

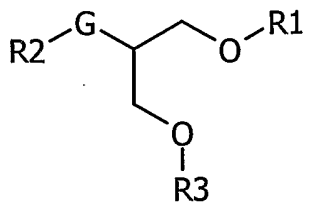
Strawn, L. M., R. E. Martell, et al. (1989). "Iodoaryl analogues of dioctanoylglycerol and 1-oleoyl-2-acetylglycerol as probes for protein kinase C." J Med Chem **32**(9): 2104-10.

Strawn, L. M., R. E. Martell, et al. (1989). "Synthesis and evaluation of iodinated analogues of diacylglycerols as potential probes for protein kinase C." J Med Chem **32**(3): 643-8.

Terradas (1993). "Marked dependence of enzyme prochiral slectivity on the solvent." J Amer Chem Soc **115**: 390-396.

REVENDICATIONS

1. Utilisation d'un composé pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à traiter une pathologie vasculaire cérébrale, le composé présentant la formule générale (I) suivante :



(I)

dans laquelle

- G représente un atome d'oxygène, un atome de soufre ou un groupe N-R4
- R4 est un atome d'hydrogène ou un groupe alkyle linéaire ou ramifié, saturé ou non, éventuellement substitué, comportant de 1 à 5 atomes de carbone,
- R1, R2 et R3, identiques ou différents, représentent un atome d'hydrogène, un groupe CO-R ou un groupe de formule $CO-(CH_2)_{2n+1}-X-R'$, l'un au moins des groupes R1, R2 et R3 est un groupe de formule $CO-(CH_2)_{2n+1}-X-R'$,
- R est un groupe alkyle linéaire ou ramifié, saturé ou non, éventuellement substitué, dont la chaîne principale comporte de 1 à 25 atomes de carbone,
- X est un atome de soufre, un atome de sélénium, un groupe SO ou un groupe SO_2,
- n est un nombre entier compris entre 0 et 11,
- R' est un groupe alkyle linéaire ou ramifié, saturé ou non, éventuellement substitué, dont la chaîne principale comporte de 2 à 23, de préférence 10 à 23, atomes de carbone et éventuellement un ou plusieurs

hétérogroupes choisis parmi un atome d'oxygène, un atome de soufre, un atome de sélénium, un groupe SO et un groupe SO_2.

2. Utilisation selon la revendication 1, dans laquelle la pathologie vasculaire cérébrale est l'ischémie cérébrale ou un accident hémorragique cérébral

3. Utilisation selon la revendication 1 ou 2, caractérisée en ce que le ou les groupes R, identiques ou différents, représentent un groupe alkyle linéaire ou ramifié, saturé ou insaturé, substitué ou non, dont la chaîne principale comporte de 1 à 20 atomes de carbone, de préférence de 7 à 17 atomes de carbone, encore plus préférentiellement 14 à 17 atomes de carbone.

4. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisée en ce que le ou les groupes R', identiques ou différents, représentent un groupe alkyle linéaire ou ramifié, saturé ou insaturé, substitué ou non, dont la chaîne principale comporte de 12 à 23 atomes de carbone, encore plus préférentiellement de 13 à 20 atomes de carbone, avantageusement de 14 à 17 atomes de carbone.

5. Utilisation selon l'une des revendications précédentes, caractérisée en ce que le ou les groupes R, identiques ou différents, sont choisis parmi C_7H_{15}, $C_{10}H_{21}$, $C_{11}H_{23}$, $C_{12}H_{25}$, $C_{13}H_{27}$, $C_{14}H_{29}$, $C_{16}H_{33}$, $C_{17}H_{35}$, $C_{15}H_{31}$, $C_{14}H_{27}$, $C_{14}H_{25}$, $C_{15}H_{29}$, $C_{17}H_{29}$, $C_{17}H_{31}$, $C_{17}H_{33}$, $C_{19}H_{29}$, $C_{19}H_{31}$, $C_{21}H_{31}$, $C_{21}H_{35}$, $C_{21}H_{37}$, $C_{21}H_{39}$, $C_{23}H_{45}$, les chaînes alkyle des acides eicosapentaènoïque (EPA) $C_{20:5}$ (5, 8, 11, 14, 17) et docosahexaènoïque (DHA) $C_{22:6}$ (4, 7, 10, 13, 16, 19), $(CH_2)_{n'}$-$CH(CH_3)C_2H_5$, $(CH=C(CH_3)(CH_2)_2)_{n''}$-$CH=C(CH_3)_2$ et $(CH_2)_{2x+1}$-$C(CH_3)_2$-$(CH_2)_{n'''}$-CH_3, x étant un nombre entier égal à ou compris entre 1 et 11, n' étant un nombre entier égal à ou compris entre 1 et 22, n'' étant un nombre entier égal à ou compris entre 1 et 5, n''' étant un nombre entier égal à ou compris entre 0 et 22 et (2x+n''') étant inférieur ou égal à 22 de préférence inférieur ou égal à 20.

6. Utilisation selon l'une des revendications précédentes, caractérisée en ce que le ou les groupes R', identiques ou différents, sont choisis parmi C_7H_{15}, $C_{10}H_{21}$, $C_{11}H_{23}$, $C_{12}H_{25}$, $C_{13}H_{27}$, $C_{14}H_{29}$, $C_{16}H_{33}$, $C_{17}H_{35}$, $C_{15}H_{31}$, $C_{20:5}$(5, 8, 11, 14,

17), $C_{22:6}$(4, 7, 10, 13, 16, 19), $C_{14}H_{27}$, $C_{14}H_{25}$, $C_{15}H_{29}$, $C_{17}H_{29}$, $C_{17}H_{31}$, $C_{17}H_{33}$, $C_{19}H_{29}$, $C_{19}H_{31}$, $C_{21}H_{31}$, $C_{21}H_{35}$, $C_{21}H_{37}$, $C_{21}H_{39}$, $C_{23}H_{45}$, $(CH_2)_{n'}$-$CH(CH_3)C_2H_5$, $(CH=C(CH_3)(CH_2)_2)_{n''}$-$CH=C(CH_3)_2$ et $(CH_2)_{2x+1}$-$C(CH_3)_2$-$(CH_2)_{n'''}$-CH_3, x étant un nombre entier égal à ou compris entre 1 et 11, n' étant un nombre entier égal à ou compris entre 1 et 22, n'' étant un nombre entier égal à ou compris entre 1 et 5, n''' étant un nombre entier égal à ou compris entre 0 et 22 et (2x+n''') étant inférieur ou égal à 22, de préférence inférieur ou égal à 20.

7. Utilisation selon l'une des revendications précédentes, caractérisée en ce que le ou les groupes R, identiques ou différents, représentent un groupe alkyle inférieur comportant de 1 à 6 atomes de carbone.

8. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que le ou les groupes R', identiques ou différents, sont des groupes alkyle saturés et linéaires comportant 14 atomes de carbone.

9. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que les groupes alkyle sont substitués par un ou plusieurs substituants, identiques ou différents choisis parmi un atome d'halogène (iode, chlore, fluor, brome) et un groupe OH, =O, NO_2, NH_2, CN, CH_2-OH, O-CH_3, CH_2OCH_3, CF_3 et COOZ dans lequel Z est un atome d'hydrogène ou un groupe alkyle comportant de 1 à 6 atomes de carbone.

10. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que X est un atome de soufre ou de sélénium, de préférence un atome de soufre.

11. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que le groupe G représente un atome d'oxygène ou un groupe N-R4 et, lorsque G est N-R4, R4 représente préférentiellement un atome d'hydrogène ou un groupe méthyle.

12. Utilisation selon l'une des revendications précédentes, caractérisée en ce que dans le groupe $CO-(CH_2)_{2n+1}-X-R'$, n est compris entre 0 et 3, plus spécifiquement compris entre 0 et 2 et est en particulier égal à 0.

13. Utilisation de formule (I) selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans laquelle au moins un des groupes R1, R2 et R3 représente un groupe $CO-(CH_2)_{2n+1}-X-R'$ dans lequel X représente un atome de sélénium ou de préférence de soufre et/ou R' est un groupe alkyle saturé et linéaire comprenant de 13 à 17 atomes de carbone, de préférence de 14 à 16, encore plus préférentiellement 14 atomes de carbone.

14. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que R2 est un groupe de formule $CO-(CH_2)_{2n+1}-X-R'$, de préférence dans laquelle X représente un atome de sélénium ou de préférence de soufre et/ou R' est un groupe alkyle saturé et linéaire comprenant de 13 à 17 atomes de carbone, plus préférentiellement dans lesquels n est égal à 0, en particulier un groupe de formule $CO-CH_2-S-C_{14}H_{29}$.

15. Utilisation selon la revendication 14, caractérisé en ce que R1 et R3, identiques ou différents, représentent un atome d'hydrogène ou un groupe CO-R.

16. Utilisation selon la revendication 15, caractérisée en ce que R1 et R3, identiques ou différents, représentent un groupe CO-R.

17. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 16, caractérisée en ce que deux des groupes R1, R2 et R3 sont des groupes $CO-(CH_2)_{2n+1}-X-R'$, identiques ou différents, de préférence dans lesquels X représente un atome de sélénium ou de préférence de soufre et/ou R' est un groupe alkyle saturé et linéaire comprenant de 13 à 17 atomes de carbone, plus préférentiellement dans lesquels n est égal à 0, en particulier des groupes $CO-CH_2-S-C_{14}H_{29}$.

18. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 16, caractérisée en ce que R1, R2 et R3, identiques ou différents, de préférence identiques, sont des groupes $CO-(CH_2)_{2n+1}-X-R'$, de préférence dans lesquels X représente un atome de sélénium ou de préférence de soufre et/ou R' est un groupe alkyle saturé et linéaire comprenant de 13 à 17 atomes de carbone, plus préférentiellement dans lesquels n est compris entre 0 et 3, et en particulier égal à 0.

19. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 17, caractérisée en ce que R1, R2 et R3 représentent des groupes $CO-CH_2-S-C_{14}H_{29}$..

20. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 17, caractérisée en ce que l'un ou deux des substituants R1, R2 ou R3 est un groupe $COCH_3$.

21. Utilisation selon l'une des revendications précédentes 1 à 10 et 12 à 20, caractérisée en ce que le groupe G représente un atome de soufre.

22. Composés de formule (I) telle que définie à la revendication 1, choisis parmi :

- 1,3-ditétradécylthioacétyl-2-palmitoylglycérol ;
- 1,3-diacétyl-2-tétradécylthioacétylglycérol ;
- 1,3-dioctanoyl-2-tétradécylthioacétylglycérol ;
- 1,3-diundécanoyl-2-tétradécylthioacétylglycérol ; et
- 1,3-ditétradécylthioacétoxy-2-(2-tétradécylthio)methylcarbonylthio-propane.

23. Composition pharmaceutique, caractérisée en ce qu'elle comprend, dans un véhicule acceptable sur le plan pharmaceutique, au moins un composé de formule générale (I) identifié à la revendication 22.

24. Composition pharmaceutique selon la revendication précédente, destinée au traitement des pathologies vasculaires cérébrales et plus particulièrement de l'ischémie cérébrale ou des accidents vasculaires cérébraux.

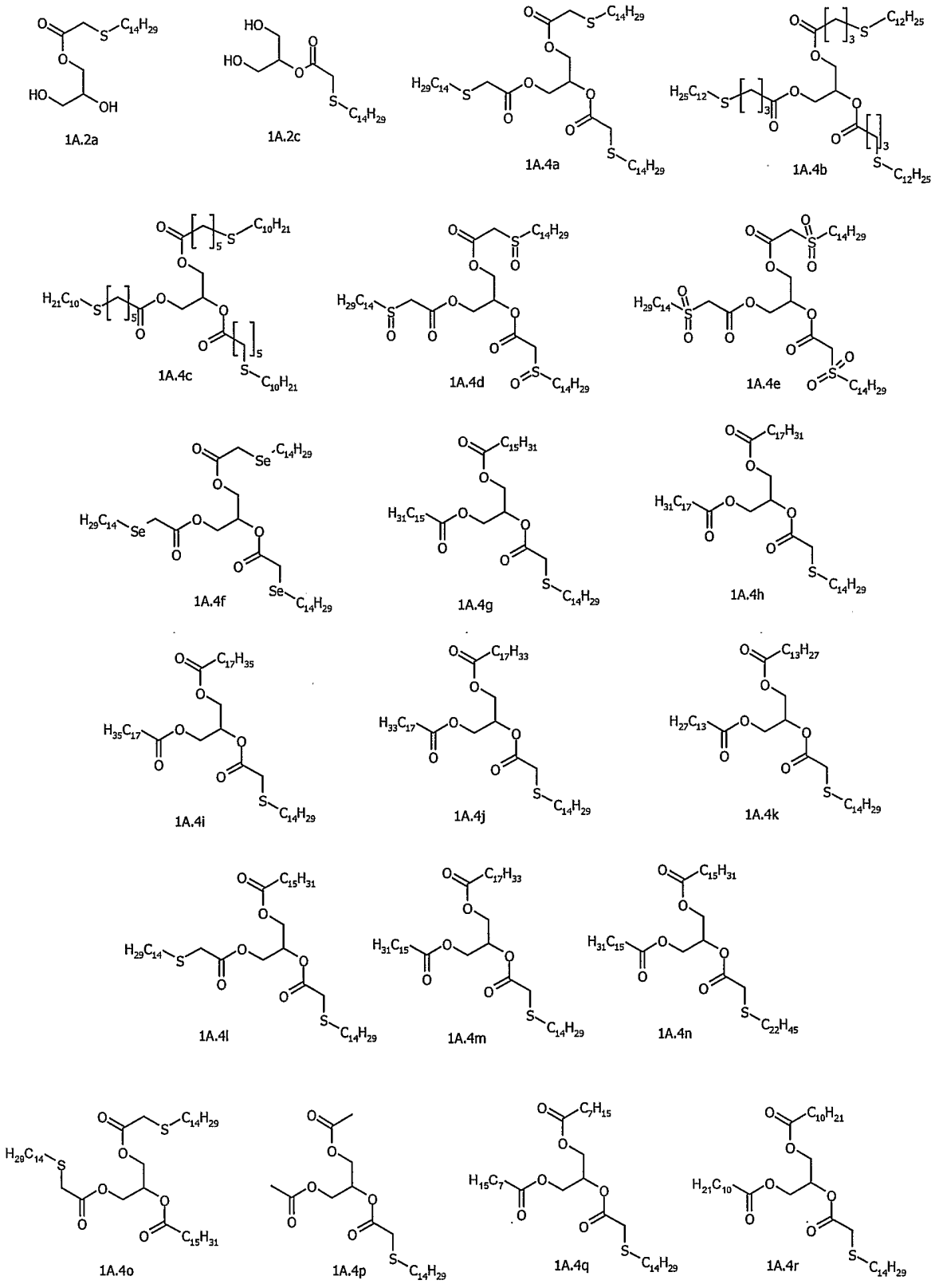

1A.2a
1A.2c
1A.4a
1A.4b
1A.4c
1A.4d
1A.4e
1A.4f
1A.4g
1A.4h
1A.4i
1A.4j
1A.4k
1A.4l
1A.4m
1A.4n
1A.4o
1A.4p
1A.4q
1A.4r

Figure 1A

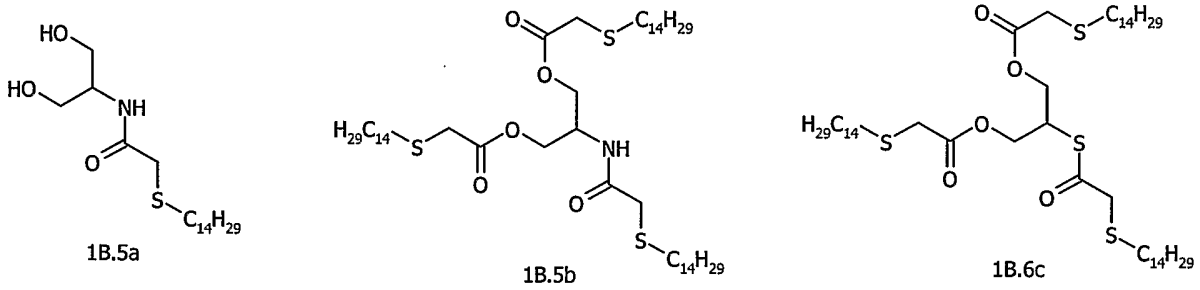

HO
HO
NH
O
S
$C_{14}H_{29}$
1B.5a
O
S
$C_{14}H_{29}$
O
$H_{29}C_{14}$
S
O
O
NH
O
S
$C_{14}H_{29}$
1B.5b
O
S
$C_{14}H_{29}$
O
$H_{29}C_{14}$
S
O
O
S
O
S
$C_{14}H_{29}$
1B.6c

Figure 1B

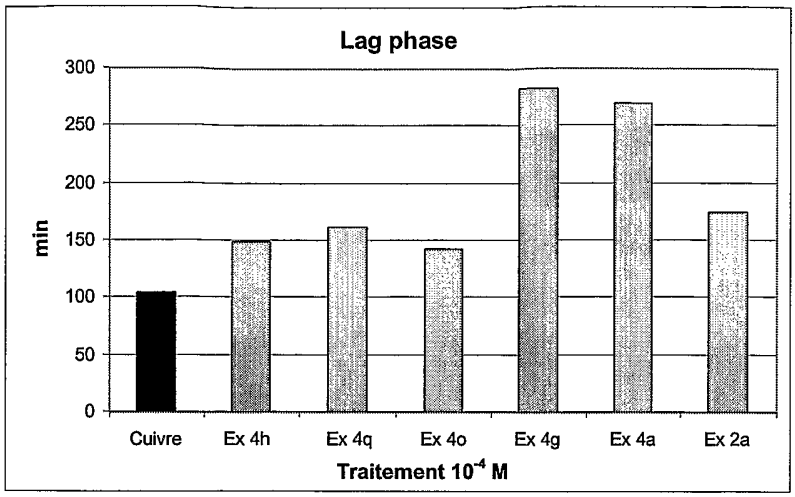


Figure 2-a

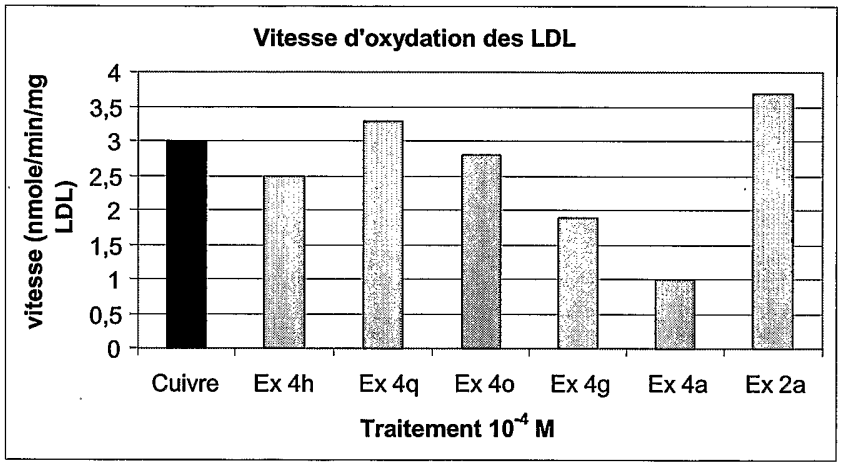


Figure 2-b

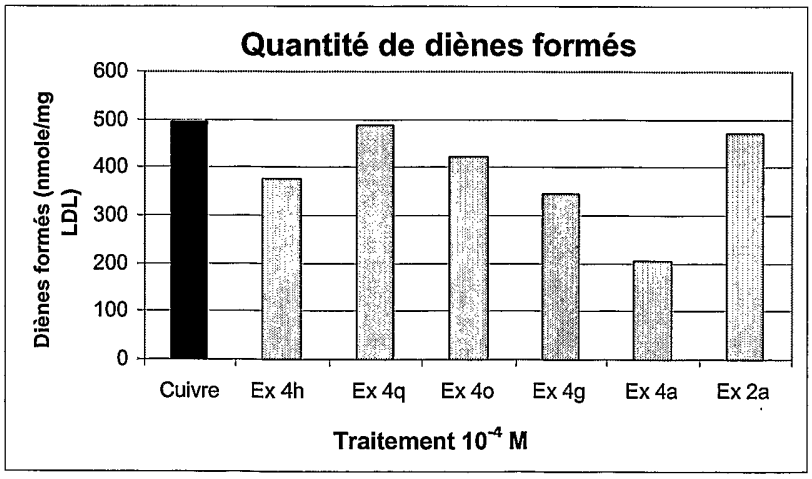


Figure 2-c

Figure 2

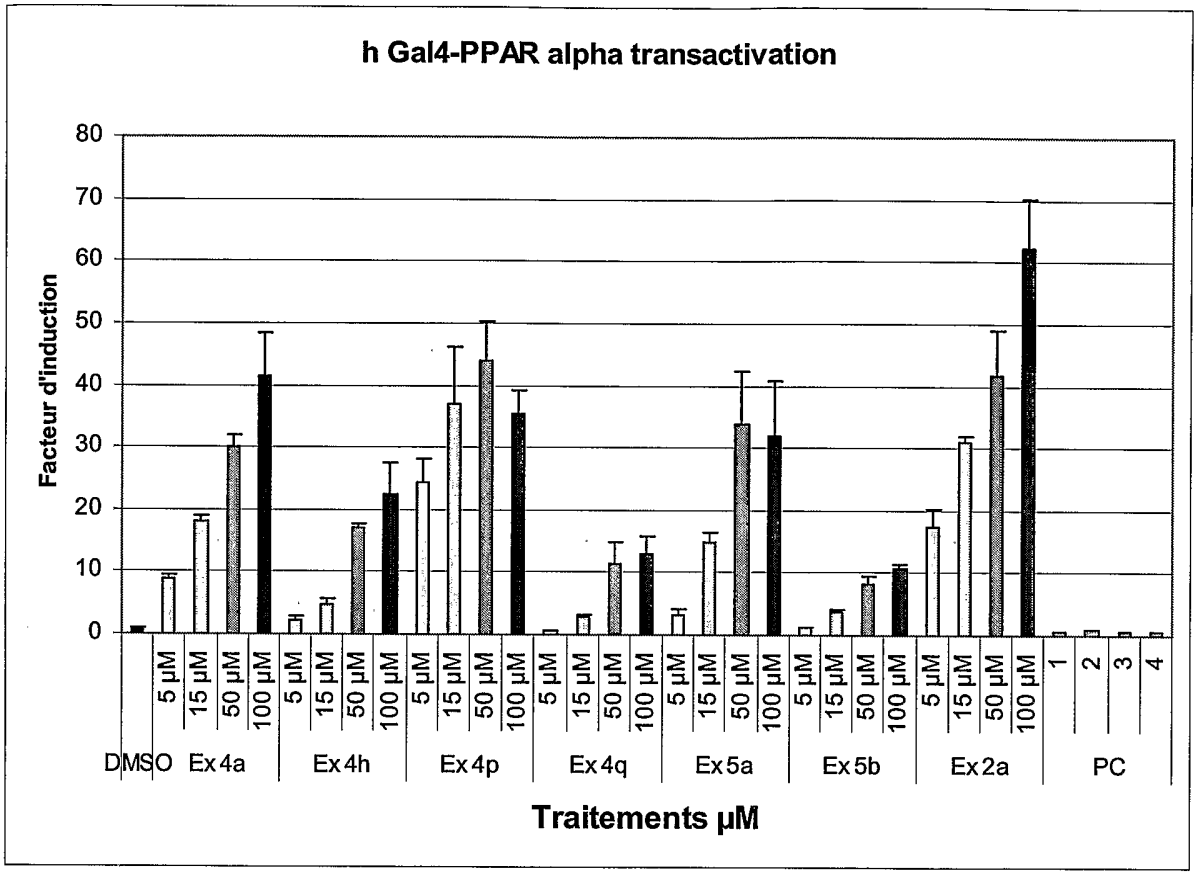

h Gal4-PPAR alpha transactivation
Facteur d'induction
80
70
60
50
40
30
20
10
0
5 µM
15 µM
50 µM
100 µM
1
2
3
4
DMSO
Ex4a
Ex4h
Ex4p
Ex4q
Ex5a
Ex5b
Ex2a
PC
Traitements µM

Figure 3

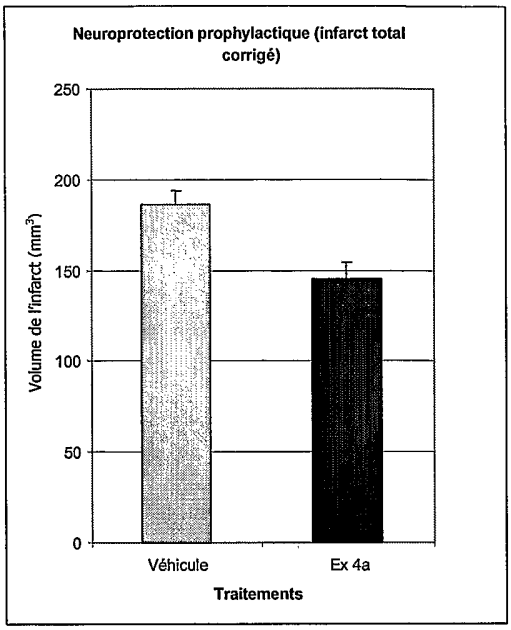


Figure 4-a

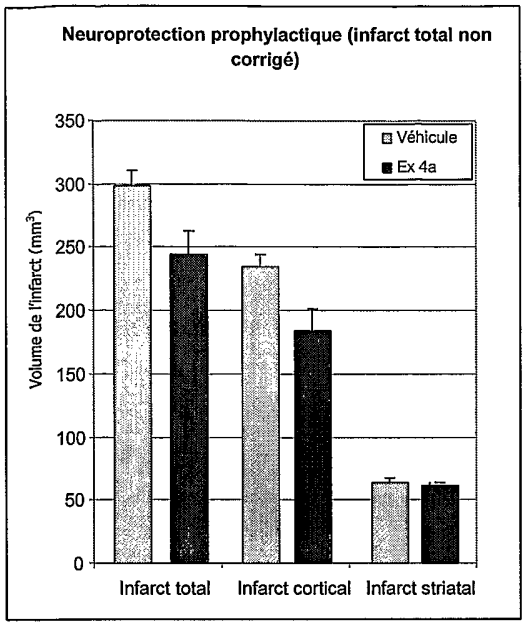


Figure 4-b

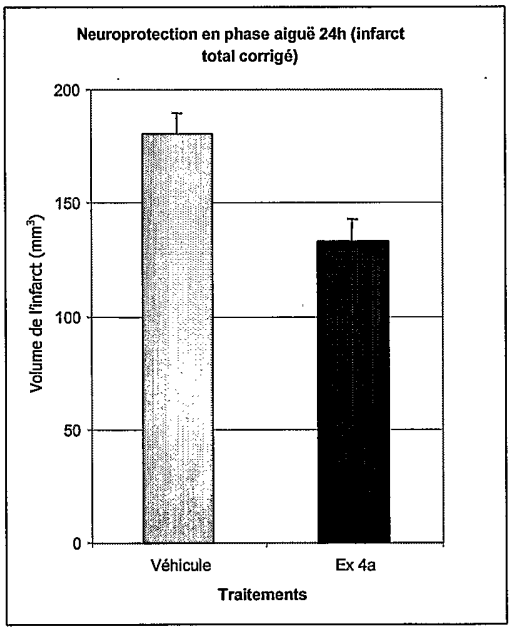


Figure 4-c

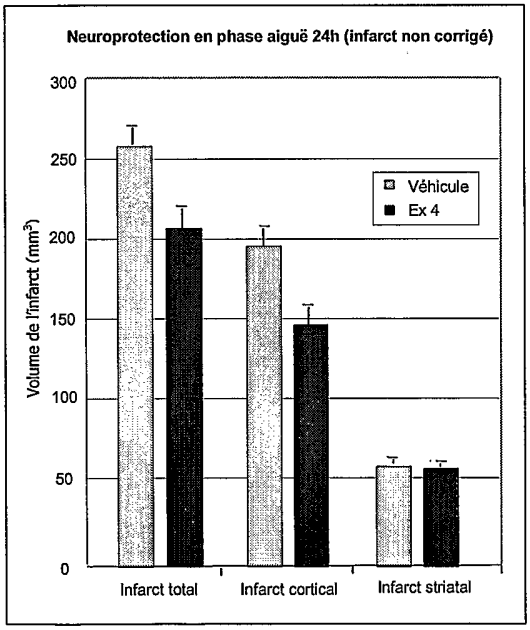


Figure 4-d

Figure 4

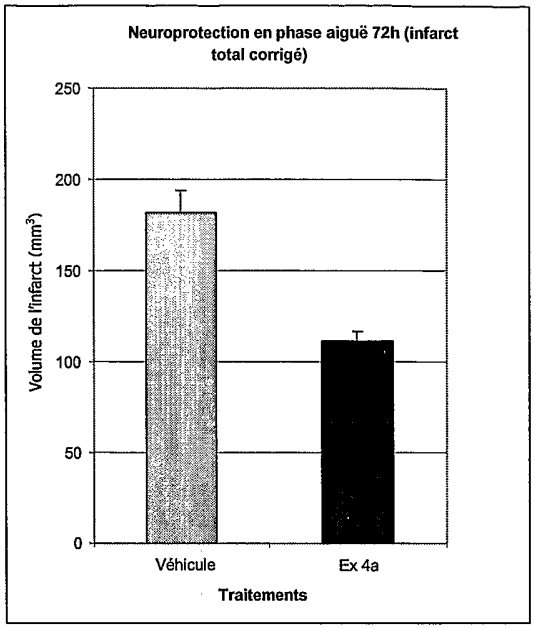


Figure 4-e

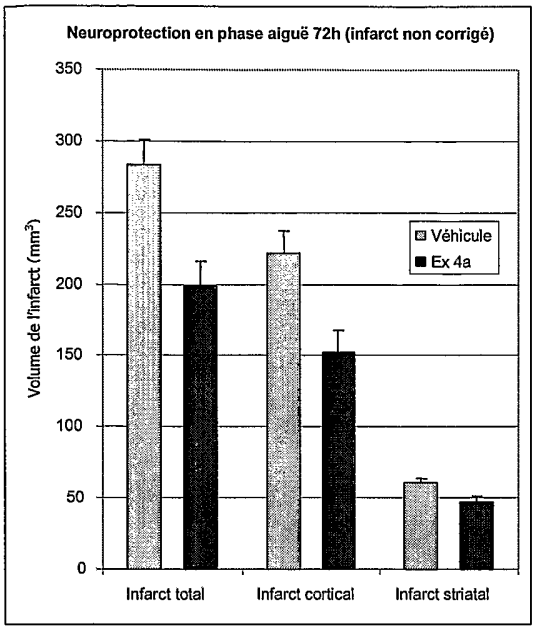


Figure 4-f

Figure 4 (suite)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/FR2004/000229

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 A61K31/25 C07C323/52 C07C327/28 A61P9/10

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 A61K C07C

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 97/03663 A (R. BERGE ET AL) 6 February 1997 (1997-02-06) the whole document	1
A	DE 20 28 240 A (MITSUBISHI PETROCHEMICAL CO LTD) 23 December 1970 (1970-12-23) * pages 19-20 *	22
P,X	WO 03/014073 A (GENFIT) 20 February 2003 (2003-02-20) the whole document	1-24

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
12 July 2004	27/07/2004

Name and mailing address of the ISA	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk Tel. (+31–70) 340–2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31–70) 340–3016	Beranová, P

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No
PCT/FR2004/000229

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO 9703663 A	06-02-1997	AT	224188 T	15-10-2002
		AU	4272696 A	18-02-1997
		CA	2226871 A1	06-02-1997
		DE	69528291 D1	24-10-2002
		DE	69528291 T2	08-05-2003
		DK	840604 T3	30-12-2002
		EP	1232749 A1	21-08-2002
		EP	1232750 A1	21-08-2002
		EP	0840604 A1	13-05-1998
		ES	2183889 T3	01-04-2003
		JP	11514339 T	07-12-1999
		WO	9703663 A1	06-02-1997
		PT	840604 T	31-01-2003
		US	6046237 A	04-04-2000
DE 2028240 A	23-12-1970	JP	49046144 B	07-12-1974
		JP	49046145 B	07-12-1974
		JP	49023295 B	14-06-1974
		DE	2028240 A1	23-12-1970
		GB	1271179 A	19-04-1972
		US	3629194 A	21-12-1971
WO 03014073 A	20-02-2003	FR	2828487 A1	14-02-2003
		CA	2456288 A1	20-02-2003
		WO	03014073 A1	20-02-2003

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale No
PCT/FR2004/000229

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 7 A61K31/25 C07C323/52 C07C327/28 A61P9/10

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)
CIB 7 A61K C07C

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)
EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie °	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	WO 97/03663 A (R. BERGE ET AL) 6 février 1997 (1997-02-06) le document en entier	1
A	DE 20 28 240 A (MITSUBISHI PETROCHEMICAL CO LTD) 23 décembre 1970 (1970-12-23) * pages 19-20 *	22
P,X	WO 03/014073 A (GENFIT) 20 février 2003 (2003-02-20) le document en entier	1-24

☐ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

° Catégories spéciales de documents cités:

"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent

"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date

"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)

"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens

"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'inven tion revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'inven tion revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée	Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale
12 juillet 2004	27/07/2004

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale	Fonctionnaire autorisé
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk Tel. (+31–70) 340–2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31–70) 340–3016	Beranová, P

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements re x membres de familles de brevets

Demande Internationale No
PCT/FR2004/000229

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)		Date de publication
WO 9703663	A	06-02-1997	AT	224188 T	15-10-2002
			AU	4272696 A	18-02-1997
			CA	2226871 A1	06-02-1997
			DE	69528291 D1	24-10-2002
			DE	69528291 T2	08-05-2003
			DK	840604 T3	30-12-2002
			EP	1232749 A1	21-08-2002
			EP	1232750 A1	21-08-2002
			EP	0840604 A1	13-05-1998
			ES	2183889 T3	01-04-2003
			JP	11514339 T	07-12-1999
			WO	9703663 A1	06-02-1997
			PT	840604 T	31-01-2003
			US	6046237 A	04-04-2000
DE 2028240	A	23-12-1970	JP	49046144 B	07-12-1974
			JP	49046145 B	07-12-1974
			JP	49023295 B	14-06-1974
			DE	2028240 A1	23-12-1970
			GB	1271179 A	19-04-1972
			US	3629194 A	21-12-1971
WO 03014073	A	20-02-2003	FR	2828487 A1	14-02-2003
			CA	2456288 A1	20-02-2003
			WO	03014073 A1	20-02-2003