

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS  
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 982 757**

(51) Int. Cl.:

**A61K 31/20** (2006.01)  
**A61P 29/00** (2006.01)  
**A61P 3/04** (2006.01)  
**A61P 3/00** (2006.01)  
**A61P 13/12** (2006.01)

(12)

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- (86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.10.2017 PCT/US2017/055149**  
(87) Fecha y número de publicación internacional: **12.04.2018 WO18067705**  
(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.10.2017 E 17859121 (0)**  
(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.05.2024 EP 3522884**

---

(54) Título: **Ácidos grasos electrofílicos tiolados reversiblemente protegidos como profármacos**

(30) Prioridad:

**05.10.2016 US 201662404368 P**

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**17.10.2024**

(73) Titular/es:

**UNIVERSITY OF PITTSBURGH- OF THE COMMONWEALTH SYSTEM OF HIGHER EDUCATION (100.0%)  
1st Floor, Gardner Steel Conference Center, 130 Thackeray Avenue Pittsburgh, PA 15260, US**

(72) Inventor/es:

**FREEMAN, BRUCE, A.; KHOO, NICHOLAS; SCHOPFER, FRANCISCO, JOSE y WOODCOCK, STEVEN**

(74) Agente/Representante:

**SÁEZ MAESO, Ana**

**ES 2 982 757 T3**

---

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

## DESCRIPCIÓN

Ácidos grasos electrofílicos tiolados reversiblemente protegidos como profármacos

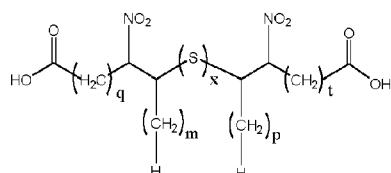
Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

Esta solución reivindica el beneficio de la Solicitud Provisional de EE. UU. No. 62/404,368, presentada el 5 de octubre de 2016.

Resumen

La invención está definida por las reivindicaciones. Cualquier materia objeto que quede fuera del alcance de las reivindicaciones se proporciona únicamente con fines informativos. Cualquier referencia en la descripción a métodos de tratamiento se refiere a la composición farmacéutica y al medicamento de acuerdo con la 10 presente invención para uso en un método para el tratamiento del cuerpo humano o animal mediante terapia.

En el presente documento se describen diversas realizaciones dirigidas a una síntesis y uso de un ácido nitrograso aducido con tiol ("ácido graso tiolado"). En el presente documento se proporciona una composición que comprende una cantidad eficaz de un ácido nitrograso tiolado de fórmula:



en el que x es de 1 a 5; y q, m, p y t son, independientemente, de 1 a 10, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

un excipiente farmacéuticamente aceptable.

También se proporciona en el presente documento una composición como se define en el presente documento para uso en el tratamiento de inflamación, obesidad, síndrome metabólico, enfermedad renal aguda o enfermedad renal crónica, dicho uso comprende administrar la composición a un sujeto que lo necesite. Motohiro Nishida et al. (2012), Nature Chemical Biology Vol. 8, no. 8, informa que un aspecto de la señalización redox es la vía mediada por subproductos electrófilos, tales como los derivados nitró o ceto de ácidos grasos insaturados, y revela la sulfhidratación electrófila inducida por aniones de sulfuro de hidrógeno como un mecanismo para regular la señalización redox mediada por electrófilos.

Intereses del gobierno

Esta invención se realizó con el apoyo del gobierno de EE. UU. en virtud las subvenciones No. HL-058115, HL-64937, y AT006822 otorgadas por los Institutos Nacionales de Salud. El gobierno de los Estados Unidos tiene ciertos derechos sobre la invención.

Breve descripción de los dibujos

Figura 1: Espectros de RMN de OA-NO<sub>2</sub>-S<sub>x</sub>.

Figura 2: Transcripción HO-1 inducida por OA-NO<sub>2</sub>-S<sub>x</sub>.

Figura 3: Transcripción de NQO-1 inducida por OA-NO<sub>2</sub>-S<sub>x</sub>.

Figura 4: Transcripción GCLM inducida por OA-NO<sub>2</sub>-S<sub>x</sub>.

Figura 5: Transcripción HO-1 inducida por OA-NO<sub>2</sub>-S<sub>x</sub> a lo largo del tiempo.

Figura 6: Transcripción de NQO-1 inducida por OA-NO<sub>2</sub>-S<sub>x</sub> a lo largo del tiempo.

Figura 7: Transcripción de GCLM inducida por OA-NO<sub>2</sub>-S<sub>x</sub> a lo largo del tiempo.

Descripción detallada

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen los mismos significados que entiende comúnmente un experto con conocimientos básicos en la técnica.

El término "derivado" se refiere a un compuesto que se deriva de un compuesto similar, o un compuesto que se puede imaginar que surge de otro compuesto, si uno o más átomos se reemplazan con otro átomo o grupo de átomos.

El término "muestra biológica" se refiere a tejido, células, fluidos, extracto celular, extracto de tejido homogeneizado, o una mezcla de una o más enzimas en un portador fisiológicamente aceptable adecuado, tal como una mezcla que incluye, sin limitación, liposomas, albúmina, y lipoproteínas.

5 Los compuestos de la invención pueden existir en diversas formas isoméricas, es decir, isómeros configuracionales, geométricos y conformacionales, así como también en diversas formas tautoméricas, particularmente aquellas que difieren en el punto de adhesión de un átomo de hidrógeno.

10 Ciertos compuestos descritos en el presente documento pueden tener centros asimétricos y, por lo tanto, existir en diferentes formas enantioméricas y diastereoméricas. Los compuestos de la invención pueden estar en forma de isómeros ópticos o diastereoisómeros. De acuerdo con lo anterior, la invención abarca compuestos en forma de sus isómeros ópticos, diastereoisómeros y mezclas de los mismos, que incluyen una mezcla racémica. Los isómeros ópticos de los compuestos de la invención se pueden obtener mediante técnicas conocidas tales como síntesis asimétrica, cromatografía quiral, tecnología de lecho móvil simulado o mediante separación química de estereoisómeros a través del empleo de agentes de resolución ópticamente activos. A menos que se indique lo contrario, "estereoisómero" significa un estereoisómero de un compuesto que está sustancialmente libre de otros estereoisómeros de ese compuesto. Por tanto, un compuesto estereoméricamente puro que tiene un centro quiral estará sustancialmente libre del enantiómero opuesto del compuesto. Un compuesto estereoméricamente puro que tiene dos centros quirales estará sustancialmente libre de otros diastereoisómeros del compuesto.

15 20 El término "profármaco" denota un derivado de un compuesto que se puede hidrolizar, oxidar o reaccionar de otro modo bajo condiciones biológicas. *in vitro* o *in vivo*, para proporcionar un compuesto activo. Los compuestos de la presente invención como se reivindican se consideran profármacos. Los profármacos de los compuestos reivindicados no forman parte de la invención. Los ejemplos de profármacos incluyen, pero no se limitan a, derivados y metabolitos de un compuesto que incluyen grupos biohidrolizables tales como nitratos, nitritos, compuestos nitrosos, amidas biohidrolizables, ésteres biohidrolizables, carbamatos biohidrolizables, 25 tiolatos biohidrolizables, tioésteres biohidrolizables, seleniuros biohidrolizables y análogos de fosfato biohidrolizables (por ejemplo, monofosfato, difosfato o trifosfato). Por ejemplo, los profármacos de compuestos con grupos funcionales carboxilo son los ésteres de alquilo inferior del ácido carboxílico. Los ésteres de carboxilato se forman convenientemente al esterificar cualquiera de las fracciones de ácido carboxílico presentes en la molécula. Los profármacos normalmente se pueden preparar utilizando métodos bien conocidos, tales como los descritos por BURGER' S MEDICINAL CHEMISTRY AND DRUG DISCOVERY 6th ed. (Wiley, 2001) y DESIGN AND APPLICATION OF PRODRUGS (Harwood Academic Publishers GmbH, 30 1985).

35 Como se utiliza en el presente documento y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una" y "el" incluyen la referencia plural a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Por lo tanto, por ejemplo, la referencia a una "célula" es una referencia a una o más células y equivalentes de las mismas conocidos por los expertos en la técnica, y así sucesivamente.

Como se utiliza en el presente documento, el término "aproximadamente" significa más o menos el 10 % del valor numérico del número con el que se utiliza. Por lo tanto, aproximadamente 100 mg significan en el rango de 90 mg a 110 mg.

40 "Administrar" cuando se utiliza junto con un medio terapéutico para administrar un producto terapéutico a un paciente mediante el cual el producto terapéutico impacta positivamente en el tejido al que se dirige. Por lo tanto, como se utiliza en el presente documento, el término "administrar", cuando se utiliza junto con un compuesto descrito en el presente documento, puede incluir, pero no se limita a, proporcionar un compuesto descrito en el presente documento a un sujeto de forma sistémica mediante, por ejemplo, inyección intravenosa, 45 por lo que el tratamiento llega al tejido diana. La "administración" de una composición se puede realizar, por ejemplo, mediante inyección, administración oral, administración tópica o mediante estos métodos en combinación con otras técnicas conocidas. La administración puede ser autoadministración, en la que el sujeto que necesita dicho tratamiento se administra un producto terapéutico o la administración puede ser realizada por un médico u otro profesional de atención sanitaria o un cuidador del sujeto que necesita dicho tratamiento.

50 El término "animal", "paciente" o "sujeto", como se utiliza en el presente documento, incluye, pero no se limita a, humanos y vertebrados no humanos tales como animales salvajes, domésticos y de granja.

55 El término "mejora" se utiliza para transmitir que la presente invención cambia las características y/o los atributos físicos del tejido al que se proporciona, aplica o administra. El término "mejora" también se puede utilizar junto con un estado de enfermedad de tal manera que cuando un estado de enfermedad "mejora" los síntomas o características físicas asociadas con el estado de enfermedad disminuyen, reducen o eliminan.

El término "inhibir" incluye la administración de un compuesto de la presente invención para prevenir la aparición de los síntomas, aliviar los síntomas o eliminar la enfermedad, afección, trastorno o uno o más síntomas del mismo.

Por "farmacéuticamente aceptable" se entiende que el portador diluyente o excipiente debe ser compatible con los demás ingredientes de la formulación y no perjudicial para el receptor de la misma.

Como se utiliza en el presente documento, el término "terapéutico" significa un agente utilizado para desalentar, combatir, aliviar, mejorar, prevenir, inhibir, bloquear o revertir una afección, enfermedad o síntoma no deseado de un paciente como se puede indicar en la realización particular. En parte, las realizaciones de la presente invención están dirigidas a afecciones inflamatorias, obesidad, síndrome metabólico, enfermedad renal aguda o enfermedad renal crónica. Realizaciones adicionales que no forman parte de la invención reivindicada están dirigidas a aterogénesis, adipogénesis, proliferación neointimal, lesión renal después de lesión de isquemia/reperfusión (I/R) y xenobiótica, lesión I/R miocárdica focal, hipertensión sistémica inducida por Ang II, hipertensión pulmonar, fibrosis cardíaca y pulmonar, enfermedad inflamatoria intestinal, nocicepción, accidente cerebrovascular, degeneración de la neurona motora, diabetes, asma, COPD, hipertrigliceridemia, enfermedad del hígado graso y enfermedades autoinmunitarias.

Una "cantidad terapéuticamente eficaz" o "cantidad eficaz" de una composición es una cantidad predeterminada calculada para conseguir el efecto deseado, es decir, para desalentar, combatir, aliviar, mejorar, prevenir, inhibir, bloquear o revertir una afección, enfermedad o síntoma no deseado de un paciente como puede indicar la realización particular. Por ejemplo, una "cantidad terapéuticamente eficaz" tal como se menciona en una realización de "método de tratamiento" es una cantidad predeterminada calculada para lograr el efecto de tratamiento deseado, es decir, para desalentar, combatir, aliviar o mejorar una afección, enfermedad o síntoma no deseado. Por ejemplo, una "cantidad terapéuticamente eficaz" como se menciona en una realización de "método de prevención" es una cantidad predeterminada calculada para lograr el efecto de tratamiento deseado, es decir, para prevenir, inhibir o bloquear una afección, enfermedad o síntoma no deseado antes de que ocurra. En parte, las realizaciones de la presente invención están dirigidas a afecciones inflamatorias, obesidad, síndrome metabólico, enfermedad renal aguda o enfermedad renal crónica. Las realizaciones adicionales que no forman parte de la invención reivindicada están dirigidas a aterogénesis, adipogénesis, proliferación neointimal, lesión I/R y xenobiótica renal, lesión I/R miocárdica focal, hipertensión sistémica inducida por Ang II, hipertensión pulmonar, fibrosis cardíaca y pulmonar, enfermedad inflamatoria intestinal, nocicepción, accidente cerebrovascular, degeneración de la neurona motora, diabetes, asma y COPD. La actividad contemplada por los presentes métodos incluye tratamiento médico terapéutico y/o profiláctico, según corresponda. La dosis específica de un compuesto administrado de acuerdo con esta invención para obtener efectos terapéuticos y/o profilácticos estará determinada, por supuesto, por las circunstancias particulares que rodean el caso, que incluyen, por ejemplo, el compuesto administrado, la ruta de administración y la afección que se está tratando. Sin embargo, se entenderá que la cantidad eficaz administrada será determinada por el médico a la luz de las circunstancias relevantes, que incluyen la afección que se va a tratar, la elección del compuesto que se va a administrar y la ruta de administración elegida y, por tanto, los rangos de dosificación incluidos en el presente documento no pretenden limitar el alcance de la invención de ninguna manera. Una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de esta invención es típicamente una cantidad tal que cuando se administra en una composición de excipiente fisiológicamente tolerable, sea suficiente para alcanzar una concentración sistémica eficaz o una concentración local en el tejido.

Los términos "tratar", "tratado", "que trata", "aliviar", "mejorar" o "promover", como se utilizan en el presente documento, se refieren tanto al tratamiento terapéutico como a las medidas profilácticas o preventivas, en las que el objeto es prevenir o ralentizar (disminuir) una afección, trastorno o enfermedad fisiológica no deseada, o para obtener resultados clínicos beneficiosos o deseados. Para los fines de esta invención, los resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyen, pero no se limitan a, alivio de los síntomas de la afección, trastorno o enfermedad; disminución del alcance de la afección, trastorno o enfermedad; estabilización (es decir, no empeoramiento) del estado de la afección, trastorno o enfermedad; mantener la afección, trastorno o enfermedad; retrasar la aparición o desaceleración de la progresión de la afección, trastorno o enfermedad; y remisión (ya sea parcial o total), ya sea detectable o indetectable, o potencia o mejora de la afección, trastorno o enfermedad. La mejora o promoción incluye provocar una respuesta clínicamente significativa sin niveles excesivos de efectos secundarios.

En términos generales, el término "tejido" se refiere a cualquier agregación de células igualmente especializadas que se unen en la realización de una función particular.

Los ácidos nitrograsos son compuestos que normalmente se elevan en respuesta al estrés oxidativo y nitrativo o en la dieta. Estos compuestos han sido implicados como posibles terapias antioxidantes y antiinflamatorias para una variedad de afecciones, tales como afecciones inflamatorias, obesidad, síndrome metabólico, enfermedad renal aguda, enfermedad renal crónica, aterogénesis, adipogénesis, proliferación de la neoíntima, lesión I/R y xenobiótica renal, lesión I/R miocárdica focal, hipertensión sistémica inducida por Ang II, hipertensión pulmonar, fibrosis cardíaca y pulmonar, enfermedad inflamatoria intestinal, nocicepción, accidente cerebrovascular, degeneración de la neurona motora, diabetes, asma y COPD. El ácido nitro-oleico ( $\text{NO}_2\text{-OA}$ ), en particular, es objeto de numerosos estudios. El ácido nitrooleico afecta muchas rutas reguladoras, que incluyen Nrf2, NF- $\kappa$ B, factor de choque térmico (HSF) y PPAR- $\gamma$ , lo que produce efectos antioxidantes y antiinflamatorios. También, el ácido nitrooleico conduce a la inhibición enzimática directa de la xantina oxidasa, epóxido hidrolasa soluble y 5-lipoxigenasa. Las rutas adicionales modificadas por los ácidos nitrograsos

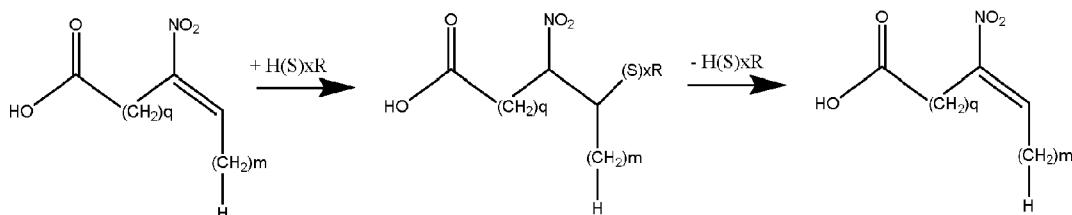
incluyen: quinasas reguladas por señales extracelulares, quinasas amino-terminales Jun, proteínas quinasas activadas por mitógenos p38, transductor de señales y activador de la transcripción 1, factor 6 asociado al receptor de TNF y receptor 4 similar a toll.

Sin embargo, una barrera potencial para el uso del ácido nitrooleico como fármaco candidato es su rápido metabolismo como resultado de reacciones de beta-oxidación y reducción del nitroalqueno por la prostaglandina reductasa 1, en el primer paso del hígado y la aducción reversible con glutatión y excreción. Para aumentar la eficacia, el fármaco debe resistir el metabolismo de primer paso. Un fármaco activo se metabolizaría en el microbioma intestinal y el hígado y, por lo tanto, se debe proteger para suministrar de forma apropiada una cantidad eficaz del fármaco activo en circulación.

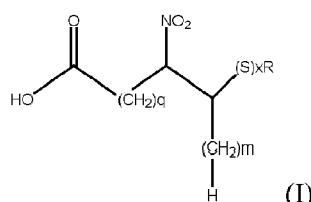
La modificación del NO<sub>2</sub>-OA por tiolación reversible del nitroalqueno evita su inactivación metabólica, preservando de esta manera el potencial carácter electrofílico del NO<sub>2</sub>-OA.

También se divulan, pero no dentro del alcance de las reivindicaciones, ácidos grasos activados insaturados electrófilos tiolados y, en particular, ácidos grasos nitrados insaturados tiolados. Como se utiliza en el presente documento, un "ácido graso activado" se refiere a un ácido graso que tiene al menos un grupo aceptor de electrones unido covalentemente a un carbono insaturado de la cadena alifática saturada o insaturada de un ácido graso. De manera similar, los ácidos grasos activados tiolados divulgados en el presente documento pueden incluir una cadena alifática que tiene cualquier número de dobles enlaces, que pueden estar asociados o no con un grupo aceptor de electrones, y un grupo que contiene azufre, es decir un grupo tiol. El grupo que contiene azufre puede estar posicionado en el carbono beta ( $\beta$ ), carbono gamma ( $\gamma$ ) o carbono delta ( $\delta$ ) de la cadena alifática insaturada, donde el grupo aceptor de electrones está adherido al carbono alfa ( $\alpha$ ).

El doble enlace electrófilo del nitroalqueno está protegido reversiblemente por H(S)xR formando el ácido graso activado tiolado. Este ácido graso activado tiolado es ahora un profármaco y evita los procesos metabólicos durante el primer paso. El doble enlace electrófilo se regenera tras la pérdida del grupo protector, como se muestra a continuación:

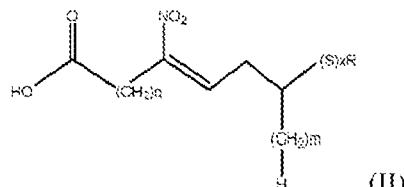


También se divula, pero no dentro del alcance de las reivindicaciones, los ácidos grasos activados tiolados que pueden ser de Fórmula general I:



en donde R es hidrógeno (-H), metilo o alquilo C<sub>2</sub> a C<sub>6</sub>, alquenilo o alquinilo, o (S)xR puede ser un grupo funcional que contiene azufre tal como sulfino (-SOOH), sulfo (-SOOOH) o tiocianato (-SCN), x es un número entero desde 1 hasta 5, y q y m son cada uno, independientemente, un número entero desde 1 hasta 10. Los compuestos de Fórmula I incluyen un grupo que contiene azufre en el carbono  $\beta$ .

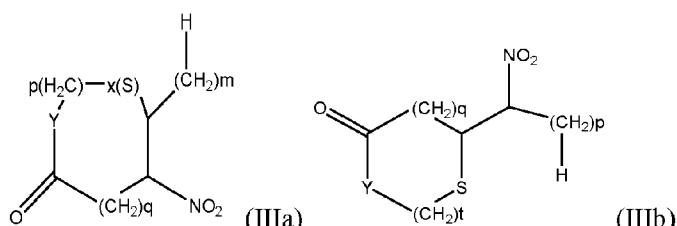
También se divulan, pero no dentro del alcance de las reivindicaciones, otros ácidos grasos activados tiolados que incluyen compuestos de Fórmula general II:



en la que R es hidrógeno (-H), metilo o alquilo C<sub>2</sub> a C<sub>6</sub>, alquenilo o alquinilo, o (S)xR puede ser un grupo funcional que contiene azufre tal como sulfino (-SOOH), sulfo (-SOOOH) o tiocianato (-SCN), x es un número

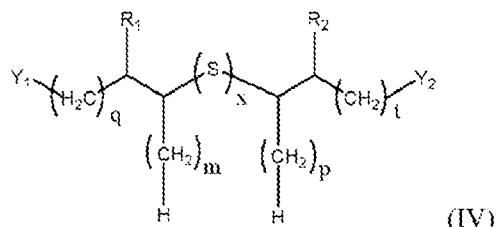
entero desde 1 hasta 5, y q y m son cada uno, independientemente, un número entero desde 1 hasta 10. Los compuestos de Fórmula II incluyen un grupo que contiene azufre en el carbono  $\delta$ .

En algunas realizaciones que no forman parte de la invención reivindicada, R para las Fórmulas I o II puede ser un alquilo, alquenilo o alquinilo bifuncional, que está unido al carboxilo del ácido graso activado formando estructuras cíclicas o con puentes. En dichas realizaciones que no forman parte de la invención reivindicada, la fracción que contiene azufre se puede colocar en el carbono  $\beta$ ,  $\chi$  o  $\delta$ . También se divultan, pero no dentro del alcance de las reivindicaciones, los compuestos de Fórmulas generales IIIa y IIIb, que incluyen fracciones que contienen azufre bifuncional ciclado en el carbono  $\beta$ :



- en la que cada Y es, independientemente, oxígeno (O) o nitrógeno (N), cada x es, independientemente, un número entero desde 1 hasta 5, y q, m, p y t son cada uno, independientemente, un número entero desde 1 hasta 10.

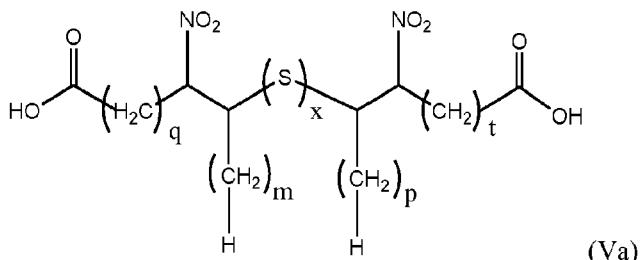
En algunas realizaciones, el grupo que contiene azufre puede unir dos ácidos grasos activados. También se divultan, pero no dentro del alcance de las reivindicaciones, compuestos de Fórmula general IV:



- 15 en la que  $R_1$  y  $R_2$  se seleccionan independientemente de -H y cualesquier grupos aceptores de electrones que incluye, pero no se limitan a, -COH, -COR, -COOH, -COOR, -Cl, -F, -Br, -I, -CF<sub>3</sub>, -CN, -SO<sub>3</sub><sup>-</sup>, -SO<sub>2</sub>R, -SO<sub>3</sub>H, -NH<sub>3</sub><sup>+</sup>, -NH<sub>2</sub>R<sup>+</sup>, -NHR<sub>2</sub><sup>+</sup>, -NR<sub>3</sub><sup>+</sup> y -NO<sub>2</sub>; en el que al menos uno de  $R_1$  y  $R_2$  es un grupo aceptor de electrones; en el que  $Y_1$  y  $Y_2$  se seleccionan independientemente entre -H, -COH, -COR, -COOH y -COOR; en el que al menos uno de  $R_1$  y  $R_2$  es un grupo aceptor de electrones; y en el que x es un número entero desde 1 hasta 5, y q, m, p y t son, independientemente, un número entero desde 1 hasta 10, y composiciones que los contienen.

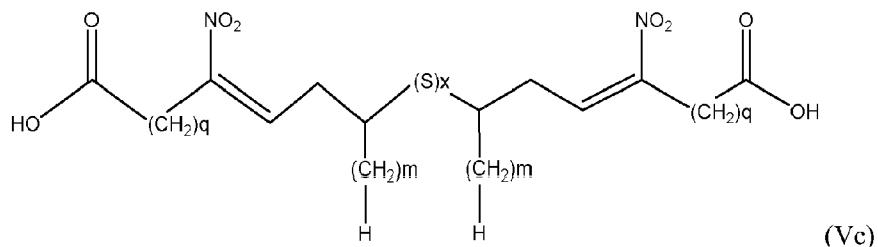
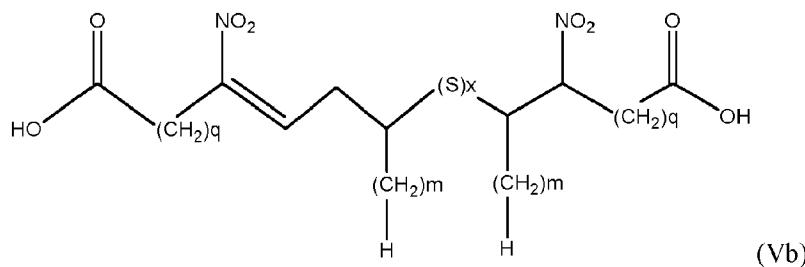
20

Diversas realizaciones de la invención se dirigen a compuestos de fórmula general Va.



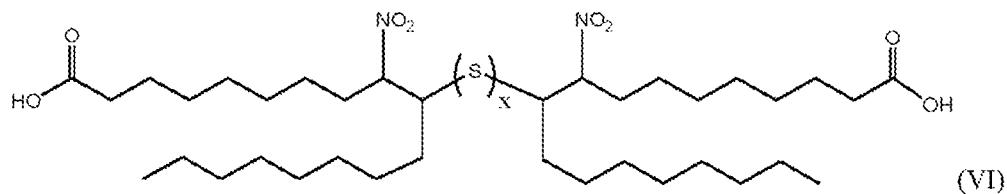
- en la que  $x$  es un número entero desde 1 hasta 5, y  $q, m, p$  y  $t$  son, independientemente, un número entero desde 1 hasta 10, y composiciones que contienen los mismos.

También se divultan, pero dentro del alcance de las reivindicaciones, compuestos de fórmulas generales Vb y Vc:



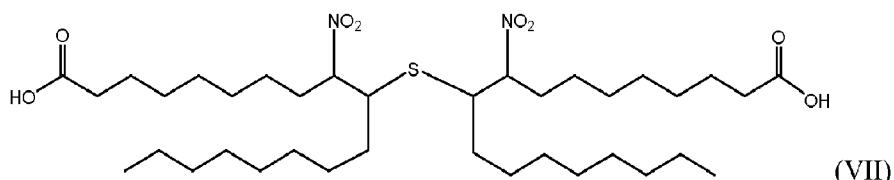
en la que x es un número entero desde 1 hasta 5, y q, m, p y t son, independientemente, un número entero desde 1 hasta 10, y composiciones que contienen el mismo.

- 5 Otras realizaciones incluyen compuestos de Fórmula VI:



en la que x es un número entero desde 1 hasta 5, y composiciones que contienen el mismo.

En algunas realizaciones, el compuesto es una especie de ácido nitro-oleico tiolado ( $\text{NO}_2\text{-OA-Sx}$ ) representada como Fórmula VII:



10

El grupo aceptor de electrones se puede colocar en configuración cis o trans en el doble enlace original o en la estereoquímica absoluta R o S en un centro quiral/estereogénico  $\text{sp}^3$ . Por ejemplo, en una realización, un ácido graso activado tiolado puede tener un grupo aceptor de electrones. También se divulga, pero no dentro del alcance de las reivindicaciones, que un ácido graso activado tiolado se puede sustituir con múltiples grupos aceptores de electrones en múltiples posiciones a lo largo de la cadena de hidrocarburos. Si bien los ácidos grasos activados tiolados pueden tener un grupo aceptor de electrones posicionado en cualquier carbono a lo largo de la cadena de hidrocarburos alifáticos entre el carbono carboxi terminal y el metilo terminal (posición  $\omega$ ), en algunas realizaciones, el grupo aceptor de electrones se puede colocar dentro de aproximadamente 3 carbonos del carbono carboxi terminal y/o del carbono metilo terminal, y en otras realizaciones, el grupo aceptor de electrones se puede colocar dentro de 5 carbonos de cualquiera de los carbonos carboxi terminal y/o del carbono metilo terminal. En aún otras realizaciones más, el grupo aceptor de electrones se puede colocar dentro de 7 carbonos de cualquiera del carbono carboxi terminal y/o del carbono metilo terminal, y en realizaciones adicionales, el grupo aceptor de electrones se puede colocar dentro de 9 carbonos de cualquiera del carbono carboxi terminal y/o el carbono metilo terminal.

15

20

También se divulga, pero no dentro del alcance de las reivindicaciones, que el grupo aceptor de electrones se puede colocar sobre un carbono que se origina a partir de un doble enlace del ácido graso activado que forma un grupo "vinilo aceptor de electrones". El grupo aceptor de electrones de dichos grupos vinilo puede estar a cualquier lado del doble enlace. Los ácidos grasos divulgados en el presente documento pueden tener uno o más de un grupo vinilo aceptor de electrones en cualquier carbono de la cadena de hidrocarburos alifáticos, y hay varias formas en que un ácido graso insaturado puede tener un grupo aceptor de electrones. Un ácido oleico activado tiolado (ácido octadec-9-enoico) que se origina a partir de un ácido graso  $\omega$ -9 de 18 carbonos

25

30

con un doble enlace (denominado "18:1") entre el 9h (C-9) y el 10° (C-10) carbonos, pueden tener un grupo aceptor de electrones en C-9 o C-10, y un tiol (-SR) en la posición alternativa. Un ácido linoleico activado tiolado (ácido octadeca-9,12,-dienoico), que se originó a partir de un ácido graso ω-6 de 18 carbonos con dos dobles enlaces (denominado "18:2") entre el ω-6 (C-13) y -7 (C-12) carbonos y ω-9 (C-10) y 10 (C-9) carbonos, pueden tener un grupo aceptor de electrones en C-9 o C-10, o C-12 o C-13, y un tiol (-SR) en la posición vecina alternativa correspondiente. De manera similar, otros ácidos grasos poliinsaturados, que originalmente tienen 3, 4, 5, 6 o más dobles enlaces, pueden tener un aceptor de electrón en cualquier posición de cualquiera de los carbonos del doble enlace original, y un tiol (-SR) en la correspondiente posición alternativa vecina, que incluye todas las posibles permutaciones de posiciones y grupos aceptores de electrones.

10 También se divulga, pero no dentro del alcance de las reivindicaciones, que un ácido graso mono o poliinsaturado puede tener dos grupos aceptores de electrones, y hay varias formas en que un ácido graso insaturado puede tener dos grupos aceptores de electrones. Por ejemplo, un ácido linoleico activado tiolado (ácido octadeca-9,12,-dienoico), que se origina a partir de un ácido graso ω-6 de 18 carbonos con dos dobles enlaces (denominados "18:2") entre los ω-6 (C-13) y -7 (C-12) carbonos y los ω-9 (C-10) y 10 (C-9) carbonos, 15 pueden tener un grupo aceptor de electrones en cualquiera de las dos posiciones C-9, C-10, C-12 o C-13, con las siguientes permutaciones posibles: C-9 y C-12, C-9 y C-13, C-10 y C-12, o C-10 y C-13, y uno o más tioles (-SR) en las posiciones vecinas alternas correspondientes.

20 También se divulga, pero no dentro del alcance de las reivindicaciones, que en analogía con las descripciones anteriores de compuestos con un grupo aceptor de electrones o dos grupos aceptores de electrones, también es posible tener tres, cuatro, cinco o más grupos aceptores de electrones. Siguiendo la misma lógica anterior, en las descripciones anteriores de compuestos con un grupo aceptor de electrones o dos grupos aceptores de electrones, los ácidos grasos poliinsaturados, con 3, 4, 5, 6 o más dobles enlaces, conjugados o no conjugados, 25 pueden tener múltiples aceptores de electrones (tres, cuatro, cinco o más, según lo permitan las posiciones disponibles para la sustitución) en cualquiera de las posiciones de cualquiera de los carbonos del doble enlace, que incluyen todas las posibles permutaciones de posiciones, sustituyentes nucleofílicos y grupos aceptores de electrones. Adicionalmente, cualquier número de grupos no aceptores de electrones se puede unir covalentemente a carbonos de la cadena alifática del ácido graso activado. Por ejemplo, los ácidos grasos activados tiolados pueden incluir uno o más metilo, alquilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alquenilo o alquinilo o amino adherido covalentemente a uno o más carbonos de la cadena alifática de un ácido graso activado tiolado.

30 El término "grupo aceptor de electrones" se reconoce en la técnica y denota la tendencia de un sustituyente a atraer electrones de valencia de átomos vecinos, es decir, el sustituyente es electronegativo con respecto a los átomos vecinos. El término "nucleófilo" o "grupo donador de electrones" se reconoce en la técnica y denota la tendencia de un sustituyente a donar un exceso de electrones de valencia de átomos vecinos, es decir, el sustituyente es electropositivo con respecto a los átomos vecinos. Una cuantificación del nivel de capacidad de 35 extracción de electrones viene dada por la constante sigma ( $\sigma$ ) de Hammett (ver, por ejemplo, J. March, Advanced Organic Chemistry, McGraw Hill Book Company, Nueva York, (1977 edition) pp. 251-259). Los valores de la constante de Hammett son generalmente negativos para los grupos donadores de electrones y positivos para los grupos aceptores de electrones. Por ejemplo, la constante de Hammet para NH<sub>2</sub> parasustituido ( $\sigma[P]$ ) es aproximadamente -0.7 y  $\sigma[P]$  para un grupo nitrógeno es aproximadamente +0.8.

40 Por ejemplo, los grupos aceptores de electrones pueden incluir, entre otros, aldehído (-COH), acilo (-COR), ácido carboxílico (-COOH), éster (-COOR), haluros (-Cl, F, -Br, etc.), fluorometilo (-CF<sub>3</sub>), fluoroalquilo (-CF<sub>n</sub>H<sub>2-n</sub>R), ciano (-CN), sulfóxido (-SOR), sulfonilo (-SO<sub>2</sub>R), sulfonato (SO<sub>3</sub>R), 1°, 2° y 3° amonio (-NR<sub>3</sub><sup>+</sup>), y nitrógeno (-NO<sub>2</sub>) donde cada R puede, independientemente, ser hidrógeno, metilo o alquilo C<sub>2</sub> a C<sub>6</sub>, alquenilo o alquinilo. En algunas realizaciones, el grupo aceptor de electrones puede ser un grupo aceptor de electrones fuerte que 45 tiene un  $\sigma$  de al menos aproximadamente 0.2 y, en determinadas realizaciones, el grupo aceptor de electrones puede formar un dipolo. También se divulga, pero no dentro del alcance de las reivindicaciones, que el grupo aceptor de electrones puede ser nitrógeno, amonio o sulfonilo. Los ácidos grasos activados tiolados pueden estar sustituidos adicionalmente por grupos no aceptores de electrones o grupos donadores de electrones que incluyen, por ejemplo, tiol (-SR), alcohol (-OH), éster inverso (-OOCR), alquilo, alquenilo, alquinilo, 1° y 2° 50 aminas (-NR<sub>2</sub>), heterociclo que contiene N (-N=, -NR-), nitrato (-ONO<sub>2</sub>), nitrito (-ONO) y similares.

También se divulga, pero no dentro del alcance de las reivindicaciones, que los ácidos grasos de las realizaciones pueden ser cualquier ácido graso insaturado y poliinsaturado conocido en la técnica. El término "ácido graso" describe ácidos monocarboxílicos alifáticos. Diversas realizaciones incluyen ácidos grasos activados que tienen una cadena de hidrocarburo alifático idéntica o similar a los ácidos grasos de origen natural identificados. Por ejemplo, las cadenas de hidrocarburos alifáticos de ácidos grasos de origen natural conocidos generalmente no están ramificadas y contienen un número par desde aproximadamente 4 hasta aproximadamente 24 carbonos, y otras incluyen ácidos grasos que tienen desde 12 hasta 18 carbonos en la cadena de hidrocarburos alifáticos. En aún otras realizaciones, los ácidos grasos pueden tener más de 24 carbonos en la cadena de hidrocarburos alifáticos. Las realizaciones descritas abarcan dichos ácidos grasos de origen natural así como ácidos grasos de origen no natural, que pueden contener un número impar de carbonos y/o un ligador de origen no natural que incluye heteroátomos. Por tanto, algunas realizaciones incluyen ácidos grasos que tienen un número impar de carbonos de, por ejemplo, desde 5 hasta 23 carbonos,

y en otras realizaciones, desde 11 hasta 17 carbonos. En todavía otras realizaciones, los ácidos grasos de las realizaciones pueden tener más de 23 carbonos. Los ácidos grasos de origen natural y de origen no natural también pueden estar ramificados en una o más ubicaciones a lo largo de la cadena de hidrocarburos y, en diversas realizaciones, cada rama puede incluir una cadena de hidrocarburos alifática desde 1 hasta 24 carbonos, 2 a 20 carbonos o 4 a 18 carbonos donde cada rama puede tener un número par o impar de carbonos.

También se divulga, pero no dentro del alcance de las reivindicaciones, que la cadena de hidrocarburo alifática de ácidos grasos de diversas realizaciones puede ser insaturada o poliinsaturada. El término "insaturado" se refiere a un ácido graso que tiene una cadena de hidrocarburo alifática que incluye al menos un doble enlace y/o sustituyente. Por el contrario, una cadena de hidrocarburos "saturada" no incluye dobles enlaces ni sustituyentes. Por tanto, cada carbono de la cadena de hidrocarburos está "saturado" y tiene el número máximo de hidrógenos. "Poliinsaturados", generalmente, se refiere a ácidos grasos que tienen cadenas de hidrocarburos con más de un doble enlace. Los dobles enlaces de los ácidos grasos insaturados o poliinsaturados de diversas realizaciones pueden estar en cualquier ubicación a lo largo de la cadena de hidrocarburos alifáticos y pueden estar en configuración cis o trans. El término "cis" se refiere a un doble enlace en el que los carbonos adyacentes al doble enlace están en el mismo lado y el término "trans" se refiere a un doble enlace en el que los carbonos adyacentes al doble enlace están en lados opuestos. Normalmente, "cis" es lo mismo que Z y "trans" es lo mismo que E, pero a veces las reglas de la IUPAC para nombrar compuestos darán lo contrario para sustituyentes que no son de carbono, que es el caso típico de los nitroalquenos. Por ejemplo, un nitroalqueno puede tener los dos grupos de carbono "cis" pero los dos grupos que tienen prioridad para la denominación de los compuestos (un grupo nitrógeno en un carbono del alqueno y un grupo de carbono en el otro carbono del alqueno) están en lados opuestos y por lo tanto son E. Por lo tanto, el análogo nitroalqueno de un doble enlace "cis" se denomina nitroalqueno E. De manera similar, el análogo nitroalqueno de un doble enlace "trans" se denomina nitroalqueno Z. Sin desear quedar limitado a ninguna teoría, los dobles enlaces en la configuración cis a lo largo de la cadena de carbonos (cadena de carbonos cis pero nitroalqueno E) pueden inducir una curvatura en la cadena de hidrocarburos. Los dobles enlaces en la configuración "trans" a lo largo de la cadena de carbono (cadena de carbono trans pero nitroalqueno Z) pueden no hacer que la cadena de hidrocarburo sea doble. También se divulgan, pero no dentro del alcance de las reivindicaciones, ácidos grasos activados con tiolato que tienen dobles enlaces en configuración cis o trans, y abarcan composiciones que pueden incluir combinaciones de ácidos grasos activados tiolados que contienen cis y trans y regiosímeros de los ácidos grasos activados tiolados.

Se han identificado muchos ácidos grasos insaturados y poliinsaturados y se sabe que se encuentran de forma natural. Dichos ácidos grasos insaturados o poliinsaturados de origen natural, generalmente, incluyen un número par de carbonos en su cadena de hidrocarburos alifáticos. Por ejemplo, un ácido graso insaturado o poliinsaturado de origen natural puede tener 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, y así sucesivamente carbonos y puede incluir dobles enlaces carbono-carbono omega ( $\omega$ )-3,  $\omega$ -5,  $\omega$ -6,  $\omega$ -7,  $\omega$ -9. Cualquier ácido graso de este tipo puede ser útil. El símbolo ' $\omega$ ' se utiliza para referirse al carbono metílico terminal de la cadena de hidrocarburos alifáticos. La ubicación del doble enlace del ácido graso  $\omega$ -X es el enlace carbono-carbono X número de carbonos del carbono  $\omega$ . Por ejemplo, un ácido graso  $\omega$ -6 tiene un doble enlace entre los 6º y 7º carbono contando hacia atrás desde el carbono  $\omega$  y un ácido graso  $\omega$ -3 tiene un doble enlace entre el 3º y el 4º carbono contando hacia atrás desde el carbono  $\omega$ . También se divulgan, pero no dentro del alcance de las reivindicaciones, ácidos grasos  $\omega$ -3 nitrados, que incluyen, pero no se limitan a, ácido linolénico, ácido alfa-linolénico, ácido eicosapentanoico, ácido docosapentaenoico, ácido docosahexaenoico y ácido estearidónico; ácidos grasos  $\omega$ -5 nitrados que incluyen, pero no se limitan a, ácido miristoleico; ácidos grasos  $\omega$ -6 nitrados que incluyen, pero no se limitan a, ácido linoleico, ácido gamma-linoleico, ácido dihomo-gamma-linoleico y ácido araquidónico; ácidos grasos  $\omega$ -7 nitrados que incluyen, pero no se limitan a, ácido linoleico conjugado y palmitoleico; y ácidos grasos nitrados  $\omega$ -9 que incluyen, pero no se limitan a, ácido oleico y ácido erúctico. Por supuesto, también se puede hacer referencia a los ácidos grasos utilizando la nomenclatura IUPAC en la que la ubicación del doble enlace se determina al contar a partir del carbono del ácido carboxílico, y 'C-X' denota el carbono en hidrocarburos alifáticos utilizando la nomenclatura IUPAC en la que X es el número de carbonos contados desde el ácido carboxílico (que incluye el carbono carbonílico). Las realizaciones también incluyen equivalentes sintéticos de ácidos grasos de origen natural y derivados de los mismos.

También se divulgan, pero no dentro del alcance de las reivindicaciones, ácidos grasos insaturados o poliinsaturados de origen no natural que pueden tener un número impar de carbonos tales como, por ejemplo, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 20, 21 y así sucesivamente. Como en los ácidos grasos de origen naturales, uno o más dobles enlaces asociados con ácidos grasos no naturales pueden estar en cualquier posición a lo largo de la cadena de hidrocarburos alifáticos, y los dobles enlaces pueden estar en configuración cis o trans. Los ácidos grasos de origen no natural pueden incluir uno o más grupos ligadores, que interrumpen la cadena de hidrocarburos alifáticos. Por ejemplo, los ácidos grasos activados pueden tener uno o más enlaces distintos de carbono-carbono tales como, por ejemplo, éster, éter, éter vinílico, tioéster, amino, imina y similares en cualquier posición dentro de la cadena de hidrocarburos alifáticos.

También se divulgan, pero no dentro del alcance de las reivindicaciones, ácidos grasos insaturados o poliinsaturados que pueden tener un doble enlace carbono-carbono entre dos carbonos cualesquiera de la cadena alifática del ácido graso, y cualquier número de dobles enlaces carbono-carbono puede estar presentes

en dichos ácidos grasos poliinsaturados. Por ejemplo, los ácidos grasos poliinsaturados pueden tener 2, 3, 4, 5, 6 o más dobles enlaces carbono-carbono. Cada uno de los más de un doble enlace carbono-carbono puede estar individualmente en configuración cis o trans. En algunas realizaciones, los ácidos grasos activados tiolados se derivan de la reacción con al menos uno de los dobles enlaces carbono-carbono de un ácido graso poliinsaturado que tiene un grupo aceptor de electrones asociado, y en otras realizaciones, más de uno de los dobles enlaces carbono-carbono de dichos ácidos grasos poliinsaturados pueden tener un grupo aceptor de electrones asociado. Adicionalmente, en dichas realizaciones, el grupo aceptor de electrones se puede asociar con cualquiera de los carbonos del doble enlace carbono-carbono original o con un carbono directamente adyacente a cualquiera de los carbonos del doble enlace carbono-carbono, y el tiol se puede asociar con el otro carbono del doble enlace carbono-carbono original o un carbono directamente adyacente a cualquiera de los carbonos del doble enlace carbono-carbono. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un grupo aceptor de electrones puede estar adherido al carbono alfa ( $\alpha$ ) del doble enlace carbono-carbono anterior, y en otras realizaciones, un grupo aceptor de electrones se puede asociar con el carbono beta ( $\beta$ ) del antiguo doble enlace carbono-carbono. En esas realizaciones, un tiol se uniría respectivamente al carbono beta ( $\beta$ ) del doble enlace carbono-carbono anterior, y en otras realizaciones, un grupo aceptor de electrones se puede asociar con el carbono alfa ( $\alpha$ ) del doble enlace carbono-carbono anterior.

También se divulga, pero no dentro del alcance de las reivindicaciones, que un ácido graso insaturado que tiene al menos un grupo aceptor de electrones puede ser un ácido graso conjugado. Dos dobles enlaces carbono-carbono en una cadena alifática están adyacentes entre sí de tal manera que no hay ningún grupo metileno entre ellos. Dichos compuestos conjugados se denominan comúnmente 1,3-dienos o ácidos grasos conjugados. Dichos 1,3-dienos pueden incluir uno o más grupos aceptores de electrones en cualquiera de las 6 posiciones, en las posiciones 1, 2, 3 y/o 4 de los 1,3-dienos y en los dos carbonos adyacentes al dieno (en las posiciones 0 y 5, en relación con el método 1, 2, 3, 4 para identificar carbonos en un 1,3-dieno). Por ejemplo, un grupo aceptor de electrones asociado puede estar adherido a cualquiera de las 6 posiciones identificadas anteriormente, es decir, a las posiciones 1, 2, 3 o 4 del dieno o a cualquiera de los carbonos adyacentes al 1,3-dieno (en las posiciones 0 o 5, como se describió anteriormente). Se podrían adherir dos grupos aceptores de electrones asociados a dos de las seis posiciones posibles, se podrían adherir tres grupos aceptores de electrones asociados a dos de las seis posiciones posibles, se podrían adherir cuatro grupos aceptores de electrones asociados a dos de las seis posiciones posibles, cinco grupos aceptores de electrones asociados se podrían adherir a dos cualesquier de las seis posiciones posibles, y seis grupos aceptores de electrones asociados se podrían adherir a dos cualesquier de las seis posiciones posibles. En resumen, se divulga cualquier configuración de grupos aceptores de electrones adheridos a cualquiera de las seis posiciones descritas anteriormente en un 1,3-dieno.

También se divulga, pero no dentro del alcance de las reivindicaciones, que los ácidos grasos activados tiolados se pueden someter a una isomerización después de la preparación de tal manera que la configuración cis/trans del doble enlace, la ubicación del doble enlace en la cadena de carbono, o ambas, podría cambiar. Por ejemplo, se puede preparar un ácido graso activado tiolado a partir de un doble enlace carbono-carbono que tiene un grupo aceptor de electrones unido a un carbono gamma de un doble enlace carbono-carbono. Después de la preparación, el doble enlace carbono-carbono se puede someter a una isomerización de tal manera que el grupo aceptor de electrones esté ahora conjugado con el doble enlace carbono-carbono después de la isomerización. Dichas isomerizaciones pueden ocurrir espontáneamente en cualquier momento después de la preparación, y pueden dar como resultado una composición que puede haberse preparado inicialmente incluyendo una sola especie de un ácido graso activado tiolado que posteriormente incluye una combinación de isómeros del ácido graso activado producido originalmente.

También se divulga, pero no dentro del alcance de las reivindicaciones, que se puede modificar el extremo terminal carboxi del ácido graso activado tiolado. Por ejemplo, el ácido graso activado tiolado puede incluir un glicerol asociado con el extremo terminal carboxi del ácido graso para crear un glicerolípido, y dichos glicerolípidos pueden ser mono, di o triglicéridos en los que al menos uno de los ácidos grasos Los ácidos de un di o triglicérido pueden ser un ácido graso activado tiolado y cualquier ácido graso restante puede ser un ácido graso saturado o insaturado. De manera similar, un carbohidrato se puede asociar con el extremo terminal carboxi de un ácido graso activado tiolado para formar un glicolípido. Cualquier carbohidrato conocido en la técnica puede ser una fracción carbohidrato de un glicolípido que incluye, pero no se limita a, galactosa y glucosa. Un carbohidrato se puede asociar con un glicérido que está asociado con el extremo terminal carboxi de un ácido graso activado tiolado para formar un gliceroglicolípido, que puede tener uno o dos ácidos grasos activados asociados con la porción glicerol del gliceroglicolípido. y, en realizaciones en las que solo un ácido graso activado está asociado con el gliceroglicolípido, la posición restante en el glicerol puede incluir un ácido graso saturado o insaturado o hidrógeno, alquilo o un grupo funcional tal como, por ejemplo, alcohol, amina, fosfato, ácido fosfónico, tiol, ácido sulfónico y similares. El extremo terminal carboxi de los ácidos grasos activados se puede asociar con un fosfato para formar un fosfolípido. El fosfato se puede asociar directamente con el ácido graso a través del terminal carboxi, o el fosfato se puede asociar con un diglicérido en el que uno o dos ácidos grasos activados se adhieren a una fracción de glicerol y, cuando sólo un ácido graso tiolado activado se adhiere al glicerol, la posición restante en el glicerol puede incluir un ácido graso saturado o insaturado o hidrógeno, alquilo o un grupo funcional tal como, por ejemplo, alcohol, amina, fosfato, ácido

fosfónico, tiol, ácido sulfónico y similares. El terminal carboxi del ácido graso activado se puede asociar con una fracción de colesterol u otro esterol. El terminal carboxi se puede modificar mediante la adhesión covalente de un agente activo secundario. Las modificaciones del terminal carboxi que incluyen un glicerol pueden no incluir un grupo nitró. Sin desear limitarse a ninguna teoría, la modificación del extremo terminal carboxi de los ácidos grasos activados tiolados puede mejorar la partición del ácido graso activado después de la administración y también puede mejorar la resiliencia del ácido graso activado al inhibir la beta-oxidación en las mitocondrias después de la administración.

Los compuestos de la presente invención aumentan la biodisponibilidad del ácido graso activado presente como un dímero dentro de la molécula tiolada. La tiolación del alqueno electrófilo protege la molécula a través del metabolismo de primer paso del tracto intestinal y del hígado. Esta protección se produce al impedir la reducción del alqueno por la prostaglandina reductasa 1 y retrasar la aducción con glutatión. Además, cuanto más larga es la cadena de polisulfuro, mayor es la estabilidad de la molécula, lo que proporciona una liberación prolongada del ácido graso activado en circulación. Cuando el ácido graso nitró tiolado libera el ácido graso nitró y un sulfuro de hidrógeno, se proporciona una medida protectora adicional.

En algunas de las realizaciones presentadas en el presente documento, el ácido graso tiolado libera polisulfuro de hidrógeno y en al menos una realización libera sulfuro de hidrógeno. El sulfuro de hidrógeno ( $H_2S$ ), junto con el óxido nítrico y el monóxido de carbono, es un gas biológicamente activo comúnmente denominado gasotransmisor o gasomediador. El  $H_2S$  se sintetiza a partir de cisteína dentro de la célula mediante la cistationina y liasa, cistationina  $\beta$  sintetasa o la 3-mercaptopiruvato sulfurtransferasa como una extensión de la ruta de transsulfuración y se encuentra principalmente en su forma aniónica  $HS^-$ . La reactividad del  $HS^-$  está influenciada principalmente por sus propiedades reductoras y nucleofílicas, así como por la capacidad del azufre para formar complejos con metales de transición. El  $H_2S$  modifica las proteínas, modula la función de los canales iónicos, inhibe la apoptosis y limita el estrés oxidativo en las células endoteliales, las células del músculo liso, las células inflamatorias, las mitocondrias, el retículo endoplásmico y los factores de transcripción nuclear. Específicamente,  $H_2S$  activa los canales KATP y el potencial receptor transitorio (TRP) e inhibe la gran conductancia  $Ca^{2+}$  sensible a  $K^+$  (BKCa), canales de calcio de tipo T y canales de calcio de tipo M, así como altera la translocación nuclear de NF- $\kappa$ B y numerosas quinasas, que incluyen p38, ERK y Akt. Estas rutas celulares y metabólicas alteradas se han implicado en una mejor salud y homeostasis cardiovascular. El  $H_2S$  participa activamente en la protección de los vasos sanguíneos, la regulación de la presión arterial y protege contra las lesiones y la inflamación del miocardio.

En algunas realizaciones, el ácido graso tiolado se puede administrar para lograr niveles fisiológicos y/o farmacológicos de  $H_2S$  para proteger los vasos sanguíneos, regular la presión arterial y limitar tanto la lesión como la inflamación del miocardio. El ácido graso tiolado liberará  $H_2S$  en la circulación para proteger los órganos distales de la inflamación, isquemia y reperfusión, hipoperfusión, anoxia e hipoxia y mantener la homeostasis vascular.

En las realizaciones descritas en el presente documento, la cantidad terapéuticamente eficaz de un ácido graso activado tiolado es desde aproximadamente 5 miligramos hasta aproximadamente 5000 miligramos. En las diversas realizaciones descritas anteriormente, una cantidad terapéuticamente eficaz de un ácido graso activado tiolado puede ser una dosis diaria o una dosis única dentro de un rango de una cantidad límite inferior y una cantidad límite superior. En algunas realizaciones, la cantidad límite inferior es aproximadamente 5 mg, aproximadamente 10 mg, aproximadamente 25 mg, aproximadamente 50 mg, aproximadamente 75 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 125 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 175 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 225 mg, aproximadamente 250 mg, aproximadamente 275 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 325 mg, aproximadamente 350 mg, aproximadamente 375 mg, aproximadamente 400 mg, aproximadamente 425 mg, aproximadamente 450 mg, aproximadamente 475 mg, aproximadamente 500 mg, aproximadamente 525 mg, aproximadamente 550 mg, aproximadamente 575 mg, aproximadamente 600 mg, aproximadamente 625 mg, aproximadamente 650 mg, aproximadamente 675 mg, aproximadamente 700 mg, aproximadamente 725 mg, aproximadamente 750 mg, aproximadamente 775 mg, aproximadamente 800 mg, aproximadamente 825 mg, aproximadamente 850 mg, aproximadamente 875 mg, aproximadamente 900 mg, aproximadamente 925 mg, aproximadamente 950 mg, aproximadamente 975 mg, aproximadamente 1000 mg, aproximadamente 1500 mg, aproximadamente 2000 mg, aproximadamente 2500 mg, aproximadamente 3000 mg, aproximadamente 3500 mg, aproximadamente 4000 mg, aproximadamente 4500 mg. En algunas realizaciones, la cantidad límite superior es aproximadamente 5000 mg, aproximadamente 4500 mg, aproximadamente 4000 mg, aproximadamente 3500 mg, aproximadamente 3000 mg, aproximadamente 2500 mg, aproximadamente 2000 mg, aproximadamente 1500 mg, 1000 mg, aproximadamente 975 mg, aproximadamente 950 mg, aproximadamente 925 mg, aproximadamente 900 mg, aproximadamente 875 mg, aproximadamente 850 mg, aproximadamente 825 mg, aproximadamente 800 mg, aproximadamente 775 mg, aproximadamente 750 mg, aproximadamente 725 mg, aproximadamente 700 mg, aproximadamente 675 mg, aproximadamente 650 mg, aproximadamente 625 mg, aproximadamente 600 mg, aproximadamente 575 mg, aproximadamente 550 mg, aproximadamente 525 mg, aproximadamente 500 mg, aproximadamente 475 mg, aproximadamente 450 mg, aproximadamente 425 mg, aproximadamente 400 mg, aproximadamente 375 mg, aproximadamente 350 mg, aproximadamente 325 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 275 mg, aproximadamente 250 mg, aproximadamente 225 mg,

aproximadamente 200 mg, aproximadamente 175 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 125 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 75 mg o aproximadamente 50 mg. En algunas realizaciones, la dosis diaria puede ser cualquier rango entre un límite superior y un límite inferior de los rangos previamente divulgados. En algunas realizaciones, la dosis diaria puede ser desde aproximadamente 25 mg a menos de 5 aproximadamente 450 mg, de aproximadamente 25 mg a aproximadamente 425 mg, de aproximadamente 25 mg a aproximadamente 400 mg, de aproximadamente 25 mg a aproximadamente 375 mg, de aproximadamente 25 mg a aproximadamente 350 mg, aproximadamente 25 mg a aproximadamente 325 mg, aproximadamente 25 mg a aproximadamente 300 mg, aproximadamente 25 mg a aproximadamente 275 mg, aproximadamente 25 mg a aproximadamente 250 mg, aproximadamente 25 mg a aproximadamente 225 mg, 10 aproximadamente 25 mg a aproximadamente 200 mg, aproximadamente 25 mg a aproximadamente 175 mg, o aproximadamente 25 mg a aproximadamente 150 mg. En algunas realizaciones, la dosis diaria puede ser desde aproximadamente 50 mg a aproximadamente 450 mg, de aproximadamente 75 mg a aproximadamente 450 mg, de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 450 mg, de aproximadamente 150 mg a aproximadamente 450 mg, de aproximadamente 175 mg a aproximadamente 450 mg, aproximadamente 200 mg a aproximadamente 450 mg, aproximadamente 225 mg a aproximadamente 450 mg, aproximadamente 250 mg a aproximadamente 450 mg, o aproximadamente 275 mg a aproximadamente 450 mg.

En las realizaciones descritas en el presente documento, la dosis diaria descrita anteriormente se puede administrar una vez al día. En las realizaciones descritas en el presente documento, la dosis diaria descrita anteriormente se puede administrar en cantidades iguales dos veces al día. En las realizaciones descritas en el presente documento, la dosis diaria descrita anteriormente se puede administrar en cantidades iguales tres veces al día. En las realizaciones descritas en el presente documento, la dosis diaria descrita anteriormente se puede administrar en cantidades iguales cuatro veces al día.

En las realizaciones descritas en el presente documento, una cantidad terapéuticamente eficaz de un ácido graso activado tiolado puede variar a medida que progresá el tratamiento. Por ejemplo, la dosis diaria (o régimen de dosificación) puede aumentarse o disminuirse a medida que el tratamiento avanza a lo largo de los ciclos de administración, o la dosis diaria puede aumentar o disminuirse durante la administración.

Los ácidos grasos activados tiolados descritos anteriormente se pueden preparar como una formulación farmacéuticamente aceptable. El término "farmacéuticamente aceptable" se utiliza en el presente documento para significar que el compuesto es apropiado para uso en un producto farmacéutico. Por ejemplo, los cationes farmacéuticamente aceptables incluyen iones metálicos e iones orgánicos. Los iones metálicos más preferidos incluyen, pero no se limitan a, sales de metales alcalinos apropiadas, sales de metales alcalinotérreos y otros iones metálicos fisiológicamente aceptables. Los iones de ejemplo incluyen aluminio, calcio, litio, magnesio, potasio, sodio y zinc en sus valencias habituales. Los iones orgánicos preferidos incluyen aminas terciarias protonadas y cationes de amonio cuaternario, que incluyen en parte trimetilamina, dietilamina, N,N'-dibenciletilendiamina, cloroprocaina, colina, dietanolamina, etilendiamina, meglumina (N-metilglucamina) y procaina. Los ácidos farmacéuticamente aceptables ejemplares incluyen, sin limitación, ácido clorhídrico, ácido yodhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico, ácido metanosulfónico, ácido acético, ácido fórmico, ácido tartárico, ácido maleico, ácido mágico, ácido cítrico, ácido isocítrico, ácido succínico, ácido láctico, 40 ácido glucónico, ácido glucurónico, ácido pirúvico, ácido oxalacético, ácido fumárico, ácido propiónico, ácido aspártico, ácido glutámico, ácido benzoico y similares.

La invención también abarca las formas isoméricas y tautoméricas de los ácidos grasos activados tiolados de la invención, así como las sales farmacéuticamente aceptables de estos compuestos. Se preparan sales farmacéuticamente aceptables a modo de ejemplo a partir de ácidos fórmico, acético, propiónico, succínico, glicólico, glucónico, láctico, mágico, tartárico, cítrico, ascóbico, glucurónico, maleico, fumárico, pirúvico, aspártico, glutámico, benzoico, antranílico, mesilílico, esteárico, salicílico, ácidos p-hidroxibenzoico, fenilacético, mandélico, embónico (pamoico), metanosulfónico, etanosulfónico, bencenosulfónico, pantoténico, toluenosulfónico, 2-hidroxietanosulfónico, sulfanílico, ciclohexilaminosulfónico, algénico, β-hidroxibutírico, galactárico y galacturónico.

50 Las sales de adición de bases farmacéuticamente aceptables adecuadas utilizadas en relación con los ácidos grasos activados tiolados de la invención incluyen sales de iones metálicos y sales de iones orgánicos. Sales de iones metálicos de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, sales apropiadas de metales alcalinos (grupo Ia), sales de metales alcalinotérreos (grupo IIa) y otros iones metálicos fisiológicamente aceptables. Dichas sales se pueden formar a partir de iones de aluminio, calcio, litio, magnesio, potasio, sodio y zinc. Las sales orgánicas preferidas se pueden preparar a partir de aminas terciarias y sales de amonio cuaternario, que incluyen en parte trimetilamina, dietilamina, N,N'-dibenciletilendiamina, cloroprocaina, colina, dietanolamina, etilendiamina, meglumina (N-metilglucamina) y procaina. Todas las sales anteriores pueden ser preparadas por los expertos en la técnica por medios convencionales a partir del correspondiente compuesto de la presente invención.

En las realizaciones descritas en el presente documento, la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un ácido graso activado tiolado, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, también incluye la administración de un agente secundario. En las realizaciones descritas en el presente documento, el agente

secundario se puede seleccionar de un grupo que consiste en un inhibidor de la ACE, un bloqueador del receptor de angiotensina II o una combinación de los mismos. En algunas realizaciones, el agente secundario puede ser elanapril. En las realizaciones descritas en el presente documento, el inhibidor de la ECA se puede seleccionar de un grupo que consiste en perindopril, captopril, enalapril, lisinopril, ramipril, zofenopril, quinapril, benazepril, imidapril, trandolapril, cilazapril y fosinopril. En las realizaciones descritas en el presente documento, el bloqueador del receptor de angiotensina II se puede seleccionar de un grupo que consiste en azilsartán, candesartán, eprosartán, irbesartán, losartán, olmesartán, telmisartán, valsartán, fimasartán y espironolactona.

En las realizaciones descritas en el presente documento, la cantidad terapéuticamente eficaz de un agente secundario es desde aproximadamente 2.5 miligramos a menos de aproximadamente 250 miligramos. En las realizaciones descritas en el presente documento, la dosis diaria del agente secundario puede ser desde aproximadamente 5 mg hasta aproximadamente 200 mg, aproximadamente 10 mg a aproximadamente 150 mg, aproximadamente 15 mg a aproximadamente 100 mg, aproximadamente 20 mg a aproximadamente 75 mg, aproximadamente 25 mg a aproximadamente 50 mg, o de aproximadamente 30 mg a aproximadamente 40 mg.

Los ácidos grasos activados tiolados de la invención se pueden administrar de cualquier manera convencional por cualquier ruta en la que sean activos. La administración puede ser sistémica o local. Por ejemplo, la administración puede ser, pero no se limita a, rutas parenteral, subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, transdérmica, oral, bucal u ocular, o intranasal, intravaginal, por inhalación, mediante inyecciones de depósito o mediante implantes. En las realizaciones descritas en el presente documento, la administración puede ser parenteral o intravenosa, todo en presencia o ausencia de aditivos estabilizantes que favorecen la captación sistémica prolongada, la vida media de tejido y el suministro intracelular. Por lo tanto, los modos de administración de los compuestos de la presente invención (ya sea solos o en combinación con otros productos farmacéuticos) pueden ser inyectables (que incluyen formas de acción corta, de depósito, de implante y de gránulos inyectadas por vía subcutánea o intramuscular). En las realizaciones descritas en el presente documento, se puede depositar una formulación inyectable que incluye un ácido graso activado tiolado en un sitio de lesión o inflamación, tal como, por ejemplo, el sitio de una incisión quirúrgica o un sitio de inflamación debido a artroscopia, angioplastia, colocación de stent, cirugía de bypass y así sucesivamente.

También se divulga un método para administrar ácidos grasos activados tiolados. Los modos de administración específicos pueden variar y pueden depender de la indicación. La selección de la ruta de administración específica y el régimen de dosis pueden ser ajustados o titulados por el médico de acuerdo con métodos conocidos por el médico para obtener la respuesta clínica óptima. La cantidad de compuesto que se va a administrar es aquella cantidad que sea terapéuticamente eficaz. La dosis a administrar dependerá de las características del sujeto que se está tratando, por ejemplo, el animal particular tratado, edad, peso, salud, tipos de tratamiento concurrente, si los hubiera, y frecuencia de los tratamientos, y se puede determinar fácilmente mediante un experto en la técnica (por ejemplo, por el médico). Los expertos en la técnica apreciarán que las dosificaciones se pueden determinar con guía, por ejemplo, a partir de Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, Ninth Edition (1996), Appendix II, pp. 1707-1711 o a partir de Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, Tenth Edition (2001), Appendix II, pp. 475-493. Además, para determinar la dosis equivalente humana a partir de estudios con animales se puede utilizar la publicación del Centro de Evaluación e Investigación de Medicamentos de la Administración de Alimentos y Medicamentos del Departamento de Salud y Servicios Humanos de EE. UU. <http://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm078932.pdf>.

Las formulaciones farmacéuticas que contienen los compuestos de la invención anterior y un portador adecuado pueden estar en diversas formas que incluyen, pero no se limitan a, sólidos, soluciones, polvos, emulsiones fluidas, suspensiones fluidas, semisólidos y polvos secos que incluyen una cantidad eficaz de un ácido graso activado tiolado de la invención. También se sabe en la técnica que los ingredientes activos pueden estar contenidos en dichas formulaciones con diluyentes, cargas, desintegrantes, aglutinantes, lubricantes, tensioactivos, vehículos hidrófobos, vehículos solubles en agua, emulsionantes, tampones, humectantes, humectadores, solubilizantes y antioxidantes, conservantes farmacéuticamente aceptables y similares. Los medios y métodos para la administración son conocidos en la técnica y un experto puede consultar diversas referencias farmacológicas como guía. Por ejemplo, se puede consultar Modern Pharmaceutics, Banker & Rhodes, Marcel Dekker, Inc. (1979); y Goodman & Gilman's, The Pharmaceutical Basis of Therapeutics, 6th Edition, MacMillan Publishing Co., New York (1980).

Los compuestos de la presente invención se pueden formular para administración parenteral o intravenosa mediante inyección, por ejemplo, mediante inyección en bolo o infusión continua. Las formulaciones para inyección pueden presentarse en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, en ampollas o en envases multidosis, con un conservante agregado. Las composiciones pueden tomar formas tales como suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, y pueden contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilizantes y/o dispersantes.

Se pueden formular preparaciones inyectables, por ejemplo, suspensiones acuosas u oleaginosas inyectables estériles de acuerdo con la técnica conocida utilizando agentes dispersantes o humectantes y agentes de suspensión adecuados. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o solvente no tóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo, como una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y solventes aceptables que se pueden emplear se encuentran agua, solución de Ringer y solución isotónica de cloruro de sodio. Además, convencionalmente se emplean aceites fijos estériles como solvente o medio de suspensión. Para este fin se puede emplear cualquier aceite fijo suave, que incluye monoglicéridos o diglicéridos sintéticos. Además, los diluyentes de ácidos grasos como el ácido oleico encuentran uso en la preparación de inyectables. Diluyentes de ácidos grasos adicionales que pueden ser útiles en realizaciones de la invención incluyen, por ejemplo, uno o más de ácido esteárico, estearato metálico, estearil fumarato de sodio, ácido graso, alcohol graso, éster de ácido graso, behenato de glicerilo, aceite mineral, aceite vegetal, parafina, leucina, sílice, ácido silícico, talco, éster de ácido graso de propilenglicol, aceite de ricino polietoxilado, polietilenglicol, polipropilenglicol, polialquilenglicol, éster graso de polioxietilenglicerol, éter de alcohol graso de polioxietileno, esterol polietoxilado, aceite de ricino polietoxilado, aceite vegetal polietoxilado y similares. En algunas realizaciones, el diluyente de ácidos grasos puede ser una mezcla de ácidos grasos. En algunas realizaciones, el ácido graso puede ser un éster de ácido graso, un éster de azúcar de ácido graso, un glicérido de ácido graso o un éster de ácido graso etoxilado, y en otras realizaciones, el diluyente de ácido graso puede ser un alcohol graso tal como, por ejemplo, alcohol estearílico, alcohol laurílico, alcohol palmitílico, ácido palmitolílico, alcohol cetílico, alcohol de caprilo, alcohol caprílico, alcohol oleílico, alcohol linolenílico, alcohol araquidónico, alcohol behenílico, alcohol isobehenílico, alcohol selaquílico, alcohol químílico y alcohol linoleílico y similares y mezclas de los mismos.

Otras realizaciones de la invención incluyen ácido graso activado tiolado preparado como se describió anteriormente que se formula como una forma de dosificación sólida para administración oral que incluye cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos y gránulos. En dichas realizaciones, el compuesto activo se puede mezclar con uno o más diluyentes inertes tales como sacarosa, lactosa o almidón. Dichas formas de dosificación también pueden comprender, como en la práctica normal, sustancias adicionales distintas de diluyentes inertes, por ejemplo, agentes lubricantes tales como estearato de magnesio. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las formas de dosificación también pueden contener agentes tampón y adicionalmente se pueden preparar con recubrimientos entéricos.

En las realizaciones descritas en el presente documento, la cantidad terapéuticamente eficaz del ácido graso activado tiolado está en una composición farmacéutica. La preparación de un ácido graso activado tiolado en forma de dosificación sólida puede variar. Por ejemplo, en una realización, se puede preparar una formulación líquida o de gelatina del ácido graso activado tiolado al combinar el ácido graso activado tiolado con uno o más diluyentes de ácidos grasos, tales como los descritos anteriormente, y agregar un agente espesante a la mezcla líquida para formar una gelatina. Luego, la gelatina se puede encapsular en forma de dosificación unitaria para formar una cápsula. En otra realización de ejemplo, una preparación oleosa de un ácido graso activado tiolado preparado como se describió anteriormente se puede liofilizar para formar un sólido que se puede mezclar con uno o más excipientes, portadores o diluyentes farmacéuticamente aceptables para formar un comprimido, y en aún otra realización, el ácido graso activado tiolado de una preparación oleosa se puede cristalizar en un sólido que se puede combinar con un excipiente, portador o diluyente farmacéuticamente aceptable para formar un comprimido.

Otras realizaciones que pueden ser útiles para la administración oral de ácidos grasos activados tiolados incluyen formas de dosificación líquidas. En dichas realizaciones, una dosificación líquida puede incluir una emulsión, solución, suspensión, jarabe y elixir farmacéuticamente aceptable que contiene diluyentes inertes comúnmente utilizados en la técnica, tales como agua. Dichas composiciones también pueden comprender adyuvantes, tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, y agentes edulcorantes, aromatizantes y perfumantes.

En aún realizaciones adicionales, los ácidos grasos activados tiolados de la invención se pueden formular como una preparación de depósito. Dichas formulaciones de acción prolongada se pueden administrar mediante implantación (por ejemplo, por vía subcutánea o intramuscular) o mediante inyección intramuscular. Las inyecciones de depósito se pueden administrar en aproximadamente 1 a aproximadamente 6 meses o intervalos más largos. De esta manera, por ejemplo, los compuestos se pueden formular con materiales poliméricos o hidrófobos adecuados (por ejemplo, como una emulsión en un aceite aceptable) o resinas de intercambio iónico, o como derivados poco solubles, por ejemplo, como una sal poco soluble.

Otros diluyentes adecuados para formulaciones inyectables incluyen, pero no se limitan a, los que se describen a continuación:

Aceite vegetal: Como se utiliza en el presente documento, el término "aceite vegetal" se refiere a un compuesto, o mezcla de compuestos, formado a partir de la etoxilación de aceite vegetal, en el que al menos una cadena de polietilenglicol está unida covalentemente al aceite vegetal. En algunas realizaciones, la cantidad de etoxilación puede variar desde aproximadamente 2 hasta aproximadamente 200, de aproximadamente 5 a 100, de aproximadamente 10 a aproximadamente 80, de aproximadamente 20 a aproximadamente 60 o de

aproximadamente 12 a aproximadamente 18 de unidades repetidas de etilenglicol. El aceite vegetal puede estar hidrogenado o no hidrogenado. Los aceites vegetales adecuados incluyen, pero no se limitan a aceite de ricino, aceite de ricino hidrogenado, aceite de sésamo, aceite de maíz, aceite de maní, aceite de oliva, aceite de girasol, aceite de cártamo, aceite de soja, benzoato de bencilo, aceite de sésamo, aceite de semilla de algodón y aceite de palma. Otros aceites vegetales adecuados incluyen aceites sintéticos disponibles comercialmente tales como, pero no se limitan a, Miglyol™ 810 y 812 (disponibles en Dynamit Nobel Chemicals, Suecia) Neobee™ M5 (disponible en Drew Chemical Corp.), Alofine™ (disponible en Jarchem Industries), Lubritab™ serie (disponible en JRS Pharma), el Sterotex™ (disponible en Abitec Corp.), Softisan™ 154 (disponible en Sasol), Croduret™ (disponible en Croda), Fancol™ (disponible en Fanning Corp.), Cutina™ HR (disponible en Cognis), Simulsol™ (disponible de CJ Petrow), EmCon™ CO (disponible en Amisol Co.), Lipvol™ CO, SES y HS-K (disponibles en Lipo) y Sterotex™ HM (disponible en Abitec Corp.). Otros aceites vegetales adecuados, que incluyen los aceites de sésamo, ricino, maíz y semilla de algodón, incluyen los enumerados en R. C. Rowe and P. J. Shesky, Handbook of Pharmaceutical Excipients, (2006), 5th ed. Los aceites vegetales polietoxilados adecuados incluyen pero no se limitan a, Cremaphor™ Serie EL o RH (disponible en BASF), Emulphor™ EL-719 (disponible en Stepan products) y Emulphor™ EL-620P (disponible en GAF).

Aceites minerales: Como se utiliza en el presente documento, el término "aceite mineral" se refiere tanto a aceite mineral refinado como sin refinar (ligero). Los aceites minerales adecuados incluyen, pero no se limitan a, Avatech™ grados (disponibles en Avatar Corp.), Drakeol™ grados (disponibles en Penreco), Sirius™ grados (disponibles en Shell) y la citación™ grados (disponibles en Avater Corp.).

Aceites de ricino: Como se utiliza en el presente documento, el término "aceite de ricino" se refiere a un compuesto formado a partir de la etoxilación del aceite de ricino, en el que al menos una cadena de polietilenglicol está unida covalentemente al aceite de ricino. El aceite de ricino puede estar hidrogenado o no hidrogenado. Los sinónimos de aceite de ricino polietoxilado incluyen, pero no se limitan a aceite de ricino polioxilado, aceite de ricino polioxilado hidrogenado, microgolgliceroli ricinoleas, macrogolgliceroli hidroxiestearas, aceite de ricino polioxilado 35 y aceite de ricino hidrogenado polioxilado 40. Los aceites de ricino polietoxilados adecuados incluyen, pero no se limitan a, el Nikkol™ Serie HCO (disponible en Nikko Chemicals Co. Ltd.), tal como Nikkol HCO-30, HC-40, HC-50 y HC-60 (aceite de ricino hidrogenado con polietilenglicol-30, aceite de ricino hidrogenado con polietilenglicol-40, aceite de ricino hidrogenado con polietilenglicol-50 y aceite de ricino hidrogenado con polietilenglicol-60, Emulphor™ EL-7 19 (aceite de ricino 40 moles etoxilato, disponible en Stepan Products), el Cremophore™ serie (disponible en BASF), que incluye Cremophore RH40, RH60 y EL35 (aceite de ricino hidrogenado con polietilenglicol-40, aceite de ricino hidrogenado con polietilenglicol-60 y aceite de ricino hidrogenado con polietilenglicol-35, respectivamente), y Emulgin® Series RO y HRE (disponibles en Cognis PharmaLine). Otros derivados de aceite de ricino de polioxietileno adecuados incluyen los enumerados en R. C. Rowe and P. J. Shesky, Handbook of Pharmaceutical Excipients, (2006), 5th ed.

Esterol: Como se utiliza en el presente documento, el término "esterol" se refiere a un compuesto, o mezcla de compuestos, derivado de la etoxilación de una molécula de esterol. Los esteroles polietoxilados adecuados incluyen, pero no se limitan a, éter de colesterol PEG-24, Solulan™ C-24 (disponible en Amerchol); Colestanol PEG-30, Nikkol™ DHC (disponible en Nikko); Fitosterol, GENEROL™ serie (disponible en Henkel); Fitoesteroles PEG-25, Nikkol™ BPSH-25 (disponible en Nikko); Esterol de soja PEG-5, Nikkol™ BPS-5 (disponible en Nikko); Esterol de soja PEG-10, Nikkol™ BPS-10 (disponible en Nikko); Esterol de soja PEG-20, Nikkol™ BPS-20 (disponible en Nikko); y esterol de soja PEG-30, Nikkol™ BPS-30 (disponible en Nikko). Como se utiliza en el presente documento, el término "PEG" se refiere a polietilenglicol.

Polietilenglicol: Como se utiliza en el presente documento, el término "polietilenglicol" o "PEG" se refiere a un polímero que contiene unidades monómeras de etilenglicol de fórmula -O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>- . Los polietilenglicoles adecuados pueden tener un grupo hidroxilo libre en cada extremo de la molécula de polímero, o pueden tener uno o más grupos hidroxilo eterificados con un alquilo inferior, por ejemplo, un grupo metilo. También son adecuados los derivados de polietilenglicoles que tiene grupos carboxi esterificables. Los polietilenglicoles útiles en la presente invención pueden ser polímeros de cualquier longitud de cadena o peso molecular, y pueden incluir ramificación. En algunas realizaciones, el peso molecular promedio del polietilenglicol es desde aproximadamente 200 hasta aproximadamente 9000. En algunas realizaciones, el peso molecular promedio del polietilenglicol es desde aproximadamente 200 hasta aproximadamente 5000. En algunas realizaciones, el peso molecular promedio del polietilenglicol es desde aproximadamente 200 hasta aproximadamente 900. En algunas realizaciones, el peso molecular promedio del polietilenglicol es aproximadamente 400. Los polietilenglicoles adecuados incluyen, pero no se limitan a polietilenglicol-200, polietilenglicol-300, polietilenglicol-400, polietilenglicol-600 y polietilenglicol-900. El número que sigue al guion en el nombre se refiere al peso molecular promedio del polímero. En algunas realizaciones, el polietilenglicol es polietilenglicol-400. Los polietilenglicoles adecuados incluyen, pero no se limitan a, Carbowax™ y Carbowax™ Serie Sentry (disponible en Dow), el Lipoxol™ serie (disponible en Brenntag), Lutrol™ serie (disponible en BASF) y Pluriol™ serie (disponible en BASF).

Éster de ácido graso de propilenglicol: Como se utiliza en el presente documento, el término "éster de ácido graso de propilenglicol" se refiere a un monoéster o diéster, o mezclas de los mismos, formado entre

propilenglicol o polipropilenglicol y un ácido graso. Los ácidos grasos que son útiles para obtener éteres de alcoholes grasos de propilenglicol incluyen, pero no se limitan a los definidos en el presente documento. En algunas realizaciones, el monoéster o diéster se deriva de propilenglicol. En algunas realizaciones, el monoéster o diéster tiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 200 unidades de oxipropileno. En algunas realizaciones, la porción de polipropilenglicol de la molécula tiene de aproximadamente 2 a 10 5 aproximadamente 100 unidades de oxipropileno. En algunas realizaciones, el monoéster o diéster tiene de aproximadamente 4 a aproximadamente 50 unidades de oxipropileno. En algunas realizaciones, el monoéster o diéster tiene de aproximadamente 4 a aproximadamente 30 unidades de oxipropileno. Los ésteres de ácidos grasos de propilenglicol adecuados incluyen, pero no se limitan a, lauratos de propilenglicol: Lauroglicol™ FCC y 90 (disponibles en Gattefosse); caprilatos de propilenglicol: Capryol™ PGMC y 90 (disponibles en Gattefosse); y dicaprilocapratos de propilenglicol: Labrafac™ PG (disponible en Gattefosse).

Glicérido de estearoil macrogol: El glicérido de estearoil macrogol se refiere a un glicérido poliglicolizado sintetizado predominantemente a partir de ácido esteárico o de compuestos derivados predominantemente de ácido esteárico, aunque también se pueden utilizar en la síntesis otros ácidos grasos o compuestos derivados de otros ácidos grasos. Los glicéridos de estearoil macrogol adecuados incluyen, pero no se limitan a, Gelucire® 50/13 (disponible en Gattefosse).

En algunas realizaciones, el componente diluyente comprende uno o más de manitol, lactosa, sacarosa, maltodextrina, sorbitol, xilitol, celulosa en polvo, celulosa microcristalina, carboximetilcelulosa, carboxietilcelulosa, metilcelulosa, etilcelulosa, hidroxietilcelulosa, metilhidroxietilcelulosa, almidón, glicolato de almidón de sodio, almidón pregelatinizado, un fosfato de calcio, un carbonato metálico, un óxido metálico o un aluminosilicato metálico.

Los excipientes o portadores de ejemplo para uso en formas de dosificación sólidas y/o líquidas incluyen, pero no se limitan a:

Sorbitol: Los sorbitoles adecuados incluyen, pero no se limitan a, PharmSorbitex E420 (disponible en Cargill), Liponic 70-NC y 76-NC (disponible en Lipo Chemical), Neosorb (disponible en Roquette), Partech SI (disponible en Merck) y Sorbogem. (disponible en SPI Polyols).

El almidón, el glicolato de almidón sódico y el almidón pregelatinizado incluyen, pero no se limitan a, los descritos en R. C. Rowe and P. J. Shesky, Handbook of Pharmaceutical Excipients, (2006), 5th ed.

Desintegrante: El desintegrante puede incluir uno o más de croscarmelosa de sodio, carmelosa de calcio, crospovidona, ácido algínico, alginato de sodio, alginato de potasio, alginato de calcio, una resina de intercambio iónico, un sistema efervescente basado en ácidos alimentarios y un componente de carbonato alcalino, arcilla, talco, almidón, almidón pregelatinizado, glicolato de almidón de sodio, flóculo de celulosa, carboximetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, silicato de calcio, un carbonato metálico, bicarbonato de sodio, citrato de calcio o fosfato de calcio.

También se divulga, pero no dentro del alcance de las reivindicaciones, la afección que se va a tratar puede ser, pero no se limita a, afecciones inflamatorias, obesidad, síndrome metabólico, enfermedad renal aguda, enfermedad renal crónica, aterogénesis, adipogénesis, proliferación de la neoíntima, lesión I/R y xenobiótica renal, lesión I/R miocárdica focal, hipertensión sistémica inducida por Ang II, hipertensión pulmonar, fibrosis cardíaca y pulmonar, enfermedad inflamatoria intestinal, nocicepción, accidente cerebrovascular, degeneración de la neurona motora, diabetes, asma y COPD.

En determinadas realizaciones, la afección inflamatoria puede ser preservación de órganos para trasplante, osteoarthritis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), aterosclerosis, hipertensión, rechazo de aloinjertos, enfermedad inflamatoria pélvica, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, inflamación alérgica en el pulmón, caquexia, accidente cerebrovascular, insuficiencia cardíaca congestiva, fibrosis pulmonar, hepatitis, glioblastoma, síndrome de Guillain-Barré, lupus eritematoso sistémico, miocarditis viral, protección de órganos postrasplante, pancreatitis aguda, enfermedad del intestino irritable, inflamación general, enfermedad autoinmunitaria, enfermedad autoinflamatoria, estenosis arterial, rechazo de trasplante de órganos y quemaduras, lesión pulmonar crónica y dificultad respiratoria, diabetes insulinodependiente, diabetes no insulinodependiente, hipertensión, obesidad, artritis, trastornos neurodegenerativos, lupus, enfermedad de Lyme, gota, sepsis, hipertermia, úlceras, enterocolitis, osteoporosis, infecciones virales o bacterianas, citomegalovirus, enfermedad periodontal, glomerulonefritis, sarcoidosis, enfermedad pulmonar, inflamación pulmonar, fibrosis del pulmón, asma, síndrome de dificultad respiratoria adquirida, enfermedad pulmonar inducida por el tabaco, formación de granulomas, fibrosis del hígado, enfermedad de injerto contra huésped, inflamación posquirúrgica, reestenosis de vasos coronarios y periféricos después de angioplastia, colocación de stent o injerto de derivación, injerto de derivación de arteria coronaria (CABG), leucemia aguda y crónica, leucemia de linfocitos B, enfermedades neoplásicas, arteriosclerosis, atherosclerosis, inflamación del miocardio, psoriasis, inmunodeficiencia, coagulación intravascular diseminada, esclerosis sistémica, esclerosis lateral amiotrófica, esclerosis múltiple, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, encefalomielitis, edema, enfermedad inflamatoria intestinal, síndrome de hiper IgE, metástasis o crecimiento del cáncer, inmunoterapia

adoptiva, síndrome de reperfusión, quemaduras por radiación, alopecia areta, isquemia, infarto de miocardio, estenosis arterial, artritis reumatoide, reestenosis coronaria, deterioro neurocognitivo y resistencia a la insulina.

En las realizaciones descritas en el presente documento, la composición para uso en un método para tratar la inflamación, obesidad, síndrome metabólico, enfermedad renal aguda y enfermedad renal crónica comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de un ácido graso activado tiolado definido en el presente documento y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

En las realizaciones descritas en el presente documento, la composición para uso en un método para tratar la inflamación, obesidad, síndrome metabólico, enfermedad renal aguda y enfermedad renal crónica comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de un ácido graso activado tiolado definido en el presente documento y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en el que el ácido graso activado tiolado proporciona una liberación prolongada de un ácido graso activado.

En las realizaciones descritas en el presente documento, la composición para utilizar en un método para tratar la inflamación, obesidad, síndrome metabólico, enfermedad renal aguda y enfermedad renal crónica comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de un ácido graso activado tiolado definido en el presente documento y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en el que se previene la reducción de un alqueno de ácido graso activado por la prostaglandina reductasa 1.

En las realizaciones descritas en el presente documento, la composición para uso en un método para tratar la inflamación, obesidad, síndrome metabólico, enfermedad renal aguda y enfermedad renal crónica comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de un ácido graso activado tiolado definido en el presente documento y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en el que se retrasa la aducción de un ácido graso activado con glutatión.

En las realizaciones descritas en el presente documento, la composición para uso en un método para tratar la inflamación comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de un ácido graso activado tiolado definido en el presente documento y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en el que se evitan los efectos secundarios negativos del tracto gastrointestinal de un sujeto. Son reducidos. Los efectos secundarios del tracto gastrointestinal pueden incluir diarrea, calambres, irritación, enfermedad inflamatoria intestinal, colitis y úlceras.

La presente invención, descrita de esta manera en general, se entenderá más fácilmente con referencia a los siguientes ejemplos, que se proporcionan a modo de ilustración y no pretenden ser limitativos de la presente invención.

#### Ejemplos

##### Ejemplo 1:

Se sintetizó un ácido graso electrófilo tiolado de ejemplo mediante reacción directa de ácido nitrooleico con un exceso de 3 a 5 veces de sulfuro de sodio o hidrosulfuro de sodio en una solución de metanol y tampón fosfato de pH 9. Se disolvió ácido Nitro-oleico ( $\text{NO}_2\text{-OA}$ ) en metanol para su solubilidad y se agregó lentamente a una solución de sulfuro en tampón, luego se agitó a temperatura ambiente durante dos horas bajo una atmósfera de nitrógeno. La reacción se detuvo y se agitó brevemente con ácido diluido y cloruro de amonio acuoso saturado, luego se sometió a partición y se extrajo con éter dietílico. La solución se elaboró mediante métodos estándar y se purificó mediante cromatografía ultrarrápida. Los productos se identificaron como dímeros, una combinación de diastereómeros con un número variable de átomos de azufre puente mediante análisis de RMN y LCMS.

Luego se probó si el  $\text{NO}_2\text{-OA}$  tiolado purificado expresaría la modulación de la expresión genética y el fenotipo antioxidante deseados en células de macrófagos murinos (RAW264.7). Esto se reflejó en el aumento de la activación de la transcripción dependiente de Nrf2 de la hemo oxigenasa 1, la NAD(P)H deshidrogenasa quinona 1 y la subunidad modificadora de glutamato-cisteína ligasa en comparación con los controles. El  $\text{NO}_2\text{-OA}$  tiolado indujo una respuesta antioxidante dependiente de la dosis en células RAW264.7 similar a la del  $\text{NO}_2\text{-OA}$  a las 4 y 8 horas. Sin embargo, en momentos posteriores la inducción de genes activados por  $\text{NO}_2\text{-OA}$  tiolado fue mucho mayor que el tratamiento de  $\text{NO}_2\text{-OA}$  (16 y 24 horas). Adicionalmente, el análisis de espectrometría de masas en tandem con cromatografía líquida de alta resolución mostró que el  $\text{NO}_2\text{-OA}$  tiolado libera  $\text{NO}_2\text{-OA}$  libre que luego exhibe un perfil similar de beta-oxidación y saturación de ácidos grasos. Estos resultados apoyan que el  $\text{NO}_2\text{-OA}$  tiolado puede ser un candidato a profármaco viable que evita la inactivación del fármaco de primer paso por el tracto gastrointestinal y el hígado, y tras la reversión del producto de tiolación EXHIBE un perfil metabólico y biológico similar al  $\text{NO}_2\text{-OA}$  libre.

Resumen: EL profármaco OA- $\text{NO}_2\text{-Sx}$  se sintetizó y purificó con éxito, los espectros de RMN se muestran en la Figura 1, los genes dependientes de Nrf2 (HO-1, NQO-1, GCLM) son inducidos por OA- $\text{NO}_2\text{-Sx}$  y el perfil metabólico de OA- $\text{NO}_2\text{-Sx}$  indica la liberación y el metabolismo de OA- $\text{NO}_2$  del profármaco.

Se trataron células de macrófagos murinos (RAW264.7) con NO<sub>2</sub>-OA tiolado purificado durante 4 horas. El ARN se extrajo utilizando el método Trizol, se cuantificó utilizando tecnología nanodrop, se transcribió de forma inversa en ADNc y luego se realizó una PCR cuantitativa utilizando ensayos Taqman. Hubo un aumento dependiente de la dosis de la transcripción dependiente de Nrf2 de la hemo oxigenasa 1 (HO-1, Figura 2), la NAD(P)H deshidrogenasa quinona 1 (NQO-1, Figura 3) y la subunidad modificadora de la glutamato-cisteína ligasa (GCLM), Figura 4) después del tratamiento con NO<sub>2</sub>-OA tiolado durante 4 horas respecto a los controles (cambio de medio o concentraciones bajas o altas de metanol, que se utilizó como vehículo para solvatar el OA-NO<sub>2</sub> o OA-NO<sub>2</sub>-Sx). La concentración de 50 μM de OA-NO<sub>2</sub>-Sx indujo un perfil de activación de Nrf2 similar para HO-1, NQO-1 y GCLM (18.0, 6.8 y 6.3 veces, respectivamente) que 5 μM de OA-NO<sub>2</sub> (23.5, 7.7, 6.8 veces para HO-1, NQO1 y GCLM, respectivamente) en el punto de tiempo de 4 horas.

Detalles experimentales: En cada experimento, las células RAW264.7 se trataron con 7.5, 15, 50 y 100 μM de OA-NO<sub>2</sub>-Sx, 5 μM de OA-NO<sub>2</sub>, dos concentraciones de metanol (MeOH) para igualar la cantidad más baja y más alta de vehículo (5 y 100 μM) y solo un control de medio. Dentro de cada experimento, hubo dos o tres réplicas biológicas por grupo de tratamiento. Después del tratamiento, el ARN se extrajo utilizando el método Trizol, se cuantificó utilizando tecnología nanodrop, se transcribió de forma inversa en ADNc y luego se realizó una PCR cuantitativa (qPCR) utilizando ensayos Taqman. En cada experimento de qPCR, hubo dos réplicas técnicas por muestra de ARN. Luego se promediaron las dos réplicas técnicas para cada réplica biológica. Las barras en el gráfico representan la media ± error estándar de la media (EEM) de las réplicas biológicas.

Resultados: Aumento de la transcripción dependiente de Nrf2 hemooxigenasa 1 (HO-1), NAD(P)H quinona deshidrogenasa 1 (NQO-1) y gamma-glutamil cistenil ligasa (GCLM) después del tratamiento de OA-NO<sub>2</sub>-Sx y OA-NO<sub>2</sub> en células RAW264.7 durante 4 horas.

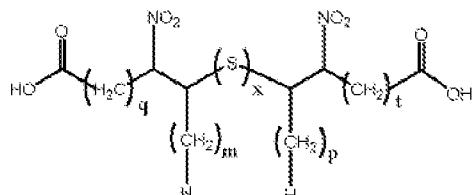
Se trataron células de macrófagos murinos (RAW264.7) con 50 μM de OA-NO<sub>2</sub>-Sx, 5 μM de OA-NO<sub>2</sub>, MeOH (la mayor cantidad de vehículo agregado a las células RAW para igualar la concentración más alta, que es 50 μM para OA-NO<sub>2</sub>-Sx) y solo medio durante 4, 8, 16 y 24 horas. El ARN se extrajo en cada momento utilizando el método Trizol, se cuantificó utilizando tecnología nanodrop, se transcribió de forma inversa en ADNc y luego se realizó una PCR cuantitativa utilizando ensayos Taqman. En la Figura 5, los niveles de ARNm en estado estacionario de HO-1 alcanzaron el máximo alrededor de 8 horas para OA-NO<sub>2</sub>-Sx (116.5 veces) y OA-NO<sub>2</sub> (30.7 veces) en comparación con los controles de medios y vehículos y volvió a los niveles basales a las 24 horas. A las 16 horas, los niveles de ARNm de HO-1 aún estaban significativamente elevados con tratamiento OA-NO<sub>2</sub>-Sx (7.5 veces) mientras que el tratamiento de OA-NO<sub>2</sub> volvió al valor inicial (similar a los controles de medios y vehículos). En la Figura 6, los niveles de ARNm de NQO-1 alcanzaron su punto máximo entre 8 y 16 horas para OA-NO<sub>2</sub> (115.0 y 98.9 veces, respectivamente) Sin embargo, los niveles de ARNm de NQO-1 fueron significativamente mayores con OA-NO<sub>2</sub>-Sx en comparación con OA-NO<sub>2</sub> a las 16 horas (701.1 veces para OA-NO<sub>2</sub>-Sx frente a 98.9 veces para OA-NO<sub>2</sub>). Hubo una tendencia similar en cuanto a que los niveles de ARNm de GCLM (Figura 7) permanecieron elevados para OA-NO<sub>2</sub>-Sx (30.0 veces) en comparación con 1.7 veces para tratamiento con 5 μM de OA-NO<sub>2</sub> a las 16 horas. Los datos de las Figuras 5 a 7 demuestran que en momentos posteriores la inducción de genes activados por NO<sub>2</sub>-OA tiolado fue mucho mayor que con el tratamiento de NO<sub>2</sub>-OA (principalmente a las 8 y 16 horas y en menor medida a las 24 horas), que sugieren NO<sub>2</sub>-OA tiolado es un profármaco viable.

Detalles experimentales: Se trataron células de macrófagos murinos (RAW264.7) con 50 μM de OA-NO<sub>2</sub>-Sx, 5 μM de OA-NO<sub>2</sub>, MeOH (la mayor cantidad de vehículo agregado a las células RAW para igualar la concentración más alta, que es 50 μM para OA-NO<sub>2</sub>-Sx) y solo medio durante 4, 8, 16 y 24 horas. El ARN se extrajo en cada momento utilizando el método Trizol, se cuantificó utilizando tecnología nanodrop, se transcribió de forma inversa en ADNc y luego se realizó una PCR cuantitativa para HO-1, NQO-1 y GCLM (multiplexada con actina) utilizando ensayos Taqman. Dentro de cada experimento independiente, cada tratamiento tuvo al menos dos réplicas biológicas en cada punto de tiempo. Los datos representan dos experimentos independientes como media ± EEM.

Resultados: Curso temporal de hemo oxigenasa 1 (HO-1), NAD(P)H quinona deshidrogenasa 1 (NQO-1) y gamma-glutamil cistenil ligasa (GCLM) después del tratamiento con 50 μM de OA-NO<sub>2</sub>-Sx o 5 μM de OA-NO<sub>2</sub> durante 4, 8, 16 y 24 horas.

## REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende una cantidad eficaz de un ácido nitrograso tiolado de la fórmula:



- 5 en la que x es de 1 a 5; y q, m, p y t son, independientemente, de 1 a 10, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y  
un excipiente farmacéuticamente aceptable.
2. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1 para uso en el tratamiento de inflamación, obesidad, síndrome metabólico, enfermedad renal aguda o enfermedad renal crónica, dicho uso comprende administrar  
10 la composición a un sujeto que la necesite.
3. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 2, en la que el ácido nitrograso tiolado proporciona una liberación prolongada de un ácido nitrograso.
4. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 3, en la que el ácido nitrograso tiolado libera el ácido nitrograso y un sulfuro de hidrógeno.
- 15 5. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 2, en la que se evita la reducción de un alqueno de ácido nitrograso.
6. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 2, en la que se retrasa la aducción de un ácido nitrograso con glutatión.
- 20 7. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 2, en la que se reducen los efectos secundarios de los ácidos nitrograsos.
8. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 7, en la que los efectos secundarios del tracto gastrointestinal se seleccionan del grupo que consiste en diarrea, calambres irritación, enfermedad inflamatoria intestinal, colitis y úlceras.
- 25 9. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 2, en la que la afección inflamatoria se selecciona del grupo que consiste en afecciones inflamatorias, obesidad, síndrome metabólico, enfermedad renal aguda, enfermedad renal crónica, aterogénesis, adipogénesis, proliferación neointimal, lesión I/R y xenobiótica renal, lesión focal I/R del miocardio, hipertensión sistémica inducida por Ang II, hipertensión pulmonar, fibrosis cardíaca y pulmonar, enfermedad inflamatoria intestinal, nocicepción, accidente cerebrovascular, degeneración de la neurona motora, diabetes y COPD.

30

# ES 2 982 757 T3

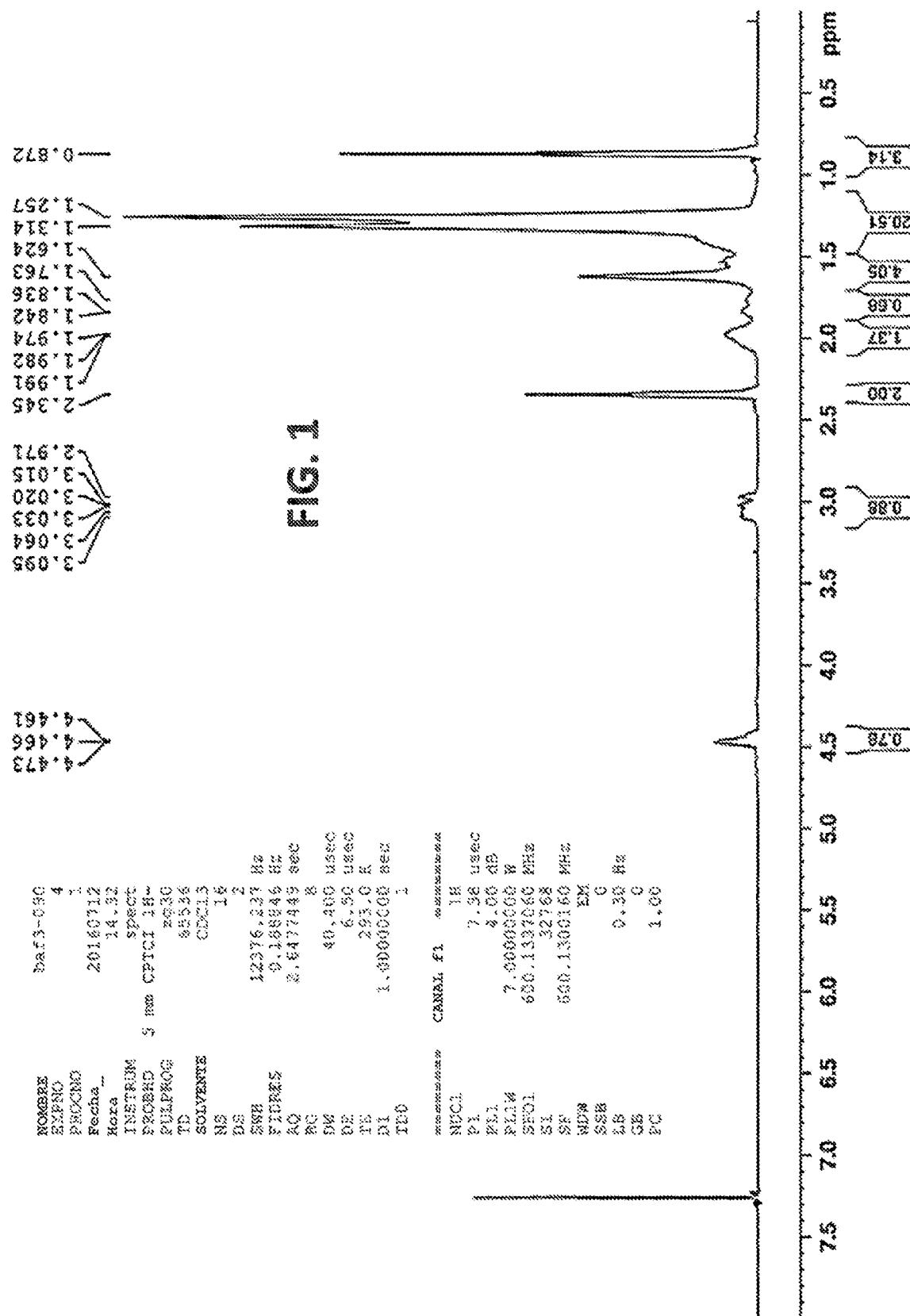
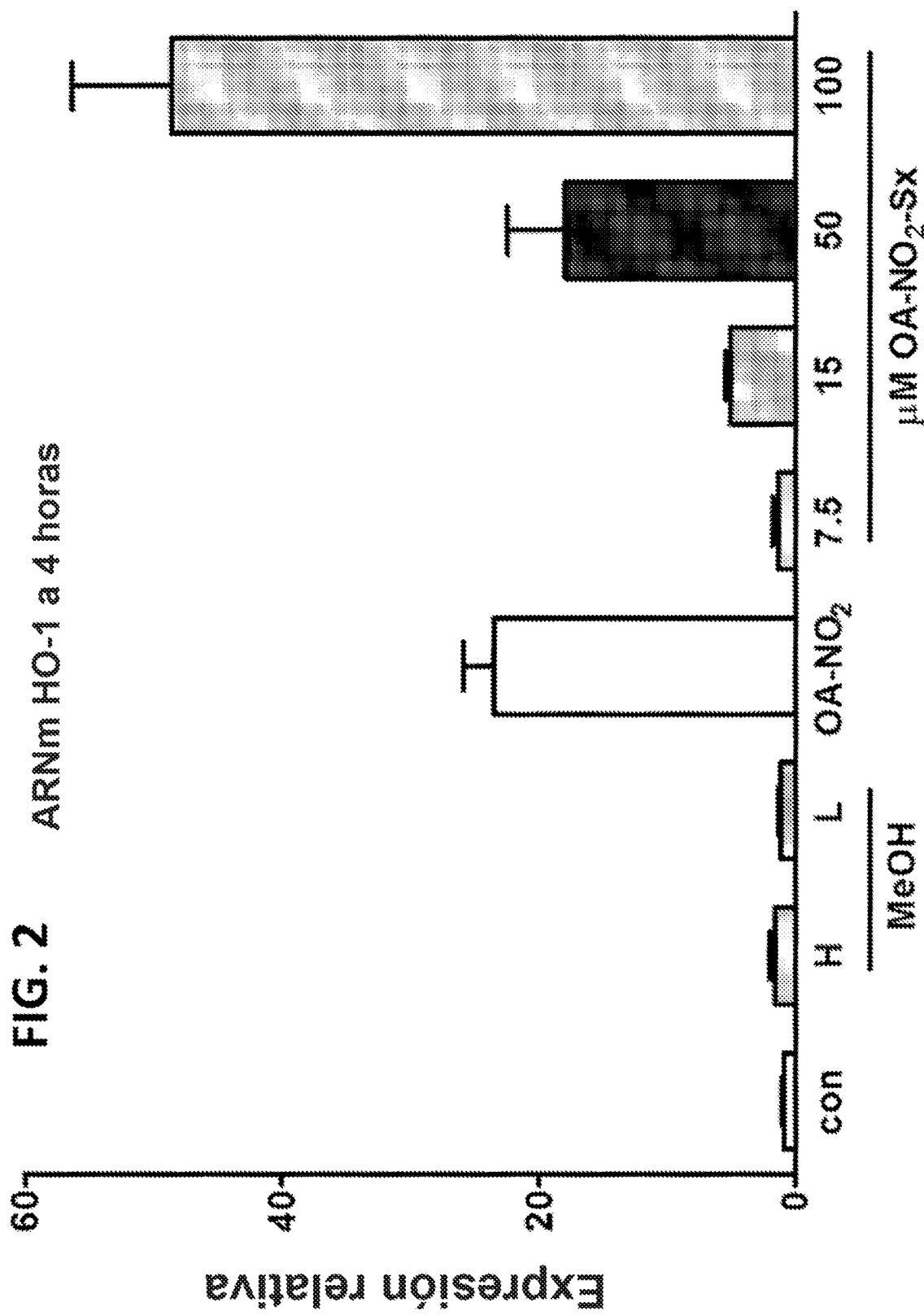
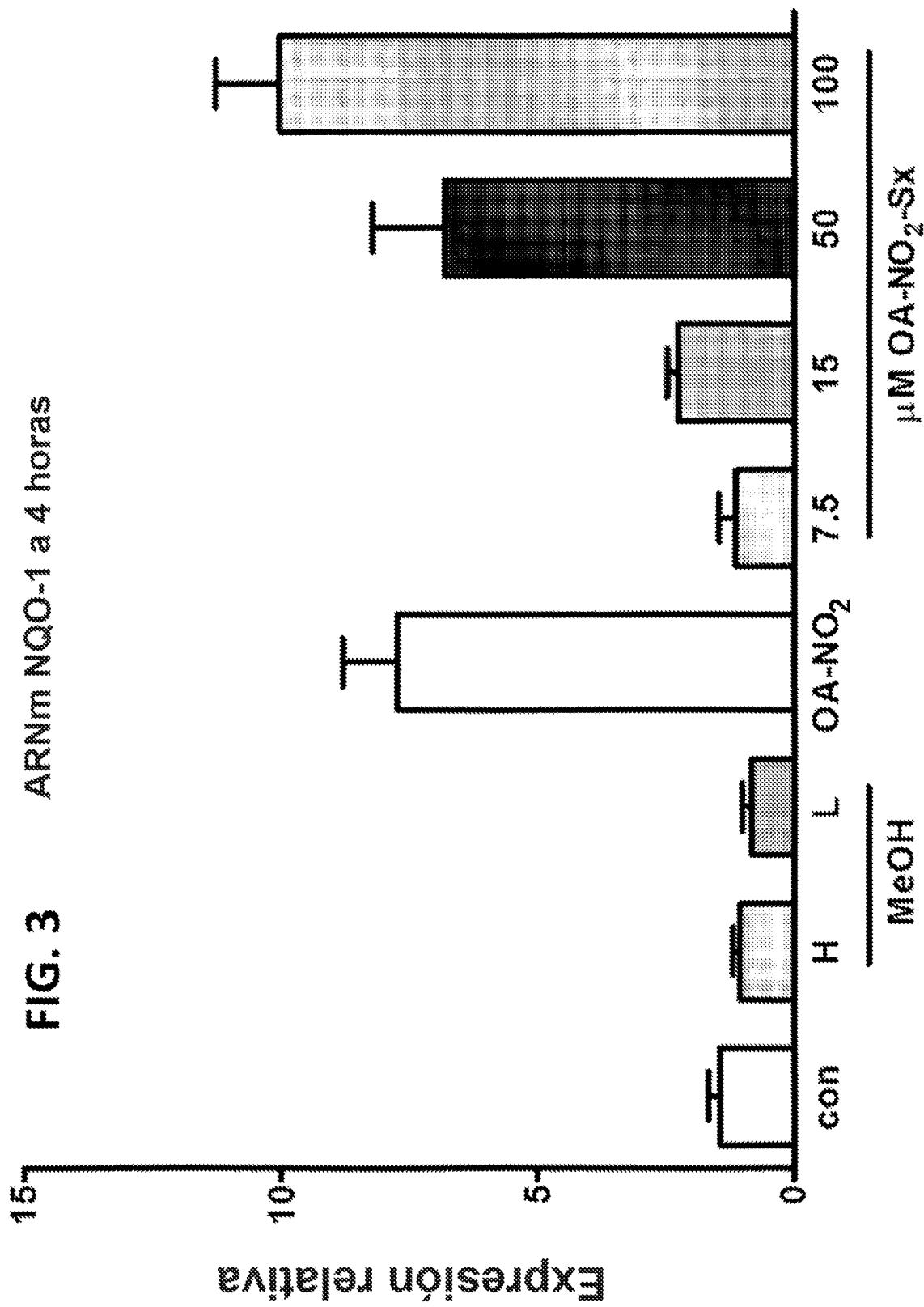


FIG. 2 ARNm HO-1 a 4 horas



**FIG. 3** ARNm NQO-1 a 4 horas



**FIG. 4** ARNm GCLM a 4 horas

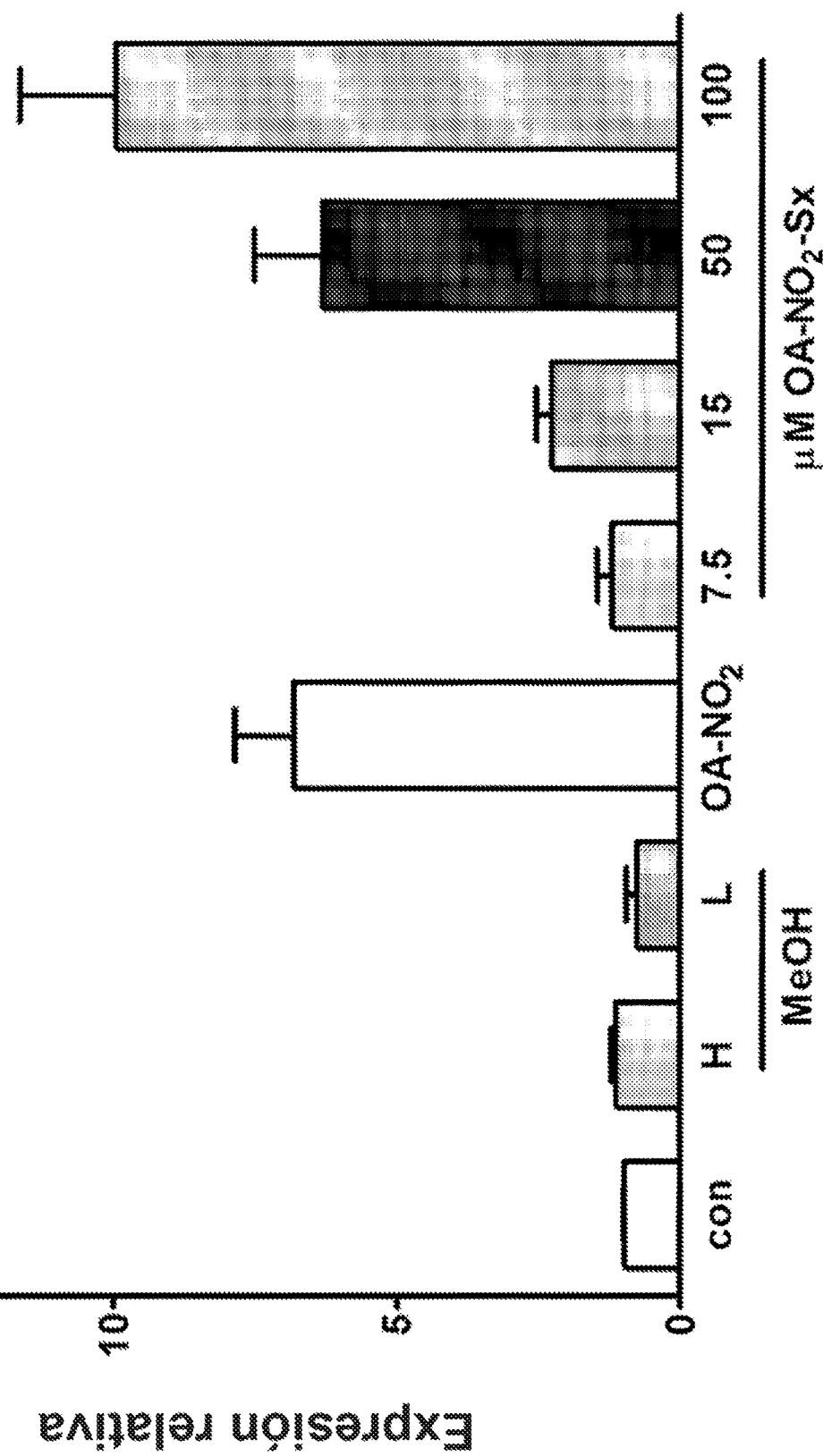
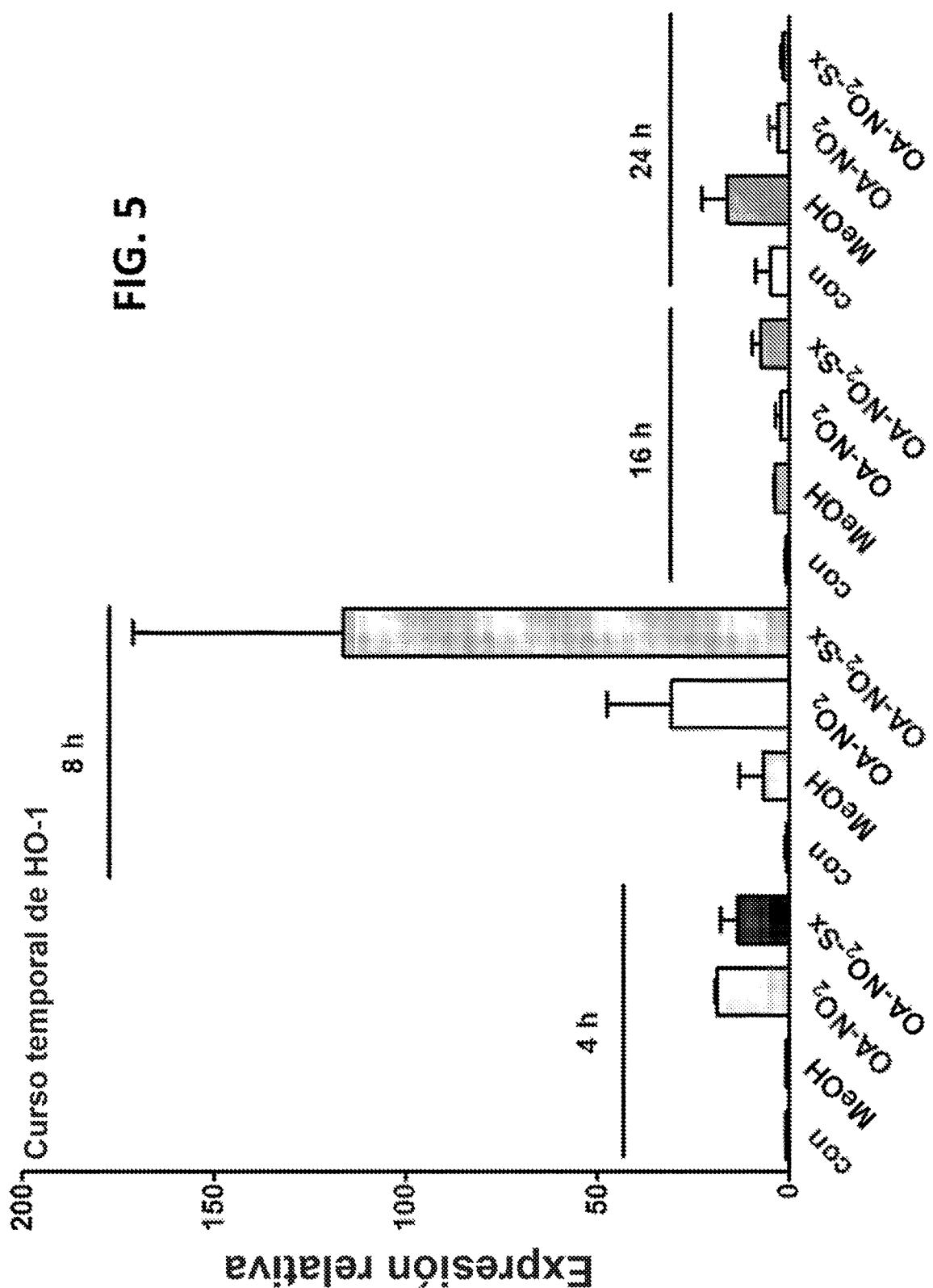


FIG. 5



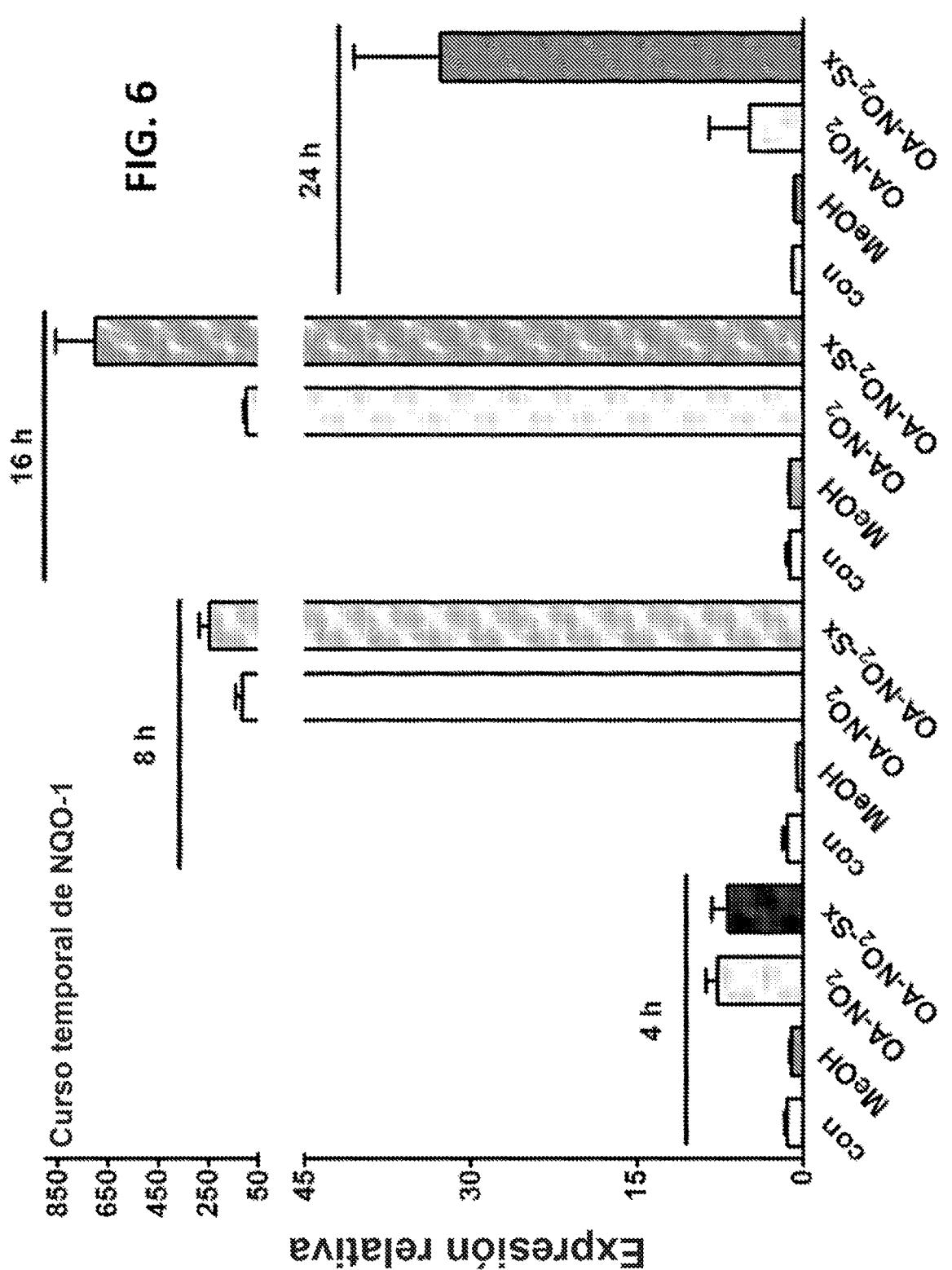


FIG. 7

