



No. 13-261736-00000-0000

Fecha: 2013-11-06 11:16:21
Tra. 11 PATENTEIYII
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Eve: 378 FASENACIONALI
Folios: 354 **353**



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

DELEGATURA PROPIEDAD INDUSTRIAL

PATENTE DE INVENCION
PCT

EXPEDIENTE No _____

TITULO ANÁLOGOS DE ÁCIDO
EPOXIEICOSATRIENOICO Y MÉTODOS
PARA ELABORARLOS Y UTILIZARLOS

CLASIFICACION INTERNACIONAL _____

SOLICITANTE: THE MEDICAL COLLEGE OF
WISCONSIN ; THE BOARD OF REGENTS OF THE
UNIVERSITY OF TEXAS SYSTEM

DOMICILIO: ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA

APODERADO LUZ HELENA ADARVE GOMEZ

BOGOTA D.C. _____

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO  No. 13-261736- -00000-0000 Fecha: 2013-11-06 11:16:21 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI Act. 411 PRESENTACION Folios: 354 353
---	---

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
SOLICITUD FASE NACIONAL -PCT

1	(12) TIPO DE SOLICITUD	X X	Patente de invención Capitulo I	Patente de Modelo de Utilidad Capitulo II	
2	DATOS SOLICITUD INTERNACIONAL PCT (86)				
Solicitud Internacional No.		PCT/US2012/032090		Fecha	04.04.2012
Publicación Internacional No.		WO 2012/138706 A1		Fecha	11.10.2012
3	(54) TÍTULO DE LA INVENCIÓN (200 caracteres o espacios máximos)				
ANÁLOGOS DE ÁCIDO EPOXIEICOSATRIENOICO Y MÉTODOS PARA ELABORARLOS Y UTILIZARLOS					
4	CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL (51) CIP				
5	(71) SOLICITANTE (S) ☐ Esta persona también es inventor. Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria				
APELLIDOS O RAZÓN SOCIAL		NOMBRE		IDENTIFICACIÓN	
1. THE MEDICAL COLLEGE OF WISCONSIN					
6	DATOS DEL SOLICITANTE				
DIRECCIÓN		8701 Watertown Plank Road, WI 53226		No. TELÉFONO 313 7800	
CIUDAD		Milwaukee		E-MAIL infopi@cardenasycardenas.com	
DEPARTAMENTO/ESTADO		Wisconsin		NACIONALIDAD O LUGAR DE CONSTITUCIÓN	
PAÍS DE RESIDENCIA		Estados Unidos de América			
7	(72) INVENTOR (ES) Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria				
APELLIDOS		NOMBRES		NACIONALIDAD	
1 IMIG		John David		Americano	
2.CAMPBELL		William, B.		Americano	
3. FALCK		John Russell		Americano	
4.					
5.					
8	DATOS INVENTOR (ES)				
PAÍS RESIDENCIA		DEPARTAMENTO/ ESTADO		CIUDAD	
1.Estados Unidos de América		Wisconsin		Pewaukee	
2. Estados Unidos de América		Wisconsin		Whitefish Bay	
3.Estados Unidos de América		University Park		Texas	
4.					
5.					
OTRO(S) SOLICITANTE(S) Y/O (OTRO(S)) INVENTOR(ES)					
Los demás solicitantes y/o (demás) inventores se indican en una hoja a continuación.					
9	(74)	REPRESENTANTE		X	APODERADO
APELLIDOS		NOMBRES		IDENTIFICACIÓN	
ADARVE GOMEZ		LUZ HELENA		C.C.41575435 BTA T.P.14884 CSJ	
DIRECCIÓN		Carrera 7 No 71-52 TB P9		No. TELÉFONO 313 7800	
CIUDAD		Bogotá D.C.		E-MAIL infopi@cardenasycardenas.com	
PAÍS		Colombia		No. DE PROTOCOLO EN LA OFICINA	

2

10	(30)	DECLARACIONES DE PRIORIDAD	X	SI		NO
(33) PAÍS DE ORIGEN		CÓDIGO PAÍS	(31) NÚMERO		(32) FECHA (AAAA/MM/DD)	
1.Estados Unidos de América		US	61/472,410		06.04.2011	
2.Estados Unidos de América		US	61/608,361		08.03.2012	
3.						

11	DECLARACIÓN SOBRE USO DE RECURSOS GENÉTICOS O BIOLÓGICOS					
Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de recursos genéticos o biológicos de los que cualquiera de los países miembros de la Comunidad Andina es país de origen.						
☐ SI ☐ NO						
Nota: En caso afirmativo deberá anexar copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, o certificado o número de registro, expedido por la Autoridad competente.						

12	DECLARACIÓN SOBRE USO DE CONOCIMIENTOS TRADICIONALES					
Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de conocimientos tradicionales de comunidades indígenas, afroamericanas o locales de países miembros de la Comunidad Andina.						
☐ SI ☐ NO						
Nota: En caso afirmativo deberá anexar la licencia o autorización de uso de conocimiento tradicional, o certificado, o número de registro expedido por la Autoridad competente.						

13	REDUCCIÓN DE TASAS					
Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente.						
☐ SI ☐ NO						
Nota: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.						

Micro, pequeñas y medianas empresas		Universidades públicas o privadas		Entidades sin ánimo de lucro	
☐	Copia simple de la declaración de renta del año inmediatamente anterior, o en su defecto prueba documental idónea.	☐	Copia acto de reconocimiento institucional emitido por el Ministerio de Educación. Acreditación Colciencias.	☐	Copia de registro vigente en Cámara de comercio.
☐	Documento de constancia de cumplimiento con lo establecido en la ley 905 de 2004.			☐	Hoja de información complementaria.
				☐	Otros, especificar

14	AUTORIZACIÓN DE NOTIFICACIÓN EN LÍNEA		SI		NO
----	---------------------------------------	--	----	--	----

Manifiesto que he leído y entendido perfectamente los términos y condiciones de uso de medios electrónicos para las notificaciones en línea a través de Internet de los actos administrativos proferidos por la Superintendencia de Industria y Comercio que deben ser notificados personalmente y, en consecuencia, autorizo el servicio de notificación a través de internet.

14	COMPROBANTE DE PAGO O PAGO ELECTRÓNICO	N°	13-112108 / 13-112109	Fecha	05.11.2013
----	--	----	-----------------------	-------	------------

15	FIRMA DEL SOLICITANTE, DEL APODERADO O DEL REPRESENTANTE LEGAL				
Junto a cada firma, indicar el nombre del firmante y su calidad (si tal calidad no es obvia al leer el petitorio)					

LUZ HELENA ADARVE GOMEZ ABM

16	ORDEN Y RELACIÓN DE DOCUMENTOS QUE ACOMPAÑAN LA SOLICITUD				
----	---	--	--	--	--

Documentación Técnica			Documentación Jurídica				
Solicitud Internacional en castellano							
1.	☒	Descripción	N° de folios:	185	9.	☐	Poderes, si fuera el caso.
2.	☒	Reivindicaciones.....	N° Reivindicaciones	15	10.	☐	Documento que legalmente pruebe la cesión del inventor al solicitante o a su causante
3.	☒	Dibujos y/o figuras	N° folios:	29	11.	☐	Copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, certificado o número de registro, si fuera el caso.
4.	☒	Resumen.			12.	☐	Copia de la licencia o autorización de Conocimientos Tradicionales, certificado o número de registro, si fuera el caso.
5.	☐	Certificado de depósito de material biológico si fuera el caso			13.	☐	Documento que acredita la existencia y representación legal, cuando el solicitante es persona jurídica.
6.	☐	Listado de secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos en forma digital si fuera el caso			14.	☒	Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
7.	☒	Arte final 12 x 12.			15.	☒	Comprobante de pago por reivindicación de prioridad.
8.	☐	Anexo formato digital.			16.	☐	Comprobante de pago de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación.
					17.	☐	Comprobante de pago por reivindicación adicional a 10.

1	(12) TIPO DE SOLICITUD		NUMERO DE RADICACIÓN	
☒ Patente de invención ☐ Patente de Modelo de Utilidad			FECHA DE PRESENTACIÓN	
4	(71) SOLICITANTE (S)			
APELLIDOS O RAZÓN SOCIAL		NOMBRE	IDENTIFICACIÓN	TIPO
2. THE BOARD OF REGENTS OF THE UNIVERSITY OF TEXAS SYSTEM				
3.				
4.				
5	DATOS DEL SOLICITANTE			
PAÍS DE RESIDENCIA		DEPARTAMENTO/ESTADO	CIUDAD	DIRECCIÓN
2. Estados Unidos de América		Texas	Austin	201 W. 7th St., 78701
3.				
4.				
TELÉFONO		FAX	E-MAIL	NACIONALIDAD
2.3 137800		312 2410	infopi@cardenasycardenas.com	Americano
3.				
4.				
6	(72) INVENTOR (ES)			
APELLIDOS		NOMBRE	NACIONALIDAD	
6.				
7.				
8.				
9.				
10.				
11.				
12.				
7	DATOS INVENTOR (ES)			
DIRECCIÓN		CIUDAD	DEPARTAMENTO/ESTADO	PAÍS RESIDENCIA
6.				
7.				
8.				
9.				
10.				
11.				
12.				
9	(30) DECLARACIONES DE PRIORIDAD			
PAÍS DE ORIGEN		CÓDIGO PAÍS	NÚMERO	FECHA (AAAA/MM/DD)
4.				
5.				
6.				
7.				
8.				
9.				
10.				

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -



RECIBO DE CAJA

No. 13 - 112108

Bogotá D.C., Noviembre 05 de 2013 - 12:31:49

RECIBIDO DE : CARDENAS & CARDENAS ABOGADOS PI LTDA NI 830.083.491

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	214003930	05/11/2013	5.070.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNDITARIO	Vr. CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN	500.000.00	500.000.00
				\$500.000.00

SON: **QUINIENTOS MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____
Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 13-261736-00000-0000
Fecha: 2013-11-06 11:16:21 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYI Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 257 353

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C. - Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Noviembre 5 de 2013 - 12:31:51

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -



RECIBO DE CAJA

No. 13 - 112109

Bogotá D.C., Noviembre 05 de 2013 - 12:31:49

RECIBIDO DE : CARDENAS & CARDENAS ABOGADOS PI LTDA NI 830.083.491

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	214003930	05/11/2013	5.070.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNIDITARIO	Vr. CONCEPTO
5	50005-01-01 SOLICITUDES	1607 REIVINDICACION PATENTE UNITARIA ADICIONAL A LAS 10 INIC	30.000.00	150.000.00
				\$150.000.00

SON: **CIENTO CINCUENTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 13-261736- -00000-0000

Fecha: 2013-11-06 11:16:21
Tra. 11 PATENTEIYII
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Eve: 378 FASENACIONALI
Folios: 354 353

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mai: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Noviembre 5 de 2013 - 12:31:51

☐

Patente de Invención

☐

Patente modelo de utilidad

☒

PCT

(21) No de solicitud	(51) int. Cl:
(22) Fecha de solicitud	(71) Solicitante (s) THE MEDICAL COLLEGE OF WISCONSIN; THE BOARD OF REGENTS OF THE UNIVERSITY OF TEXAS SYSTEM
(30) Prioridad	(72) Inventor (es) John David Imig; William B. Campbell; John Russell Falck
(31) No Prioridad 61/472,410 / 61/608,361	
(32) Fecha 06.04.2011 / 08.03.2012	
(33) País US -US	(74) Apoderado (s) LUZ HELENA ADARVE GOMEZ
(54) Título ANÁLOGOS DE ACIDO EPOXIEICOSATRIENOICO Y MÉTODOS OARA ELABORARLOS Y UTILIZARLOS	
Las casillas identificadas con 85, 86 y 87 sólo aplican para PCT	
(85) Fecha límite de inicio Fase Nacional 06.11.2013	
(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT Fecha de presentación de la solicitud 04.04.2012 No de Solicitud PCT PCT/US2012/032090	(87) Publicación internacional Fecha 11.10.2012 No Publicación WO 2012/138706 A1

Resumen reivindicación (es):
Los compuestos y composiciones que comprenden análogos de ácido epoxieicosatrienoico (EET) que actúan como agonistas EET y son útiles como medicamentos en el tratamiento de nefrotoxicidad inducida por fármaco, hipertensión y otras afecciones relacionadas. Se describen adicionalmente métodos para elaborar y utilizar los compuestos y composiciones.

	SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO									
	DIVISION DE NUEVÁS CREACIONES									
	TARJETA DE ARCHIVO PROPIETARIOS									
	PATENTE DE INVENCION			PCT	X	MODELO DE UTILIDAD			DISEÑO INDUSTRIAL	
(21) No de solicitud:				(22) Fecha de solicitud:						
(51) Clasificación Internacional:										
(71)Solicitante(s) THE MEDICAL COLLEGE OF WISCONSIN; THE BOARD OF REGENTS OF THE UNIVERSITY OF TEXAS SYSTEM										
(72) Inventor(es) John David Imig; William B. Campbell; John Russell Falck										
(74) Apoderado: LUZ HELENA ADARVE GOMEZ										
(30) Prioridad		(31) No Prioridad		(32) Fecha		(33) País				
		61/472,410		06.04.2011		US				
		61/608,361		08.03.2012		US				
(85) Fecha inicio fase nacional: 06.11.2013										
(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT										
Fecha de presentación de la solicitud: 04.04.2012										
No de solicitud: PCT/US2012/032090										
(54) Título ANÁLOGOS DE ACIDO EPOXIEICOSATRIENOICO Y MÉTODOS OARA ELABORARLOS Y UTILIZARLOS										

ANÁLOGOS DE ÁCIDO EPOXIEICOSATRIENOICO Y MÉTODOS PARA
ELABORARLOS Y UTILIZARLOS

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

5

[0001] Esta solicitud reivindica el beneficio de la
Solicitud Provisional Estadounidense No. 61/472,410,
presentada en Abril 6, 2011, y la Solicitud Provisional
Estadounidense No. 61/608,361 presentada en Marzo 8, 2012,
10 ambas de las cuales se incorporan aquí mediante referencia
para todos los propósitos.

DECLARACIÓN CON RESPECTO A INVESTIGACIÓN FEDERALMENTE
PATROCINADA

15

[0002] Esta invención se hace con apoyo gubernamental en
virtud de DK38226, HL59699, GM31278, y HL51055 otorgado por
los Institutos Nacionales de Salud. El gobierno tiene ciertos
derechos en la invención.

20

CAMPO DE LA INVENCION

[0003] Esta invención se relaciona de manera general con
análogos de ácido epoxieicososatrienoico (EET). Más
25 particularmente, la presente invención se dirige a análogos
EET que actúan como agonistas EET y son útiles como
medicamentos en el tratamiento de nefrotoxicidad inducida por
fármaco, hipertensión y otras afecciones relacionadas.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

[0004] Los ácidos epoxieicosatrienoicos (EET) son moléculas de señalización que pueden actuar como hormonas de rango corto, (es decir son mediadores autocrinos y paracrinos) del sistema cardiovascular y del riñón. Estos producen vasorelajación así como también efectos anti-inflamatorios y pro-fibrinolíticos.

10

[0005] **Hipertensión y Afecciones Relacionadas.** La enfermedad cardiovascular aflige 81 millones de las 300 millones de personas en los Estados Unidos, y 75 millones de estas personas tienen hipertensión. Los metabolitos de epoxigenasa CYP tienen acciones biológicas que están implicadas como contribuyentes importantes para la función cardiovascular y control de la presión sanguínea.

15

[0006] Una de las primeras actividades biológicas descritas para ácidos epoxieicosatrienoicos (EET) es la inhibición de reabsorción renal de sodio tubular. Posteriormente, se determinan los EET para dilatar los vasos sanguíneos y se identifican como factores hiperpolarizantes derivados de endotelio (EDHF). Estas acciones biológicas son consistentes con la idea que los EET serían eicosanoides que contribuyen a la disminución de la presión sanguínea y evitan la hipertensión sensible a la sal.

20

25

11

[0007] Los niveles alterados de EET pueden contribuir a la hipertensión en humanos. Un polimorfismo de nucleótidos único en un gen de epoxigenasa CYP se asocia con hipertensión. Los estudios experimentales en roedores también han demostrado la hipertensión en condiciones en donde se reducen los niveles de EET y/o de enzima de epoxigenasa CYP de riñón. El aumento de los niveles de EET con 11,12-EET-SI, un análogo 11,12-EET, mejora la función arteriolar renal aferente *in vitro*.

10

[0008] Actualmente, los inhibidores de hidrolasa de epóxido soluble (sEHI) se utilizan *in vivo* para aumentar los niveles EET y esto resulta en un aumento generalizado en 11,12-EET y 14, 15-EET y a un grado menor 8,9-EET. Estudios *in vivo* recientes han demostrado que los análogos EET disminuyen la presión sanguínea en ratas hipertensas, y también mejora el fenotipo del síndrome metabólico en ratones deficientes de hemo-oxigenasa 2 y evita el daño renal y vascular relacionado con adiposidad. No parece como si algunos de los agonistas EET como NUDSA también pueden inhibir sEH y aumentar la expresión de epoxigenasa CYP2C. Este tipo de actividad combinatoria descrita para NUDSA puede proporcionar efectos benéficos agregados. Como un todo, estos hallazgos han generado interés en dirigir la ruta de epoxigenasa CYP y los EET para el tratamiento de la hipertensión.

25

[0009] Incluso los EET tienen acciones en el transporte renal tubular y la función vascular que son esenciales para la regulación de la presión sanguínea que ha hecho evidente que las acciones biológicas adicionales atribuidas a los EETs
5 las hacen un excelente objetivo terapéutico para otras enfermedades cardiovasculares. Estas actividades adicionales demuestran que los EET incluyen la inhibición de agregación de plaqueta y anti-inflamación. También se ha encontrado que los EET tienen efectos en la proliferación y migración
10 vascular, que incluye promover la angiogenia. Sin embargo, los EET tienen un objetivo terapéutico para el daño final del órgano asociado con enfermedades cardiovasculares, lesión isquémica cardíaca, aterosclerosis, y apoplejía.

15 [0010] El potencial terapéutico para los agonistas EET y sEHI se pueden extender más allá de la hipertensión y enfermedades cardiovasculares. La protección neuronal de lesión isquémica se ha atribuido a las acciones sEHI en vasos sanguíneos y neuronas. Se presenta evidencia creciente de que
20 los sEHI proporcionan protección del daño isquémico en el cerebro y corazón a través de los efectos en las cascadas de señalización apoptóticas. Los agonistas EET y sEHI también ha demostrado que modula el dolor en diversos modelos de animal experimentales. Se aseguran que se descubren otras posibles
25 aplicaciones terapéuticas para agonistas EET cuando estos agentes se prueban en otros modelos de enfermedad.

[0011] De acuerdo con lo anterior, se presenta una necesidad en la técnica de agonistas EET novedosos que son efectivos como agentes terapéuticos contra hipertensión y enfermedad cardiovascular y neural relacionada.

5

[0012] **Nefrotoxicidad inducida por fármaco.** Un efecto colateral común de muchos fármacos utilizados en el tratamiento de diversas afecciones es nefrotoxicidad. Por ejemplo, cisplatina, un compuesto inorgánico con base en platino, es uno de los agentes de quimioterapia más potentes y ampliamente utilizados disponibles para tratar una variedad de cánceres, que incluyen cánceres de ovario, pulmón, testicular y de vejiga. Aunque, se utiliza cisplatina como un fármaco importante para quimioterapia en la clínica, han habido efectos adversos potencialmente letales. El más común de estos efectos adversos es nefrotoxicidad (25-40 % de pacientes tratados con cisplatina que desarrollan falla renal aguda), que limita el uso efectivo y seguro de este agente quimioterapéutico ampliamente utilizado. La patofisiología de nefrotoxicidad inducida por cisplatina implica tensión oxidativa mejorada, inflamación, tensión del retículo endoplásmico aumentado (ER) y apoptosis de célula renal.

[0013] El EET es un mediador de lípidos importante que ejerce una serie de acciones que incluyen actividades anti-inflamatorias, antioxidantes y anti-apoptóticas. Una serie de estudios demuestra que con las actividades anti-

inflamatorias, anti-apoptóticas y antioxidantes, el EET posee fuerte potencial protector de órganos. Por ejemplo, aumento de la biodisponibilidad EET que resulta de conversión reducida de EET para su forma menos activa mediante el

5 inhibidor hidrolasa epóxido soluble (sEH) proporciona protección del riñón en una serie de modelos preclínicos de enfermedades humanas. Estos estudios demuestran que el efecto protector del riñón del EET se relaciona con efectos anti-inflamatorios y anti-oxidativos de EET. De hecho, se presenta

10 fuerte evidencia de que el EET tiene efectos anti-inflamatorios contra inflamación aguda y crónica. Aparte de la inflamación, el EET también protege las células de apoptosis. Sin embargo, se presentan fuertes evidencias de la capacidad de EET para proteger el órgano mediante mecanismos

15 que implican sus actividades anti-inflamatorias, anti-apoptóticas y antioxidantes.

[0014] Sin embargo, se sabe que los EET producidos endógenamente son químicamente o metabólicamente lábiles.

20 También, el metabolismo rápido, baja solubilidad y problema de almacenamiento limitan el prospecto terapéutico de EET. Como dicho interés considerable ha surgido en el desarrollo de estrategias para mejorar la biodisponibilidad de EET. En este esfuerzo, se han hecho intentos para desarrollar

25 análogos EET que poseen actividad imitadora EET junto con diversas características clave importantes para estabilidad y bio-disponibilidad. Diversos dichos análogos EET han

demostrado una serie de actividades biológicas que incluyen protección del órgano.

[0015] En el presente estudio hemos investigado el efecto protector del riñón de dos análogos EET oralmente activos nuevamente desarrollados en nefrotoxicidad inducida por cisplatina. Hemos demostrado que los análogos EET ofrecen protección renal marcada durante la administración de cisplatina y este efecto se relaciona con su tensión antioxidante, anti-inflamatoria, anti-ER y anti-apoptótico. Hemos demostrado adicionalmente que mientras se protege el riñón de los efectos nefrotóxicos perjudiciales de cisplatina, estos análogos EET no comprometen el efecto terapéutico de cisplatina.

15

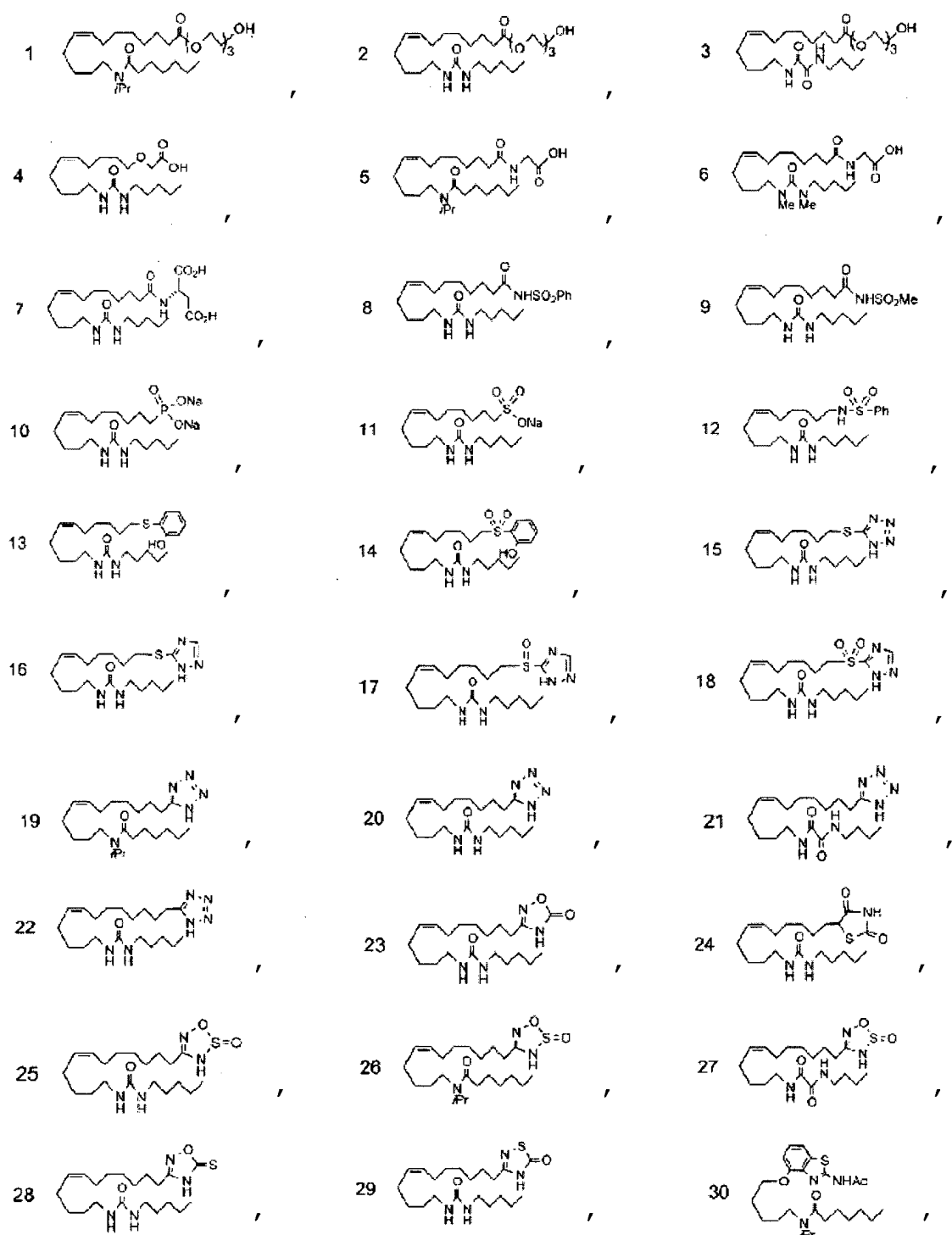
[0016] De acuerdo con lo anterior, se presenta una necesidad en la técnica de análogos EET novedosos que son activos como agentes terapéuticos contra los efectos perjudiciales de cisplatina.

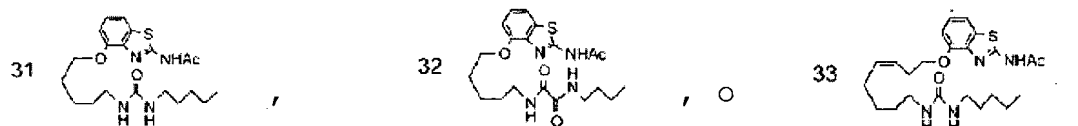
20

RESUMEN DE LA INVENCION

[0017] Aquí, los inventores demuestran composiciones novedosas de análogos de ácidos epoxieicosatrienoicos (EET) y métodos para utilizarlos para el tratamiento de enfermedad cardiovascular, particularmente el uso de dichas composiciones como agentes anti-hipertensivos.

[0018] De acuerdo con lo anterior, la invención abarca en un primer aspecto ciertos compuestos que son análogos 14,15-EET. En ciertas realizaciones, el compuesto tiene la estructura de uno cualquiera de los siguientes compuestos.





[0019] En una realización, la invención comprende los compuestos 7 y 30.

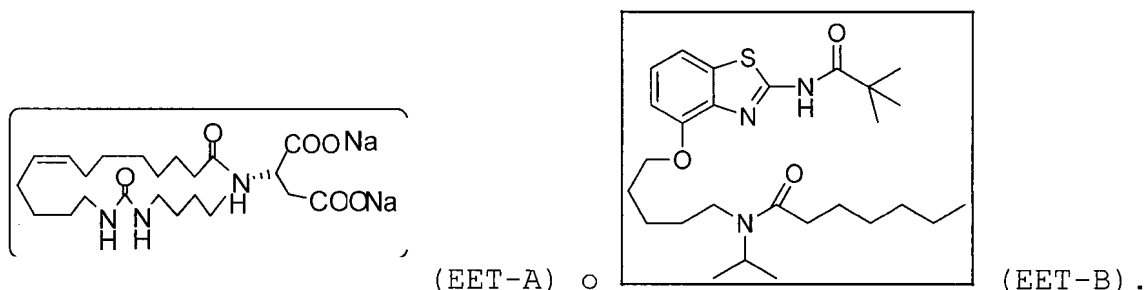
[0020] En otro aspecto, la invención proporciona un método para elaborar cualquiera de los compuestos 1-33 como se describe y reivindica aquí.

[0021] Los compuestos de acuerdo con la invención are, en ciertas realizaciones, proporcionados en la forma de una composición que comprende un compuesto como se describe y reivindica aquí en combinación con un portador farmacéuticamente aceptable.

[0022] La presente invención abarca adicionalmente métodos para proporcionar tratamiento de la hipertensión en un sujeto, que resulta en una reducción en la presión sanguínea en un sujeto. Dichos métodos incluyen las etapas de administrar a un sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de cualquiera de los compuestos 1-33, solos o en combinación, como se describe y reivindica aquí, por lo que se reduce la presión sanguínea en el sujeto. En una realización, el método comprende administrar el compuesto 7.

En una realización alterna el método comprende administrar el compuesto 30.

[0023] En otra realización, la presente invención proporciona análogos EET que tienen estructuras seleccionadas del grupo que consiste de



[0024] En todavía otra realización, la invención abarca el uso de cualquiera de los análogos 14,15- EET descritos anteriormente para la fabricación de un medicamento para tratar la hipertensión en un sujeto. También, la presente invención contempla adicionalmente los compuestos de acuerdo con la invención para uso en el tratamiento de la hipertensión en un sujeto.

[0025] La presente invención abarca adicionalmente los métodos para tratar nefrotoxicidad inducida por fármaco en un sujeto. En una realización, la invención comprende proporcionar tratamiento para los efectos nefrotóxicos perjudiciales de cisplatina en un sujeto. Dichos métodos incluyen las etapas de administrar a un sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto como se describe y

reivindica aquí, por lo que se reducen los efectos nefrotóxicos perjudiciales del fármaco en el sujeto.

5 [0026] Otros objetos, características y ventajas de la presente invención llegarán a ser evidentes después de la revisión de la descripción, reivindicaciones y dibujos.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

10 [0027] La Figura 1A describe la estructura química de SRD-I-71-9, que corresponde al compuesto análogo EET 26 de la Tabla 1. La Figura 1B muestra la presión sanguínea promedio como una función de días de tratamiento en ratas espontáneamente hipertensas administradas con una composición
15 que contiene el vehículo o compuesto 26. La Figura 1C muestra la presión sanguínea promedio en el día 0, día 7, y día 14 en ratas espontáneamente hipertensas administradas una composición que contiene el vehículo o compuesto 26.

20 [0028] La Figura 2A describe la estructura química LGK-I-119-15, que corresponde al compuesto análogo EET 20 de la Tabla 1. La Figura 2B muestra la presión sanguínea promedio como una función de días de tratamiento en ratas espontáneamente hipertensas administradas con una composición
25 que contiene el vehículo o compuesto 20. La Figura 2C muestra la presión sanguínea promedio en el día 0, día 7, y día 14 en

ratas espontáneamente hipertensas administradas con una composición que contiene el vehículo o compuesto 20.

[0029] La Figura 3A describe la estructura química JLJ-I-94-
5 6, que corresponde al compuesto análogo EET 7 de la Tabla 1. La Figura 3B muestra la presión sanguínea promedio como una función de días de tratamiento en ratas espontáneamente hipertensas administradas con una composición que contiene el
10 vehículo o compuesto 7. Los datos se grafican como promedios de 12 horas. Los compuestos se suministran i.p. durante 14 días. La Figura 3C muestra la presión sanguínea promedio en el día 0, día 7, y día 14 con relación al tratamiento inicial en ratas espontáneamente hipertensas administradas una
composición que contiene el vehículo o compuesto 7.

15

[0030] La Figura 4A describe la estructura química MV-IV-
110-20, que corresponde al compuesto análogo EET 30 de la Tabla 1. La Figura 4B muestra la presión sanguínea promedio como una función de días de tratamiento en ratas
20 espontáneamente hipertensas administradas con una composición que contiene el vehículo o compuesto 30. Los datos se grafican como promedios de 12 horas. La Figura 3C muestra la presión sanguínea promedio en el día 0, día 7, y día 14 en ratas espontáneamente hipertensas administradas con una
25 composición que contiene el vehículo o compuesto 30.

[0031] La Figura 5A muestra la presión sanguínea promedio como una función de días de tratamiento en ratas hipertensas inducidas por angiotensina II administradas con una composición que contiene el vehículo o compuesto 7. Los datos se grafican como promedios de 12 horas. La Figura 5B muestra la presión sanguínea promedio en el día 0, día 7, y día 14 en ratas hipertensas inducidas por angiotensina II administradas con una composición que contiene el vehículo o compuesto 7.

[0032] La Figura 6A muestra la presión sanguínea promedio como una función de días de tratamiento en ratas hipertensas inducidas por angiotensina II a las que se les ha administrado con una composición que contiene el vehículo o compuesto 30. Los datos se grafican como promedios de 12 horas. La Figura 6B muestra la presión sanguínea promedio en el día 0, día 7, y día 14 en ratas hipertensas inducidas por angiotensina II administradas con una composición que contiene el vehículo o compuesto 30.

[0033] Figura 7: (a) Creatinina en plasma, (b) nitrógeno de urea en sangre (BUN), (c) molécula-1 de lesión de riñón, y (d) ratas a las que se les administra cisplatina NA Gin urinaria pretratadas con los análogos EET, EET-A y EET-B o vehículo. * $p < 0.05$ vs. normal Wistar Kyotorat; # $p < 0.05$ vs. ratas tratadas con vehículo a las que se les administra cisplatina. Los datos se expresan como media $\pm$ EEM, $n=5-7$.

[0034] Figura 8A: Fotomicrografías representativas de Tinción de ácido peryódico de Schiff (PAS) (200x) que describe la formación de cilindro tubular junto con el cilindro calculado son una fracción (%) en las secciones corticales renales de diferentes grupos experimentales. *p<0.05 vs. Wistar Kyotorat normal; #p <0.05 vs. ratas tratadas con vehículo. Los datos se expresan como la media $\pm$ EEM, n=5-7.

10 [0035] Figura 8B: Las fotomicrografías representativas de Tinción de ácido peryódico de Schiff (PAS) 200x) que describe la formación de cilindro tubular junto con la fracción del área moldeada calculada (%) en las secciones medulares renales de diferentes grupos experimentales. *p<0.05 vs. rata normal Wistar Kyoto; #p<0.05 vs. rata tratada con vehículo. Los datos se expresan como la media $\pm$ EEM, n=5-7.

[0036] Figura 9: el análisis RT-PCR de expresiones de ARN de (a) *NOX1*, (b) *gp91Phox*, (d) *SOD1*, (e) *SOD2*, (f) *SOD3* y (c) mediciones de sustancias reactivas con ácido tiobarbitúrico de riñón (TBARS) en ratas a las que se les administra cisplatina tratadas con análogos EET A, B o vehículo. *p < 0.05 vs. ratas Wistar Kyoto normal; # p<0.05 vs. ratas pretratadas con vehículo a las que se les administra cisplatina. Los datos se expresan como la media $\pm$ EEM, n=5-7.

[0037] Figura 10: la expresión renal de genes indicadores inflamatorios $\text{TNF-}\alpha$ (a), IL-6 (b) y IL-1 β (c) en ratas a las que se les administra cisplatina pretratadas con análogos EET EET-A y EET-B o vehículo. * $p < 0.05$ vs. ratas Wistar Kyoto normales; # $p < 0.05$ vs. ratas pretratadas con vehículo a las que se les administra cisplatina. Los datos se expresan como la media $\pm$ EEM, $n=5-7$.

[0038] Figura 11: la expresión renal de los genes indicadores de tensión del retículo endoplásmico *GRP78/BiP* (a) y *caspasa 12* (b) en ratas a las que se les administra cisplatina tratadas con análogos EET EET-A y EET-B o vehículo. * $p < 0.05$ vs. rata Wistar Kyoto normal; # $p < 0.05$ vs. ratas tratadas a las que se les administra vehículo. Los datos se expresan como la media $\pm$ EEM, $n=5-7$.

[0039] Figura 12: la actividad de caspasa 3 cortical renal (a) y la expresión renal del gen anti-apoptótico Bcl2 (b) en diferentes grupos experimentales. Las relaciones entre la expresión renal del gen anti-apoptótico Bcl2 y los genes apoptóticos Bak (c) y Bax (d) en diferentes grupos experimentales. * $p < 0.05$ vs. rata Wistar Kyoto normal; # $p < 0.05$ vs. ratas tratadas con vehículo administradas con cisplatina. Los datos se expresan como la media $\pm$ SEM, $n=5-7$.

[0040] Figura 13A: Efecto citotóxico de cisplatina en célula de riñón normal (HEK293) y células de cáncer (Hela, U87, NCCIT).

5 [0041] Figura 13B: Efecto del análogo EET EET-A en el crecimiento de célula HEK293, Hela, U87, NCCIT. EET-A no afecta el efecto quimioterapéutico en células de cáncer NCCIT. Los datos se expresan como la media $\pm$ EEM, n=5-7.

10 [0042] Figura 14: Estructura de los análogos EET EET-A y EET-B.

[0043] Figura 15: Síntesis de EET-B.

15 [0044] Figura 16A: Síntesis de EET-A.

[0045] Figura 16B: Síntesis alterna de EET-A.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

20

I. EN GENERAL

[0046] Antes que se describan los actuales materiales y métodos, se entiende que esta invención no se limita a la
25 metodología particular, protocolos, materiales, y reactivos descritos, ya que estos pueden variar. También se entiende

que la terminología utilizada aquí tiene el propósito de describir solo las realizaciones particulares, y no pretende limitar el alcance de la presente invención que se limitará solo por las solicitudes no provisionales presentadas posteriormente.

[0047] Cabe notar que como se utiliza aquí y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "uno", y "el" incluyen referencia al plural a menos que el contexto dicte claramente otra cosa. Como también, los términos "un" (o "uno"), "uno o más" y "por lo menos uno" se pueden utilizar intercambiabilmente aquí. También se observa que los términos "que comprende", "que incluye", y "que tiene" se puede utilizar intercambiabilmente.

[0048] A menos que se defina de otra forma, todos los términos científicos y técnicos utilizados aquí tienen los mismos significados como lo entiende comúnmente una persona medianamente versada en la técnica a la que pertenece esta invención. Aunque se pueden utilizar cualesquier métodos y materiales similares o equivalentes a aquellos descritos aquí en la práctica o prueba de la presente invención, ahora se describen los métodos y materiales preferidos. Todas las publicaciones y patentes mencionadas aquí específicamente se incorporan mediante referencia para todos los propósitos que incluyen describir y divulgar los productos químicos, instrumentos, análisis estadístico y metodologías que se

reportan en las publicaciones que se pueden utilizar en relación con la invención. Todas las referencias mencionadas en esta especificación se toman como indicadoras del nivel del experto en la técnica. Nada aquí se constituye como una
5 admisión de que la invención no tiene derecho a anteceder dicha descripción por virtud de la invención anterior.

II. INVENCION

10 [0049] Los inventores aquí describen análogos EET novedosos, agonistas EET, y otros compuestos de lípidos relacionados, y composiciones que comprenden dichos compuestos, así como también métodos para sintetizar dichos compuestos y el uso de dichas composiciones en el tratamiento de la hipertensión y
15 afecciones relacionadas en el tratamiento de los efectos perjudiciales de nefrotoxicidad de cisplatina y afecciones relacionadas. Los inventores han mostrado que varios de los compuestos exhiben efectos anti-hipertensivos y son bien tolerados en modelos de rata relevantes. Son posibles una
20 serie de diferentes opciones de suministro, que incluyen inyecciones intraperitoneales, inyecciones en sangre, o suministro oral. Se pueden utilizar liposomas, micelas, y emulsificantes para hacer estas preparaciones más solubles.

25 [0050] Como se utiliza aquí, "sujeto" significa mamíferos y no mamíferos. "Mamíferos" significa cualquier miembro de la clase Mammalia que incluye, pero no se limita a, humanos,

primates diferentes a los humanos tal como chimpancés y otras especies de simios y monos; animales de granja tal como ganado, caballos, ovejas, cabras, y cerdo; animales domésticos tal como conejos, perros, y gatos; animales de laboratorio que incluyen roedores, tal como ratas, ratones, y conejillos de indias; y similares. Ejemplos de no mamíferos incluyen, pero no se limitan a, aves, y similares. El término "sujeto" no denota una edad o sexo particular.

10 [0051] Como se utiliza aquí, "administrar" o "administración" incluye cualquier medio para introducir un compuesto de la presente invención en el cuerpo, preferiblemente en la circulación sistémica. Ejemplos incluyen pero no se limitan a inyección oral, bucal, 15 sublingual, pulmonar, transdérmica, transmucosal, así como también subcutánea, intraperitoneal, intravenosa, e intramuscular.

[0052] Una "cantidad terapéuticamente efectiva" significa 20 una cantidad de un compuesto que, cuando se administra a un sujeto para tratar una enfermedad o afección, es suficiente para efectuar dicho tratamiento para la enfermedad. La "cantidad terapéuticamente efectiva" variará dependiendo del compuesto, el estado de la enfermedad que se trata, la 25 severidad o la enfermedad tratada, la edad y salud relativa del sujeto, la ruta y forma de administración, el juicio del

médico que atiende o practicante veterinario, y otros factores.

[0053] Para los propósitos de la presente invención,
5 "tratar" o "tratamiento" describe el manejo y cuidado de un
paciente para el propósito de combatir la enfermedad,
afección, o trastorno. Los términos abarcan los tratamientos
preventivos, es decir, profilácticos, y paliativos. Tratar
incluye la administración de un compuesto de la presente
10 invención para evitar el inicio de los síntomas o
complicaciones, aliviar los síntomas o complicaciones, o
eliminar la enfermedad, afección, o trastorno.

[0054] Un compuesto se administra a un paciente en una
15 cantidad terapéuticamente efectiva. Un compuesto se puede
administrar solo o como parte de la composición
farmacéuticamente aceptable. Adicionalmente, un compuesto o
composición se puede administrar todos de una vez, como por
ejemplo, mediante una inyección de bolo, múltiples tiempos,
20 tal como mediante una serie de la comprimidos, o
sustancialmente suministrados uniformemente durante un
periodo de tiempo, como por ejemplo, utilizando suministro
transdérmico. Adicionalmente, la dosis del compuesto puede
variar durante el tiempo. Un compuesto se puede administrar
25 utilizando una formulación de liberación inmediata, una
formulación de liberación controlada, o combinaciones de los
mismos. El término "liberación controlada" incluye liberación

sostenida, liberación retardada, y combinaciones de los mismos.

[0055] Una composición farmacéutica de la invención se puede
5 preparar, empacar, o vender en masa, como una dosis unitaria
única, o como una pluralidad de dosis unitarias únicas. Como
se utiliza aquí, una "dosis unitaria" es la cantidad discreta
de la composición farmacéutica que comprende una cantidad
predeterminada del ingrediente activo. La cantidad del
10 ingrediente activo es generalmente igual a la dosificación
del ingrediente activo que se administraría a un paciente o
una fracción conveniente de dicha dosificación tal como, por
ejemplo, la mitad o un tercio de dicha dosificación.

15 [0056] Las cantidades relativas del ingrediente activo, el
portador farmacéuticamente aceptable, y cualesquier
ingredientes adicionales en una composición farmacéutica de
la invención variará, dependiendo de la identidad, tamaño, y
afección del humano tratado y dependiendo adicionalmente de
20 la ruta mediante la que se administra la composición. Por vía
de ejemplo, la composición puede comprender entre 0.1% y 100%
(p/o) del ingrediente activo. Una dosis unitaria de una
composición farmacéutica de la invención comprenderá de
manera general de aproximadamente 100 miligramos a
25 aproximadamente dos gramos del ingrediente activo, y
preferiblemente comprende de aproximadamente 200 miligramos a
aproximadamente 1.0 gramo del ingrediente activo.

[0057] Una dosificación preferida para los humanos estaría en el rango bajo mg/kg administrado oralmente una vez diariamente. También puede ser aceptable dos veces al día.

5

[0058] Para mejorar la solubilidad en agua, los compuestos preferidos se pueden formular con ciclodextrinas o productos derivados de ciclodextrina, derivados con sustituyentes tal como polietilenglicoles u otra funcionalidad polar, o se incluyen en liposomas. Para suministro oral, los compuestos se pueden modificar con funcionalidad lipófila o se conjugan en moléculas activamente absorbidas. Se discuten otros métodos en "Strategies to improve oral drug bioavailability", Isabel Gomez-Orellana, Expert Opinion on Drug Delivery, May 15 2005, Vol. 2, No. 3: Páginas 419-433, que se incorpora aquí mediante referencia.

[0059] Otro aspecto de la invención se relaciona con un kit que comprende una composición farmacéutica de la invención y material instrucción. El material instrucción incluye una publicación, un registro, un diagrama, o cualquier otro medio de expresión que se utiliza para comunicar la utilidad de la composición farmacéutica de la invención para uno de los propósitos establecidos aquí en un humano. El material instrucción también, por ejemplo, puede describir una dosis apropiada de la composición farmacéutica de la invención. El material instrucción del kit de la invención, por ejemplo, se

puede fijar a un contenedor que contiene una composición farmacéutica de la invención o se envía junto a un contenedor que contiene la composición farmacéutica. Alternativamente, el material instrucción se puede enviar en forma separada del
5 contenedor con la intención que el material instrucción y la composición farmacéutica se utiliza cooperativamente mediante el receptor.

[0060] La invención también incluye un kit que comprende una
10 composición farmacéutica de la invención y un dispositivo de suministro para suministrar la composición a un humano. Por vía de ejemplo, el dispositivo de suministro puede ser una botella de aerosol para apretar, una botella de rociado de dosis medida, un dispositivo de rociado en aerosol, un
15 atomizador, un dispositivo de suministro de polvo seco, un dispositivo de suministro de solvente/polvo auto-propulsor, una jeringa, una aguja, un tampón, o un contenedor de medición de dosificación. El kit puede comprender adicionalmente un material instrucción como se describe aquí.

20 El kit también comprende un contenedor para las composiciones separadas, tal como una botella dividida o un empaque de aluminio dividido. Los ejemplos adicionales de contenedores incluyen jeringas, cajas, bolsas, y similares. Normalmente, un kit comprende direcciones para la administración de los
25 componentes separados. La forma de kit es particularmente ventajosa cuando los componentes separados preferiblemente administrados en diferentes formas de dosificación (por

ejemplo, oral y parenteral), se administran en diferentes intervalos de dosificación, o cuando la titulación de los componentes individuales de la combinación se desea por el médico que prescribe.

5

[0061] Puede ser deseable proporcionar un auxiliar de memoria en el kit, por ejemplo, en la forma de los siguientes números a los comprimidos o cápsulas por lo que los números corresponden con los días del régimen que los comprimidos o cápsulas así especificados no se deben ingerir. Otro ejemplo de dicho auxiliar de memoria es un calendario impreso en la tarjeta, por ejemplo, como sigue "Primer Semana, Lunes, Martes, . . . etc. . . . Segunda Semana, Lunes, Martes," etc. Otras variaciones de auxiliares de memoria serán fácilmente evidentes. Una "dosis diaria" puede ser un comprimido único o cápsula o diversas píldoras o cápsulas que se toman en un día dado.

[0062] En otra realización de la presente invención, un dispensar se diseña para dispensar las dosis diarias en un momento con el fin de se proporcione su uso pretendido. Preferiblemente, el suministrador se equipa con un auxiliar de memoria, con el fin de facilitar adicionalmente el cumplimiento con el régimen de dosificación. Un ejemplo de dicho auxiliar es un contador mecánico, que indica el número de dosis diarias que se han suministrado. Otro ejemplo de dicho auxiliar de memoria es una memoria de micro-chip de

energía de batería acoplada con la lectura de cristal líquido, o señal restante audible que, por ejemplo, lee la fecha en que se ha tomado la última dosis diaria y/o recuerda cuando se debe tomar la siguiente dosis.

5

[0063] Los compuestos de la presente invención, que comprenden opcionalmente otros compuestos farmacéuticamente activos, se pueden administrar a un paciente oralmente, rectalmente, parenteralmente, (por ejemplo, intravenosamente, 10 intramuscularmente, o subcutáneamente) intracisternalmente, intravaginalmente, intraperitonealmente, intravesicalmente, localmente (por ejemplo, polvos, ungüentos o gota), o como un rociado bucal o nasal. Otras formulaciones contempladas incluyen nanopartículas protegidas, preparaciones 15 liposómicas, eritrocitos resellados que contienen el ingrediente activo, y formulaciones inmunológicamente basadas.

[0064] La administración parenteral de una composición 20 farmacéutica incluye cualquier ruta de administración caracterizado por ramificación física de un tejido de un humano y administración de la composición farmacéutica a través de la ramificación en el tejido. La administración parental así incluye la administración de una composición 25 farmacéutica mediante la inyección de la composición, mediante aplicación de la composición a través una incisión quirúrgica, mediante la aplicación de la composición a través

de una herida no quirúrgica que penetra el tejido, y similares. En particular, la administración parenteral incluye inyección subcutánea, intraperitoneal, intravenosa, intraarterial, intramuscular, o intrasternal e intravenosa, 5 intraarterial, o técnicas de infusión dialítica de riñón. Por ejemplo, las composiciones de la presente invención se pueden administrar a un sujeto mediante inyecciones cerebrales (por medio de vPAG), inyecciones intratecales, inyecciones intraperitoneales, o inyecciones en sangre.

10

[0065] Las composiciones adecuadas para inyección parenteral comprenden el ingrediente activo combinado con un portador farmacéuticamente aceptable tal como soluciones acuosas o no acuosas estériles fisiológicamente aceptables, dispersiones, 15 suspensiones, o emulsiones, o pueden comprender polvos estériles para reconstitución en soluciones inyectables estériles o dispersiones. Ejemplos de portadores acuosos y no acuosos adecuados, diluyentes, solventes, o vehículos que incluyen agua, solución salina isotónica, etanol, polioles (propilenglicol, polietilenglicol, glicerol, y similares), 20 mezclas adecuadas de los mismos, triglicéricos, que incluyen aceites vegetales tal como aceite de oliva, o ésteres orgánicos inyectables tal como oleato de etilo. Se puede mantener la fluidez apropiada, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento tal como lecitina, mediante el 25 mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersiones, y/o mediante el uso de tensoactivo. Dichas

formulaciones se pueden preparar, empacar, o vender en una forma adecuada para administración de bolo o para administración continua. Las formulaciones inyectables se pueden preparar, empacar, o vender en forma de dosificación unitaria, tal como en ampollas, en contenedores de múltiples dosis que contienen un conservante, o en dispositivos de uso único para auto-inyección o inyección por un médico.

[0066] Las formulaciones para administración parenteral incluyen suspensiones, soluciones, emulsiones en vehículos acuosos o aceitosos, pastas, y formulaciones de liberación sostenida implantables o biodegradables. Dichas formulaciones pueden comprender adicionalmente uno o más ingredientes adicionales que incluyen agentes de suspensión, estabilizantes, o dispersantes. En una realización de una formulación para administración parenteral, el ingrediente activo se proporciona en forma seca (es decir polvo o granular) para reconstitución con un vehículo adecuado (por ejemplo agua estéril libre de pirógenos) antes de la administración parenteral de la composición reconstituida.

[0067] Las composiciones farmacéuticas se pueden preparar, empacar, o vender en la forma de una suspensión o solución aceitosa o acuosa inyectable estéril. Esta suspensión o solución se puede formular de acuerdo con la técnica conocida, y puede comprender, además del ingrediente activo, ingredientes adicionales tal como los agentes dispersantes,

agentes humectantes, o agentes de suspensión descritos aquí. Dichas formulaciones inyectables estériles se pueden preparar utilizando un diluyente o solvente parenteralmente aceptable no tóxico, tal como agua o 1,3-butanediol, por ejemplo. Otros
5 diluyente y solventes aceptables incluyen solución de Ringer, solución de cloruro de sodio isotónica, y aceites fijos tal como mono- o di-glicéridos sintéticos. Otras formulaciones parenteralmente administrables que son útiles incluyen aquellas que comprenden el ingrediente activo en forma
10 microcristalina, en una preparación liposómica, o como un componente de sistemas de polímeros biodegradables. Las composiciones para liberación sostenida o implantación pueden comprender materiales poliméricos o hidrófobos farmacéuticamente aceptables tal como una emulsión, una
15 resina de intercambio iónico, un polímero poco soluble, o una sal poco soluble.

[0068] Los compuestos de acuerdo con la presente invención también pueden contener adyuvantes tal como agentes
20 conservantes, humectantes, emulsificantes, y/o dispersantes agentes, que incluyen, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico, y similares. También puede ser deseable incluir agente isotónicos, por ejemplo, azúcares, cloruro de sodio, y similares. La absorción prolongada de composiciones
25 farmacéuticas inyectables se puede producir mediante el uso de agentes capaces de retrasar la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y/o gelatina. En particular, se pueden utilizar liposomas, misomas y emulsificantes para

fabricar los actuales compuestos más solubles para suministro.

[0069] Las formas de dosificación pueden incluir implantes o
5 depósitos sólidos o inyectables. En realizaciones preferidas,
el implante comprende una cantidad efectiva de un agente
activo y un polímero biodegradable. En realizaciones
preferidas, un polímero biodegradable adecuado se puede
seleccionar del grupo que consiste de un poliaspartato,
10 poliglutamato, poli(L-lacturo), un poli(D,L-lacturo), un
poli(lacturo-co-glicólido), una poli(ϵ -caprolactona), un
polianhídrido, un poli(beta-hidroxi butirato), un poli(orto
éster) y un polifosfaceno. En otras realizaciones, el
implante comprende una cantidad efectiva de agente activo y
15 un polímero silástico. El implante proporciona la liberación
de una cantidad efectiva de agente activo durante un periodo
extendido de aproximadamente una semana a varios años.

[0070] Las formas de dosificación sólida para administración
20 oral incluyen cápsulas, comprimidos, polvos, y gránulos. En
dicha forma de dosificación sólida, el compuesto activo se
mezcla con por lo menos un excipiente inerte habitual (o
portador) tal como citrato de sodio o fosfato dicalcio o (a)
rellenos o extensores, como por ejemplo, almidones, lactosa,
25 sacarosa, manitol, o ácido silícico; (b) aglutinantes, como
por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina,
povidona, sacarosa, o acacia; (c) humectantes, como por

ejemplo, glicerol; (d) agentes desintegrantes, como por ejemplo, agar-agar, carbonato de calcio, almidón de papa o tapioca, ácido algínico, ciertos silicatos complejos, o carbonato de sodio; (e) retardantes de solución, como por ejemplo, parafina; (f) aceleradores de absorción, como por ejemplo, compuestos de amonio cuaternario; (g) agentes humectantes, como por ejemplo, alcohol cetílico o monostearato de glicerol; (h) adsorbentes, como por ejemplo, caolín o bentonita; y/o (i) lubricantes, como por ejemplo, talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, lauril sulfato de sodio, o mezclas de los mismos. En el caso de cápsulas y comprimidos, las formas de dosificación también pueden comprender agentes reguladores.

15

[0071] Un comprimido que comprende el ingrediente activo, por ejemplo, se puede hacer al comprimir o moldear el ingrediente activo, opcionalmente con uno o más ingredientes adicionales. Las tabletas comprimidas se pueden preparar al comprimir, en un dispositivo adecuado, el ingrediente activo en una forma de flujo libre tal como una preparación en polvo o granular, opcionalmente mezclada con uno o más de un algutinante, un lubricante, un excipiente, un agente activo de superficie, y un agente dispersante. Los comprimidos moldeados se pueden hacer mediante moldeo, en un dispositivo adecuado, una mezcla del ingrediente activo, un portador farmacéuticamente aceptable, y por lo menos suficiente líquido para humectar la mezcla.

25

[0072] Los excipientes farmacéuticamente aceptables utilizados en la fabricación de los comprimidos incluyen diluyentes inertes, agentes de granulación y desintegrates, 5 agentes aglutinantes, y agentes lubricantes. Los agentes dispersantes conocidos incluyen almidón de papa y glicolato de almidón de sodio. Los agentes activos de superficie conocidos incluyen lauril sulfato de sodio. Los diluyentes conocidos incluyen carbonato de calcio, carbonato de sodio, 10 lactosa, celulosa microcristalina, fosfato de calcio, hidrogen fosfato de calcio, y fosfato de sodio. Los atentes desintegrantes y granulantes conocidos incluyen almidón de maíz y ácido algínico. Los agentes de unión conocidos incluyen gelatina, acacia, almidón de maíz pre-gelatinizado, 15 povidona, y hidroxipropil metilcelulosa. Los agentes lubricantes conocidos incluyen estearato de magnesio, ácido esteárico, sílice, y talco.

[0073] Los comprimidos no se pueden recubrir o se pueden 20 recubrir utilizando métodos conocidos por lograr desintegración retardada en el tubo gastrointestinal de un humano, por lo tanto proporcionar liberación sostenida y absorción del ingrediente activo. Por vía de ejemplo, un material tal como monoestearato de glicerilo o distearato de 25 glicerilo para recubrir comprimidos. Adicionalmente por vía de ejemplo, los comprimidos se pueden recubrir utilizando métodos descritos en la Patente Estadounidense Nos.

4,256,108; 4,160,452; y 4,265,874 para formar comprimidos de liberación controlada osmóticamente. Los comprimidos pueden comprender adicionalmente un agente endulzante, un agente saborizante, un agente colorante, un conservante, o alguna
5 combinación de estos con el fin de proporcionar preparaciones agradables y farmacéuticamente elegantes.

[0074] Las formas de dosificación sólidas tal como comprimidos, grajeas, cápsulas, y gránulos se pueden preparar
10 con recubrimientos o cápsulas, tal como recubrimientos entéricos y otros bien conocidos en la técnica. Estos también pueden contener agentes opacificantes, y también pueden ser de dicha composición que liberan el compuesto o compuestos activos de una forma retardada. Ejemplos para embeber las
15 composiciones que se pueden utilizar son sustancias poliméricas y ceras. Los compuestos activos también pueden estar en forma micro-encapsulada, si es apropiado, con uno o más de los excipientes mencionados anteriormente.

20 [0075] Las composiciones sólidas de un tipo similar como rellenos en cápsulas de gelatina dura o blanda utilizando dichos excipientes como lactosa o azúcar de leche, así como también polietilenglicoles de alto peso molecular, y similares. Las cápsulas duras que comprenden el ingrediente
25 activo se pueden hacer utilizando una composición fisiológicamente degradable, tal como gelatina. Dichas cápsulas duras comprenden el ingrediente activo, y puede

comprender adicionalmente ingredientes adicionales que incluyen, por ejemplo, un diluyente sólido inerte tal como carbonato de calcio, fosfato de calcio, o caolín. Las cápsulas de gelatina blanda que comprenden el ingrediente
5 activo se pueden hacer utilizando una composición fisiológicamente degradable, tal como gelatina. Dichas cápsulas blandas comprenden el ingrediente activo, que se pueden mezclar con agua o un medio aceitoso tal como aceite de maní, parafina líquida, o aceite de oliva.

10

[0076] Las composiciones orales se pueden preparar, utilizando tecnología conocida, que liberan específicamente los agentes administrados oralmente en los intestinos grueso o delgado de un paciente humano. Por ejemplo, las
15 formulaciones para suministro al sistema gastrointestinal, que incluyen el colon, incluyen sistemas de recubrimiento entérico, con base, por ejemplo, en copolímeros de metacrilato tal como poli(ácido metacrílico, metil metacrilato), que solo son solubles a pH 6 y por encima, de
20 tal manera que el polímero se empieza a disolver en la entrada del intestino delgado. El sitio en donde dichas formulaciones desintegrantes de polímero es dependiente del índice de tránsito intestinal y la cantidad de polímero presente. Por ejemplo, se utiliza un recubrimiento de
25 polímero relativamente espeso para el suministro al colon próximo (Hardy et al., Aliment. Pharmacol. Therap. (1987) 1:273-280). También se pueden utilizar polímeros capaces de

proporcionar el suministro colónico específico de sitio, en donde el polímero se basa en la flora bacteriana del intestino grueso para proporcionar la degradación enzimática del recubrimiento de polímero y por lo tanto la liberación
5 del fármaco. Por ejemplo, azopolímeros (Patente Estadounidense No. 4,663,308), glicósidos (Friend et al., J. Med. Chem. (1984) 27:261-268) y una variedad de polisacáridos modificados y naturalmente disponibles (véase la solicitud PCT PCT/GB89/00581) se pueden utilizar en dichos
10 formulaciones.

[0077] También se puede utilizar tecnología de liberación pulsada tal como aquella descrita en la Patente Estadounidense No. 4,777,049 para administrar el agente
15 activo a una ubicación específica dentro del tubo gastrointestinal. Dichos sistemas permiten el suministro de fármaco en un tiempo predeterminado y se pueden utilizar para suministrar el agente activo, opcionalmente junto con otros aditivos que pueden alterar el microambiente local para
20 promover la estabilidad y absorción del agente, directamente al colon, sin basarse en las afecciones externas diferentes a la presencia de agua para proporcionar liberación in vivo.

[0078] Las formas de dosificación líquida para
25 administración oral incluyen emulsiones farmacéuticamente aceptables, soluciones, suspensiones, jarabes, y elixires. Además de los compuestos activos, la forma de dosificación

líquida puede contener diluyentes inertes comúnmente utilizados en la técnica, tal como agua u otros solventes, solución salina isotónica, agentes solubilizantes y emulsificantes, como por ejemplo, alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, dimetilformamida, aceites, en particular, aceite de almendra, aceite de araquís, aceite de coco, aceite de semilla de algodón, aceite de nuez molida, aceite de germen de maíz, aceite de oliva, aceite de ricino, aceite de semilla de sésamo, MIGLYOL™, glicerol, aceites vegetales fraccionados, aceites minerales tal como parafina líquida, alcohol tetrahidrofurfurilo, polietilenglicoles, ésteres de ácido graso de sorbitán, o mezclas de estas sustancias, y similares.

[0079] A pesar de dichos diluyentes inertes, los compuestos de la presente invención también pueden incluir adyuvantes, tal como agentes humectantes, agentes emulsificantes y de suspensión, emolientes, conservantes, reguladores, sales, endulzantes, aromatizantes, edulcorantes y perfumantes. Las suspensiones, además del compuesto activo, pueden contener agentes de suspensión, como por ejemplo, alcoholes isostearilo etoxilados, sorbitol polioxietileno o ésteres de sorbitán, celulosa microcristalina, grasas comestibles hidrogenadas, alginato de sodio, povidona, goma tragacanto, goma acacia, agar-agar, y derivados de celulosa tal como

carboxometilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, metahidróxido de aluminio, bentonita, o mezclas de estas sustancias, y similares. Las formulaciones líquidas de una composición farmacéutica de la invención que son adecuadas para administración oral se pueden preparar, empacar, y vender ya sea en forma líquida o en la forma de un producto seco destinado para reconstitución con agua u otro vehículo adecuado antes de uso.

10 [0080] Los agentes humectantes o dispersantes conocidos incluyen fosfatidas que ocurren en forma natural tal como lecitina, productos de condensación de un óxido de alquileo con un ácido graso, con un alcohol alifático de cadena larga, con un éster parcial derivado de un ácido graso y un hexitol, 15 o con un éster parcial derivado de un ácido graso y un hexitol anhídrido (por ejemplo estearato de polioxietileno, heptadecaetileneoxietanol, monooleato de polioxietileno sorbitol, y monooleato de polioxietileno sorbitán, respectivamente). los agentes emulsificantes conocidos 20 incluyen lecitina y acacia. Los conservantes conocidos incluyen metilo, etilo, o n-propil-para-hidroxibenzoatos, ácido ascórbico, y ácido sórbico. Los agentes endulzantes conocidos incluyen, por ejemplo, glicerol, propilenglicol, sorbitol, sacarosa, y sacarina. Los agentes espesantes 25 conocidos para suspensiones aceitosas incluyen, por ejemplo, cera de abejas, parafina dura, y alcohol cetílico.

[0081] Las soluciones líquidas del ingrediente activo en solventes acuosos o aceitosos se pueden preparar en sustancialmente la misma forma como suspensiones líquidas, las diferencia principal es que el ingrediente activo se disuelve, a diferencia de que suspende en el solvente. Las soluciones líquidas de la composición farmacéutica de la invención pueden comprender cada uno de los componentes descritos con respecto a las suspensiones líquidas, se entiende que los agentes de suspensión ayudarán necesariamente a la disolución del ingrediente activo en el solvente. Los solventes acuosos incluyen, por ejemplo, agua y solución salina isotónica. Los solventes aceitosos incluyen, por ejemplo, aceite de almendras, ésteres aceitosos, alcohol etilo, aceites vegetales tal como araquís, oliva, sésamo, o aceite de coco, aceites vegetales fraccionados, y aceites minerales tal como parafina líquida.

[0082] Las composiciones para administración rectal o vaginal se puede preparar al mezclar un compuesto de la presente invención y cualesquier compuestos adicionales con excipientes o portadores no irritantes adecuados tal como manteca de cacao, polietilenglicol o una cera de supositorio, que son sólidas a temperatura ambiente ordinaria, pero líquida a temperatura corporal, y por lo tanto, se funde en el recto o cavidad vaginal y la liberación del ingrediente activo. Dicha composición puede estar en la forma de, por ejemplo, un supositorio, una preparación de enema de

retención, y una solución para irrigación rectal o colónica.

Las formulaciones de supositorio pueden comprender adicionalmente diversos ingredientes adicionales que incluyen antioxidantes y conservantes. Las preparaciones de enema de

5 retención o soluciones para irrigación rectal o colónica se pueden hacer al combinar el ingrediente activo con un portador farmacéuticamente aceptable. Como se conoce en la técnica, las preparaciones de enema se pueden administrar utilizando, y se pueden empacar dentro de, un dispositivo de
10 suministro adaptado para la anatomía rectal de un humano. Las preparaciones de enema pueden comprender adicionalmente diversos ingredientes adicionales que incluyen antioxidantes y conservantes.

15 [0083] Una composición farmacéutica de la invención se puede preparar, empacar, o vender en una formulación adecuada para administración vaginal. dicha composición puede estar en la forma de, por ejemplo, un supositorio, un material insertable vaginalmente recubierto o impregnado tal como un tampón, una
20 preparación de ducha, o una solución para irrigación vaginal.

[0084] Las formas de dosificación para administración tópica de un compuesto de acuerdo con la presente invención incluyen ungüentos, polvos, aerosoles e inhalantes. Los compuestos se
25 mezclan bajo condiciones estériles con un portador fisiológicamente aceptable, y se pueden requerir cualesquier conservantes, reguladores, y/o propulsores. Las formulaciones

adecuadas para administración tópica incluyen preparaciones líquidas o semi-líquidas tal como linimentos, lociones, emulsiones aceite en agua o agua en aceite tal como cremas, ungüentos o pastas, y soluciones o suspensiones. Las
5 formulaciones tópicamente administrables, por ejemplo, pueden comprender de aproximadamente 0.1 % a aproximadamente 10 % (p/p) de ingrediente activo, aunque la concentración del ingrediente activo puede ser tan alta como el límite de solubilidad del ingrediente activo en el solvente. Las
10 formulaciones para administración tópica pueden comprender adicionalmente uno o más de los ingredientes adicionales descritos aquí.

[0085] Las formulaciones oftálmicas, ungüentos oculares,
15 polvos, y soluciones también se contemplan como que están dentro del alcance de esta invención. Dichas formulaciones pueden, por ejemplo, estar en la forma de gotas oculares que incluyen, por ejemplo, una solución 0.1-1.0 % (p/p) o suspensión del ingrediente activo en un portador acuoso o
20 aceitoso. Dichas gotas pueden comprender adicionalmente agentes reguladores, sales, o uno o más de otros ingredientes adicionales descritos aquí. En otras realizaciones, las formulaciones oftálmicamente administrables comprenden el ingrediente activo en forma microcristalina o en una
25 preparación liposómica.

[0086] Las composiciones farmacéuticas de la invención formuladas para suministro pulmonar pueden proporcionar el ingrediente activo en la forma de gotas de una solución o suspensión. Dichas formulaciones se pueden preparar, empacar, 5 o vender como soluciones o suspensiones alcohólicas acuosas o diluidas, opcionalmente estériles, que comprenden el ingrediente activo, y se pueden administrar convenientemente utilizando cualquier dispositivo de nebulización o atomización. Dichas formulaciones pueden comprender 10 adicionalmente uno o más ingredientes adicionales que incluyen un agente aromatizante tal como sacarina de sodio, un aceite volátil, un agente regulador, un agente de superficie activa, o un conservante tal como metilhidroxibenzoato. Las gotas proporcionadas por esta ruta 15 de administración tienen preferiblemente un diámetro promedio en el rango de aproximadamente 0.1 a aproximadamente 200 nanómetros.

[0087] Una composición farmacéutica de la invención se puede 20 preparar, empacar, o vender en una formulación adecuada para administración bucal. Dichas formulaciones, por ejemplo, pueden estar en la forma de comprimidos o pastillas hechas utilizando métodos convencionales, y, por ejemplo, pueden comprender 0.1 a 20 % (p/p) de ingrediente activo, el balance 25 que comprende una composición degradable u oralmente disolvente y, opcionalmente, uno o más de los ingredientes adicionales descritos aquí. Alternativamente, las

formulaciones adecuadas para administración local pueden comprender un polvo o una solución aerosolizada o atomizada que comprende el ingrediente activo. Dichas formulaciones en polvo, aerosolizadas, o atomizadas, cuando se dispersan, preferiblemente tienen un tamaño de partícula promedio o el tamaño de la gota en el rango de aproximadamente 0.1 a aproximadamente 200 nanómetros, y puede comprender adicionalmente uno o más de los ingredientes adicionales descritos aquí.

10

[0088] Para administración parenteral en animales no humanos, los compuestos de la presente invención se pueden preparar en la forma de una pasta o un gránulo y se administran como un implante, usualmente bajo la piel en la cabeza u oído del animal. Las formulaciones de pasta se pueden preparar al dispersar un compuesto o compuestos en el aceite farmacéuticamente aceptable tal como aceite de maní, aceite de sésamo, aceite de maíz o similares. Los gránulos que contienen una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto o compuestos se pueden preparar al mezclar el compuesto con un diluyente tal como una cera, cera carnauba, y similares, y se puede agregar un lubricante, tal como estearato de magnesio o calcio, para mejorar el proceso de granulación. Por supuesto, se reconoce que más de un gránulo se puede administrar a un animal para lograr el nivel de dosis deseado. Más aún, se ha encontrado que dichos implantes también se pueden administrar periódicamente durante el

15

20

25

periodo de tratamiento de animal con el fin de mantener el nivel de agente activo apropiado en el cuerpo del animal.

[0089] Los compuestos de la presente invención y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se pueden administrar a un paciente en niveles de dosificación en el rango de aproximadamente 0.01 a aproximadamente 1,000 mg por día. Para un humano adulto normal que tiene un peso corporal de aproximadamente 70 kg, una dosificación en el rango de aproximadamente 0.01 a aproximadamente 300 mg es normalmente suficiente, con una dosificación preferida de 1-10 mg/kg. Sin embargo, se puede requerir alguna variabilidad en el rango de dosificación general dependiendo de la edad y peso del sujeto que se va a tratar, la ruta pretendida de administración, el compuesto particular se administra y similares. La determinación de los rangos de dosificación y las dosificaciones óptimas para un paciente particular esta también dentro de la capacidad de una persona medianamente versada en la técnica que tiene el beneficio de la descripción actual. Cabe notar que los compuestos de la presente invención se pueden utilizar en formulaciones de liberación sostenida, liberación controlada, y liberación retardada, cuyas formas también se conocen por una persona medianamente versada en la técnica.

[0090] No es crítico si los compuestos de la presente invención se administran directamente a la célula, a un tejido que comprende la célula, un fluido corporal que hace

contacto con la célula, o una ubicación corporal de la que se puede difundir el compuesto o se transporta a la célula. Es suficiente que el compuesto se administre al paciente en una cantidad y mediante una ruta por lo que una cantidad del
5 compuesto es suficiente para movilizar los lípidos en la célula que llega, directamente o indirectamente en la célula. La cantidad mínima varía con la identidad de los compuestos.

[0091] La dosificación específica y el rango de dosificación
10 que se pueden utilizar depende de una serie de factores, que incluyen los requerimientos de los pacientes, la severidad de la afección que se va a tratar, y la actividad farmacológica del compuesto que se administra. La determinación de los rangos de dosificación y las dosificaciones óptimas para un
15 paciente particular están también dentro del conocimiento de la persona medianamente versada en la técnica en vista de esta descripción. Se entiende que el médico o veterinario medianamente versado determinará y prescribirá fácilmente una cantidad efectiva del compuesto para movilizar
20 almacenamientos de lípidos, inducir la pérdida de peso, o inhibir el apetito en el paciente. Al proceder así, el médico o veterinario, por ejemplo, puede prescribir una dosis relativamente baja al primero, aumentar posteriormente la dosis hasta que se obtiene una respuesta apropiada. Sin
25 embargo, se entiende adicionalmente que el nivel de dosis específico para cualquier humano particular dependerá de la variedad de factores que incluyen la actividad del compuesto

específico empleado, la edad, peso corporal, salud general, género, y dieta del humano, el tiempo de administración, la ruta de administración, el índice de excreción, cualquier combinación de fármacos, y la severidad de cualquier

5 trastorno que se trata.

[0092] Ahora se describen diversas realizaciones de ejemplo de composiciones y métodos de acuerdo con esta invención en los siguientes ejemplos. En estas realizaciones, los

10 productos específicos identificados por números Arábigos (por ejemplo, 1, 2, 3, etc.) se refieren a las estructuras específicas ya identificadas en la siguiente descripción, particularmente en la Tabla 1 adelante y las reivindicaciones adjuntas.

15

III. EJEMPLOS

[0093] Los siguientes ejemplos se ofrecen solo para propósitos de ilustración y no pretenden limitar el alcance

20 de la presente invención de ninguna forma. De hecho, diversas modificaciones de la invención además de aquellas mostradas y descritas aquí serán evidentes para aquellos expertos en la técnica a partir de la anterior descripción y los siguientes ejemplos y caben dentro el alcance de las reivindicaciones

25 adjuntas.

Ejemplo 1: Síntesis de 33 Análogos EET

[0094] En este Ejemplo, los inventores reportan la síntesis de una colección de análogos EET. Las estructuras químicas de estos compuestos, designadas como compuestos 1-33, se muestran en la Tabla 1 adelante.

5

[0095] **Procedimientos Generales.** A menos que se indique otra cosa, los rendimientos se refieren a productos purificados y no se optimizan. Se juzgan los compuestos finales $\geq 95\%$ puros mediante HPLC utilizando un Zorbax Eclipse

10 C18 (250 $\times$ 4.6 mm; Agilent) conectado a un Agilent 1200 API/LC-MS con combinaciones de acetonitrilo/agua como solvente. Todas las reacciones sensibles a oxígeno y/o humedad se realizan bajo una atmósfera de argón utilizando material de vidrio secado al horno y solventes anhidros. Los

15 solventes anhidros se destilan frescamente de cetil benzofenona de sodio, excepto para CH_2Cl_2 , que se destila de CaH_2 . Los extractos se secan sobre Na_2SO_4 anhidro y se filtran antes del retiro de todos los volátiles bajo presión reducida. A menos que se observe otra cosa, se utilizan

20 materiales comercialmente disponibles sin purificación. La cromatografía flash (FC) se realiza utilizando gel de sílice E Merck 60 (malla 240-400). La cromatografía de capa delgada (TLC) se realiza utilizando placas pre-cubiertas compradas de E. Merck (gel de sílice 60 PF254, 0.25 mm). El espectro de

25 resonancia magnética nuclear (RMN) se registra en Varian 300, 400 o 500 espectrómetros en frecuencias de operación de 300/400/500 MHz (^1H) o 75/100/125 MHz (^{13}C) en CDCl_3 , a menos que se indique otra cosa. Los patrones de división de

resonancia magnética nuclear (RMN) se describen como singulete (s), doblete (d), triplete (t), cuarteto (q), y amplio (br); los valores de cambios químicos (δ) se dan en ppm con relación al solvente residual (cloroformo $\delta = 7.27$ para ^1H RMN o $\delta = 77.23$ para protón desacoplado ^{13}C RMN), y se dan constantes de acoplamiento (J) en Hertz (Hz). Se determinan los puntos de fusión utilizando un OptiMelt (Stanford Research Systems) y no se corrigen. The Notre Dame University Mass Spectroscopy Facility o Prof. Kasem Nithipatikom (Medical College of Wisconsin) amablemente proporciona análisis espectral de masa de alta resolución.

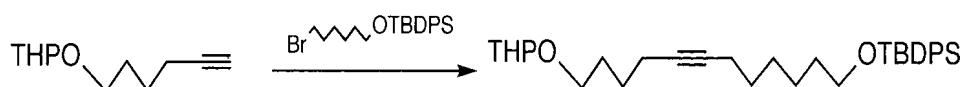
Tabla 1: 33 Análogos EET y relajación vascular medida y actividad de inhibición sEH.

Compd	Análogo	Vascular Relax.		sEHi IC ₅₀ (nM)	Compd	Análogo	Relaj. Vascular		sEHi IC ₅₀ (nM)
		% (10 μM)	EC ₅₀ (μM)				% (10 μM)	EC ₅₀ (μM)	
1		86	2.9	>500	19		74	1.0	>500
2		72	5.1	255	20		119	0.18	11
3		104	1.5	>500	21		96	1.7	>500
4		49	0.63	237	22		110	1.1	32
5		95	1.9	>500	23		89	1.1	65
6		92	2.75	>500	24		47	>10	57
7		91	1.6	392	25		109	0.34	10
8		73	6.0	41	26		109	0.32	>500
9		61	6.7	71	27		116	0.36	>500
10		71	>10	>500	28		93	3.3	31
11		63	7.6	57	29		54	2.4	231
12		75	3.4	32	30		96	1.3	>500
13		48	>10	6	31		73	0.9	>500
14		76	5.0	11	32		96	2.4	>500
15		85	3.7	22	33		73	3.3	282
16		53	9.8	32					
17		92	3.5	96					
18		92	3.1	23					

[0096] La síntesis de los compuestos EET de la Tabla 1 se proporcionan como sigue:

5

[0097] Síntesis del Análogo 25.



[0098] **tert-Butildifenil-[12-(tetrahidro-2H-piran-2-**

iloxi)dodec-7-iniloxi)]silano. Se agrega en forma de gotas *N*-

5 Butillitio (12.0 mL de 2.5 M solución en hexanos, 30.0 mmol) con agitación a una solución a -78°C de 2-(hex-5-iniloxi)tetrahidro-2H-piran (5.0 g, 27.43 mmol, G. F. Smith Chem. Co.) en THF/HMPA (4:1, 150 mL) bajo una atmósfera de argón. Después de 30 min, la mezcla de reacción se calienta a

10 0°C y se mantiene a esta temperatura durante 2 h. Después de se vuelve a enfriar a -78°C , se agrega una solución 1-*tert*-butildifenilsililoxi-6-bromohexano¹ (11.50 g, 27.43 mmol) en THF (55 mL) y la temperatura se ha elevado durante 3 h a 23°C . Después de 12 h adicionales, la mezcla de reacción se

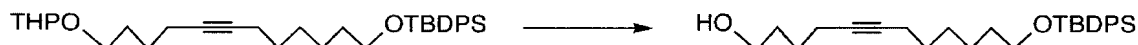
15 detiene con solución acuosa saturada de NH_4Cl (25 mL). La mezcla se extrae con EtOAc (2 $\times$ 100 mL) y los extractos combinados se lavan con agua (2 $\times$ 150 mL), solución salina (50 mL), se secan, y se concentran bajo presión reducida. El

residuo se purifica mediante cromatografía de columna SiO_2

20 para dar el compuesto del título (11.14 g, 78 %), obtenido como un aceite incoloro, cuyos datos espectrales coinciden con los valores de la literatura. TLC: 15 % de EtOAc/hexanos, $R_f \sim 0.60$; ^1H RMN (400 MHz) δ 7.64-7.68 (m, 4H), 7.34-7.42 (m, 6H), 4.57 (t, $J = 4.3$ Hz, 1H), 3.78-3.86 (m, 2H), 3.65 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H), 3.32-3.54 (m, 2H), 2.10-2.22 (m, 4H), 1.24-1.84 (m, 18H), 1.04 (s, 9H); ^{13}C RMN (100 MHz) δ 130.61, 129.17, 124.54, 122.62, 93.82, 75.48, 74.89, 72.41, 72.10, 71.78,

25

62.11, 58.93, 57.32, 27.51, 25.79, 24.18, 23.99, 23.68, 21.96, 21.87, 21.0, 20.55, 20.40, 14.26, 13.77, 13.67.



5

[0099] **12-(*tert*-Butildifenilsililoxi)dodec-5-in-1-ol.** Una

mezcla de *tert*-butildifenil-[12-(tetrahidro-2*H*-piran-2-iloxi)dodec-7-iniloxi)]silano (11.0 g, 21.14 mmol) y ácido p-toluenosulfónico (165 mg) en MeOH (110 mL) se agita a

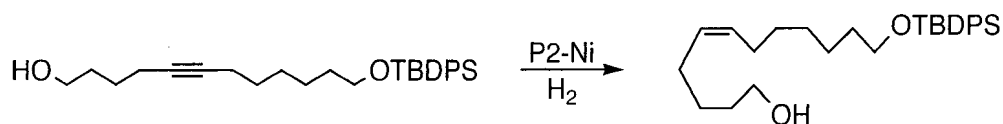
10 temperatura ambiente durante 10 h. La mezcla de reacción se detiene con solución acuosa saturada de NaHCO₃ (10 mL). El metanol se evapora, luego más agua (50 mL), y la mezcla se extrae con EtOAc (3 × 75 mL). Los extractos orgánicos

combinados se lavan con agua (2 × 50 mL), solución salina (40 mL), se secan y se concentran bajo presión reducida. El residuo se purifica mediante cromatografía SiO₂ para dar el compuesto del título (7.93 g, 86 %), obtenido como un aceite incoloro, cuyos datos espectrales coinciden con los valores

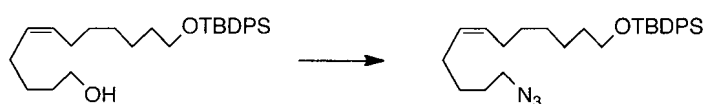
de la literatura. ¹TLC: EtOAc/hexanos (3:7), *R_f*~0.44; ¹H RMN

20 (300 MHz) δ 7.64-7.68 (m, 4H), 7.34-7.42 (m, 6H), 3.62 (t, *J* = 6.3 Hz, 4H), 2.06-2.22 (m, 4H), 1.50-1.64 (m, 12H), 1.04 (s, 9H); ¹³C RMN (100 MHz) δ 135.81, 134.36, 129.74, 127.82, 80.89, 80.01, 64.14, 62.71, 32.71, 32.10, 29.34, 28.86, 27.11, 25.59, 25.57, 19.46, 18.93, 18.77.

25



[00100] **12-(*tert*-Butildifenilsililoxi)dodec-5(*Z*)-en-1-ol.** Se
 agrega NaBH_4 (82 mg, 2.28 mmol) en porciones con agitación
 vigorosa a una solución a temperatura ambiente de
 5 $\text{Ni}(\text{OAc})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (567 mg, 2.28 mmol) en etanol absoluto (20 mL)
 bajo una atmósfera de hidrógeno (1 atm). Después de 15 min,
 se agrega etilenodiamina frescamente destilada (0.30 mL, 4.56
 mmol) a la suspensión negra, seguido después de 15 min
 adicionales por una solución 12-(*tert*-
 10 butildifenilsililoxi)dodec-5-in-1-ol (4.0 g, 9.16 mmol) en
 EtOH absoluto (10 mL). Después de 1 h, la mezcla de reacción
 se detiene con Et_2O (20 mL) y se pasa a través de un lecho
 pequeño de gel de sílice. El lecho se enjuaga con otra
 porción de Et_2O (5 mL). Los filtrados etéricos combinados se
 15 concentran bajo presión reducida para proporcionar el
 compuesto del título (3.85 g, 96 %) como un aceite incoloro
 suficientemente puro para que sea utilizado directamente en
 la siguiente etapa. TLC: EtOAc/hexanos (3:7), $R_f \sim 0.46$. ^1H RMN
 (300 MHz) δ 7.64-7.68 (m, 4H), 7.34-7.42 (m, 6H), 5.42-5.28
 20 (m, 2H), 3.65-3.60 (t, $J = 6.4$ Hz, 4H), 2.08-1.96 (m, 4H),
 1.50-1.60 (m, 4H), 1.40-1.24 (m, 10H), 1.04 (s, 9H); ^{13}C RMN
 (100 MHz) δ 135.81, 134.40, 130.61, 129.71, 129.60, 127.80,
 64.21, 63.14, 32.78, 32.60, 29.98, 29.27, 27.42, 27.14,
 27.10, 26.08, 25.92, 19.48. HRMS calculado para $\text{C}_{28}\text{H}_{43}\text{O}_2\text{Si}$
 25 $[\text{M}+1]^+$ 439.3032, encontrado 439.3027.



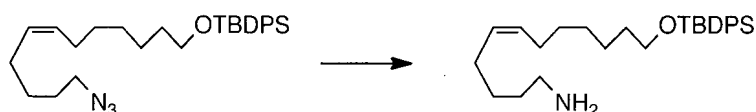
[00101] 1-tert-Butildifenilsililoxi-12-azidododec-7(Z)-eno.

Se agrega en forma de gotas diisopropil azodicarboxilato (DIAD; 1.46 mL, 7.35 mmol) a una solución de -20°C de PPh_3 (2.10 g, 8.0 mmol) en THF seco (45 mL) bajo una atmósfera de argón. Después de 10 min, se agrega en forma de gotas una solución 12-(tert-butildifenilsililoxi)dodec-5(Z)-en-1-ol (3.20 g, 7.35 mmol) del anterior en THF seco (10 mL). Después de 30 min, la mezcla se calienta a 0°C y se agrega en forma de gotas azida de difenilfosforilo (1.58 mL, 7.35 mmol). Después de agitar a 4 h a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se detiene con agua (150 mL) y se extrae con EtOAc ($2 \times 100\text{ mL}$). Los extractos orgánicos combinados se lavan con solución salina (100 mL), se secan (Na_2SO_4), y se concentran bajo presión reducida. El residuo se purifica mediante cromatografía de columna SiO_2 eluyendo con 4 % de EtOAc/hexano para proporcionar el compuesto del título (2.45 g, 72 %). TLC: EtOAc/hexanos (1:9), $R_f \sim 0.55$; ^1H RMN (400 MHz) δ 7.64-7.68 (m, 4H), 7.34-7.42 (m, 6H), 5.28-5.42 (m, 2H), 3.70 (t, $J = 5.8\text{ Hz}$, 2H), 3.27 (t, $J = 6.3\text{ Hz}$, 2H), 1.96-2.10 (m, 4H), 1.24-1.64 (m, 12H), 1.04 (s, 9H); ^{13}C RMN (100 MHz) δ 135.84, 134.41, 130.93, 129.75, 129.12, 127.83, 64.22, 51.62, 32.81, 29.93, 29.30, 28.68, 27.46, 27.14, 27.02, 26.90, 25.96, 19.49; IR (neto) 2930, 2783, 2331, 2097, 1106 cm^{-1} . HRMS calculado para $\text{C}_{28}\text{H}_{42}\text{N}_3\text{OSi}$ $[\text{M}+1]^+$ 464.3097, encontrado 464,3099.

Hopla

er

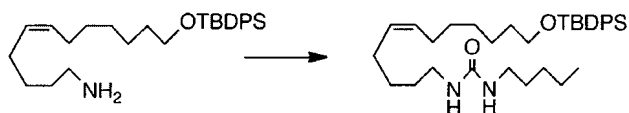
Blanco



[00102] 1-*tert*-Butildifenilsililoxi-12-aminododec-7(Z)-eno.

Se agrega trifenilfosfino (1.18 g, 4.50 mmol) a una solución
 5 agitada de azida 1-*tert*-butildifenilsililoxi-12-azidododec-
 7(Z)-eno (1.90 g, 4.10 mmol) en THF (12 mL) que contiene 4
 gotas de agua desionizada. Después de 12 h, la mezcla de
 reacción se diluye con CH₂Cl₂ (10 mL), se seca, y se concentra
 in vacuo para dar el compuesto del título (1.36 g, 76 %) como
 10 un aceite incoloro, viscoso que se utiliza directamente en la
 siguiente reacción sin purificación adicional. TLC:
 MeOH/CH₂Cl₂ (1:4), *R_f*~0.25; ¹H RMN (400 MHz) δ 7.62-7.68 (m,
 4H), 7.32-7.40 (m, 6H), 5.30-5.40 (m, 2H), 3.63 (t, *J* = 5.2
 Hz, 2H), 2.62 (t, *J* = 4.8 Hz, 2H), 1.92-2.06 (m, 4H), 1.40-
 15 1.58 (m, 4H), 1.20-1.40 (m, 8H), 1.03 (s, 9H); ¹³C RMN (100
 MHz) δ 135.79, 134.37, 130.42, 129.70, 127.78, 64.19, 42.28,
 33.44, 32.77, 29.93, 29.28, 27.40, 27.21, 27.10, 25.92,
 19.44. HRMS calculado para C₂₈H₄₄NOSi [M + 1]⁺ 438.3192,
 encontrado 438.3186.

20

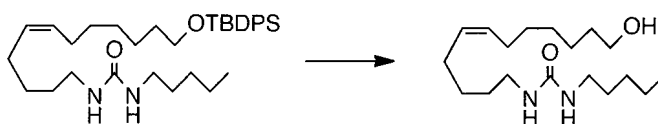


[00103] 1-(12-(*tert*-Butildifenilsililoxi)dodec-5(Z)-enil)-3-

***n*-pentilurea.** Una solución de 1-*tert*-butildifenilsililoxi-12-

25 aminododec-7(Z)-eno (1.32 g, 3.0 mmol) en THF (5 mL) se

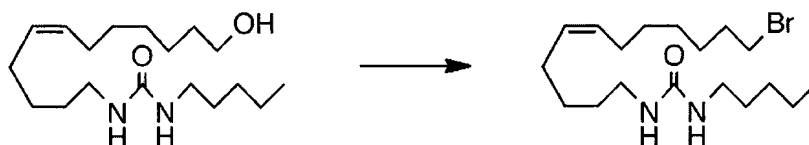
agrega en forma de gotas a una solución agitada de *n*-pentil
 isocianato (0.386 mL, 3.0 mmol) en THF (10 mL). Después de 3
 h de agitación a temperatura ambiente, todos los volátiles se
 retiran bajo presión reducida y el residuo se purifica
 5 mediante cromatografía de columna SiO₂ eluyendo con 20 % de
 EtOAc/hexano para proporcionar el compuesto del título (1.26
 g, 76 %) como un aceite viscoso. TLC: EtOAc/hexanos (2:3),
 $R_f \sim 0.40$; ¹H RMN (300 MHz) δ 7.60–7.70 (m, 4H), 7.35–7.42 (m,
 6H), 5.28–5.42 (m, 2H), 5.16 (br s, -NH, 2H), 3.65 (t, J =
 10 6.5 Hz, 2H), 3.08–3.20 (m, 4H), 1.96–2.08 (m, 4H), 1.22–1.60
 (m, 18H), 1.02 (s, 9H), 0.89 (t, J = 7.3 Hz, 3H); ¹³C RMN (100
 MHz) δ 159.23, 135.80, 134.24, 130.52, 129.74, 129.49, 127.82,
 64.22, 40.62, 40.54, 32.80, 30.33, 29.95, 29.37, 29.32,
 27.46, 27.34, 27.18, 27.11, 25.97, 22.71, 19.46, 14.29. HRMS
 15 calculado para C₃₄H₅₅N₂O₂Si [M+1]⁺ 551.4033, encontrado
 551.4032.



20 [00104] **1-(12-Hidroxidodec-5(Z)-enil)-3-*n*-pentilurea.** Una
 mezcla de 1-(12-(*tert*-butildifenilsililoxi)dodec-5(Z)-enil)-
 3-*n*-pentilurea (1.12 g, 2.0 mmol) y fluoruro de tetra-*n*-
 butilamonio (2.20 mL de 1 M soln en THF, 2.2 mmol) en THF
 seco (10 mL) se agita a temperatura ambiente bajo una
 25 atmósfera de argón durante 12 h, y luego se evapora hasta
 secado in vacuo. El residuo se disuelve en EtOAc (50 mL) y se

lava con agua (30 mL), solución salina (30 mL), se seca y se evapora in vacuo. La purificación del residuo por medio de cromatografía de columna SiO₂ da el compuesto del título (0.56 g, 89 %) como un sólido incoloro, pf 63.7-63.8 °C. TLC:

5 EtOAc/hexanos (7:3), $R_f \sim 0.30$; ¹H RMN (300 MHz) δ 5.25-5.42 (m, 2H), 4.40-4.56 (br s, -NH, 2H), 3.60-3.68 (d, $J = 6.5$ Hz, 2H), 3.08-3.20 (m, 4H), 1.96-2.14 (m, 4H), 1.22-1.60 (m, 18H), 0.88 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H); ¹³C RMN (125 MHz) δ 159.26, 130.23, 129.62, 63.72, 40.33, 40.29, 32.92, 30.30, 30.26, 10 29.74, 29.35, 29.13, 27.26, 27.20, 27.13, 25.82, 22.69, 14.27. HRMS calculado para C₁₈H₃₇N₂O₂ [M+1]⁺ 313.2855, encontrado 313.2857.



15

[00105] 1-(12-Bromododec-5(Z)-enil)-3-n-pentilurea.

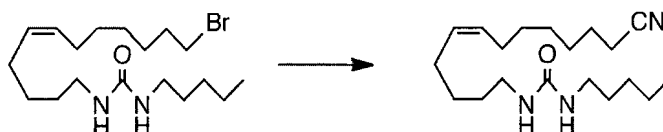
Se

agregan CBr₄ (0.55 g, 1.66 mmol) y PPh₃ (0.43 g, 1.66 mmol) a una solución de 0 °C de 1-(12-hidroxidodec-5(Z)-enil)-3-n-

20 h a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se concentra in vacuo y el residuo se purifica por medio de cromatografía de columna SiO₂ para dar 1-(12-bromododec-5(Z)-enil)-3-n-

25 pentilurea (0.43 g, 83 %) como un aceite viscoso, pf 46.7-46.8 °C. TLC: EtOAc/hexanos (2:3), $R_f \sim 0.60$; ¹H RMN (300 MHz) δ 5.22-5.42 (m, 2H), 4.40 (br s, 2H), 3.42 (t, $J = 9.3$ Hz, 2H), 3.10-3.20 (m, 4H), 1.98-2.10 (m, 4H), 1.80-1.90 (m, 2H),

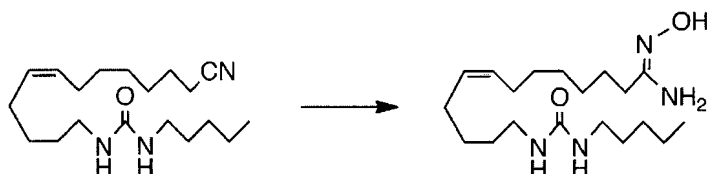
1.25-1.55 (m, 16H), 0.92 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz) δ 159.51, 130.14, 129.69, 40.48, 40.39, 34.20, 32.96, 30.34, 29.67, 29.36, 28.58, 28.25, 27.31, 27.27, 27.17, 22.68, 14.26. HRMS calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{BrN}_2\text{O}$ $[\text{M}+1]^+$ 375.2011, encontrado 375.2014.



[00106] 1-(12-Cianododec-5(Z)-enil)-3-n-pentilurea.

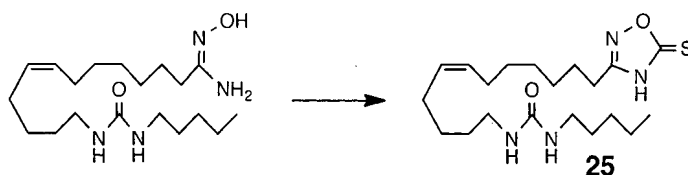
Una

mezcla de cianuro de potasio (0.23 g, 3.54 mmol) y 1-(12-bromododec-5(Z)-enil)-3-n-pentilurea (0.90 g, 2.40 mmol) se agita en DMSO (5 mL) a temperatura ambiente. Después de 12 h, la mezcla de reacción se diluye con agua (20 mL) y se extrae con acetato de etilo (2 x 50 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavan con agua (2 x 25 mL), solución salina (25 mL), se secan (Na_2SO_4) y se pasan a través de una columna de gel de sílice para dar el compuesto del título (0.62 g, 81 %) como un sólido incoloro, pf 56-57 °C. TLC: EtOAc/hexanos (2:3), $R_f \sim 0.45$. ^1H RMN (300 MHz) δ 5.29-5.40 (m, 2H), 4.27 (br s, -NH, 2H), 3.10-3.20 (m, 4H), 2.34 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 1.98-2.08 (m, 4H) 1.24-1.70 (m, 18H), 0.89 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (125 MHz) δ 159.41, 129.94, 129.86, 120.14, 40.45, 40.35, 30.30, 29.50, 29.33, 28.70, 28.51, 27.26, 27.16, 25.47, 22.66, 17.28, 14.24; IR (neto) 2930, 2281, 2184, 2042, 1936, 1613, 1197, 1042 cm^{-1} . HRMS calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{36}\text{N}_3\text{O}$ $[\text{M}+1]^+$ 322.2858, encontrado 322.2867.



[00107] **N'-Hidroxi-13-(3-n-pentilureido)tridec-8(Z)-**

5 **enimidamida.** A una suspensión de 1-(12-cianododec-5(Z)-enil)-
3-n-pentilurea (350 mg, 1.09 mmol) en MeOH/H₂O (4:1; 12 mL)
se agrega H₂NOH·HCl (228 mg, 3.28 mmol) y Na₂CO₃ (344 mg, 3.25
mmol). La mezcla de reacción se calienta a 60 °C durante 18
h, luego se enfría a temperatura ambiente y todos los
10 volátiles se retiran *in vacuo*. El residuo se diluye con agua
(30 mL) y se extrae en acetato de etilo (2 × 25 mL). Los
extractos orgánicos combinados se lavan con agua (2 × 10 mL),
solución salina (10 mL), se secan y se purifican por medio de
cromatografía de columna flash de gel de sílice utilizando 5%
15 de MeOH/CH₂Cl₂ para dar el compuesto del título (239 mg, 62 %)
como un sólido incoloro, pf 94.6-94.7 °C. TLC: MeOH/CH₂Cl₂
(1:4), *R_f*~0.20; ¹H RMN (CD₃OD, 300 MHz) δ 5.34-5.42 (m, 2H),
3.33 (s, 2H), 3.08-3.16 (m, 3H), 2.02-2.10 (m, 6H), 1.52-1.60
(m, 2H), 1.44-1.52 (m, 5H), 1.30-1.44 (m, 10H), 0.92 (t, *J* =
20 7.2 Hz, 3H); ¹³C RMN (CD₃OD, 125 MHz) δ 160.14, 155.23,
129.95, 129.42, 39.86, 39.76, 30.70, 29.95, 29.89, 29.59,
29.06, 28.91, 27.18, 26.97, 26.95, 26.78, 22.39, 13.34. HRMS
calculado para C₁₉H₃₉N₄O₂ [M+1]⁺ 355.3073, encontrado 355.3078.



[00108] **Análogo 25.** A una solución enfriada en hielo de N'-hidroxi-13-(3-*n*-pentilureido)tridec-8(*Z*)-enimidamida (100 mg,

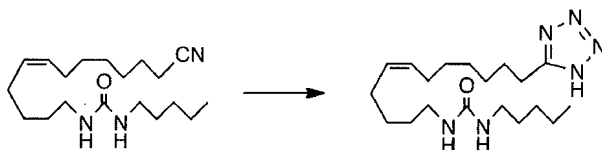
5 0.28 mmol) y piridina (45 μ L, 0.56 mmol) en THF (100 mL) se agrega en forma de gotas una solución cloruro de tionilo (20 μ L, 0.28 mmol) en CH_2Cl_2 (2 mL). Después de 1 h, la mezcla de reacción se concentra *in vacuo*, se diluye con agua (25 mL), y se extrae con CH_2Cl_2 (2 $\times$ 10 mL). Los extractos orgánicos

10 combinados se lavan con agua y se secan. El solvente se evapora *in vacuo* y el residuo se purifica mediante cromatografía de columna SiO_2 utilizando 10 % de MeOH/ CH_2Cl_2 para dar **25** (80 mg, 72 %) como un sólido pegajoso. TLC: MeOH/ CH_2Cl_2 (1:9), $R_f \sim 0.60$; ^1H RMN (CD_3OD , 300 MHz) δ 5.33-5.36

15 (m, 2H), 3.04-3.13 (m, 4H), 2.57 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H), 2.00-2.10 (m, 4H), 1.62-1.74 (m, 2H), 1.25-1.54 (m, 16H), 0.92 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (CD_3OD , 125 MHz) δ 160.16, 153.94, 129.83, 129.47, 39.83, 39.71, 29.89, 29.82, 29.40, 29.01, 28.59, 28.52, 26.87, 26.85, 26.71, 26.30, 23.37, 22.33,

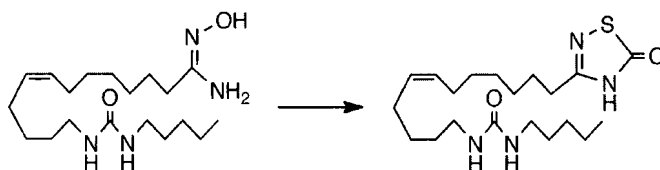
20 13.25. HRMS calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M}+1]^+$ 398.2716, encontrado 398.2720.

[00109] **Síntesis del Análogo 20.**



[00110] **Análogo 20.** Una mezcla de 1-(12-cianododec-5(Z)-enil)-3-*n*-pentilurea (500 mg, 1.55 mmol), azida de sodio (100 mg, 1.55 mmol) y bromuro de zinc (335 mg, 1.48 mmol) se calienta a 110 °C en isopropanol/H₂O (1:3, 8 mL) mientras se agita vigorosamente en un tubo sellado. Después de 18 h, la mezcla se enfría a temperatura ambiente y el pH se ajusta a 1 utilizando HCl acuoso (3 N, 4 mL). Se agrega acetato de etilo (10 mL) y la agitación se continúa hasta que no está presente el sólido. La capa orgánica se aísla y la capa acuosa se extrae con EtOAc (2 x 25 mL). Las fracciones orgánicas combinadas se lavan con agua (3 x 25 mL), se secan y se concentran in vacuo. El residuo se purifica mediante cromatografía de columna flash de gel de sílice para dar el análogo **20** (431 mg, 76 %) como un sólido incoloro, pf 205.6-205.8 °C. TLC: 10 % de MeOH/CH₂Cl₂, *R_f*~0.30; ¹H RMN (CD₃OD, 300 MHz) δ 5.40-5.30 (m, 2H), 3.06-3.11 (m, 4H), 2.93 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H), 1.98-2.10 (m, 4H), 1.70-1.82 (m, 2H), 1.24-1.50 (m, 16H), 0.90 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H); ¹³C RMN (CD₃OD, 75 MHz) δ 160.16, 156.81, 129.77, 129.47, 39.81, 39.68, 29.88, 29.80, 29.35, 28.99, 28.69, 28.55, 27.48, 26.85, 26.81, 26.68, 22.96, 22.31, 13.22. HRMS calculado para C₁₉H₃₇N₆O[M+1]⁺ 365.3029, encontrado 365.3030.

25 [00111] **Síntesis del Análogo 29.**



[00112] **Análogo 29.** Una mezcla de N'-hidroxi-13-(3-n-

5 1,1'-tiocarbonil diimidazol (90%; 91 mg, 0.51 mmol) en THF (5 mL) se agita a temperatura ambiente. Después de 45 min, la mezcla se diluye con agua (10 mL) y se extrae con acetato de etilo (3 × 5 mL). Los extractos combinados se lavan con agua, se secan, y se concentran in vacuo. El residuo se disuelve en

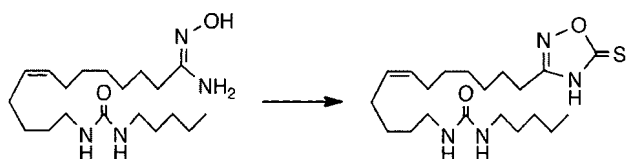
10 THF seco (5 mL) y se agrega trifluoruro dietil eterato de boro (103 μ L, 0.84 mmol). Después de otra 1 h, la mezcla de reacción se diluye con agua (20 mL) y se extrae con acetato de etilo (2 × 10 mL). Los extractos combinados se lavan con agua, se secan (Na_2SO_4), y el solvente se evapora in vacuo. El

15 residuo se purifica mediante cromatografía de columna para dar **29** (104 mg, 63 %) como un sólido incoloro, pf 124.2-125.1 °C. TLC: MeOH/ CH_2Cl_2 (1:9), $R_f \sim 0.60$; ^1H RMN (CD_3OD , 300 MHz) δ 5.30-5.40 (m, 2H), 3.02-3.12 (m, 4H), 2.54 (t, $J = 8.0$ Hz, 2H), 1.98-2.10 (m, 4H), 1.62-1.74 (m, 2H), 1.24-1.52 (m,

20 16H), 0.90 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (CD_3OD , 75 MHz) δ 181.12, 160.13, 159.12, 129.48, 128.84, 39.85, 39.73, 30.90, 29.91, 29.83, 29.41, 29.03, 28.69, 28.65, 26.89, 26.86, 26.73, 26.23, 22.35, 13.29; IR (puro) 2924, 1724, 1603, 1464, 1375 cm^{-1} . HRMS calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{37}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M}+1]^+$ 397.2637,

25 encontrado 397.2638.

[00113] **Síntesis del Análogo 28.**

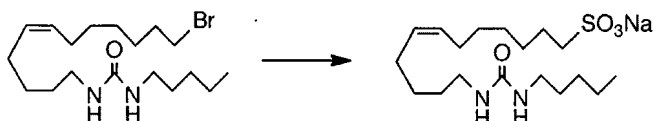


5

[00114] **Análogo 28.** Una mezcla de *N*'-hidroxi-13-(3-*n*-pentilureido)tridec-8(*Z*)-enimidamida (150 mg 0.42 mmol) y 1,1'-tiocarbonil diimidazol (90%; 91 mg, 0.51 mmol) en THF (5 mL) se agita a temperatura ambiente durante 45 min. La mezcla se diluye con agua (20 mL) y se extrae con acetato de etilo (3 × 10 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavan con agua, se secan, y el solvente se evapora in vacuo. El residuo se disuelve en acetonitrilo (5 mL) al que luego se agrega DBU (147 mg, 0.96 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 h, la mezcla se diluye con agua (10 mL), se ajusta a pH~4 con 1N HCl, y se extrae con acetato de etilo (3 × 10 mL). Los extractos combinados se lavan con agua, se secan sobre Na₂SO₄, y el solvente se evapora in vacuo. El residuo se purifica mediante gel de sílice cromatografía de columna para dar **28** (101 mg, 61 %) como un jarabe incoloro. TLC: MeOH/CH₂Cl₂ (1:9), *R_f*~ 0.55; ¹H RMN (CD₃OD, 300 MHz) δ 5.30-5.40 (m, 2H), 3.04-3.14 (m, 4H), 2.62 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 2.00-2.10 (m, 4H), 1.62-1.74 (m, 2H), 1.22-1.54 (m, 16H), 0.91 (t, *J* = 6.7 Hz, 3H); ¹³C RMN (CD₃OD, 125 MHz) δ 188.49, 161.91, 160.15, 129.82, 129.53, 39.88, 39.75, 29.92, 29.85, 29.37,

29.05, 28.63, 28.55, 26.90, 26.86, 26.75, 25.91, 23.67, 22.37, 13.31. HRMS calculado para $C_{20}H_{37}N_4O_2S$ $[M+1]^+$ 397.2637, encontrado 397.2645.

5 [00115] Síntesis del Análogo 11.



[00116] **Análogo 11.** Una solución 1-(12-bromododec-5(Z)-enil)-

10 3-*n*-pentilurea (300 mg, 0.79 mmol), sulfito de sodio (352 mg, 2.8 mmol) y ciclohexeno (649 mg, 7.9 mmol) en etanol (5 mL) se pone en reflujo durante la noche. Los volátiles se retiran bajo presión reducida y el residuo se disuelve en agua desionizada. Se agregan BioRad SM-2 Bio-beads (5 g; se pre-

15 lava con 0.1 N NH_4OH y H_2O), se agitan gentilmente durante 30 min, y luego se recolectan en un embudo de vidrio sinterizado. Los gránulos se lavan con agua desionizada (2 ×

10 mL) y luego EtOH (3 × 10 mL). La concentración de los lavados etanólicos proporciona **11** (235 mg, 75 %) como un

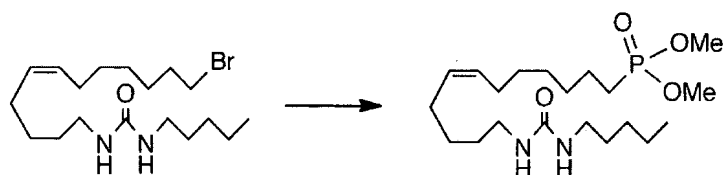
20 sólido incoloro, pf 133.6–133.8 °C. ^1H RMN (CD_3OD , 300 MHz) δ 5.30–5.40 (m, 2H), 3.02–3.14 (m, 4H), 2.78 (t, J = 8.0 Hz, 2H), 1.98–2.12 (m, 4H), 1.72–1.84 (m, 2H), 1.22–1.50 (m, 16H), 0.91 (t, J = 7.0 Hz, 3H); ^{13}C RMN (CD_3OD , 75 MHz) δ 160.12, 129.86, 129.49, 51.46, 39.01, 38.92, 29.92, 29.32,

25 29.02, 28.69, 28.42, 26.93, 26.62, 25.78, 24.78, 22.34,

12.02. HRMS calculado para $C_{18}H_{35}N_2NaO_4S$ $[M]^+$ 398.2215, encontrado 398.2220.

[00117] **Síntesis del Análogo 10.**

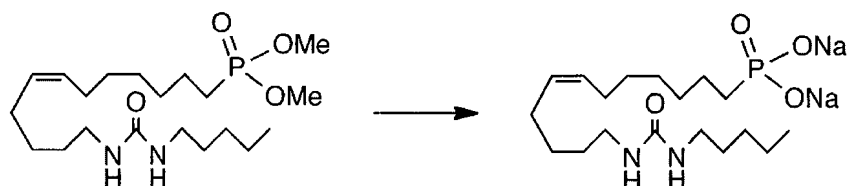
5



[00118] **Dimetil (12-(3-*n*-pentilureido)dodec-7(Z)-en-1-il)fosfonato.**

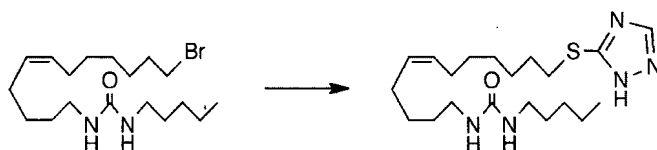
Una solución 1-(12-bromododec-5(Z)-enil)-3-*n*-pentilurea (250 mg, 0.67 mmol) y trimetil fosfito (10 mL) en THF (10 mL) se calienta bajo reflujo. Después de durante 48 h, todos los volátiles se retiran *in vacuo* y el residuo se purifica mediante cromatografía de columna de gel de sílice utilizando 60 % de EtOAc/CH₂Cl₂ para dar dimetil (12-(3-*n*-pentilureido)dodec-7(Z)-en-1-il)fosfonato (160 mg, 59 %) como un aceite viscoso. TLC: EtOAc, $R_f \sim 0.55$; ^1H RMN (400 MHz) δ 5.30-5.40 (m, 2H), 5.10 (br s, -NH, 1H), 5.02 (br s, -NH, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.68 (s, 3H), 3.06-3.14 (m, 4H), 1.97-2.20 (m, 4H), 1.63-1.78 (m, 2H), 1.20-1.60 (m, 18H), 0.88 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz) δ 159.11, 130.17, 129.93, 52.59, 52.56, 40.49, 30.49, 30.32, 30.28, 29.34, 29.33, 28.58, 27.21, 27.15, 27.11, 25.32, 23.93, 22.66, 22.35, 22.30, 14.24. HRMS calculado para $C_{20}H_{42}N_2O_4P$ $[M+1]^+$ 405.2882, encontrado 405.2883.

25



[00119] **Análogo 10.** Se agrega bromuro de trimetilsililo (37 μ L) a una solución del diéster fosfonato anterior (100 mg, 0.25 mmol) en CHCl_3 seco (4 mL). Después de 2 h a temperatura ambiente, la solución se concentra y el residuo se suspende en acetato de etilo (5 mL). El precipitado resultante se recolecta y se disuelve en agua desionizada. Se agregan BioRad SM-2 Bio-beads (5 g; se pre-lava con 0.1 N NH_4OH y H_2O), se agita gentilmente durante 1 h, y luego se recolecta en un embudo de vidrio sinterizado. Los gránulos se lavan con agua desionizada (2×10 mL) y luego EtOH (3×10 mL). La concentración de los lavados etanólicos proporciona fosfonato disodio **10** (68 mg, 65 %). ^1H RMN (CD_3OD , 300 MHz) δ 5.30-5.42 (m, 2H), 3.18-3.24 (m, 4H), 1.97-2.20 (m, 4H), 1.50-1.78 (m, 8H), 1.20-1.60 (m, 12H), 0.92 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (CD_3OD , 75 MHz) δ 159.48, 130.10, 129.25, 40.85, 40.76, 30.48, 30.25, 29.38, 29.13, 29.06, 28.81, 28.67, 27.62, 26.92, 26.70, 26.64, 25.80, 22.65, 22.58, 22.25, 13.02. HRMS calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{35}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_4\text{P}$ $[\text{M}]^+$ 420.2130, encontrado 420.2122.

[00120] **Síntesis del Análogo 16.**



[00121] **Análogo 16.** Se agrega metóxido de sodio (180 μ L, 30 % de solución metanólica) a una solución 1,2,4-triazol-3-tiol (101 mg, 0.99 mmol) en DMF seco (5 mL). Después de agitar a

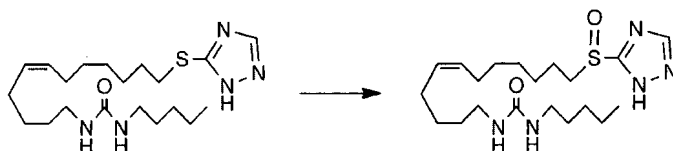
5 durante 10 min, se agrega 1-(12-bromododec-5(Z)-enil)-3-n-pentilurea (250 mg, 0.66 mmol). Después de agitar durante la noche, la mezcla de reacción se vierte en agua helada (100 mL) y el precipitado resultante se recolecta mediante

10 filtración y se seca *in vacuo*. El sólido crudo se suspende en diclorometano (100 mL), se agita durante 1 h y se filtra para dar **16** (222 mg, 85 %) como un sólido incoloro, pf 76.1-76.2 °C. TLC: EtOAc, R_f ~0.30; ^1H RMN (CD_3OD , 300 MHz) δ 8.26 (br s, 1H), 5.29-5.40 (m, 2H), 3.04-3.14 (m, 6H), 1.98-2.10 (m, 4H),

15 1.62-1.72 (m, 2H), 1.22-1.50 (m, 16H), 0.90 (t, J = 7.2 Hz, 3H); ^{13}C RMN (CD_3OD , 75 MHz) δ 160.15, 157.16, 146.90, 129.86, 129.44, 39.84, 39.73, 32.10, 29.91, 29.84, 29.65, 29.49, 29.02, 28.60, 28.30, 26.88, 26.73, 22.34, 13.28. HRMS calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{38}\text{N}_5\text{OS}$ $[\text{M}+1]^+$ 396.2797, encontrado 396.2805.

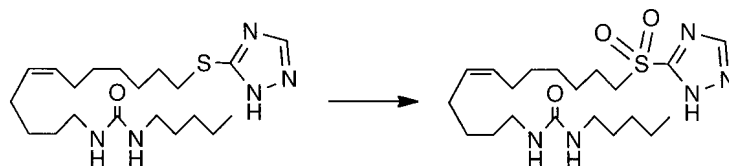
20

[00122] **Síntesis del Análogo 17.**



[00123] **Análogo 17.** Se combinan molibdato de amonio (160 mg, 0.13 mmol) y peróxido de hidrógeno (0.6 mL, 30 % de sol. acuosa) a 0 °C y se agita durante 15 min. Una alícuota de la solución amarilla brillante resultante (0.15 mL) se agrega en forma de gotas a una solución agitada a 0 °C de sulfuro **16** (77 mg, 0.2 mmol) en etanol (1.0 mL) que resulta en un precipitado amarillo claro. Durante los siguientes 15 min, las alícuotas (0.15 mL) de la solución oxidante se agregan cada 5 min. Después de otros 10 min, la mezcla de reacción se somete a partición entre H₂O y diclorometano (10 mL). La fase acuosa se extrae con diclorometano (10 mL) y los extractos orgánicos combinados se lavan con solución salina y se secan (Na₂SO₄). El residuo se purifica mediante cromatografía flash SiO₂ (70 % de EtOAc/hexanos) para proporcionar sulfóxido **17** (43 mg, 52 %) como un sólido incoloro, pf 88.2-88.4 °C. TLC: MeOH/EtOAc (1:9), *R_f*~0.30; ¹H RMN (CD₃OD, 300 MHz) δ 8.38 (br s, 1H), 5.26-5.36 (m, 2H), 5.18 (br s, 2H), 3.04-3.26 (m, 6H), 1.92-2.08 (m, 2H), 1.70-1.84 (m, 2H), 1.20-1.50 (m, 18H), 0.86 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H); ¹³C RMN (CD₃OD, 75 MHz) δ 163.82, 160.15, 146.98, 129.73, 129.54, 52.62, 39.81, 39.71, 29.90, 29.84, 29.25, 29.01, 28.57, 28.22, 26.88, 26.77, 26.73, 22.33, 21.92, 13.24. HRMS calculado para C₂₀H₃₈N₅O₂S [M+1]⁺ 412.2746, encontrado 412.2741.

25 [00124] **Síntesis del Análogo 18.**



[00125] **Análogo 18.** Se combinan molibdato de amonio (960 mg, 0.77 mmol) y peróxido de hidrógeno (3.6 mL, 30 % de sol.

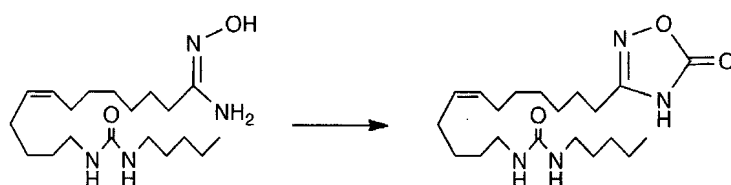
5 acuosa) a 0 °C y se agita durante 15 min. Una alícuota de la solución amarilla brillante (0.45 mL) se agrega en forma de gotas a una solución de 0 °C de sulfuro **16** (154 mg, 0.39 mmol) en etanol (3.6 mL) que resulta en un precipitado amarillo claro. Durante los siguientes 90 min, las alícuotas

10 (0.5 mL) de la solución oxidante se agregan cada 15 min. Después de otros 15 min, la mezcla de reacción se somete a partición entre H₂O y diclorometano (10 mL). La fase acuosa se extrae con diclorometano (10 mL) y las fases orgánicas combinadas se lavan con solución salina y se secan (Na₂SO₄).

15 El residuo se purifica mediante cromatografía flash SiO₂ (70 % de EtOAc/hexanos) para proporcionar sulfona **18** (129 mg, 78 %) como un sólido blanco, pf 90.6-90.8 °C. TLC: MeOH/EtOAc (1:9), *R_f*~0.50; ¹H RMN (CD₃OD, 300 MHz) δ 8.44 (br s, 1H), 5.25-5.30 (m, 2H), 5.02 (br s, 1H), 4.90 (br s, 1H), 3.35 (t, *J* = 7.9 Hz, 2H), 3.22-3.10 (m, 4H), 1.90-2.60 (m, 4H), 1.66-1.80 (m, 2H), 1.20-1.54 (m, 16H), 0.87 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H); ¹³C RMN (CD₃OD, 75 MHz) δ 161.15, 160.13, 145.87, 129.73, 129.56, 54.26, 39.85, 39.74, 29.90, 29.83, 29.21, 29.02, 28.46, 27.80, 26.89, 26.79, 26.73, 22.34, 22.19, 13.30. HRMS calculado para C₂₀H₃₈N₅O₃S[M+1]⁺ 428.2695, encontrado 428.2701.

25

[00126] Síntesis del Análogo 23.



- 5 [00127] **Análogo 23.** A una solución de N'-hidroxi-13-(3-n-pentilureido)tridec-8(Z)-enimidamida (50 mg, 0.14 mmol) en dioxano seco (3 mL) se agrega 1,1-carbonildiimidazol (CDI; 27 mg, 0.16 mmol) seguido por 1,8-diazabicycloundec-7-eno (DBU; 23 mg, 0.15 mmol). Después de agitar a durante 15 min, la
- 10 mezcla de reacción se calienta a 110 °C durante 15 min, luego se regresa a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluye con agua (20 mL) y se extrae con acetato de etilo (3 x 5 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavan con agua, solución salina, se secan (Na₂SO₄), y se concentran *in vacuo*.
- 15 El residuo se purifica mediante cromatografía de columna SiO₂ para dar **23** (36 mg, 67 %) como un sólido pegajoso. TLC: EtOAc/hexanos (4:1), *R_f*~0.40; ¹H RMN (CD₃OD, 300 MHz) δ 5.30-5.40 (m, 2H), 3.02-3.14 (m, 4H), 2.52 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 2.00-2.10 (m, 4H), 1.60-1.70 (m, 2H), 1.24-1.50 (m, 16H),
- 20 0.90 (t, *J* = 6.7 Hz, 3H); ¹³C RMN (CD₃OD, 75 MHz) δ 158.30, 157.33, 126.98, 126.68, 37.02, 36.90, 26.97, 26.53, 26.19, 25.76, 25.72, 24.02, 23.89, 22.68, 21.84, 19.52, 10.43; IR (puro) 2929, 2854, 1809, 1776, 1738, 1620, 1580, 1467, 1257, 981 cm⁻¹. HRMS (ESI-neg) calculado para C₂₀H₃₅N₄O₃ [M-1]⁻
- 25 379.2715, encontrado 379.2731.

[00128] Síntesis del Análogo 27.



5

[00129] *N*¹-*n*-Butil-*N*²-(12-(*tert*-butildifenilsililoxi)dodec-

5(*Z*)-enil)oxalamida. Una mezcla de ácido 2-(*n*-butilamino)-2-oxoacético² (0.40 g, 2.70 mmol), el 1-*tert*-butildifenilsililoxi-12-aminododec-7(*Z*)-eno anterior (1.20 g,

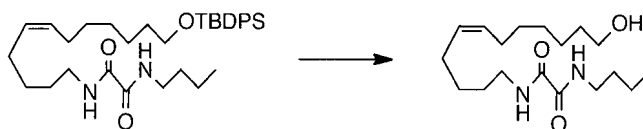
10 2.70 mmol), 1-hidroxibenzotriazol (HOBt; 0.44 g, 3.30 mmol) y clorhidrato de [1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida] (0.63 g, 3.30 mmol) en DMF seco (5 mL) se agita a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se detiene con agua (30 mL) y se extrae en acetato de etilo (3 × 20 mL).

15 Los extractos orgánicos combinados se lavan con agua (2 × 10 mL), solución salina (10 mL), se secan y se concentran *in vacuo*. El residuo se purifica mediante cromatografía de columna SiO₂ para dar *N*¹-*n*-butil-*N*²-(12-(*tert*-butildifenilsililoxi)dodec-5(*Z*)-enil)oxalamida (1.10 g, 73

20 %). TLC: EtOAc/hexanos (2:3), *R*_f~0.55; ¹H RMN (400 MHz) δ 8.05 (br s, -NH, 2H), 7.66-7.74 (m, 4H), 7.32-7.42 (m, 6H), 5.30-5.42 (m, 2H), 3.67 (t, *J* = 3.9 Hz, 2H), 3.31 (q, *J* = 5.2 Hz, 4H), 1.96-2.10 (m, 4H), 1.50-1.64 (m, 6H), 1.22-1.44 (m, 10H), 1.06 (s, 9H), 0.92 (t, *J* = 7.8 Hz, 3H); ¹³C RMN (100
25 MHz) δ 160.33, 135.80, 134.35, 130.73, 129.74, 129.20, 127.83, 64.17, 39.89, 39.69, 32.79, 31.48, 29.94, 29.29, 29.07,

27.46, 27.23, 27.14, 27.0, 25.96, 20.29, 19.46, 13.96. HRMS calculado para $C_{34}H_{53}N_2O_3Si$ $[M+1]^+$ 565.3826, encontrado 565.3824.

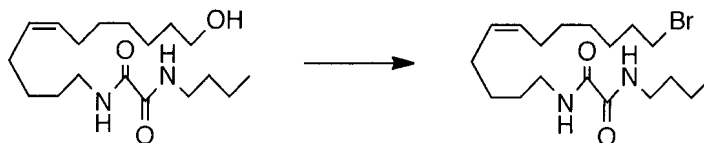
5



[00130] **N^1 - n -Butil- N^2 -(12-hidroxidodec-5(Z)-enil)oxalamida.** N^1 - n -Butil- N^2 -(12-(*tert*-butildifenilsililoxi)dodec-5(Z)-

enil)oxalamida (1.20 g, 2.12 mmol) se des-silila como se describió anteriormente para dar N^1 - n -butil- N^2 -(12-hidroxidodec-5(Z)-enil)oxalamida (0.568 g, 82 %) como un sólido incoloro, pf 102.8-102.9 °C. TLC: EtOAc/hexanos (7:3), $R_f \sim 0.55$; ^1H RMN (400 MHz) δ 7.69 (br s, 2H), 5.20-5.35 (m, 2H), 3.56 (t, $J = 4.2$ Hz, 2H), 3.26 (q, $J = 5.6$ Hz, 4H), 2.17 (br s, -OH), 1.95-2.02 (m, 4H), 1.44-1.56 (m, 6H), 1.20-1.40 (m, 10H), 0.87 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz) δ 160.15, 130.66, 129.21, 62.98, 39.80, 39.63, 32.93, 31.39, 29.77, 29.18, 28.95, 27.26, 27.0, 26.88, 25.80, 20.18, 13.85. HRMS calculado para $C_{18}H_{35}N_2O_3$ $[M+1]^+$ 327.2648, encontrado 327.2648.

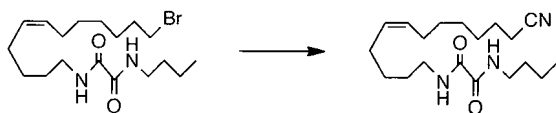
20



[00131] **N^1 -(12-Bromododec-5(Z)-enil)- N^2 - n -butiloxalamida.** N^1 - n -Butil- N^2 -(12-hidroxidodec-5(Z)-enil)oxalamida (330 mg, 1.0mmol) se somete a bromación como se describió

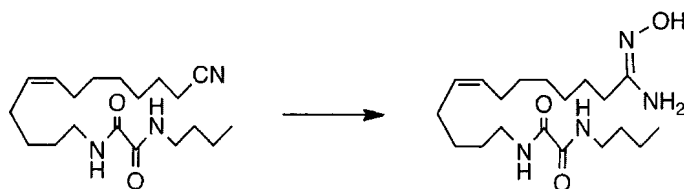
25

anteriormente para dar N^1 -(12-bromododec-5(Z)-enil)- N^2 -*n*-butiloxalamida (330 mg, 84 %) como un sólido blanco, pf 46.0-46.3 °C. TLC: EtOAc/hexanos (3:2), R_f ~0.55; ^1H RMN (400 MHz) δ 7.79 (br s, -NH, 1H), 7.77 (br s, -NH, 1H), 5.20-5.32 (m, 2H), 3.32 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 3.22 (q, J = 7.2 Hz, 4H), 1.90-2.00 (m, 4H), 1.72-1.82 (m, 2H), 1.42-1.56 (m, 4H), 1.20-1.40 (m, 10H), 0.85 (t, J = 7.3 Hz, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz) δ 160.17, 160.15, 130.40, 129.34, 39.77, 39.59, 34.12, 32.93, 31.40, 29.62, 29.0, 28.54, 27.25, 27.24, 27.0, 26.91, 20.18, 13.85. HRMS calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{BrN}_2\text{O}_2$ $[\text{M} + 1]^+$ 389.1804, encontrado 389.1809.



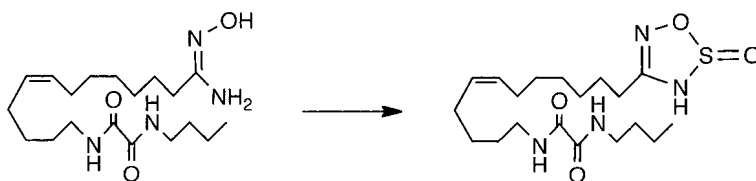
15 [00132] **N^1 -*n*-Butil- N^2 -(12-cianododec-5(Z)-enil)oxalamida.** Se trata N^1 -(12-bromododec-5(Z)-enil)- N^2 -*n*-butiloxalamida (250 mg, 0.642 mmol) como se describió anteriormente con cianuro de potasio para dar N^1 -*n*-butil- N^2 -(12-cianododec-5(Z)-enil)oxalamida (168 mg, 78 %) como un sólido incoloro, pf 83.0-83.3 °C. TLC: EtOAc/hexanos (3:2), R_f ~0.35; ^1H RMN (400 MHz) δ 7.45 (br s, -NH, 2H), 5.30-5.40 (m, 2H), 3.34 (q, J = 8.6 Hz, 4H), 2.32 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 1.98-2.08 (m, 4H), 1.30-1.68 (m, 16H), 0.92 (t, J = 7.2 Hz, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz) δ 160.03 (2C), 130.03, 129.08, 120.10, 39.88, 39.42, 31.22, 29.40, 28.82, 28.60, 28.42, 27.07, 27.06, 26.82,

25.54, 20.06, 17.01, 13.80. HRMS calculado para $C_{19}H_{34}N_3O_2$ $[M+1]^+$ 336.2651, encontrado 336.2650.



5

[00133] **N^1 -(13-Amino-13-(hidroxiimino)tridec-5(Z)-enil)- N^2 -n-butiloxalamida.** Siguiendo el procedimiento descrito anteriormente, una mezcla de N^1 -n-butyl- N^2 -(12-cianododec-5(Z)-enil)oxalamida, $H_2NOH \cdot HCl$, y Na_2CO_3 se convierte a N^1 -(13-amino-13-(hidroxiimino)tridec-5(Z)-enil)- N^2 -n-butiloxalamida (102 mg, 62 %) como un sólido incoloro, 116.3-116.4 °C. TLC: MeOH/ CH_2Cl_2 (1:4), $R_f \sim 0.20$; ^1H RMN (CD_3OD , 400 MHz) δ 5.28-5.40 (m, 2H), 3.24 (t, $J = 6.4$ Hz, 4H), 1.98-2.00 (m, 6H), 1.50-1.60 (m, 6H), 1.26-1.40 (m, 10H), 0.92 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (CD_3OD , 100 MHz) δ 160.55 (2C), 156.31, 130.05, 129.18, 39.23, 39.09, 31.18, 30.63, 29.51, 28.83, 28.69, 27.10, 26.87, 26.59, 19.88, 12.88. HRMS calculado para $C_{19}H_{37}N_4O_3$ $[M+1]^+$ 369.2866, encontrado 369.2864.

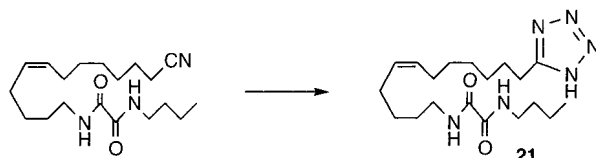


20

[00134] **Análogo 27.** El tratamiento de N^1 -(13-amino-13-(hidroxiimino)tridec-5(Z)-enil)- N^2 -n-butiloxalamida (100 mg,

0.27 mmol) con 1,1'-tiocarbonil diimidazol da **27** (71 mg, 63 %)
 como un sólido blanco, pf 110.6-110.8 °C. TLC: MeOH/CH₂Cl₂
 (1:9), $R_f \sim 0.55$; ¹H RMN (400 MHz) δ 8.90 (br s, NH, 1H), 7.52
 (br s, NH, 2H), 5.28-5.40 (m, 2H), 3.20-3.40 (m, 4H), 2.59
 5 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H), 1.98-2.10 (m, 4H), 1.21-1.70 (m, 16H),
 0.92 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ¹³C RMN (100 MHz) δ 160.12, 160.08,
 153.31, 130.62, 129.46, 39.93, 39.85, 31.35, 29.33, 28.94,
 28.89, 28.68, 27.02, 26.84, 26.69, 23.96, 20.23, 13.90. HRMS
 calculado para C₁₉H₃₅N₄O₄S [M+1]⁺ 415.2379, encontrado
 10 415.2372.

[00135] **Síntesis del Análogo 21.**



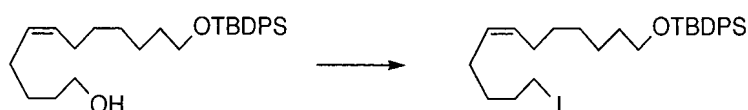
15

[00136] **Análogo 21.** Siguiendo el procedimiento utilizado para
 preparar **22**, una mezcla de *N*¹-*n*-butil-*N*²-(12-cianododec-5(*Z*)-
 enil)oxalamida (30 mg, 0.10 mmol), azida de sodio (11 mg,
 0.20 mmol) y bromuro de zinc (40 mg, 0.20 mmol) se calienta
 20 en isopropanol/metanol/H₂O (1:1:3, 4 mL) para dar tetrazol **21**
 (25 mg, 74 %) como un sólido incoloro, pf 113-114 °C. TLC: 10
 % de MeOH/CH₂Cl₂, $R_f \sim 0.26$; ¹H RMN (CD₃OD, 400 MHz) δ 5.40-5.35
 (m, 2H), 3.26 (t, $J = 7.0$ Hz, 4H), 2.44 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H),
 2.05-2.15 (m, 4H), 1.65-1.60 (m, 6H), 1.40-1.30 (m, 10H),
 25 0.94 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ¹³C RMN (CD₃OD, 100 MHz) δ 160.12,

160.05, 156.80, 130.35, 129.50, 39.20, 39.08, 31.15, 29.33, 28.66, 28.65, 28.53, 27.38, 26.83, 26.79, 26.55, 22.86, 19.85, 12.84. HRMS calculado para $C_{19}H_{35}N_6O_2$ $[M+1]^+$ 379.2822, encontrado 379.2814.

5

[00137] Síntesis del Análogo 26.



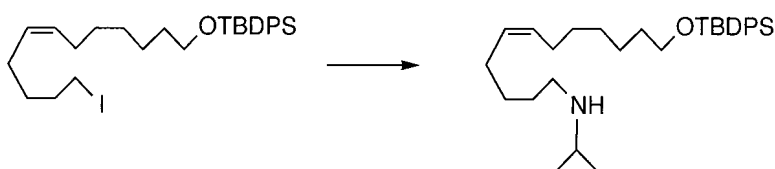
10 [00138] 1-(tert-Butildifenilsililoxi-12-Iodododec-7(Z)-eno.

Se agregan trifenilfosfino (504 mg, 1.14 mmol) e imidazol (156 mg, 2.30 mmol) a una solución de 0 °C del 12-(tert-butildifenilsililoxi)dodec-5(Z)-en-1-ol anterior (500 mg, 1.14 mmol) en THF seco (25 mL) bajo una atmósfera de argón.

15 Después de 10 min, se agrega yoduro sólido (252 mg, 1.2 equiv) en porciones. Después de agitar a una temperatura ambiente durante 3 h, la mezcla de reacción se detiene con solución acuosa saturada de solución de bisulfito de sodio (10 mL). Después de 1 h adicional, la solución se lava con

20 agua (2 × 30 mL) y se concentra bajo presión reducida. El residuo se purifica mediante cromatografía flash de columna SiO_2 utilizando 10 % de EtOAc/hexanos como eluyente para dar el compuesto del título (474 mg, 76 %) como un aceite incoloro. TLC: 20 % de EtOAc/hexanos, $R_f \sim 0.65$; ^1H RMN (300
25 MHz) δ 7.65-7.70 (m, 4H), 7.35-7.45 (m, 6H), 5.30-5.40 (m, 2H), 3.64 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 3.18 (t, $J = 5.5$ Hz, 2H),

1.95-2.10 (m, 4H), 1.85-1.90 (m, 2H), 1.22-1.50 (m, 10H),
 1.20 (s, 9H); ^{13}C RMN (75 MHz) δ 135.87, 130.42, 130.22,
 130.20, 129.95, 127.89, 64.15, 38.35, 36.20, 32.50, 29.90,
 28.62, 28.32, 27.25, 27.20, 27.18, 26.22, 19.12. HRMS
 5 calculado para $\text{C}_{28}\text{H}_{42}\text{IOSi}$ $[\text{M}+1]^+$ 549.2050, encontrado 549.2044.

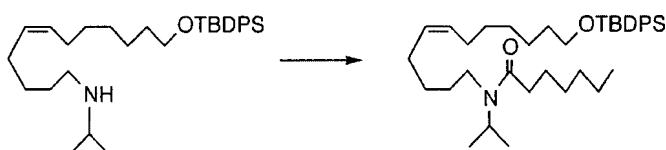


[00139] **1-(tert-Butildifenilsililoxi-12-N-isopropilamino-**

10 **dodec-7(Z)-eno.** Isopropilamina (464 μL , 5.45 mmol) y K_2CO_3
 (373 mg, 2.73 mmol) se agregan secuencialmente a una solución
 a temperatura ambiente de 1-(tert-butildifenilsililoxi-12-
 iodododec-7(Z)-eno (500 mg, 0.91 mmol) en tetrahidrofurano
 seco (8 mL). La mezcla se calienta en un tubo sellado a 90 $^\circ\text{C}$
 15 durante 12 h, luego se enfría a temperatura ambiente, se
 diluye con agua (5 mL), se filtra y el filtrado se extrae con
 acetato de etilo (3 $\times$ 10 mL). Los extractos orgánicos
 combinados se secan, se concentran bajo presión reducida, y
 el residuo se purifica mediante cromatografía de columna SiO_2
 20 utilizando un gradiente de 2 % a 5% de $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ como
 eluyente para dar la amina del título (335 mg, 77 %) como un
 aceite incoloro. TLC: 5 % de $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$, $R_f \sim 0.3$; ^1H RMN (300
 MHz) δ 7.62-7.70 (m, 4H), 7.34-7.44 (m, 6H), 5.30-5.40 (m,
 2H), 3.64 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 2.72-2.84 (m, 1H), 2.58 (t, J
 25 = 7.0 Hz, 2H), 1.94-2.08 (m, 4H), 1.20-1.60 (m, 12H), 1.05
 (d, $J = 7.2$ Hz, 6H), 1.04 (s, 9H); ^{13}C RMN (75 MHz) δ 135.81,

134.40, 132.0, 129.72, 127.81, 64.21, 48.96, 47.75, 32.80,
30.33, 29.97, 29.31, 27.85, 27.44, 27.33, 27.11, 25.95,
23.27, 19.46. HRMS calculado para C₃₁H₅₀NOSi [M+1]⁺ 480.3662,
encontrado 480.3666.

5



[00140] N-(12-(tert-Butildifenilsililoxi)dodec-5(Z)-enil)-N-

isopropil n-heptanamida. Se agrega en porciones clorhidrato

10 [1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida] sólido (EDCI;
131 mg, 0.69 mmol) a una solución a temperatura ambiente de
1-(*tert*-butildifenilsililoxi-12-*N*-isopropilamino-dodec-7(*Z*)-
eno (300 mg, 0.63 mmol), DMAP (84 mg, 0.69 mmol), *N*-
hidroxibenzotriazol (HOBT; 93 mg, 0.69 mmol), y ácido *n*-
15 heptanoico (90 mg, 0.68 mmol) en DMF seco (5 mL). Después de
12 h, la mezcla de reacción se diluye con agua (10 mL) y se
extrae con éter (3 × 5 mL). Los extractos etéricos combinados
se lavan con solución salina, se secan, y se evaporan in
vacuo. El residuo se purifica por medio de cromatografía de
20 columna SiO₂ para dar el compuesto del título (281 mg, 76 %)
como un aceite incoloro. TLC: EtOAc/hexanos (1:4), *R_f*~0.65; ¹H
RMN (300 MHz, mezcla de rotámeros 1:1) δ 7.62-7.70 (m, 4H),
7.34-7.44 (m, 6H), 5.30-5.40 (m, 2H), 4.60-4.70 y 4.00-4.05
(m, 1H para dos rotámeros), 3.05 (t, *J* = 5.2 Hz, 2H), 3.02-
25 3.19 (m, 2H), 2.20-2.40 (m, 2H), 1.95-2.10 (m, 4H), 1.20-1.60
(m, 20 H), 1.18 y 1.08 (d, *J* = 7.0 Hz, 6H para dos

rotámeros), 1.02 (s, 9H), 0.88 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (75 MHz) δ 177.24, 173.35, 172.25, 136.16, 135.80, 135.14, 134.37, 134.34, 130.97, 130.31, 129.74, 129.73, 129.54, 129.04, 127.82, 127.75, 64.21, 64.18, 48.42, 45.68, 43.62, 41.19, 34.46, 34.02, 32.81, 32.79, 31.95, 31.94, 31.75, 31.28, 30.0, 29.92, 29.55, 29.46, 29.31, 29.09, 27.87, 27.52, 27.49, 27.45, 27.21, 27.13, 26.94, 26.88, 25.97, 25.95, 25.79, 25.15, 22.81, 22.75, 21.63, 20.77, 19.46, 19.33, 14.34, 14.30. HRMS calculado para $\text{C}_{38}\text{H}_{62}\text{NO}_2\text{Si}$ $[\text{M}+1]^+$ 592.4550, encontrado 592.4552.

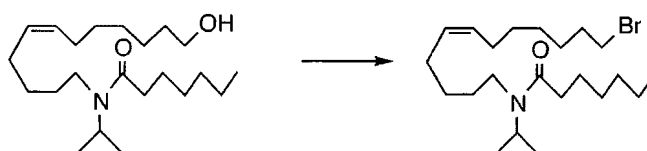


[00141] N-(12-Hidroxidodec-5(Z)-enil)-N-isopropil n-

heptanamida. Siguiendo el procedimiento de des-sililación anterior, N-(12-(tert-butildifenilsililoxi)dodec-5(Z)-enil)-N-isopropil n-heptanamida (275 mg, 0.464 mmol) se convierte a el alcohol del título (155 mg, 94 %) como un jarabe. TLC: 40 % de EtOAc/hexanos, $R_f \sim 0.45$; ^1H RMN (300 MHz, mezcla de rotámeros 45/55) δ 5.30-5.46 (m, 2H), 4.62-4.72 y 4.00-4.08 (m, 1H para dos rotámeros), 3.63 (t, $J = 5.4$ Hz, 2H), 3.06-3.14 (m, 2H), 2.22-2.36 (m, 2H), 1.98-2.10 (m, 4H), 1.24-1.70 (m, 20 H), 1.17 y 1.10 (d, $J = 6.8$ Hz, 6H para dos rotámeros), 0.88 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (75 MHz) δ 173.23, 172.67, 130.83, 130.12, 129.71, 128.96, 62.69, 62.64, 48.34, 45.56, 43.52, 41.07, 34.0, 33.91, 32.91, 32.88, 31.84,

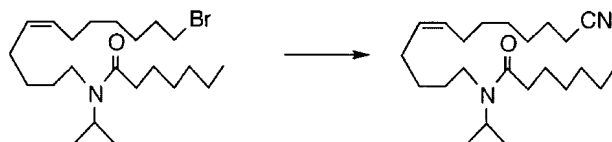
31.81, 31.18, 29.82, 29.74, 29.46, 29.33, 29.11, 27.78, 27.37, 27.35, 27.16, 27.13, 26.84, 25.89, 25.81, 25.66, 22.69, 21.51, 20.65, 14.21. HRMS calculado para $C_{22}H_{44}NO_2$ $[M+1]^+$ 354.3372, encontrado 354.3380.

5



[00142] N-(12-Bromododec-5(Z)-enil)-N-isopropil-n-hexanamida.

Siguiendo el procedimiento anterior, N-(12-hidroxidodec-5(Z)-enil)-N-isopropil n-heptanamida (150 mg, 0.43 mmol) se transforma como se describió anteriormente en el bromo correspondiente (144 mg, 82 %) como un jarabe. TLC: 30 % de EtOAc/hexanos, $R_f \sim 0.65$; ^1H RMN (300 MHz, relación 45/55 de rotámeros) δ 5.30-5.42 (m, 2H), 4.60-4.70 y 4.00-4.10 (m, 1H para dos rotámeros), 3.42 (t, $J = 5.3$ Hz, 2H), 3.02-3.20 (m, 2H), 2.20-2.38 (m, 2H), 1.80-2.10 (m, 4H), 1.20-1.70 (m, 20H), 1.16 y 1.12 (d, $J = 7.2$ Hz, 6H para dos rotámeros), 0.87 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (75 MHz) δ 173.20, 172.64, 130.61, 130.46, 129.96, 129.94, 129.24, 48.34, 45.56, 43.54, 41.09, 34.20, 34.16, 34.05, 33.97, 32.98, 32.93, 32.60, 31.90, 31.88, 31.26, 29.78, 29.68, 29.62, 29.51, 29.40, 28.94, 28.55, 28.25, 28.20, 27.81, 27.69, 27.45, 27.30, 27.25, 27.18, 26.92, 25.87, 25.20, 22.75, 21.59, 20.72, 14.72. HRMS calculado para $C_{22}H_{43}BrNO$ $[M+1]^+$ 416.2528, encontrado 416.2523.



[00143] N-(12-Cianododec-5(Z)-enil)-N-isopropil-n-hexanamida.

Siguiendo el procedimiento de desplazamiento de cianuro

5 anterior,

N-(12-bromododec-5(Z)-enil)-N-isopropil-n-

hexanamida (500 mg, 1.20 mmol) da el nitrilo del título (339

mg, 78 %) como un jarabe. TLC: EtOAc/hexanos (3:7), $R_f \sim 0.40$;

^1H RMN (500 MHz, relación de rotámeros 45/55) δ 5.20-5.34 (m,

2H), 4.52-4.62 y 3.90-4.02 (m, 1H para dos rotámeros), 3.00-

10 3.10 (m, 2H), 2.16-2.30 (m, 4H), 1.90-2.05 (m, 4H), 1.60-1.70

(m, 8H), 1.22-1.50 (m, 12H), 1.18 y 1.11, (d, $J = 6.8$ Hz, 6H

para dos rotámeros), 0.88 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (75

MHz) δ 173.22, 172.66, 130.42, 130.04, 129.78, 129.35, 120.04,

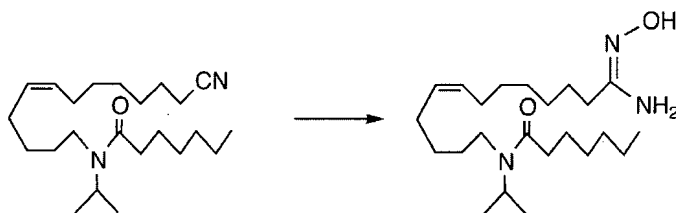
119.99, 48.34, 45.58, 43.54, 41.07, 34.02, 33.95, 31.89,

15 31.86, 31.22, 29.53, 29.49, 29.37, 28.73, 28.70, 28.57,

28.53, 27.78, 27.39, 27.26, 27.18, 27.17, 26.91, 25.85,

25.70, 25.52, 25.49, 22.73, 21.56, 20.70, 17.26, 14.27. HRMS

calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{43}\text{N}_2\text{O}$ $[\text{M}+1]^+$ 363.3375, encontrado 363.3375.



20

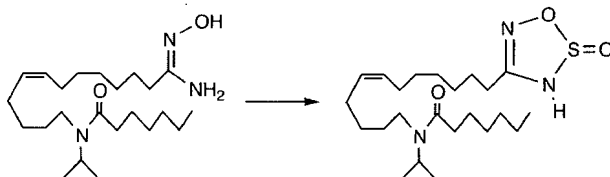
[00144] N-(13-Amino-13-(hidroxiimino)tridec-5(Z)-enil)-N-

isopropil-n-heptanamida. Siguiendo el procedimiento anterior,

una mezcla de N-(12-cianododec-5(Z)-enil)-N-isopropil-n-

hexanamida, $\text{H}_2\text{NOH}\cdot\text{HCl}$, y Na_2CO_3 se convierte en el compuesto del título (64 %). TLC: $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (3:7), $R_f \sim 0.30$; ^1H RMN (500 MHz, relación de rotámeros 1:1) δ 5.24-5.40 (m, 2H), 4.62-4.68 (m, 0.5H), 4.50-4.60 (-NH, 2H), 3.96-4.40 (m, 0.5H), 3.02-3.14 (m, 2H), 2.18-2.28 (m, 2H), 1.90-2.16 (m, 6H), 1.46-1.64 (m, 8H), 1.20-1.36 (m, 12 H), 1.15 y 1.08 (d, $J = 7.3$ Hz, 6H para dos rotámeros), 0.85 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (75 MHz) δ 173.22, 172.58, 154.26, 154.21, 130.82, 130.13, 129.79, 129.08, 48.32, 45.50, 43.52, 41.09, 36.03, 34.05, 33.97, 31.89, 31.86, 31.459, 31.25, 29.72, 29.67, 29.53, 29.39, 29.21, 29.19, 29.11, 29.03, 27.83, 27.41, 27.24, 27.17, 26.90, 26.84, 25.87, 25.70, 22.74, 21.58, 20.73, 14.26. HRMS calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{46}\text{N}_3\text{O}_2$ $[\text{M}+1]^+$ 396.3590, encontrado 396.3698.

15

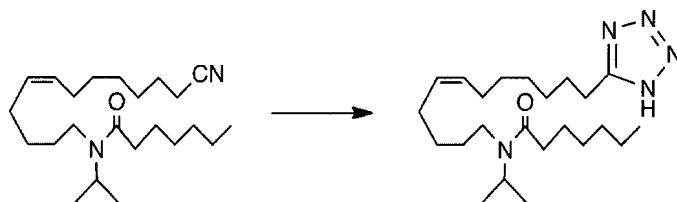


[00145] **Análogo 26.** Se trata *N*-(13-Amino-13-(hidroxiimino)tridec-5(*Z*)-enil)-*N*-isopropil-*n*-heptanamida

(150 mg, 0.38 mmol) con cloruro de tionilo a 0 °C como se describió anteriormente para dar **26** (133 mg, 68 %) como un jarabe. TLC: $\text{EtOAc}/\text{hexanos}$ (1:1), $R_f \sim 0.30$; ^1H RMN (400 MHz, relación de rotámeros 35/65) δ 5.22-5.40 (m, 2H), 4.48-4.70 y 4.00-4.12 (m, 1H para dos rotámeros), 3.04-3.20 (m, 2H), 2.50 y 2.64 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H para dos rotámeros), 2.22, 2.38 (t,

$J = 8.0$ Hz, 2H para dos rotámeros), 1.90-2.10 (m, 4H), 1.50-1.78 (m, 8H), 1.20-1.40 (m, 12H), 1.22 y 1.12 (d, $J = 6.7$ Hz 6H para dos rotámeros), 0.88 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz) δ 173.82, 173.40, 153.39, 153.26, 131.03, 130.02, 129.97, 129.10, 48.85, 46.04, 43.82, 41.50, 34.13, 34.02, 31.85, 31.80, 31.23, 29.58, 29.32, 29.11, 29.09, 29.02, 28.80, 28.17, 27.96, 27.32, 27.24, 27.19, 26.03, 26.75, 26.64, 26.10, 24.02, 29.96, 22.75, 21.56, 21.53, 20.74, 20.72, 14.27, 14.25. HRMS calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{44}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$ $[\text{M}+1]^+$ 442.3103, encontrado 442.3106.

[00146] Síntesis del Análogo 19.

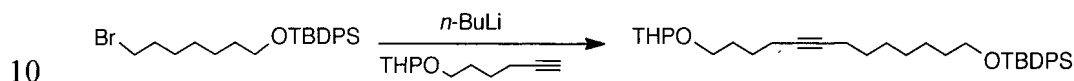


15

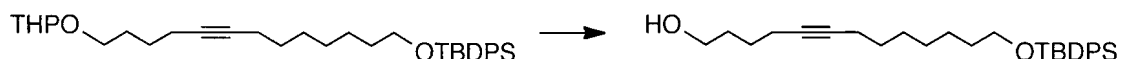
[00147] Análogo 19. *N*-(12-Cianododec-5(*Z*)-enil)-*N*-isopropil-*n*-hexanamida (350 mg, 0.97 mmol) se trata con azida de sodio como se describió anteriormente para dar tetrazol **19** (250 mg, 64 %) como un sólido pegajoso. TLC: EtOAc, $R_f \sim 0.40$; ^1H RMN (300 MHz, relación de rotámeros 35/65) δ 5.22-5.40 (m, 2H), 4.58-4.68 y 4.02-4.18 (m, 1H para dos rotámeros), 3.10-3.24 (m, 2H), 2.98 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 2.44 y 2.30 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H para dos rotámeros), 1.94-2.10 (m, 4H), 1.72-1.84 (m, 2H), 1.50-1.70 (m, 4H), 1.18-1.40 (m, 14H), 1.21 y 1.10 (d, $J = 7.2$ Hz, 6H para dos rotámeros), 0.82-0.87 (m, 3H); ^{13}C RMN

(75 MHz) δ 174.06, 173.80, 130.85, 130.04, 129.79, 129.08, 48.94, 46.32, 43.97, 41.55, 34.11, 34.05, 31.79, 31.72, 31.12, 29.61, 29.61, 29.51, 29.25, 29.05, 28.85, 28.22, 27.98, 27.89, 27.32, 27.19, 26.92, 25.97, 23.70, 22.67, 21.51, 20.67, 14.02. HRMS calculado para $C_{23}H_{44}N_5O[M+1]^+$ 406.3546, encontrado 406.3547.

[00148] Síntesis del Análogo 22.



[00149] 1-tert-Butildifenilsililoxi-13-(tetrahidro-2H-piran-2-iloxi)tridec-8-ina. Siguiendo el procedimiento aplicado en la síntesis del Análogo **25**, 2-(hex-5-iniloxi)tetrahidro-2H-piran¹ (5.0 g, 27.40 mmol) se acopla con 1-tert-butildifenilsililoxi-7-bromoheptano (11.90 g, 27.40 mmol) para dar 1-tert-butildifenilsililoxi-13-(tetrahidro-2H-piran-2-iloxi)tridec-8-ina³ (10.50 g, 72 %) como un jarabe incoloro cuyos datos espectrales coinciden con los valores de la literatura. ³TLC: EtOAc/hexanos (1:4), $R_f \sim 0.60$; ¹H RMN (400 MHz) δ 7.64-7.68 (m, 4H), 7.34-7.42 (m, 6H), 4.57 (t, $J = 4.3$ Hz, 1H), 3.78-3.86 (m, 2H), 3.65 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H), 3.32-3.54 (m, 2H), 2.10-2.22 (m, 4H), 1.24-1.84 (m, 20H), 1.04 (s, 9H); ¹³C RMN (100 MHz) δ 135.80, 134.38, 129.72, 127.81, 99.0, 80.72, 80.10, 67.30, 64.17, 62.49, 32.77, 30.99, 29.34, 29.18, 29.13, 29.0, 27.11, 26.19, 25.91, 25.74, 19.87, 19.45, 19.0, 18.86.



[00150] 13-(tert-Butildifenilsililoxi)tridec-5-in-1-ol.

5 Siguiendo el procedimiento aplicado en la síntesis del Análogo **25**, 1-tert-butildifenilsililoxi-13-(tetrahidro-2H-piran-2-iloxi)tridec-8-ina (10.0 g, 18.70 mmol) se desprotege con PPTS para dar 13-(tert-butildifenilsililoxi)tridec-5-in-1-ol (7.70 g, 91 %) como un jarabe incoloro. TLC:

10 EtOAc/hexanos (3:7), $R_f \sim 0.43$; ^1H RMN (300 MHz) δ 7.64-7.68 (m, 4H), 7.34-7.42 (m, 6H), 3.62 (t, $J = 5.6$ Hz, 4H), 2.06-2.22 (m, 4H), 1.50-1.64 (m, 14H), 1.04 (s, 9H); ^{13}C RMN (100 MHz) δ 135.82, 134.37, 129.76, 127.85, 80.93, 80.04, 64.21, 62.63, 32.77, 32.09, 29.33, 29.13, 29.10, 27.14, 25.92, 25.63,

15 19.47, 19.0, 18.81. HRMS calculado para $\text{C}_{29}\text{H}_{43}\text{O}_2\text{Si}$ $[\text{M}+1]^+$ 451.3032, encontrado 451.3032.

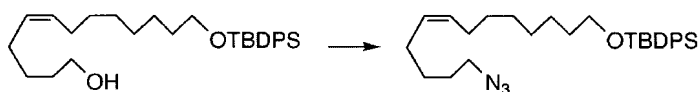


[00151] (Z)-13-(tert-Butildifenilsililoxi)tridec-5-en-1-ol.

Siguiendo el procedimiento aplicado en la síntesis del Análogo **25**, 13-(tert-butildifenilsililoxi)tridec-5-in-1-ol (7.50 g, 16.60 mmol) se somete a semi-hidrogenación para dar 13-(tert-butildifenilsililoxi)tridec-5(Z)-en-1-ol (6.90 g, 92

25 %) como un jarabe cuyos valores espectrales coinciden con los datos de la literatura. ^2TLC : EtOAc/hexanos (3:7), $R_f \sim 0.45$; ^1H

RMN (400 MHz) δ 7.64-7.68 (m, 4H), 7.42-7.34 (m, 6H), 5.28-5.42 (m, 2H), 3.68-3.67 (t, J = 6.4 Hz, 4H), 1.98-2.12 (m, 4H), 1.50-1.60 (m, 4H), 1.40-1.24 (m, 10H), 1.04 (s, 9H); ^{13}C RMN (100 MHz) δ 135.83, 134.40, 130.61, 129.74, 129.60, 127.83, 64.21, 63.08, 32.83, 32.60, 29.94, 29.54, 27.50, 27.18, 27.14, 26.12, 26.01, 19.48.



10 [00152] **1-tert-Butildifenilsililoxi-13-azidotridec-8(Z)-eno.**

Siguiendo el procedimiento aplicado en la síntesis del Análogo **25**, 13-(tert-butildifenilsililoxi)tridec-5(Z)-en-1-ol (7.0 g, 15.48 mmol) se convierte a 1-tert-butildifenilsililoxi-13-azidotridec-8(Z)-eno (5.30 g, 72 %)

15 obtenido como un jarabe. TLC: EtOAc/hexanos (1:9), R_f ~0.55; ^1H RMN (400 MHz) δ 7.68-7.64 (m, 4H), 7.42-7.34 (m, 6H), 5.28-5.42 (m, 2H), 3.64 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 3.26 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 1.96-2.10 (m, 4H), 1.64-1.24 (m, 14H), 1.04 (s, 9H); ^{13}C RMN (100 MHz) δ 135.86, 134.44, 131.0, 129.77, 129.12, 127.85, 64.27, 51.63, 32.87, 29.95, 29.56, 28.70, 27.54, 27.17, 27.05, 26.93, 26.05, 19.51. IR (puro) 2930, 2783, 2361, 2331, 2094, 1109 cm^{-1} . HRMS calculado para $\text{C}_{29}\text{H}_{44}\text{N}_3\text{OSi}$ $[\text{M}+1]^+$ 478.3254, encontrado 478.3250.

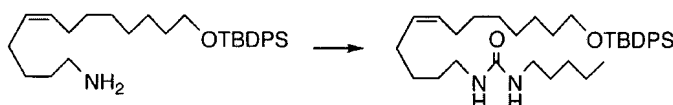


25

[00153] 1-tert-Butildifenilsililoxi-13-aminotridec-8(Z)-eno.

Siguiendo el procedimiento aplicado en la síntesis del Análogo **25**, 1-tert-butildifenilsililoxi-13-azidotridec-8(Z)-eno (3.50 g, 7.32 mmol) se reduce con trifenilfosfino para dar
 5 1-tert-butildifenilsililoxi-13-aminotridec-8(Z)-eno (2.44 g, 74 %) como un aceite incoloro. TLC: MeOH/CH₂Cl₂ (1:4), $R_f \sim 0.25$; ¹H RMN (400 MHz) δ 7.62-7.68 (m, 4H), 7.32-7.40 (m, 6H), 5.30-5.40 (m, 2H), 3.63 (t, $J = 5.2$ Hz, 2H), 2.62 (br s, 2H), 1.92-2.06 (m, 4H), 1.40-1.58 (m, 4H), 1.20-1.40 (m,
 10 10H), 1.03 (s, 9H); ¹³C RMN (100 MHz) δ 135.79, 134.39, 130.46, 129.70, 127.78, 64.22, 42.02, 32.80, 29.92, 29.52, 27.46, 27.23, 27.10, 25.98, 19.44. HRMS calculado para C₂₉H₄₆NOSi [M+1]⁺ 452.3349, encontrado 452.3357.

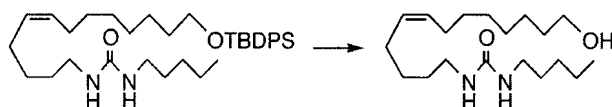
15



[00154] 1-(13-(tert-Butildifenilsililoxi)tridec-5(Z)-enil)-3-

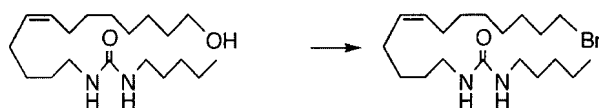
n-pentilurea. Siguiendo el procedimiento aplicado en la síntesis del Análogo **25**, 1-tert-butildifenilsililoxi-13-aminotridec-8(Z)-eno (2.35 g, 5.20 mmol) se hace reaccionar
 20 con n-pentil isocianato para dar 1-(13-(tert-butildifenilsililoxi)tridec-5(Z)-enil)-3-n-pentilurea (2.23 g, 76 %) como un jarabe. TLC: EtOAc/hexanos (1:4), $R_f \sim 0.65$; ¹H RMN (500 MHz) δ 7.62-7.70 (m, 4H), 7.32-7.44 (m, 6H), 5.28-5.44 (m, 2H), 4.37 (br s, 2H), 3.66 (t, $J = 4.2$ Hz, 2H), 3.08-3.20 (m, 4H), 1.98-2.08 (m, 4H), 1.20-1.60 (m, 20H),
 25 1.05 (s, 9H), 0.90 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ¹³C RMN (125 MHz) δ

159.22, 135.80, 134.12, 130.24, 129.88, 129.76, 127.81,
64.21, 40.62, 40.54, 32.82, 30.31, 29.95, 29.56, 29.39,
27.51, 27.35, 27.20, 27.13, 26.01, 22.72, 19.43, 14.30. HRMS
calculado para $C_{35}H_{57}N_2O_2Si$ $[M+1]^+$ 565.4189, encontrado
5 565.4186.



[00155] 1-(13-Hidroxitridec-5(Z)-enil)-3-n-pentilurea.

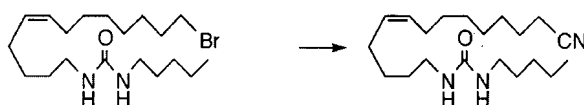
10 Siguiendo el procedimiento aplicado en la síntesis del
Análogo **25**, 1-(13-(*tert*-butildifenilsililoxi)tridec-5(Z)-
enil)-3-*n*-pentilurea (2.30 g, 4.07 mmol) se des-silila
utilizando TBAF para dar 1-(13-hidroxitridec-5(Z)-enil)-3-*n*-
pentilurea (1.22 g, 92 %) como un sólido blanco, pf 63.1-63.3
15 °C. TLC: EtOAc/hexanos (7:3), $R_f \sim 0.55$; ^1H RMN (400 MHz) δ
5.24-5.38 (m, 2H), 4.74 (br s, -NH, 2H), 3.62 (t, $J = 5.6$ Hz,
2H), 3.06-3.18 (m, 4H), 1.98-2.06 (m, 4H), 1.20-1.60 (m,
20H), 0.86 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz) δ 159.31,
130.38, 129.63, 62.90, 40.51, 40.46, 32.93, 30.30, 30.29,
20 29.79, 29.41, 29.34, 29.23, 27.30, 27.24, 27.15, 25.98,
22.67, 14.25. HRMS calculado para $C_{19}H_{39}N_2O_2$ $[M+1]^+$ 327.3012,
encontrado 327.3011.



[00156] 1-(13-Bromotridec-5(Z)-enil)-3-n-pentilurea.

Siguiendo el procedimiento aplicado en la síntesis del Análogo **25**, 1-(13-hidroxitridec-5(Z)-enil)-3-n-pentilurea (1.20 g, 3.68 mmol) se transforma en 1-(13-bromotridec-5(Z)-enil)-3-n-pentilurea (1.17 g, 82 %), obtenido como un sólido pegajoso. TLC: EtOAc/hexanos (2:3), $R_f \sim 0.60$; ^1H RMN (500 MHz) δ 5.28-5.40 (m, 2H), 4.71 (br s, -NH, 2H), 3.40 (t, $J = 4.2$ Hz, 2H), 3.10-3.20 (m, 4H), 1.98-2.06 (m, 4H), 1.82-1.88 (m, 2H), 1.26-1.50 (m, 18H), 0.87 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (125 MHz) δ 159.38, 130.34, 129.59, 40.55, 40.46, 34.29, 33.02, 30.34, 29.81, 29.38, 29.30, 28.89, 28.35, 27.39, 27.33, 27.18, 22.71, 14.29. HRMS calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{37}\text{BrN}_2\text{O}[\text{M}]^+$ 388.2089, encontrado 388.2090.

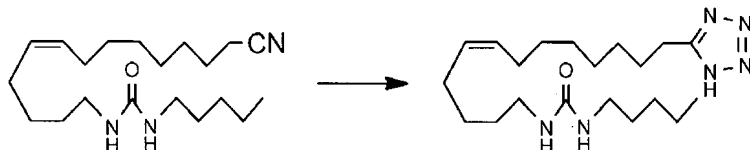
15



[00157] 1-(13-Cianotridec-5(Z)-enil)-3-n-pentilurea. Se hace

reaccionar 1-(13-Bromotridec-5(Z)-enil)-3-n-pentilurea (1.10 g, 2.82 mmol) con cianuro de potasio como se describió anteriormente en la síntesis del Análogo **25** para dar 1-(13-cianotridec-5(Z)-enil)-3-n-pentilurea (0.69 g, 73 %) como un sólido incoloro, pf 44.3-44.4 °C. TLC: EtOAc/hexanos (1:1), $R_f \sim 0.32$; ^1H RMN (500 MHz) δ 5.30-5.42 (m, 2H), 4.35 (br s, 2H), 3.04-3.20 (m, 4H), 2.34 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 1.98-2.10 (m, 4H), 1.60-1.72 (m, 2H), 1.24-1.56 (m, 18H), 0.89 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (125 MHz) δ 159.24, 130.23, 129.68, 120.02, 40.24, 40.13, 30.27, 29.69, 29.32, 29.07, 28.82,

28.78, 27.29, 27.26, 27.13, 25.49, 22.64, 17.30, 14.24. HRMS calculado para $C_{20}H_{38}N_3O$ $[M+1]^+$ 336.3015, encontrado 336.3019.



5

[00158] 1-(13-(1H-Tetrazol-5-il)tridec-5(Z)-enil)-3-n-

pentilurea (22). Siguiendo el procedimiento descrito

anteriormente en la síntesis del Análogo **20**, una mezcla de 1-

(13-cianotridec-5(Z)-enil)-3-n-pentilurea, azida de sodio, y

10 bromuro de zinc se calienta a 110 °C para dar el análogo **22**

(66 %) como un sólido incoloro, pf 86.0-86.2 °C. TLC:

MeOH/CH₂Cl₂ (1:9), $R_f \sim 0.30$; ¹H RMN (CD₃OD, 300 MHz) δ 5.30-5.40

(m, 2H), 3.06-3.11 (m, 4H), 2.93 (t, $J = 8.0$ Hz, 2H), 1.98-

2.10 (m, 4H), 1.70-1.82 (m, 2H), 1.24-1.50 (m, 18H), 0.90 (t,

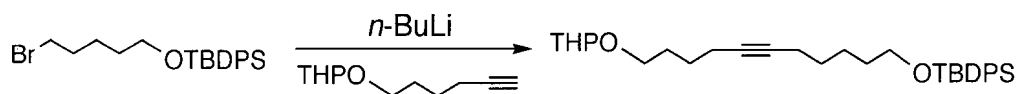
15 $J = 7.6$ Hz, 3H); ¹³C RMN (CD₃OD, 100 MHz) δ 160.15, 156.21,

129.89, 129.39, 39.84, 39.71, 29.89, 29.82, 29.53, 29.01,

29.00, 28.81, 27.45, 26.90, 26.70, 22.89, 22.33, 13.25. HRMS

calculado para $C_{20}H_{38}N_6O$ $[M]^+$ 378.3107, encontrado 378.3111.

20 **[00159] Síntesis del Análogo 13.**



[00160] 1-(tert-Butildifenilsililoxi)-11-(tetrahidro-2H-

25 **piran-2-iloxi)undec-6-ina.** Siguiendo el procedimiento

aplicado en la síntesis del Análogo **25**, 2-(hex-5-iniloxi)tetrahydro-2H-piran¹ se trata con *n*-BuLi y 1-(*tert*-butildifenilsililoxi-5-bromopentano⁴ para dar el compuesto del título (73 %) como un líquido incoloro. TLC: EtOAc/hexanos (1:4), $R_f \sim 0.60$; ¹H RMN (400 MHz) δ 7.64-7.68 (m, 4H), 7.34-7.42 (m, 6H), 4.57 (t, $J = 4.3$ Hz, 1H), 3.78-3.86 (m, 2H), 3.65 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H), 3.32-3.54 (m, 2H), 2.10-2.22 (m, 4H), 1.24-1.84 (m, 16H), 1.04 (s, 9H); ¹³C RMN (125 MHz) δ 135.80, 134.32, 129.74, 127.84, 99.01, 80.54, 80.16, 67.30, 64.02, 62.50, 32.34, 30.98, 29.18, 29.12, 27.32, 27.10, 26.17, 25.73, 25.32, 19.87, 18.99, 18.86. HRMS calculado para C₃₁H₄₅O₃Si [M+1]⁺ 493.3138, encontrado 493.3144.



15

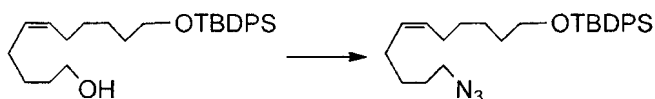
[00161] 11-(*tert*-Butildifenilsililoxi)undec-5-in-1-ol.

Siguiendo el procedimiento reportado para preparar el análogo **25**, 1-(*tert*-butildifenilsililoxi)-11-(tetrahydro-2H-piran-2-iloxi)undec-6-ina se divide con una cantidad catalítica de PPTS para dar el compuesto del título (72 %) como un líquido incoloro. TLC: EtOAc/hexanos (3:7), $R_f \sim 0.43$; ¹H RMN (300 MHz) δ 7.64-7.68 (m, 4H), 7.34-7.42 (m, 6H), 3.62 (t, $J = 5.6$ Hz, 4H), 2.06-2.22 (m, 4H), 1.64-1.50 (m, 10H), 1.04 (s, 9H); ¹³C RMN (100 MHz) δ 135.82, 134.33, 129.77, 127.84, 80.77, 80.11, 64.06, 62.69, 32.35, 32.10, 29.10, 27.12, 25.60, 25.33, 18.97, 18.78. HRMS calculado para C₂₇H₃₉O₂Si [M+1]⁺ 423.2719, encontrado 423.2718.



[00162] 11-(*tert*-Butildifenilsililoxi)undec-5(*Z*)-en-1-ol. Se

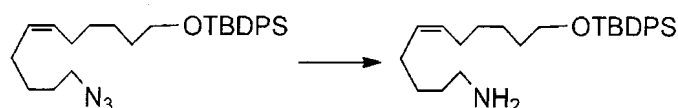
5 somete 11-(*tert*-Butildifenilsililoxi)undec-5-in-1-ol (6.50 g, 15.40 mmol) a semi-hidrogenación como se describió anteriormente para dar la olefina del título (6.07 g, 93 %) como un aceite incoloro. TLC: EtOAc/hexanos (3:7), $R_f \sim 0.45$; ^1H RMN (300 MHz) δ 7.68-7.64 (m, 4H), 7.34-7.32 (m, 6H), 5.28-5.42 (m, 2H), 3.68-3.60 (t, $J = 6.4$ Hz, 4H), 2.08-1.96 (m, 4H), 1.60-1.50 (m, 4H), 1.40-1.24 (m, 6H), 1.04 (s, 9H); ^{13}C RMN (100 MHz) δ 135.79, 134.36, 130.45, 129.71, 129.63, 127.79, 64.16, 63.15, 32.69, 32.59, 29.94, 29.67, 27.43, 27.13, 27.08, 26.06, 25.68, 19.45. HRMS calculado para $\text{C}_{27}\text{H}_{41}\text{O}_2\text{Si}$ $[\text{M}+1]^+$ 425.2876, encontrado 425.2874.



[00163] 1-(*tert*-Butildifenilsililoxi-11-azidoundec-6(*Z*)-eno.

20 Siguiendo el protocolo como se describió anteriormente, se convierte 11-(*tert*-butildifenilsililoxi)undec-5(*Z*)-en-1-ol (6.0 g, 14.24 mmol) en la azida del título (4.60 g, 72 %), un líquido incoloro. TLC: EtOAc/hexanos (1:9), $R_f \sim 0.55$; ^1H RMN (300 MHz) δ 7.64-7.68 (m, 4H), 7.34-7.42 (m, 6H), 5.28-5.42 (m, 2H), 3.65 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 3.25 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H), 1.96-2.10 (m, 4H), 1.24-1.64 (m, 10H), 1.04 (s, 9H); ^{13}C RMN

(100 MHz) δ 136.63, 135.85, 134.41, 130.83, 129.79, 129.22, 127.88, 64.20, 51.62, 32.77, 29.73, 28.70, 27.53, 27.18, 27.05, 26.94, 25.77, 19.52; IR (puro) 2931, 2857, 2094, 1589, 1110 cm^{-1} . HRMS calculado para $\text{C}_{27}\text{H}_{40}\text{N}_3\text{OSi}$ $[\text{M} + 1]^+$ 450.2940, encontrado 450.2941.



[00164] 1-Amino-11-(tert-butildifenilsililoxi)undec-5(Z)-eno.

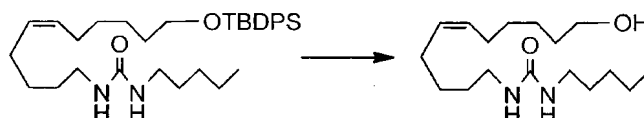
10 Se reduce 1-(tert-Butildifenilsililoxi-11-azidoundec-6(Z)-eno (4.30 g, 9.57 mmol) con trifenilfosfino como se describió anteriormente para dar la amina del título (2.96 g, 74 %) como un aceite incoloro. TLC: MeOH/ CH_2Cl_2 (1:4), $R_f \sim 0.25$; ^1H RMN (300 MHz) δ 7.64-7.68 (m, 4H), 7.34-7.42 (m, 6H), 5.28-5.42 (m, 2H), 3.64 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 2.82 (t, $J = 4.8$ Hz, 2H), 1.96-2.10 (m, 4H), 1.52-1.64 (m, 4H), 1.30-1.42 (m, 6H), 1.04 (s, 9H); ^{13}C RMN (100 MHz) δ 135.82, 134.37, 132.37, 132.27, 130.70, 129.78, 129.21, 128.93, 128.81, 127.86, 64.19, 40.88, 32.77, 29.89, 29.73, 27.52, 27.37, 27.17, 27.12, 27.03, 25.76, 19.47. HRMS calculado para $\text{C}_{27}\text{H}_{42}\text{NOSi}$ $[\text{M} + 1]^+$ 420.3046, encontrado 420.3050.



25 **[00165] 1-(11-(tert-Butildifenilsililoxi)undec-5(Z)-enil)-3-n-pentilurea.** 76% como un aceite incoloro. TLC: EtOAc/hexanos

(2:3), $R_f \sim 0.45$; ^1H RMN (300 MHz) δ 7.64-7.68 (m, 4H), 7.34-7.42 (m, 6H), 5.28-5.42 (m, 2H), 4.13 (br s, 2H), 3.65 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 3.02-3.20 (m, 4H), 1.96-2.08 (m, 4H), 1.20-1.60 (m, 16H), 1.04 (s, 9H), 0.89 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz) δ 158.02, 135.79, 134.36, 130.06, 129.74, 127.90, 127.82, 64.17, 40.42, 40.32, 32.52, 30.28, 29.71, 29.35, 27.62, 27.54, 27.16, 27.11, 25.71, 22.69, 19.45, 14.28. HRMS calculado para $\text{C}_{33}\text{H}_{53}\text{N}_2\text{O}_2\text{Si}$ $[\text{M} + 1]^+$ 537.3876, encontrado 537.3876.

10

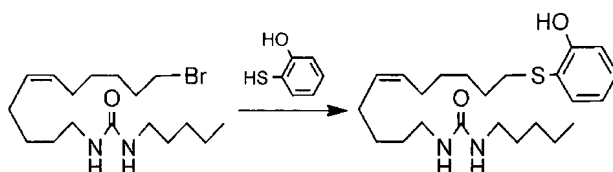


[00166] **1-(11-Hidroxiundec-5(Z)-enil)-3-n-pentilurea.** 94%, pf 62.2-62.5 °C. TLC: EtOAc/hexanos (7:3), $R_f \sim 0.55$; ^1H RMN (300 MHz) δ 5.28-5.42 (m, 2H), 4.37 (br s, 2H), 3.64 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 3.02-3.20 (m, 4H), 1.96-2.10 (m, 4H), 1.20-1.60 (m, 16H), 0.89 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (75 MHz) δ 159.41, 130.30, 129.73, 62.77, 40.50, 40.34, 32.75, 30.27, 30.10, 29.56, 29.33, 27.23, 27.15, 27.04, 25.56, 22.66, 14.24. HRMS calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M} + 1]^+$ 299.2699, encontrado 299.2705.



25 [00167] **1-(11-Bromoundec-5(Z)-enil)-3-n-pentilurea.** 84%, aceite incoloro. TLC: EtOAc/hexanos (2:3), $R_f \sim 0.60$; ^1H RMN

(300 MHz) δ 5.28-5.42 (m, 2H), 4.36 (br s, 2H), 3.32 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 3.02-3.20 (m, 4H), 1.96-2.10 (m, 4H), 1.20-1.60 (m, 16H), 0.89 (t, J = 7.2 Hz, 3H); ^{13}C RMN (75 MHz) δ 159.20, 129.94, 40.60, 40.49, 34.19, 32.91, 30.29, 29.35, 29.02, 28.01, 27.26, 27.16, 22.67, 14.26. HRMS calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{33}\text{BrN}_2\text{O}$ $[\text{M}]^+$ 360.1776, encontrado 360.1773.

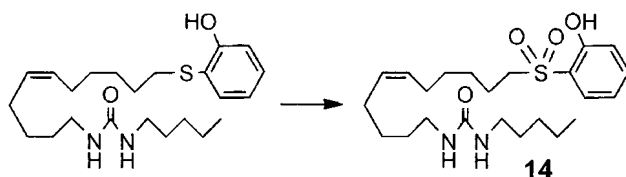


10 [00168] 1-(11-(2-Hidroxifeniltio)undec-5(Z)-enil)-3-n-pentilurea (13). A una solución 2-mercaptofenol (100 mg, 0.79 mmol) en DMF (3 mL) se agrega K_2CO_3 (161 mg, 1.18 mmol) y 1-(11-bromoundec-5(Z)-enil)-3-n-pentilurea (0.29 g, 0.79 mmol). Después de 12 h a temperatura ambiente, la solución se diluye con agua (10 mL) y se extrae con acetato de etilo (3×5 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavan con agua, solución salina y se secan (Na_2SO_4). El residuo se purifica mediante cromatografía de columna SiO_2 para dar el análogo 13 (230 mg, 69 %) como un sólido pegajoso. TLC: EtOAc/hexanos (1:1), $R_f \sim 0.32$; ^1H RMN (300 MHz) δ 7.45 (dd, J = 1.9, 7.6 Hz, 1H), 7.22-7.28 (m, 1H), 6.99 (dd, J = 1.2, 8.2 Hz, 1H), 6.88 (dt, J = 1.2, 7.6 Hz, 1H), 5.28-5.42 (m, 2H), 4.26 (br s, 2H), 3.02-3.20 (m, 4H), 2.69 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 1.94-2.08 (m, 4H), 1.20-1.60 (m, 16H), 0.89 (t, J = 7.2 Hz, 3H); ^{13}C RMN (75 MHz) δ 159.05, 157.10, 135.60, 130.76, 130.11, 129.82, 120.78, 119.74, 115.02, 40.70, 40.60, 36.50, 30.23, 29.68,

29.32, 28.38, 27.21, 27.11, 22.66, 14.27. HRMS (ESI-neg) calculado para $C_{23}H_{37}N_2O_2S$ $[M-1]^-$ 405.2576, encontrado 405.2575.

[00169] Síntesis del Análogo 14.

5



[00170] 1-(11-(2-Hidroxifenilsulfonil)undec-5(Z)-enil)-3-n-

pentilurea (14). Siguiendo el procedimiento utilizado para

10 preparar el análogo 18, el análogo 13 se oxida para dar 14

(60 mg, 75 %) como un líquido incoloro. TLC: EtOAc/hexanos

(2:3), $R_f \sim 0.32$; ^1H RMN (300 MHz) δ 9.08 (br s, -OH), 7.72 (dd,

$J = 1.9, 7.4$ Hz, 1H), 7.44 (dt, $J = 1.2, 7.3$ Hz, 1H), 7.10

(d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.12 (t, $J = 6.4$ Hz, 1H), 5.28-5.42 (m,

15 2H), 4.70-4.85 (m, 2H), 3.40-3.60 (t, $J = 6.2$ Hz, 2H), 3.20-

3.40 (m, 4H), 1.90-2.10 (m, 4H), 1.70-1.80 (m, 2H), 1.20-1.50

(m, 14H), 0.85 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (75 MHz) δ 159.25,

156.66, 136.23, 130.22, 129.78, 129.52, 122.78, 120.22,

118.55, 55.97, 40.08, 40.62, 30.07, 30.02, 29.25, 28.82,

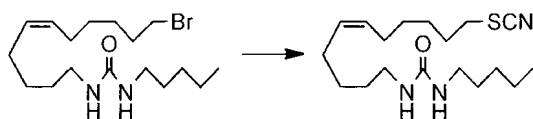
20 27.62, 27.15, 27.05, 26.62, 22.61, 22.20, 14.24. HRMS (ESI-

neg) calculado para $C_{23}H_{37}N_2O_4S$ $[M-1]^-$ 437.2474, encontrado

437.2454.

[00171] Síntesis del Análogo 15.

25



[00172] **1-*n*-Pentil-3-(11-tiocianatoundec-5(*Z*)-enil)urea.** Una

mezcla de 1-(11-bromoundec-5(*Z*)-enil)-3-*n*-pentilurea (191 mg,

5 0.53 mmol) y tiocianato de potasio (154 mg, 1.58 mmol) en

DMSO seco (4 mL) se agitan a temperatura ambiente. Después de

24 h, la mezcla de reacción se diluye con agua (10 mL) y se

extrae con acetato de etilo (3 × 5 mL). Los extractos

orgánicos combinados se lavan con agua, solución salina y se

10 secan (Na₂SO₄) y se concentran in vacuo. El residuo se

purifica mediante cromatografía de columna SiO₂ para dar la

urea del título (116 mg, 65 %) como un jarabe incoloro. TLC:

EtOAc/hexanos (2:3), *R_f*~0.32; ¹H RMN (300 MHz) δ 5.28-5.42 (m,

2H), 4.42 (br s, 2H), 3.10-3.20 (m, 4H), 2.94 (t, *J* = 7.0 Hz,

15 2H), 2.00-2.10 (m, 4H), 1.70-1.80 (m, 2H), 1.20-1.56 (m,

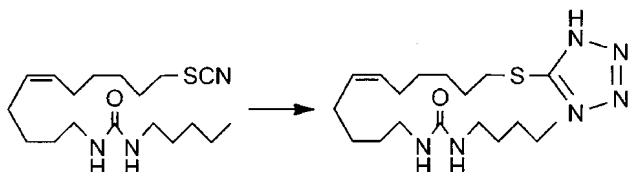
14H), 0.88 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H); ¹³C RMN (75 MHz) δ 158.92,

130.20, 129.68, 112.84, 40.67, 40.54, 34.23, 30.22, 30.03,

29.31, 29.08, 27.66, 27.19, 27.15, 27.04, 22.66, 14.27; IR

(puro) 2929, 2856, 2153, 1630, 1573, 1456, 1256 cm⁻¹. HRMS

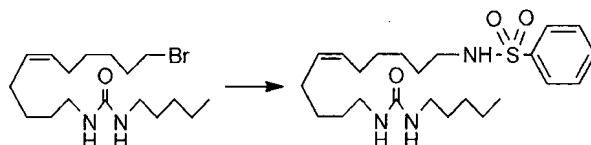
20 calculado para C₁₈H₃₄N₃OS [M+1]⁺ 340.2423, encontrado 340.2421.



[00173] **1-(11-(1*H*-Tetrazol-5-iltio)undec-5(*Z*)-enil)-3-**

pentilurea (15). Siguiendo el procedimiento utilizado para preparar análogo **19**, 1-*n*-pentil-3-(11-tiocianatoundec-5(*Z*)-enil)urea (150 mg, 0.44 mmol) se trata con azida de sodio para dar el análogo **15** (104 mg, 62 %) como un sólido pegajoso. TLC: 5 % de MeOH/CH₂Cl₂, *R_f*~0.40; ¹H RMN (300 MHz) δ 5.28-5.42 (m, 2H), 4.63 (br s, 2H), 3.30 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H), 3.17-3.23 (m, 4H), 1.95-2.04 (m, 4H), 1.44-1.80 (m, 6H), 1.24-1.42 (m, 10H), 0.89 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H); ¹³C RMN (CD₃OD, 75 MHz) δ 160.17, 155.38, 129.65, 129.58, 39.81, 39.69, 32.38, 29.87, 29.79, 29.36, 28.99, 28.96, 27.84, 26.84, 26.72, 26.69, 22.31, 13.21. HRMS (ESI-neg) calculado para C₁₈H₃₃N₆OS [M-1]⁻ 381.2442, encontrado 381.2348.

15 [00174] **Síntesis del Análogo 12.**

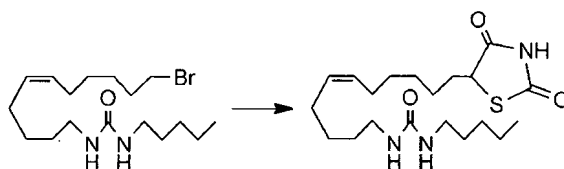


[00175] ***N*-(11-(3-*n*-Pentilureido)undec-6(*Z*)-**

enil)bencenosulfonamida (12). A una solución bencenosulfonamida (50 mg, 0.31 mmol) en THF/HMPA (4:1; 5 mL) se agrega *n*-butillitio (2.5 M soln en hexano, 125 μL, 0.31 mmol) a -78 °C bajo una atmósfera de argón. Una solución 1-(11-bromoundec-5(*Z*)-enil)-3-*n*-pentilurea (115 mg, 0.32 mmol) en THF (2 mL) se agrega en forma de gotas. Después de 2 h a la misma temperatura, la reacción se detiene con solución

acuosa saturada de NH_4Cl (5 mL). La mezcla se extrae con EtOAc (3×5 mL) y los extractos combinados se lavan con agua, solución salina, se secan, y se concentran bajo presión reducida. El residuo se purifica mediante cromatografía de columna SiO_2 para dar el análogo 12 (44 mg, 32 %) como un sólido incoloro, pf 73.5-73.6 °C. TLC: 5 % de MeOH/ CH_2Cl_2 , $R_f \sim 0.40$; ^1H RMN (300 MHz) δ 7.84-7.90 (m, 2H), 7.46-7.60 (m, 3H), 5.48 (br s, -NH, 1H), 5.24-5.38 (m, 2H), 4.70 (br s, -NH, 1H), 4.60 (br s, -NH, 1H), 3.08-3.20 (m, 4H), 2.88-2.94 (q, $J = 6.4$ Hz, 2H), 1.94-2.40 (m, 4H), 1.20-1.58 (m, 16 H), 0.88 (t, $J = 6.8$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (75 MHz) δ 159.90, 140.06, 132.69, 130.03, 129.98, 129.27, 127.19, 43.26, 40.80, 40.52, 30.09, 29.99, 29.61, 29.28, 29.16, 27.02, 26.99, 26.96, 26.13, 22.63, 14.25. HRMS calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{40}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$ $[\text{M} + 1]^+$ 438.2790, encontrado 438.2782.

[00176] Síntesis del Análogo 24.



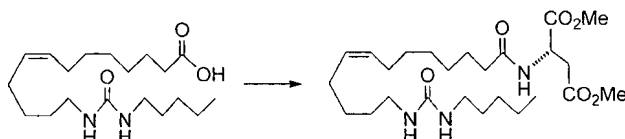
20

[00177] 1-(11-(2,4-Dioxotiazolidin-5-il)undec-5(Z)-enil)-3-n-pentilurea (24). Se agrega en forma de gotas *n*-Butillitio (1.10 mL, 2.76 mmol, 2.5 M solución en hexanos) a una solución de -78 °C de tiazolidina-2,4-diona (0.16 g, 1.38 mmol) en THF seco/HMPA (50 mL, 4:1) bajo una atmósfera de

25

argón. Después de 30 min, la mezcla de reacción se calienta a 0 °C durante 1h, se mantiene a esta temperatura durante 2h, y luego se vuelve a enfriar a -78 °C. Luego de la adición de una solución 1-(11-bromoundec-5(Z)-enil)-3-n-pentilurea (0.50 g, 1.38 mmol) en THF (15 mL), la la temperatura de la reacción se aumenta lentamente a temperatura ambiente durante 3h y se agita adicionalmente durante 12 h. La mezcla de reacción se detiene con solución acuosa saturada de NH₄Cl (5 mL), el pH se ajusta a 4 utilizando 1 M ácido oxálico, y la mezcla de reacción se extrae con EtOAc (3 × 125 mL). Los extractos combinados se lavan con agua (2 × 100 mL), solución salina (100 mL), se secan (Na₂SO₄) y se concentran *in vacuo*. El residuo se purifica mediante cromatografía de columna SiO₂ utilizando 5 % de MeOH/CH₂Cl₂ para proporcionar el análogo **24** (169 mg, 31 %) como un sólido incoloro, pf 92.8-93 °C. TLC: 10 % de MeOH/CH₂Cl₂, R_f~0.20; ¹H RMN (CD₃OD, 300 MHz) δ 5.30-5.40 (m, 2H), 4.42 (dd, J= 3.4, 4.2 Hz, 1H), 3.04-3.13 (m, 4H), 2.00-2.16 (m, 4H), 1.80-1.96 (m, 2H), 1.24-1.58 (m, 16H), 0.91 (t, J = 6.7 Hz, 3H); ¹³C RMN (75 MHz)δ 177.09, 172.56, 160.15, 129.68, 129.60, 51.89, 39.69, 32.57, 29.90, 29.83, 29.23, 29.02, 28.43, 26.88, 26.73, 26.47, 22.35, 13.27. HRMS calculado para C₂₀H₃₆N₃O₃S [M+1]⁺ 398.2477, encontrado 398.2477.

25 [00178] **Síntesis del Análogo 7.**



[00179] (S)-Dimetil 2-(13-(3-n-pentilureido)tridec-8(Z)-

enamido)succinato. Se agregan *Clorhidrato de dimetil éster de*

5 *ácido L-Aspártico* (38 mg, 0.19 mmol) y HATU (67 mg, 0.18

mmol) a una solución agitada de ácido 13-(3-n-

pentilureido)tridec-8(Z)-enoico² (50 mg, 0.15 mmol) en DMF

anhidro (20 mL) bajo una atmósfera de argón. Después de 5

min, se agrega clorhidrato de 1-etil-3-(3-

10 dimetilaminopropil)carbodiimida (EDCI; 33 mg, 0.17 mmol)

seguido por diisopropiletilamina (33 µL, 0.19 mmol). Después

de 12 h, la mezcla de reacción se diluye con EtOAc (30 mL),

se lava con agua (30 mL), y solución salina (20 mL). Las

capas acuosas combinadas se vuelven a extraer con EtOAc (3 ×

15 30 mL). Los extractos orgánicos combinados se secan sobre

Na₂SO₄, se concentran bajo presión reducida, y el residuo se

purifica mediante cromatografía de columna SiO₂ utilizando 50

% de EtOAc/hexanos como eluyente para dar el diéster del

título (60 mg, 84 %) como un aceite viscoso. TLC:

20 EtOAc/hexanos (3:2), *R_f*~0.30; ¹H RMN (300 MHz) δ 6.62 (d, *J*

=7.0 Hz, 1H), 5.22-5.40 (m, 2H), 4.85-5.04 (m, 1H), 4.80-4.88

(m, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.66 (s, 3H), 3.10-3.20 (m, 4H), 3.01

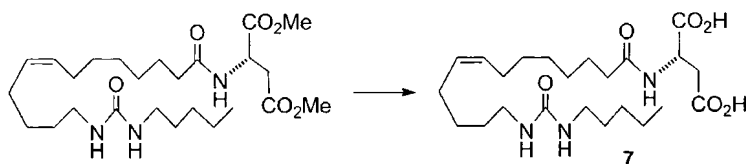
(dd, *J* = 4.3, 10 Hz, 1H), 2.82 (dd, *J* = 4.6, 10 Hz, 1H), 2.25

(t, *J* = 8.3 Hz, 2H), 1.98-2.07 (m, 4H), 1.60-1.68 (m, 4H),

25 1.20-1.50 (m, 14H), 0.88 (t, *J* = 6.7 Hz, 3H); ¹³C RMN (75

MHz) δ 173.51, 171.81, 171.52, 159.02, 130.33, 129.76, 53.05,

52.30, 48.57, 40.61, 40.55, 36.61, 36.28, 30.24, 30.20,
29.51, 29.31, 29.10, 28.88, 27.20, 27.12, 25.72, 22.66,
14.26.



5

[00180] **Ácido** (S)-2-(13-(3-n-Pentilureido)tridec-8(Z)-

enamido)succínico (7). Se agrega LiOH (2 mL, 2 M solución

acuosa) a una solución a 0 °C del (S)-dimetil 2-(13-(3-n-

10 pentilureido)tridec-8(Z)-enamido)succinato anterior (60 mg,

0.12 mmol) en THF (25 mL) y H₂O desionizada (4 mL). Después

de agitar a temperatura ambiente durante la noche, la mezcla

de reacción se enfría a 0 °C, el pH se ajusta a 4 con 1 M

ácido oxálico acuoso, y la mezcla se extrae con EtOAc (3 × 15

15 mL). Los extractos combinados se lavan con agua (30 mL),

solución salina (25 mL), se secan sobre Na₂SO₄ anhidro, y se

concentran *in vacuo*. El residuo se purifica mediante

cromatografía de columna SiO₂ utilizando 25 % de EtOAc/hexanos

como eluyente para dar el análogo **7** (48 mg, 85 %) como un

20 aceite incoloro. TLC: 5 % de MeOH/EtOAc (3:2), *R_f* ~0.30; ¹H RMN

(CD₃OD, 300 MHz) δ 5.30-5.38 (m, 2H), 4.72 (t, *J* = 4.2 Hz,

1H), 3.26-3.32 (m, 4H), 2.86 (dd, *J* = 4.3, 10 Hz, 1H), 2.77

(dd, *J* = 4.6, 10 Hz, 1H), 2.22 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 1.98-2.10

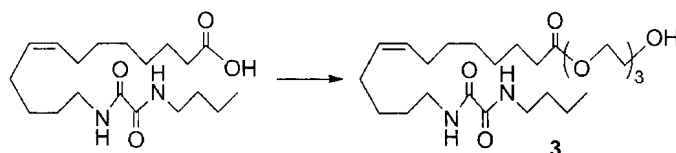
(m, 4H), 1.54-1.64 (m, 4H), 1.20-1.52 (m, 14H), 0.89 (t, *J* =

25 6.7 Hz, 3H); ¹³C RMN (CD₃OD, 75 MHz) δ 174.93, 173.01, 172.83,

160.17, 129.94, 129.39, 49.0, 39.81, 39.73, 35.78, 35.60,

29.90, 29.82, 29.49, 29.02, 28.87, 26.90, 26.73, 25.70, 22.35, 13.29. HRMS calculado para $C_{23}H_{42}N_3O_6$ $[M+1]^+$ 456.3074, encontrado 456.3071.

5 [00181] Síntesis del Análogo 3.

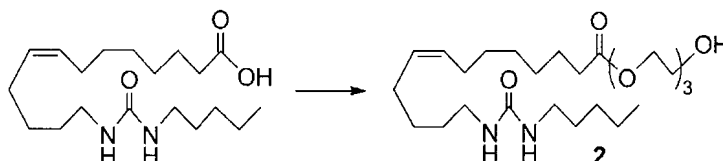


[00182] 2-(2-(2-Hidroxietoxi)etoxi)etil13-(2-(n-butilamino)-2

10 **oxoacetamido) tridec-8(Z)-enoato (3)**. Se agrega trietilenglicol (0.12 g, 0.8 mmol; se seca sobre tamices moleculares) a una solución de ácido 13-(2-(n-butilamino)-2-oxoacetamido)tridec-8(Z)-enoico² (30 mg, 0.08 mmol) y *N,N*-dimetilaminopiridina (DMAP, 11mg, 0.09 mmol) en diclorometano anhidro (10 mL) bajo
15 una atmósfera de argón a temperatura ambiente. Después de 3 min, se agrega EDCI sólido (18 mg, 0.09 mmol). Después de 12 h, la mezcla de reacción se diluye con EtOAc (10 mL), se lava con agua (5 mL), y se concentra *in vacuo*. El residuo se purifica mediante cromatografía de columna SiO_2 utilizando
20 EtOAc para dar el análogo **3** (33 mg, 82 %) como un sólido incoloro, pf 71.7-71.9 °C. TLC: EtOAc/hexanos (4:1), $R_f \sim 0.30$; ^1H RMN (300 MHz) δ 7.46 (br s, 2H), 5.24-5.40 (m, 2H), 4.23 (t, $J = 4.6$ Hz, 2H), 3.58-3.78 (m, 10H), 3.27 (evidente q, $J = 6.7$ Hz, 4H), 2.32 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 1.50-1.66 (m, 6H),
25 1.24-1.44 (m, 14H), 0.92 (t, $J = 6.7$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz) δ 174.10, 160.09, 130.66, 129.24, 72.70, 70.76, 70.55, 69.42,

39.80, 39.61, 34.35, 31.45, 29.69, 29.21, 29.12, 29.02, 27.36, 27.07, 26.92, 25.04, 20.21, 13.90. HRMS calculado para $C_{25}H_{47}N_2O_7$ $[M+1]^+$ 487.3383, encontrado 487.3379.

5 [00183] Síntesis del Análogo 2.

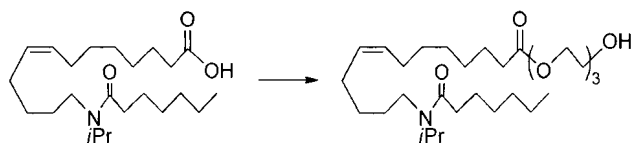


[00184] 2-(2-(2-Hidroxietoxi)etoxi)etil

13-(3-n-

10 **pentilureido)tridec-8(Z)-enoato (2)**. Se condensa ácido 13-(3-
n-Pentilureido)tridec-8(Z)-enoico² (80 mg, 0.20 mmol) con
 trietilenglicol como se describió anteriormente para dar el
 análogo **2** (86 mg, 78 %) como un sólido incoloro, pf 42.4-42.6
 °C. TLC: EtOAc, $R_f \sim 0.20$; ^1H RMN (300 MHz) δ 5.24-5.40 (m, 2H),
 15 4.28 (br s, 2H), 4.23 (dd, $J = 4.9, 1.0$ Hz, 2H), 3.58-3.68 (m,
 10H), 3.10-3.20 (m, 4H), 2.52 (br s, -OH, 1H), 2.33 (t, $J =$
 7.6 Hz, 2H), 1.90-2.10 (m, 4H), 1.44-1.64 (m, 4H), 1.22-1.40
 (m, 14), 0.88 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (75 MHz) δ 174.22,
 158.50, 130.41, 129.62, 72.76, 70.75, 70.51, 69.38, 63.47,
 20 61.94, 40.78, 40.71, 34.33, 30.13, 30.08, 29.57, 29.25,
 29.09, 28.94, 27.23, 27.15, 27.06, 25.03, 22.61, 14.24. HRMS
 calculado para $C_{25}H_{49}N_2O_6$ $[M+1]^+$ 473.3591, encontrado 473.3588.

[00185] Síntesis del Análogo 1.



[00186] 2-(2-(2-Hidroxietoxi)etoxi)etil

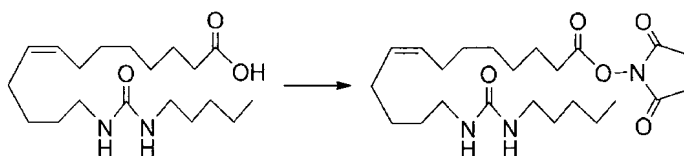
13-(N-

isopropilheptanamido)tridec-8(Z)-enoato (1).

Se condensa

5 ácido 13-(N-Isopropilheptanamido)tridec-8(Z)-enoico² (60 mg, 0.16 mmol) con trietilenglicol como se describió anteriormente para dar el análogo **1** (58 mg, 73 %) como un aceite incoloro, viscoso. TLC: EtOAc (4:1), $R_f \sim 0.40$; ¹H RMN (300 MHz, mezcla de rotámeros 65/35) δ 5.26-5.40 (m, 2H), 4.62-4.70 (m, 0.5H), 4.20-4.26 (m, 2H), 3.98-4.08 (m, 0.5H), 3.58-3.76 (m, 10H), 3.04-3.16 (m, 2H), 2.20-2.36 (m, 4H para los dos rotámeros), 1.98-2.10 (m, 4H), 1.46-1.66 (m, 6H), 1.24-1.38 (m, 14H), 1.18 y 1.10 (d, $J = 7.3$ Hz, 6H para dos rotámeros), 0.87 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ¹³C RMN (75 MHz) δ 174.05, 174.01, 173.10, 172.55, 130.75, 130.11, 129.85, 129.15, 72.70, 70.76, 70.55, 69.40, 63.43, 61.94, 48.30, 45.52, 43.53, 41.09, 34.36, 34.32, 34.10, 34.0, 31.93, 31.89, 31.28, 29.90, 29.75, 29.69, 29.56, 29.43, 29.23, 29.12, 27.84, 27.48, 27.42, 27.35, 27.18, 26.93, 25.88, 25.70, 25.05, 25.02, 22.76, 21.60, 20.75, 14.28. HRMS calculado para C₂₉H₅₆NO₆ [M+1]⁺ 514.4108, encontrado 514.4111.

[00187] Síntesis del Análogo 8.



[00188] **N-Hidroxisuccinimidil 13-(3-*n*-pentilureido)tridec-**

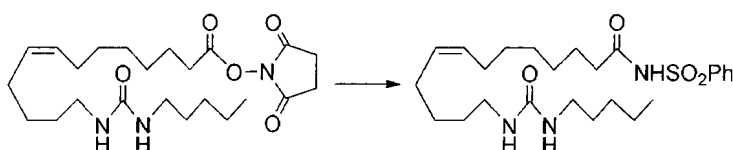
8 (Z)-enoato. Una mezcla de ácido 13-(3-*n*-pentilureido)tridec-

5 8(Z)-enoico² (100 mg, 0.29 mmol) y *N*-hidroxisuccinimida (37 mg, 0.31 mmol) se secan azeotrópicamente utilizando benceno anhidro (2 × 5 mL), luego se disuelve en CH₂Cl₂ seco (5 mL). A esto se agrega EDCI (67 mg, 0.35 mmol) y DMAP (38 mg, 0.31 mmol) bajo una atmósfera de argón. Después de 12 h a

10 temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluye con más de CH₂Cl₂ (20 mL), se lava con agua, solución salina, se seca (Na₂SO₄) y se concentra in vacuo. El residuo se purifica mediante cromatografía de columna SiO₂ para dar el éster NHS del título (110 mg, 86 %) como un sólido pegajoso que se

15 utiliza inmediatamente sin purificación adicional. TLC: EtOAc/hexanos (7:3), *R_f* ~ 0.40; ¹H RMN (400 MHz) δ 5.27-5.36 (m, 2H), 4.48 (br s, 2H), 3.09-3.15 (m, 4H), 2.81 (br s, 4H), 2.58 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H), 1.94-2.06 (m, 4H), 1.68-1.74 (m, 2H), 1.20-1.50 (m, 16 H), 0.86 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H); ¹³C RMN

20 (100 MHz) δ 169.40, 168.96, 158.62, 130.29, 129.71, 40.75, 40.68, 31.12, 30.18, 30.14, 29.51, 29.28, 28.80, 27.21, 27.19, 27.10, 25.81, 24.72, 22.62, 14.24.



[00189] 13-(3-n-Pentilureido)-N-(fenilsulfonil) tridec-8(Z)-

enamida (8). Una mezcla de N-hidroxisuccinimidil 13-(3-n-

pentilureido)tridec-8(Z)-enoato (150 mg, 0.34 mmol) del

5 anterior, bencenosulfonamida (78 mg, 0.49 mmol) y 4-

dimetilaminopiridina (DMAP; 50 mg, 0.40 mmol) se calientan en

hexametilfosforamida seca (HMPA; 3 mL) a 80 °C durante 24 h.

Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de

reacción se diluye con agua y se extrae en EtOAc (3 × 10 mL).

10 Los extractos combinados se lavan con agua, solución salina,

se secan (Na₂SO₄) y se concentran in vacuo. El residuo se

purifica mediante cromatografía de columna SiO₂ para dar el

análogo **8** (105 mg, 65 %) como un sólido incoloro, pf 91.4-

91.6 °C. TLC: EtOAc/hexanos (3:2), *R_f*~0.30; ¹H RMN (300 MHz)δ

15 8.00-8.10 (dd, *J* = 0.9, 7.3 Hz, 2H), 7.44-7.60 (m, 3H), 5.28-

5.42 (m, 2H), 5.03 (br s, -NH, 1H), 4.57 (br s, -NH, 1H),

3.21 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H), 3.12 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 2.29 (t,

J = 7.9 Hz, 2H), 1.98-2.10 (m, 4H), 1.18-1.60 (m, 18H), 0.90

(t, *J* = 7.2 Hz, 3H); ¹³C RMN (75 MHz)δ 172.66, 159.28, 139.67,

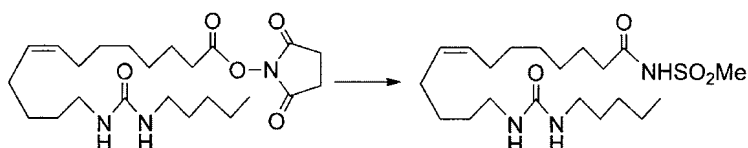
20 133.57, 130.69, 129.65, 128.93, 128.40, 41.41, 40.53, 36.22,

29.89, 29.61, 29.24, 28.87, 28.33, 27.69, 26.91, 26.69,

26.47, 24.70, 22.588, 14.22. HRMS calculado para

C₂₅H₄₂N₃O₄S[M+1]⁺ 480.2896, encontrado 480.2899.

25 **[00190] Síntesis del Análogo 9.**

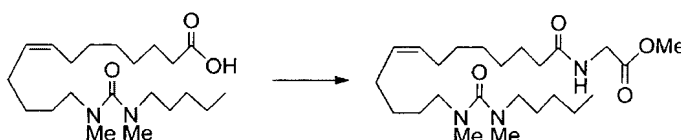


[00191] N- (Metilsulfonil) -13- (3-n-pentilureido) tridec-8 (Z) -

enamida (9). Se hace reaccionar N-Hidroxisuccinimidil 13-(3-

5 n-pentilureido)tridec-8(Z)-enoato del anterior (150 mg, 0.34 mmol) con metanosulfonamida (48 mg, 0.50 mmol) como se describió anteriormente para dar el análogo **8** (102 mg, 72 %) como un sólido incoloro, pf 113.5-113.6 °C. TLC: EtOAc/hexanos (1:1), $R_f \sim 0.30$; ^1H RMN (300 MHz) δ 5.30-5.40 (m, 2H), 3.21 (s, 3H), 3.04-3.12 (m, 4H), 2.29 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 2.00-2.10 (m, 4H), 1.22-1.66 (m, 18H), 0.90 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (75 MHz) δ 175.14, 161.50, 131.17, 130.78, 41.44, 41.10, 41.02, 37.13, 31.22, 31.15, 30.73, 30.34, 30.07, 30.05, 28.19, 28.17, 28.03, 25.80, 23.66, 14.56. HRMS calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{40}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}[\text{M}+1]^+$ 418.2740, encontrado 418.2739.

[00192] Síntesis del Análogo 6.

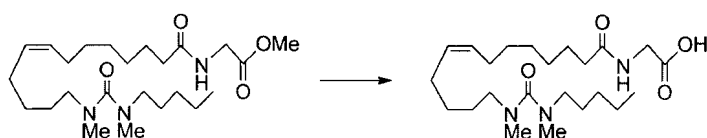


20

[00193] Metil 2- (13- (1,3-dimetil-3-n-pentilureido) tridec-

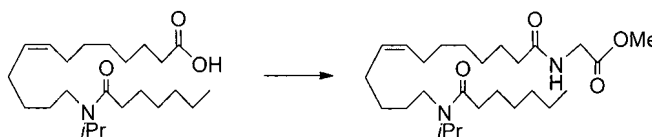
8 (Z) -enamido) acetato. Se agregan clorhidrato de glicina (32 mg, 0.29 mmol) y 1-hidroxibenzotriazol (32 mg, 0.23 mmol; HOBt) a una solución de ácido 13-(1,3-dimetil-3-n-

pentilureido)tridec-8(Z)-enoico² (70 mg, 0.19 mmol) y
 diisopropiletilamina (50 μ L, 0.29 mmol) en DMF anhidro (20
 mL) bajo una atmósfera de argón. Después de 5 min, se agrega
 clorhidratode 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (45
 5 mg, 0.23 mmol; EDCI) como un sólido. Después de agitar a
 durante 12 h a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se
 diluye con agua (30 mL) y se extrae con EtOAc (3 $\times$ 30 mL).
 Los extractos orgánicos combinados se secan sobre Na₂SO₄, se
 concentran bajo presión reducida, y el residuo se purifica
 10 mediante cromatografía de columna SiO₂ utilizando 30 % de
 EtOAc/hexanos como eluyente para dar el metil éster del
 título (65 mg, 79 %) como un aceite viscoso. TLC:
 EtOAc/hexanos (7:3), R_f ~0.40; ¹H RMN (300 MHz) δ 6.18 (br s, -
 NH, 1H), 5.26-5.40 (m, 2H), 4.04 (d, J = 5.2 Hz, 2H), 3.75
 15 (s, 3H), 3.11 (evidente q, J = 7.6 Hz, 4H), 2.77 (s, 3H),
 2.76 (s, 3H), 2.24 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 1.96-2.08 (m, 4H),
 1.46-1.70 (m, 6H), 1.20-1.38 (m, 12H), 0.88 (t, J = 7.2 Hz,
 3H); ¹³C RMN (100 MHz) δ 170.69, 170.07, 165.65, 130.36, 129.38,
 52.45, 50.43, 50.42, 41.23, 35.86, 30.09, 29.62, 29.26,
 29.22, 29.05, 27.32, 27.15, 26.67, 25.74, 25.38, 21.65,
 20 14.48. HRMS Calculado para C₂₄H₄₆N₃O₄ [M+1]⁺ 440.3488,
 encontrado 440.3485.



[00194] **Ácido 2-(13-(1,3-Dimetil-3-*n*-pentilureido)tridec-8(Z)-enamido)acético (6).** Siguiendo las condiciones de hidrólisis de éster como se describió anteriormente, se convierte metil 2-(13-(1,3-dimetil-3-*n*-pentilureido)tridec-8(Z)-enamido)acetato en el análogo **6** (87 %), obtenido como un líquido incoloro. TLC: EtOAc/hexanos (4:1), $R_f \sim 0.40$; ^1H RMN (300 MHz) δ 6.39 (br s, -NH, 1H), 5.24-5.40 (m, 2H), 4.03 (d, $J = 4.5$ Hz, 2H), 3.16 (evidente q, $J = 5.8$ Hz, 4H), 2.79 (s, 3H), 2.77 (s, 3H), 2.25 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 1.90-2.10 (m, 4H), 1.48-1.70 (m, 6H), 1.20-1.40 (m, 12H), 0.88 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz) δ 174.31, 171.97, 166.01, 130.44, 129.51, 50.79, 50.61, 41.72, 36.86, 36.72, 36.42, 29.64, 29.18, 29.05, 27.36, 27.26, 27.09, 27.04, 25.76, 22.63, 14.24. HRMS Calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{44}\text{N}_3\text{O}_4$ $[\text{M}+1]^+$ 426.3332, encontrado 426.3315.

[00195] **Síntesis del Análogo 5.**

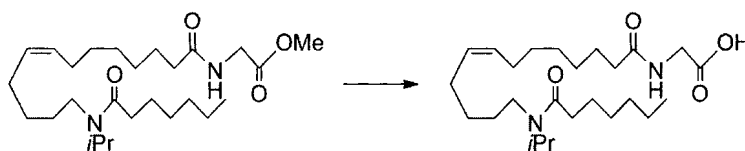


20

[00196] **Metil 2-(13-(*N*-Isopropilheptanamido)tridec-8(Z)-enamido)acetato.** Se condensa ácido 13-(*N*-Isopropilheptanamido)tridec-8(Z)-enoico² (100 mg, 0.26 mmol) con metil éster de glicina como se describió anteriormente para dar la amida correspondiente (97 mg, 82 %) como un jarabe incoloro que se utiliza directamente en la siguiente etapa. TLC: EtOAc

(2:1), $R_f \sim 0.45$; ^1H RMN (300 MHz, mezcla de rotámeros 1:1) δ 6.25 (br s, -NH, 0.5 H), 6.08 (br s, -NH, 0.5 H), 5.24-5.42 (m, 2H), 4.60-4.72 (m, 1H), 4.05 (d, $J = 2.4$ Hz, 2H), 3.76 (s, 1.5 H), 3.75 (s, 1.5 H), 3.06-3.15 (m, 2H), 2.20-2.38 (m, 4H), 1.90-2.10 (m, 4H), 1.40-1.68 (m, 6 H), 1.24-1.38 (m, 14 H), 1.19 (d, $J = 6.7$ Hz, 3 H), 1.10 (d, $J = 6.7$ Hz, 3 H), 0.88 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz) δ 173.60, 173.46, 173.16, 172.60, 170.82, 130.84, 130.12, 129.88, 129.16, 53.66, 52.58, 52.53, 48.35, 45.52, 43.55, 41.38, 41.15, 36.57, 34.11, 34.02, 31.95, 31.92, 31.32, 29.92, 29.72, 29.63, 29.60, 29.45, 29.40, 29.26, 29.21, 28.97, 27.94, 27.45, 27.41, 27.26, 27.16, 26.96, 25.91, 25.80, 25.75, 22.79, 21.62, 20.78, 14.31.

15



20

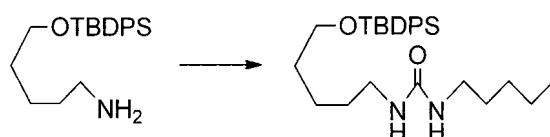
25

[00197] **Ácido 2-(13-(N-Isopropilheptanamido)tridec-8(Z)-enamido)acético (5)**. Siguiendo las condiciones de hidrólisis de éster como se describió anteriormente, se hidroliza metil 2-(13-(N-isopropilheptanamido)tridec-8(Z)-enamido)acetato (50 mg, 0.10 mmol) para dar el análogo **5** (44 mg, 91 %) obtenido como un líquido incoloro. TLC: EtOAc (4:1), $R_f \sim 0.20$; ^1H RMN (300 MHz, mezcla de rotámeros 65/35) δ 6.47 y 6.35 (br s, -NH, 1H para los dos rotámeros), 5.24-5.42 (m, 2H), 4.60-4.70 (m, 1H para los dos rotámeros), 4.05 y 4.06 (d, $J = 2.8$ Hz, 2H para los dos rotámeros), 3.06-3.18 (m, 2H), 2.20-2.38 (m, 4H), 1.90-2.10 (m, 4H),

1.50-1.68 (m, 6H), 1.24-1.38 (m, 14H), 1.20 y 1.10 (d, $J=7.3$ Hz, 6H para los dos rotámeros), 0.87 (t, $J=7.2$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (75 MHz) δ 174.35, 174.23, 174.18, 173.64, 172.0, 171.93, 130.98, 130.25, 129.75, 129.0, 48.86, 45.99, 43.77, 41.79, 41.62, 41.48, 34.05, 33.95, 31.85, 31.79, 31.13, 29.62, 29.51, 29.35, 29.31, 29.23, 28.85, 28.81, 27.83, 27.44, 27.34, 27.21, 27.02, 26.90, 26.03, 25.87, 25.80, 25.75, 22.75, 21.54, 20.70, 14.29. HRMS calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{47}\text{N}_2\text{O}_4$ $[\text{M}+1]^+439.3536$, encontrado 439.3531.

10

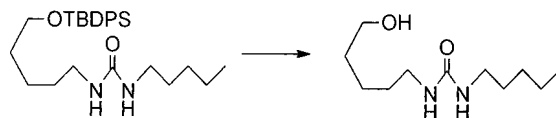
[00198] **Síntesis del Análogo 31.**



15 [00199] **1-(5-(*tert*-Butildifenilsililoxi)pentil)-3-*n*-**

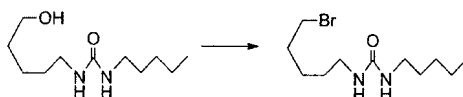
pentilurea. Se hace reaccionar 5-(*tert*-Butildifenilsililoxi)pentan-1-amina⁵ (3.0 g, 8.78 mmol) con *n*-pentil isocianato (995 mg, 8.78 mmol) como se describió anteriormente para dar la urea del título (85 %) como un
 20 aceite incoloro. TLC: EtOAc/hexanos (2:3), $R_f \sim 0.40$; ^1H RMN (300 MHz) δ 7.60-7.70 (m, 4H), 7.30-7.40 (m, 6H), 4.24 (br s, -NH, 2H), 3.64 (t, $J=7.9$ Hz, 2H), 3.06-3.20 (m, 4H), 1.20-1.60 (m, 12 H), 1.03 (s, 9H), 0.89 (t, $J=7.2$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (75 MHz) δ 159.7, 134.90, 132.47, 132.40, 129.70, 128.81, 128.71, 127.92, 63.2, 40.91, 40.81, 32.42, 29.60, 29.28,
 25

27.11, 23.30, 22.35, 19.38. HRMS calculado para $C_{27}H_{43}N_2O_2Si[M+1]^+$ 455.3094, encontrado 455.3093.



5

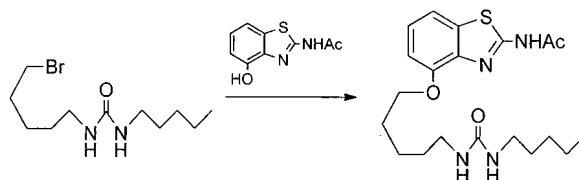
[00200] 1-(5-Hidroxipentil)-3-n-pentilurea. Se des-silila 1-(5-(*tert*-Butildifenilsililoxi)pentil)-3-*n*-pentilurea (3.0 g, 6.60 mmol) como se describió anteriormente para dar el alcohol del título (1.31 g, 92 %) como un sólido incoloro, pf 81.4-81.8 °C. TLC: EtOAc/hexanos (7:3), $R_f \sim 0.40$; ^1H RMN (CD_3OD , 300 MHz) δ 3.54 (t, $J = 5.8$ Hz, 2H), 3.06 (q, $J = 6.4$ Hz, 4H), 1.22-1.60 (m, 12H), 0.89 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (CD_3OD , 100 MHz) δ 160.17, 61.67, 39.82, 39.77, 32.17, 30.02, 29.91, 29.03, 23.04, 22.34, 13.25. HRMS calculado para $C_{11}H_{25}N_2O_2[M+1]^+$ 217.1916, encontrado 217.1916.



[00201] 1-(5-Bromopentil)-3-n-pentilurea. Siguiendo el protocolo como se describió anteriormente, 1-(5-hidroxipentil)-3-*n*-pentilurea (1.30 g, 6.02 mmol) se convierte en el bromo correspondiente (1.45 g, 87 %), obtenido como un aceite incoloro. TLC: EtOAc/hexanos (2:3), $R_f \sim 0.40$; ^1H RMN (300 MHz) δ 4.44 (br s, -NH, 2H), 3.40 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 3.10-3.20 (m, 4H), 1.82-1.92 (m, 2H), 1.40-1.58

(m, 6H), 1.24-1.38 (m, 4H), 0.89 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz) δ 159.46, 40.02, 33.88, 33.02, 30.29, 29.92, 29.36, 25.83, 22.12, 14.02. HRMS calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_{24}\text{BrN}_2\text{O}[\text{M}+1]^+$ 279.1072, encontrado 279.1073.

5



[00202] **N-(4-(5-(3-n-Pentilureido)pentiloxi)benzo[d]thiazol-2-**

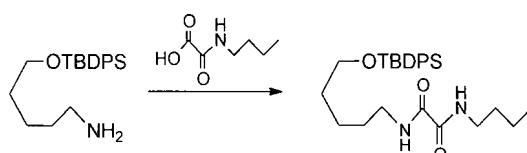
il)acetamida (31). Una mezcla de 1-(5-bromopentil)-3-n-pentilurea (100 mg, 0.37 mmol), N-(4-hidroxibenzo[d]thiazol-2-il)acetamida comercial (100 mg, 0.48 mmol), y K_2CO_3 (67 mg, 0.48 mmol) en DMF (5 mL) se calienta a 60 °C. Después de 6 h, la mezcla de reacción se enfría a temperatura ambiente, se diluye con agua (25 mL), y se extrae en EtOAc (3 × 10 mL).

Los extractos orgánicos combinados se lavan con agua (2 × 5 mL), solución salina (10 mL), se secan (Na_2SO_4) y se concentran in vacuo. El residuo así obtenido se purifica mediante cromatografía de columna de gel de sílice para dar **31** (61 mg, 40 %), pf 61.6-61.8 °C. TLC: EtOAc/hexano (3:2),

$R_f \sim 0.40$; ^1H RMN (300 MHz) δ 7.39 (dd, $J = 0.9, 7.3$ Hz, 1H), 7.20 (dd, $J = 7.8, 7.3$ Hz, 1H), 6.86 (dd, $J = 0.9, 7.8$ Hz, 1H), 4.42 (br s, -NH, 2H), 4.17 (t, $J = 5.4$ Hz, 2H), 3.19-3.30 (m, 4H), 2.33 (s, 3H), 1.82-1.98 (m, 2H), 1.64-1.80 (m, 4H), 1.42-1.60 (m, 2H), 1.24-1.40 (m, 4H), 0.88 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (75 MHz) δ 170.16, 159.91, 158.94, 151.37, 139.10, 133.67, 124.40, 113.94, 108.68, 68.21, 40.64, 39.98,

30.27, 29.30, 28.33, 26.54, 23.25, 22.64, 22.33, 14.26. HRMS (ESI-neg) calculado para $C_{20}H_{29}N_4O_3S[M-1]^-$ 405.1960, encontrado 405.1938.

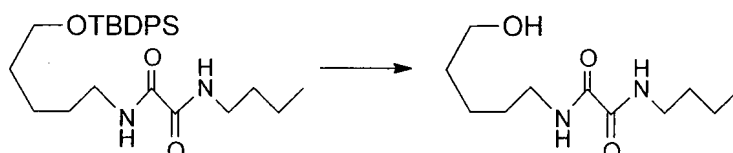
5 [00203] **Síntesis del Análogo 32.**



[00204] ***N*¹-*n*-Butil-*N*²-(5-(*tert*-**

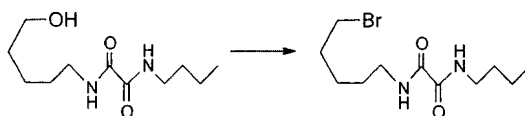
10 **butildifenilsililoxi)pentil)oxalamida.** Una mezcla de ácido 2-(*n*-butilamino)-2-oxoacético (22 mg, 0.15), 5-(*tert*-butildifenilsililoxi)pentan-1-amina⁵ (50 mg, 0.15 mmol), *N,N*-diisopropiletilamina (40 mg, 0.30 mmol), y 2-(1*H*-7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio
15 hexafluorofosfato metanaminio (HATU, 72 mg, 0.19 mmol) en DMF seco (5 mL) se agita a temperatura ambiente durante la noche bajo una atmósfera de argón, luego se detiene con agua (2 mL). La mezcla de reacción se extrae con EtOAc (3 × 5 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavan con agua, se
20 secan y se concentran *in vacuo*. El residuo se purifica mediante cromatografía de columna flash SiO₂ utilizando EtOAc/hexanos (1:3) como eluyente para dar la oxamida del título (65 mg, 91 %) como un aceite incoloro. TLC: 50 % de EtOAc/hexano, *R_f*~0.56; ¹H RMN (400 MHz) δ 7.55-7.70 (m, 4H),
25 7.60 (br s, -NH, 2H), 7.35-7.40 (m, 6H), 3.65 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 3.35-3.25 (m, 4H), 1.55-1.35 (m, 10H), 1.05 (s, 9H),

0.92 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz) δ 160.28, 160.25, 135.80, 134.20, 129.85, 127.90, 63.80, 40.0, 39.70, 32.40, 31.50, 29.20, 27.10, 27.05, 23.40, 20.30, 19.45, 14.0. HRMS calculado para $\text{C}_{27}\text{H}_{41}\text{N}_2\text{O}_3\text{Si}$ $[\text{M}+1]^+$ 469.2886, encontrado
 5 469.2892.



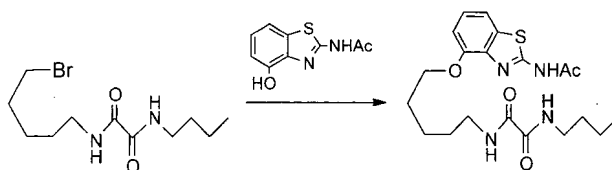
[00205] **N^1 - n -Butil- N^2 -(5-hidroxipentil)oxalamida.** Una mezcla
 10 de N^1 - n -butil- N^2 -(5-(*tert*-butildifenilsililoxi)pentil)oxalamida (65 mg, 0.14 mmol) y fluoruro de n -tetrabutylamonio (0.41 mL, 1 M soln, 0.42 mmol) en solución de THF seco se agita a temperatura ambiente bajo una atmósfera de argón durante 12 h. Todos los volátiles se
 15 evaporan *in vacuo*, el residuo se disuelve en EtOAc (30 mL) y la capa orgánica se lava con agua (10 mL), solución salina (15 mL), se seca y se evapora. La purificación del residuo por medio de cromatografía de columna SiO_2 utilizando EtOAc/hexanos (1:2) como eluyente da el compuesto del título
 20 (30 mg, 92 %) como un sólido incoloro, pf 136-137 °C. TLC: 50 % de EtOAc/hexano, $R_f \sim 0.28$; ^1H RMN (300 MHz) δ 7.65 (br s, NH, 1H), 7.60 (br s, -NH, 1H), 3.65 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H), 3.35-3.25 (m, 4H), 1.90 (br s -OH, 1H), 1.60-1.50 (m, 6H), 1.40-1.35 (m, 4H), 0.92 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz) δ
 25 160.25, 160.10, 62.70, 39.80, 39.65, 32.40, 31.45, 29.20,

23.25, 20.20, 13.85. HRMS calculado para $C_{11}H_{23}N_2O_3$ $[M+1]^+$ 231.1709, encontrado 231.1701.



5

[00206] ***N*¹-(5-Bromopentil)-*N*²-*n*-butiloxalamida.** Una solución tetrabromuro de carbono (51 mg, 0.15 mmol) en CH_2Cl_2 (5 mL) se agita en una solución a 0 °C de trifenilfosfino (48 mg, 0.18 mmol) y *N*¹-*n*-butil-*N*²-(5-hidroxipentil)oxalamida (30 mg, 0.130 mmol) en CH_2Cl_2 seco (5 mL) bajo una atmósfera de argón. Después de 2 h, la mezcla de reacción se lava con agua (5 mL), solución salina (10 mL), se seca sobre Na_2SO_4 anhidro, y todos los volátiles se retiran bajo presión reducida. El residuo se purifica mediante cromatografía de columna SiO_2 utilizando EtOAc/hexano (1:4) para dar compuesto el compuesto del título (32 mg, 84 %) como un sólido incoloro, pf 109-110 °C. TLC: 50 % de EtOAc/hexanos, $R_f \sim 0.50$; ^1H RMN (300 MHz) δ 7.55 (br s, NH, 1H), 7.50 (br s, -NH, 1H), 3.40 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H), 3.25-3.35 (m, 4H), 1.80-1.85 (m, 2H), 1.40-1.60 (m, 6H), 1.25-1.35 (m, 2H), 0.92 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz) δ 160.30, 160.15, 39.65, 33.65, 32.45, 31.40, 28.60, 25.60, 20.20, 13.90. HRMS calculado para $C_{11}H_{22}BrN_2O_2$ $[M+1]^+$ 293.0865, encontrado 293.0870.



25

[00207] ***N*¹-(5-(2-Acetamidobenzo[d]tiazol-4-iloxi)pentil)-*N*²-*n*-**

butiloxalamida. Una mezcla de *N*¹-(5-bromopentil)-*N*²-*n*-

butiloxalamida (32 mg, 0.11 mmol), *N*-(4-

5 hidroxibenzo[d]tiazol-2-il)acetamida comercial (22 mg, 0.11

mmol), y K₂CO₃ (45 mg, 0.32 mmol) en DMF (3 mL) se calienta a

80 °C durante 3h, luego se enfría a temperatura ambiente, se

diluye con agua (15 mL) y se extrae en EtOAc (3 × 10 mL). Los

extractos orgánicos combinados se lavan con agua (2 × 5 mL),

10 solución salina (10 mL), se secan (Na₂SO₄) y se concentran in

vacuo. El residuo se purifica mediante cromatografía de

columna de gel de sílice utilizando EtOAc/hexanos (1:2) como

eluyente para dar el análogo **32** (35 mg, 76 %) como un sólido

incoloro, pf 154-155 °C. TLC: 70 % de EtOAc/hexanos, R_f~

15 0.35; ¹H RMN (300 MHz) δ 11.05 (br s, NH, 1H), 8.30 (br s, NH,

1H), 7.70 (br s, NH, 1H), 7.40 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.25 (dd,

J = 7.4, 7.8 Hz, 1H), 6.85 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 4.20 (t, *J* =

6.0 Hz, 2H), 3.50 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.35 (q, *J* = 7.0 Hz,

2H), 2.35 (s, 3H), 1.95-1.90 (m, 2H), 1.85-1.80 (m, 2H),

20 1.70-1.65 (m, 2H), 1.60-1.55 (m, 2H), 1.40-1.35 (m, 2H), 0.95

(t, *J* = 7.3 Hz, 3H); ¹³C RMN (75 MHz) δ 169.40, 160.55, 159.90,

157.85, 151.50, 139.10, 134.00, 124.75, 113.75, 108.10,

68.90, 39.80, 39.30, 31.35, 28.20, 27.40, 23.70, 23.45,

20.25, 13.90. HRMS calculado para C₂₀H₂₉N₄O₄S [M+1]⁺ 421.1910,

25 encontrado 421.1906.

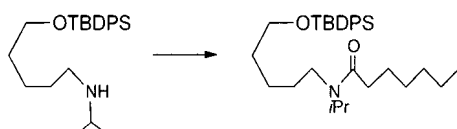
[00208] **Síntesis del Análogo 30.**



[00209] **5-(*tert*-Butildifenilsililoxi)-*N*-isopropilpentan-1-**

amina. Siguiendo la literatura precedente,² una mezcla de 1-

5 (5-(*tert*-butildifenilsililoxi)-5-yodopentano⁶ (1.50 g, 3.32 mmol), isopropilamina (1.70 mL, 19.92 mmol) y K₂CO₃ (1.37 g, 10.03 mmol) se hace reaccionar para dar la amina del título (0.92 g, 72 %) como un líquido incoloro. TLC: MeOH/CH₂Cl₂ (1:4), R_f~0.30; ¹H RMN (300 MHz) δ 7.65-7.67 (m, 4H), 7.30-7.40 (m, 6H), 3.65 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 2.70-2.82 (m, 1H), 2.55 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 1.50-1.64 (m, 2H), 1.32-1.48 (m, 4H), 1.05 (d, *J* = 5.8 Hz, 3H), 1.04 (s, 9H); ¹³C RMN (100 MHz) δ 135.68, 134.21, 129.63, 127.70, 63.95, 48.81, 47.64, 32.60, 30.27, 27.0, 23.76, 23.15, 19.34. HRMS calculado para C₂₄H₃₈NOSi [M+1]⁺ 384.2723, encontrado 384.2724.

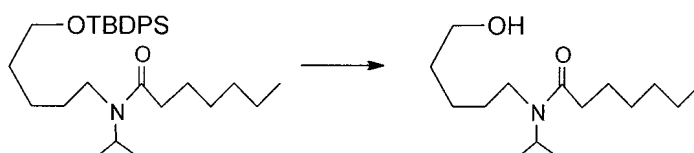


[00210] ***N*-(5-(*tert*-Butildifenilsililoxi)pentil)-*N*-**

20 **isopropilheptanamida.** Siguiendo la literatura precedente,² 5-(5-(*tert*-butildifenilsililoxi)-*N*-isopropilpentan-1-amina (0.90 g, 2.30 mmol) se condensa con ácido heptanoico (0.26 g, 2.0 mmol) para dar la amida del título (0.90 g, 79 %) como un aceite viscoso. TLC: EtOAc/hexanos (3:8), R_f~ 0.60; ¹H RMN (300 MHz, mezcla de rotámeros 1:1) δ 7.65-7.67 (m, 4H), 7.30-7.40 (m,

6H), 4.62-4.72 (m, 0.5 H), 4.00-4.80 (m, 0.5H), 3.62 (t, J = 4.8 Hz, 1H), 3.68 (t, J = 4.8 Hz, 1H), 3.02 (t, J = 5.2 Hz, 1H), 3.16 (t, J = 5.2 Hz, 1H), 2.38 (t, J = 5.3 Hz, 1H), 2.24 (t, J = 5.3 Hz, 1H), 1.50-1.68 (m, 6H), 1.26-1.44 (m, 8H),
 5 1.18 (d, J = 7.3 Hz 3H), 1.12, (d, J = 7.3 Hz 3H), 1.03 (s, 4.5 H), 1.04 (s, 4.5H), 0.88 (t, J = 7.3 Hz, 3H); ^{13}C RMN (125 MHz) δ 173.38, 172.76, 135.80, 135.78, 134.36, 134.12, 129.85, 129.73, 127.88, 127.82, 64.22, 63.68, 48.43, 45.62, 43.64, 41.27, 34.13, 34.05, 32.61, 32.36, 31.96, 31.93,
 10 31.51, 29.63, 29.47, 27.10, 27.03, 25.94, 25.78, 24.03, 23.77, 22.81, 21.63, 20.78, 19.47, 14.33, 14.28. HRMS calculado para $\text{C}_{31}\text{H}_{50}\text{NO}_2\text{Si}$ $[\text{M}+1]^+$ 496.3611, encontrado 496.3615.

15

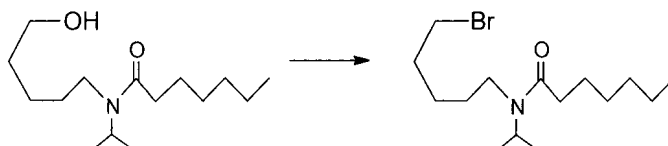


20

25

[00211] ***N*-(5-Hidroxipentil)-*N*-isopropilheptanamida.** Se des-silila *N*-(5-(*tert*-Butildifenilsililoxi)pentil)-*N*-isopropilheptanamida (0.70 g, 1.37 mmol) como se describió anteriormente para dar el alcohol del título (0.34 g, 96 %) como un sólido incoloro. TLC: EtOAc/hexanos (2:3), $R_f \sim 0.30$; ^1H RMN (300 MHz, mezcla de rotámeros 53/47) δ 4.58-4.66 y 3.96-4.08 (m, 1H para los dos rotámeros), 3.56 y 3.70 (t, J = 5.4 Hz, 2H para los dos rotámeros), 3.02-3.16 (m, 2H), 2.30 y 2.26 (t, J = 6.3 Hz, 2H para los dos rotámeros), 1.50-1.64 (m, 6H), 1.22-1.40 (m, 8H), 1.13 y 1.09 (d, J = 7.5 Hz, 6H

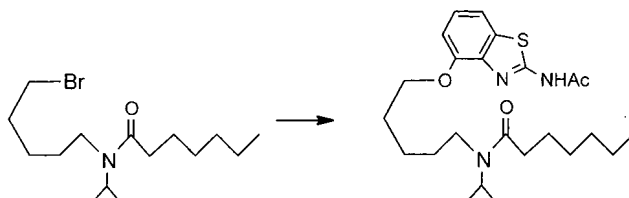
para los dos rotámeros), 0.84 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz) δ 172.81, 62.66, 62.60, 48.41, 45.55, 43.56, 41.04, 34.08, 34.0, 32.46, 32.43, 31.86, 31.57, 29.40, 25.87, 25.70, 23.77, 23.73, 22.75, 21.57, 20.72, 14.26. HRMS calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{32}\text{NO}_2$ $[\text{M}+1]^+ 258.2433$, encontrado 258.2436.



[00212] N-(5-Bromopentil)-N-isopropilheptanamida.

Se

10 convierte N-(5-Hidroxipentil)-N-isopropilheptanamida (0.25 g, 0.97 mmol) al bromuro correspondiente como se describió anteriormente para dar el compuesto del título (0.25 g. 82 %) como un aceite incoloro. TLC: EtOAc/hexanos (3:7), $R_f \sim 0.40$; ^1H RMN (300 MHz, mezcla de rotámeros 55/45) δ 4.60-4.70 y 3.96-4.10 (m, 1H para dos rotámeros), 3.46 y 3.36 (t, $J = 5.8$ Hz 2H para dos rotámeros), 3.02-3.10 (m, 2H), 2.30 y 2.22 (t, $J = 7.9$ Hz, 2H para dos rotámeros), 1.80-1.97 (m, 2H), 1.40-1.70 (m, 6H), 1.20-1.40 (m, 6H), 1.16 y 1.10, (d, $J = 7.3$ Hz, 6H para dos rotámeros), 0.86 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (75 MHz) δ 172.79, 172.39, 48.17, 45.47, 43.32, 40.70, 33.89, 33.87, 33.49, 32.48, 32.30, 31.81, 31.78, 30.78, 29.27, 28.74, 26.05, 25.84, 25.69, 25.54, 22.64, 21.47, 20.62, 14.17. HRMS calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{31}\text{BrNO}$ $[\text{M}+1]^+ 320.1589$, encontrado 320.1588.

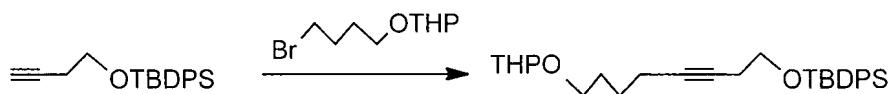


[00213] **N-(5-(2-Acetamidobenzo[d]thiazol-4-iloxy)pentil)-N-**

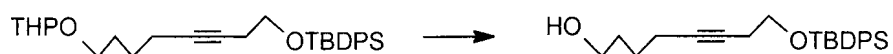
isopropilheptanamida (30). Se alquila N-(5-Bromopentil)-N-

5 isopropilheptanamida (75 mg, 0.23 mmol) con N-(4-hidroxibenzo[d]thiazol-2-il)acetamida comercial (54 mg, 0.26 mmol) como se describió anteriormente para dar el análogo **30** (43 mg, 42 %) como un sólido pegajoso. TLC: EtOAc/hexanos (1:4), $R_f \sim 0.30$; ^1H RMN (300 MHz, 45/55 mezcla de rotámeros) δ 11.50 (br s, -NH, 1H), 7.37-7.42 (m, 1H), 7.18-7.26 (m, 1H), 6.84-6.88 (m, 1H), 4.58-4.78 y 4.00-4.10 (m, 1H para dos rotámeros), 4.02 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H), 3.12 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 2.22-2.45 (m, 5H), 1.82-1.92 (m, 2H), 1.44-1.70 (m, 4H), 1.20-1.40 (m, 8H), 1.11-1.19 (m, 6H), 0.82-0.95 (m, 3H); ^{13}C RMN (75 MHz) δ 173.94, 172.78, 169.40, 169.36, 157.89, 151.62, 138.43, 138.32, 133.91, 133.87, 124.92, 124.85, 114.02, 113.87, 109.66, 108.35, 69.46, 69.08, 48.53, 48.33, 45.94, 43.61, 41.20, 34.26, 34.09, 31.91, 31.88, 31.39, 29.55, 29.45, 29.37, 29.30, 25.88, 25.77, 25.71, 24.43, 24.16, 23.55, 22.77, 21.59, 20.80, 14.28. HRMS (ESI-neg) calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$ $[\text{M}-1]^-$ 446.2477, encontrado 446.2434.

[00214] **Síntesis del Análogo 33.**



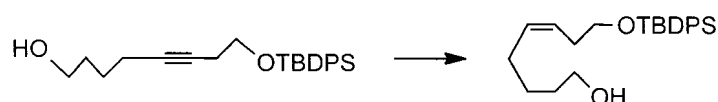
[00215] **1-(*tert*-Butildifenilsililoxi)-8-(tetrahidro-2*H*-piran-2-iloxi)oct-3-ina**. Se acopla 4-(*tert*-Butildifenilsililoxi)-1-butino⁷ (5.0 g, 16.23 mmol) con 2-(4-bromobutoxi)tetrahidro-2*H*-piran⁸ (4.59 g, 19.48 mmol) como se describió anteriormente para dar el acetileno del título (5.57 g, 74 %) como un aceite incoloro. TLC: EtOAc/hexanos (1:9), $R_f \sim 0.40$; ¹H RMN (300 MHz) δ 7.66-7.69 (m, 4H), 7.34-7.42 (m, 6H), 4.57 (t, $J = 4.3$ Hz, 1H), 3.78-3.86 (m, 2H), 3.73-3.90 (m, 3H), 3.32-3.40 (m, 3H), 2.40-2.45 (m, 2H), 2.06-2.10 (m, 2H), 1.93-2.02 (m, 2H), 1.40-1.80 (m, 6H), 1.02 (s, 9H); ¹³C RMN (100 MHz) δ 137.87, 133.96, 129.70, 128.0, 99.0, 81.0, 77.41, 67.32, 63.15, 62.51, 30.97, 29.20, 27.0, 26.98, 26.0, 25.74, 23.18, 19.83, 19.44, 18.88. HRMS calculado para C₂₉H₄₁O₃Si [M+1]⁺ 465.2825, encontrado 465.2829.



[00216] **8-(*tert*-Butildifenilsililoxi)oct-5-in-1-ol**. Se des-silila 1-(*tert*-Butildifenilsililoxi)-8-(tetrahidro-2*H*-piran-2-iloxi)oct-3-ina (5.50 g, 11.84 mmol) como se describió anteriormente para dar el compuesto del título (3.87 g, 86 %) como un aceite incoloro. TLC: EtOAc/hexanos (2:3), $R_f \sim 0.40$; ¹H RMN (300 MHz) δ 7.60-7.68 (m, 4H), 7.30-7.40 (m, 6H), 3.77 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H), 3.60-3.72 (m, 2H), 2.40-2.48 (m, 2H), 2.22-

2.40 (m, 2H), 1.50-1.70 (m, 4H), 1.03 (s, 9H); ^{13}C RMN (100 MHz) δ 135.83, 133.96, 129.90, 127.92, 81.31, 63.16, 62.60, 32.0, 27.0, 25.43, 23.17, 19.43, 18.78. HRMS calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{33}\text{O}_2\text{Si}$ $[\text{M}+1]^+$ 381.2250, encontrado 381.2256.

5



[00217] **8-(tert-Butildifenilsililoxi)oct-5(Z)-en-1-ol.** Se

semi-hidrogena 8-(tert-Butildifenilsililoxi)oct-5-in-1-ol

10 (5.32 g, 14.0 mmol) como se describió anteriormente para dar

8-(tert-butildifenilsililoxi)oct-5(Z)-en-1-ol (5.18 g, 97 %)

como un aceite incoloro cuyos valores espectrales están

acordes con los datos de la literatura. ^9TLC : EtOAc/hexanos

(2:3), $R_f \sim 0.45$; ^1H RMN (300 MHz) δ 7.60-7.70 (m, 4H), 7.30-

15 7.40 (m, 6H), 5.34-5.44 (m, 2H), 3.65 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H),

3.58-3.64 (m, 2H), 2.23 (q, $J = 4.2$ Hz, 2H), 1.98-2.20 (m,

2H), 1.30-1.60 (m, 4H), 1.03 (s, 9H); ^{13}C RMN (100 MHz) δ

135.84, 134.21, 131.64, 129.82, 127.87, 126.28, 63.94, 63.12,

32.54, 31.12, 27.23, 27.11, 26.02.

20



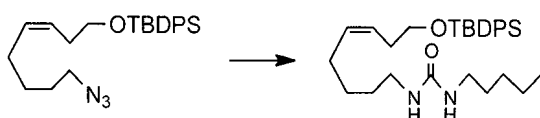
[00218] **1-(tert-Butildifenilsililoxi-8-azido-oct-3(Z)-en.**

Siguiendo el procedimiento descrito anteriormente, 8-(tert-

25 butildifenilsililoxi)-oct-5(Z)-en-1-ol (5.20 g, 13.61 mmol)

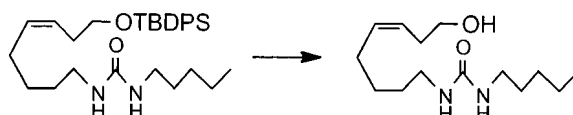
se transforma en la azida del título (3.98 g, 72 %), obtenido

como un aceite incoloro. TLC: EtOAc/hexanos (1:9), $R_f \sim 0.60$;
 ^1H RMN (300 MHz) δ 7.60-7.70 (m, 4H), 7.30-7.40 (m, 6H), 5.34-
 5.44 (m, 2H), 3.63 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 3.22 (t, $J = 6.4$ Hz,
 2H), 2.31 (q, $J = 3.6$ Hz, 2H), 1.95-2.05 (m, 2H), 1.50-1.60
 5 (m, 2H), 1.30-1.40 (m, 2H), 1.03 (s, 9H); ^{13}C RMN (100 MHz) δ
 135.98, 135.90, 134.28, 131.24, 130.05, 129.79, 128.10,
 127.87, 126.76, 63.98, 51.64, 31.24, 28.74, 27.29, 27.16,
 27.07, 27.0, 19.55; IR (puro) 2931, 2858, 2095, 1111 cm^{-1} .
 HRMS calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{OSi}[\text{M}+1]^+$ 408.2471, encontrado
 10 408.2470.

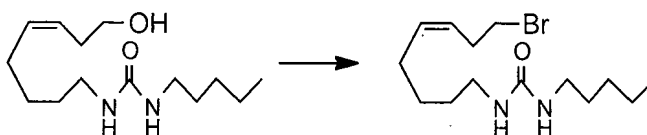


[00219] **1-(8-(*tert*-Butildifenilsililoxi)oct-5(*Z*)-enil)-3-*n*-**
 15 **pentilurea.** Se reduce 1-(*tert*-Butildifenilsililoxi-8-azido-
 oct-3(*Z*)-en a la amina correspondiente utilizando
 trifenilfosfino como se describió anteriormente. La amina
 cruda se hace reaccionar con *n*-pentil isocianato en THF como
 se observó anteriormente y el producto se purifica mediante
 20 cromatografía de columna SiO_2 eluyendo con 20 % de
 EtOAc/hexano para proporcionar el compuesto del título (1.94
 g, 84 %) como un aceite viscoso. TLC: EtOAc/hexanos (2:3), $R_f \sim$
 0.45; ^1H RMN (300 MHz) δ 7.60-7.70 (m, 4H), 7.30-7.40 (m,
 6H), 5.35-5.42 (m, 2H), 4.65 (br s, -NH, 2H), 3.64 (t, $J =$
 25 5.5 Hz, 2H), 3.06-3.18 (m, 4H), 2.24-2.34 (q, $J = 3.9$ Hz,
 2H), 1.94-2.02 (q, $J = 3.6$ Hz, 2H), 1.20-1.50 (m, 10H), 1.03

(s, 9H), 0.83 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz) δ 159.52, 135.85, 134.21, 131.53, 129.85, 127.90, 126.28, 63.93, 40.58, 40.50, 31.13, 30.43, 30.41, 29.45, 27.35, 22.77, 19.47, 14.36. HRMS calculado para $\text{C}_{30}\text{H}_{47}\text{N}_2\text{O}_2\text{Si}[\text{M}+1]^+$ 495.3407, encontrado 495.3406.

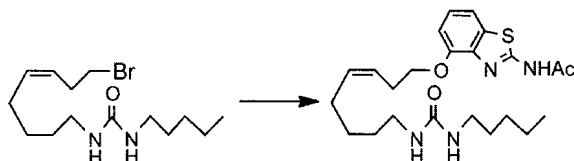


[00220] **1-(8-Hidroxi-oct-5(Z)-enil)-3-n-pentilurea.** Se des-silila 1-(8-(*tert*-Butildifenilsililoxi)oct-5(Z)-enil)-3-n-pentilurea (3.0 g, 6.07 mmol) como se describió anteriormente para dar el alcohol del título (1.44 g, 93 %) como un sólido incoloro, pf 57.8-57.9 °C. TLC: EtOAc/hexanos (1:4), $R_f \sim 0.30$; ^1H RMN (300 MHz) δ 5.30-5.60 (m, 2H), 4.40 (br s, -NH, 2H), 3.63 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 3.08-3.22 (m, 4H), 2.29 (q, $J = 5.3$ Hz, 2H), 2.09 (q, $J = 5.2$ Hz, 2H), 1.20-1.58 (m, 10H), 0.88 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz) δ 159.48, 132.35, 126.21, 62.28, 40.54, 40.15, 31.12, 30.28, 29.96, 29.35, 27.02, 26.98, 22.68, 14.27. HRMS calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}+1]^+$ 257.2229, encontrado 257.2236.



[00221] **1-(8-Bromooct-5(Z)-enil)-3-n-pentilurea.** Obtenido en 82% de rendimiento como un aceite incoloro. TLC:

EtOAc/hexanos (2:3), $R_f \sim 0.60$; ^1H RMN (300 MHz) δ 5.30-5.58 (m, 2H), 4.70 (br s, 2H), 3.35 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 3.08-3.19 (m, 4H), 2.60 (q, $J = 5.6$ Hz, 2H), 2.05 (q, $J = 5.4$ Hz, 2H), 1.24-1.54 (m, 10H), 0.88 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz) δ 159.54, 132.73, 126.45, 40.53, 40.33, 32.85, 30.98, 30.33, 30.30, 29.36, 27.36, 27.0, 22.69, 14.28. HRMS calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{28}\text{BrN}_2\text{O}$ $[\text{M}+1]^+$ 319.1385, encontrado 319.1392.



10

[00222] **N-(4-(8-(3-n-Pentilureido)oct-3(Z)-**

eniloxi)benzo[d]thiazol-2-il)acetamida (33). Obtenido en 40% de rendimiento como un sólido incoloro, pf 113.7-113.8 °C.

15 TLC: EtOAc/hexano (3:2), $R_f \sim 0.40$; ^1H RMN (300 MHz) δ 12.10 (br s, -NH, 1H), 7.40 (dd, $J = 0.8, 7.8$ Hz, 1H), 7.22 (dt, $J = 0.6, 8.9$ Hz, 1H), 6.90 (dd, $J = 0.5, 6.9$ Hz, 1H), 5.40-5.50 (m, 2H), 4.60 (br s, -NH, 2H), 4.20 (t, $J = 5.3$ Hz, 2H), 3.05-3.20 (m, 4H), 2.65 (q, $J = 3.9$ Hz, 2H), 2.29 (s, 3H), 2.15 (q, $J = 3.9$ Hz, 2H), 1.40-1.70 (m, 10 H), 0.87 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz) δ 170.07, 159.21, 158.52, 151.46, 138.41, 133.84, 132.26, 126.13, 124.81, 113.81, 108.29, 68.46, 40.75, 40.64, 30.20, 29.30, 27.78, 26.84, 26.47, 23.42, 22.62, 14.24. HRMS calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{35}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$ $[\text{M}+1]^+$ 447.2430, encontrado 447.2431.

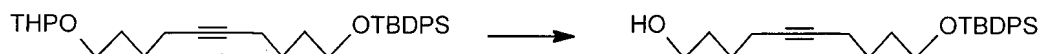
20

25

[00223] Síntesis del Análogo 4.

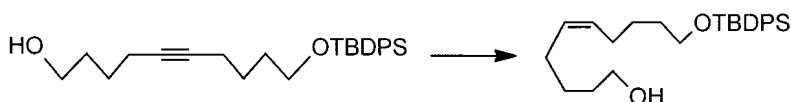


- 5 [00224] 1-(Tetrahidro-2H-piran-2-iloxi)-10-(tert-butildifenilsililoxi)dec-5-ina. Obtenido en 73% de rendimiento como un aceite incoloro. TLC: 15 % de EtOAc/hexanos, $R_f \sim 0.50$; ^1H RMN (500 MHz) δ 7.64-7.68 (m, 4H), 7.34-7.42 (m, 6H), 4.62 (t, $J = 4.3$ Hz, 1H), 3.78-3.92 (m, 2H), 3.68 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H), 3.40-3.56 (m, 2H), 2.14-2.26 (m, 4H), 1.42-1.90 (m, 14H), 1.04 (s, 9H); ^{13}C RMN (75 MHz) δ 135.83, 132.02, 129.80, 127.88, 99.0, 80.52, 80.30, 67.31, 63.74, 62.49, 32.0, 31.06, 29.21, 27.14, 26.21, 25.82, 25.78, 19.89, 18.90, 18.81. HRMS calculado para $\text{C}_{31}\text{H}_{45}\text{O}_3\text{Si}$ $[\text{M} + 1]^+ 493.3138$, encontrado 493.3140.



- 20 [00225] 10-(tert-Butildifenilsililoxi)dec-5-in-1-ol. Obtenido en 88% de rendimiento como un aceite incoloro cuyos valores espectrales están acordes con los datos de la literatura. ^{10}TLC : EtOAc/hexanos (3:7), $R_f \sim 0.40$; ^1H RMN (300 MHz) δ 7.64-7.68 (m, 4H), 7.34-7.42 (m, 6H), 3.67 (t, $J = 5.3$ Hz, 4H), 2.06-2.22 (m, 4H), 1.50-1.64 (m, 8H), 1.04 (s, 9H); ^{13}C RMN (75 MHz) δ 135.82, 135.08, 134.27, 129.80, 127.87, 80.74,

80.60, 63.67, 62.69, 32.09, 31.99, 27.12, 26.83, 25.78, 25.58, 25.48, 19.49, 18.79, 18.76.



5

[00226] 10-(tert-Butildifenilsililoxi)dec-5(Z)-en-1-ol.

Obtenido en 92% de rendimiento como un aceite incoloro cuyos valores espectrales están acordes con los datos de la literatura. ¹⁰TLC: EtOAc/hexanos (3:7), $R_f \sim 0.45$; ¹H RMN (300 MHz) δ 7.64-7.68 (m, 4H), 7.42-7.25 (m, 6H), 5.30-5.40 (m, 2H), 3.67 (t, $J = 5.3$ Hz, 4H), 2.06-2.22 (m, 4H), 1.40-1.64 (m, 8H), 1.04 (s, 9H); ¹³C RMN (75 MHz) δ 135.90, 135.81, 134.37, 129.92, 129.87, 129.84, 127.98, 127.80, 64.09, 63.05, 32.47, 27.24, 27.22, 27.13, 26.21, 26.14, 19.51.

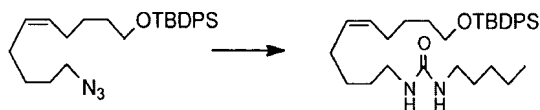
15



[00227] 1-(10-Azidodec-5(Z)-eniloxi) (tert-butildifenilsilano.

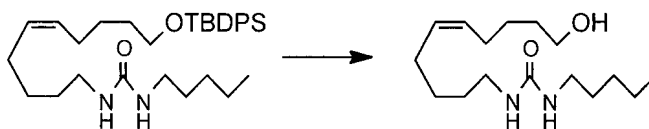
Obtenido en 71% de rendimiento como un aceite incoloro. TLC: EtOAc/hexanos (1:9), $R_f \sim 0.60$; ¹H RMN (300 MHz) δ 7.64-7.68 (m, 4H), 7.25-7.42 (m, 6H), 5.30-5.40 (m, 2H), 3.65 (t, $J = 5.3$ Hz, 2H), 3.24 (t, $J = 4.9$ Hz, 2H), 2.06-2.22 (m, 4H), 1.40-1.64 (m, 8H), 1.04 (s, 9H); ¹³C RMN (75 MHz) δ 137.87, 134.35, 130.69, 129.74, 127.91, 64.02, 51.62, 32.44, 28.67, 27.21, 27.16, 27.08, 26.91, 26.16, 19.48; IR (puro) 2930, 2861,

2331, 2324, 2096, 1106 cm^{-1} . HRMS calculado para $\text{C}_{26}\text{H}_{38}\text{N}_3\text{OSi}$ $[\text{M}+1]^+436.2784$, encontrado 436.2784.



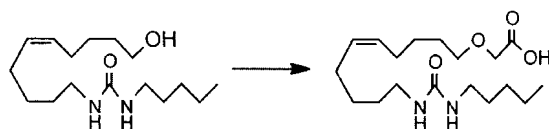
5

[00228] **1-(10-(*tert*-Butildifenilsililoxi)dec-5(*Z*)-enil)-3-*n*-pentilurea.** Obtenido en 78% de rendimiento como un aceite incoloro. TLC: EtOAc/hexanos (2:3), $R_f \sim 0.60$; ^1H RMN (300 MHz) δ 7.64-7.68 (m, 4H), 7.34-7.42 (m, 6H), 5.22-5.43 (m, 2H), 4.50 (br s, -NH, 2H), 3.65 (t, $J = 6.2$ Hz, 2H), 3.10-3.40 (m, 4H), 1.96-2.06 (m, 4H), 1.20-1.60 (m, 14H), 1.03 (s, 9H), 0.88 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (75 MHz) δ 159.08, 136.03, 134.02, 130.03, 128.26, 126.82, 63.28, 40.67, 40.47, 32.91, 30.48, 29.28, 27.26, 27.22, 26.93, 26.02, 22.64, 19.39, 14.26. HRMS calculado para $\text{C}_{32}\text{H}_{51}\text{N}_2\text{O}_2\text{Si}$ $[\text{M}+1]^+523.3720$, encontrado 523.3724.



[00229] **1-(10-Hidróxidoc-5(*Z*)-enil)-3-*n*-pentilurea.** Obtenido en 94% de rendimiento como un aceite incoloro. TLC: EtOAc/hexanos (7:3), $R_f \sim 0.30$; ^1H RMN (400 MHz) δ 5.30-5.43 (m, 2H), 4.28 (br s, 2H), 3.63 (q, $J = 4.6$ Hz, 2H), 3.10-3.20 (m, 4H), 2.00-2.10 (m, 4H), 1.24-1.64 (m, 14H), 0.88 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (75 MHz) δ 158.67, 130.17, 129.88, 62.71,

40.59, 40.34, 32.52, 30.23, 30.0, 29.32, 27.09, 26.96, 25.99, 22.52, 14.25. HRMS calculado para $C_{16}H_{33}N_2O_2$ $[M+1]^+285.2542$, encontrado 285.2545.



5

[00230] **Ácido**

2-(10-(3-n-Pentilureido)dec-5(Z)-

eniloxi)acético (4).

Una solución 1-(10-hidróxidoc-5(Z)-

enil)-3-n-pentilurea (66 mg, 0.23 mmol) y sulfato de tetra-n-

10 butilamonio (39 mg, 0.12 mmol) en benceno/50% de KOH ac. (4

mL, 1:1) se agita a 10 °C. Después de 15 min, se agrega *tert*-

butil 2-bromoacetato (136 mg, 0.70 mmol) a la mezcla de

reacción y se agita a la misma temperatura durante 1 h

adicional. La mezcla de reacción luego se diluye con agua (10

15 mL) y se extrae en EtOAc (2 × 10 mL). Los extractos orgánicos

combinados se lavan con agua, solución salina y se secan

(Na_2SO_4) y se concentran in *vacuo*. El residuo se disuelve en

CH_2Cl_2 (4 mL), se enfría a 0 °C, y ácido trifluoroacético (1

mL) se agrega en forma de gotas. La mezcla de reacción se

20 diluye con más de CH_2Cl_2 (5 mL), se lava con agua, solución

salina y se seca (Na_2SO_4). El residuo se purifica mediante

cromatografía de columna SiO_2 para dar el análogo **4** (37 mg,

47 %) como un sólido pegajoso. TLC: EtOAc, $R_f \sim 0.30$; ^1H RMN

(400 MHz) δ 5.30-5.42 (m, 2H), 4.06 (s, 2H), 3.54 (t, $J = 6.6$

25 Hz, 2H), 3.07-3.15 (m, 4H), 2.00-2.12 (m, 4H), 1.21-1.66 (m,

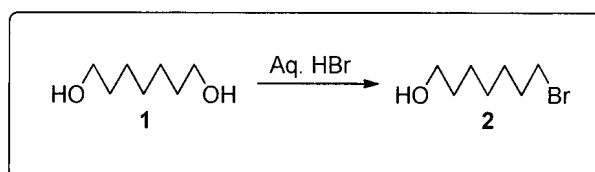
14H), 0.88 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (75 MHz) δ 174.32,

160.08, 130.33, 129.71, 71.60, 68.12, 41.11, 41.02, 29.68, 29.40, 29.17, 28.96, 27.20, 27.07, 26.64, 25.96, 22.55, 14.20. HRMS calculado para $C_{18}H_{35}N_2O_4$ $[M+1]^+343.2597$, encontrado 343.2594.

5

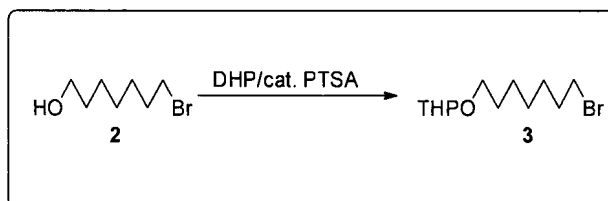
Ejemplo 2: Síntesis de (S)-2-(13-(3-pentilureido)tridec-8(Z)-enamido)succinato de Sodio (NIH-F=EET A o JLJ)

[00231] Como se establece en las Figuras 16A y 16B, la
10 síntesis de EET A es como sigue:

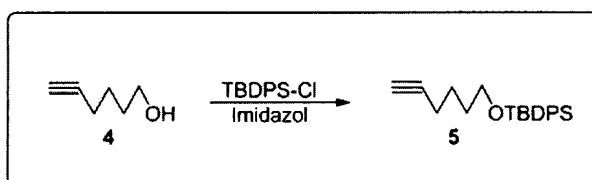


[00232] **7- bromoheptano-1-ol¹ (2):** Se calientan Heptano-1,7-
15 diol (36.0 g, 272 mmol; Alfa Aesar) y 48 % de HBr ac. (38 mL, 0.9 equiv.) bajo reflujo en benceno (400 mL) con retiro de agua utilizando un aparato Dean-Stark. Después de 16 h, todos los volátiles se retiran *in vacuo* y el residuo se purifica mediante cromatografía de columna SiO_2 utilizando un gradiente
20 de 10-30 % de EtOAc/hexanos como eluyente para dar 7-bromoheptan-1-ol (26.22 g, 62 %) como un aceite incoloro. TLC: 50 % de EtOAc/hexanos, $R_f \approx 0.40$; ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 3.61 (t, 2H, $J = 7.1$ Hz), 3.39 (t, 2H, $J = 6.8$ Hz), 1.80-1.88 (m, 2H), 1.52-1.58 (m, 2H), 1.30-1.46 (m, 6H).

25

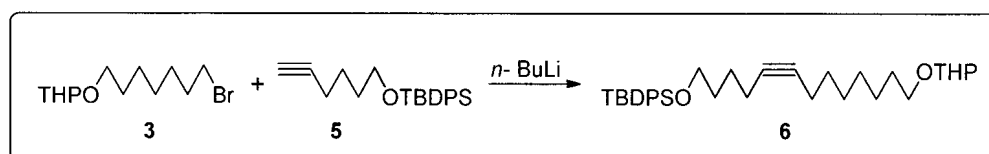


[00233] **2-(7-Bromoheptiloxi)tetrahydro-2H-piran² (3):** Se agrega dihidropiran (5.20 g, 6.11 mmol) a una solución agitada a 0°C de 7-bromoheptano-1-ol (**2**) (11.0 g, 56.7 mmol) y una cantidad catalítica de PTSA en CH₂Cl₂. Después de agitar a temperatura ambiente durante 12 h, la mezcla de reacción se diluye con CH₂Cl₂ (200 mL), se lava con agua (100 mL × 2), solución salina (100 mL × 3), se seca sobre sulfato de sodio anhidro, y se evapora. El residuo se purifica mediante cromatografía de columna de gel de sílice utilizando un gradiente de 10-20 % de acetato de etilo/hexano como eluyente para dar 2-(7-bromoheptiloxi)tetrahydro-2H-piran (**3**) (14.50 g, 92 %) como un aceite incoloro. TLC: 10 % de EtOAc/hexanos, R_f ≈ 0.55; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 4.58-4.56 (m, 1H), 3.84-3.88 (m, 1H), 3.68-3.77 (m, 1H), 3.46-3.51 (m, 1H), 3.33-3.43 (m, 3H), 1.80-1.81 (m, 2H), 1.30-1.62 (m, 14 H).



[00234] **tert-Butil(hex-5-in-1-iloxi)difenilsilano³ (5):** Se agrega tert-Butildifenilclorosilano (3.2 mL, 12.4 mmol) en forma de gotas a una solución agitada de 0° C de 5-hexin-1-ol

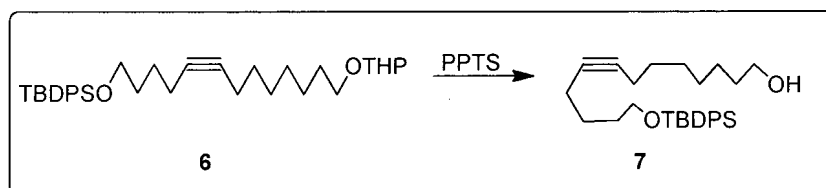
(**4**, 1.07 g, 10.9 mmol) e imidazol anhidro (1.84 g, 27.1 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (20 mL) bajo una atmósfera de argón. Después de la adición completa, la mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 12 horas, luego se detiene con solución acuosa saturada de NH₄Cl (50 mL) y se extrae con Et₂O (3 × 50 mL). Los extractos etéricos combinados se lavan con solución acuosa saturada de NaCl (25 mL), se secan sobre NaSO₄, y el solvente se retira in vacuo. El residuo se purifica mediante cromatografía flash (5% de acetato de etilo/hexano) para producir 1-*tert*-butildifenilsililoxi-hex-5-ina (**5**) (3.54 g, 10.5 mmol, 96 %) como un aceite incoloro. TLC: 5 % de EtOAc/hexanos, R_f ≈ 0.65; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7.77-7.65 (m, 4H), 7.40-7.30 (m, 6H), 3.70 (t, 2H, J = 5.6 Hz), 2.40-2.25 (m, 2H), 2.05 (t, 1H, J = 2.8 Hz), 1.90-1.70 (m, 4H), 1.18 (s, 9H).



[00235] ***tert*-Butildifenil((tetrahidro-2H-piran-2-iloxi)tridec-5-in-1-il)oxi)silano (**6**)**: Se agrega en forma de gotas *n*-Butillitio (14.3 mL, 35.9 mmol, 2.5 M solución en hexanos) a una solución a -78° C de *tert*-butil(hex-5-iniloxi)difenilsilano (10 g, 29.76 mmol) en THF y HMPA seco (4:1, 200 mL) bajo una atmósfera de argón. Después de 30 min, la mezcla de reacción se calienta a 0° C durante un periodo de 1 h y se mantiene durante 2 h. La mezcla de reacción se

vuelve a enfriar -78°C y se agrega una solución de THF (50 mL) de bromo **3** (8.20 g, 29.3 mmol). La temperatura de la reacción se deja calentar a temperatura ambiente durante 3h y se mantiene a esta temperatura durante 12 h antes que se detenga al agregar solución acuosa saturada de NH_4Cl (5 mL). El pH de la mezcla de reacción se ajusta a ~ 4 utilizando 1 M ácido oxálico y se extrae con EtOAc (2×250 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavan secuencialmente con agua (2×100 mL) y solución salina (100 mL), la capa orgánica se seca utilizando Na_2SO_4 anhidro y se concentra bajo vacuo. El residuo se purifica mediante cromatografía de columna de gel de sílice utilizando 10 % de EtOAc/hexanos para proporcionar **6** (12.4 g, 78 %) como un aceite espeso incoloro.

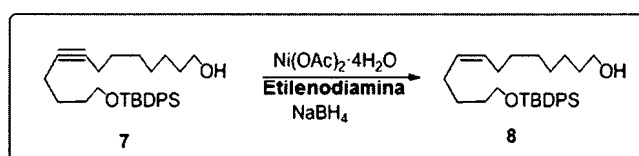
^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) δ 7.68-7.64 (m, 4H), 7.42-7.34 (m, 6H), 4.57 (t, $J = 4.3$ Hz, 1H), 3.86-3.78 (m, 1H), 3.65 (t, $J = 6.3$ Hz, 3H), 3.54-3.32 (m, 4H), 2.22-2.10 (m, 4H), 1.84-1.24 (m, 18H), 1.04 (s, 9H) ; ^{13}C RMN (CDCl_3 , 100 MHz) δ 135.82, 135.77, 134.25, 129.72, 127.85, 127.80, 127.77, 99.09, 99.05, 80.59, 80.22, 67.84, 67.74, 63.70, 62.58, 62.54, 31.00, 25.73, 19.92, 19.44, 18.97, 18.77.



[00236] 13-(*tert*-Butildifenilsililoxi) tridec-8-in-1-ol (7):

Una solución **6** (15.0 g, 0.59 mmol) y una cantidad catalítica

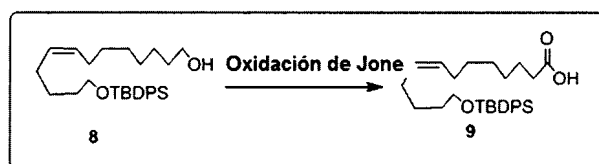
de PPTS (10 mg) en MeOH (20 mL) se agita a 0° C durante 10 h, luego se detiene con solución acuosa saturada de NaHCO₃. La mayor parte del metanol se evapora in vacuo. El residuo se diluye con agua (100 mL) y se extrae con acetato de etilo (100 mL × 3). Los extractos orgánicos combinados se concentran bajo presión reducida y el residuo se purifica mediante cromatografía de columna de gel de sílice utilizando 20-30 % acetato de etilo /hexano como eluyente para proporcionar **7** como un aceite incoloro (8.80 g, 78.7 %). TLC: 20 % de EtOAc/hexanos, R_f ≈ 0.36; ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ 7.68-7.65 (m, 4H), 7.41-7.35 (m, 6H), 3.66-3.62 (m, 4H), 2.10-1.95 (m, 4H), 1.64-1.50 (m, 2H), 1.48-1.20 (m, 10H), 1.04 (s, 9H); ¹³C RMN (CDCl₃, 100 MHz) δ 135.79, 135.77, 134.26, 129.73, 127.84, 127.83, 127.80, 127.78, 80.56, 80.28, 63.72, 63.22, 32.96, 31.90, 29.01, 25.78, 19.45, 18.95, 18.77.



[00237] 13-(tert-Butildifenilsililoxi)tridec-8(Z)-en-1-ol

(8): En un matraz de fondo redondo de 2 cuellos, se agrega NaBH₄ (176 mg, 4.65 mmol) en porciones pequeñas a una solución Ni(OAc)₂·4H₂O (1.16 g, 9.3 mmol) en etanol absoluto (10 mL) bajo una atmósfera de hidrógeno (1 atm). Después de 15 min, se agrega etilenodiamina seca (0.56 g, 9.3 mmol) después de 15 min adicionales mediante una solución de

alcohol **7** (8.0 g, 18.7 mmol) en etanol absoluto (25 mL). La reducción se supervisa mediante TLC hasta que se completa y luego se diluye con éter (50 mL), se pasa a través de una almohadilla pequeña de gel de sílice para retirar impurezas inorgánicas. El filtrado se concentra bajo presión reducida para proporcionar **8** como un aceite incoloro viscoso (7.60 g, 95 %). TLC: 50 % de EtOAc/hexano, $R_f \approx 0.42$; ^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) δ 7.68-7.65 (m, 4H), 7.41-7.35 (m, 6H), 5.40-5.30 (m, 2H), 3.58-3.65 m, 4H), 1.88-2.10 (m, 4H), 1.50-1.61 (m, 4H), 1.25-1.45 (m, 10H), 1.04 (s, 9H); ^{13}C RMN (CDCl_3 , 100 MHz) δ 135.83, 134.36, 130.30, 129.98, 129.77, 127.85, 64.09, 63.17, 32.48, 29.96, 29.53, 27.49, 27.37, 27.21, 27.16, 26.23, 26.01, 19.50.

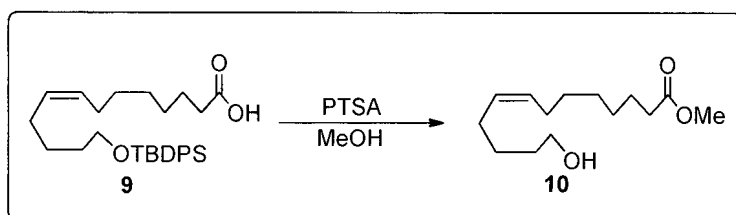


15

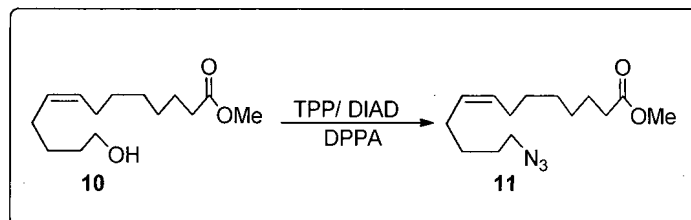
[00238] **Ácido 13-(tert-Butildifenilsililoxi)tridec-8(Z)-enoico (9)**: Se agrega reactivo de Jones (5.8 mL de una solución 10 N en agua) en acetona (25 mL) a una solución agitada a -40°C de alcohol **8** (5.0 g, 11.8 mmol) en acetona (75 mL). Después de 1 h, la mezcla de reacción se calienta a -10°C y se mantiene durante otras 2 h, luego se detiene con un exceso (5.0 equiv) de isopropanol. Las sales de cromo verdes se retiran mediante filtración y la torta de filtro se lava con acetona. Los filtrados combinados y lavados se concentran in vacuo y el residuo resultante se disuelve en

25

EtOAc (100 mL), se lava con agua (50 mL), se seca sobre sulfato de sodio anhidro, y se concentran *in vacuo*. El residuo se purifica mediante cromatografía de columna SiO₂ utilizando 15 % de EtOAc/hexanos como eluyente para dar **9** (3.84 g, 74.20 %) como un líquido. TLC: 40 % de EtOAc/hexanos, $R_f \approx 0.40$. ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ 7.68-7.64 (m, 4H), 7.43-7.34 (m, 6H), 5.40-5.26 (m, 2H), 3.66 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 2.35 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 2.10-1.90 (m, 4H) 1.64-1.50 (m, 2H), 1.48-1.20 (m, 10H), 1.04 (s, 9H); ¹³C RMN (CDCl₃, 100 MHz) δ 180.62, 135.81, 134.34, 130.10, 130.07, 129.73, 127.82, 127.80, 127.79, 64.06, 32.44, 29.12, 27.38, 27.18, 27.12, 26.19, 24.87, 19.47.



[00239] Metil 13-hidroxitridec-8(Z)-enoato⁴ (10): Una solución **9** (7.60 g, 3.49 mmol) y ácido *p*-toluenosulfónico (50 mg; PTSA) en MeOH (50 mL) se agita a temperatura ambiente durante 4 h, y luego se concentra *in vacuo*. El residuo se purifica mediante cromatografía de columna SiO₂ utilizando 25 % de EtOAc/hexanos como eluyente para dar **10** (3.41 g, 87 %) como un aceite incoloro. TLC: 40 % de EtOAc/hexanos, $R_f \approx 0.35$; ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ 5.40-5.36 (m, 2H), 3.60-3.66 (m, 5H), 2.30 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 2.10-1.90 (m, 4H) 1.64-1.50 (m, 2H), 1.48-1.20 (m, 10H).



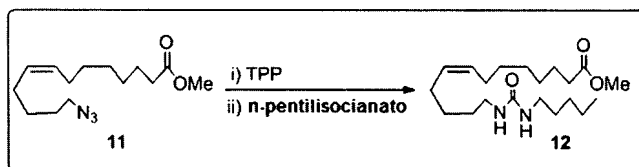
[00240] **Metil 13-azidotridec-8(Z)-enoato⁵ (11):** Se agrega en

5 forma de gotas diisopropil azodicaboxilato (DIAD; 3.0 g, 14.8 mmol,) a una solución al -20° C de trifenilfosfino (3.9 g, 14.8 mmol) en THF seco (100 mL) bajo una atmósfera de argón. Después de agitar a durante 10 min, se agrega en forma de gotas una solución **10** (3.0 g, 4.75 mmol) en THF anhhidro (5

10 mL). Después de 30 min a -20°C, la mezcla de reacción se calienta a 0° C y se agrega en forma de gotas difenilfosforilazida (DPPA, 4.0 g, 14.5 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 6 h, la reacción se detiene con agua (3 mL), se diluye con éter (100 mL), y se

15 lava con solución salina (40 mL). La capa acuosa se vuelve a extraer con éter (2 x 150 mL). Los extractos orgánicos combinados se secan sobre Na₂SO₄ y se concentran bajo presión reducida. El residuo se purifica mediante cromatografía de columna SiO₂ utilizando 5 % de EtOAc/hexanos como eluyente

20 para proporcionar **11** (2.72 g, 82 %) como aceite amarillo claro. TLC:10 % de EtOAc/hexanos, R_f ≈ 0.45; ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ 5.40-5.34 (m, 2H), 3.64 (s, 3H), 3.26 (t, J = 6.7 Hz, 2H), 2.30 (t, J = 7.7 Hz, 2H) 2.10-1.98 (m, 4 H) 1.66-1.54 (m, 2H), 1.48-1.24 (m, 10H).



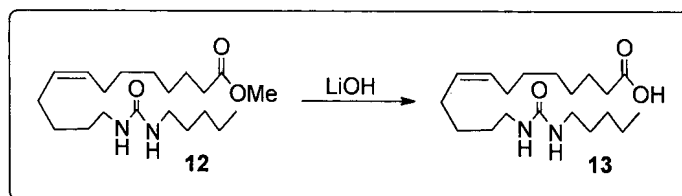
[00241] Metil 13-(3-pentilureido)tridec-8(Z)-enoato⁶ (12): Se

agrega trifenilfosfino (2.7 g., 11.0 mmol) a una solución a
 5 temperatura ambiente de **11** (1.4 g, 5.24 mmol) en THF seco (25
 mL). Después de 2 h, se agrega agua (200 μ L) y se continúa la
 agitación durante otras 8 h. La mezcla de reacción luego se
 diluye con EtOAc (100 mL), se lava con agua (20 mL) y
 solución salina (25 mL). Las capas acuosas se vuelven a
 10 extraer con EtOAc (2 $\times$ 30 mL). Los extractos orgánicos
 combinados se secan sobre Na₂SO₄, se concentran bajo presión
 reducida y se secan adicionalmente bajo alto vacío durante 4
 h. La amina cruda se utiliza en la siguiente etapa sin
 purificación adicional. Procedure ref.: S. Chandrasekhar; S.
 15 S. Sultana; N. Kiranmai; Ch. Narsihmulu *Tetrahedron Lett.*
2007:48, 2373.

[00242] Se agrega n-Pentil isocianato (0.78 g, 6.9 mmol) a

una solución a temperatura ambiente de la amina cruda
 20 anterior (1.4 g, 5.8 mmol) en THF seco (25 mL). Después de 6
 h, la mezcla de reacción se concentra bajo presión reducida y
 el residuo se purifica mediante cromatografía de columna SiO₂
 utilizando 30 % de EtOAc/hexanos como eluyente para dar **12**
 (1.70 g, 85 %) como un aceite viscoso incoloro. TLC: 50 % de
 25 EtOAc/hexanos, R_f $\approx$ 0.40; ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ 5.40-5.26
 (m, 2H), 4.46-4.32 (m, NH, 2H), 3.66 (s, 3H), 3.18-3.10 (m,

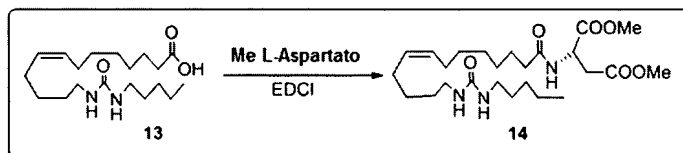
4H), 2.34 (t, $J = 7.7$ Hz 4H), 2.06-1.94 (m, 4H), 1.66-1.56 (m, 2H), 1.54-1.42 (m, 14 H), 0.88 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H).



5

[00243] **Ácido Metil 13-(3-pentilureido)tridec-8(Z)-enoico⁷**

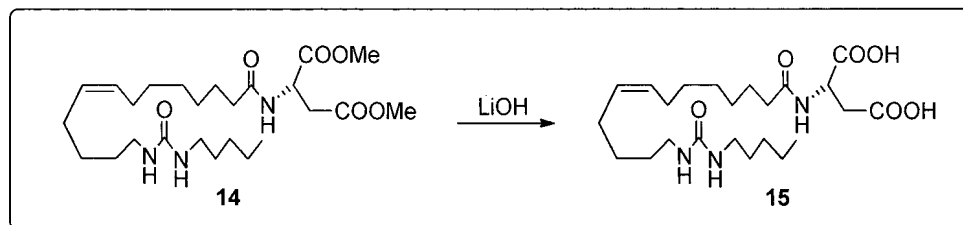
(13): Se agrega LiOH (6.2 mL, 2.0 M solución acuosa, 3.0 equiv) a una solución a 0° C de **12** (1.80 g, 5.8 mmol) en THF (25 mL) y H₂O desionizada (4 mL).. Después de agitar a temperatura ambiente durante la noche, la mezcla de reacción se enfría a 0° C, el pH se ajusta a 4.0 con 1 M ácido oxálico acuoso, y se extrae con acetato de etilo (2 × 20 mL). Los extractos combinados se lavan con agua (30 mL), solución salina (25 mL), se secan sobre Na₂SO₄ anhidro, y se concentran *in vacuo*. El residuo se purifica mediante cromatografía de columna SiO₂ utilizando 25 % de EtOAc/hexanos como eluyente para dar **13** (1.48 g, 86 %) como sólido blanco, p.f. = 67.1°C. TLC: 80 % de EtOAc/hexanos, $R_f \approx 0.30$; ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ 5.40-5.26 (m, 2H), 3.17-3.10 (m, 4H), 2.32 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 2.09-1.95 (m, 4H), 1.65-1.48 (m, 6H), 1.44-1.22 (m, 12H), 0.89 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H); ¹³C RMN (CDCl₃, 75 MHz) δ 178.5, 159.6, 130.5, 129.5, 40.9, 40.8, 34.4, 29.9, 29.8, 29.2, 28.7, 28.5, 27.2, 26.7, 24.9, 22.6, 14.2.



[00244] (S)-2-(13-(3-Pentilureido)tridec-8(Z)-

enamido)succinato (14): Se agregan dimetil éster de ácido L-

5 Aspártico (38 mg, 0.191 mmol) y HATU (67 mg, 0.176 mmol) a una solución agitada de **13** (50 mg, 0.147 mmol) y DIPEA (74 mg, 0.573 mmol) en DMF anhidro (2 mL) bajo una atmósfera de argón. Después de 5 min, se agrega 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (33.8 mg, 0.176 mmol; EDCI) como un sólido. Después de agitar a durante 12 h a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluye con EtOAc (15 mL), se lava con agua (5 mL), y solución salina (10 mL). Las capas acuosas combinadas se vuelven a extraer con EtOAc (3 x 10 mL). Los extractos orgánicos combinados se secan sobre Na₂SO₄, se concentran bajo presión reducida, y el residuo se purifica mediante cromatografía de columna SiO₂ utilizando 50 % de EtOAc/hexanos como eluyente para dar **14** (60 mg, 84 %) como aceite viscoso. TLC: 60 % de EtOAc/hexanos, R_f ≈ 0.35; ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ 6.64 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 5.38-5.30 (m, 2H), 4.90-4.82 (m, 1H), 4.58-4.44 (m, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.66 (s, 3H), 3.20-3.10 (m, 4H), 3.04 (dd, J₁ = 4.3 Hz, J₂ = 13.1 Hz, 1H), 2.84 (dd, J₁ = 4.6 Hz, J₂ = 12.8 Hz, 1H), 2.22 (t, J = 6.3 Hz, 2H), 2.05-1.98 (m, 4H), 1.70-1.60 (m, 2H), 1.50-1.20 (m, 16H), 0.88 (t, J = 6.7 Hz, 3H).



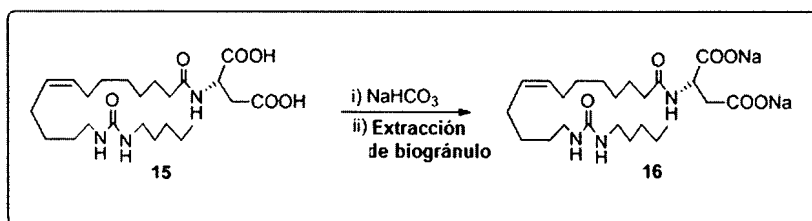
[00245] **Ácido** **(S)-2-(13-(3-pentilureido)tridec-8(Z)-**

5 **enamido)succínico (15)**: Una solución acuosa de LiOH (2 mL, solución 2 M, 6.0 equiv) se agrega a una solución de 0° C de 14 (60 mg, 0.124 mmol) en THF (8 mL) y H₂O desionizada (2 mL). Después de agitar a temperatura ambiente durante la noche, la mezcla de reacción se enfría a 0° C, el pH se

10 ajusta a 4.0 con 1 M ácido oxálico acuoso, y se extrae con acetato de etilo (2 × 10 mL). Los extractos combinados se lavan con agua (5 mL), solución salina (5 mL), se secan sobre Na₂SO₄ anhidro, y se concentran *in vacuo*. El residuo se purifica mediante cromatografía de columna SiO₂ utilizando 70-

15 90 % de EtOAc/hexanos como eluyente para dar 15 (48 mg, 85 %) como un aceite incoloro, viscoso. TLC: 5 % de MeOH/EtOAc, R_f ≈ 0.20; ¹H RMN (CD₃OD, 400 MHz) δ 5.38-5.30 (m, 2H), 4.72 (t, J = 4.3 Hz, 1H), 3.12-3.05 (m, 4H), 2.90-2.72 (m, 2H), 2.22 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 2.10-1.98 (m, 4H), 1.60-1.22 (m, 18H),

20 1.20 (t, J = 7.1 Hz, 3H); ¹³C RMN (CDCl₃, 75 MHz) δ 174.9, 173.0, 172.8, 160.1, 129.9, 129.3, 51.8, 49.8, 39.8, 39.7, 35.7, 35.6, 29.9, 29.8, 29.5, 29.0, 28.8, 26.9, 26.7, 25.7, 22.3, 13.2.

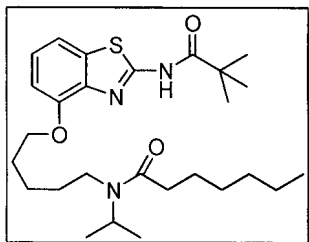


[00246] (S)-2-(13-(3-pentilureido)tridec-8(Z)-

enamido)succinato disodio (**16**): Se agrega bicarbonato de

5 sodio (93 mg, 1.1 mmol) a una solución agitada de **15** (100 mg, 0.22 mmol) en THF/ H_2O (4:1, 5 mL) a temperatura ambiente. Después de 2 h, el THF se retira in vacuo y la fase acuosa restante se agita con Bio-Beads SM-2 (Bio-Rad, malla 20-50; 2 g). Después de 1 h, los Bio-Gránulos se recolectan mediante
10 filtración en un embudo de vidrio sinterizado, se lavan con agua (5 mL $\times$ 2) y finalmente con 95 % de etanol (20 mL $\times$ 3). La evaporación de los lavados de etanol in vacuo da **16** (72 mg, 84 %) como un sólido blanco, p.f. = 258.5°C. TLC: 10 % de MeOH/ CH_2Cl_2 , $R_f \sim 0.15$; ^1H RMN (CD_3OD , 500 MHz) δ 5.25-5.23 (m, 2H), 4.40 (t, 1H, $J = 4.0$), 3.01-2.97 (m, 4H), 2.58-2.56 (m, 2H), 2.13 (t, 2H, $J = 7.0$), 1.96-1.94 (m, 4H), 1.51-1.47 (m, 2H), 1.30-1.19 (m, 16H), 0.83 (t, 3H, $J = 7.0$); ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) δ 178.52, 178.38, 173.99, 160.21, 129.93, 129.37, 52.66, 39.81, 39.74, 36.27, 29.50, 28.93, 26.76, 22.34,
20 13.26.

Ejemplo 3: Síntesis de N-Isopropil-N-(5-(2-pivalamidobenzo[d]tiazol-4-iloxi)pentil)heptanamida (MV=EET-B o SRD-2)



[00247] Como se establece en la La Figura 15, la síntesis de EET B es como sigue:

5

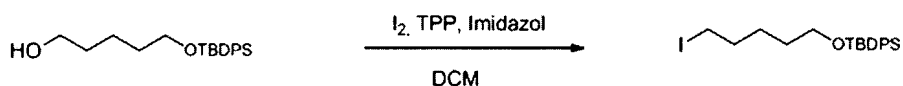
[00248] **5-(*tert*-Butildifenilsililoxi)pentan-1-ol (2):** Se

agrega imidazol (0.65 g, 9.60 mmol) a una solución agitada de pentan-1,5-diol (1.00 g, 9.60 mmol) en diclorometano seco (10 mL) a 0° C bajo una atmósfera de argón seguido por la adición

10 en forma de gotas de *tert*-butilclorodifenilsilano (3.85 mL, 9.60 mmol) en CH₂Cl₂ (2 mL). La reacción se deja alcanzar lentamente temperatura ambiente. Después de 12 horas, la mezcla de reacción se lava con agua (2 × 30 mL), solución salina (20 mL), se seca sobre Na₂SO₄, y se concentra bajo

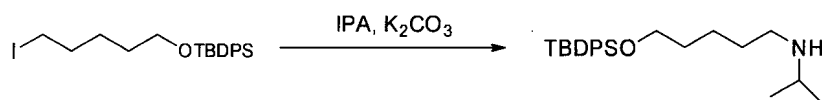
15 presión reducida. El residuo que se purifica mediante cromatografía flash SiO₂ utilizando 30 % de acetato de etilo/hexano como eluyente para producir **2** (1.35 g, 46 %), recupera SM y el compuesto di-protegido. TLC: 30 % de

20 EtOAc/hexanos, R_f ~ 0.38; ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ 7.67-7.62 (m, 4H), 7.45-7.35 (m, 6H), 3.67 (t, 2H, *J* = 6.0 Hz), 3.52 (t, 2H, *J* = 6.7 Hz), 2.03-1.93 (m, 2H), 1.72-1.64 (m, 4H), 1.04 (s, 9H).



[00249] tert-Butil (5-iodopentiloxi) difenilsilano (3): Se

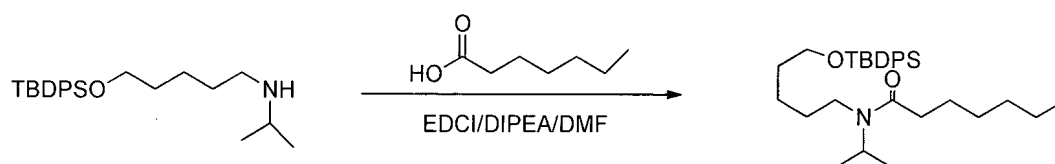
agregan secuencialmente imidazol (310 mg, 4.40 mmol), yodo
 5 (440 mg, 3.5 mmol), y una solución **2** (1 g, 2.98 mmol) en
 CH_2Cl_2 (2 mL) a una solución a 0 °C de PPh_3 (450 mg, 3.5 mmol)
 en CH_2Cl_2 (15 mL) y se mantiene en la oscuridad. Después de 2
 h, la mezcla de reacción se detiene al agregar 20 % de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$
 acuoso (5 mL). La capa acuosa se extrae con CH_2Cl_2 (2 × 50
 10 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavan con solución
 salina (30 mL), se secan sobre Na_2SO_4 anhidro, y el solvente
 se retira *in vacuo*. El residuo se purifica mediante
 cromatografía de columna cuidadosa utilizando 5 % de
 EtOAc /hexano para proporcionar yodo **3** (1.25 mg, 92 %). TLC:
 15 10 % de EtOAc /hexano, $R_f \sim 0.85$; ^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz) δ
 7.67-7.62 (m, 4H), 7.45-7.35 (m, 6H), 3.67 (t, 2H, $J = 6.0$
 Hz), 3.41 (t, 2H, $J = 6.7$ Hz), 2.03-1.93 (m, 2H), 1.72-1.64
 (m, 4H), 1.04 (s, 9H).



[00250] 5-(tert-Butildifenilsililoxi)-N-isopropilpentan-1-

amina (4): Se calientan K_2CO_3 (1.50 g, 11.05 mmol),
 isopropilamina (0.65 mL, 11.05 mmol) y yodo **3** (2.50 g, 5.83
 25 mmol) en THF seco (15 mL) a 66° C en un tubo sellado bajo una

atmósfera de argón. Después de 12 h, se agrega agua (5 mL) a la mezcla de reacción que luego se extrae con EtOAc (3 × 50 mL). Los extractos orgánicos combinados se secan sobre MgSO₄ y se concentran bajo presión reducida para proporcionar **4** como un líquido incoloro (1.90 g, 92 %) suficientemente puro que se utiliza sin purificación adicional. TLC: MeOH/CH₂Cl₂ (1:4), *R_f*~0.30; ¹H RMN (400 MHz) δ 7.65-7.67 (m, 4H), 7.30-7.40 (m, 6H), 3.65 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 2.70-2.82 (m, 1H), 2.55 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 1.50-1.64 (m, 2H), 1.32-1.50 (m, 4H), 1.05 (d, *J* = 5.8 Hz, 3H), 1.04 (s, 9H); ¹³C RMN (100 MHz) δ 135.68, 134.21, 129.63, 127.70, 63.95, 48.81, 47.64, 32.60, 30.27, 27.0, 23.76, 23.15, 19.34.



15

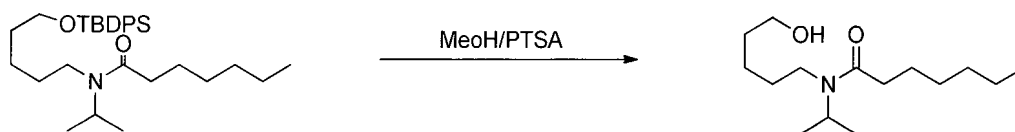
[00251] N-(5-(*tert*-Butildifenilsililoxi)pentil)-N-

isopropilheptanamida (5): Se agregan ácido heptanoico (2.06 g, 15.86 mmol), y diisopropiletilamina (2.72 mL, 21.14 mmol; DIPEA) a una solución agitada de la amina **4** (4.00 g, 10.57 mmol) en DMF anhidro (20 mL) bajo una atmósfera de argón. Después de 5 min, se agrega 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (3.04 g, 15.86 mmol; EDCI) como un sólido. Después de agitar a durante 12 h a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluye con EtOAc (100 mL), se lava con agua (2 × 30 mL), y solución salina (20 mL). Las capas acuosas combinadas se vuelven a

25

extraer con EtOAc (3 x 30 mL). Los extractos orgánicos combinados se secan sobre Na₂SO₄, se concentran bajo presión reducida, y el residuo se purifica mediante cromatografía de columna SiO₂ utilizando 30 % de EtOAc/hexanos como eluyente para dar la amida **5** (4.75 g, 91 %) como un aceite viscoso. TLC: EtOAc/hexanos (3:7), $R_f \sim 0.60$; ¹H RMN (400 MHz, mezcla de rotámeros 1:1) δ 7.65-7.67 (m, 4H), 7.30-7.40 (m, 6H), 4.62-4.72 y 3.96-4.80 (m, 1H, rotámeros), 3.62 y 3.68 (t, $J = 4.8$ Hz, 2H, rotámeros), 3.02 y 3.16 (t, $J = 5.2$ Hz, 2H, rotámeros), 2.38 y 2.24 (t, $J = 5.3$ Hz, 2H, rotámeros), 1.50-1.68 (m, 6H), 1.26-1.44 (m, 8H), 1.18 y 1.12, (d, $J = 7.3$ Hz, 6H, rotámeros), 1.03 y 1.04 (s, 9H, rotámeros), 0.88 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ¹³C RMN (100 MHz, mezcla de rotámeros 1:1) δ 173.38, 172.76, 135.80, 135.78, 134.36, 134.12, 129.85, 129.73, 127.88, 127.82, 64.22, 63.68, 48.43, 45.62, 43.64, 41.27, 34.13, 34.05, 32.61, 32.36, 31.96, 31.93, 31.51, 29.63, 29.47, 27.10, 27.03, 25.94, 25.78, 24.03, 23.77, 22.81, 21.63, 20.78, 19.47, 14.33, 14.28.

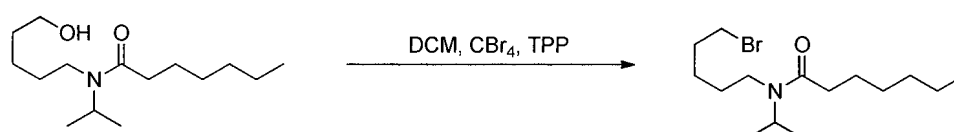
20



25

[00252] **N-(5-hidroxipentil)-N-isopropilheptanamida (6):** Una solución **5** (4.75 g, 9.02 mmol) y ácido p-toluenosulfónico en MeOH (50 mL) se agita a temperatura ambiente durante 12 h, luego se detiene con NaHCO₃ sólido y se filtra. El filtrado se evapora bajo vacío y el residuo se disuelve en acetato de

etilo (50 mL). La capa de acetato de etilo se lava con agua (2 × 50 mL), solución salina (50 mL), se seca sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentra bajo presión reducida. El residuo se purifica mediante cromatografía de columna flash de gel de sílice utilizando 50-60% acetato de etilo/hexano como eluyente para proporcionar alcohol **6** (2.35 g, 93 %) como un líquido viscoso, incoloro. TLC: EtOAc/hexanos (1:1), $R_f \sim$ 0.30; ¹H RMN (400 MHz, 55/45 mezcla de rotámeros) δ 4.58-4.66 y 3.96-4.08 (m, 1H, rotámeros), 3.56 y 3.70 (t, J = 5.4 Hz, 2H, rotámeros), 3.02 y 3.16 (t, J = 5.2 Hz, 2H, rotámeros), 2.38 y 2.26 (t, J = 6.3 Hz, 2H, rotámeros), 1.50-1.64 (m, 6H), 1.22-1.40 (m, 8H), 1.13 y 1.09 (d, J = 7.5 Hz, 6H, rotámeros), 0.84 (t, J = 7.3 Hz, 3H); ¹³C RMN (100 MHz, 55/45 mezcla de rotámeros) δ 172.81, 62.66, 62.60, 48.41, 45.55, 43.56, 41.04, 34.08, 34.0, 32.46, 32.43, 31.86, 31.57, 29.40, 25.87, 25.70, 23.77, 23.73, 22.75, 21.57, 20.72, 14.26.

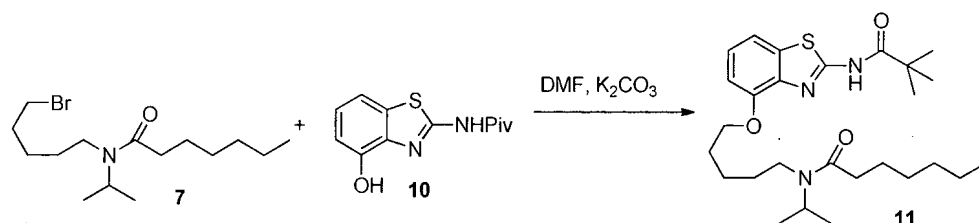


[00253] N-(5-Bromopentil)-N-isopropilheptanamida (7): Se agrega TPP (4.45 g, 9.34 mmol) a una solución a 0 °C de alcohol **6** (2.00 g, 7.78 mmol) en CH₂Cl₂ seco (50 mL). Después de 10 min, se agrega CBr₄ (3.10 g, 9.34 mmol) y se continúa la agitación a 0° C. Después de 2 h, se agrega agua (20 mL) y la mezcla de reacción se extrae con EtOAc (3 × 50 mL). Los extractos combinados se lavan con agua (2 × 20 mL), solución

salina (20 mL), se secan sobre Na_2SO_4 , y se concentran bajo presión reducida. El residuo se purifica mediante cromatografía de columna SiO_2 utilizando 30-35 % de acetato de etilo/hexano para proporcionar **7** (2.20 g, 91 %). TLC:

5 EtOAc/hexanos (3:7), $R_f \sim 0.40$; ^1H RMN (400 MHz, 45/55 mezcla de rotámeros) δ 4.60-4.70 y 3.96-4.10 (m, 1H, rotámeros), 3.46 y 3.36 (t, $J = 5.8$ Hz, rotámeros), 3.02-3.10 (m, 2H), 2.30 y 2.22 (t, $J = 7.9$ Hz, 2H), 1.80-1.97 (m, 2H), 1.40-1.70 (m, 6H), 1.20-1.40 (m, 6H), 1.16 y 1.10, (d, $J = 7.3$ Hz, 6H, 10 rotámeros), 0.86 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, rotámeros) δ 172.79, 172.39, 48.17, 45.47, 43.32, 40.70, 33.89, 33.87, 33.49, 32.48, 32.30, 31.81, 31.78, 30.78, 29.27, 28.74, 26.05, 25.84, 25.69, 25.54, 22.64, 21.47, 20.62, 14.17.

15

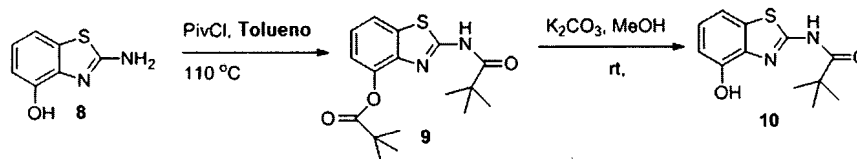


[00254] Isopropil-N-(5-(2-pivalamidobenzo[d]thiazol-4-

iloxi)pentil)heptanamida (11): Una solución de bromo **7** (0.35

20 g, 1.09 mmol), N-(4-hidroxibenzo[d]thiazol-2-il)pivalamida (**10**) (0.27 g, 1.09 mmol), y K_2CO_3 (0.30 g, 2.18 mmol) en DMF (10 mL) se calienta a 80°C . Después de 4 h, la mezcla de reacción se enfría a temperatura ambiente, se agrega agua (5 mL) y la mezcla se extrae utilizando acetato de etilo (3×30 25 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavan con H_2O ($2 \times$

20 mL), solución salina (20 mL), se secan sobre Na₂SO₄, y se filtran. El filtrado se evapora bajo presión reducida y el residuo se purifica mediante cromatografía de columna de gel de sílice (50-70 % de EtOAc/hexanos) para dar **11** (0.39 g, 72 %)
 5 como un líquido viscoso. TLC: EtOAc/hexanos (7:3), $R_f \sim 0.26$; ¹H RMN (400 MHz, 45/55 mezcla de rotámeros) δ 7.24 y 7.20 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H, rotámeros), 7.16 y 7.14 (dd, $J = 7.4$ Hz, $J = 7.4$ Hz, 1H, rotámeros), 6.90 y 6.80 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H, rotámeros), 4.58-4.78 y 3.96-4.10 (m, 1H, rotámeros),
 10 4.02 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H), 3.12 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 2.30 y 2.27 (t, $J = 5.6$ Hz, 2H, rotámeros), 1.82-1.92 (m, 2H), 1.44-1.70 (m, 4H), 1.38-1.32 (m, 8H), 1.20 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H), 1.13 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H), 1.11 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H), 0.88-0.85 (m, 6H); ¹³C RMN (100 MHz, 45/55 mezcla de rotámeros) δ
 15 189.64, 189.62, 173.04, 172.57, 172.55, 167.16, 167.09, 167.06, 146.85, 146.77, 146.67, 128.90, 128.87, 125.90, 125.79, 124.24, 124.13, 115.32, 115.06, 111.00, 110.09, 110.05, 68.97, 68.74, 58.50, 48.34, 45.62, 41.24, 41.10, 40.95, 34.10, 29.52, 29.15, 25.72, 24.28, 21.66, 20.76,
 20 14.30.



[00255] **N-(4-hidroxibenzo[d]tiazol-2-il)pivalamida (10)** A una
 25 suspensión de 2-aminobenzo[d]tiazol-4-ol (0.50 g, 3.01 mmol)

en tolueno (10 mL) se agrega cloruro de trimetiacetil (3.60 mL, 30.10 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agita a 115 °C durante 22 h. Los solventes se evaporan y el residuo se azeotropiza con EtOAc para dar **9** (0.78 g, 78 %) como un sólido tostado. La suspensión del sólido anterior (0.78 g) en MeOH (15 mL) se trata con K₂CO₃ (0.20 g, 3.50 mmol) y se agita a temperatura ambiente durante 6 h. Se evapora MeOH y el residuo se diluye con H₂O. La mezcla resultante se neutraliza con HCl concentrado a pH = 7 y se extrae con EtOAc (3 × 30 mL). Las fases orgánicas combinadas se secan sobre sulfato de sodio, se filtran, y se concentran in vacuo para proporcionar **10** (0.48 g, 82 %) como un sólido tostado. TLC: EtOAc/hexanos (7:3), *R_f* ~ 0.32; ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 10.25 (br s, 1 H), 9.66 (br s, 1 H), 7.33 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.09 (dd, *J* = 7.4, 7.4, Hz, 1H), 6.82 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 1.45 (s, 9H). ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ 177.15, 159.12, 148.10, 136.55, 133.00, 125.55, 113.40, 111.50, 39.70, 27.38.

20 **Ejemplo 4: Detección In Vitro de Colección Análoga EET**

[00256] En este Ejemplo, los inventores realizan ambos ensayos de relajación vascular y un ensayo de inhibición de hidrolasa epóxido soluble utilizando los compuestos nuevamente sintetizados. Los resultados de estos ensayos se registran en las últimas tres columnas de la Tabla 1 anterior y Figura 14. Como un resultado de estos ensayos, cuatro

compuestos, se seleccionan los compuestos 26, 20, 7 y 30 para prueba *in vivo* adicional, como se bosqueja en los últimos Ejemplos.

- 5 **[00257] Inhibición de Hidrolasa Epóxido Soluble.** Se prueban compuestos por su capacidad de inhibir la proteína de hidrolasa de epóxido soluble recombinante (sEH). El ensayo utiliza ciano-(6-metoxi-naftalen-2-il)-metil éster de ácido (3-Fenil-oxiranil)-acético (PHOME), un sustrato sensible a
- 10 sEH que se puede utilizar para supervisar la actividad de las enzimas humanas y de murino. La hidrólisis del sustrato de epóxido produce un producto altamente fluorescente, 6-metoxi-2-Naftaldehído, que se puede supervisar en longitudes de onda de emisión y excitación de 330 y 465 nm, respectivamente.
- 15 Véase Wolf et al., *Anal Biochem* 355:71-80, 2006 PMID: 16729954. El sEH humano recombinante se incuba con el sustrato y los compuestos que varían en una concentración de 0.1 a 1000 nM. El porcentaje de actividad que permanece en cada concentración se grafica y se determina el IC50
- 20 (concentración en la que se presenta 50 % de inhibición) utilizando el software estadístico.

- [00258] Actividad Vasodilatadora.** Se mide la actividad vasorelajante en arteria coronaria bovina. Se obtienen
- 25 corazones bovinos y la arteria coronaria descendente anterior izquierda se corta y se limpia de tejido conector. Se cortan vasos de 1 mm de diámetro en anillos de 3 mm de ancho como se

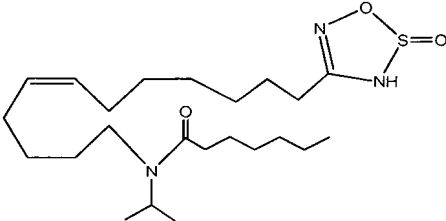
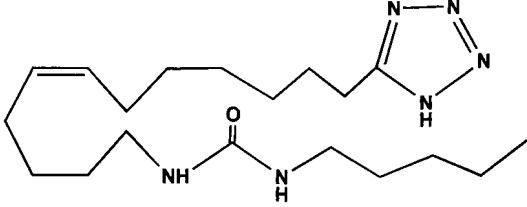
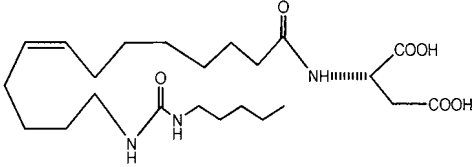
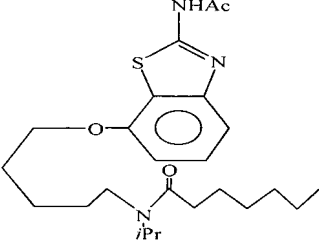
describió previamente (3, 27, 39). Los vasos se almacenan al regulador Krebs que consiste de (en mM) 119 de NaCl, 4.8 de KCl, 24 de NaHCO₃, 1.2 de KH₂PO₄, 1.2 de MgSO₄, 11 de glucosa, 0.02 de EDTA, y 3.2 de CaCl₂. Los vasos se suspenden de un par de ganchos de acero inoxidable en una cámara de órgano de chaquete acuosa de 6 ml. La cámara de órgano se llena con regulador Krebs y se burbujea con 95 % de O₂-5 % de CO₂ a 37° C. Un gancho fue anclado a una barra de acero y el otro gancho a un transductor de fuerza (modelo FT-03C; Grass Instruments, West Warwick, RI). La tensión del vaso se mide mediante un amplificador de puente ETH-400, y los datos se adquieren con un convertidor análogo a digital MacLab 8e y el software MacLab versión 3.5.6 (AD Instruments, Milford, MA) y se almacena en una computadora Macintosh para análisis posterior de los datos.

[00259] Se establece la tensión basal en la máxima longitud-tensión de 3.5 g y se equilibra durante 1.5 h. Se agrega KCl (40 mM) a la cámara hasta que se mantienen contracciones máximas reproducibles. Se utiliza U-46619 (10-20 nM), un agonista del receptor tromboxano, para pre-contrair los vasos de tensión basal de entre 50 % y 90 % de la contracción KCl máxima. Las adiciones acumuladas de los compuestos se agregan a la cámara. Entre las curvas de respuesta de concentración, las cámaras se enjuagan con regulador Krebs fresco, se administra 40 mM KCl para determinar la máxima concentración, y se enjuagan los vasos. Se realizan curvas de respuesta de concentración consecutivas con 14,15-EET seguido por una

curva de respuesta de concentración para un compuesto. El experimento siempre se repite con el orden inverso de los agonistas. En experimentos de control con curvas de respuesta de concentración consecutivas a 14,15-EET, la segunda curva de respuesta de concentración con el compuesto es idéntica a la primera. La tensión se representa como el porcentaje de relajación en donde 100 % de relajación es tensión basal pre-U-46619. La relajación se grafica versus la concentración del compuesto y se determina el EC50 utilizando el software estadístico.

[00260] **Resultados de Ensayos de Actividad Inhibidora sEH y Vasodilatadora.** Los resultados de actividades vasorelajantes inhibidoras sEH de los 33 compuestos sintetizados se resumen en la Tabla 1. Utilizando la unidad estructural farmacofórica de EET, se designa una serie de análogos EET con solubilidad mejorada y resistencia a la auto-oxidación, eterificación y metabolismo por hidrolasa epóxido soluble (sEH). Se observa que estos compuestos poseen actividad análoga a EET como evidente de su actividad vasorelajante en arteria coronaria bovina y actividad inhibidora sEH (sEH_i). Entre estos, cuatro compuestos entre aquellos que se diseñan al reemplazar el grupo COOH del farmacofóro EET con reemplazo isostérico o se estudia un sustituto heterocíclico para efecto antihipertensivo potencial. Los resultados de las actividades vasorelajantes e inhibidoras sEH de estos compuestos se resumen en la Tabla 2 adelante.

Tabla 2: Características de los compuestos seleccionados para prueba en los modelos *in vivo*.

Compuesto	Estructura	Relajación vascular		Actividad SEHi
		% de relajación (10µM)	EC ₅₀ (µM)	IC ₅₀ (nM)
SRD-I-71-9		109	.32	>500
LGK-I-119-15		119	0.18	11
JLJ-I-94-6		91	1.6	392
MV-IV-110-20		96	1.3	>500

5 Ejemplo 5: Prueba *In Vitro* de Cuatro Compuestos Utilizando Modelos de Rata de Hipertensión.

[00261] **Telemetría de Medición de Presión Sanguínea.** Para detectar exactamente los cambios en la presión sanguínea y el frecuencia cardiaca, se implantan transmisores de telemetría (Data Sciences Inc., St. Paul, MN) en ratas una semana antes
5 del periodo experimental de acuerdo con las especificaciones del fabricante mientras están bajo anestesia con pentobarbital. En resumen, se hace una incisión para exponer la arteria femoral que se ocluye para permitir la inserción del catéter transmisor. El catéter se asegura en su lugar con
10 adhesivo para tejido y el cuerpo transmisor se sutura en su lugar y se cierra la línea de incisión. Las ratas se dejan recuperar de la cirugía y se regresan a jaulas individuales. Se registra la presión arterial inicial antes del periodo experimental. La presión arterial media se registra
15 continuamente a través del periodo experimental.

[00262] **Hipertensión de Angiotensina.** Se implantan transmisores de telemetría en ratas Sprague-Dawley macho (225-275 g) como se describió. Después de registrar la
20 presión sanguínea basal, se implantan bombas osmóticas (s.c.) para suministrar angiotensina a una dosis de 60 ng/min. Se administran análogos EET mediante una bomba osmótica (2 mg/d, i.p.) y se supervisa continuamente la presión sanguínea.

25 [00263] **Ratas espontáneamente hipertensas (SHR).** Se implantan transmisores de telemetría en SHR macho como se describió. Después del periodo de recuperación quirúrgico, se registra

la presión arterial media inicial. En esta serie de experimentos, se administran análogos EET mediante bomba osmótica (2 mg/d, i.p.) y se supervisa continuamente la presión sanguínea.

5

[00264] **Mediciones de excreción de proteína.** Los animales se ponen en una jaula metabólica y se recolecta orina en un tubo cónico. Las muestras se almacenan a -80° C hasta ensayo. Se evalúa la excreción de proteína urinaria como un índice para
10 lesión renal. La proteína se determina por el método calorimétrico de Bradford y se determina la creatinina mediante el método calorimétrico de ácido pícrico.

15 [00265] Se destacan adicionalmente métodos de telemetría y los análisis urinarios en las siguientes publicaciones: Imig JD, Zhao X, Zaharis CZ, Olearczyk JJ, Pollock DM, Newman JW, Kim IH, Hammock BD. Un inhibidor de hidralasa epóxido oralmente activo disminuye la presión sanguínea y proporciona
20 protección renal en hipertensión sensible a sal. *Hypertension* 46:975-981, 2005. PMID: 1615779; Elmarakby AA, Quigley JE, Olearczyk JJ, Srindhar A, Cook AK, Inscho EW, Pollock DM, Imig JD. La inhibición del bloqueo del receptor 2b de quimioquina proporciona protección renal en hipertensión por
25 sal de angiotensina II. *Hypertension* 50:1069-1076, 2007. PMID: 17938380; y Olearczyk JJ, Quigley JE, Mitchell B, Yamamoto T, Kim IH, Newman JW, Lauria A, Hammock BD, Imig JD.

La inhibición de la hidrolasa soluble de epóxido protege el riñón de daño en ratas Goto-Kakizaki hipertensivas. *Clinical Science* 116:61-70, 2009. PMID: 18459944. Estas publicaciones se incorporan aquí mediante referencia.

5

[00266] **Análisis estadístico.** Todos los datos se presentan como media $\pm$ EEM. Se analizan los datos de presión sanguínea arterial media utilizando análisis de varianza (ANOVA) para mediciones repetidas. Se consideran diferencias estadísticamente significativas con $p < 0.05$ comparado con el control. Los análisis se realizan utilizando el software GraphPad Prism Versión 4.0 (GraphPad Software Inc, La Jolla, CA).

10

15 [00267] **Efectos de los resultados en la presión sanguínea e frecuencia cardíaca.** Rata espontáneamente hipertensiva (SHR). En este modelo de hipertensión, se estudian la capacidad de disminuir la presión sanguínea de los cuatro compuestos seleccionados. Se observa que dos de estos cuatro compuestos
 20 tienen efectos de disminución de la presión sanguínea. El SRD (estructura química mostrada en la Figura 1A) y LGK (estructura química mostrada en la Figura 2A) carecen de acciones que disminuyen la presión sanguínea en SHR. En el grupo SHR tratado con SRD, después de dos semanas de
 25 tratamiento la presión sanguínea es similar al vehículo tratado con el grupo SHR (150 ± 5.0 vs. 141 ± 3.0 mmHg) (véase Fig. 1B-C). Después de dos semanas de tratamiento, LGK no

cambia la presión sanguínea (137 ± 1.0 vs. 141 ± 3.0 mmHg) comparado con el vehículo a SHR (Fig. 2 C-D). Similar sus efectos en la presión sanguínea, ni SRD ni LGK afectan el frecuencia cardiaca (SRD, 344 ± 23.0 vs. 331 ± 17.0 BPM; LGK, 325 ± 11.0 vs. 331 ± 17.0 BPM) comparado con el vehículo SHR.

[00268] Dos semanas de tratamiento con JLJ (estructura química mostrada en la Figura 3A) provocan una reducción moderada en la presión sanguínea SHR comparado con el grupo tratado con vehículo (131 ± 2.0 vs. 141 ± 3.0 mmHg) y su efecto de disminución de la presión sanguínea se ha visto desde la primera semana del tratamiento (Fig. 3 B-C). El compuesto MV (estructura química mostrada en la Figura 4A) también demuestra un efecto de disminución de la presión sanguínea similar en SHR y provoca una reducción de 12 mmHg en la presión sanguínea comparado con el vehículo (129 ± 2.0 vs. 141 ± 3.0 mmHg). Más aún, similar a JLJ, se observa que MV inicia la disminución de la presión sanguínea dentro de cuatro días del tratamiento en SHR y se mantiene este efecto hasta el final del periodo de tratamiento de dos semanas (véase Fig. 4 B-C). En contraste a su efecto para disminuir la presión sanguínea se observa adicionalmente que, ni JLJ ni MV tienen cualquier efecto en el frecuencia cardiaca (JLJ, 316 ± 23.0 vs. 331 ± 17.0 BPM; MV, 318 ± 24.0 vs. 331 ± 17.0 BPM) comparado con el vehículo SHR. Considerando los efectos promisorios de disminución de la presión sanguínea de JLJ y MV en modelo SHR, hemos probado adicionalmente estos

compuestos en otro modelo de hipertensión, hipertensión de angiotensina II (Ang II).

[00269] Ratas hipertensas Ang II. El compuesto JLJ demuestra

5 un efecto de atenuación en la elevación inducida por Ang II en la presión sanguínea al inicio del tratamiento y esto se mantiene a través del periodo de tratamiento. Se observa que al final de las dos semanas del periodo de tratamiento JLJ atenúa marcadamente la hipertensión inducida por Ang II
10 comparado con el vehículo (135 ± 5.0 vs. 150 ± 3.2 mmHg) (Fig. 5 A-B). Similar a JLJ, el compuesto MV también demuestra efecto atenuante marcado en hipertensión Ang II (107 ± 2.0 vs. 150 ± 3.2 mmHg) y este efecto de atenuación se observa a través del periodo de tratamiento (Fig. 6 A-B).
15 Similar al SHR, en hipertensión ANG II ni JLJ (410 ± 25.0 vs. 396 ± 25.0 BPM) ni MV (385 ± 16.0 vs. 396 ± 25.0 BPM) demuestra cualquier efecto en el frecuencia cardiaca comparado con vehículo después de dos semanas de tratamiento.

20 **[00270] Efectos de MV en excreción de sodio y excreción de proteína en hipertensión Ang II.** En el presente estudio observamos que las dos semanas de tratamiento con el compuesto MV (estructura química mostrada en la Figura 4A) provoca natriuresis comparado con el vehículo (2.7 ± 0.3 vs.
25 1.9 ± 0.7 mmol/d) en hipertensión Ang II. También se observa que el compuesto MV reduce la relación de proteína urinaria a

creatinina (1.5 ± 0.2 vs. 2.8 ± 0.7), un indicador de lesión renal, en hipertensión Ang II.

Ejemplo 6: Efecto de Análogos EET en el tratamiento de
5 nefrotoxicidad de cisplatina

[00271] En este Ejemplo, los inventores investigan el efecto protector de riñón de dos análogos EET oralmente activos desarrollados en nefrotoxicidad inducida por cisplatina. Se
10 demuestra que los análogos EET ofrecen protección renal marcada durante administración de cisplatina y este efecto se relaciona con sus actividades antioxidantes, anti-inflamatorias, anti-ER y anti-apoptótica. Hemos demostrado adicionalmente que aunque se protege el riñón del efecto
15 nefrotóxico perjudicial de cisplatina, estos análogos EET no comprometen el efecto quimioterapéutico de cisplatina.

[00272] La nefrotoxicidad limita severamente el uso de la cisplatina de fármaco anti-neoplásica. La tensión del
20 retículo endoplásmico, tensión oxidativa, inflamación y retículo endoplásmico (ER) contribuye la nefrotoxicidad inducida por cisplatina. Desarrollamos análogos EET oralmente activos (que incluyen sin limitación compuestos EET-A & EET-B) al modificar las unidades estructurales de carboxilato,
25 olefinas, y epóxido de farmacofóro EET. Determinamos si administrar los análogos EET reivindicados reduciría la nefrotoxicidad, que incluyen nefrotoxicidad inducida por

cisplatina. La cisplatina se administra (7 mg/kg i.p.) en ratas pretratadas durante 7 días con análogos EET (10 mg/kg/d p.o., n=5) o vehículo (n=7). En el día 5 luego de inyección de cisplatina, se recolectan orina, plasma, y riñones. La nefrotoxicidad inducida por cisplatina se manifiesta por un aumento de 3-5 veces en BUN, creatinina en plasma (PCr), actividad urinaria de N-acetil-(D)-glucosaminidasa (NAG), molécula-1 de lesión de riñón (KIM-1), y formación de cilindro tubular renal. Los análogos EET atenúan los aumentos inducidos por cisplatina en BUN (vehículo: 241 ± 51 vs. EET-A: 108 ± 30 & EET-B: 120 ± 33 mg/dL), PCr (3.1 ± 0.2 vs. 2.0 ± 0.2 & 1.4 ± 0.2 mg/dL), KIM-1 (296 ± 94 vs. 85 ± 29 & 57 ± 13 ng/d), y NAG (3.0 ± 0.6 vs. 0.5 ± 0.1 & 0.6 ± 0.2 U/d) ($P < 0.05$). La formación de cilindro tubular renal inducida por cisplatina se reduce 50 % mediante tratamiento análogo de EET. Los análogos EET atenúan la formación TBARS del riñón inducida por cisplatina (vehículo: 16 ± 2 vs. EET-A: 7 ± 1 ; EET-B: 8 ± 1 μ mol/g) y provocan la reducción 2-3 veces en expresión de riñón de mRNA *NOX1* y *gp91phox* ($P < 0.05$). La nefrotoxicidad inducida por cisplatina se acompaña por inflamación renal elevada y tensión ER que resulta en aumento de la expresión de mRNA de riñón de genes inflamatorios (*TNF- α* , *IL-6*, *IL-1 β*) y tensión ER (*caspasa 12*, *GRP78*). Los análogos EET provocan reducciones de 30-70 % en la expresión de genes inflamatorios y tensión ER ($P < 0.05$). La cisplatina provoca la señalización apoptótica en el riñón con relaciones de expresión de mRNA *Bak/Bcl2* y *Bax/Bcl2* elevados y actividad caspasa 3 cortical renal. Los análogos EET provocan reducción

de 2-14 veces en expresión de relaciones de mRNA *Bak/Bcl2* y *Bax/Bcl2* de riñón así como también una reducción de 50 % en la actividad de caspasa renal 3 ($P < 0.05$). En un estudio *in vitro* con diversas estirpes celulares de cáncer, también
5 demostramos que los efectos protectores de riñón de análogos EET no comprometen la propiedad anti-neoplásica de cisplatina. Colectivamente, estos datos demuestran que los análogos EET oralmente activos protegen de la nefrotoxicidad, que incluye nefrotoxicidad inducida por cisplatina, al
10 reducir la tensión oxidativa, inflamación, y tensión ER sin afectar los efectos quimioterapéuticos de cisplatina. Adicionalmente, los análogos EET también protegerá contra otros efectos colaterales de cisplatina comunes, que incluyen la pérdida de la curación.

15

[00273] **Experimentos de Animal In vivo.** Se prueban experimentos y se llevan a cabo de acuerdo con las directrices de the Institutional Animal Care and Use Committee, Medical College of Wisconsin, Milwaukee, USA.
20 Ratas Wistar-Kyoto (WKY) que pesan 180-200 g (Charles River, MA, USA). Todos los animales se mantienen en ambiente de temperatura controlada con un ciclo de 12-h luz/oscuridad y se dejan acceder libres al alimento y agua en todo momento. Un periodo de aclimatización de 6 días se deja para las ratas
25 antes de experimentación. Las ratas se asignan en cuatro grupos. Grupo 1 (WKY, n=5-7): Las ratas reciben agua de bebida *ad libitum* durante siete días y en el día 7 DMSO (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) se administra (300-500 μ l

i.p.). Se utiliza DMSO para preparar la solución de cisplatina (CP) (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) utilizada en este estudio, y el volumen máximo del grupo de inyección a 500 µl. Grupo 2 (CP + Vehículo, n=5-7): Las ratas se pre-
5 tratan con vehículo (0.05 % de etanol y 0.1 % de PEG-400 v/v) en agua de bebida durante siete días y luego en el día 7 CP se administra (7 mg/kg i.p.) seguido por otros cinco días de tratamiento con vehículo. Grupo 3 (CP+EET-A, n=5-7): Estas ratas se pretratan con el análogo EET EET-A (10 mg/kg/día
10 p.o.) durante siete días en agua de bebida y luego en el día 7 administrada CP como una inyección única (7 mg/kg i.p.) seguido por otros cinco días de tratamiento con EET-A. Grupo 4 (CP+EET-B, n=5-7): las ratas en este grupo se pre-tratan con otro análogo EET EET-B (10 mg/kg/día) durante 7 días en
15 el agua de bebida y luego en el día 7 se administra CP como una inyección única (7 mg/kg i.p.) seguido por otros cinco días de tratamiento con EET-B. Las ratas de los grupos 2, 3 y 4 tienen acceso libre para el vehículo, EET-A y -B en agua de bebida, respectivamente. Un día antes que las ratas se
20 sacrifican, se recolecta la orina de cada rata durante un periodo de 24-h, y se mide el volumen. Cinco días después de administración de CP o DMSO, las ratas se anestesian para recolección de muestra de sangre seguido por eutanasia y recolección de tejido. Se mantienen muestras congeladas de
25 plasma y orina -80°C hasta que se analizan. Los riñones se retiran, se lavan con solución salina fisiológica y se almacenan a -80°C hasta que se utiliza para análisis RT-PCR, medición de sustancia reactiva de ácido tiobarbitúrico

(TBARS) y ensayo de actividad caspasa 3. Una parte del riñón también se conserva en 10 % de formalina regulada para examen histológico.

5 **[00274] Análisis Bioquímico.** Los niveles de nitrógeno de urea en sangre (BUN) (BioAssay Systems, Hayward, CA, USA) y creatinina en suero (Cayman Chemical Company, Ann Arbor, MI, USA) se miden espectrofotométricamente utilizando equipos comerciales. El contenido urinario de creatinina y la
10 proteína se miden utilizando equipos comerciales (Cayman Chemical Company, Ann Arbor, MI, USA), y la actividad de la N-acetil-b-glucosaminidasa urinaria (NAG) en la orina se mide mediante un equipo de Diazyme (Diazyme Laboratories, Poway, CA, USA). Aunque se mide el contenido de orina de lesión de
15 riñón molécula-1 (KIM-1) utilizando ELISA (R&D Systems, Inc. Minneapolis, MN, USA).

[00275] Determinación de malondialdehído en el riñón. El malondialdehído (MDA) es una sustancia reactiva de ácido
20 tiobarbitúrico (TBARS) que se forma como un producto final de peroxidación de lípido y sirve como un índice importante de tensión oxidativa. Para determinar el nivel de riñón MDA, se homogeniza el riñón de rata con regulador que contiene 1.5% de cloruro de potasio para obtener un homogenato de riñón
25 completo 1:10 (p/v). Utilizando un equipo comercialmente disponible (Cayman Chemical Company, Ann Arbor, MI, USA), MDA

se mide espectrofotométricamente después de reacción con ácido tiobarbitúrico.

[00276] Determinación de Actividad Caspasa 3.

La actividad de caspasa 3 en el homogenato de riñón se determina utilizando un equipo de ensayo fluorimétrico comercial (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA). Se prepara el homogenato de riñón con un Regulador de lisis (50 mM HEPES, pH 7.4, con 5 mM CHAPS y 5 mM DTT). Se centrifuga el homogenato de riñón a 10,000 g durante 10 min y se utiliza el sobrenadante resultante para el ensayo. El ensayo fluorimétrico de caspasa 3 se basa en la hidrólisis del sustrato de péptido acetil-Asp-Glu-ValAsp-7-amido-4-metilcoumarina (Ac-DEVD-AMC) mediante caspasa 3, que resulta en la liberación de la unidad estructural fluorescente 7-amino-4-metilcoumarina (AMC). La actividad de caspasa 3 se expresa como nmol de AMC/min/ μ L.

[00277] Análisis PCR en Tiempo Real.

El análisis de Tiempo Real se lleva a cabo para evaluar la expresión de genes relacionados oxidativos (*gp91phox*, *NOX1*, *SOD1*, *SOD2*, *SOD3*), inflamatorios (*TNF- α* , *IL-6*, *IL-1 β*), apoptóticos (*Bax*, *Bak*, *Bcl-2*) y de retículo endoplásmico (*GRP78*, *caspasa 12*) en el riñón. El ARN total se aísla de homogenato de riñón utilizando reactivos TRIzol LS (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA, USA) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El ARN aislado se trata con DNasa libre de RNasa (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) para retirar trazas de

contaminación de ADN genómico. Las muestras de mRNA se cuantifican mediante espectrofotometría a 260 nm y 1 µg de ARN total se transcribe inverso al cADN utilizando el Equipo de Síntesis de cADN Select iScript™ (Bio-Rad, Hercules, CA, USA).

[00278] Se cuantifica la expresión del gen objetivo mediante el Equipo RT-PCR de Una Etapa iScript con SYBR green utilizando el Sistema de Detección de PCR en Tiempo Real de Color Único MyiQ™ (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA). Cada muestra amplificada en todos los pozos se analiza para homogeneidad utilizando el análisis de curva de disociación utilizando el Software de Sistema Óptico iQ5, Versión 2.1 (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA). Después de desnaturalización a 95° C durante 2 min, se realizan 40 ciclos a 95° C durante 10 s y a 60° C durante 30 s. Cada muestra se ejecuta en triplicado, y se utiliza el método de ciclo de umbral comparativo (C_t) para cuantificar las veces de aumento ($2^{-\Delta\Delta C_t}$) en la expresión de los genes objetivo comparado con controles. Al analizar la expresión relativa de los genes objetivo, los valores C_t se normalizan para un gen constitutivo (pgk1). Se llevan a cabo análisis estadísticos para por lo menos 5-7 muestras experimentales en cada grupo experimental. Los cebadores utilizados en este estudio se diseñan con base en varios informes tempranos. Después de fijación de los riñones con 10 % formalina regulada, se seccionan tejidos renales y se tiñen con reactivos de Schiff

de ácido periódico (PAS) para examen histológico. Los números de túbulos que contienen cilindros proteináceos se determinan en una magnificación de $\times 200$ para evaluar el daño tubular utilizando un software de análisis de imagen NIS Elements AR versión 3.0 (Nikon instruments inc., Melville, NY, USA). El porcentaje de área positiva para cilindros se calcula de la media de ocho campos corticales y cinco campos medulares ($\times 200$) para cada muestra de riñón. Para minimizar sesgos observados, el cálculo de área de cilindro se realiza en una forma cegada sin el conocimiento del grupo de tratamiento en el que se originan los tejidos.

[00279] Actividad anti-neoplásica in vitro de cisplatina en la presencia y ausencia del análogo EET. En este estudio, se obtienen estirpes celulares HEK293, U87MG, Hela del ATCC (Manassas, VA, USA) (HEK293, U87MG, Hela), y se recolecta NCCIT de Department of Pediatrics, UT Southwestern Medical Center at Dallas, TX, USA. Todas las estirpes celulares se mantienen en DMEM o RPIM con 10 % de suero bovino fetal y penicilina/estreptomicina comprada de Life Technologies (Grand Island, NY, USA). La cisplatina se compra de Sigma (St. Louis, MO, USA) o CalBiochem/EMD Biosciences (Billerica, MA, USA). Se siembran células en placas de 96 pozos de 500 a 4,000 células por pozo dependiendo del tipo de célula. Veinte y cuatro horas después, las células se tratan con cisplatina o vehículo y/o el análogo EET EET-A en diversas concentraciones durante 72 h. Se mide la viabilidad celular mediante ensayo azul alamar utilizando resazurina (Sigma

Aldrich) de acuerdo con las directrices del fabricante. Se miden los resultados de viabilidad mediante fluorescencia/absorbancia en un lector de placa de 96 pozos de BMG Labtech (Cary, NC, USA) y se calcula el IC₅₀ mediante el software GraphPad Prism5 (GraphPad Software Inc, La Jolla, CA, USA).

[00280] **Análisis Estadístico.** Los resultados se reportan como media $\pm$ S.E.M. La significancia estadística entre dos mediciones se determina mediante la prueba t de Student no pareada de dos colas (y entre los grupos se determina mediante análisis de una vía de medición repetida de varianza seguido por la prueba post-hoc de Tukey) al utilizar el software GraphPad Prism® Versión 4.0 (GraphPad Software Inc, La Jolla, CA, USA). Los valores de probabilidad de $P < 0.05$ se consideran significativos en donde el valor crítico de P tiene dos lados.

[00281] **Resultados. Tratamiento análogo de EET atenúa la disfunción renal y lesión de ratas administrada de cisplatina.** Para investigar los efectos de los análogos EET en disfunción renal inducida por cisplatina (CP), se miden los niveles de urea (nitrógeno de urea en sangre o BUN) y creatinina en el suero de ratas tratadas y no tratadas con el análogo EET después de cinco días de la administración de CP. Como se muestra en la Figura 8, la administración de CP provoca un aumento de 3 y 9 veces en la creatinina en suero y

los niveles de BUN (Figuras 7a y 7b), respectivamente ($P < 0.05$). El tratamiento con Análogos EET (EET-A y -B) resulta en reducciones de 30-50% en los niveles elevados de creatinina en suero y BUN en ratas a las que se les administra CP comparado con aquel vehículo dado (DMSO) ($P < 0.05$). Para determinar los efectos de los análogos EET en disfunción renal inducida por CP, estudiamos adicionalmente excreción urinaria de KIM-1, NAG y proteína después de cinco días de la administración de CP (Figuras 7c y 7d). Se presentan aumentos de 5 y 10 veces en excreción urinaria de NAG y KIM-1 en las ratas a las que se les administra CP comparado con controles administrados de vehículo ($P < 0.05$). Más aún, también demostramos que la administración de cisplatina provoca proteinuria marcada comparado con la administración de vehículo (vehículo vs. cisplatina, 25.7 ± 1 vs. 53 ± 5.1 mg/d, $P < 0.05$). Los análogos EET, EET-A y EET-B resultan en reducción de 30-50 % en la excreción urinaria de NAG y KIM-1 comparado con ratas que se les administra CP con vehículo ($P < 0.05$) (Figuras 7c-d).

20

[00282] También observamos por lo menos una reducción de 40 % de proteinuria inducida por cisplatina mediante análogos EET (Vehículo vs. EET-A y -B; 53 ± 5 vs. 33 ± 8 y 32 ± 3 mg/d, $P < 0.05$). En el presente estudio se evalúa adicionalmente la disfunción de riñón inducida por CP utilizando examen histológico del riñón. La administración de CP resulta en lesión tubular como se manifiesta por una vacuolación y descamación de las células epiteliales renales junto con

25

formación de cilindro proteinácea intra-tubular severa en las regiones corticales y medulares del riñón comparado con ratas a las que se les administra vehículo. Los análogos EET protegen en riñón en ratas que se les administra CP con ≥ 50 % de reducción del área de cilindro tubular en la corteza y médula comparado con ratas a las que se les administra CP tratadas con vehículo ($P < 0.05$) (Figuras 8a-b).

[00283] Tratamiento análogo de EET atenúa la tensión

oxidativa renal inducida por cisplatina, respuesta

inflamatoria y tensión del retículo endoplásmico. El análisis

PCR de Tiempo Real de las expresiones de mRNA de las

subunidades de oxidasa NADPH NOX1 y gp91phox (Figura 9)

demuestran aumento de la expresión de estos genes marcadores

de oxidativos en ratas a las que se les administra cisplatina

(CP) ($P < 0.05$). Se presenta atenuación 2-3 veces en el aumento

inducido por cisplatina en la expresión renal de mRNA NOX1 y

gp91phox se reducen mediante análogos EET A y B ($P < 0.05$)

(Figura 9a-b). La coadministración CP también resulta en una

elevación marcada en el contenido de riñón de melondialdehído

(MDA), que es uno de los indicadores importantes de tensión

oxidativa. El tratamiento con análogos EET provoca reducción

de 50 % del nivel de MDA en el riñón de ratas a las que se

administra CP ($P < 0.05$) (Figura 9c). Se observa

adicionalmente que la administración de CP resulta en 2-5

veces las reducciones en la expresión de mRNA de superóxido

dismutasa (SOD) 1 y SOD3 ($P < 0.05$) mientras que la expresión

de *SOD2* no cambia. El tratamiento con análogos EET provoca un aumento de 2-3 veces en la expresión de *SOD1* en las ratas a las que se administra CP ($P < 0.05$) mientras que la expresión de *SOD3* permanece no alterada a través de los grupos experimentales (Figuras 9d-f).

[00284] Para investigar el efecto de los análogos EET en la inflamación inducida por CP que se asocia con disfunción renal, estudiamos la expresión renal de los mRNA que codifican el factor- α de necrosis de tumor (TNF- α), interleuquina-6 (IL-6) y interleuquina-1 β . Estas variables demuestran un aumento de 2-50 veces en su expresión en las ratas a las que se les administra CP tratadas con vehículo comparado con las ratas a las que se les administra vehículo ($P < 0.05$) (Figuras 10a-c). El tratamiento con ambos análogos EET (EET-A y B) resulta en reducciones de 40-60 % en las expresiones de mRNA renales de todos los marcadores inflamatorios en ratas a las que se les administra CP (todos $P < 0.05$).

20

[00285] También observamos un aumento de 4 veces en las expresiones de mRNA de marcadores de tensión ER GRP78/BiP y caspasa 12 en las ratas a las que se les administra CP tratadas con vehículo comparado con ratas a las que se les administra vehículo ($P < 0.05$) (Figuras 11a-b). En ratas a las que se les administra CP, el tratamiento con ambos análogos EET (EET-A y B) provocan una reducción de 2-4 veces en las

expresiones renales elevadas de GRP78 y mRNA de caspasa 12 comparado con tratamiento de vehículo ($P < 0.05$) (Figuras 11a-b).

5 [00286] **Tratamiento análogo de EET atenúa la apoptosis renal inducida por cisplatina.** Se presenta una reducción de 70% en la expresión renal de mRNA Bcl-2 en las ratas a las que se les administra CP tratadas con vehículo comparado con ratas a las que se les administra vehículo ($P < 0.05$) (Figura 12a). el
10 tratamiento análogo de EET provoca un aumento de 2-10 veces en la expresión anti-apoptótica Bcl-2 en las ratas a las que se les administra CP comparado con ratas tratadas con vehículo a las que se les administra CP ($P < 0.05$) (Figura 12a). Más aún, la administración CP resulta en un aumento de
15 4-20 veces en las relaciones Bax/Bcl-2 y Bak/Bcl-2, y por lo tanto indica señalización apoptótica elevada en las ratas a las que se les administra CP (Figuras 12b-c) ($P < 0.05$). el tratamiento de análogos EET provoca reducción de 2-3 veces en las relaciones Bax/Bcl-2 y Bak/Bcl-2 comparado con ratas a
20 las que se les administra CP tratadas con vehículo ($P < 0.05$) (Figuras 12c-d). La señalización apoptótica elevada inducida por CP se caracteriza adicionalmente con actividad caspasa 3 mayor (Figura 12d) en ratas a las que se les administra CP comparado con las ratas a las que se les administra vehículo
25 ($P < 0.05$). El tratamiento con análogos EET atenúa dicha actividad caspasa 3 inducida por CP en 50% comparado con las ratas a las que se les administra CP tratadas con vehículo

($P < 0.05$) (Figura 12d). Estos resultados demuestran claramente la atenuación de la señalización apoptótica inducida por CP en la presencia del tratamiento análogo EET.

5 [00287] **Dosis de tratamiento análogo EET no compromete el efecto quimioterapéutico de cisplatina.** Demostramos que en tres estirpes celulares de cáncer diferentes, Hela, NCCIT y cisplatina U87 inhibe marcadamente el crecimiento de células con IC_{50} que varía de 1.1 - 9.24 μM (Figura 13a). En un método
10 similar con estas estirpes celulares, EET-A no tienen efectos observables en el número de células (Figuras 13b). Más aún, la aplicación actual de EET-A y cisplatina no influencia el efecto quimioterapéutico de cisplatina ni en las células normales de riñón (datos mostrados) un en la estirpe celular
15 de cáncer NCCIT (Figura 13c). Se demuestra que cuando se utilizan cisplatina y EET-A actualmente, el IC_{50} para cisplatina es 2.60, 2.55, y 2.44 μM con 0, 1, y 10 ng/ml de EET en células NCCIT.

20 [00288] **Discusión.** Una limitación crítica de quimioterapia con cisplatina es la inducción de inflamación de túbulo intestinal, tensión oxidativa renal, tensión ER y apoptosis tubular celular que conduce a lesión aguda del riñón. Se informa que 40 % de los pacientes con cáncer quienes se
25 tratan con cisplatina desarrollan lesión aguda renal. Desafortunadamente, no están disponibles farmacoterapias eficientes que atenúan esta complicación debilitante de

quimioterapia ampliamente utilizada como cisplatina. En un intento por contribuir a esta área, el estudio corriente investiga el efecto protector del riñón del tratamiento crónico de análogos de ácido epoxieicosatrienoico (EET) en nefrotoxicidad inducida por cisplatina.

[00289] Se presenta fuerte evidencia de que los análogos EET tienen la capacidad de proteger el órgano mediante mecanismos que implican sus actividades anti-inflamatorias, anti-apoptóticas y antioxidantes. Con este antecedente, en el presente estudio hacemos hipótesis que con su capacidad protectora de órgano fuerte, el EET protegerá el riñón de la nefrotoxicidad de cisplatina. En nuestro intento, hemos sintetizado que dos análogos EET novedosos e investigan sus efectos protectores del riñón en nefrotoxicidad inducida por cisplatina utilizando un método clínicamente relevante con la administración crónica de análogos EET en el aguade bebida para la rata. Demostramos que una administración única de cisplatina provoca lesión renal marcada evidente del aumento de PCr, BUN, excreción urinaria de marcadores de lesión renal tubular como NAG y KIM-1 junto con proteinuria marcada y formación tubular de cilindro. Nuestros resultados soportan diversos estudios tempranos que reportan nefrotoxicidad inducida por cisplatina en modelos de animal pre-clínicas. De forma interesante, también demostramos que el tratamiento crónico con análogos EET en el agua de bebida protegen marcadamente el riñón de lesión nefrotóxica inducida por

cisplatina con reducciones en todos los marcadores de lesión renal estudiados en este estudio. En relación a nuestro método en el presente estudio, un estudio reciente demuestra que la administración aguda del inhibidor sEH puede reducir la disfunción renal inducida por cisplatina en ratones. Sin embargo, se sabe que los inhibidores sEH actuales se limitan en efectos cuando experimentan metabolismo e incorporación en la membrana,³⁶ que indica así una limitación de este hallazgo en la implicación traduccional clínica. Más aún, el estudio llevado por Parrish et al.³⁵ no proporciona evidencia en el mecanismo posible por el que el inhibidor EET o sEH reduce la disfunción renal en nefrotoxicidad inducida por cisplatina.

[00290] Actualmente, demostramos la sobre-expresión marcada de los mRNA para los componentes principales de oxidasa NADPH (NOX1 y gp91phox) en nefrotoxicidad inducida por cisplatina. La sobre-expresión de estos genes marcadores oxidativos de estos genes marcadores oxidativos acompañados adicionalmente por generación ROS aumentada evidente de la pre-oxidación de lípido de riñón elevada en la rata a la que se le administra cisplatina. También demostramos las expresiones renales SOD1 y SOD3 reducidas, y lo que sugiere que dicha reducción contribuye a la tensión oxidativa en ratas a las que se les administra cisplatina. Se reportan observaciones similares en estudios más tempranos en donde la nefropatía inducida por cisplatina está acompañada por el aumento en el nivel de MDA y expresión elevada y actividad de oxidasa NADPH. De forma interesante, nuestro estudio también demuestra que los

análogos EET reducen marcadamente la tensión renal oxidativa al reducir la pre-oxidación renal de lípidos, las reducciones marcadas en la expresión de las subunidades de oxidasa NADPH principales, y también mediante expresión aumentada de *SOD1*.

5 De hecho, en un estudio reciente se reporta que EET regula por aumento la expresión y actividad de SOD durante agresión tóxica, mejorando así el secuestro de ROS y reduciendo la tensión oxidativa. Similar a nuestros hallazgos, en otro modelo patológico caracterizado con lesión renal, la
10 reducción mediada por EET en tensión oxidativa y la lesión renal se ha reportado. Aparte de la tensión oxidativa, también demostramos que la nefrotoxicidad inducida por cisplatina está acompañada adicionalmente por respuesta inflamatoria renal elevada y soporta las evidencias más
15 tempranas en la función importante para mecanismos inflamatorios en la patogenia de nefrotoxicidad inducida por cisplatina. De hecho, la cisplatina induce la expresión renal aumentada de una variedad de quimioquinas y citoquinas inflamatorias, tal como $\text{TNF-}\alpha$ y $\text{IL-1}\beta$.

20

[00291] Demostramos adicionalmente que el tratamiento análogo EET reduce la expresión renal de estos marcadores inflamatorios en nefrotoxicidad inducida por cisplatina. Nuestros datos soportan los reportes tempranos de actividad
25 anti-inflamatoria de EET que ha estado implicado en protección de órgano mediada por EET en una serie de patologías caracterizadas con lesión de órgano. Por ejemplo, el aumento en la biodisponibilidad de EET mediante inhibición

de sEH proporciona protección del riñón en diabetes inducida por estreptozotocina. Más aún, la sobreexpresión de la enzima que produce EET CYP2J2 protege marcadamente el riñón en el modelo de falla renal crónica de nefrectomía 5/6. Sin embargo, nuestros datos indican claramente que junto con reducción marcada en la tensión oxidativa, atenuación de respuestas inflamatorias renales inducidas por cisplatina en otro mecanismo mediante el cual el análogo EET protege el riñón de nefrotoxicidad inducida por cisplatina.

10

[00292] Hemos investigado adicionalmente el efecto del análogo EET en la tensión del retículo endoplásmico inducido por cisplatina (ER). Se presenta evidencia que ER es uno de los objetivos sub-celulares de toxinas y cumplen una función importante en la nefrotoxicidad inducida por xenobiótico. En el presente estudio examinamos la expresión renal de mRNA de caspasa 12 y GRP78 (proteína regulada con glucosa 78) para investigar el involucramiento de tensión ER en nefrotoxicidad inducida por cisplatina. El GRP78 se considera una de las características de tensión ER, mientras que la caspasa 12 es una caspasa específica de ER que se activa por tensión ER y participa específicamente en apoptosis inducida por tensión ER. Observamos la marcada regulación por aumento en la expresión renal de estos marcadores de tensión ER que se atenúa por el tratamiento análogo EET. Nuestro estudio soporta las observaciones tempranas de que la nefrotoxicidad inducida por cisplatina se asocia con tensión ER. De forma

15

20

25

más importante, el presente estudio también proporciona un hallazgo novedoso e interesante con respecto a las acciones biológicas de EET, y demuestra un aspecto importante en el potencial terapéutico de este mediador de lípidos en el tratamiento de nefrotoxicidad inducida por cisplatina.

[00293] La nefrotoxicidad de cisplatina y otra nefrotixicidad relacionada con el fármaco se asocia con apoptosis ¹⁰ que está provocada por tensión oxidativa elevada, inflamación y tensión ER. Se reporta que durante nefrotoxicidad inducida por cisplatina, la tensión celular provocada por tensión oxidativa, inflamación y tensión ER conduce a una reducción del Bcl2 anti-apoptótico y activación de proteínas de la familia Bcl2 pro-apoptóticas como la proteína X asociada con Bcl-2 (Bax) y antagonista Bcl-2 /proteína asesina (Bak) en el riñón. Esta señalización pro-apoptótica mejorada conduce a la activación de caspasa 3 seguido por apoptosis de las células renales. Aquí, demostramos que el tratamiento análogo EET protege el riñón de muerte celular inducida por cisplatina al reducir la expresión de Bcl2 anti-apoptótico y reducir las relaciones de Bak/Bcl2 proapoptótico y Bax/Bcl2 junto con una reducción marcada en la actividad de caspasa 3.

[00294] También demostramos un análogo EET que media la atenuación en la expresión renal de caspasa 12 que cumple una función esencial en apoptosis mediada por tensión ER. De hecho, se reporta más tempranamente que el EET atenúa

diversos eventos apoptóticos principales que incluyen la señalización pro-apoptótica mediada por la proteína Bcl2 elevada y la actividad de caspasa 3. Estas observaciones soportan nuestra vista en la capacidad del análogo EET para
5 reducir la muerte celular renal en nefrotoxicidad inducida por cisplatina a través de su efecto en las proteínas Bcl2, la tensión ER específica la caspasa 12 y en la caspasa que ejecuta apoptosis, caspasa 3.

10 [00295] Hemos demostrado claramente que el tratamiento análogo EET proporciona la protección de nefrotoxicidad inducida por cisplatina a través de múltiples mecanismos, e indica fuertemente una posible promesa terapéutica. Sin embargo, es importante que antes del uso clínico de nuevos
15 agentes citoprotectores, no solo protección de toxicidad, pero también se demuestra la ausencia de una interferencia del agente con la actividad anti-neoplásica de los agentes citotóxicos utilizados. Para este fin, en un método *in vitro* hemos investigado si la exposición *in vitro* de células
20 normales de riñón (HEK293) o diversas estirpes celulares de cáncer humano (Hela, NCCIT, U87) a varias concentraciones de un análogo EET (EET-A) que influencia el crecimiento celular o el efecto citotóxico de cisplatina. Considerando los efectos protectores comparables de riñón de dos análogos EET
25 utilizados en este estudio, hemos seleccionado el análogo EET para este experimento particular. Demostramos que en la presencia y ausencia del análogo EET (EET-A) la cisplatina es

igualmente potente en ejercer su efecto quimioterapéutico. Más aún, también hemos investigado si el EET-A influencia el crecimiento de cualquiera de las estirpes de cáncer utilizadas en este estudio, y claramente demuestra que el
5 EET-A no tiene efecto en el crecimiento de cualquiera de estas estirpes celulares de cáncer.

[00296] En conclusión, hemos proporcionado fuerte evidencia del efecto protector de riñón de los análogos EET
10 identificados anteriormente en nefrotoxicidad inducida por fármaco, que incluye nefrotoxicidad inducida por cisplatina. Hemos demostrado que estos análogos EET ofrecen protección del riñón mediante la inhibición de múltiples rutas de señalización que implican críticamente en la patofisiología
15 de nefrotoxicidad inducida por cisplatina. Este estudio destaca diversas acciones biológicas importantes de análogos EET novedosos en términos de su tensión anti-oxidativa, anti-inflamatoria, anti-ER y actividades anti-apoptóticas. Los resultados del estudio actual fortalecen nuestra visión en la
20 promesa terapéutica de estos análogos EET novedosos en el tratamiento de nefrotoxicidad inducida por cisplatina sin comprometer el potencial quimioterapéutico de cisplatina.

[00297] Aunque esta invención se ha descrito en conjunto con
25 las diversas realizaciones de ejemplo destacadas anteriormente, diversas alternativas, modificaciones, variaciones, mejoras y/o equivalentes sustanciales, si se

conocen o que son o actualmente se pueden prever, puede llegar a ser evidente para aquellos que son por lo menos medianamente versados en la técnica. De acuerdo con lo anterior, las realizaciones de ejemplo de acuerdo con esta
5 invención, como se estableció anteriormente, pretenden ser de ilustración, no de limitación. Se pueden hacer diversos cambios sin apartarse del espíritu y alcance de la invención. Por lo tanto, la invención pretende abarcar todas las alternativas desarrolladas últimamente o conocidas,
10 modificaciones, variaciones, mejoras, y/o equivalentes sustanciales de estas realizaciones de ejemplo. Todas las publicaciones técnicas, patentes y solicitudes de patente publicadas mencionadas aquí se incorporan mediante referencia en su totalidad para todos los propósitos.

15

Referencias

1. American Heart Association. High blood pressure
statística. Disponible en:
[http://www.americanheart.org/presenter.jhtml?identifier=](http://www.americanheart.org/presenter.jhtml?identifier=4621)
5 4621. Accessed November 2010.
2. Jacobson et al. Prostaglandins, y Membrane Ion
Transport. New York: Raven Press, 1985:311-318.
3. Sakairi et al. Am J Physiol 1995;268:F931-939.
4. Campbell et al. Circ Res 1996;78:415-423.
- 10 5. Archer S et al. Circulation 2003;107:769-776.
6. Fisslthaler et al. Nature 1999;401:493-497.
7. King et al. Pharmacogenet Genomics 2005;15:7-13.
8. Capdevila et al. Kidney Int 2007;72:683-689.
9. Imig JD. Am J Physiol Renal Physiol 2005;289:F496-503.
- 15 10. Imig et al. Hypertension 2005;46:975-981.
11. Imig et al. J Hypertens 2001;19:983-992.
12. Imig et al. Nat Rev Drug Discov 2009;8:794-805.
13. Sodhi et al. J Pharmacol Exp Ther 2009; 331:906-
916.
- 20 14. Imig et al. U.S. Patent #7,550,617, Issued June 23,
2009
15. Imig et al. U.S. Patent #7,732,470, Issued June 8,
2010
16. Heizer et al. Stroke 1991; 22:1389-1393.
- 25 17. Krotz et al. Arterioscler Thromb Vasc Biol
2004;24:595-600.
18. Node et al. Science 1999; 285:1276-1279.

19. Davis et al. Proc Natl Acad Sci USA 2002; 99:2222-2227.
20. Fleming I. Prostaglandins Other Lipid Mediat 2007;82:60-67.
- 5 21. Yang et al. Arch. Biochem Biophys 2009; 489:82-91.
22. Potente et al. J Biol Chem 2003; 278:29619-29625.
23. Sun et al. Circ Res 2002; 90:1020-1027.
24. Simpkins et al. Am J Pathol 2009; 174:2086-2095.
25. Zhang et al. Stroke 2008; 39:2073-2078.
- 10 26. Terashvili et al. J Pharmacol Exp Ther 2008; 326:614-622.
27. Inceoglu et al. Life Sci 2006; 79:2311-2319.
28. Bongers et al. Pharmacoeconomics. 2012; 30(1):17-34.
- 15 29. Costantini et al. Scientific World Journal. 2011; 11:1981-94.
30. Levy et al. Curr Med Res Opin. 2011; 27(12):2253-9.
31. Wang et al. Nat Rev Drug Discov; 4(4):307-20.
32. Lameire et al. Acta Clin Belg. 2011; 66(5):337-45.
- 20 33. Miller et al. Toxins (Basel). 2010; 2(11):2490-518.
34. Yao et al. Am J Med Sci. 2007 Aug;334(2):115-24.
35. Lieberthal et al. Am J Physiol. 1996 Apr;270(4 Pt 2):F700-8.
36. Ma et al. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2010; 37(4):460-5.
- 25 37. Pabla N y Dong Z (2008) Kidney Int 73:994-1007.
38. Imig JD. Physiol Rev. 2012 Jan;92(1):101-30.

39. Imig JD. J Cardiovasc Pharmacol. 2010; 56(4):329-35.
40. Imig JD. Am J Physiol Renal Physiol. 2005; 289(3):F496-503.
- 5 41. Pfister et al. Adv Pharmacol. 2010; 60:27-59.
42. Gauthier et al. J Cardiovasc Pharmacol. 2007 Dec;50(6):601-8.
43. Olearczyk et al. Clin Sci (Lond). 2009; 116(1):61-70.
- 10 44. Elmarakby et al. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2011; 301(5):R1307-17.
45. Imig JD, Hammock BD. Nat Rev Drug Discov. 2009 Oct;8(10):794-805.
46. Yang et al. Mol Pharmacol 60: 310-320, 2001.
- 15 47. Yang et al. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2007; 293(1):H142-51.
48. Morisseau C, Hammock BD (2005). Annu Rev Pharmacol Toxicol 45: 311-333.
49. Falck J Med Chem 2009, 52: 5069-5075.
- 20 50. Batchu et al. Br J Pharmacol. 2011; 162(4):897-907.
51. Simpkins et al. Am J Pathol. 2009; 174(6):2086-95.
52. Zhao et al. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2006; 290(6):H2187-95.
53. Jia Z et al. Kidney Int. 2011; 79(1):77-88.
- 25 54. Liu et al.. Eye (Lond). 2010; 24(1):137-44.
55. Xu et al. Nephrol Dial Transplant. 2010; 25(12):3859-67.

56. Akcali et al. World J Gastroenterol. 2004; 10(2):279-83.
57. Chabrashvili et al. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2003; 285(1):R117-24.
- 5 58. Inagi R. Nephron Exp Nephrol. 2009; 112(1):e1-9.
59. Mukhopadhyay et al. Free Radic Biol Med. 2012; 52(2):497-506.
60. Aleisa et al. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2007; 34(12):1252-9.
- 10 61. Sahu et al. Food Chem Toxicol. 2011 Dec; 49(12):3090-7.
62. Parrish et al. Cell Biol Toxicol. 2009; 25(3):217-25.
63. Spector et al. Prog Lipid Res. 2004; 43(1):55-90.
- 15 64. Suddek GM.. 2011 Oct 11. doi: 10.1111/j.1472-8206.2011.00996.x.
65. El-Beshbishy et al. Eur J Pharmacol. 2011; 668(1-2):278-84.
66. Liu et al. J Pharmacol Exp Ther. 2011; 339(2):451-63.
- 20 67. Ramesh G y Reeves WB (2002) J Clin Invest 110:835-842.
68. Yamate et al. Vet Pathol 39:322-333.
69. Faubel et al. J Pharmacol Exp Ther 322:8-15.
- 25 70. Zhang et al. (2007) Kidney Int 72:37-44.
71. Zhao et al. Hum Gene Ther. 2012 Jan 19.
72. Cribb et al. Drug Metab Rev. 2005; 37(3):405-42.
73. Mandic et al. J Biol Chem. 2003; 278(11):9100-6.

74. Peyrou et al. Toxicol Sci. 2007 Sep; 99(1):346-53.

Epub 2007 Jun 12. PubMed PMID: 17567590.

75. Breckenridge et al. Oncogene. 2003; 22(53):8608-18.

76. Park et al. (2002) et al. J Am Soc Nephrol 13:858-

5 865.

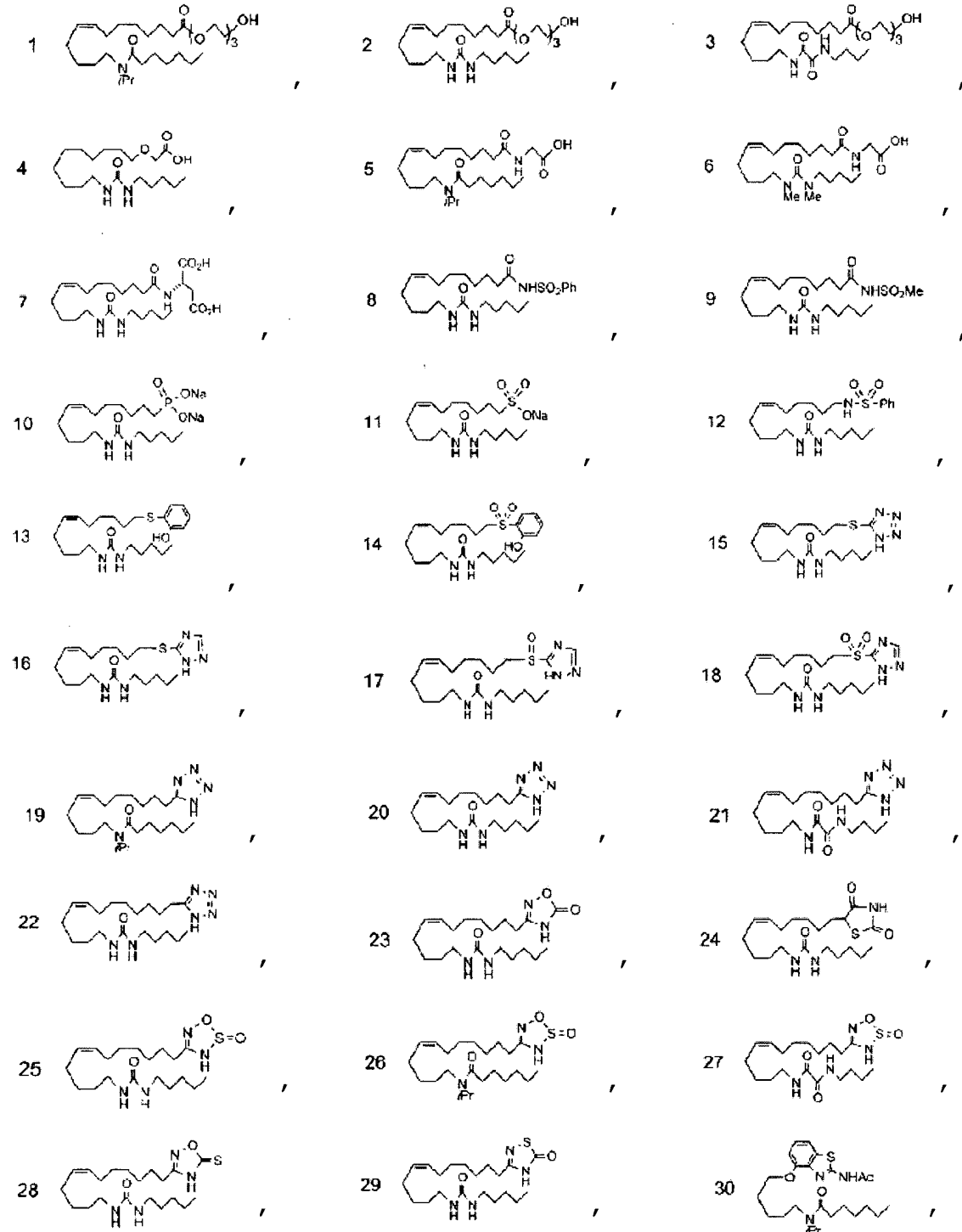
77. Wei et al. (2007) Kidney Int 72:53-62.

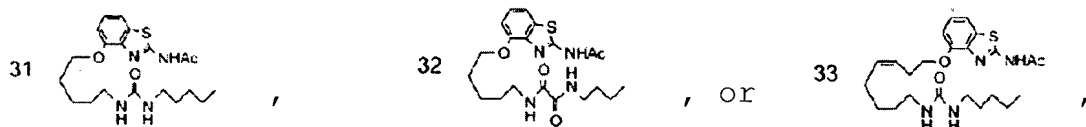
78. Lorz et al. J Am Soc Nephrol. 2004; 15(2):380-9.

REIVINDICACIONES

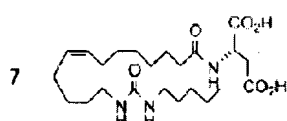
Lo que se reivindica es:

5 1. Un compuesto seleccionado del grupo que consiste de

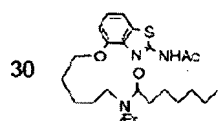




2. El compuesto de la reivindicación 1, en donde la
5 estructura es

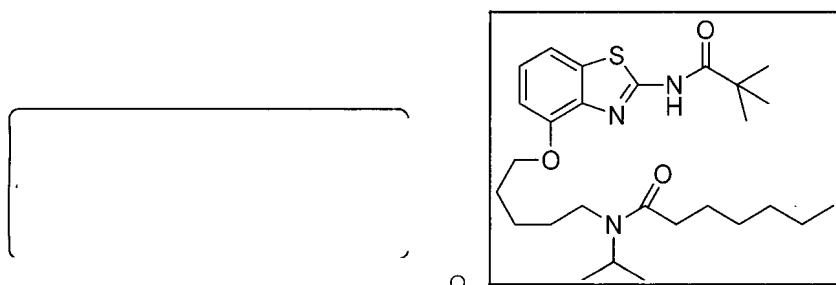


10 3. El compuesto de la reivindicación 1, en donde la
estructura es



15

4. Un compuesto seleccionado del grupo que consiste de



5. Una composición que comprende un compuesto de las reivindicaciones 1 o 4 y un portador farmacéuticamente aceptable.

5 5. Un método para reducir la hipertensión en un sujeto, que comprende administrar a un sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 4, en donde la hipertensión en dicho sujeto se reduce.

10

6. Uso de un compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 4 para la fabricación de un medicamento para tratar la hipertensión en un sujeto.

15 7. Un compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 4 para uso en el tratamiento de la hipertensión en un sujeto.

8. Un método para reducir nefrotoxicidad en un sujeto, que
20 comprende administrar a un sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 4, en donde nefrotoxicidad en dicho sujeto se reduce.

25 9. El método de la reivindicación 8, en donde la nefrotoxicidad se induce por fármaco.

10. El método de la reivindicación 9, en donde la nefrotoxicidad se induce por cisplatina.

11. Uso de un compuesto de acuerdo con las reivindicaciones
5 1 o 4 para la fabricación de un medicamento para tratar nefrotoxicidad inducida por fármaco en un sujeto.

12. Un compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 4
10 para uso en el tratamiento de nefrotoxicidad inducida por fármaco en un sujeto.

13. Un método para reducir nefrotoxicidad de cisplatina en un sujeto, que comprende administrar a un sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de
15 acuerdo con las reivindicaciones 1 o 4, en donde se reduce la nefrotoxicidad de cisplatina en dicho sujeto.

14. Uso de un compuesto de acuerdo con las reivindicaciones
20 1 o 4 para la fabricación de un medicamento para tratar nefrotoxicidad de cisplatina en un sujeto.

15. Un compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 4 para uso en el tratamiento de nefrotoxicidad de cisplatina en un sujeto.

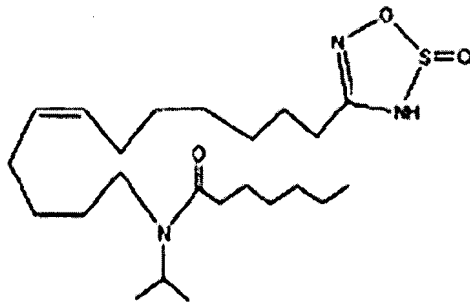
25

RESUMEN

[00298] Los compuestos y composiciones que comprenden análogos de ácido epoxieicosatrienoico (EET) que actúan como agonistas EET y son útiles como medicamentos en el tratamiento de nefrotoxicidad inducida por fármaco, hipertensión y otras afecciones relacionadas. Se describen adicionalmente métodos para elaborar y utilizar los compuestos y composiciones.

10

A



SRD-1-71-9

B

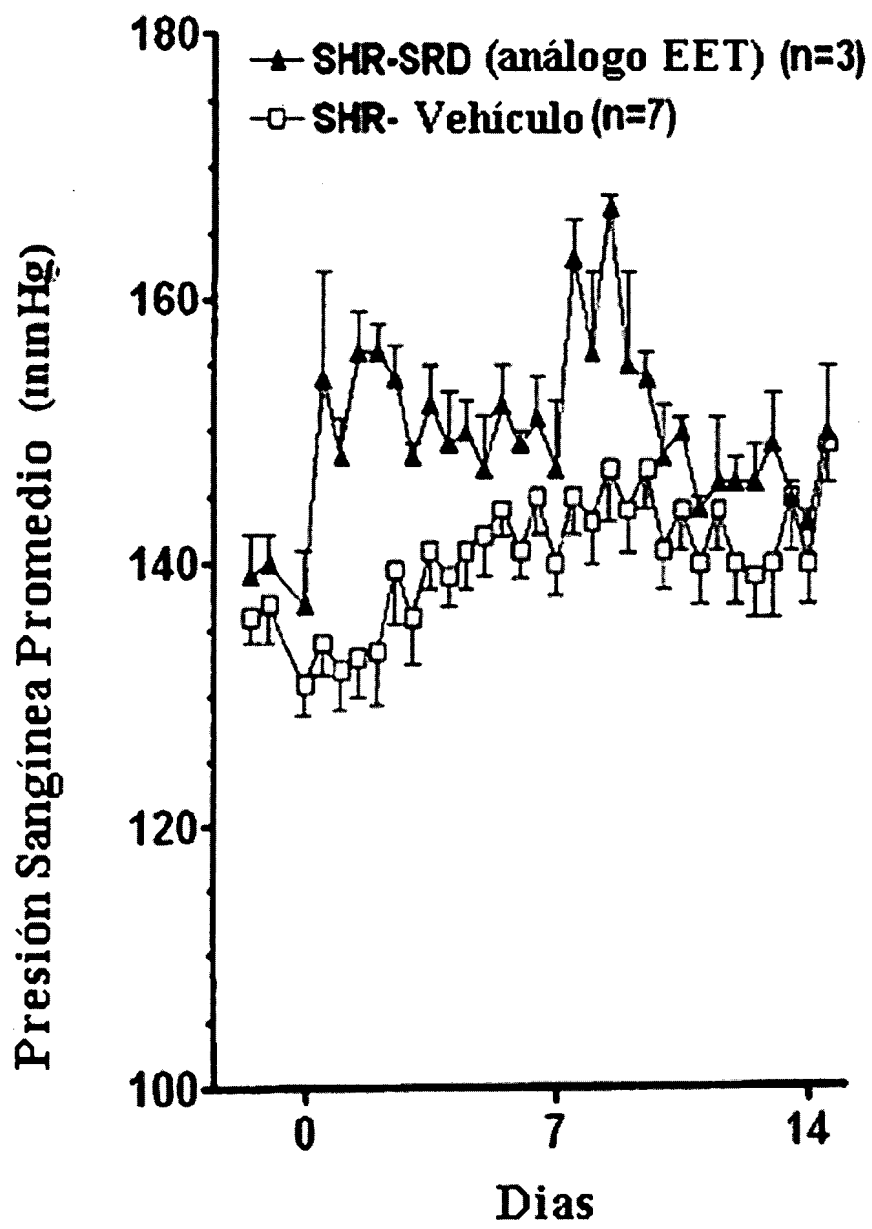


Figura 1

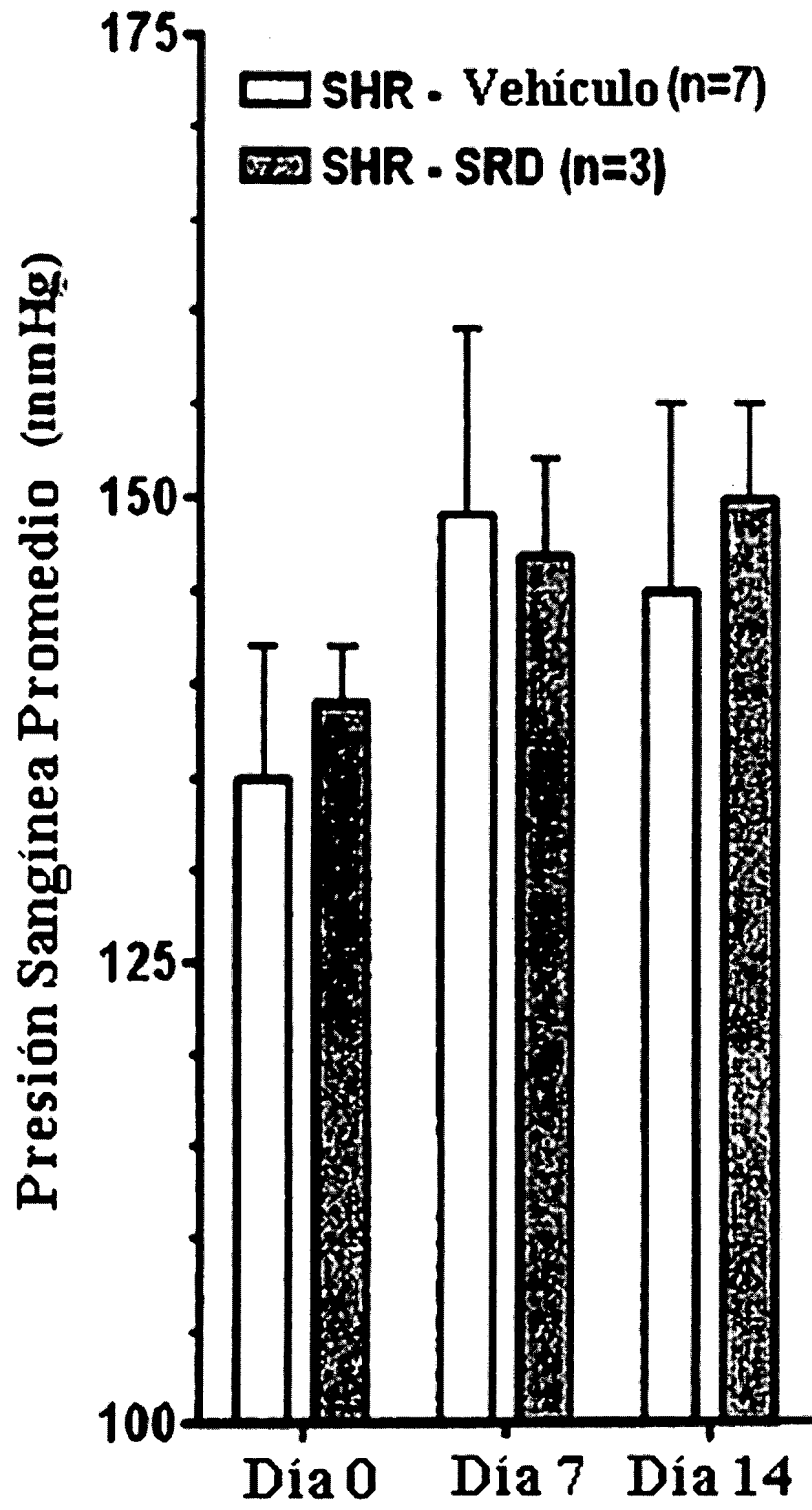
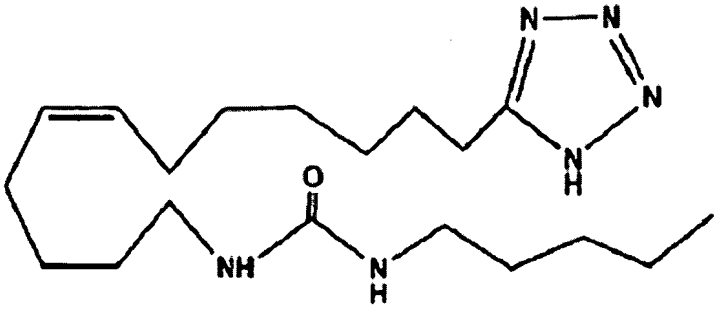


Figura 1C

A



B

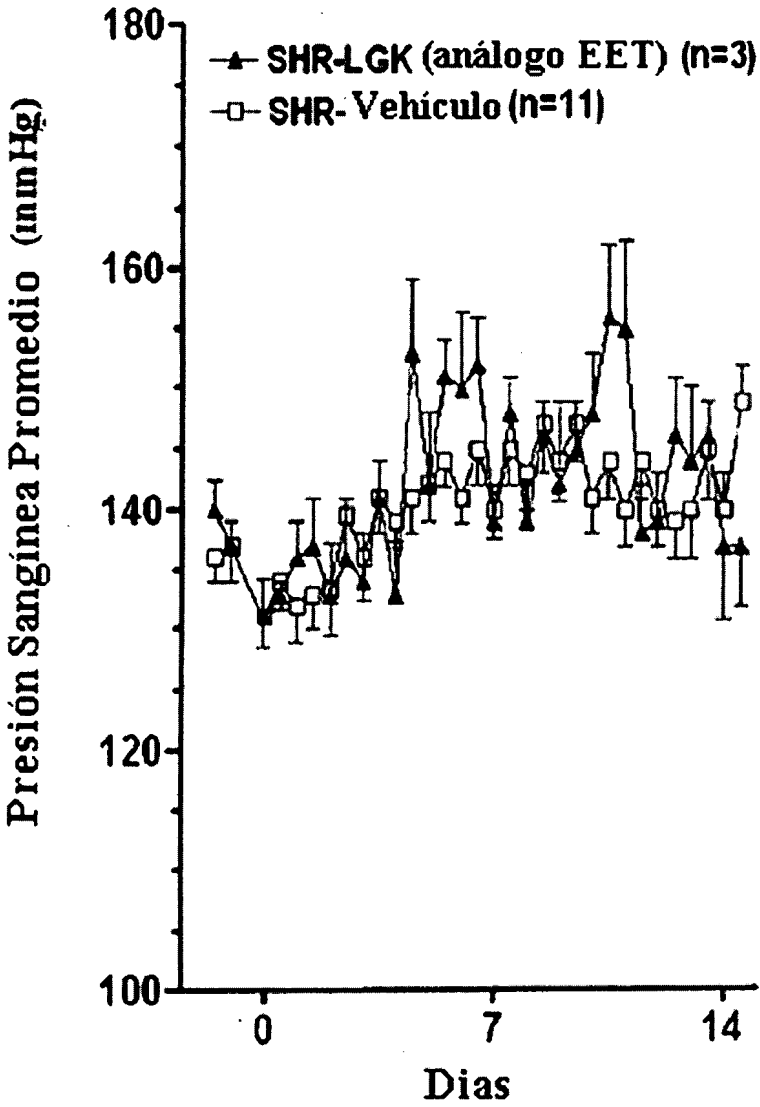


Figura 2

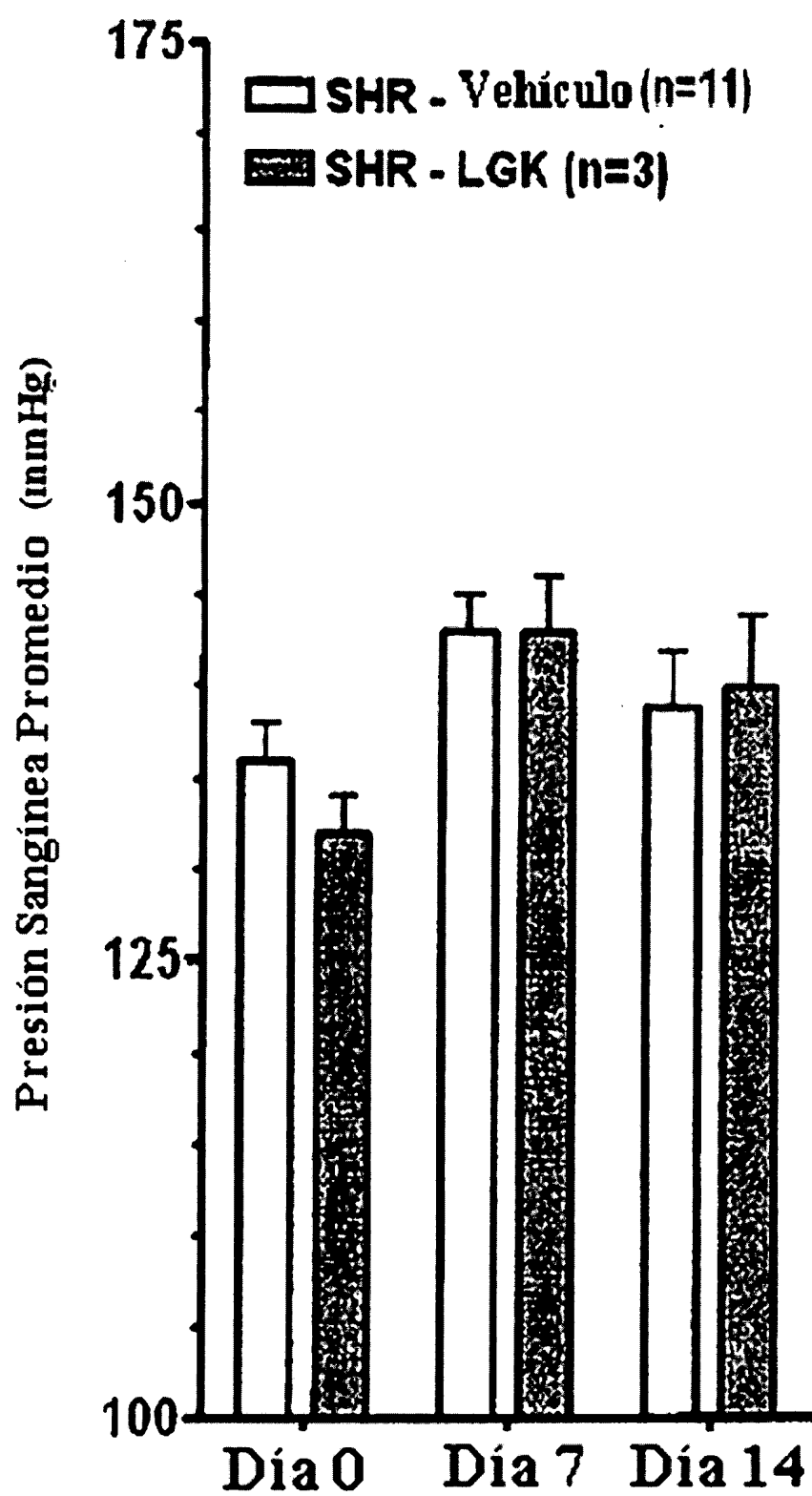


Figura 2C

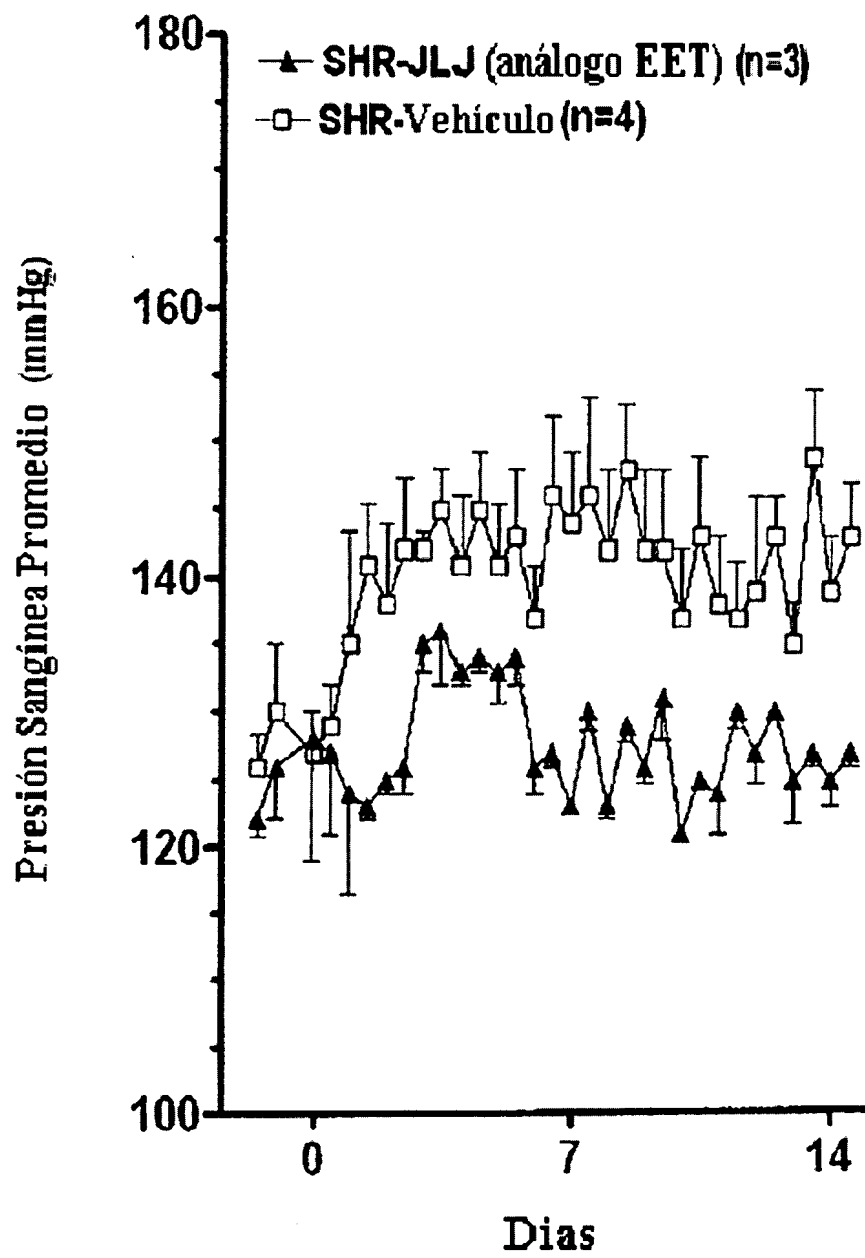
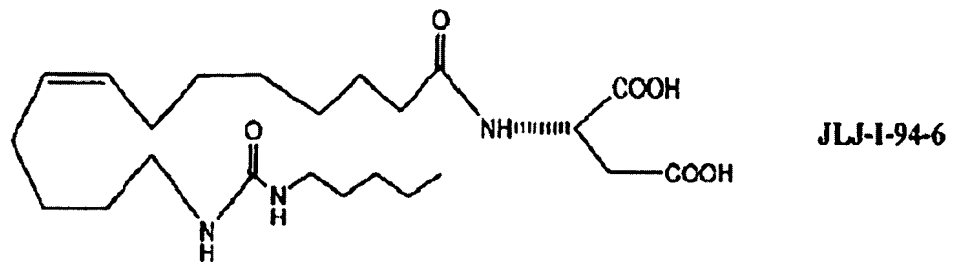


Figura 3

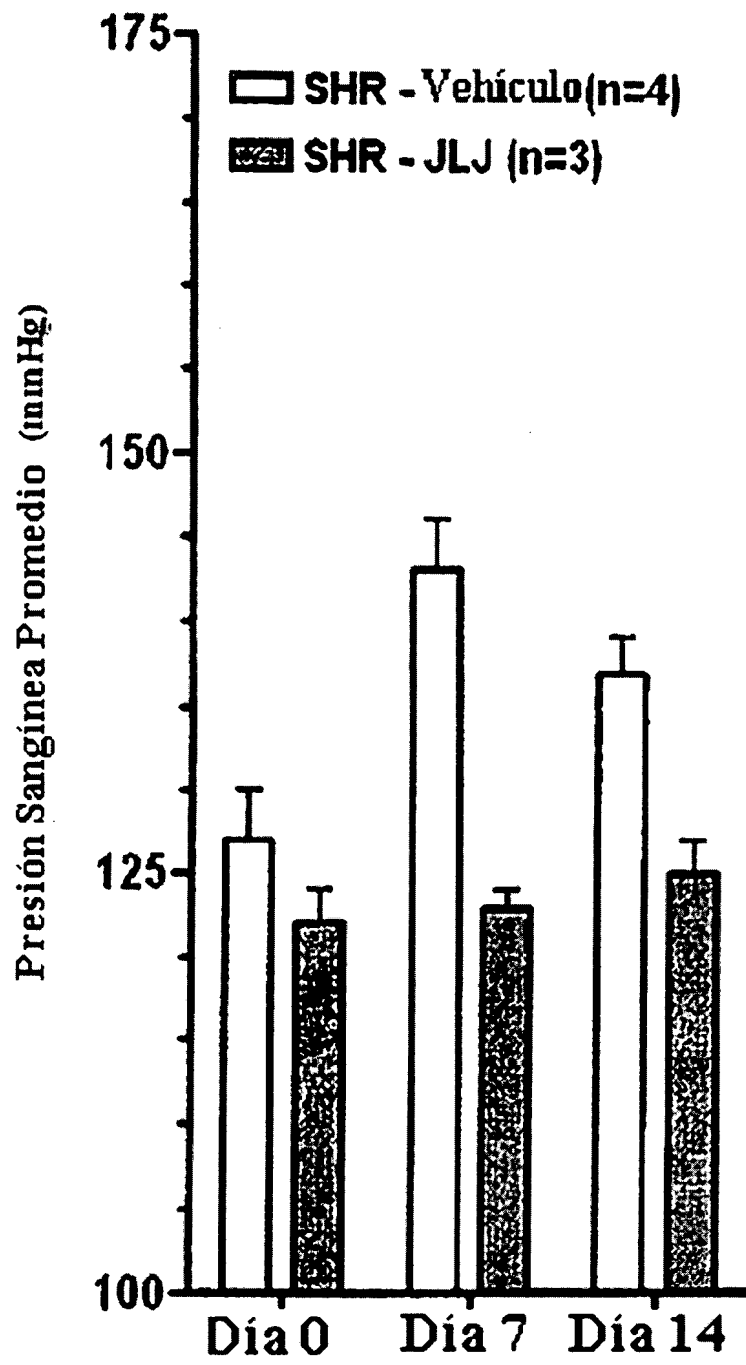
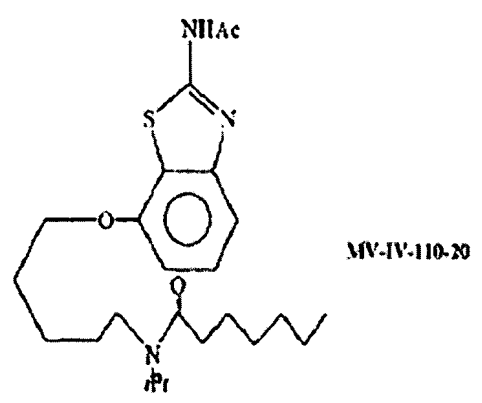
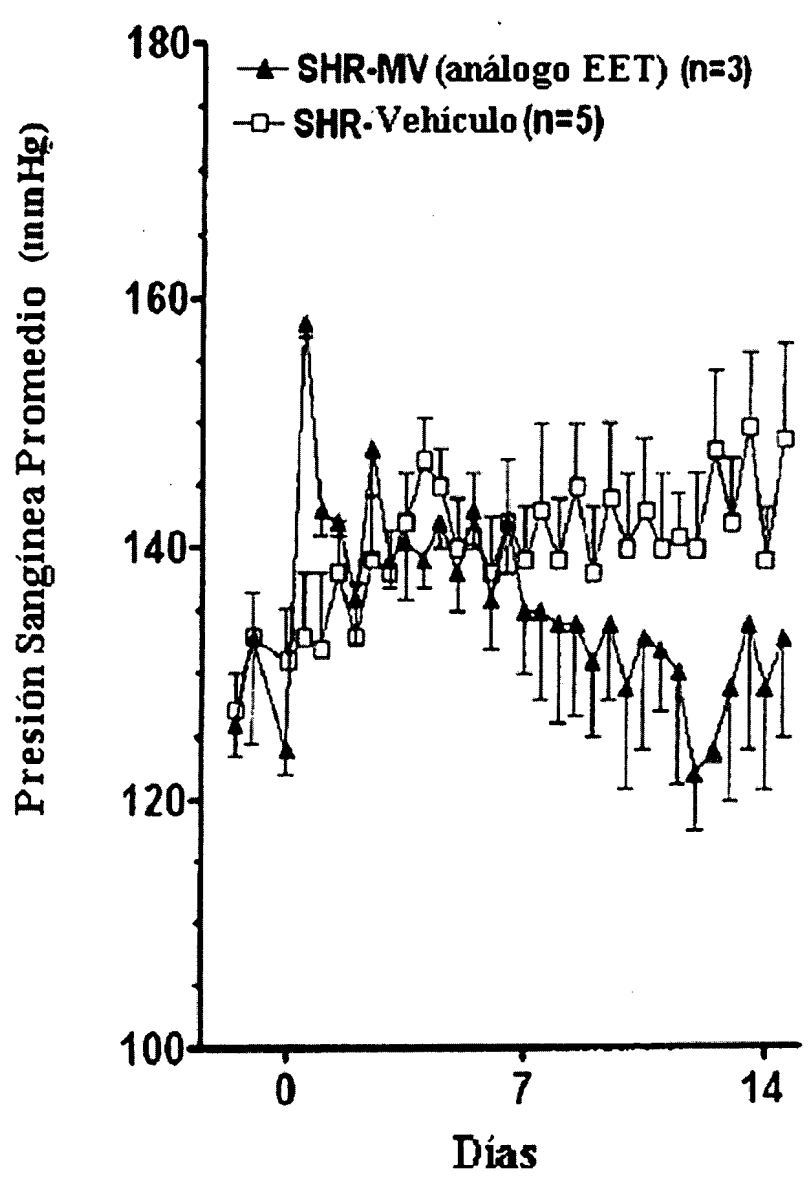


Figura 3C



A



B

Figura 4

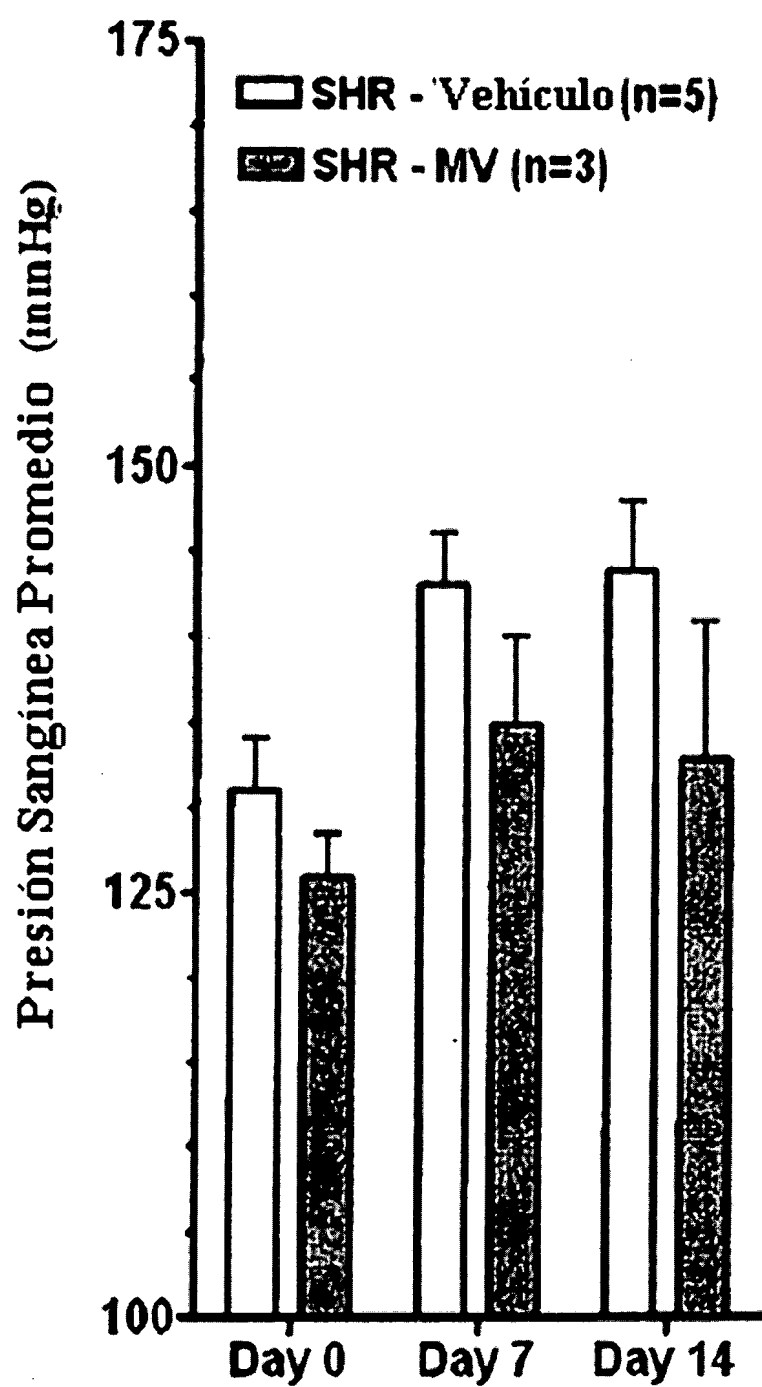


Figura 4C

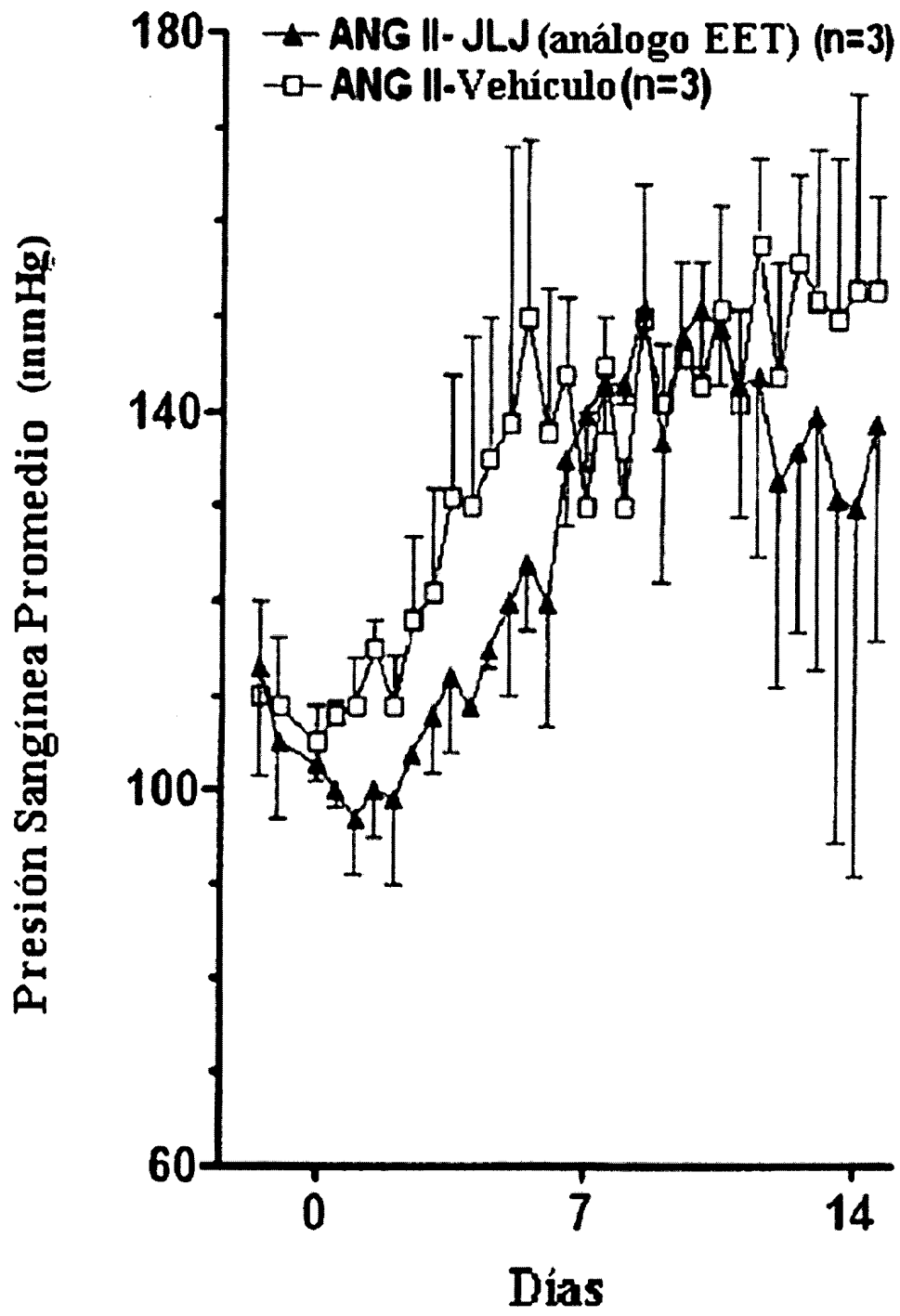


Figure 5

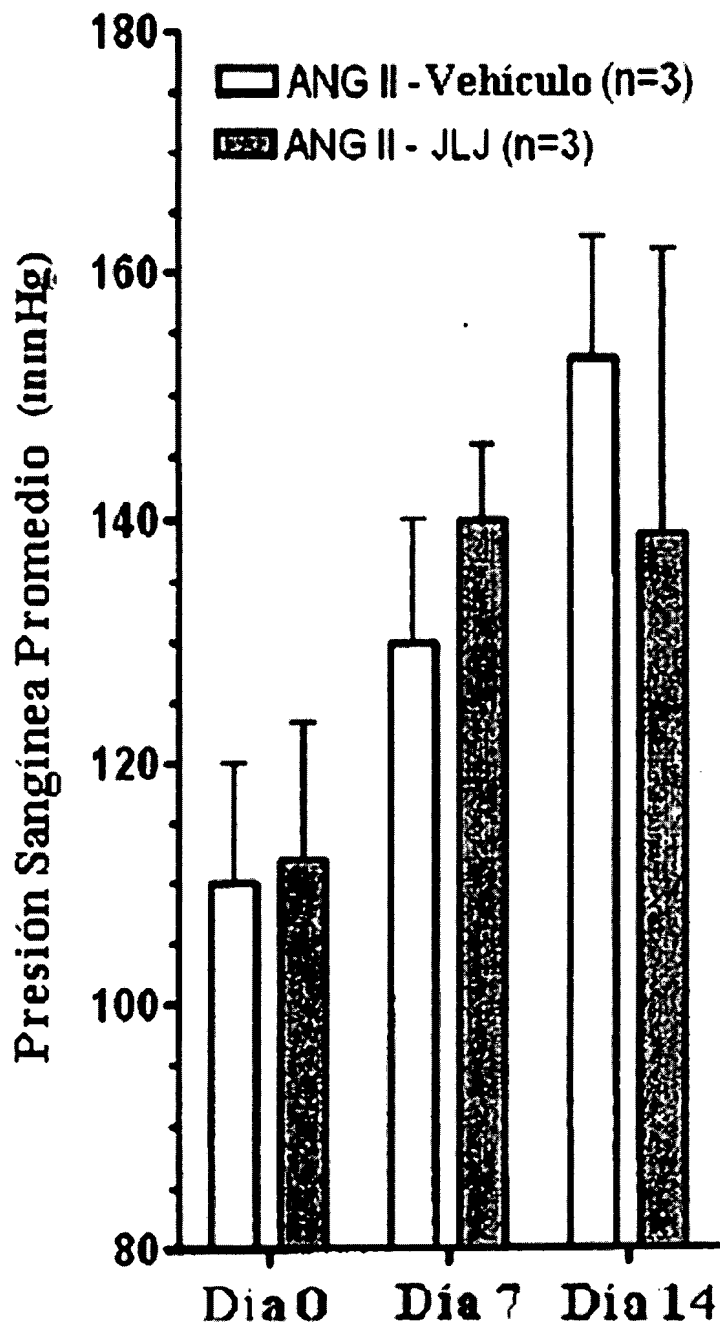


Figure 5B

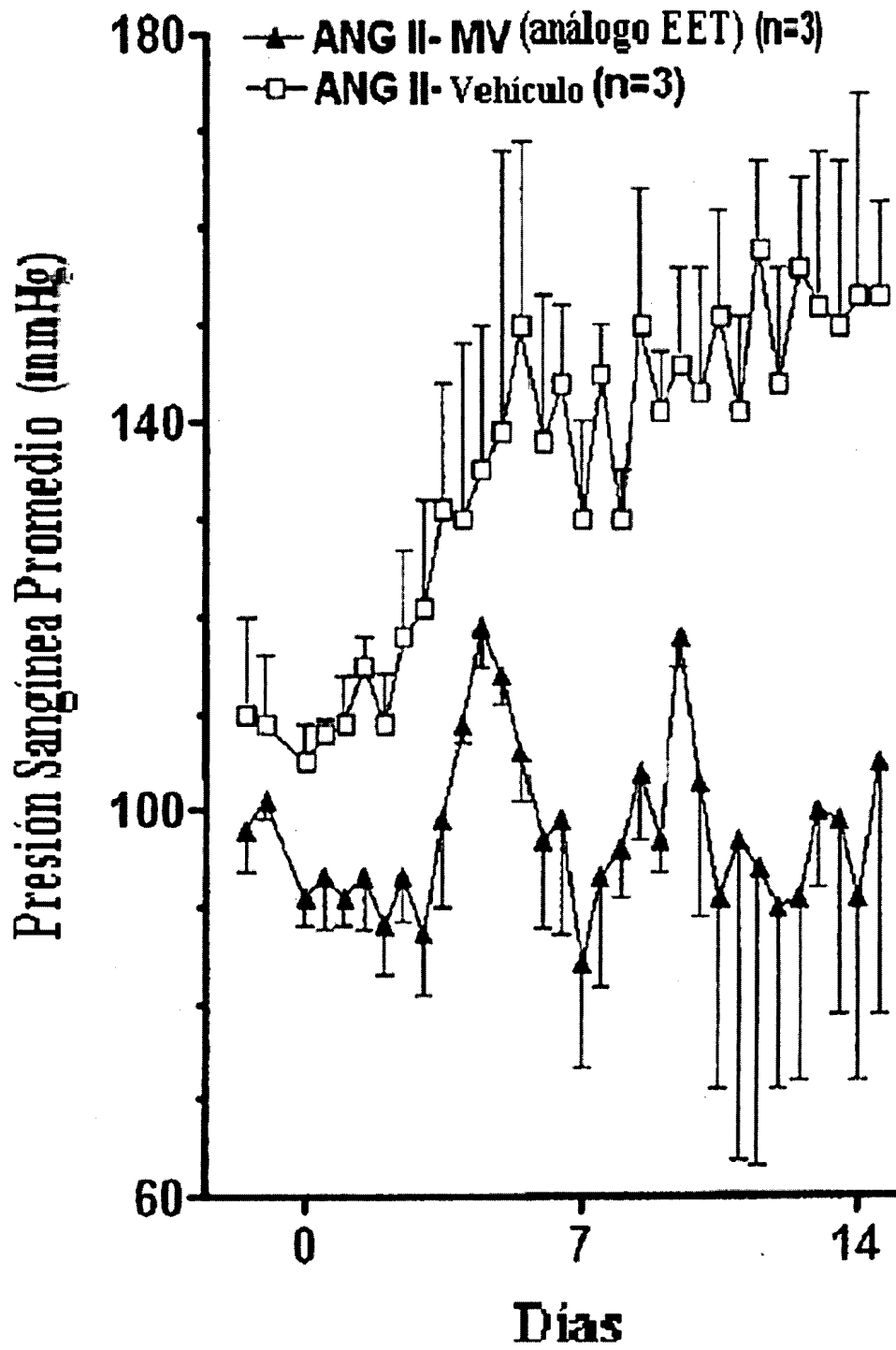


Figura 6

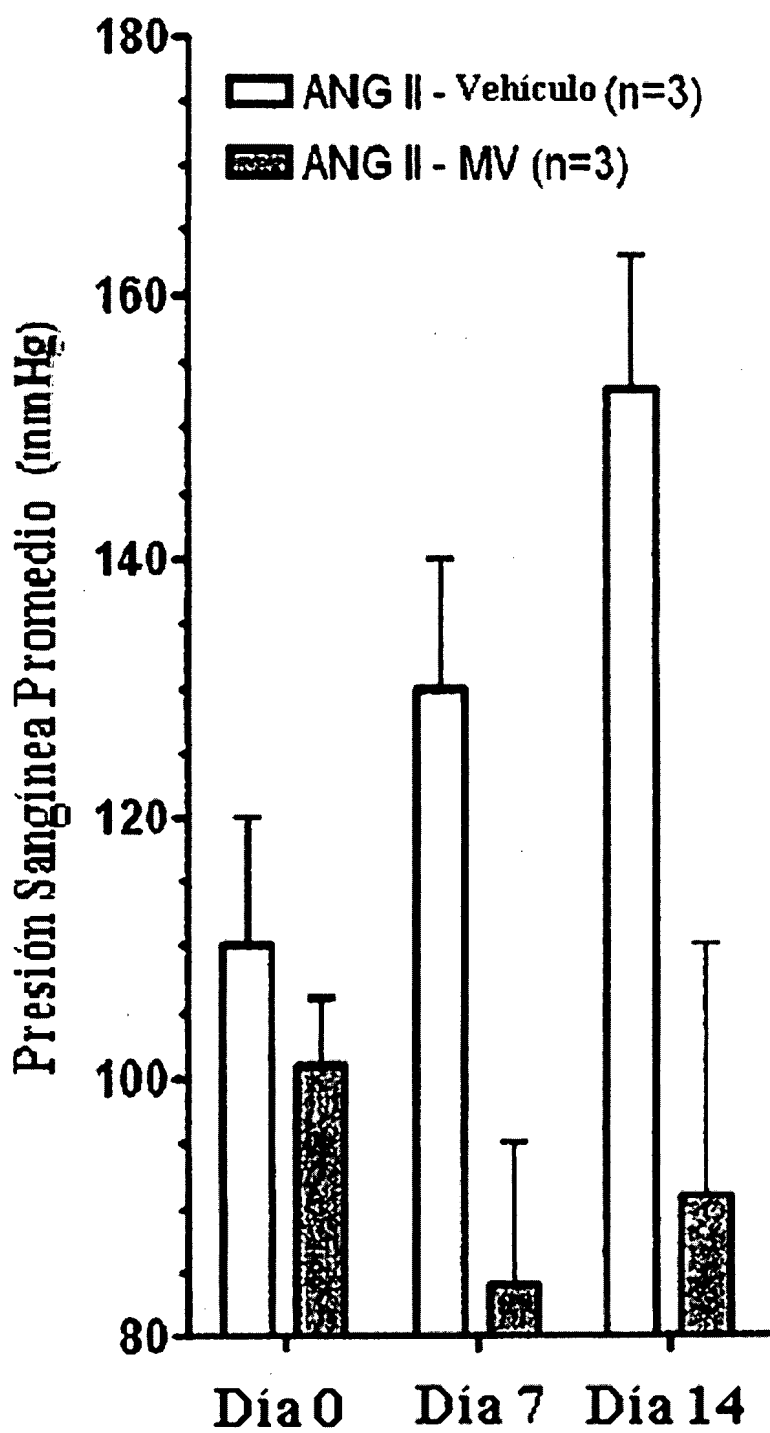


Figura 6B

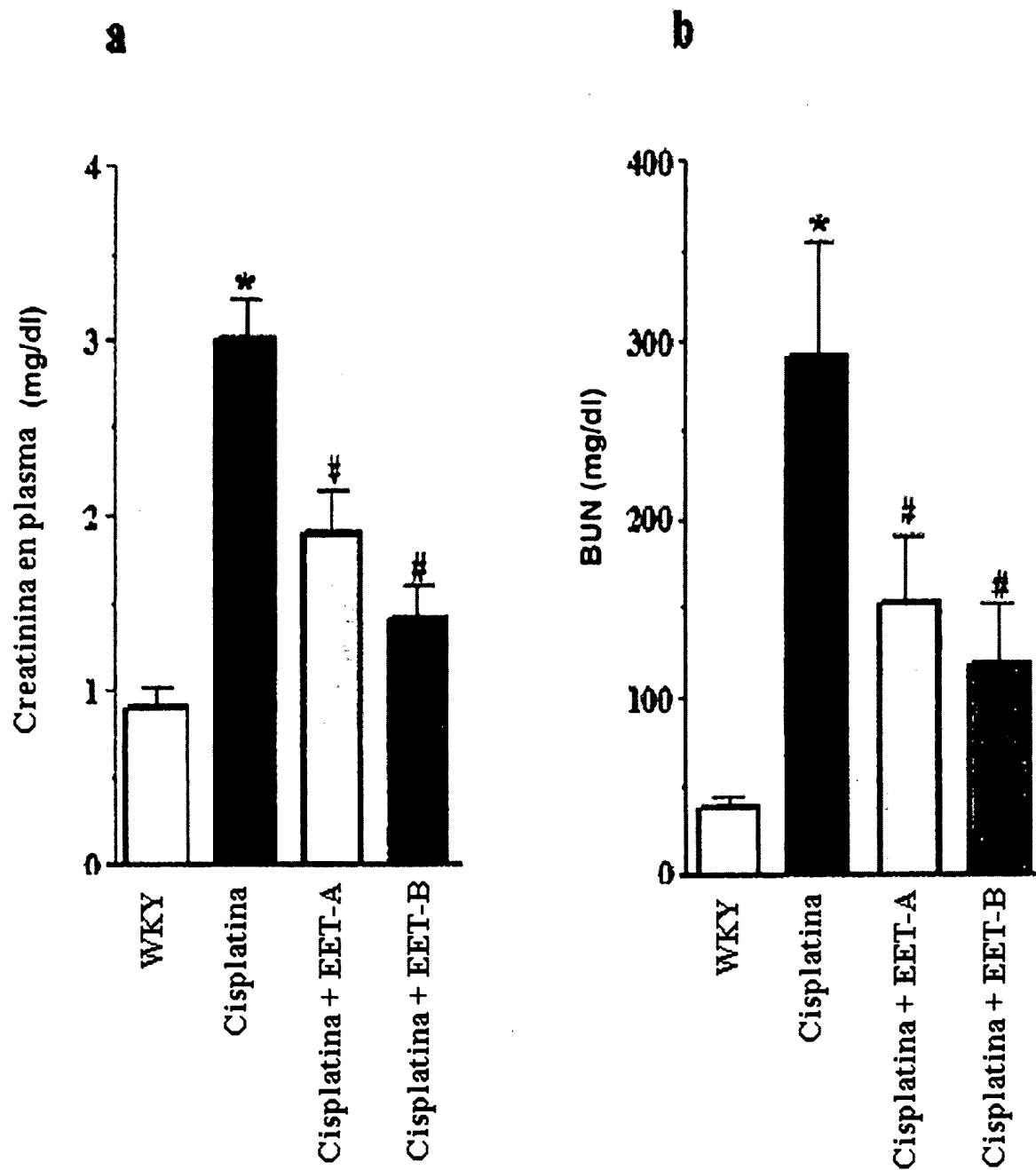


Figura 7

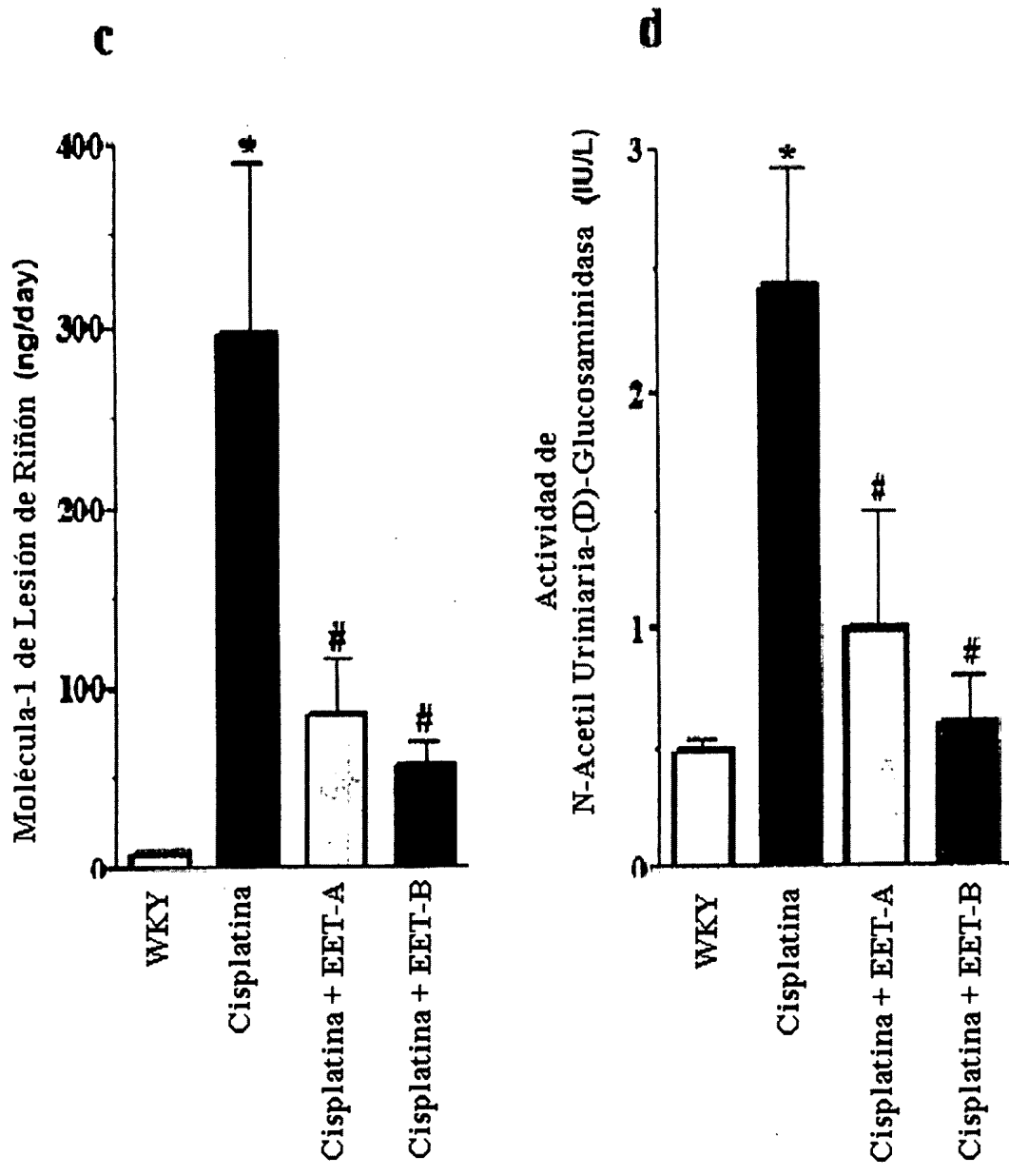


Figura 7, Continuada

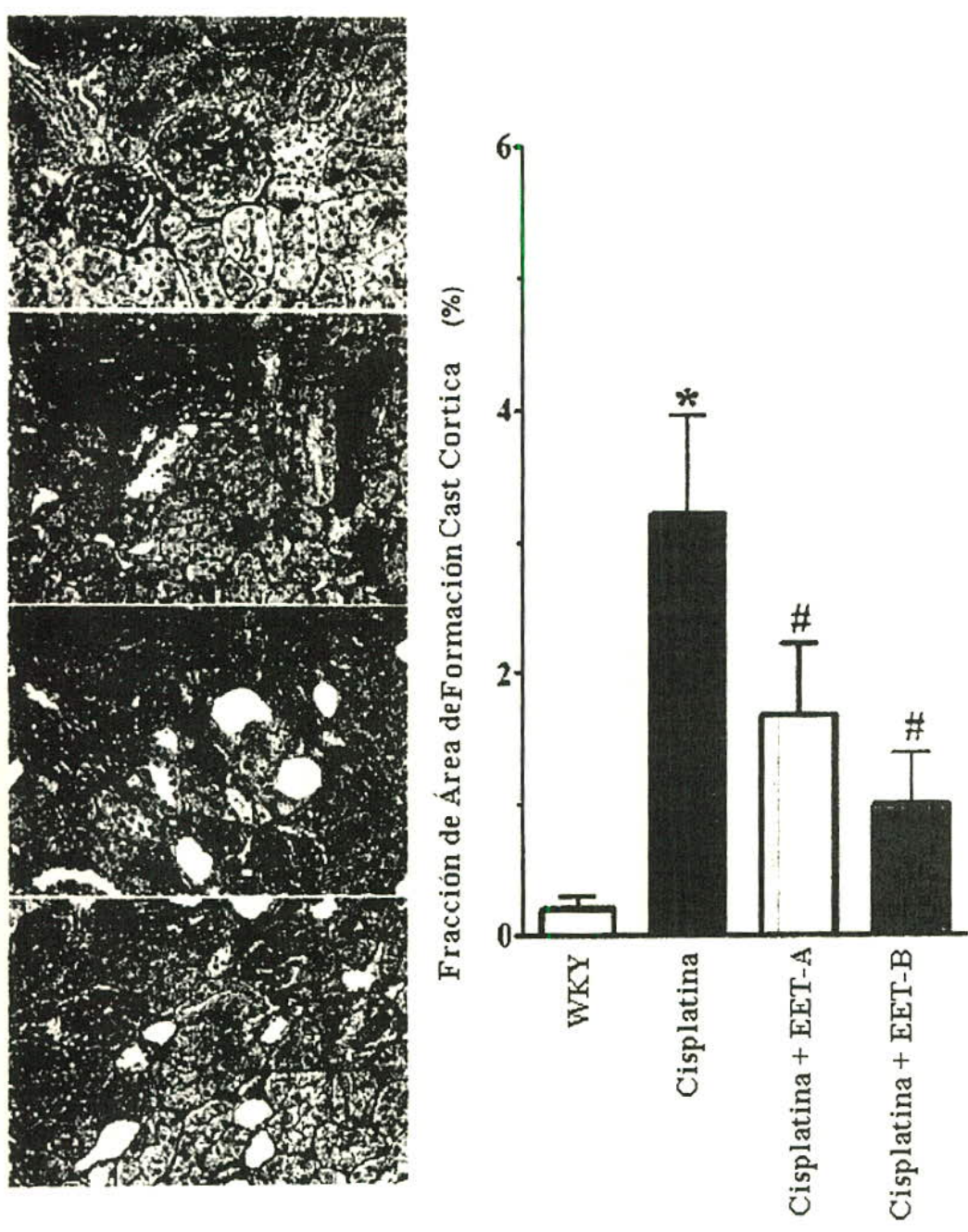


Figura 8

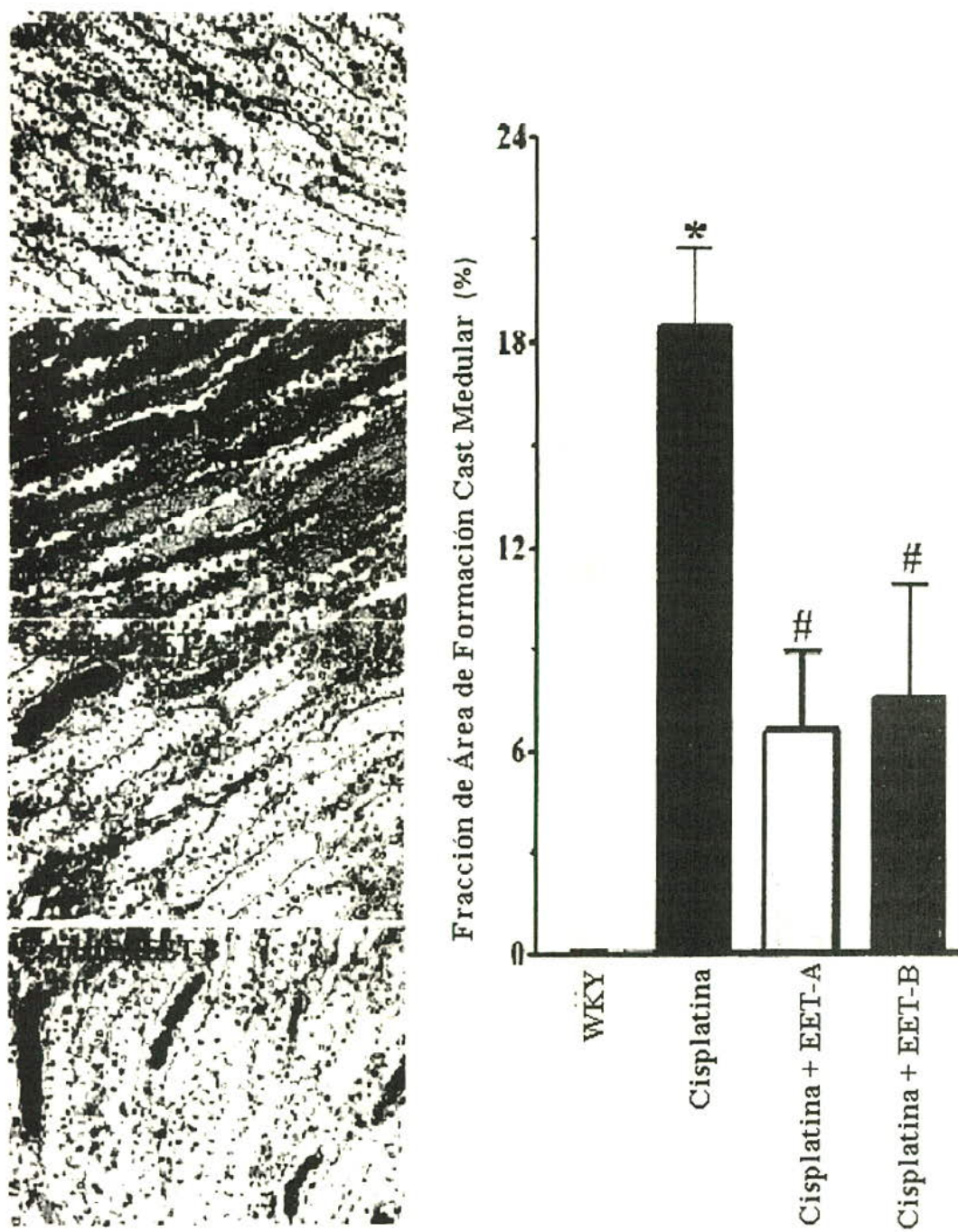


Figura 8, Continuada

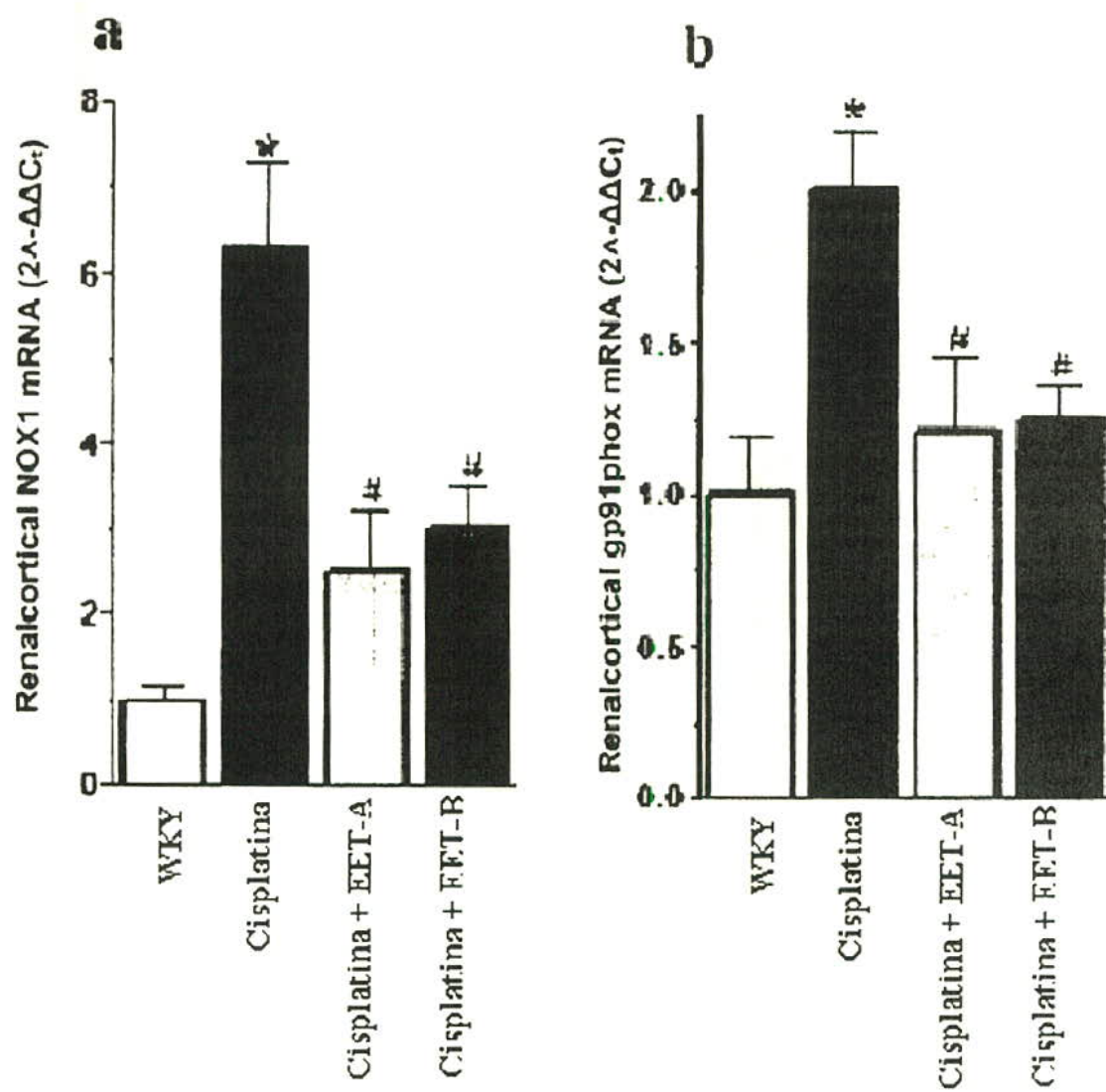


Figura 9

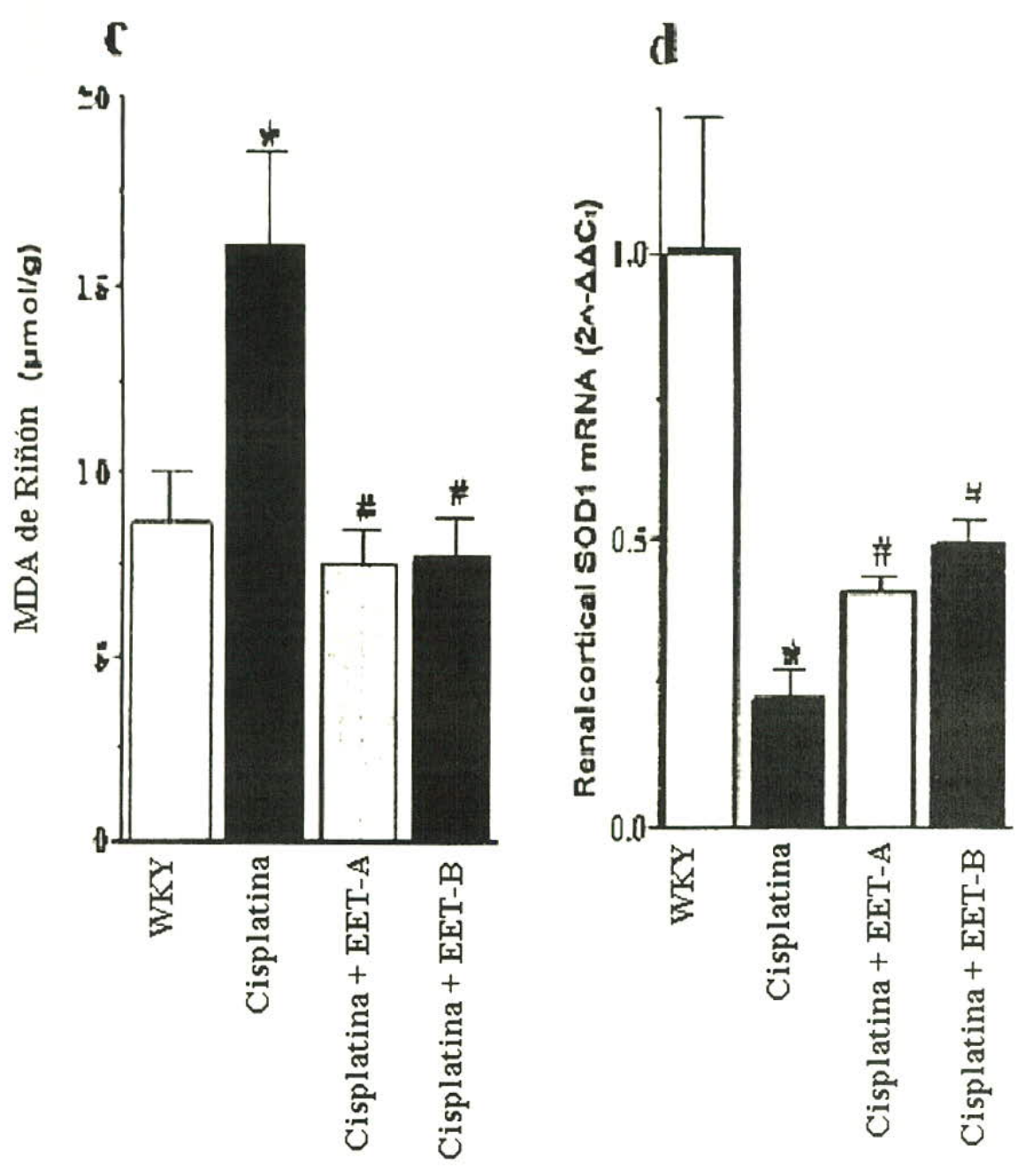


Figura 9, Continuada

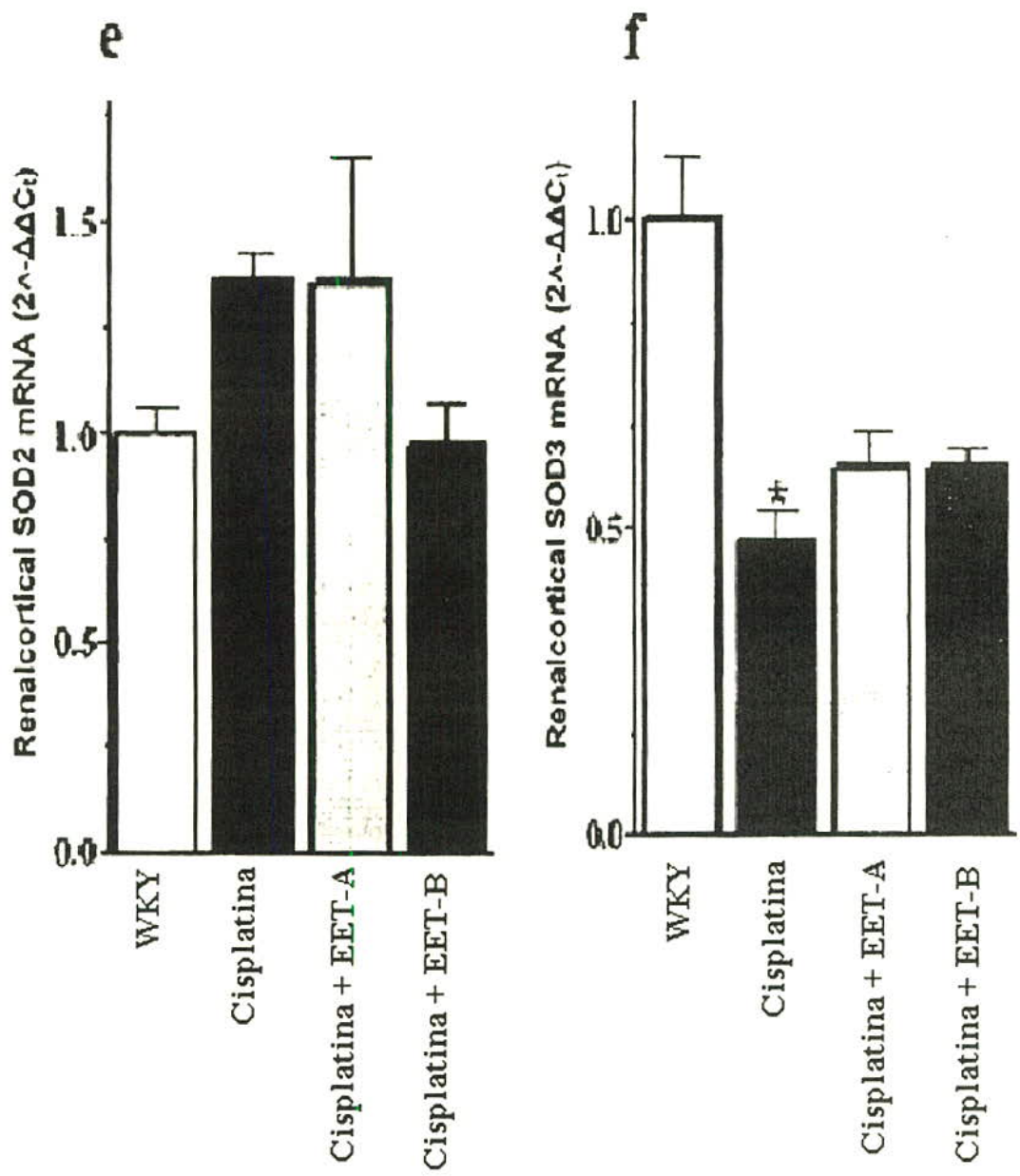


Figura 9, Continuada

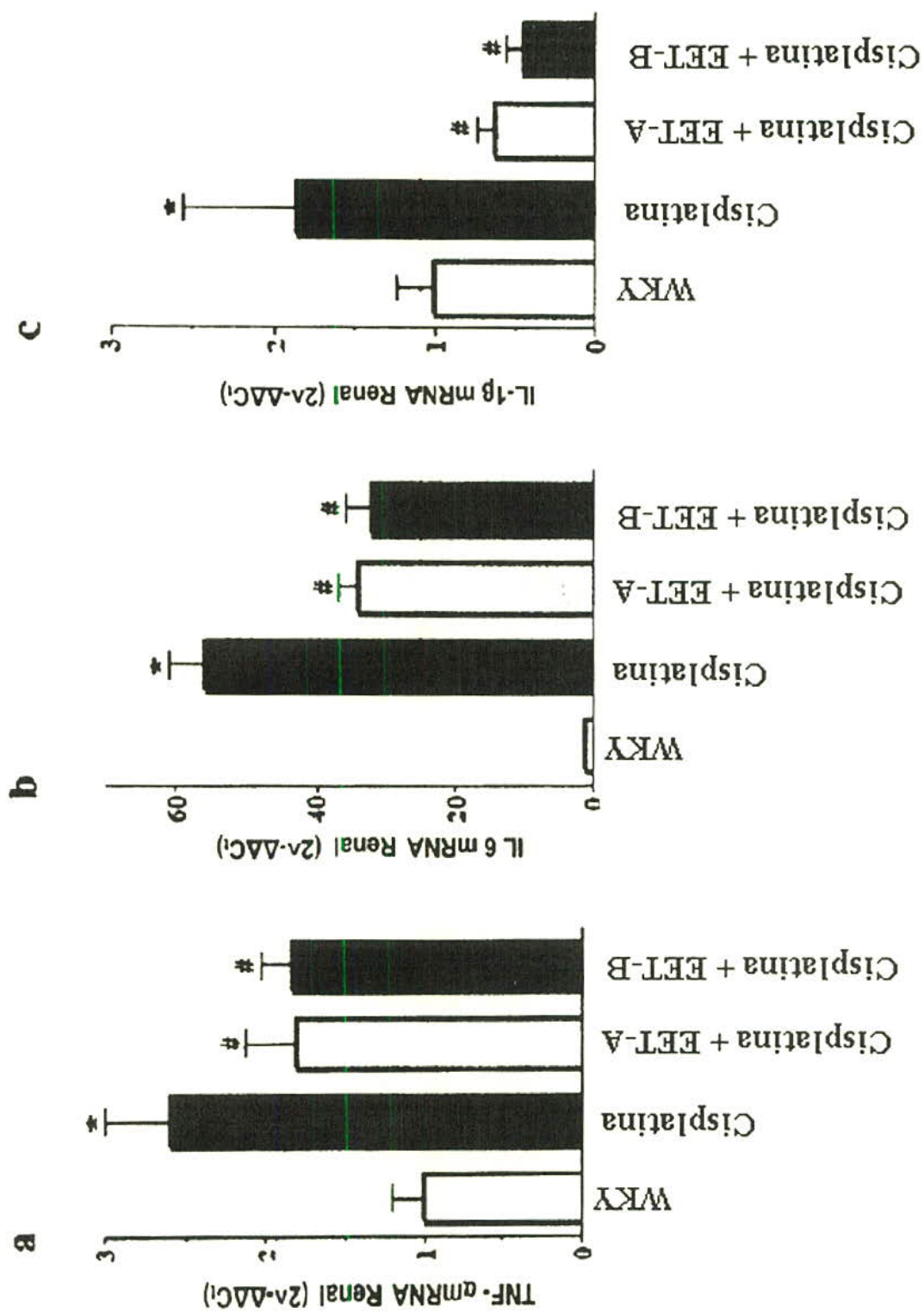


Figura 10

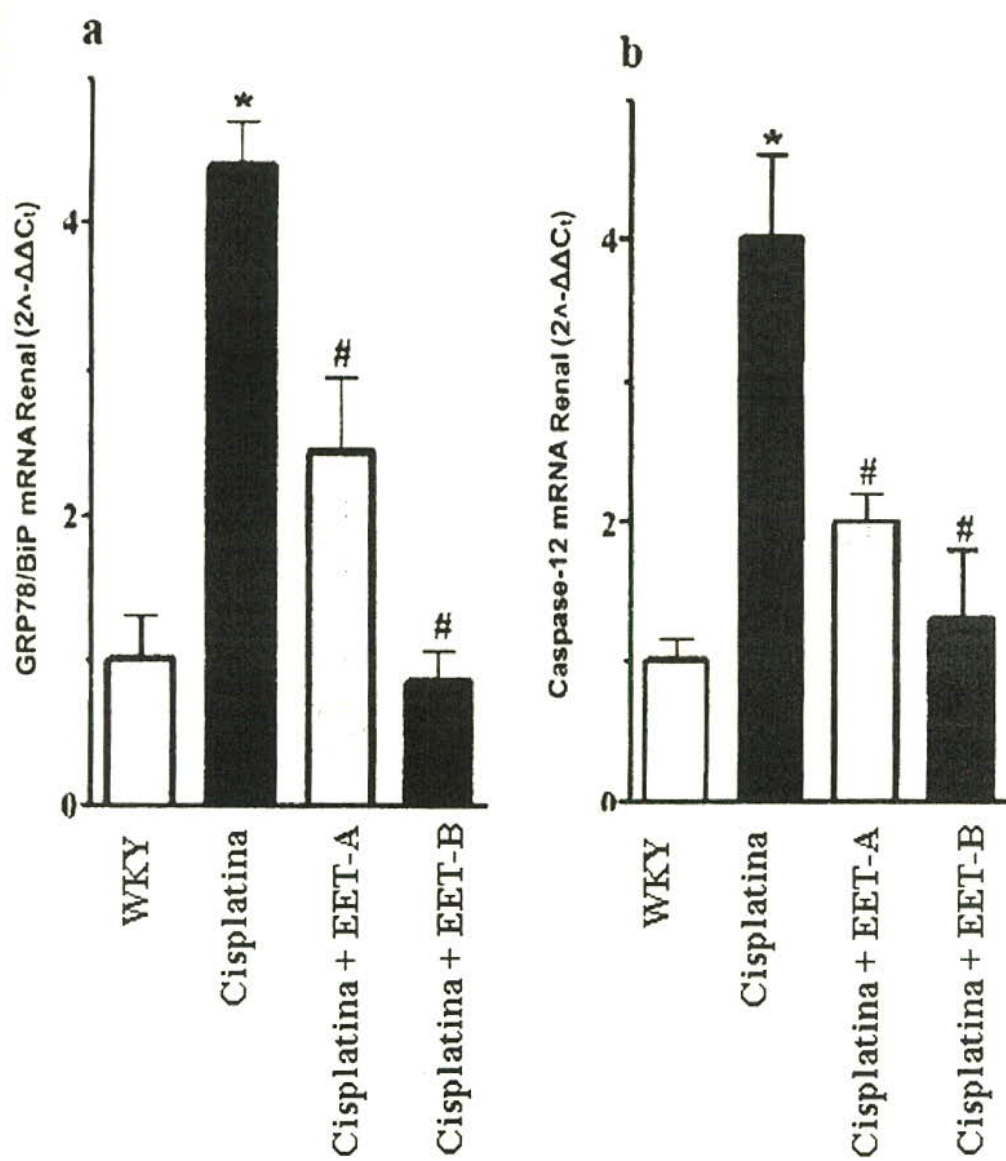


Figura 11

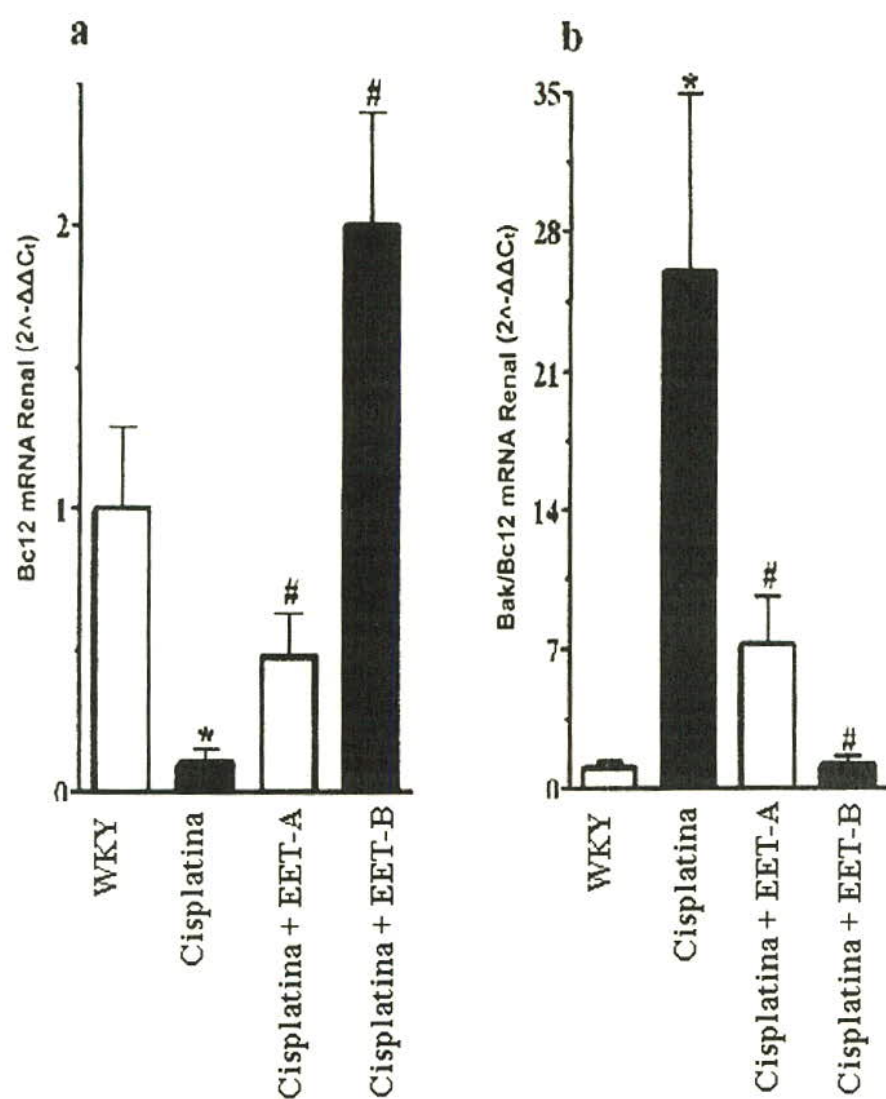


Figura 12

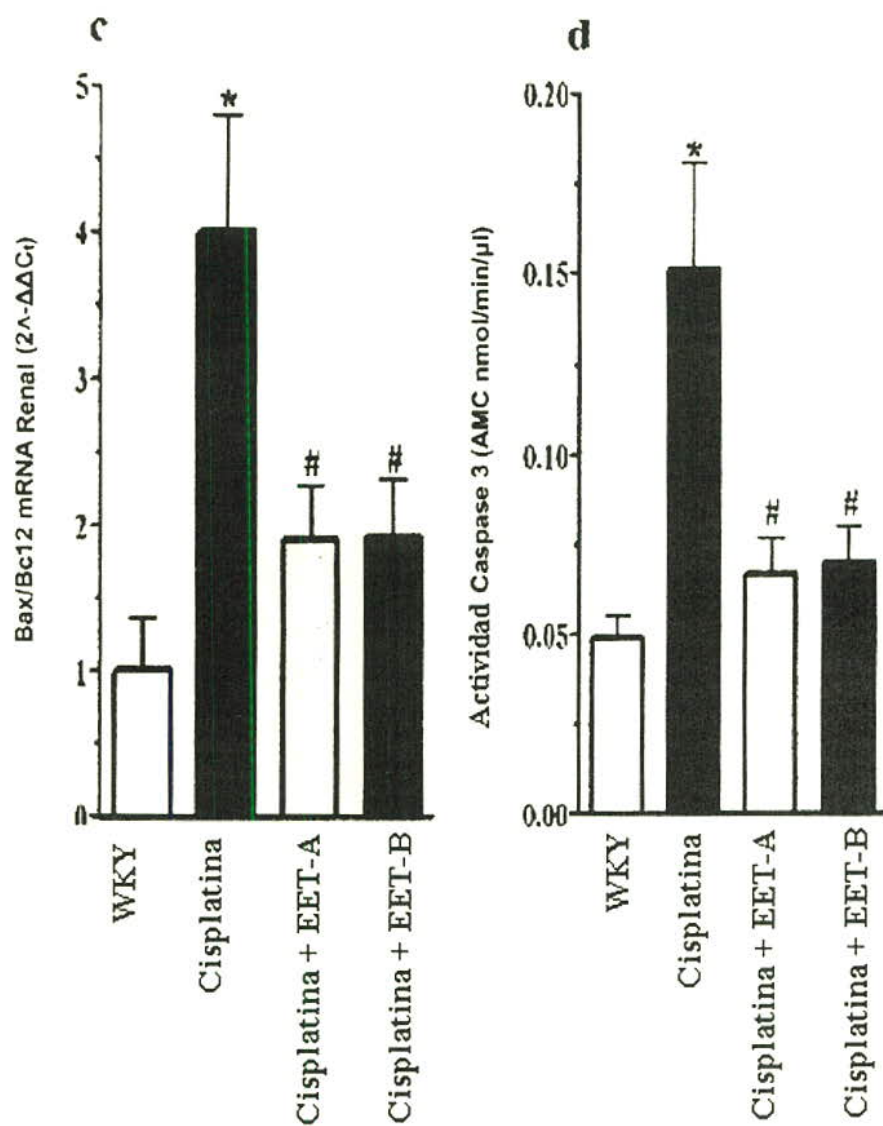
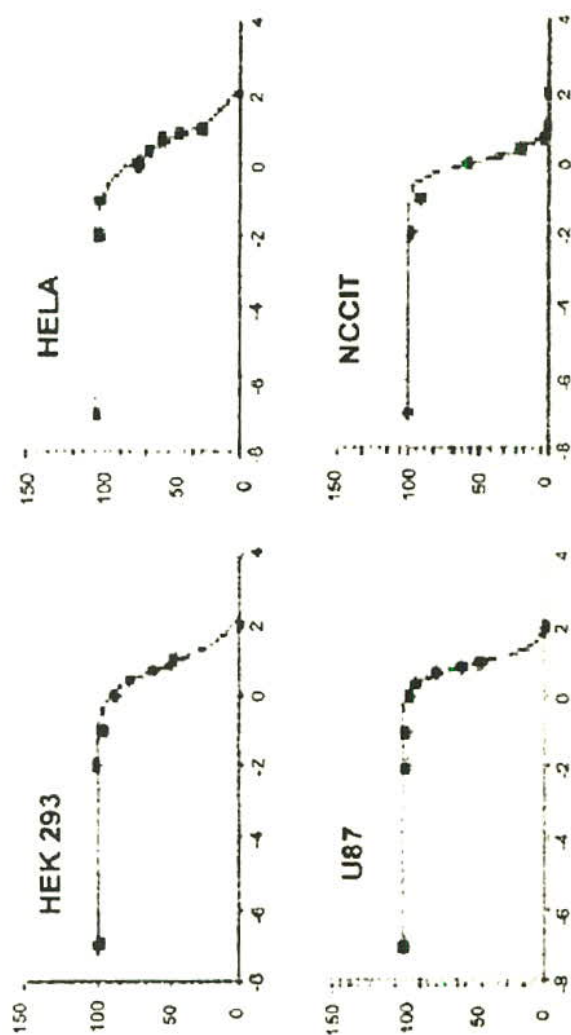


Figura 12, Continuada

A



B

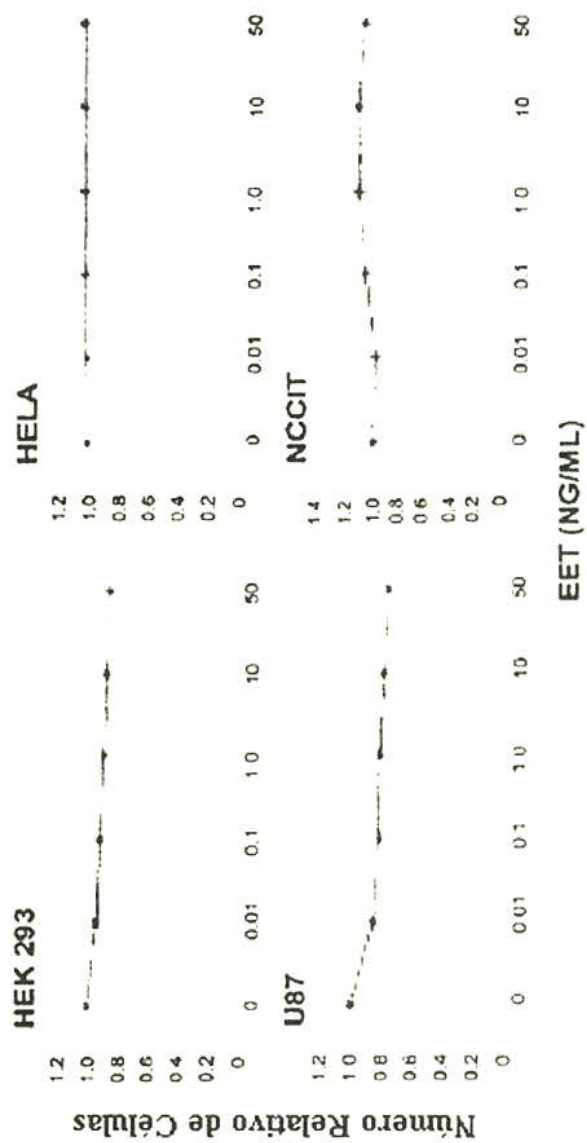


Figura 13

224
223

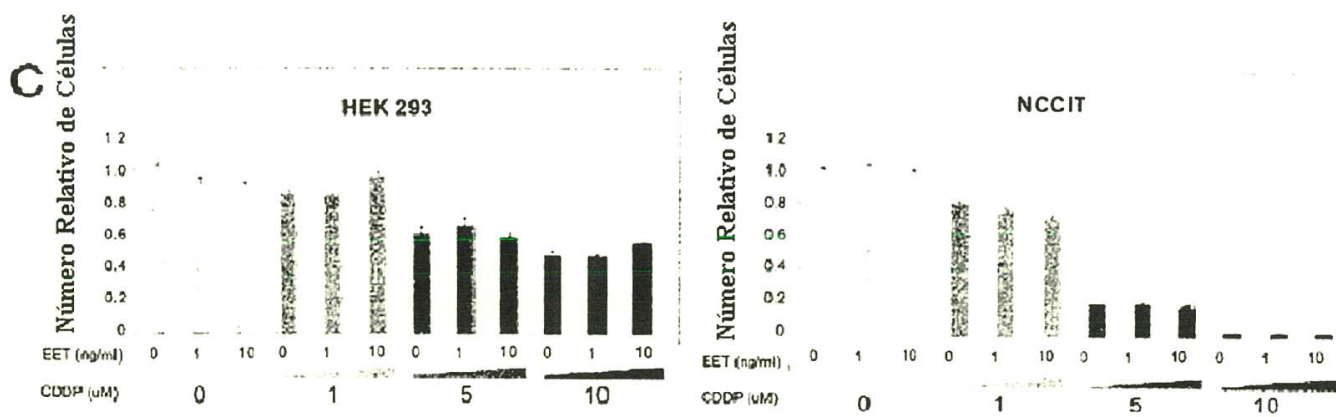
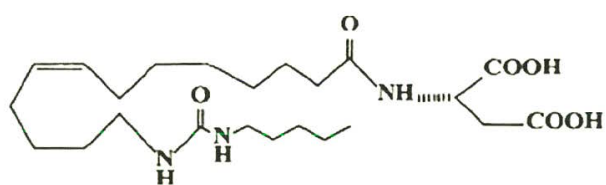


Figura 13, Continuada

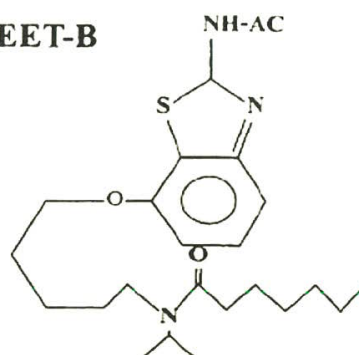
122
224
225
522

EET-A



(S)-2-(13-(3-butylureido)tridec-8(Z)-namido)succinic acid

EET-B

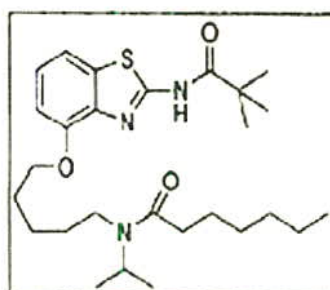


N-(5-((2-acetamidobenzo[d]thiazol-4-yl)oxy)pentyl)-N-isopropylheptanamide

Figura 14

226
225

N-isopropyl-*N*-(5-((2-pivalamidobenzo[d]thiazol-4-yl)oxy)pentyl)heptanamide



(EET-B)

Scheme

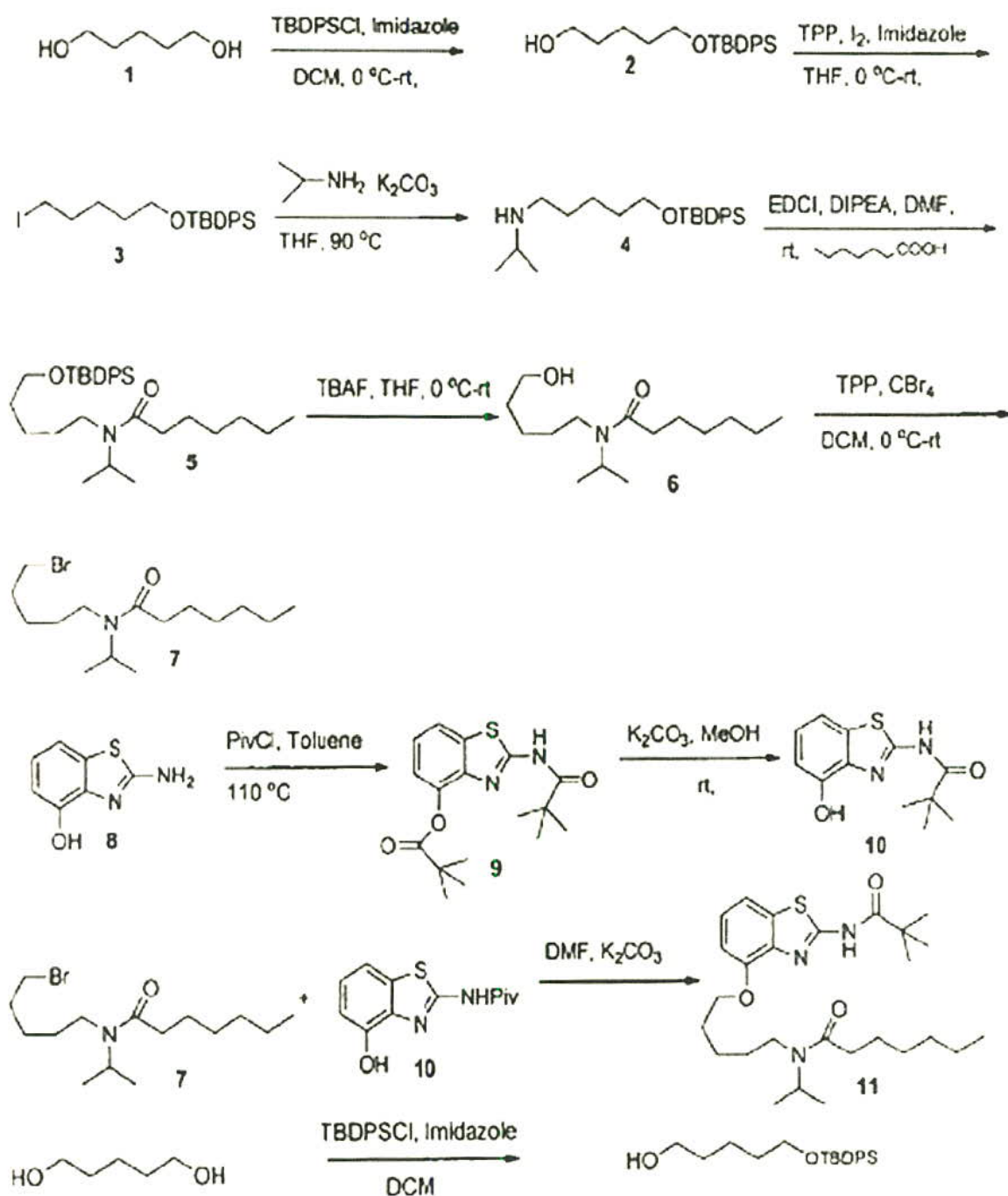
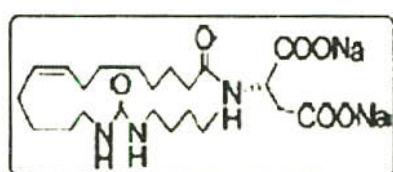


Figura 15

Sodium (S)-2-(13-(3-pentylureido)tridec-8(Z)-enamido)succinate



(EET-A)

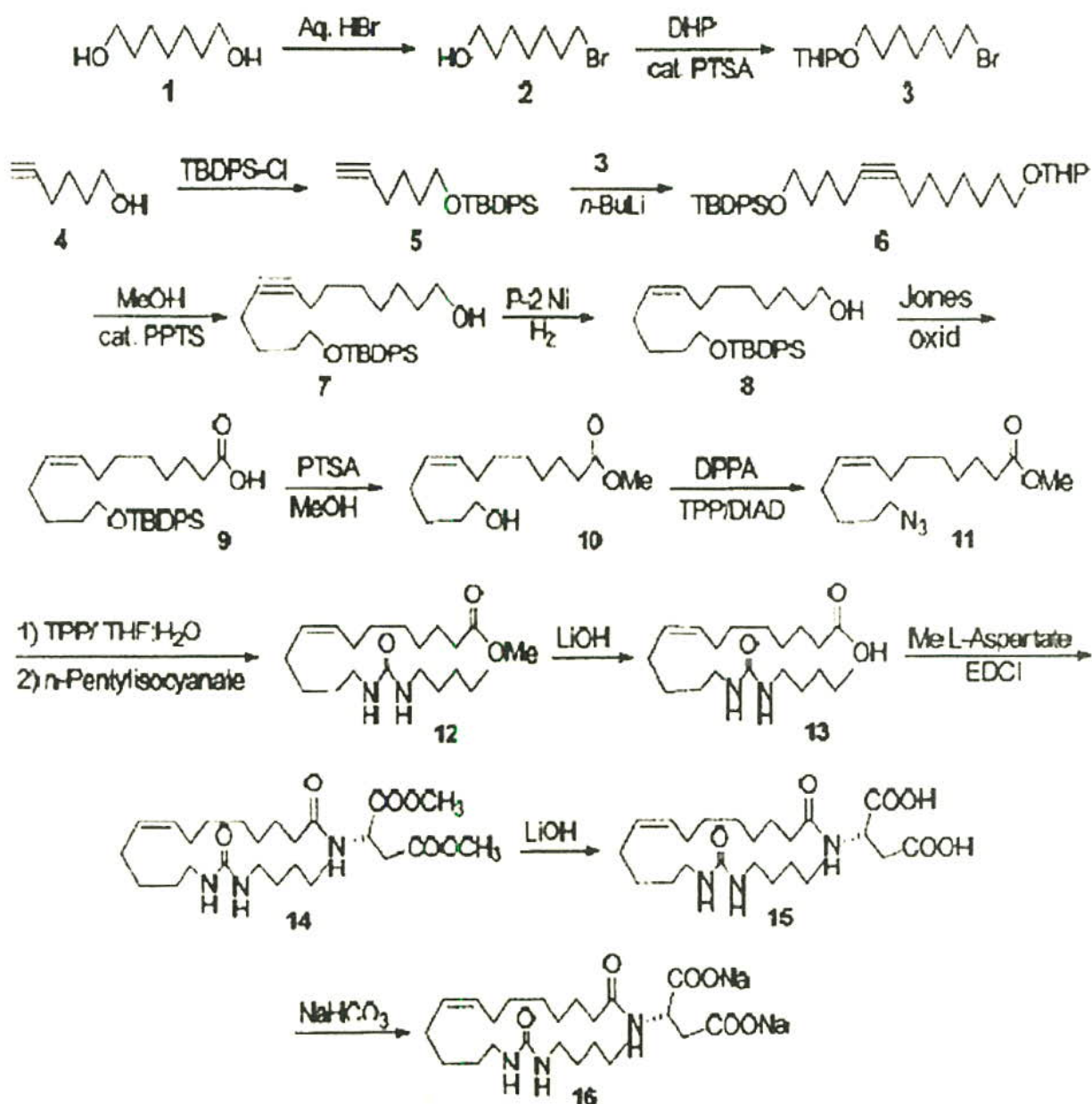


Figura 16

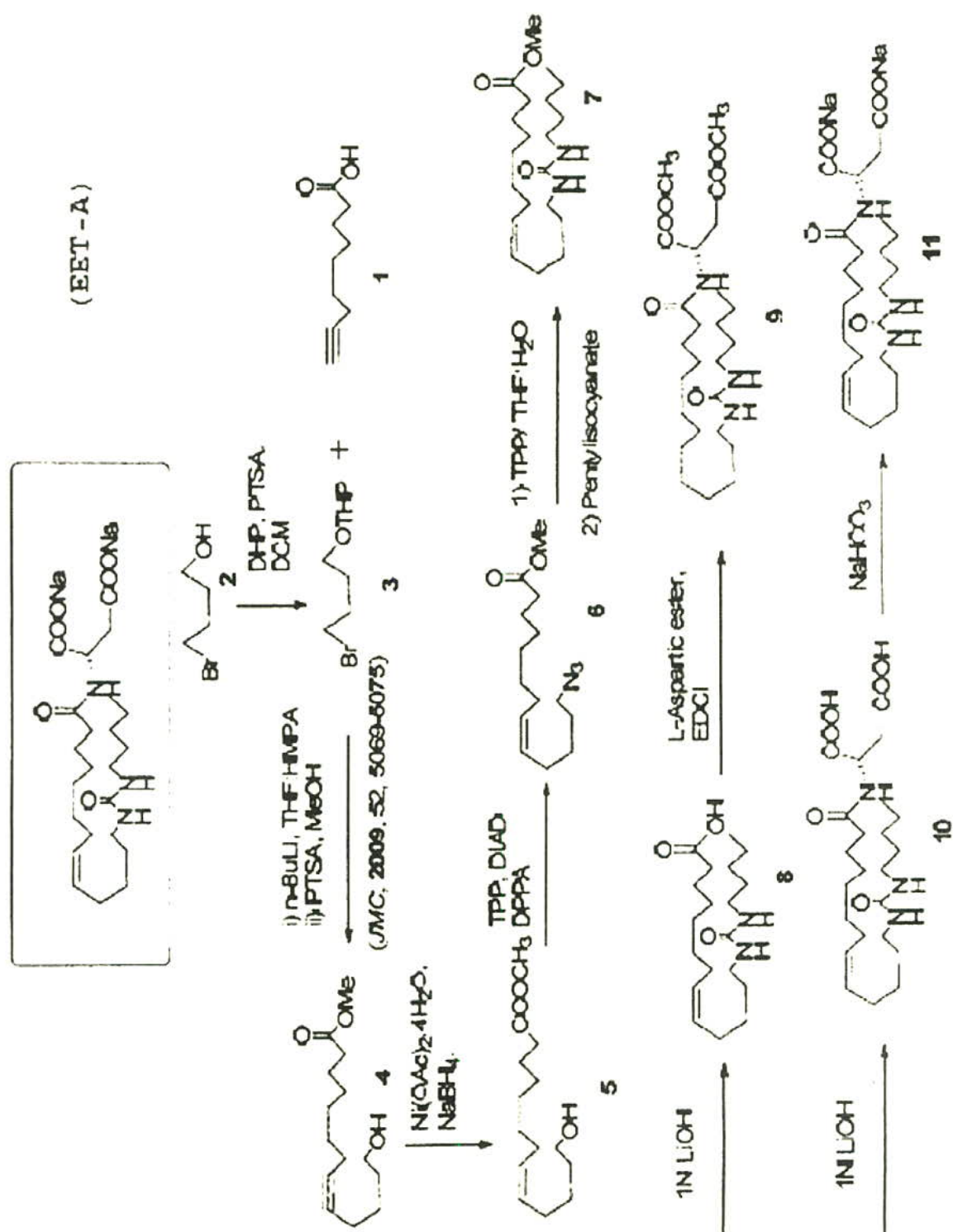


Figura 16B

EPOXYEICOSATRIENOIC ACID ANALOGS AND METHODS OF MAKING AND USING THE SAME

CROSS-REFERENCE TO RELATED APPLICATIONS

[0001] This application claims the benefit of U.S. Provisional Appn. No. 61/472,410, filed April 6, 2011, and U.S. Provisional Appn. No. 61/608,361 filed March 8, 2012, both of which are hereby incorporated by reference herein for all purposes

STATEMENT REGARDING FEDERALLY SPONSORED RESEARCH

[0002] This invention was made with government support under DK38226, HL59699, GM31278, and HL51055 awarded by the National Institutes of Health. The government has certain rights in the invention.

FIELD OF THE INVENTION

[0003] This invention relates generally to analogs of epoxyeicososatrienoic acid (EET). More particularly, the present invention is directed to EET analogs that act as EET agonists and are useful as medications in the treatment of drug-induced nephrotoxicity, hypertension and other related conditions.

BACKGROUND OF THE INVENTION

[0004] Epoxyeicosatrienoic acids (EETs) are signaling molecules that can act as short-range hormones, (i.e. they are autocrine and paracrine mediators) of the cardiovascular system and kidney. They produce vasorelaxation as well as anti-inflammatory and pro-fibrinolytic effects.

[0005] **Hypertension and Related Conditions.** Cardiovascular disease afflicts 81 million of the 300 million people in the United States, and 75 million of these people have hypertension. CYP epoxygenase metabolites have biological actions that implicate them as important contributors to cardiovascular function and blood pressure control.

[0006] One of the first biological activities described for epoxyeicosatrienoic acids (EETs) was inhibition of renal tubular sodium reabsorption. Subsequently, EETs were determined to dilate blood vessels and were identified as endothelium-derived hyperpolarizing factors (EDHF). These biological actions are consistent with the idea that EETs would be eicosanoids that contribute to lowering of blood pressure and prevent salt-sensitive hypertension.

[0007] Altered levels of EETs may contribute to hypertension in humans. A single nucleotide polymorphism in a CYP epoxygenase gene is associated with hypertension. Experimental studies in rodents have also demonstrated hypertension in conditions where kidney CYP epoxygenase enzyme and/or EET levels were decreased. Increasing EET levels with 11,12-EET-SI, a 11,12-EET analog, improved renal afferent arteriolar function *in vitro*.

[0008] Currently, soluble epoxide hydrolase inhibitors (sEHI) are used *in vivo* to increase EET levels and this results in a generalized increase in 11,12-EET and 14,15-EET and to a lesser extent 8,9-EET. Recent *in vivo* studies have demonstrated that EET analogs lower blood pressure in hypertensive rats, and also ameliorate the metabolic syndrome phenotype in heme-oxygenase 2 deficient mice and prevent the adiposity-related vascular and renal damage. It does appear as if some of the EET agonists like NUDSA may also inhibit sEH and increase CYP2C epoxygenase expression. This type of combinational activity described for NUDSA could provide added beneficial effects. As a whole, these findings have generated interest in targeting the CYP epoxygenase pathway and EETs for the treatment of hypertension.

[0009] Even though EETs have actions on renal tubular transport and vascular function that are essential for blood pressure regulation it has become apparent that additional biological actions ascribed to EETs made them an excellent therapeutic target for other cardiovascular diseases. These additional activities demonstrated for EETs include inhibition of platelet aggregation and anti-inflammation. EETs also have been found to have effects on vascular migration and proliferation, including promoting angiogenesis. Thus, EETs have become a therapeutic target for end organ damage associated with cardiovascular diseases, cardiac ischemic injury, atherosclerosis, and stroke.

[0010] The therapeutic potential for EET agonists and sEHIs could extend beyond hypertension and cardiovascular diseases. Neural protection from ischemic injury has been attributed to sEHI actions on blood vessels and neurons. There is growing evidence that sEHIs provide protection from ischemic damage in the brain and heart through effects on apoptotic signaling cascades. EET agonists and sEHIs have also been demonstrated to modulate pain in various experimental animal models. Other possible therapeutic applications for EET agonists are sure to be discovered when these agents are tested in other disease models.

[0011] Accordingly, there is a need in the art for novel EET agonists that are active as therapeutic agents against hypertension and related cardiovascular and neural disease.

[0012] **Drug-Induced Nephrotoxicity.** A common side-effect of many drugs used in the treatment of various conditions is nephrotoxicity. For instance, cisplatin, a platinum-based inorganic compound, is one of the most potent and widely used chemotherapy agents available to treat a variety of malignancies, including ovarian, lung, testicular and bladder cancers. Although, cisplatin is used as an important chemotherapy drug in the clinic, it has potentially lethal adverse effects. The most common of this adverse effect is nephrotoxicity (25-40% of cisplatin treated patients develop acute renal failure), which limits the safe and effective use of this widely used chemotherapeutic agent. The pathophysiology of cisplatin-induced nephrotoxicity involves enhanced oxidative stress, inflammation, increased endoplasmic reticulum (ER) stress and renal cell apoptosis.

[0013] EET is an important lipid mediator that exerts a number of biological actions including anti-inflammatory, anti-oxidative and anti-apoptotic activities. A numbers of studies

demonstrated that with anti-inflammatory, anti-apoptotic and anti-oxidative activities, EET possess strong organ protective potential. For instance, increased EET bioavailability resulted from reduced conversion of EET to its less active form by soluble epoxide hydrolase (sEH) inhibitor provides kidney protection in a number of preclinical models of human diseases. These studies demonstrated that the kidney protective effect of EET was related to anti-inflammatory and anti-oxidative effects of EET. Indeed, there is strong evidence that EET have anti-inflammatory effects against acute and chronic inflammation. Apart from inflammation, EET also protect cells from apoptosis. Thus, there are strong evidences of EET's ability to protect organ by mechanisms involve its anti-inflammatory, anti-apoptotic and anti-oxidative activities.

[0014] However, it is known that endogenously produced EETs are chemically and metabolically labile. Also, rapid metabolism, low solubility and storage issue limit the therapeutic prospect of EET. As such considerable interest has arisen in developing strategies to enhance the bioavailability of EET. In this effort, attempts have been made to develop EET analogs that possess EET-mimetic activity along with several key features important for stability and bio-availability. Several of such EET analogs have demonstrated a number of biological activities including organ protection.

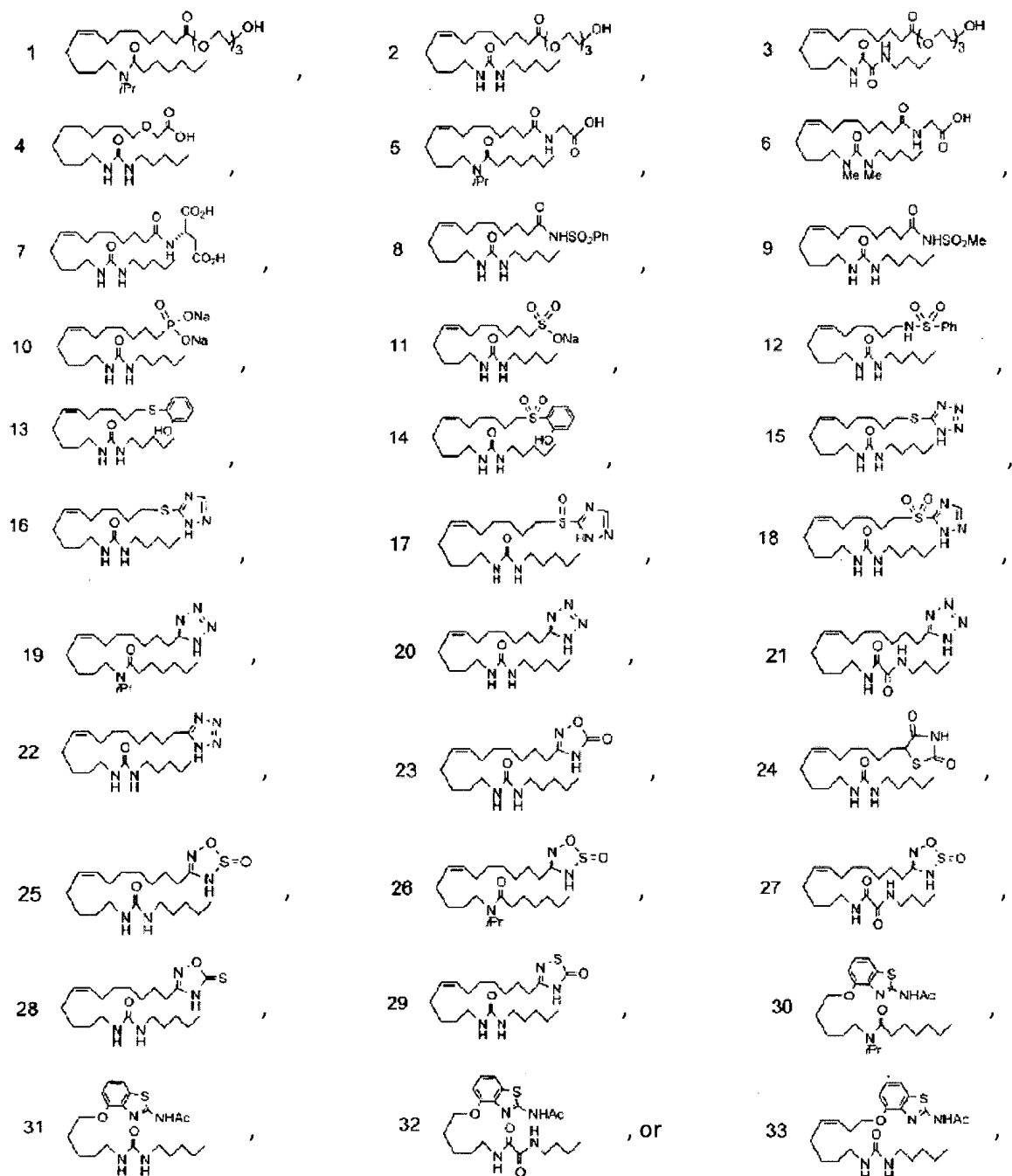
[0015] In the present study we have investigated the kidney protective effect of two newly developed orally active EET analogs in cisplatin-induced nephrotoxicity. We have demonstrated that EET analogs offered marked reno-protection during cisplatin administration and this effect was related to their anti-oxidative, anti-inflammatory, anti-ER stress and anti-apoptotic activities. We have further demonstrated that while protecting the kidney from the deleterious nephrotoxic effects of cisplatin, these EET analogs did not compromise cisplatin's chemotherapeutic effect.

[0016] Accordingly, there is a need in the art for novel EET analogs that are active as therapeutic agents against the deleterious nephrotoxic effects of cisplatin.

SUMMARY OF THE INVENTION

[0017] Here, the inventors demonstrate novel compositions of epoxyeicosatrienoic acids (EET) analogs and methods of use thereof for the treatment of cardiovascular disease, particularly the use of such compositions as anti-hypertensive agents.

[0018] Accordingly, the invention encompasses in a first aspect certain compounds that are 14,15-EET analogs. In certain embodiments, the compound has the structure of any one of the following compounds.



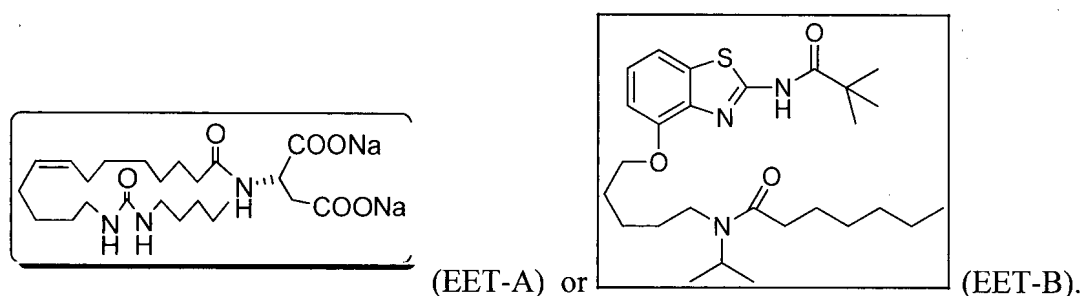
[0019] In one embodiment, the invention comprises compounds 7 and 30.

[0020] In another aspect, the invention provides a method of making any of compounds 1-33 as described and claimed herein.

[0021] Compounds according to the invention are, in certain embodiments, provided in the form of a composition comprising a compound as described and claimed herein in combination with a pharmaceutically acceptable carrier.

[0022] The present invention further encompasses methods of providing treatment of hypertension in a subject, resulting in a reduction of blood pressure in a subject. Such methods include steps of administering to a subject a therapeutically effective amount of any of compounds 1-33, alone or in combination, as described and claimed herein, whereby blood pressure in the subject is reduced. In one embodiment, the method comprises administering compound 7. In an alternate embodiment the method comprises administering compound 30.

[0023] In another embodiment, the present invention provides EET analogs having the structures selected from the group consisting of



[0024] In yet another embodiment, the invention encompasses the use of any of the 14,15-EET analogs described above for the manufacture of a medicament for treating hypertension in a subject. As well, the present invention further contemplates compounds according to the invention for use in treating hypertension in a subject.

[0025] The present invention further encompasses methods of treating drug-induced nephrotoxicity in a subject. In one embodiment, the invention comprises providing treatment for the deleterious nephrotoxic effects of cisplatin in a subject. Such methods include steps of administering to a subject a therapeutically effective amount of a compound as described and claimed herein, whereby the deleterious nephrotoxic effects of the drug in the subject are reduced.

[0026] Other objects, features and advantages of the present invention will become apparent after review of the specification, claims and drawings.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

[0027] Figure 1A depicts the chemical structure SRD-I-71-9, which corresponds to EET analog compound 26 of Table 1. Figure 1B shows mean measured blood pressure as a function of days of treatment in spontaneously hypertensive rats administered a composition containing vehicle or compound 26. Figure 1C shows mean measured blood pressure at day 0, day 7, and day 14 in spontaneously hypertensive rats administered a composition containing vehicle or compound 26.

[0028] Figure 2A depicts the chemical structure LGK-I-119-15, which corresponds to EET analog compound 20 of Table 1. Figure 2B shows mean measured blood pressure as a function of days of treatment in spontaneously hypertensive rats administered a composition containing vehicle or compound 20. Figure 2C shows mean measured blood pressure at day 0, day 7, and day 14 in spontaneously hypertensive rats administered a composition containing vehicle or compound 20.

[0029] Figure 3A depicts the chemical structure JLJ-I-94-6, which corresponds to EET analog compound 7 of Table 1. Figure 3B shows mean measured blood pressure as a function of days of treatment in spontaneously hypertensive rats administered a composition containing vehicle or compound 7. The data is graphed as 12 hour averages. Compounds were delivered i.p. for 14 days. Figure 3C shows mean measured blood pressure at day 0, day 7, and day 14 relative to initial treatment in spontaneously hypertensive rats administered a composition containing vehicle or compound 7.

[0030] Figure 4A depicts the chemical structure MV-IV-110-20, which corresponds to EET analog compound 30 of Table 1. Figure 4B shows mean measured blood pressure as a function of days of treatment in spontaneously hypertensive rats administered a composition containing vehicle or compound 30. The data is graphed as 12 hour averages. Figure 3C shows mean measured blood pressure at day 0, day 7, and day 14 in spontaneously hypertensive rats administered a composition containing vehicle or compound 30.

[0031] Figure 5A shows mean measured blood pressure as a function of days of treatment in angiotensin II induced hypertensive rats administered a composition containing vehicle or compound 7. The data is graphed as 12 hour averages. Figure 5B shows mean measured blood pressure at day 0, day 7, and day 14 in angiotensin II induced hypertensive rats administered a composition containing vehicle or compound 7.

[0032] Figure 6A shows mean measured blood pressure as a function of days of treatment in angiotensin II induced hypertensive rats administered a composition containing vehicle or compound 30. The data is graphed as 12 hour averages. Figure 6B shows mean measured blood pressure at day 0, day 7, and day 14 in angiotensin II induced hypertensive rats administered a composition containing vehicle or compound 30.

[0033] Figure 7: (a) Plasma creatinine, (b) Blood urea nitrogen (BUN), (c) kidney injury molecule-1, and (d) urinary NA Gin cisplatin administered rats pretreated with either EET analogs, EET-A and EET-B or vehicle. * $p < 0.05$ vs. normal Wistar Kyotorat; # $p < 0.05$ vs. vehicle treated rat administered cisplatin. Data expressed as mean $\pm$ SEM, $n = 5-7$.

[0034] Figure 8A: Representative photomicrographs of Periodicacid-Schiff(PAS) Staining (200x) depicting tubular cast formation along with the calculated cast area fraction (%) in the renal cortical sections of different experimental groups. * $p < 0.05$ vs. normal Wistar Kyotorat; # $p < 0.05$ vs. vehicle treated rat. Data expressed as mean $\pm$ SEM, $n = 5-7$.

[0035] Figure 8B: Representative photomicrographs of Periodicacid-Schiff(PAS) Staining (200x) depicting tubular cast formation along with the calculated cast area fraction (%) in the renal medullary sections of different experimental groups. * $p < 0.05$ vs. normal Wistar Kyoto rat; # $p < 0.05$ vs. vehicle treated rat. Data expressed as mean $\pm$ SEM, $n = 5-7$.

[0036] Figure 9: RT-PCR analysis form RNA expressions of (a) *NOX1*, (b) *gp91Phox*, (d) *SOD1*, (e) *SOD2*, (f) *SOD3* and (c) measurements of kidney thiobarbituric acid-reactive substances(TBARS) in cisplatin administered rats treated with either EET analogs A, B or vehicle. * $p < 0.05$ vs. normal Wistar Kyoto rat; # $p < 0.05$ vs. vehicle pretreated rat administered cisplatin. Data expressed as mean $\pm$ SEM, $n = 5-7$.

[0037] Figure 10: Renal expression of inflammatory marker genes TNF- α (a), IL-6 (b) and IL-1 β (c) in cisplatin administered rats pretreated with either EET analogs EET-A and EET-B or vehicle. * $p < 0.05$ vs. normal Wistar Kyoto rat; # $p < 0.05$ vs. vehicle pretreated rat administered cisplatin. Data expressed as mean $\pm$ SEM, $n = 5-7$.

[0038] Figure 11: Renal expression of endoplasmic reticulum stress marker genes *GRP78/BiP*(a) and *caspase12* (b) in cisplatin administered rats treated with either EET analogs EET-A and EET-B or vehicle. * $p < 0.05$ vs. normal Wistar Kyoto rat; # $p < 0.05$ vs. vehicle treated rat administered. Data expressed as mean $\pm$ SEM, $n = 5-7$.

[0039] Figure 12: Renal cortical caspase 3 activity (a) and renal expression of anti-apoptotic gene Bcl2 (b) in different experimental groups. The ratios between the renal expression of anti-apoptotic gene Bcl2 and the apoptotic genes Bak (c) and Bax (d) in different experimental groups. * $p < 0.05$ vs. normal Wistar Kyoto rat; # $p < 0.05$ vs. vehicle treated rat administered cisplatin. Data expressed as mean $\pm$ SEM, $n = 5-7$.

[0040] Figure 13A: Cytotoxic effect of cisplatin in normal kidney cell (HEK293) and cancer cells (Hela, U87, NCCIT).

[0041] Figure 13B: Effect of EET analog EET-A on the cell growth of HEK293, Hela, U87, NCCIT. EET-A does not effect the chemotherapeutic effect of cisplatin in NCCIT cancer cells. Data expressed as mean $\pm$ SEM, $n = 5-7$.

[0042] Figure 14: Structure of EET analogs EET-A and EET-B.

[0043] Figure 15: Synthesis of EET-B.

[0044] Figure 16A: Synthesis of EET-A.

[0045] Figure 16B: Alternate synthesis of EET-A.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

I. IN GENERAL

[0046] Before the present materials and methods are described, it is understood that this invention is not limited to the particular methodology, protocols, materials, and reagents described, as these may vary. It is also to be understood that the terminology used herein is for the purpose of describing particular embodiments only, and is not intended to limit the scope of the present invention which will be limited only by any later-filed nonprovisional applications.

[0047] It must be noted that as used herein and in the appended claims, the singular forms “a”, “an”, and “the” include plural reference unless the context clearly dictates otherwise. As well, the terms “a” (or “an”), “one or more” and “at least one” can be used interchangeably herein. It is also to be noted that the terms “comprising”, “including”, and “having” can be used interchangeably.

[0048] Unless defined otherwise, all technical and scientific terms used herein have the same meanings as commonly understood by one of ordinary skill in the art to which this invention belongs. Although any methods and materials similar or equivalent to those described herein can be used in the practice or testing of the present invention, the preferred methods and materials are now described. All publications and patents specifically mentioned herein are incorporated by reference for all purposes including describing and disclosing the chemicals, instruments, statistical analysis and methodologies which are reported in the publications which might be used in connection with the invention. All references cited in this specification are to be taken as indicative of the level of skill in the art. Nothing herein is to be construed as an admission that the invention is not entitled to antedate such disclosure by virtue of prior invention.

II. THE INVENTION

[0049] The inventors here disclose novel EET analogs, EET agonists, and other related lipid compounds, and compositions comprising such compounds, as well as methods of synthesizing such compounds and the use of such compositions in treating hypertension and related conditions in treating the deleterious effects of cisplatin nephrotoxicity and related conditions. The inventors' have shown that several of the compounds exhibit anti-hypertensive effects and are well-tolerated in relevant rat models. A number of different delivery options are possible, including intraperitoneal injections, blood injections, or oral delivery. Liposomes, mycelles, and emulsifiers can be used in to make these preparations more soluble.

[0050] As used herein, "subject" means mammals and non-mammals. "Mammals" means any member of the class Mammalia including, but not limited to, humans, non-human primates such as chimpanzees and other apes and monkey species; farm animals such as cattle, horses, sheep, goats, and swine; domestic animals such as rabbits, dogs, and cats; laboratory animals including rodents, such as rats, mice, and guinea pigs; and the like. Examples of non-mammals include, but are not limited to, birds, and the like. The term "subject" does not denote a particular age or sex.

[0051] As used herein, "administering" or "administration" includes any means for introducing a compound of the present invention into the body, preferably into the systemic circulation. Examples include but are not limited to oral, buccal, sublingual, pulmonary, transdermal, transmucosal, as well as subcutaneous, intraperitoneal, intravenous, and intramuscular injection.

[0052] A "therapeutically effective amount" means an amount of a compound that, when administered to a subject for treating a disease or condition, is sufficient to effect such treatment for the disease. The "therapeutically effective amount" will vary depending on the compound, the disease state being treated, the severity of the disease treated, the age and relative health of the subject, the route and form of administration, the judgment of the attending medical or veterinary practitioner, and other factors.

[0053] For purposes of the present invention, "treating" or "treatment" describes the management and care of a patient for the purpose of combating the disease, condition, or disorder. The terms embrace both preventative, i.e., prophylactic, and palliative treatments. Treating includes the administration of a compound of present invention to prevent the onset of the symptoms or complications, alleviating the symptoms or complications, or eliminating the disease, condition, or disorder.

[0054] A compound is administered to a patient in a therapeutically effective amount. A compound can be administered alone or as part of a pharmaceutically acceptable composition. In addition, a compound or composition can be administered all at once, as for example, by a bolus injection, multiple times, such as by a series of tablets, or delivered substantially uniformly over a period of time, as for example, using transdermal delivery. Further, the dose of the compound can be varied over time. A compound can be administered using an immediate release formulation, a controlled release formulation, or combinations thereof. The term "controlled release" includes sustained release, delayed release, and combinations thereof.

[0055] A pharmaceutical composition of the invention can be prepared, packaged, or sold in bulk, as a single unit dose, or as a plurality of single unit doses. As used herein, a "unit dose" is discrete amount of the pharmaceutical composition comprising a predetermined amount of the active ingredient. The amount of the active ingredient is generally equal to the dosage of the

active ingredient that would be administered to a patient or a convenient fraction of such a dosage such as, for example, one-half or one-third of such a dosage.

[0056] The relative amounts of the active ingredient, the pharmaceutically acceptable carrier, and any additional ingredients in a pharmaceutical composition of the invention will vary, depending upon the identity, size, and condition of the human treated and further depending upon the route by which the composition is to be administered. By way of example, the composition can comprise between 0.1% and 100% (w/w) active ingredient. A unit dose of a pharmaceutical composition of the invention will generally comprise from about 100 milligrams to about two grams of the active ingredient, and preferably comprises from about 200 milligrams to about 1.0 gram of the active ingredient.

[0057] A preferred dosage for humans would be in the low mg/kg range administered orally once daily. Twice daily would also be acceptable.

[0058] To improve water solubility, the preferred compounds can be formulated with cyclodextrins or cyclodextrin-derived products, derivatized with substituents such as polyethylene glycols or other polar functionality, or included in liposomes. For oral delivery, the compounds may be modified with lipophilic functionality or conjugated to actively absorbed molecules. Other approaches are discussed in "Strategies to improve oral drug bioavailability", Isabel Gomez-Orellana, Expert Opinion on Drug Delivery, May 2005, Vol. 2, No. 3 : Pages 419-433, which is incorporated by reference herein.

[0059] Another aspect of the invention relates to a kit comprising a pharmaceutical composition of the invention and instructional material. Instructional material includes a publication, a recording, a diagram, or any other medium of expression which is used to communicate the usefulness of the pharmaceutical composition of the invention for one of the purposes set forth herein in a human. The instructional material can also, for example, describe an appropriate dose of the pharmaceutical composition of the invention. The instructional material of the kit of the invention can, for example, be affixed to a container which contains a pharmaceutical composition of the invention or be shipped together with a container which contains the pharmaceutical composition. Alternatively, the instructional material can be shipped separately from the container with the intention that the instructional material and the pharmaceutical composition be used cooperatively by the recipient.

[0060] The invention also includes a kit comprising a pharmaceutical composition of the invention and a delivery device for delivering the composition to a human. By way of example, the delivery device can be a squeezable spray bottle, a metered-dose spray bottle, an aerosol spray device, an atomizer, a dry powder delivery device, a self-propelling solvent/powder-dispensing device, a syringe, a needle, a tampon, or a dosage-measuring container. The kit can further comprise an instructional material as described herein. The kit also comprises a container for the separate compositions, such as a divided bottle or a divided foil packet. Additional

examples of containers include syringes, boxes, bags, and the like. Typically, a kit comprises directions for the administration of the separate components. The kit form is particularly advantageous when the separate components are preferably administered in different dosage forms (e.g., oral and parenteral), are administered at different dosage intervals, or when titration of the individual components of the combination is desired by the prescribing physician.

[0061] It may be desirable to provide a memory aid on the kit, e.g., in the form of numbers next to the tablets or capsules whereby the numbers correspond with the days of the regimen that the tablets or capsules so specified should be ingested. Another example of such a memory aid is a calendar printed on the card, e.g., as follows "First Week, Monday, Tuesday, . . . etc. . . . Second Week, Monday, Tuesday," etc. Other variations of memory aids will be readily apparent. A "daily dose" can be a single tablet or capsule or several pills or capsules to be taken on a given day.

[0062] In another embodiment of the present invention, a dispenser designed to dispense the daily doses one at a time in the order of their intended use is provided. Preferably, the dispenser is equipped with a memory aid, so as to further facilitate compliance with the dosage regimen. An example of such a memory aid is a mechanical counter, which indicates the number of daily doses that have been dispensed. Another example of such a memory aid is a battery-powered micro-chip memory coupled with a liquid crystal readout, or audible reminder signal which, for example, reads out the date that the last daily dose has been taken and/or reminds one when the next dose is to be taken.

[0063] The compounds of the present invention, optionally comprising other pharmaceutically active compounds, can be administered to a patient either orally, rectally, parenterally, (for example, intravenously, intramuscularly, or subcutaneously) intracisternally, intravaginally, intraperitoneally, intravesically, locally (for example, powders, ointments or drops), or as a buccal or nasal spray. Other contemplated formulations include projected nanoparticles, liposomal preparations, resealed erythrocytes containing the active ingredient, and immunologically-based formulations.

[0064] Parenteral administration of a pharmaceutical composition includes any route of administration characterized by physical breaching of a tissue of a human and administration of the pharmaceutical composition through the breach in the tissue. Parenteral administration thus includes administration of a pharmaceutical composition by injection of the composition, by application of the composition through a surgical incision, by application of the composition through a tissue-penetrating non-surgical wound, and the like. In particular, parenteral administration includes subcutaneous, intraperitoneal, intravenous, intraarterial, intramuscular, or intrasternal injection and intravenous, intraarterial, or kidney dialytic infusion techniques. For example, the compositions of the present invention can be administered to a subject by brain (via vPAG) injections, intrathecal injections, intraperitoneal injections, or blood injections.

[0065] Compositions suitable for parenteral injection comprise the active ingredient combined with a pharmaceutically acceptable carrier such as physiologically acceptable sterile aqueous or nonaqueous solutions, dispersions, suspensions, or emulsions, or may comprise sterile powders for reconstitution into sterile injectable solutions or dispersions. Examples of suitable aqueous and nonaqueous carriers, diluents, solvents, or vehicles include water, isotonic saline, ethanol, polyols (propylene glycol, polyethylene glycol, glycerol, and the like), suitable mixtures thereof, triglycerides, including vegetable oils such as olive oil, or injectable organic esters such as ethyl oleate. Proper fluidity can be maintained, for example, by the use of a coating such as lecithin, by the maintenance of the required particle size in the case of dispersions, and/or by the use of surfactants. Such formulations can be prepared, packaged, or sold in a form suitable for bolus administration or for continuous administration. Injectable formulations can be prepared, packaged, or sold in unit dosage form, such as in ampules, in multi-dose containers containing a preservative, or in single-use devices for auto-injection or injection by a medical practitioner.

[0066] Formulations for parenteral administration include suspensions, solutions, emulsions in oily or aqueous vehicles, pastes, and implantable sustained-release or biodegradable formulations. Such formulations can further comprise one or more additional ingredients including suspending, stabilizing, or dispersing agents. In one embodiment of a formulation for parenteral administration, the active ingredient is provided in dry (i.e. powder or granular) form for reconstitution with a suitable vehicle (e.g. sterile pyrogen-free water) prior to parenteral administration of the reconstituted composition.

[0067] The pharmaceutical compositions can be prepared, packaged, or sold in the form of a sterile injectable aqueous or oily suspension or solution. This suspension or solution can be formulated according to the known art, and can comprise, in addition to the active ingredient, additional ingredients such as the dispersing agents, wetting agents, or suspending agents described herein. Such sterile injectable formulations can be prepared using a non-toxic parenterally-acceptable diluent or solvent, such as water or 1,3-butanediol, for example. Other acceptable diluents and solvents include Ringer's solution, isotonic sodium chloride solution, and fixed oils such as synthetic mono- or di-glycerides. Other parentally-administrable formulations which are useful include those which comprise the active ingredient in microcrystalline form, in a liposomal preparation, or as a component of a biodegradable polymer systems. Compositions for sustained release or implantation can comprise pharmaceutically acceptable polymeric or hydrophobic materials such as an emulsion, an ion exchange resin, a sparingly soluble polymer, or a sparingly soluble salt.

[0068] The compounds according to the present invention may also contain adjuvants such as preserving, wetting, emulsifying, and/or dispersing agents, including, for example, parabens, chlorobutanol, phenol, sorbic acid, and the like. It may also be desirable to include isotonic

agents, for example, sugars, sodium chloride, and the like. Prolonged absorption of injectable pharmaceutical compositions can be brought about by the use of agents capable of delaying absorption, for example, aluminum monostearate and/or gelatin. In particular, liposomes, mysomes and emulsifiers can be used in to make the present compounds more soluble for delivery.

[0069] Dosage forms can include solid or injectable implants or depots. In preferred embodiments, the implant comprises an effective amount of an active agent and a biodegradable polymer. In preferred embodiments, a suitable biodegradable polymer can be selected from the group consisting of a polyaspartate, polyglutamate, poly(L-lactide), a poly(D,L-lactide), a poly(lactide-co-glycolide), a poly(ϵ -caprolactone), a polyanhydride, a poly(beta-hydroxy butyrate), a poly(ortho ester) and a polyphosphazene. In other embodiments, the implant comprises an effective amount of active agent and a silastic polymer. The implant provides the release of an effective amount of active agent for an extended period of about one week to several years.

[0070] Solid dosage forms for oral administration include capsules, tablets, powders, and granules. In such solid dosage form, the active compound is admixed with at least one inert customary excipient (or carrier) such as sodium citrate or dicalcium phosphate or (a) fillers or extenders, as for example, starches, lactose, sucrose, mannitol, or silicic acid; (b) binders, as for example, carboxymethylcellulose, alginates, gelatin, polyvinylpyrrolidone, sucrose, or acacia; (c) humectants, as for example, glycerol; (d) disintegrating agents, as for example, agar-agar, calcium carbonate, potato or tapioca starch, alginic acid, certain complex silicates, or sodium carbonate; (e) solution retarders, as for example, paraffin; (f) absorption accelerators, as for example, quaternary ammonium compounds; (g) wetting agents, as for example, cetyl alcohol or glycerol monostearate; (h) adsorbents, as for example, kaolin or bentonite; and/or (i) lubricants, as for example, talc, calcium stearate, magnesium stearate, solid polyethylene glycols, sodium lauryl sulfate, or mixtures thereof. In the case of capsules and tablets, the dosage forms may also comprise buffering agents.

[0071] A tablet comprising the active ingredient can, for example, be made by compressing or molding the active ingredient, optionally with one or more additional ingredients. Compressed tablets can be prepared by compressing, in a suitable device, the active ingredient in a free-flowing form such as a powder or granular preparation, optionally mixed with one or more of a binder, a lubricant, an excipient, a surface active agent, and a dispersing agent. Molded tablets can be made by molding, in a suitable device, a mixture of the active ingredient, a pharmaceutically acceptable carrier, and at least sufficient liquid to moisten the mixture.

[0072] Pharmaceutically acceptable excipients used in the manufacture of tablets include inert diluents, granulating and disintegrating agents, binding agents, and lubricating agents. Known dispersing agents include potato starch and sodium starch glycolate. Known surface

active agents include sodium lauryl sulfate. Known diluents include calcium carbonate, sodium carbonate, lactose, microcrystalline cellulose, calcium phosphate, calcium hydrogen phosphate, and sodium phosphate. Known granulating and disintegrating agents include corn starch and alginic acid. Known binding agents include gelatin, acacia, pre-gelatinized maize starch, polyvinylpyrrolidone, and hydroxypropyl methylcellulose. Known lubricating agents include magnesium stearate, stearic acid, silica, and talc.

[0073] Tablets can be non-coated or they can be coated using known methods to achieve delayed disintegration in the gastrointestinal tract of a human, thereby providing sustained release and absorption of the active ingredient. By way of example, a material such as glyceryl monostearate or glyceryl distearate can be used to coat tablets. Further by way of example, tablets can be coated using methods described in U.S. Pat. Nos. 4,256,108; 4,160,452; and 4,265,874 to form osmotically-controlled release tablets. Tablets can further comprise a sweetening agent, a flavoring agent, a coloring agent, a preservative, or some combination of these in order to provide pharmaceutically elegant and palatable preparation.

[0074] Solid dosage forms such as tablets, dragees, capsules, and granules can be prepared with coatings or shells, such as enteric coatings and others well known in the art. They may also contain opacifying agents, and can also be of such composition that they release the active compound or compounds in a delayed manner. Examples of embedding compositions that can be used are polymeric substances and waxes. The active compounds can also be in micro-encapsulated form, if appropriate, with one or more of the above-mentioned excipients.

[0075] Solid compositions of a similar type may also be used as fillers in soft or hard filled gelatin capsules using such excipients as lactose or milk sugar, as well as high molecular weight polyethylene glycols, and the like. Hard capsules comprising the active ingredient can be made using a physiologically degradable composition, such as gelatin. Such hard capsules comprise the active ingredient, and can further comprise additional ingredients including, for example, an inert solid diluent such as calcium carbonate, calcium phosphate, or kaolin. Soft gelatin capsules comprising the active ingredient can be made using a physiologically degradable composition, such as gelatin. Such soft capsules comprise the active ingredient, which can be mixed with water or an oil medium such as peanut oil, liquid paraffin, or olive oil.

[0076] Oral compositions can be made, using known technology, which specifically release orally-administered agents in the small or large intestines of a human patient. For example, formulations for delivery to the gastrointestinal system, including the colon, include enteric coated systems, based, e.g., on methacrylate copolymers such as poly(methacrylic acid, methyl methacrylate), which are only soluble at pH 6 and above, so that the polymer only begins to dissolve on entry into the small intestine. The site where such polymer formulations disintegrate is dependent on the rate of intestinal transit and the amount of polymer present. For example, a relatively thick polymer coating is used for delivery to the proximal colon (Hardy et al., Aliment.

Pharmacol. Therap. (1987) 1:273-280). Polymers capable of providing site-specific colonic delivery can also be used, wherein the polymer relies on the bacterial flora of the large bowel to provide enzymatic degradation of the polymer coat and hence release of the drug. For example, azopolymers (U.S. Pat. No. 4,663,308), glycosides (Friend et al., J. Med. Chem. (1984) 27:261-268) and a variety of naturally available and modified polysaccharides (see PCT application PCT/GB89/00581) can be used in such formulations.

[0077] Pulsed release technology such as that described in U.S. Pat. No. 4,777,049 can also be used to administer the active agent to a specific location within the gastrointestinal tract. Such systems permit drug delivery at a predetermined time and can be used to deliver the active agent, optionally together with other additives that may alter the local microenvironment to promote agent stability and uptake, directly to the colon, without relying on external conditions other than the presence of water to provide in vivo release.

[0078] Liquid dosage forms for oral administration include pharmaceutically acceptable emulsions, solutions, suspensions, syrups, and elixirs. In addition to the active compounds, the liquid dosage form may contain inert diluents commonly used in the art, such as water or other solvents, isotonic saline, solubilizing agents and emulsifiers, as for example, ethyl alcohol, isopropyl alcohol, ethyl carbonate, ethyl acetate, benzyl alcohol, benzyl benzoate, propylene glycol, 1,3-butylene glycol, dimethylformamide, oils, in particular, almond oil, arachis oil, coconut oil, cottonseed oil, groundnut oil, corn germ oil, olive oil, castor oil, sesame seed oil, MIGLYOL™, glycerol, fractionated vegetable oils, mineral oils such as liquid paraffin, tetrahydrofurfuryl alcohol, polyethylene glycols, fatty acid esters of sorbitan, or mixtures of these substances, and the like.

[0079] Besides such inert diluents, the compounds of the present invention can also include adjuvants, such as wetting agents, emulsifying and suspending agents, demulcents, preservatives, buffers, salts, sweetening, flavoring, coloring and perfuming agents. Suspensions, in addition to the active compound, may contain suspending agents, as for example, ethoxylated isostearyl alcohols, polyoxyethylene sorbitol or sorbitan esters, microcrystalline cellulose, hydrogenated edible fats, sodium alginate, polyvinylpyrrolidone, gum tragacanth, gum acacia, agar-agar, and cellulose derivatives such as sodium carboxymethylcellulose, methylcellulose, hydroxypropylmethylcellulose, aluminum metahydroxide, bentonite, or mixtures of these substances, and the like. Liquid formulations of a pharmaceutical composition of the invention that are suitable for oral administration can be prepared, packaged, and sold either in liquid form or in the form of a dry product intended for reconstitution with water or another suitable vehicle prior to use.

[0080] Known dispersing or wetting agents include naturally-occurring phosphatides such as lecithin, condensation products of an alkylene oxide with a fatty acid, with a long chain aliphatic alcohol, with a partial ester derived from a fatty acid and a hexitol, or with a partial ester derived

from a fatty acid and a hexitol anhydride (e.g. polyoxyethylene stearate, heptadecaethyleneoxycetanol, polyoxyethylene sorbitol monooleate, and polyoxyethylene sorbitan monooleate, respectively). Known emulsifying agents include lecithin and acacia. Known preservatives include methyl, ethyl, or n-propyl-para-hydroxybenzoates, ascorbic acid, and sorbic acid. Known sweetening agents include, for example, glycerol, propylene glycol, sorbitol, sucrose, and saccharin. Known thickening agents for oily suspensions include, for example, beeswax, hard paraffin, and cetyl alcohol.

[0081] Liquid solutions of the active ingredient in aqueous or oily solvents can be prepared in substantially the same manner as liquid suspensions, the primary difference being that the active ingredient is dissolved, rather than suspended in the solvent. Liquid solutions of the pharmaceutical composition of the invention can comprise each of the components described with regard to liquid suspensions, it being understood that suspending agents will not necessarily aid dissolution of the active ingredient in the solvent. Aqueous solvents include, for example, water and isotonic saline. Oily solvents include, for example, almond oil, oily esters, ethyl alcohol, vegetable oils such as arachis, olive, sesame, or coconut oil, fractionated vegetable oils, and mineral oils such as liquid paraffin.

[0082] Compositions for rectal or vaginal administration can be prepared by mixing a compound of the present invention and any additional compounds with suitable non-irritating excipients or carriers such as cocoa butter, polyethylene glycol or a suppository wax, which are solid at ordinary room temperature, but liquid at body temperature, and therefore, melt in the rectum or vaginal cavity and release the active ingredient. Such a composition can be in the form of, for example, a suppository, a retention enema preparation, and a solution for rectal or colonic irrigation. Suppository formulations can further comprise various additional ingredients including antioxidants and preservatives. Retention enema preparations or solutions for rectal or colonic irrigation can be made by combining the active ingredient with a pharmaceutically acceptable liquid carrier. As is known in the art, enema preparations can be administered using, and can be packaged within, a delivery device adapted to the rectal anatomy of a human. Enema preparations can further comprise various additional ingredients including antioxidants and preservatives.

[0083] A pharmaceutical composition of the invention can be prepared, packaged, or sold in a formulation suitable for vaginal administration. Such a composition can be in the form of, for example, a suppository, an impregnated or coated vaginally-insertable material such as a tampon, a douche preparation, or a solution for vaginal irrigation.

[0084] Dosage forms for topical administration of a compound according to the present invention include ointments, powders, sprays and inhalants. The compounds are admixed under sterile conditions with a physiologically acceptable carrier, and any preservatives, buffers, and/or propellants that may be required. Formulations suitable for topical administration include liquid

or semi-liquid preparations such as liniments, lotions, oil-in-water or water-in-oil emulsions such as creams, ointments or pastes, and solutions or suspensions. Topically-administrable formulations can, for example, comprise from about 0.1% to about 10% (w/w) active ingredient, although the concentration of the active ingredient can be as high as the solubility limit of the active ingredient in the solvent. Formulations for topical administration can further comprise one or more of the additional ingredients described herein.

[0085] Ophthalmic formulations, eye ointments, powders, and solutions are also contemplated as being within the scope of this invention. Such formulations can, for example, be in the form of eye drops including, for example, a 0.1-1.0% (w/w) solution or suspension of the active ingredient in an aqueous or oily liquid carrier. Such drops can further comprise buffering agents, salts, or one or more other of the additional ingredients described herein. In other embodiments, ophthalmically administrable formulations comprise the active ingredient in microcrystalline form or in a liposomal preparation.

[0086] Pharmaceutical compositions of the invention formulated for pulmonary delivery can provide the active ingredient in the form of droplets of a solution or suspension. Such formulations can be prepared, packaged, or sold as aqueous or dilute alcoholic solutions or suspensions, optionally sterile, comprising the active ingredient, and can conveniently be administered using any nebulization or atomization device. Such formulations can further comprise one or more additional ingredients including a flavoring agent such as saccharin sodium, a volatile oil, a buffering agent, a surface active agent, or a preservative such as methylhydroxybenzoate. The droplets provided by this route of administration preferably have an average diameter in the range from about 0.1 to about 200 nanometers.

[0087] A pharmaceutical composition of the invention can be prepared, packaged, or sold in a formulation suitable for buccal administration. Such formulations can, for example, be in the form of tablets or lozenges made using conventional methods, and can, for example, comprise 0.1 to 20% (w/w) active ingredient, the balance comprising an orally dissolvable or degradable composition and, optionally, one or more of the additional ingredients described herein. Alternately, formulations suitable for buccal administration can comprise a powder or an aerosolized or atomized solution or suspension comprising the active ingredient. Such powdered, aerosolized, or atomized formulations, when dispersed, preferably have an average particle or droplet size in the range from about 0.1 to about 200 nanometers, and can further comprise one or more of the additional ingredients described herein.

[0088] For parenteral administration in non-human animals, the compounds of the present invention may be prepared in the form of a paste or a pellet and administered as an implant, usually under the skin of the head or ear of the animal. Paste formulations can be prepared by dispersing a compound or compounds in pharmaceutically acceptable oil such as peanut oil, sesame oil, corn oil or the like. Pellets containing a therapeutically effective amount of a

compound or compounds can be prepared by admixing the compound with a diluent such as a carbowax, carnauba wax, and the like, and a lubricant, such as magnesium or calcium stearate, can be added to improve the pelleting process. It is, of course, recognized that more than one pellet may be administered to an animal to achieve the desired dose level. Moreover, it has been found that such implants may also be administered periodically during the animal treatment period in order to maintain the proper active agent level in the animal's body.

[0089] The compounds of the present invention and the pharmaceutically acceptable salts of the same, can be administered to a patient at dosage levels in the range of from about 0.01 to about 1,000 mg per day. For a normal adult human having a body weight of about 70 kg, a dosage in the range of from about 0.01 to about 300 mg is typically sufficient, with 1-10 mg/kg a preferred dosage. However, some variability in the general dosage range may be required depending upon the age and weight of the subject being treated, the intended route of administration, the particular compound being administered and the like. The determination of dosage ranges and optimal dosages for a particular patient is well within the ability of one of ordinary skill in the art having the benefit of the instant disclosure. It is also noted that the compounds of the present invention can be used in sustained release, controlled release, and delayed release formulations, which forms are also well known to one of ordinary skill in the art.

[0090] It is not critical whether the compounds of the present invention are administered directly to the cell, to a tissue comprising the cell, a body fluid that contacts the cell, or a body location from which the compound can diffuse or be transported to the cell. It is sufficient that the compound is administered to the patient in an amount and by a route whereby an amount of the compound sufficient to mobilize lipids in the cell arrives, directly or indirectly at the cell. The minimum amount varies with the identity of the compounds.

[0091] The specific dosage and dosage range that can be used depends on a number of factors, including the requirements of the patient, the severity of the condition being treated, and the pharmacological activity of the compound being administered. The determination of dosage ranges and optimal dosages for a particular patient is well within the ordinary skill of one in the art in view of this disclosure. It is understood that the ordinarily skilled physician or veterinarian will readily determine and prescribe an effective amount of the compound to mobilize lipid stores, induce weight loss, or inhibit appetite in the patient. In so proceeding, the physician or veterinarian can, for example, prescribe a relatively low dose at first, subsequently increasing the dose until an appropriate response is obtained. It is further understood, however, that the specific dose level for any particular human will depend upon a variety of factors including the activity of the specific compound employed, the age, body weight, general health, gender, and diet of the human, the time of administration, the route of administration, the rate of excretion, any drug combination, and the severity of any disorder being treated.

[0092] Various exemplary embodiments of compositions and methods according to this invention are now described in the following examples. In these embodiments, specific products identified by Arabic numerals (e.g., 1, 2, 3, etc.) refer to the specific structures so identified in the following description, particularly in Table 1 below and the appended claims

III. EXAMPLES

[0093] The following examples are offered for illustrative purposes only and are not intended to limit the scope of the present invention in any way. Indeed, various modifications of the invention in addition to those shown and described herein will become apparent to those skilled in the art from the foregoing description and the following examples and fall within the scope of the appended claims.

Example 1: Synthesis of 33 EET Analogs

[0094] In this Example, the inventors report the synthesis of a library of EET analogs. The chemical structures of these compounds, designated as compounds 1-33, are shown in Table 1 below.

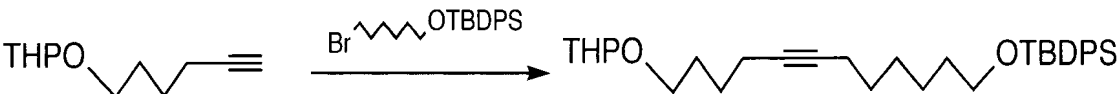
[0095] **General Procedures.** Unless stated otherwise, yields refer to purified products and are not optimized. Final compounds were judged $\geq 95\%$ pure by HPLC using a Zorbax Eclipse C18 (250 $\times$ 4.6 mm; Agilent) connected to an Agilent 1200 API/LC-MS with acetonitrile/water combinations as solvent. All oxygen and/or moisture sensitive reactions were performed under an argon atmosphere using oven-dried glassware and anhydrous solvents. Anhydrous solvents were freshly distilled from sodium benzophenone ketyl, except for CH_2Cl_2 , which was distilled from CaH_2 . Extracts were dried over anhydrous Na_2SO_4 and filtered prior to removal of all volatiles under reduced pressure. Unless otherwise noted, commercially available materials were used without purification. Flash chromatography (FC) was performed using E Merck silica gel 60 (240–400 mesh). Thin layer chromatography (TLC) was performed using pre-coated plates purchased from E. Merck (silica gel 60 PF254, 0.25 mm). Nuclear magnetic resonance (NMR) spectra were recorded on Varian 300, 400 or 500 spectrometers at operating frequencies of 300/400/500 MHz (^1H) or 75/100/125 MHz (^{13}C) in CDCl_3 , unless otherwise stated. Nuclear magnetic resonance (NMR) splitting patterns are described as singlet (s), doublet (d), triplet (t), quartet (q), and broad (br); the values of chemical shifts (δ) are given in ppm relative to residual solvent (chloroform $\delta = 7.27$ for ^1H NMR or $\delta = 77.23$ for proton decoupled ^{13}C NMR), and coupling constants (J) are given in Hertz (Hz). Melting points were determined using an OptiMelt (Stanford Research Systems) and are uncorrected. The Notre Dame University Mass Spectroscopy Facility or Prof. Kasem Nithipatikom (Medical College of Wisconsin) kindly provided high-resolution mass spectral analyses.

Table 1: 33 EET analogs and measured vascular relaxation and sEH inhibition activity.

Compd	Analog	Vascular Relax.		sEHi IC ₅₀ (nM)	Compd	Analog	Vascular Relax.		sEHi IC ₅₀ (nM)
		% (10 μM)	EC ₅₀ (μM)				% (10 μM)	EC ₅₀ (μM)	
1		86	2.9	>500	19		74	1.0	>500
2		72	5.1	255	20		119	0.18	11
3		104	1.5	>500	21		96	1.7	>500
4		49	0.63	237	22		110	1.1	32
5		95	1.9	>500	23		89	1.1	65
6		92	2.75	>500	24		47	>10	57
7		91	1.6	392	25		109	0.34	10
8		73	6.0	41	26		109	0.32	>500
9		61	6.7	71	27		116	0.36	>500
10		71	>10	>500	28		93	3.3	31
11		63	7.6	57	29		54	2.4	231
12		75	3.4	32	30		96	1.3	>500
13		48	>10	6	31		73	0.9	>500
14		76	5.0	11	32		96	2.4	>500
15		85	3.7	22	33		73	3.3	282
16		53	9.8	32					
17		92	3.5	96					
18		92	3.1	23					

[0096] The synthesis of the EET-compounds of Table 1 are provided as follows:

[0097] Synthesis of Analog 25.

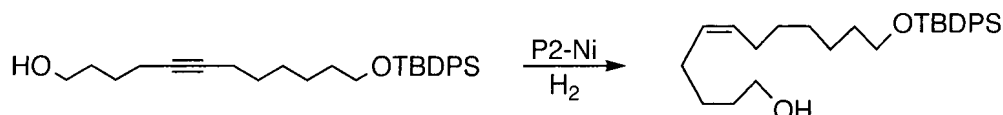


[0098] *tert*-Butyldiphenyl-[12-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)dodec-7-ynyloxy]silane.

N-Butyllithium (12.0 mL of 2.5 M solution in hexanes, 30.0 mmol) was added dropwise with stirring to a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ solution of 2-(hex-5-ynyloxy)tetrahydro-2*H*-pyran (5.0 g, 27.43 mmol, G. F. Smith Chem. Co.) in THF/HMPA (4:1, 150 mL) under an argon atmosphere. After 30 min, the reaction mixture was warmed to $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ and maintained at this temperature for 2 h. After re-cooling to $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, a solution of 1-*tert*-butyldiphenylsilyloxy-6-bromohexane¹ (11.50 g, 27.43 mmol) in THF (55 mL) was added and the temperature was raised over 3 h to $23\text{ }^{\circ}\text{C}$. After an additional 12 h, the reaction mixture was quenched with saturated aq. NH_4Cl solution (25 mL). The mixture was extracted with EtOAc ($2 \times 100\text{ mL}$) and the combined extracts were washed with water ($2 \times 150\text{ mL}$), brine (50 mL), dried, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by SiO_2 column chromatography to give the title compound (11.14 g, 78%), obtained as a colorless oil, whose spectral data matched literature values. TLC: 15% EtOAc/hexanes, $R_f \sim 0.60$; ^1H NMR (400 MHz) δ 7.64-7.68 (m, 4H), 7.34-7.42 (m, 6H), 4.57 (t, $J = 4.3\text{ Hz}$, 1H), 3.78-3.86 (m, 2H), 3.65 (t, $J = 6.3\text{ Hz}$, 2H), 3.32-3.54 (m, 2H), 2.10-2.22 (m, 4H), 1.24-1.84 (m, 18H), 1.04 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz) δ 130.61, 129.17, 124.54, 122.62, 93.82, 75.48, 74.89, 72.41, 72.10, 71.78, 62.11, 58.93, 57.32, 27.51, 25.79, 24.18, 23.99, 23.68, 21.96, 21.87, 21.0, 20.55, 20.40, 14.26, 13.77, 13.67.

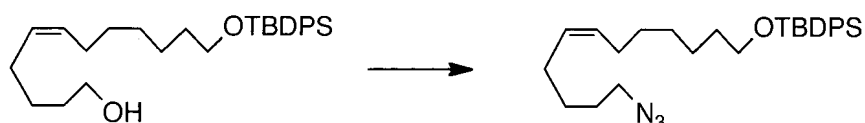


[0099] 12-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)dodec-5-yn-1-ol. A mixture of *tert*-butyldiphenyl-[12-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)dodec-7-ynyloxy]silane (11.0 g, 21.14 mmol) and *p*-toluenesulfonic acid (165 mg) in MeOH (110 mL) was stirred at room temperature for 10 h. The reaction mixture was quenched with sat. aq. NaHCO_3 solution (10 mL). The methanol was evaporated, then more water (50 mL), and the mixture extracted with EtOAc ($3 \times 75\text{ mL}$). The combined organic extracts were washed with water ($2 \times 50\text{ mL}$), brine (40 mL), dried and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by SiO_2 chromatography to give the title compound (7.93 g, 86%), obtained as a colorless oil, whose spectral data matched literature values.¹ TLC: EtOAc/hexanes (3:7), $R_f \sim 0.44$; ^1H NMR (300 MHz) δ 7.64-7.68 (m, 4H), 7.34-7.42 (m, 6H), 3.62 (t, $J = 6.3\text{ Hz}$, 4H), 2.06-2.22 (m, 4H), 1.50-1.64 (m, 12H), 1.04 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz) δ 135.81, 134.36, 129.74, 127.82, 80.89, 80.01, 64.14, 62.71, 32.71, 32.10, 29.34, 28.86, 27.11, 25.59, 25.57, 19.46, 18.93, 18.77.



[00100] 12-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)dodec-5(*Z*)-en-1-ol. NaBH_4 (82 mg, 2.28 mmol) was added in portions with vigorously stirring to a room temperature solution of $\text{Ni}(\text{OAc})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

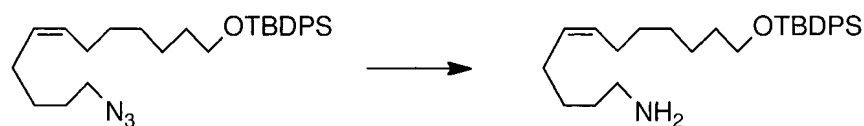
(567 mg, 2.28 mmol) in absolute ethanol (20 mL) under a hydrogen atmosphere (1 atm). After 15 min, freshly distilled ethylenediamine (0.30 mL, 4.56 mmol) was added to the black suspension, followed after a further 15 min by a solution of 12-(*tert*-butyldiphenylsilyloxy)dodec-5-yn-1-ol (4.0 g, 9.16 mmol) in absolute EtOH (10 mL). After 1 h, the reaction mixture was quenched with Et₂O (20 mL) and passed through a small bed of silica gel. The bed was rinsed with another portion of Et₂O (5 mL). The combined ethereal filtrates were concentrated under reduced pressure to afford the title compound (3.85 g, 96%) as a colorless oil sufficiently pure to be used directly in the next step. TLC: EtOAc/hexanes (3:7), *R*_f ~ 0.46. ¹H NMR (300 MHz) δ 7.64-7.68 (m, 4H), 7.34-7.42 (m, 6H), 5.42-5.28 (m, 2H), 3.65-3.60 (t, *J* = 6.4 Hz, 4H), 2.08-1.96 (m, 4H), 1.50-1.60 (m, 4H), 1.40-1.24 (m, 10H), 1.04 (s, 9H); ¹³C NMR (100 MHz) δ 135.81, 134.40, 130.61, 129.71, 129.60, 127.80, 64.21, 63.14, 32.78, 32.60, 29.98, 29.27, 27.42, 27.14, 27.10, 26.08, 25.92, 19.48. HRMS calcd for C₂₈H₄₃O₂Si [M+1]⁺ 439.3032, found 439.3027.



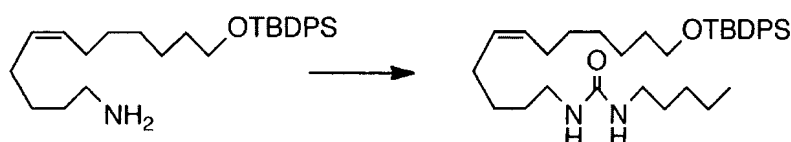
[00101] 1-*tert*-Butyldiphenylsilyloxy-12-azidododec-7(*Z*)-ene.

Diisopropyl

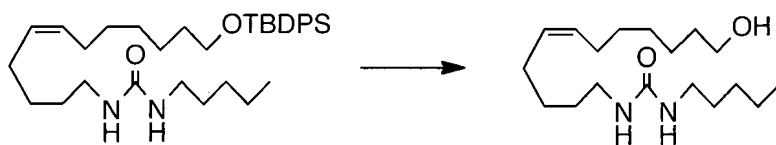
azodicarboxylate (DIAD; 1.46 mL, 7.35 mmol) was added dropwise to a -20 °C solution of PPh₃ (2.10 g, 8.0 mmol) in dry THF (45 mL) under an argon atmosphere. After 10 min, a solution of 12-(*tert*-butyldiphenylsilyloxy)dodec-5(*Z*)-en-1-ol (3.20 g, 7.35 mmol) from above in dry THF (10 mL) was added dropwise. After 30 min, the mixture was warmed to 0 °C and diphenylphosphoryl azide (1.58 mL, 7.35 mmol) was added dropwise. After stirring 4 h at rt, the reaction mixture was quenched with water (150 mL) and extracted with EtOAc (2 × 100 mL). The combined organic extracts were washed with brine (100 mL), dried (Na₂SO₄), and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by SiO₂ column chromatography eluting with 4% EtOAc/hexane to afford the title compound (2.45 g, 72%). TLC: EtOAc/hexanes (1:9), *R*_f ~ 0.55; ¹H NMR (400 MHz) δ 7.64-7.68 (m, 4H), 7.34-7.42 (m, 6H), 5.28-5.42 (m, 2H), 3.70 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H), 3.27 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H), 1.96-2.10 (m, 4H), 1.24-1.64 (m, 12H), 1.04 (s, 9H); ¹³C NMR (100 MHz) δ 135.84, 134.41, 130.93, 129.75, 129.12, 127.83, 64.22, 51.62, 32.81, 29.93, 29.30, 28.68, 27.46, 27.14, 27.02, 26.90, 25.96, 19.49; IR (neat) 2930, 2783, 2331, 2097, 1106 cm⁻¹. HRMS calcd for C₂₈H₄₂N₃OSi [M+1]⁺ 464.3097, found 464,3099.



[00102] **1-*tert*-Butyldiphenylsilyloxy-12-aminododec-7(*Z*)-ene**. Triphenylphosphine (1.18 g, 4.50 mmol) was added to a stirring solution of azide 1-*tert*-butyldiphenylsilyloxy-12-azidododec-7(*Z*)-ene (1.90 g, 4.10 mmol) in THF (12 mL) containing 4 drops of deionized water. After 12 h, the reaction mixture was diluted with CH₂Cl₂ (10 mL), dried, and concentrated in *vacuo* to give the title compound (1.36 g, 76%) as a viscous, colorless oil that was used directly in the next reaction without further purification. TLC: MeOH/CH₂Cl₂ (1:4), *R_f* ~ 0.25; ¹H NMR (400 MHz) δ 7.62-7.68 (m, 4H), 7.32-7.40 (m, 6H), 5.30-5.40 (m, 2H), 3.63 (t, *J* = 5.2 Hz, 2H), 2.62 (t, *J* = 4.8 Hz, 2H), 1.92-2.06 (m, 4H), 1.40-1.58 (m, 4H), 1.20-1.40 (m, 8H), 1.03 (s, 9H); ¹³C NMR (100 MHz) δ 135.79, 134.37, 130.42, 129.70, 127.78, 64.19, 42.28, 33.44, 32.77, 29.93, 29.28, 27.40, 27.21, 27.10, 25.92, 19.44. HRMS calcd for C₂₈H₄₄NOSi [M + 1]⁺ 438.3192, found 438.3186.

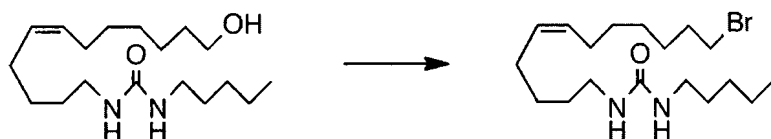


[00103] **1-(12-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)dodec-5(*Z*)-enyl)-3-*n*-pentylurea**. A solution of 1-*tert*-butyldiphenylsilyloxy-12-aminododec-7(*Z*)-ene (1.32 g, 3.0 mmol) in THF (5 mL) was added dropwise to a stirring solution of *n*-pentyl isocyanate (0.386 mL, 3.0 mmol) in THF (10 mL). After 3 h stirring at room temperature, all volatiles were removed under reduced pressure and the residue was purified by SiO₂ column chromatography eluting with 20% EtOAc/hexane to afford the title compound (1.26 g, 76%) as a viscous oil. TLC: EtOAc/hexanes (2:3), *R_f* ~ 0.40; ¹H NMR (300 MHz) δ 7.60-7.70 (m, 4H), 7.35-7.42 (m, 6H), 5.28-5.42 (m, 2H), 5.16 (br s, -NH, 2H), 3.65 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 3.08-3.20 (m, 4H), 1.96-2.08 (m, 4H), 1.22-1.60 (m, 18H), 1.02 (s, 9H), 0.89 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H); ¹³C NMR (100 MHz) δ 159.23, 135.80, 134.24, 130.52, 129.74, 129.49, 127.82, 64.22, 40.62, 40.54, 32.80, 30.33, 29.95, 29.37, 29.32, 27.46, 27.34, 27.18, 27.11, 25.97, 22.71, 19.46, 14.29. HRMS calcd for C₃₄H₅₅N₂O₂Si [M+1]⁺ 551.4033, found 551.4032.

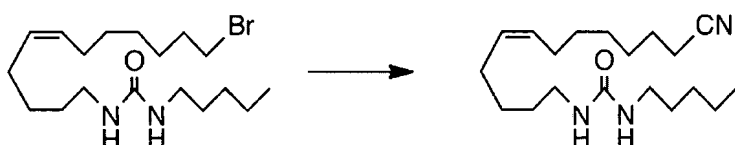


[00104] **1-(12-Hydroxydodec-5(*Z*)-enyl)-3-*n*-pentylurea**. A mixture of 1-(12-(*tert*-butyldiphenylsilyloxy)dodec-5(*Z*)-enyl)-3-*n*-pentylurea (1.12 g, 2.0 mmol) and tetra-*n*-butylammonium fluoride (2.20 mL of 1 M soln in THF, 2.2 mmol) in dry THF (10 mL) was stirred at room temperature under an argon atmosphere for 12 h, and then evaporated to dryness in *vacuo*. The residue was dissolved in EtOAc (50 mL) and washed with water (30 mL), brine (30 mL), dried and evaporated in *vacuo*. Purification of the residue *via* SiO₂ column chromatography gave the title compound (0.56 g, 89%) as a colorless solid, mp 63.7-63.8 °C. TLC: EtOAc/hexanes (7:3), *R_f* ~ 0.30; ¹H NMR (300 MHz) δ 5.25-5.42 (m, 2H), 4.40-4.56 (br s,

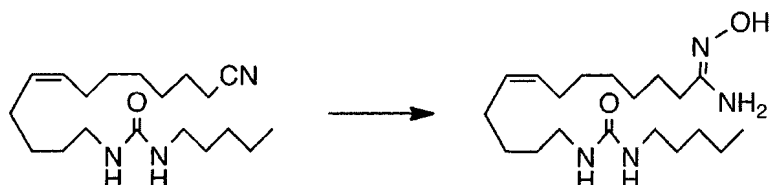
-NH, 2H), 3.60-3.68 (d, $J = 6.5$ Hz, 2H), 3.08-3.20 (m, 4H), 1.96-2.14 (m, 4H), 1.22-1.60 (m, 18H), 0.88 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz) δ 159.26, 130.23, 129.62, 63.72, 40.33, 40.29, 32.92, 30.30, 30.26, 29.74, 29.35, 29.13, 27.26, 27.20, 27.13, 25.82, 22.69, 14.27. HRMS calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{37}\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}+1]^+$ 313.2855, found 313.2857.



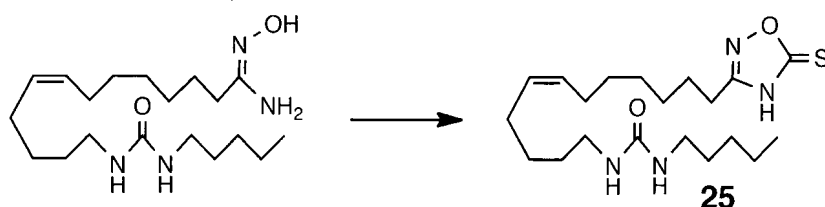
[00105] 1-(12-Bromododec-5(Z)-enyl)-3-n-pentylurea. CBr_4 (0.55 g, 1.66 mmol) and PPh_3 (0.43 g, 1.66 mmol) were added to a 0 °C solution of 1-(12-hydroxydodec-5(Z)-enyl)-3-n-pentylurea (0.43 g, 1.38 mmol) in CH_2Cl_2 (20 mL). After 2 h at room temperature, the reaction mixture was concentrated in *vacuo* and the residue was purified via SiO_2 column chromatography to give 1-(12-bromododec-5(Z)-enyl)-3-n-pentylurea (0.43 g, 83%) as a viscous oil, mp 46.7-46.8 °C. TLC: EtOAc/hexanes (2:3), $R_f \sim 0.60$; ^1H NMR (300 MHz) δ 5.22-5.42 (m, 2H), 4.40 (br s, 2H), 3.42 (t, $J = 9.3$ Hz, 2H), 3.10-3.20 (m, 4H), 1.98-2.10 (m, 4H), 1.80-1.90 (m, 2H), 1.25-1.55 (m, 16H), 0.92 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz) δ 159.51, 130.14, 129.69, 40.48, 40.39, 34.20, 32.96, 30.34, 29.67, 29.36, 28.58, 28.25, 27.31, 27.27, 27.17, 22.68, 14.26. HRMS calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{BrN}_2\text{O}$ $[\text{M}+1]^+$ 375.2011, found 375.2014.



[00106] 1-(12-Cyanododec-5(Z)-enyl)-3-n-pentylurea. A mixture of potassium cyanide (0.23 g, 3.54 mmol) and 1-(12-bromododec-5(Z)-enyl)-3-n-pentylurea (0.90 g, 2.40 mmol) was stirred in DMSO (5 mL) at room temperature. After 12 h, the reaction mixture was diluted with water (20 mL) and extracted with ethyl acetate (2×50 mL). The combined organic extracts were washed with water (2×25 mL), brine (25 mL), dried (Na_2SO_4) and was passed through a silica gel column to give the title compound (0.62 g, 81%) as a colorless solid, mp 56-57 °C. TLC: EtOAc/hexanes (2:3), $R_f \sim 0.45$. ^1H NMR (300 MHz) δ 5.29-5.40 (m, 2H), 4.27 (br s, -NH, 2H), 3.10-3.20 (m, 4H), 2.34 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 1.98-2.08 (m, 4H) 1.24-1.70 (m, 18H), 0.89 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz) δ 159.41, 129.94, 129.86, 120.14, 40.45, 40.35, 30.30, 29.50, 29.33, 28.70, 28.51, 27.26, 27.16, 25.47, 22.66, 17.28, 14.24; IR (neat) 2930, 2281, 2184, 2042, 1936, 1613, 1197, 1042 cm^{-1} . HRMS calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{36}\text{N}_3\text{O}$ $[\text{M}+1]^+$ 322.2858, found 322.2867.

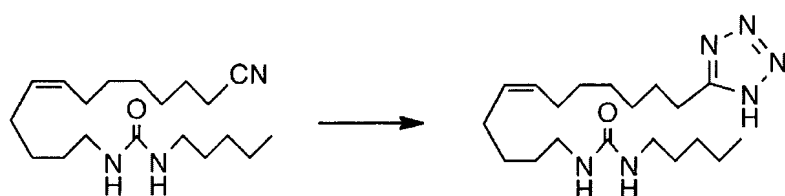


[00107] *N*'-Hydroxy-13-(3-*n*-pentylureido)tridec-8(*Z*)-enimidamide. To a suspension of 1-(12-cyanododec-5(*Z*)-enyl)-3-*n*-pentylurea (350 mg, 1.09 mmol) in MeOH/H₂O (4:1; 12 mL) was added H₂NOH·HCl (228 mg, 3.28 mmol) and Na₂CO₃ (344 mg, 3.25 mmol). The reaction mixture was heated at 60 °C for 18 h, then cooled to room temperature and all volatiles were removed *in vacuo*. The residue was diluted with water (30 mL) and extracted into ethyl acetate (2 × 25 mL). The combined organic extracts were washed with water (2 × 10 mL), brine (10 mL), dried and purified via flash silica gel column chromatography using 5% MeOH/CH₂Cl₂ to give the title compound (239 mg, 62%) as a colorless solid, mp 94.6-94.7 °C. TLC: MeOH/CH₂Cl₂ (1:4), *R*_f ~ 0.20; ¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz) δ 5.34-5.42 (m, 2H), 3.33 (s, 2H), 3.08-3.16 (m, 3H), 2.02-2.10 (m, 6H), 1.52-1.60 (m, 2H), 1.44-1.52 (m, 5H), 1.30-1.44 (m, 10H), 0.92 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H); ¹³C NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ 160.14, 155.23, 129.95, 129.42, 39.86, 39.76, 30.70, 29.95, 29.89, 29.59, 29.06, 28.91, 27.18, 26.97, 26.95, 26.78, 22.39, 13.34. HRMS calcd for C₁₉H₃₉N₄O₂ [M+1]⁺ 355.3073, found 355.3078.



[00108] Analog 25. To an ice cooled solution of *N*'-hydroxy-13-(3-*n*-pentylureido)tridec-8(*Z*)-enimidamide (100 mg, 0.28 mmol) and pyridine (45 μL, 0.56 mmol) in THF (100 mL) was added dropwise a solution of thionyl chloride (20 μL, 0.28 mmol) in CH₂Cl₂ (2 mL). After 1 h, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*, diluted with water (25 mL), and extracted with CH₂Cl₂ (2 × 10 mL). The combined organic extracts were washed with water and dried. The solvent was evaporated *in vacuo* and the residue was purified by SiO₂ column chromatography using 10% MeOH/CH₂Cl₂ to give **25** (80 mg, 72%) as a sticky solid. TLC: MeOH/CH₂Cl₂ (1:9), *R*_f ~ 0.60; ¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz) δ 5.33-5.36 (m, 2H), 3.04-3.13 (m, 4H), 2.57 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 2.00-2.10 (m, 4H), 1.62-1.74 (m, 2H), 1.25-1.54 (m, 16H), 0.92 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H); ¹³C NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ 160.16, 153.94, 129.83, 129.47, 39.83, 39.71, 29.89, 29.82, 29.40, 29.01, 28.59, 28.52, 26.87, 26.85, 26.71, 26.30, 23.37, 22.33, 13.25. HRMS calcd for C₂₀H₃₈N₄O₂S [M+1]⁺ 398.2716, found 398.2720.

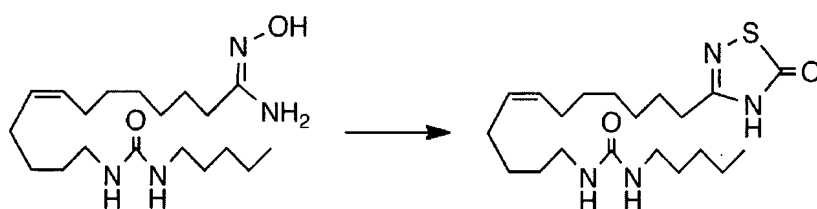
[00109] Synthesis of Analog 20.



[00110] Analog 20. A mixture of 1-(12-cyanododec-5(*Z*)-enyl)-3-*n*-pentylurea (500 mg, 1.55 mmol), sodium azide (100 mg, 1.55 mmol) and zinc bromide (335 mg, 1.48 mmol) was heated at

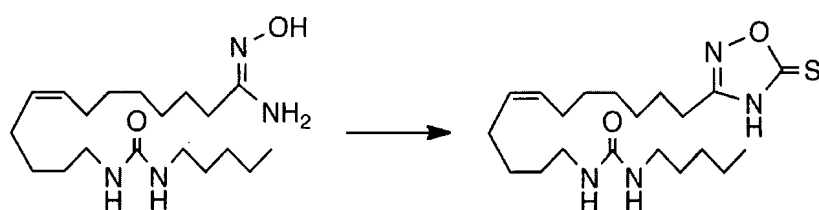
110 °C in isopropanol/H₂O (1:3, 8 mL) while stirring vigorously in a sealed tube. After 18 h, the mixture was cooled to room temperature and the pH was adjusted to 1 using aq. HCl (3 N, 4 mL). Ethyl acetate (10 mL) was added and the stirring was continued until no solid was present. The organic layer was isolated and the aqueous layer extracted with EtOAc (2 × 25 mL). The combined organic fractions were washed with water (3 × 25 mL), dried and concentrated in *vacuo*. The residue was purified by flash silica gel column chromatography to give the analog **20** (431 mg, 76%) as a colorless solid, mp 205.6-205.8 °C. TLC: 10% MeOH/CH₂Cl₂, *R_f* ~ 0.30; ¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz) δ 5.40-5.30 (m, 2H), 3.06-3.11 (m, 4H), 2.93 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H), 1.98-2.10 (m, 4H), 1.70-1.82 (m, 2H), 1.24-1.50 (m, 16H), 0.90 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H); ¹³C NMR (CD₃OD, 75 MHz) δ 160.16, 156.81, 129.77, 129.47, 39.81, 39.68, 29.88, 29.80, 29.35, 28.99, 28.69, 28.55, 27.48, 26.85, 26.81, 26.68, 22.96, 22.31, 13.22. HRMS calcd for C₁₉H₃₇N₆O [M+1]⁺ 365.3029, found 365.3030.

[00111] **Synthesis of Analog 29.**



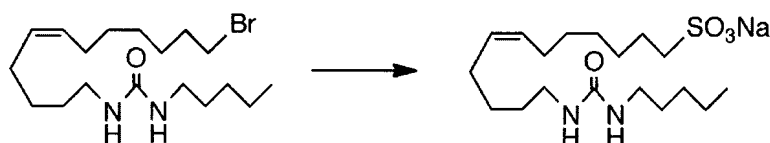
[00112] **Analog 29.** A mixture of *N*-hydroxy-13-(3-*n*-pentylureido)tridec-8(*Z*)-enimidamide (150 mg 0.42 mmol) and 1,1'-thiocarbonyl diimidazole (90%; 91 mg, 0.51 mmol) in THF (5 mL) was stirred at room temperature. After 45 min, the mixture was diluted with water (10 mL) and extracted with ethyl acetate (3 × 5 mL). The combined extracts were washed with water, dried, and concentrated in *vacuo*. The residue was dissolved in dry THF (5 mL) and boron trifluoride diethyl etherate (103 μL, 0.84 mmol) was added. After another 1 h, the reaction mixture was diluted with water (20 mL) and extracted with ethyl acetate (2 × 10 mL). The combined extracts were washed with water, dried (Na₂SO₄), and the solvent was evaporated in *vacuo*. The residue was purified by column chromatography to give **29** (104 mg, 63%) as a colorless solid, mp 124.2-125.1 °C. TLC: MeOH/CH₂Cl₂ (1:9), *R_f* ~ 0.60; ¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz) δ 5.30-5.40 (m, 2H), 3.02-3.12 (m, 4H), 2.54 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H), 1.98-2.10 (m, 4H), 1.62-1.74 (m, 2H), 1.24-1.52 (m, 16H), 0.90 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H); ¹³C NMR (CD₃OD, 75 MHz) δ 181.12, 160.13, 159.12, 129.48, 128.84, 39.85, 39.73, 30.90, 29.91, 29.83, 29.41, 29.03, 28.69, 28.65, 26.89, 26.86, 26.73, 26.23, 22.35, 13.29; IR (neat) 2924, 1724, 1603, 1464, 1375 cm⁻¹. HRMS calcd for C₂₀H₃₇N₄O₂S [M+1]⁺ 397.2637, found 397.2638.

[00113] **Synthesis of Analog 28.**



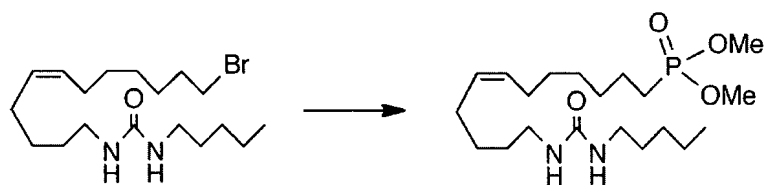
[00114] **Analog 28.** A mixture of *N'*-hydroxy-13-(3-*n*-pentylureido)tridec-8(*Z*)-enimidamide (150 mg 0.42 mmol) and 1,1'-thiocarbonyl diimidazole (90%; 91 mg, 0.51 mmol) in THF (5 mL) was stirred at room temperature for 45 min. The mixture was diluted with water (20 mL) and extracted with ethyl acetate (3 × 10 mL). The combined organic extracts were washed with water, dried, and the solvent was evaporated in *vacuo*. The residue was dissolved in acetonitrile (5 mL) to which was then added DBU (147 mg, 0.96 mmol). After stirring at room temperature for 1 h, the mixture was diluted with water 10 mL), adjusted pH~4 with 1N HCl, and extracted with ethyl acetate (3 × 10 mL). The combined extracts were washed with water, dried over Na₂SO₄, and the solvent was evaporated in *vacuo*. The residue was purified by silica gel column chromatography to give **28** (101 mg, 61%) as a colorless syrup. TLC: MeOH/CH₂Cl₂ (1:9), *R*_f ~ 0.55; ¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz) δ 5.30-5.40 (m, 2H), 3.04-3.14 (m, 4H), 2.62 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 2.00-2.10 (m, 4H), 1.62-1.74 (m, 2H), 1.22-1.54 (m, 16H), 0.91 (t, *J* = 6.7 Hz, 3H); ¹³C NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ 188.49, 161.91, 160.15, 129.82, 129.53, 39.88, 39.75, 29.92, 29.85, 29.37, 29.05, 28.63, 28.55, 26.90, 26.86, 26.75, 25.91, 23.67, 22.37, 13.31. HRMS calcd for C₂₀H₃₇N₄O₂S [M+1]⁺ 397.2637, found 397.2645.

[00115] **Synthesis of Analog 11.**

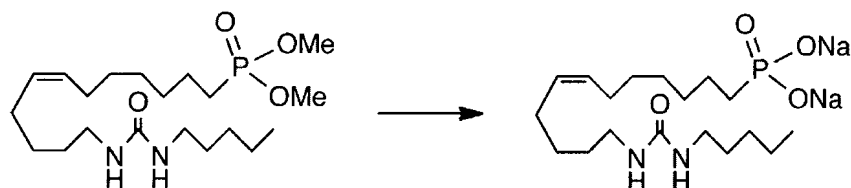


[00116] **Analog 11.** A solution of 1-(12-bromododec-5(*Z*)-enyl)-3-*n*-pentylurea (300 mg, 0.79 mmol), sodium sulfite (352 mg, 2.8 mmol) and cyclohexene (649 mg, 7.9 mmol) in ethanol (5 mL) was refluxed overnight. The volatiles were removed under reduced pressure and the residue was dissolved in de-ionized water. BioRad SM-2 Bio-beads (5 g; pre-washed with 0.1 N NH₄OH and H₂O) were added, gently stirred for 30 min, and then collected on a sintered glass funnel. The beads were washed with deionized water (2 × 10 mL) and then EtOH (3 × 10 mL). Concentration of the ethanolic washes afforded **11** (235 mg, 75%) as a colorless solid, mp 133.6-133.8 °C. ¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz) δ 5.30-5.40 (m, 2H), 3.02-3.14 (m, 4H), 2.78 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H), 1.98-2.12 (m, 4H), 1.72-1.84 (m, 2H), 1.22-1.50 (m, 16H), 0.91 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H); ¹³C NMR (CD₃OD, 75 MHz) δ 160.12, 129.86, 129.49, 51.46, 39.01, 38.92, 29.92, 29.32, 29.02, 28.69, 28.42, 26.93, 26.62, 25.78, 24.78, 22.34, 12.02. HRMS calcd for C₁₈H₃₅N₂NaO₄S [M]⁺ 398.2215, found 398.2220.

[00117] **Synthesis of Analog 10.**

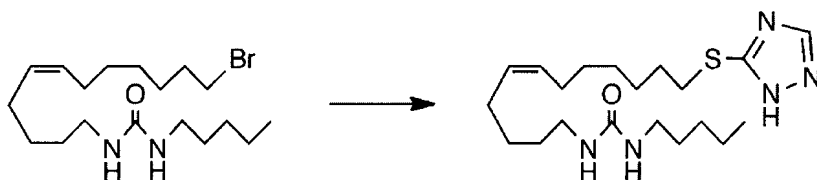


[00118] **Dimethyl (12-(3-*n*-pentylureido)dodec-7(*Z*)-en-1-yl)phosphonate.** A solution of 1-(12-bromododec-5(*Z*)-enyl)-3-*n*-pentylurea (250 mg, 0.67 mmol) and trimethyl phosphite (10 mL) in THF (10 mL) was heated under reflux. After for 48 h, all volatiles were removed in *vacuo* and the residue was purified by silica gel column chromatography using 60% EtOAc/CH₂Cl₂ to give dimethyl (12-(3-*n*-pentylureido)dodec-7(*Z*)-en-1-yl)phosphonate (160 mg, 59%) as a viscous oil. TLC: EtOAc, *R_f* ~ 0.55; ¹H NMR (400 MHz) δ 5.30-5.40 (m, 2H), 5.10 (br s, -NH, 1H), 5.02 (br s, -NH, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.68 (s, 3H), 3.06-3.14 (m, 4H), 1.97-2.20 (m, 4H), 1.63-1.78 (m, 2H), 1.20-1.60 (m, 18H), 0.88 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H); ¹³C NMR (100 MHz) δ 159.11, 130.17, 129.93, 52.59, 52.56, 40.49, 30.49, 30.32, 30.28, 29.34, 29.33, 28.58, 27.21, 27.15, 27.11, 25.32, 23.93, 22.66, 22.35, 22.30, 14.24. HRMS calcd for C₂₀H₄₂N₂O₄P [M+1]⁺ 405.2882, found 405.2883.



[00119] **Analog 10.** Trimethylsilyl bromide (37 μL) was added to a solution of the above phosphonate diester (100 mg, 0.25 mmol) in dry CHCl₃ (4 mL). After 2 h at rt, the solution was concentrated and the residue was suspended in ethyl acetate (5 mL). The resultant precipitate was collected and dissolved in de-ionized water. BioRad SM-2 Bio-beads (5 g; pre-washed with 0.1 N NH₄OH and H₂O) were added, gently stirred for 1 h, and then collected on a sintered glass funnel. The beads were washed with deionized water (2 × 10 mL) and then EtOH (3 × 10 mL). Concentration of the ethanolic washes afforded disodium phosphonate **10** (68 mg, 65%). ¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz) δ 5.30-5.42 (m, 2H), 3.18-3.24 (m, 4H), 1.97-2.20 (m, 4H), 1.50-1.78 (m, 8H), 1.20-1.60 (m, 12H), 0.92 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H); ¹³C NMR (CD₃OD, 75 MHz) δ 159.48, 130.10, 129.25, 40.85, 40.76, 30.48, 30.25, 29.38, 29.13, 29.06, 28.81, 28.67, 27.62, 26.92, 26.70, 26.64, 25.80, 22.65, 22.58, 22.25, 13.02. HRMS calcd for C₁₈H₃₅N₂Na₂O₄P [M]⁺ 420.2130, found 420.2122.

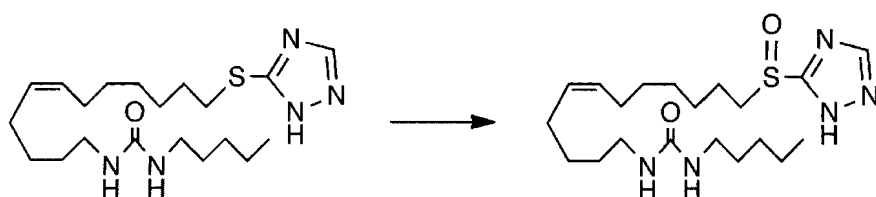
[00120] **Synthesis of Analog 16.**



288
257

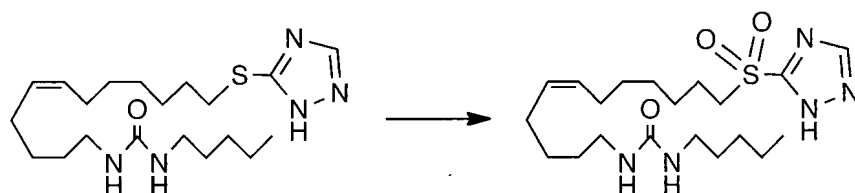
[00121] **Analog 16.** Sodium methoxide (180 μ L, 30% methanolic solution) was added to a solution of 1,2,4-triazole-3-thiol (101 mg, 0.99 mmol) in dry DMF (5 mL). After stirring for 10 min, 1-(12-bromododec-5(Z)-enyl)-3-*n*-pentylurea (250 mg, 0.66 mmol) was added. After stirring overnight, the reaction mixture was poured into ice water (100 mL) and the resultant precipitate was collected by filtration and dried in *vacuo*. The crude solid was suspended in dichloromethane (100 mL), stirred for 1 h and filtered to give **16** (222 mg, 85%) as a colorless solid, mp 76.1-76.2 °C. TLC: EtOAc, R_f ~ 0.30; ^1H NMR (CD_3OD , 300 MHz) δ 8.26 (br s, 1H), 5.29-5.40 (m, 2H), 3.04-3.14 (m, 6H), 1.98-2.10 (m, 4H), 1.62-1.72 (m, 2H), 1.22-1.50 (m, 16H), 0.90 (t, J = 7.2 Hz, 3H); ^{13}C NMR (CD_3OD , 75 MHz) δ 160.15, 157.16, 146.90, 129.86, 129.44, 39.84, 39.73, 32.10, 29.91, 29.84, 29.65, 29.49, 29.02, 28.60, 28.30, 26.88, 26.73, 22.34, 13.28. HRMS calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{38}\text{N}_5\text{OS}$ $[\text{M}+1]^+$ 396.2797, found 396.2805.

[00122] **Synthesis of Analog 17.**



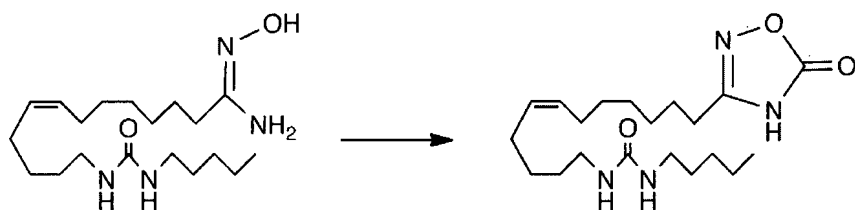
[00123] **Analog 17.** Ammonium molybdate (160 mg, 0.13 mmol) and hydrogen peroxide (0.6 mL, 30% aq. soln) were combined at 0 °C and stirred for 15 min. An aliquot of the resultant bright yellow solution (0.15 mL) was added dropwise to a stirring, 0 °C solution of sulfide **16** (77 mg, 0.2 mmol) in ethanol (1.0 mL) resulting in a light yellow precipitate. Over the next 15 min, aliquots (0.15 mL) of the oxidizing solution were added every 5 min. After another 10 min, the reaction mixture was partitioned between H_2O and dichloromethane (10 mL). The aqueous phase was extracted with dichloromethane (10 mL) and the combined organic extracts were washed with brine and dried (Na_2SO_4). The residue was purified by flash SiO_2 chromatography (70% EtOAc/hexanes) to provide sulfoxide **17** (43 mg, 52%) as a colorless solid, mp 88.2-88.4 °C. TLC: MeOH/EtOAc (1:9), R_f ~ 0.30; ^1H NMR (CD_3OD , 300 MHz) δ 8.38 (br s, 1H), 5.26-5.36 (m, 2H), 5.18 (br s, 2H), 3.04-3.26 (m, 6H), 1.92-2.08 (m, 2H), 1.70-1.84 (m, 2H), 1.20-1.50 (m, 18H), 0.86 (t, J = 7.2 Hz, 3H); ^{13}C NMR (CD_3OD , 75 MHz) δ 163.82, 160.15, 146.98, 129.73, 129.54, 52.62, 39.81, 39.71, 29.90, 29.84, 29.25, 29.01, 28.57, 28.22, 26.88, 26.77, 26.73, 22.33, 21.92, 13.24. HRMS calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{38}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M}+1]^+$ 412.2746, found 412.2741.

[00124] Synthesis of Analog 18.



[00125] **Analog 18.** Ammonium molybdate (960 mg, 0.77 mmol) and hydrogen peroxide (3.6 mL, 30% aq. soln) were combined at 0 °C and stirred for 15 min. An aliquot of the bright yellow solution (0.45 mL) was added dropwise to a 0 °C solution of sulfide **16** (154 mg, 0.39 mmol) in ethanol (3.6 mL) resulting in a light yellow precipitate. Over the next 90 min, aliquots (0.5 mL) of the oxidizing solution were added every 15 min. After another 15 min, the reaction mixture was partitioned between H₂O and dichloromethane (10 mL). The aqueous phase was extracted with dichloromethane (10 mL) and the combined organic phases were washed with brine and dried (Na₂SO₄). The residue was purified by flash SiO₂ chromatography (70% EtOAc/hexanes) to provide sulfone **18** (129 mg, 78%) as a white solid, mp 90.6-90.8 °C. TLC: MeOH/EtOAc (1:9), *R_f* ~ 0.50; ¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz) δ 8.44 (br s, 1H), 5.25-5.30 (m, 2H), 5.02 (br s, 1H), 4.90 (br s, 1H), 3.35 (t, *J* = 7.9 Hz, 2H), 3.22-3.10 (m, 4H), 1.90-2.60 (m, 4H), 1.66-1.80 (m, 2H), 1.20-1.54 (m, 16H), 0.87 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H); ¹³C NMR (CD₃OD, 75 MHz) δ 161.15, 160.13, 145.87, 129.73, 129.56, 54.26, 39.85, 39.74, 29.90, 29.83, 29.21, 29.02, 28.46, 27.80, 26.89, 26.79, 26.73, 22.34, 22.19, 13.30. HRMS calcd for C₂₀H₃₈N₅O₃S [M+1]⁺ 428.2695, found 428.2701.

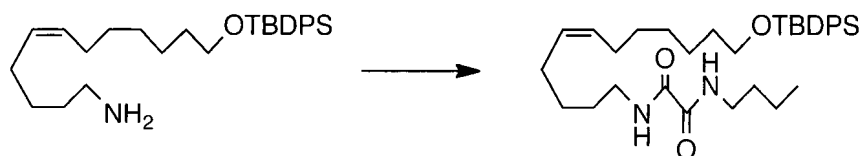
[00126] Synthesis of Analog 23.



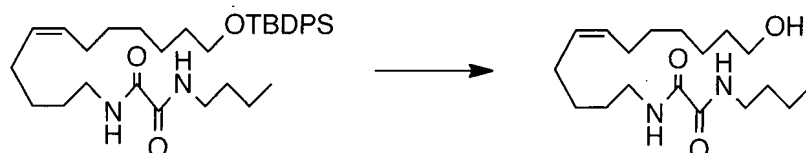
[00127] **Analog 23.** To a solution of *N*-hydroxy-13-(3-*n*-pentylureido)tridec-8(*Z*)-enimidamide (50 mg, 0.14 mmol) in dry dioxane (3 mL) was added 1,1-carbonyldiimidazole (CDI; 27 mg, 0.16 mmol) followed by 1,8-diazabicycloundec-7-ene (DBU; 23 mg, 0.15 mmol). After stirring for 15 min, the reaction mixture was warmed to 110 °C for 15 min, then returned to room temperature. The reaction mixture was diluted with water (20 mL) and extracted with ethyl acetate (3 × 5 mL). The combined organic extracts were washed with water, brine, dried (Na₂SO₄), and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by SiO₂ column chromatography to give **23** (36 mg, 67%) as a sticky solid. TLC: EtOAc/hexanes (4:1), *R_f* ~ 0.40; ¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz) δ 5.30-5.40 (m, 2H), 3.02-3.14 (m, 4H), 2.52 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 2.00-2.10 (m, 4H), 1.60-1.70 (m, 2H), 1.24-1.50 (m, 16H), 0.90 (t, *J* = 6.7 Hz, 3H); ¹³C NMR (CD₃OD, 75

MHz) δ 158.30, 157.33, 126.98, 126.68, 37.02, 36.90, 26.97, 26.53, 26.19, 25.76, 25.72, 24.02, 23.89, 22.68, 21.84, 19.52, 10.43; IR (neat) 2929, 2854, 1809, 1776, 1738, 1620, 1580, 1467, 1257, 981 cm^{-1} . HRMS (ESI-neg) calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{35}\text{N}_4\text{O}_3$ $[\text{M}-1]^-$ 379.2715, found 379.2731.

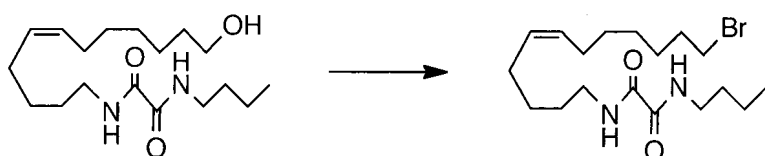
[00128] Synthesis of Analog 27.



[00129] N^1 - n -Butyl- N^2 -(12-(*tert*-butyldiphenylsilyloxy)dodec-5(*Z*)-enyl)oxalamide. A mixture of 2-(*n*-butylamino)-2-oxoacetic acid² (0.40 g, 2.70 mmol), the above 1-*tert*-butyldiphenylsilyloxy-12-aminododec-7(*Z*)-ene (1.20 g, 2.70 mmol), 1-hydroxybenzotriazole (HOBt; 0.44 g, 3.30 mmol) and [1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride] (0.63 g, 3.30 mmol) in dry DMF (5 mL) was stirred at room temperature overnight. The reaction mixture was quenched with water (30 mL) and extracted into ethyl acetate (3×20 mL). The combined organic extracts were washed with water (2×10 mL), brine (10 mL), dried and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by SiO_2 column chromatography to give N^1 - n -butyl- N^2 -(12-(*tert*-butyldiphenylsilyloxy)dodec-5(*Z*)-enyl)oxalamide (1.10 g, 73%). TLC: EtOAc/hexanes (2:3), $R_f \sim 0.55$; ^1H NMR (400 MHz) δ 8.05 (br s, -NH, 2H), 7.66-7.74 (m, 4H), 7.32-7.42 (m, 6H), 5.30-5.42 (m, 2H), 3.67 (t, $J = 3.9$ Hz, 2H), 3.31 (q, $J = 5.2$ Hz, 4H), 1.96-2.10 (m, 4H), 1.50-1.64 (m, 6H), 1.22-1.44 (m, 10H), 1.06 (s, 9H), 0.92 (t, $J = 7.8$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz) δ 160.33, 135.80, 134.35, 130.73, 129.74, 129.20, 127.83, 64.17, 39.89, 39.69, 32.79, 31.48, 29.94, 29.29, 29.07, 27.46, 27.23, 27.14, 27.0, 25.96, 20.29, 19.46, 13.96. HRMS calcd for $\text{C}_{34}\text{H}_{53}\text{N}_2\text{O}_3\text{Si}$ $[\text{M}+1]^+$ 565.3826, found 565.3824.



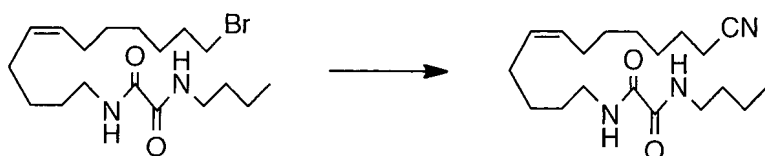
[00130] N^1 - n -Butyl- N^2 -(12-hydroxydodec-5(*Z*)-enyl)oxalamide. N^1 - n -Butyl- N^2 -(12-(*tert*-butyldiphenylsilyloxy)dodec-5(*Z*)-enyl)oxalamide (1.20 g, 2.12 mmol) was de-silylated as described above to give N^1 - n -butyl- N^2 -(12-hydroxydodec-5(*Z*)-enyl)oxalamide (0.568 g, 82%) as a colorless solid, mp 102.8-102.9 $^\circ\text{C}$. TLC: EtOAc/hexanes (7:3), $R_f \sim 0.55$; ^1H NMR (400 MHz) δ 7.69 (br s, 2H), 5.20-5.35 (m, 2H), 3.56 (t, $J = 4.2$ Hz, 2H), 3.26 (q, $J = 5.6$ Hz, 4H), 2.17 (br s, -OH), 1.95-2.02 (m, 4H), 1.44-1.56 (m, 6H), 1.20-1.40 (m, 10H), 0.87 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz) δ 160.15, 130.66, 129.21, 62.98, 39.80, 39.63, 32.93, 31.39, 29.77, 29.18, 28.95, 27.26, 27.0, 26.88, 25.80, 20.18, 13.85. HRMS calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{35}\text{N}_2\text{O}_3$ $[\text{M}+1]^+$ 327.2648, found 327.2648.



[00131] *N*¹-(12-Bromododec-5(*Z*)-enyl)-*N*²-*n*-butyloxalamide.

*N*¹-*n*-Butyl-*N*²-(12-

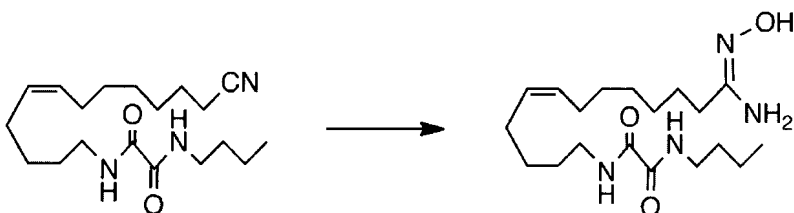
hydroxydodec-5(*Z*)-enyl)oxalamide (330 mg, 1.0 mmol) was brominated as described above to give *N*¹-(12-bromododec-5(*Z*)-enyl)-*N*²-*n*-butyloxalamide (330 mg, 84%) as a white solid, mp 46.0-46.3 °C. TLC: EtOAc/hexanes (3:2), *R*_f ~ 0.55; ¹H NMR (400 MHz) δ 7.79 (br s, -NH, 1H), 7.77 (br s, -NH, 1H), 5.20-5.32 (m, 2H), 3.32 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 3.22 (q, *J* = 7.2 Hz, 4H), 1.90-2.00 (m, 4H), 1.72-1.82 (m, 2H), 1.42-1.56 (m, 4H), 1.20-1.40 (m, 10H), 0.85 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H); ¹³C NMR (100 MHz) δ 160.17, 160.15, 130.40, 129.34, 39.77, 39.59, 34.12, 32.93, 31.40, 29.62, 29.0, 28.54, 27.25, 27.24, 27.0, 26.91, 20.18, 13.85. HRMS calcd for C₁₈H₃₄BrN₂O₂ [*M* + 1]⁺ 389.1804, found 389.1809.



[00132] *N*¹-*n*-Butyl-*N*²-(12-cyanododec-5(*Z*)-enyl)oxalamide.

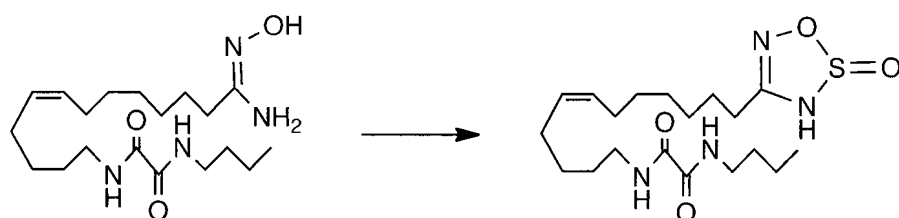
*N*¹-(12-bromododec-5(*Z*)-

enyl)-*N*²-*n*-butyloxalamide (250 mg, 0.642 mmol) was treated as described above with potassium cyanide to give *N*¹-*n*-butyl-*N*²-(12-cyanododec-5(*Z*)-enyl)oxalamide (168 mg, 78%) as a colorless solid, mp 83.0-83.3 °C. TLC: EtOAc/hexanes (3:2), *R*_f ~ 0.35; ¹H NMR (400 MHz) δ 7.45 (br s, -NH, 2H), 5.30-5.40 (m, 2H), 3.34 (q, *J* = 8.6 Hz, 4H), 2.32 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 1.98-2.08 (m, 4H), 1.30-1.68 (m, 16H), 0.92 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H); ¹³C NMR (100 MHz) δ 160.03 (2C), 130.03, 129.08, 120.10, 39.88, 39.42, 31.22, 29.40, 28.82, 28.60, 28.42, 27.07, 27.06, 26.82, 25.54, 20.06, 17.01, 13.80. HRMS calcd for C₁₉H₃₄N₃O₂ [*M*+1]⁺ 336.2651, found 336.2650.



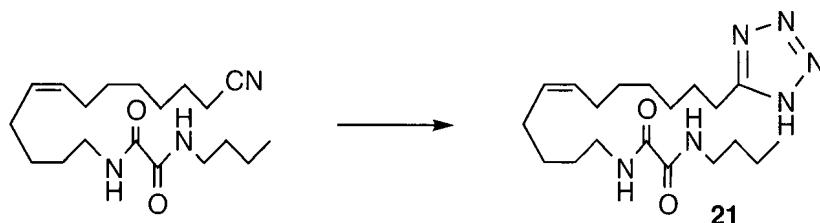
[00133] *N*¹-(13-Amino-13-(hydroxyimino)tridec-5(*Z*)-enyl)-*N*²-*n*-butyloxalamide.

Following the procedure described above, a mixture of *N*¹-*n*-butyl-*N*²-(12-cyanododec-5(*Z*)-enyl)oxalamide, H₂NOH·HCl, and Na₂CO₃ was converted to *N*¹-(13-amino-13-(hydroxyimino)tridec-5(*Z*)-enyl)-*N*²-*n*-butyloxalamide (102 mg, 62%) as a colorless solid, 116.3-116.4 °C. TLC: MeOH/CH₂Cl₂ (1:4), *R*_f ~ 0.20; ¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz) δ 5.28-5.40 (m, 2H), 3.24 (t, *J* = 6.4 Hz, 4H), 1.98-2.00 (m, 6H), 1.50-1.60 (m, 6H), 1.26-1.40 (m, 10H), 0.92 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H); ¹³C NMR (CD₃OD, 100 MHz) δ 160.55 (2C), 156.31, 130.05, 129.18, 39.23, 39.09, 31.18, 30.63, 29.51, 28.83, 28.69, 27.10, 26.87, 26.59, 19.88, 12.88. HRMS calcd for C₁₉H₃₇N₄O₃ [*M*+1]⁺ 369.2866, found 369.2864.

2827
261

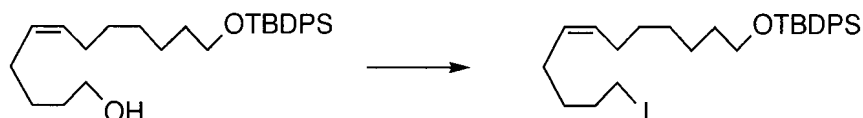
[00134] **Analog 27.** Treatment of *N*¹-(13-amino-13-(hydroxyimino)tridec-5(*Z*)-enyl)-*N*²-*n*-butylloxalamide (100 mg, 0.27 mmol) with 1,1'-thiocarbonyl diimidazole gave **27** (71 mg, 63%) as a white solid, mp 110.6-110.8 °C. TLC: MeOH/CH₂Cl₂ (1:9), *R*_f ~ 0.55; ¹H NMR (400 MHz) δ 8.90 (br s, NH, 1H), 7.52 (br s, NH, 2H), 5.28-5.40 (m, 2H), 3.20-3.40 (m, 4H), 2.59 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 1.98-2.10 (m, 4H), 1.21-1.70 (m, 16H), 0.92 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H); ¹³C NMR (100 MHz) δ 160.12, 160.08, 153.31, 130.62, 129.46, 39.93, 39.85, 31.35, 29.33, 28.94, 28.89, 28.68, 27.02, 26.84, 26.69, 23.96, 20.23, 13.90. HRMS calcd for C₁₉H₃₅N₄O₄S [M+1]⁺ 415.2379, found 415.2372.

[00135] **Synthesis of Analog 21.**



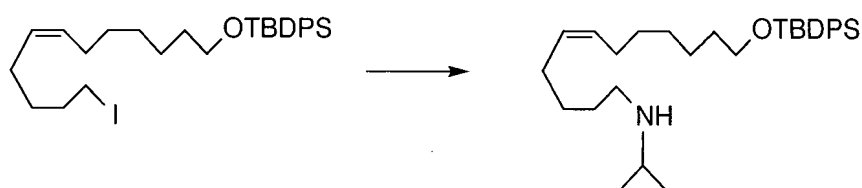
[00136] **Analog 21.** Following the procedure used to prepare **22**, a mixture of *N*¹-*n*-butyl-*N*²-(12-cyanododec-5(*Z*)-enyl)oxalamide (30 mg, 0.10 mmol), sodium azide (11 mg, 0.20 mmol) and zinc bromide (40 mg, 0.20 mmol) was heated in isopropanol/methanol/H₂O (1:1:3, 4 mL) to give tetrazole **21** (25 mg, 74%) as a colorless solid, mp 113-114 °C. TLC: 10% MeOH/CH₂Cl₂, *R*_f ~ 0.26; ¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz) δ 5.40-5.35 (m, 2H), 3.26 (t, *J* = 7.0 Hz, 4H), 2.44 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 2.05-2.15 (m, 4H), 1.65-1.60 (m, 6H), 1.40-1.30 (m, 10H), 0.94 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H); ¹³C NMR (CD₃OD, 100 MHz) δ 160.12, 160.05, 156.80, 130.35, 129.50, 39.20, 39.08, 31.15, 29.33, 28.66, 28.65, 28.53, 27.38, 26.83, 26.79, 26.55, 22.86, 19.85, 12.84. HRMS calcd for C₁₉H₃₅N₆O₂ [M+1]⁺ 379.2822, found 379.2814.

[00137] **Synthesis of Analog 26.**



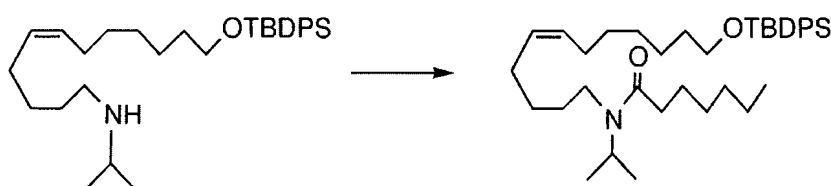
[00138] **1-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)-12-Iodododec-7(*Z*)-ene.** Triphenylphosphine (504 mg, 1.14 mmol) and imidazole (156 mg, 2.30 mmol) were added to a 0 °C solution of the above 12-(*tert*-butyldiphenylsilyloxy)dodec-5(*Z*)-en-1-ol (500 mg, 1.14 mmol) in dry THF (25 mL) under an argon atmosphere. After 10 min, solid iodine (252 mg, 1.2 equiv) was added in portions. After stirring at room temperature for 3 h, the reaction mixture was quenched with sat. aq. sodium bisulfite solution (10 mL). After an additional 1 h, the solution was washed with

water (2 × 30 mL) and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by flash SiO₂ column chromatography using 10% EtOAc/hexanes as eluent to give the title compound (474 mg, 76%) as a colorless oil. TLC: 20% EtOAc/hexanes, $R_f \sim 0.65$; ¹H NMR (300 MHz) δ 7.65-7.70 (m, 4H), 7.35-7.45 (m, 6H), 5.30-5.40 (m, 2H), 3.64 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 3.18 (t, $J = 5.5$ Hz, 2H), 1.95-2.10 (m, 4H), 1.85-1.90 (m, 2H), 1.22-1.50 (m, 10H), 1.20 (s, 9H); ¹³C NMR (75 MHz) δ 135.87, 130.42, 130.22, 130.20, 129.95, 127.89, 64.15, 38.35, 36.20, 32.50, 29.90, 28.62, 28.32, 27.25, 27.20, 27.18, 26.22, 19.12. HRMS calcd for C₂₈H₄₂IOSi [M+1]⁺ 549.2050, found 549.2044.



[00139] 1-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy-12-*N*-isopropylamino-dodec-7(*Z*)-ene.

Isopropylamine (464 μ L, 5.45 mmol) and K₂CO₃ (373 mg, 2.73 mmol) were added sequentially to a room temperature solution of 1-(*tert*-butyldiphenylsilyloxy-12-iodododec-7(*Z*)-ene (500 mg, 0.91 mmol) in dry tetrahydrofuran (8 mL). The mixture was heated in a sealed tube at 90 °C for 12 h, then cooled to rt, diluted with water (5 mL), filtered and the filtrate was extracted with ethyl acetate (3 × 10 mL). The combined organic extracts were dried, concentrated under reduced pressure, and the residue was purified by SiO₂ column chromatography using a gradient from 2% to 5% MeOH/ CH₂Cl₂ as eluent to give the title amine (335 mg, 77%) as a colorless oil. TLC: 5% MeOH/CH₂Cl₂, $R_f \sim 0.3$; ¹H NMR (300 MHz) δ 7.62-7.70 (m, 4H), 7.34-7.44 (m, 6H), 5.30-5.40 (m, 2H), 3.64 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 2.72-2.84 (m, 1H), 2.58 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 1.94-2.08 (m, 4H), 1.20-1.60 (m, 12H), 1.05 (d, $J = 7.2$ Hz, 6H), 1.04 (s, 9H); ¹³C NMR (75 MHz) δ 135.81, 134.40, 132.0, 129.72, 127.81, 64.21, 48.96, 47.75, 32.80, 30.33, 29.97, 29.31, 27.85, 27.44, 27.33, 27.11, 25.95, 23.27, 19.46. HRMS calcd for C₃₁H₅₀NOSi [M+1]⁺ 480.3662, found 480.3666.



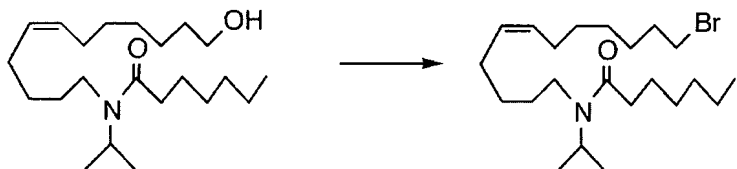
[00140] *N*-(12-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)dodec-5(*Z*)-enyl)-*N*-isopropyl *n*-heptanamide.

Solid [1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride] (EDCI; 131 mg, 0.69 mmol) was added in portions to a room temperature solution of 1-(*tert*-butyldiphenylsilyloxy-12-*N*-isopropylamino-dodec-7(*Z*)-ene (300 mg, 0.63 mmol), DMAP (84 mg, 0.69 mmol), *N*-hydroxybenzotriazole (HOBt; 93 mg, 0.69 mmol), and *n*-heptanoic acid (90 mg, 0.68 mmol) in dry DMF (5 mL). After 12 h, the reaction mixture was diluted with water (10 mL) and extracted with ether (3 × 5 mL). The combined ethereal extracts were washed with brine, dried, and evaporated in *vacuo*. The residue was purified via SiO₂ column chromatography to give the title

compound (281 mg, 76%) as a colorless oil. TLC: EtOAc/hexanes (1:4), $R_f \sim 0.65$; ^1H NMR (300 MHz, 1:1 mixture of rotamers) δ 7.62-7.70 (m, 4H), 7.34-7.44 (m, 6H), 5.30-5.40 (m, 2H), 4.60-4.70 and 4.00-4.05 (m, 1H for two rotamers), 3.05 (t, $J = 5.2$ Hz, 2H), 3.02-3.19 (m, 2H), 2.20-2.40 (m, 2H), 1.95-2.10 (m, 4H), 1.20-1.60 (m, 20 H), 1.18 and 1.08 (d, $J = 7.0$ Hz, 6H for two rotamers), 1.02 (s, 9H), 0.88 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz) δ 177.24, 173.35, 172.25, 136.16, 135.80, 135.14, 134.37, 134.34, 130.97, 130.31, 129.74, 129.73, 129.54, 129.04, 127.82, 127.75, 64.21, 64.18, 48.42, 45.68, 43.62, 41.19, 34.46, 34.02, 32.81, 32.79, 31.95, 31.94, 31.75, 31.28, 30.0, 29.92, 29.55, 29.46, 29.31, 29.09, 27.87, 27.52, 27.49, 27.45, 27.21, 27.13, 26.94, 26.88, 25.97, 25.95, 25.79, 25.15, 22.81, 22.75, 21.63, 20.77, 19.46, 19.33, 14.34, 14.30. HRMS calcd for $\text{C}_{38}\text{H}_{62}\text{NO}_2\text{Si}$ $[\text{M}+1]^+$ 592.4550, found 592.4552.



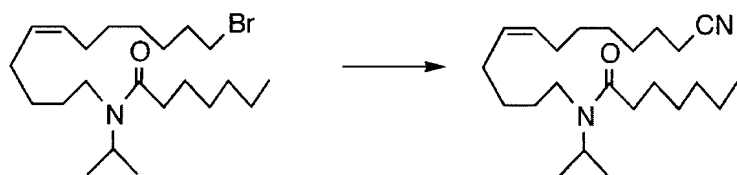
[00141] ***N*-(12-Hydroxydodec-5(*Z*)-enyl)-*N*-isopropyl *n*-heptanamide.** Following the desilylation procedure above, *N*-(12-(*tert*-butyldiphenylsilyloxy)dodec-5(*Z*)-enyl)-*N*-isopropyl *n*-heptanamide (275 mg, 0.464 mmol) was converted to the title alcohol (155 mg, 94%) as a syrup. TLC: 40% EtOAc/hexanes, $R_f \sim 0.45$; ^1H NMR (300 MHz, 45/55 mixture of rotamers) δ 5.30-5.46 (m, 2H), 4.62-4.72 and 4.00-4.08 (m, 1H for two rotamers), 3.63 (t, $J = 5.4$ Hz, 2H), 3.06-3.14 (m, 2H), 2.22-2.36 (m, 2H), 1.98-2.10 (m, 4H), 1.24-1.70 (m, 20 H), 1.17 and 1.10 (d, $J = 6.8$ Hz, 6H for two rotamers), 0.88 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz) δ 173.23, 172.67, 130.83, 130.12, 129.71, 128.96, 62.69, 62.64, 48.34, 45.56, 43.52, 41.07, 34.0, 33.91, 32.91, 32.88, 31.84, 31.81, 31.18, 29.82, 29.74, 29.46, 29.33, 29.11, 27.78, 27.37, 27.35, 27.16, 27.13, 26.84, 25.89, 25.81, 25.66, 22.69, 21.51, 20.65, 14.21. HRMS calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{44}\text{NO}_2$ $[\text{M}+1]^+$ 354.3372, found 354.3380.



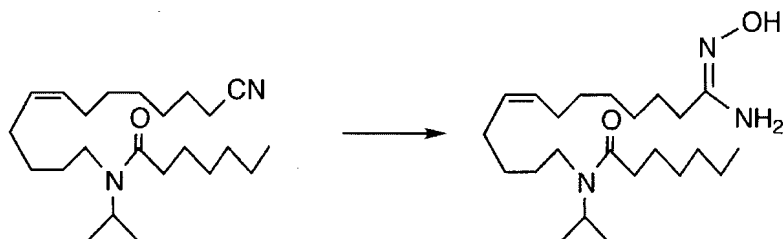
[00142] ***N*-(12-Bromododec-5(*Z*)-enyl)-*N*-isopropyl-*n*-hexanamide.** Following the procedure above, *N*-(12-hydroxydodec-5(*Z*)-enyl)-*N*-isopropyl *n*-heptanamide (150 mg, 0.43 mmol) was transformed as described above into the corresponding bromide (144 mg, 82%) as a syrup. TLC: 30% EtOAc/hexanes, $R_f \sim 0.65$; ^1H NMR (300 MHz, 45/55 ratio of rotamers) δ 5.30-5.42 (m, 2H), 4.60-4.70 and 4.00-4.10 (m, 1H for two rotamers), 3.42 (t, $J = 5.3$ Hz, 2H), 3.02-3.20 (m, 2H), 2.20-2.38 (m, 2H), 1.80-2.10 (m, 4H), 1.20-1.70 (m, 20H), 1.16 and 1.12 (d, $J = 7.2$ Hz, 6H for two rotamers), 0.87 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz) δ 173.20, 172.64, 130.61, 130.46, 129.96, 129.94, 129.24, 48.34, 45.56, 43.54, 41.09, 34.20, 34.16, 34.05, 33.97, 32.98, 32.93, 32.60, 31.90, 31.88, 31.26, 29.78, 29.68, 29.62, 29.51, 29.40, 28.94, 28.55, 28.25,

28.20, 27.81, 27.69, 27.45, 27.30, 27.25, 27.18, 26.92, 25.87, 25.20, 22.75, 21.59, 20.72, 14.72.

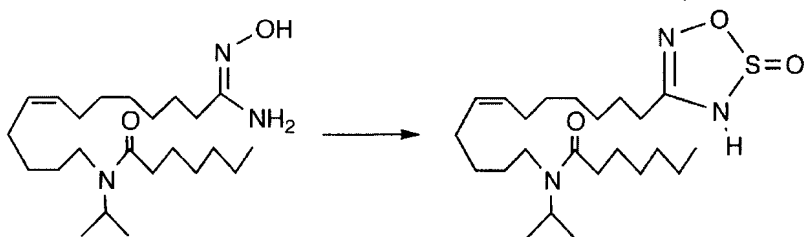
HRMS calcd for $C_{22}H_{43}BrNO$ $[M+1]^+$ 416.2528, found 416.2523.



[00143] *N*-(12-Cyanododec-5(*Z*)-enyl)-*N*-isopropyl-*n*-hexanamide. Following the cyanide displacement procedure above, *N*-(12-bromododec-5(*Z*)-enyl)-*N*-isopropyl-*n*-hexanamide (500 mg, 1.20 mmol) gave the title nitrile (339 mg, 78%) as a syrup. TLC: EtOAc/hexanes (3:7), $R_f \sim 0.40$; ^1H NMR (500 MHz, 45/55 ratio of rotamers) δ 5.20-5.34 (m, 2H), 4.52-4.62 and 3.90-4.02 (m, 1H for two rotamers), 3.00-3.10 (m, 2H), 2.16-2.30 (m, 4H), 1.90-2.05 (m, 4H), 1.60-1.70 (m, 8H), 1.22-1.50 (m, 12H), 1.18 and 1.11, (d, $J = 6.8$ Hz, 6H for two rotamers), 0.88 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz) δ 173.22, 172.66, 130.42, 130.04, 129.78, 129.35, 120.04, 119.99, 48.34, 45.58, 43.54, 41.07, 34.02, 33.95, 31.89, 31.86, 31.22, 29.53, 29.49, 29.37, 28.73, 28.70, 28.57, 28.53, 27.78, 27.39, 27.26, 27.18, 27.17, 26.91, 25.85, 25.70, 25.52, 25.49, 22.73, 21.56, 20.70, 17.26, 14.27. HRMS calcd for $C_{23}H_{43}N_2O$ $[M+1]^+$ 363.3375, found 363.3375.

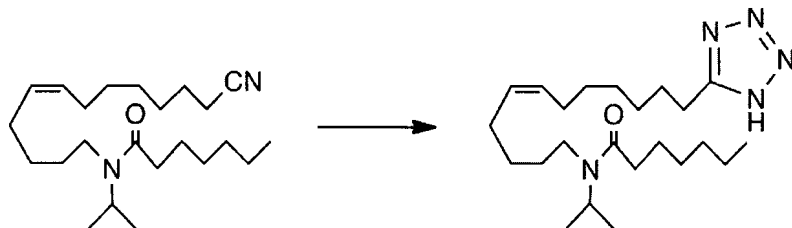


[00144] *N*-(13-Amino-13-(hydroxyimino)tridec-5(*Z*)-enyl)-*N*-isopropyl-*n*-heptanamide. Following the procedure above, a mixture of *N*-(12-cyanododec-5(*Z*)-enyl)-*N*-isopropyl-*n*-hexanamide, $H_2NOH \cdot HCl$, and Na_2CO_3 was converted into the title compound (64%). TLC: MeOH/ CH_2Cl_2 (3:7), $R_f \sim 0.30$; ^1H NMR (500 MHz, 1:1 ratio of rotamers) δ 5.24-5.40 (m, 2H), 4.62-4.68 (m, 0.5H), 4.50-4.60 (-NH, 2H), 3.96-4.40 (m, 0.5H), 3.02-3.14 (m, 2H), 2.18-2.28 (m, 2H), 1.90-2.16 (m, 6H), 1.46-1.64 (m, 8H), 1.20-1.36 (m, 12 H), 1.15 and 1.08 (d, $J = 7.3$ Hz, 6H for two rotamers), 0.85 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz) δ 173.22, 172.58, 154.26, 154.21, 130.82, 130.13, 129.79, 129.08, 48.32, 45.50, 43.52, 41.09, 36.03, 34.05, 33.97, 31.89, 31.86, 31.459, 31.25, 29.72, 29.67, 29.53, 29.39, 29.21, 29.19, 29.11, 29.03, 27.83, 27.41, 27.24, 27.17, 26.90, 26.84, 25.87, 25.70, 22.74, 21.58, 20.73, 14.26. HRMS calcd for $C_{23}H_{46}N_3O_2$ $[M+1]^+$ 396.3590, found 396.3698.



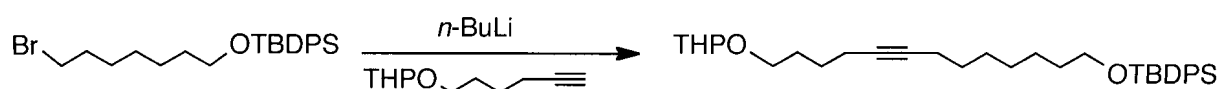
[00145] **Analog 26.** *N*-(13-Amino-13-(hydroxyimino)tridec-5(*Z*)-enyl)-*N*-isopropyl-*n*-heptanamide (150 mg, 0.38 mmol) was treated with thionyl chloride at 0 °C as described above to give **26** (133 mg, 68%) as a syrup. TLC: EtOAc/hexanes (1:1), $R_f \sim 0.30$; ^1H NMR (400 MHz, 35/65 ratio of rotamers) δ 5.22-5.40 (m, 2H), 4.48-4.70 and 4.00-4.12 (m, 1H for two rotamers), 3.04-3.20 (m, 2H), 2.50 and 2.64 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H for two rotamers), 2.22, 2.38 (t, $J = 8.0$ Hz, 2H for two rotamers), 1.90-2.10 (m, 4H), 1.50-1.78 (m, 8H), 1.20-1.40 (m, 12H), 1.22 and 1.12 (d, $J = 6.7$ Hz 6H for two rotamers), 0.88 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz) δ 173.82, 173.40, 153.39, 153.26, 131.03, 130.02, 129.97, 129.10, 48.85, 46.04, 43.82, 41.50, 34.13, 34.02, 31.85, 31.80, 31.23, 29.58, 29.32, 29.11, 29.09, 29.02, 28.80, 28.17, 27.96, 27.32, 27.24, 27.19, 26.03, 26.75, 26.64, 26.10, 24.02, 29.96, 22.75, 21.56, 21.53, 20.74, 20.72, 14.27, 14.25. HRMS calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{44}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$ $[\text{M}+1]^+$ 442.3103, found 442.3106.

[00146] Synthesis of Analog 19.

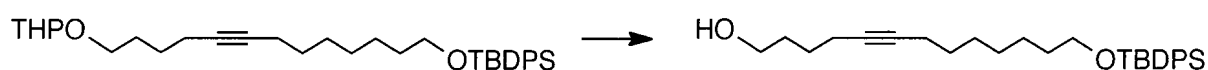


[00147] **Analog 19.** *N*-(12-Cyanododec-5(*Z*)-enyl)-*N*-isopropyl-*n*-hexanamide (350 mg, 0.97 mmol) was treated with sodium azide as described above to give tetrazole **19** (250 mg, 64%) as a sticky solid. TLC: EtOAc, $R_f \sim 0.40$; ^1H NMR (300 MHz, 35/65 ratio of rotamers) δ 5.22-5.40 (m, 2H), 4.58-4.68 and 4.02-4.18 (m, 1H for two rotamers), 3.10-3.24 (m, 2H), 2.98 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 2.44 and 2.30 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H for two rotamers), 1.94-2.10 (m, 4H), 1.72-1.84 (m, 2H), 1.50-1.70 (m, 4H), 1.18-1.40 (m, 14H), 1.21 and 1.10 (d, $J = 7.2$ Hz, 6H for two rotamers), 0.82-0.87 (m, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz) δ 174.06, 173.80, 130.85, 130.04, 129.79, 129.08, 48.94, 46.32, 43.97, 41.55, 34.11, 34.05, 31.79, 31.72, 31.12, 29.61, 29.61, 29.51, 29.25, 29.05, 28.85, 28.22, 27.98, 27.89, 27.32, 27.19, 26.92, 25.97, 23.70, 22.67, 21.51, 20.67, 14.02. HRMS calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{44}\text{N}_5\text{O}$ $[\text{M}+1]^+$ 406.3546, found 406.3547.

[00148] Synthesis of Analog 22.

[00149] 1-*tert*-Butyldiphenylsilyloxy-13-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)tridec-8-yne.

Following the procedure applied in the synthesis of analog **25**, 2-(hex-5-ynyloxy)tetrahydro-2*H*-pyran¹ (5.0 g, 27.40 mmol) was coupled with 1-*tert*-butyldiphenylsilyloxy-7-bromoheptane (11.90 g, 27.40 mmol) to give 1-*tert*-butyldiphenylsilyloxy-13-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)tridec-8-yne³ (10.50 g, 72%) as a colorless syrup whose spectral data matched literature values.³ TLC: EtOAc/hexanes (1:4), $R_f \sim 0.60$; ^1H NMR (400 MHz) δ 7.64-7.68 (m, 4H), 7.34-7.42 (m, 6H), 4.57 (t, $J = 4.3$ Hz, 1H), 3.78-3.86 (m, 2H), 3.65 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H), 3.32-3.54 (m, 2H), 2.10-2.22 (m, 4H), 1.24-1.84 (m, 20H), 1.04 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz) δ 135.80, 134.38, 129.72, 127.81, 99.0, 80.72, 80.10, 67.30, 64.17, 62.49, 32.77, 30.99, 29.34, 29.18, 29.13, 29.0, 27.11, 26.19, 25.91, 25.74, 19.87, 19.45, 19.0, 18.86.



[00150] **13-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)tridec-5-yn-1-ol.** Following the procedure applied in the synthesis of analog **25**, 1-*tert*-butyldiphenylsilyloxy-13-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)tridec-8-yne (10.0 g, 18.70 mmol) was deprotected with PPTS to give 13-(*tert*-butyldiphenylsilyloxy)tridec-5-yn-1-ol (7.70 g, 91%) as a colorless syrup. TLC: EtOAc/hexanes (3:7), $R_f \sim 0.43$; ^1H NMR (300 MHz) δ 7.64-7.68 (m, 4H), 7.34-7.42 (m, 6H), 3.62 (t, $J = 5.6$ Hz,

4H), 2.06-2.22 (m, 4H), 1.50-1.64 (m, 14H), 1.04 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz) δ 135.82, 134.37, 129.76, 127.85, 80.93, 80.04, 64.21, 62.63, 32.77, 32.09, 29.33, 29.13, 29.10, 27.14, 25.92, 25.63, 19.47, 19.0, 18.81. HRMS calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{43}\text{O}_2\text{Si}$ $[\text{M}+1]^+$ 451.3032, found 451.3032.



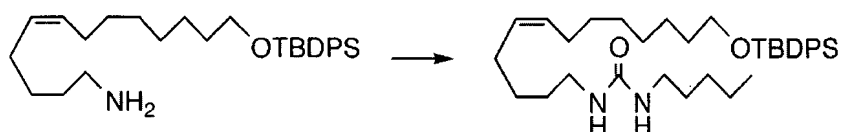
[00151] **(Z)-13-(tert-Butyldiphenylsilyloxy)tridec-5-en-1-ol.** Following the procedure applied in the synthesis of analog **25**, 13-(tert-butyldiphenylsilyloxy)tridec-5-yn-1-ol (7.50 g, 16.60 mmol) was subjected to semi-hydrogenation to give 13-(tert-butyldiphenylsilyloxy)tridec-5(Z)-en-1-ol (6.90 g, 92%) as a syrup whose spectral values matched literature data.² TLC: EtOAc/hexanes (3:7), $R_f \sim 0.45$; ^1H NMR (400 MHz) δ 7.64-7.68 (m, 4H), 7.42-7.34 (m, 6H), 5.28-5.42 (m, 2H), 3.68-3.67 (t, $J = 6.4$ Hz, 4H), 1.98-2.12 (m, 4H), 1.50-1.60 (m, 4H), 1.40-1.24 (m, 10H), 1.04 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz) δ 135.83, 134.40, 130.61, 129.74, 129.60, 127.83, 64.21, 63.08, 32.83, 32.60, 29.94, 29.54, 27.50, 27.18, 27.14, 26.12, 26.01, 19.48.



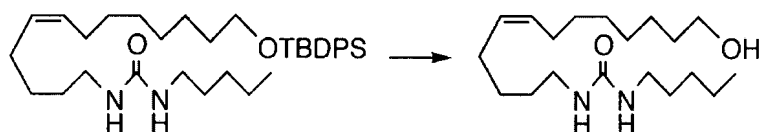
[00152] **1-tert-Butyldiphenylsilyloxy-13-azidotridec-8(Z)-ene.** Following the procedure applied in the synthesis of analog **25**, 13-(tert-butyldiphenylsilyloxy)tridec-5(Z)-en-1-ol (7.0 g, 15.48 mmol) was converted to 1-tert-butyldiphenylsilyloxy-13-azidotridec-8(Z)-ene (5.30 g, 72%) obtained as a syrup. TLC: EtOAc/hexanes (1:9), $R_f \sim 0.55$; ^1H NMR (400 MHz) δ 7.68-7.64 (m, 4H), 7.42-7.34 (m, 6H), 5.28-5.42 (m, 2H), 3.64 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 3.26 (t, $J = 5.6$ Hz, 2H), 1.96-2.10 (m, 4H), 1.64-1.24 (m, 14H), 1.04 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz) δ 135.86, 134.44, 131.0, 129.77, 129.12, 127.85, 64.27, 51.63, 32.87, 29.95, 29.56, 28.70, 27.54, 27.17, 27.05, 26.93, 26.05, 19.51. IR (neat) 2930, 2783, 2361, 2331, 2094, 1109 cm^{-1} . HRMS calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{44}\text{N}_3\text{OSi}$ $[\text{M}+1]^+$ 478.3254, found 478.3250.



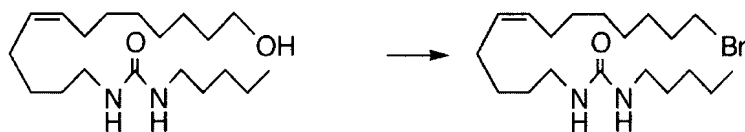
[00153] **1-tert-Butyldiphenylsilyloxy-13-aminotridec-8(Z)-ene.** Following the procedure applied in the synthesis of analog **25**, 1-tert-butyldiphenylsilyloxy-13-azidotridec-8(Z)-ene (3.50 g, 7.32 mmol) was reduced with triphenylphosphine to give 1-tert-butyldiphenylsilyloxy-13-aminotridec-8(Z)-ene (2.44 g, 74%) as a colorless oil. TLC: MeOH/ CH_2Cl_2 (1:4), $R_f \sim 0.25$; ^1H NMR (400 MHz) δ 7.62-7.68 (m, 4H), 7.32-7.40 (m, 6H), 5.30-5.40 (m, 2H), 3.63 (t, $J = 5.2$ Hz, 2H), 2.62 (br s, 2H), 1.92-2.06 (m, 4H), 1.40-1.58 (m, 4H), 1.20-1.40 (m, 10H), 1.03 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz) δ 135.79, 134.39, 130.46, 129.70, 127.78, 64.22, 42.02, 32.80, 29.92, 29.52, 27.46, 27.23, 27.10, 25.98, 19.44. HRMS calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{46}\text{NOSi}$ $[\text{M}+1]^+$ 452.3349, found 452.3357.



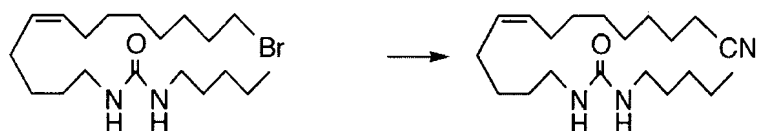
[00154] **1-(13-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)tridec-5(*Z*)-enyl)-3-*n*-pentylurea.** Following the procedure applied in the synthesis of analog **25**, 1-*tert*-butyldiphenylsilyloxy-13-aminotridec-8(*Z*)-ene (2.35 g, 5.20 mmol) was reacted with *n*-pentyl isocyanate to give 1-(13-(*tert*-butyldiphenylsilyloxy)tridec-5(*Z*)-enyl)-3-*n*-pentylurea (2.23 g, 76%) as a syrup. TLC: EtOAc/hexanes (1:4), $R_f \sim 0.65$; ^1H NMR (500 MHz) δ 7.62-7.70 (m, 4H), 7.32-7.44 (m, 6H), 5.28-5.44 (m, 2H), 4.37 (br s, 2H), 3.66 (t, $J = 4.2$ Hz, 2H), 3.08-3.20 (m, 4H), 1.98-2.08 (m, 4H), 1.20-1.60 (m, 20H), 1.05 (s, 9H), 0.90 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz) δ 159.22, 135.80, 134.12, 130.24, 129.88, 129.76, 127.81, 64.21, 40.62, 40.54, 32.82, 30.31, 29.95, 29.56, 29.39, 27.51, 27.35, 27.20, 27.13, 26.01, 22.72, 19.43, 14.30. HRMS calcd for $\text{C}_{35}\text{H}_{57}\text{N}_2\text{O}_2\text{Si}$ $[\text{M}+1]^+$ 565.4189, found 565.4186.



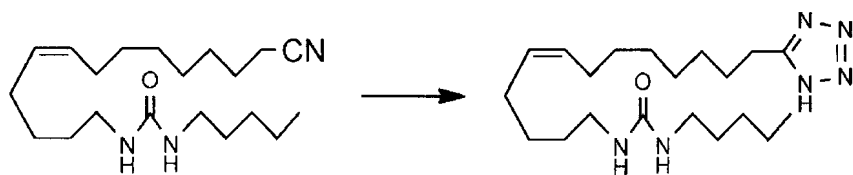
[00155] **1-(13-Hydroxytridec-5(*Z*)-enyl)-3-*n*-pentylurea.** Following the procedure applied in the synthesis of analog **25**, 1-(13-(*tert*-butyldiphenylsilyloxy)tridec-5(*Z*)-enyl)-3-*n*-pentylurea (2.30 g, 4.07 mmol) was desilylated using TBAF to give 1-(13-hydroxytridec-5(*Z*)-enyl)-3-*n*-pentylurea (1.22 g, 92%) as a white solid, mp 63.1-63.3 °C. TLC: EtOAc/hexanes (7:3), $R_f \sim 0.55$; ^1H NMR (400 MHz) δ 5.24-5.38 (m, 2H), 4.74 (br s, -NH, 2H), 3.62 (t, $J = 5.6$ Hz, 2H), 3.06-3.18 (m, 4H), 1.98-2.06 (m, 4H), 1.20-1.60 (m, 20H), 0.86 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz) δ 159.31, 130.38, 129.63, 62.90, 40.51, 40.46, 32.93, 30.30, 30.29, 29.79, 29.41, 29.34, 29.23, 27.30, 27.24, 27.15, 25.98, 22.67, 14.25. HRMS calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{39}\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}+1]^+$ 327.3012, found 327.3011.



[00156] **1-(13-Bromotridec-5(*Z*)-enyl)-3-*n*-pentylurea.** Following the procedure applied in the synthesis of analog **25**, 1-(13-hydroxytridec-5(*Z*)-enyl)-3-*n*-pentylurea (1.20 g, 3.68 mmol) was transformed into 1-(13-bromotridec-5(*Z*)-enyl)-3-*n*-pentylurea (1.17 g, 82%), obtained as a sticky solid. TLC: EtOAc/hexanes (2:3), $R_f \sim 0.60$; ^1H NMR (500 MHz) δ 5.28-5.40 (m, 2H), 4.71 (br s, -NH, 2H), 3.40 (t, $J = 4.2$ Hz, 2H), 3.10-3.20 (m, 4H), 1.98-2.06 (m, 4H), 1.82-1.88 (m, 2H), 1.26-1.50 (m, 18H), 0.87 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz) δ 159.38, 130.34, 129.59, 40.55, 40.46, 34.29, 33.02, 30.34, 29.81, 29.38, 29.30, 28.89, 28.35, 27.39, 27.33, 27.18, 22.71, 14.29. HRMS calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{37}\text{BrN}_2\text{O}$ $[\text{M}]^+$ 388.2089, found 388.2090.

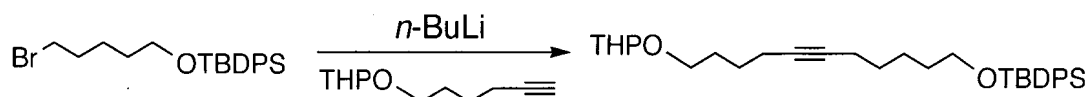


[00157] **1-(13-Cyanotridec-5(Z)-enyl)-3-*n*-pentylurea.** 1-(13-Bromotridec-5(Z)-enyl)-3-*n*-pentylurea (1.10 g, 2.82 mmol) was reacted with potassium cyanide as described above in the synthesis of analog **25** to give 1-(13-cyanotridec-5(Z)-enyl)-3-*n*-pentylurea (0.69 g, 73%) as a colorless solid, mp 44.3-44.4 °C. TLC: EtOAc/hexanes (1:1), $R_f \sim 0.32$; ^1H NMR (500 MHz) δ 5.30-5.42 (m, 2H), 4.35 (br s, 2H), 3.04-3.20 (m, 4H), 2.34 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 1.98-2.10 (m, 4H), 1.60-1.72 (m, 2H), 1.24-1.56 (m, 18H), 0.89 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz) δ 159.24, 130.23, 129.68, 120.02, 40.24, 40.13, 30.27, 29.69, 29.32, 29.07, 28.82, 28.78, 27.29, 27.26, 27.13, 25.49, 22.64, 17.30, 14.24. HRMS calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{38}\text{N}_3\text{O}$ $[\text{M}+1]^+$ 336.3015, found 336.3019.



[00158] **1-(13-(1H-Tetrazol-5-yl)tridec-5(Z)-enyl)-3-*n*-pentylurea (22).** Following the procedure described above in the synthesis of analog **20**, a mixture of 1-(13-cyanotridec-5(Z)-enyl)-3-*n*-pentylurea, sodium azide, and zinc bromide was heated at 110 °C to give analog **22** (66%) as a colorless solid, mp 86.0-86.2 °C. TLC: MeOH/ CH_2Cl_2 (1:9), $R_f \sim 0.30$; ^1H NMR (CD_3OD , 300 MHz) δ 5.30-5.40 (m, 2H), 3.06-3.11 (m, 4H), 2.93 (t, $J = 8.0$ Hz, 2H), 1.98-2.10 (m, 4H), 1.70-1.82 (m, 2H), 1.24-1.50 (m, 18H), 0.90 (t, $J = 7.6$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (CD_3OD , 100 MHz) δ 160.15, 156.21, 129.89, 129.39, 39.84, 39.71, 29.89, 29.82, 29.53, 29.01, 29.00, 28.81, 27.45, 26.90, 26.70, 22.89, 22.33, 13.25. HRMS calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{38}\text{N}_6\text{O}$ $[\text{M}]^+$ 378.3107, found 378.3111.

[00159] **Synthesis of Analog 13.**

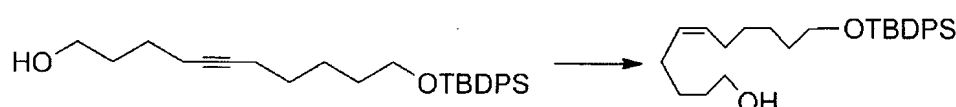


[00160] **1-(tert-Butyldiphenylsilyloxy)-11-(tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)undec-6-yne.**

Following the procedure applied in the synthesis of analog **25**, 2-(hex-5-ynyloxy)tetrahydro-2H-pyran¹ was treated with *n*-BuLi and 1-(tert-butyldiphenylsilyloxy)-5-bromopentane⁴ to give the title compound (73%) as a colorless liquid. TLC: EtOAc/hexanes (1:4), $R_f \sim 0.60$; ^1H NMR (400 MHz) δ 7.64-7.68 (m, 4H), 7.34-7.42 (m, 6H), 4.57 (t, $J = 4.3$ Hz, 1H), 3.78-3.86 (m, 2H), 3.65 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H), 3.32-3.54 (m, 2H), 2.10-2.22 (m, 4H), 1.24-1.84 (m, 16H), 1.04 (s, 9H); ^{13}C NMR (125 MHz) δ 135.80, 134.32, 129.74, 127.84, 99.01, 80.54, 80.16, 67.30, 64.02, 62.50, 32.34, 30.98, 29.18, 29.12, 27.32, 27.10, 26.17, 25.73, 25.32, 19.87, 18.99, 18.86. HRMS calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{45}\text{O}_3\text{Si}$ $[\text{M}+1]^+$ 493.3138, found 493.3144.



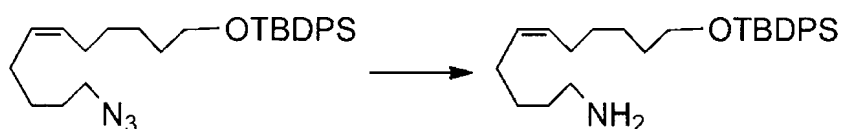
[00161] **11-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)undec-5-yn-1-ol.** Following the procedure reported to prepare analog **25**, 1-(*tert*-butyldiphenylsilyloxy)-11-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)undec-6-yne was cleaved with a catalytic amount of PPTS to give the title compound (72%) as a colorless liquid. TLC: EtOAc/hexanes (3:7), $R_f \sim 0.43$; ^1H NMR (300 MHz) δ 7.64-7.68 (m, 4H), 7.34-7.42 (m, 6H), 3.62 (t, $J = 5.6$ Hz, 4H), 2.06-2.22 (m, 4H), 1.64-1.50 (m, 10H), 1.04 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz) δ 135.82, 134.33, 129.77, 127.84, 80.77, 80.11, 64.06, 62.69, 32.35, 32.10, 29.10, 27.12, 25.60, 25.33, 18.97, 18.78. HRMS calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{39}\text{O}_2\text{Si}$ $[\text{M}+1]^+$ 423.2719, found 423.2718.



[00162] **11-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)undec-5(*Z*)-en-1-ol.** 11-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)undec-5-yn-1-ol (6.50 g, 15.40 mmol) was subjected to semi-hydrogenation as described above to give the title olefin (6.07 g, 93%) as a colorless oil. TLC: EtOAc/hexanes (3:7), $R_f \sim 0.45$; ^1H NMR (300 MHz) δ 7.68-7.64 (m, 4H), 7.34-7.32 (m, 6H), 5.28-5.42 (m, 2H), 3.68-3.60 (t, $J = 6.4$ Hz, 4H), 2.08-1.96 (m, 4H), 1.60-1.50 (m, 4H), 1.40-1.24 (m, 6H), 1.04 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz) δ 135.79, 134.36, 130.45, 129.71, 129.63, 127.79, 64.16, 63.15, 32.69, 32.59, 29.94, 29.67, 27.43, 27.13, 27.08, 26.06, 25.68, 19.45. HRMS calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{41}\text{O}_2\text{Si}$ $[\text{M}+1]^+$ 425.2876, found 425.2874.

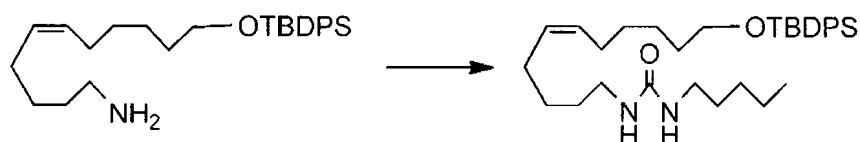


[00163] **1-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy-11-azidoundec-6(*Z*)-ene.** Following the protocol described above, 11-(*tert*-butyldiphenylsilyloxy)undec-5(*Z*)-en-1-ol (6.0 g, 14.24 mmol) was converted into the title azide (4.60 g, 72%), a colorless liquid. TLC: EtOAc/hexanes (1:9), $R_f \sim 0.55$; ^1H NMR (300 MHz) δ 7.64-7.68 (m, 4H), 7.34-7.42 (m, 6H), 5.28-5.42 (m, 2H), 3.65 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 3.25 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H), 1.96-2.10 (m, 4H), 1.24-1.64 (m, 10H), 1.04 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz) δ 136.63, 135.85, 134.41, 130.83, 129.79, 129.22, 127.88, 64.20, 51.62, 32.77, 29.73, 28.70, 27.53, 27.18, 27.05, 26.94, 25.77, 19.52; IR (neat) 2931, 2857, 2094, 1589, 1110 cm^{-1} . HRMS calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{40}\text{N}_3\text{OSi}$ $[\text{M} + 1]^+$ 450.2940, found 450.2941.

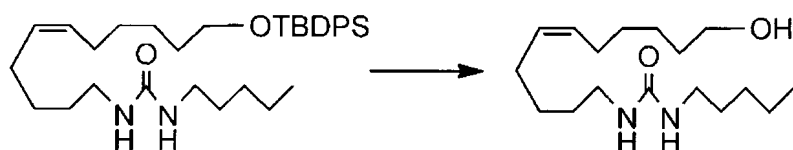


[00164] **1-Amino-11-(*tert*-butyldiphenylsilyloxy)undec-5(*Z*)-ene.** 1-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy-11-azidoundec-6(*Z*)-ene (4.30 g, 9.57 mmol) was reduced with triphenylphosphine as described above to give the title amine (2.96 g, 74%) as a colorless oil.

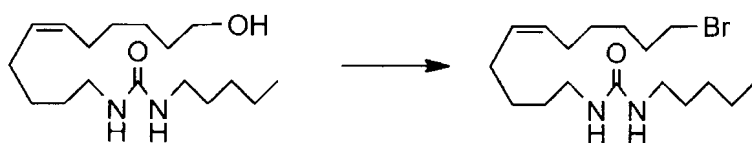
TLC: MeOH/CH₂Cl₂ (1:4), $R_f \sim 0.25$; ¹H NMR (300 MHz) δ 7.64-7.68 (m, 4H), 7.34-7.42 (m, 6H), 5.28-5.42 (m, 2H), 3.64 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 2.82 (t, $J = 4.8$ Hz, 2H), 1.96-2.10 (m, 4H), 1.52-1.64 (m, 4H), 1.30-1.42 (m, 6H), 1.04 (s, 9H); ¹³C NMR (100 MHz) δ 135.82, 134.37, 132.37, 132.27, 130.70, 129.78, 129.21, 128.93, 128.81, 127.86, 64.19, 40.88, 32.77, 29.89, 29.73, 27.52, 27.37, 27.17, 27.12, 27.03, 25.76, 19.47. HRMS calcd for C₂₇H₄₂NOSi [M + 1]⁺ 420.3046, found 420.3050.



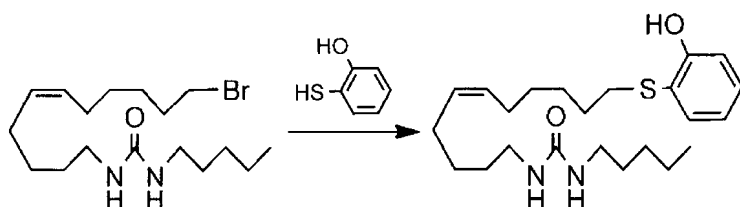
[00165] **1-(11-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)undec-5(*Z*)-enyl)-3-*n*-pentylurea.** 76% as a colorless oil. TLC: EtOAc/hexanes (2:3), $R_f \sim 0.45$; ¹H NMR (300 MHz) δ 7.64-7.68 (m, 4H), 7.34-7.42 (m, 6H), 5.28-5.42 (m, 2H), 4.13 (br s, 2H), 3.65 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 3.02-3.20 (m, 4H), 1.96-2.08 (m, 4H), 1.20-1.60 (m, 16H), 1.04 (s, 9H), 0.89 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ¹³C NMR (100 MHz) δ 158.02, 135.79, 134.36, 130.06, 129.74, 127.90, 127.82, 64.17, 40.42, 40.32, 32.52, 30.28, 29.71, 29.35, 27.62, 27.54, 27.16, 27.11, 25.71, 22.69, 19.45, 14.28. HRMS calcd for C₃₃H₅₃N₂O₂Si [M + 1]⁺ 537.3876, found 537.3876.



[00166] **1-(11-Hydroxyundec-5(*Z*)-enyl)-3-*n*-pentylurea.** 94%, mp 62.2-62.5 °C. TLC: EtOAc/hexanes (7:3), $R_f \sim 0.55$; ¹H NMR (300 MHz) δ 5.28-5.42 (m, 2H), 4.37 (br s, 2H), 3.64 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 3.02-3.20 (m, 4H), 1.96-2.10 (m, 4H), 1.20-1.60 (m, 16H), 0.89 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ¹³C NMR (75 MHz) δ 159.41, 130.30, 129.73, 62.77, 40.50, 40.34, 32.75, 30.27, 30.10, 29.56, 29.33, 27.23, 27.15, 27.04, 25.56, 22.66, 14.24. HRMS calcd for C₁₇H₃₅N₂O₂ [M + 1]⁺ 299.2699, found 299.2705.

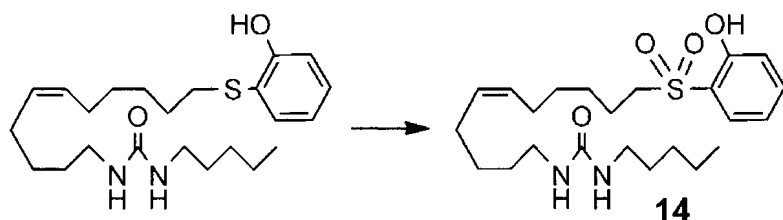


[00167] **1-(11-Bromoundec-5(*Z*)-enyl)-3-*n*-pentylurea.** 84%, colorless oil. TLC: EtOAc/hexanes (2:3), $R_f \sim 0.60$; ¹H NMR (300 MHz) δ 5.28-5.42 (m, 2H), 4.36 (br s, 2H), 3.32 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 3.02-3.20 (m, 4H), 1.96-2.10 (m, 4H), 1.20-1.60 (m, 16H), 0.89 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ¹³C NMR (75 MHz) δ 159.20, 129.94, 40.60, 40.49, 34.19, 32.91, 30.29, 29.35, 29.02, 28.01, 27.26, 27.16, 22.67, 14.26. HRMS calcd for C₁₇H₃₃BrN₂O [M]⁺ 360.1776, found 360.1773.



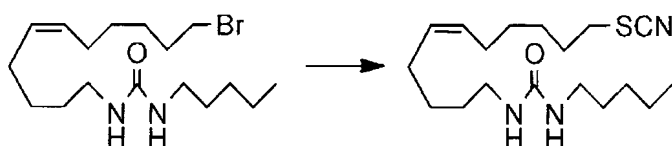
[00168] **1-(11-(2-Hydroxyphenylthio)undec-5(Z)-enyl)-3-n-pentylurea (13)**. To a solution of 2-mercaptophenol (100 mg, 0.79 mmol) in DMF (3 mL) was added K₂CO₃ (161 mg, 1.18 mmol) and 1-(11-bromoundec-5(Z)-enyl)-3-n-pentylurea (0.29 g, 0.79 mmol). After 12 h at rt, the solution was diluted with water (10 mL) and extracted with ethyl acetate (3 × 5 mL). The combined organic extracts were washed with water, brine and dried (Na₂SO₄). The residue was purified by SiO₂ column chromatography to give the analog **13** (230 mg, 69%) as a sticky solid. TLC: EtOAc/hexanes (1:1), *R_f* ~ 0.32; ¹H NMR (300 MHz) δ 7.45 (dd, *J* = 1.9, 7.6 Hz, 1H), 7.22-7.28 (m, 1H), 6.99 (dd, *J* = 1.2, 8.2 Hz, 1H), 6.88 (dt, *J* = 1.2, 7.6 Hz, 1H), 5.28-5.42 (m, 2H), 4.26 (br s, 2H), 3.02-3.20 (m, 4H), 2.69 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 1.94-2.08 (m, 4H), 1.20-1.60 (m, 16H), 0.89 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H); ¹³C NMR (75 MHz) δ 159.05, 157.10, 135.60, 130.76, 130.11, 129.82, 120.78, 119.74, 115.02, 40.70, 40.60, 36.50, 30.23, 29.68, 29.32, 28.38, 27.21, 27.11, 22.66, 14.27. HRMS (ESI-neg) calcd for C₂₃H₃₇N₂O₂S [M-1]⁻ 405.2576, found 405.2575.

[00169] Synthesis of Analog 14.

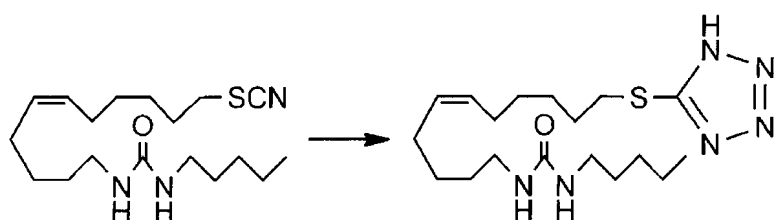


[00170] **1-(11-(2-Hydroxyphenylsulfonyl)undec-5(Z)-enyl)-3-*n*-pentylurea (14).** Following the procedure utilized to prepare analog **18**, analog **13** was oxidized to give **14** (60 mg, 75%) as a colorless liquid. TLC: EtOAc/hexanes (2:3), $R_f \sim 0.32$; ^1H NMR (300 MHz) δ 9.08 (br s, -OH), 7.72 (dd, $J = 1.9, 7.4$ Hz, 1H), 7.44 (dt, $J = 1.2, 7.3$ Hz, 1H), 7.10 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.12 (t, $J = 6.4$ Hz, 1H), 5.28-5.42 (m, 2H), 4.70-4.85 (m, 2H), 3.40-3.60 (t, $J = 6.2$ Hz, 2H), 3.20-3.40 (m, 4H), 1.90-2.10 (m, 4H), 1.70-1.80 (m, 2H), 1.20-1.50 (m, 14H), 0.85 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz) δ 159.25, 156.66, 136.23, 130.22, 129.78, 129.52, 122.78, 120.22, 118.55, 55.97, 40.08, 40.62, 30.07, 30.02, 29.25, 28.82, 27.62, 27.15, 27.05, 26.62, 22.61, 22.20, 14.24. HRMS (ESI-neg) calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{37}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ $[\text{M}-1]^-$ 437.2474, found 437.2454.

[00171] Synthesis of Analog 15.

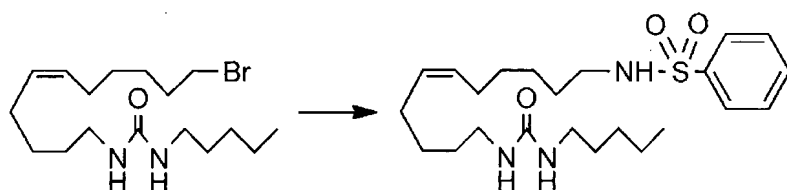


[00172] **1-*n*-Pentyl-3-(11-thiocyanatoundec-5(Z)-enyl)urea.** A mixture of 1-(11-bromoundec-5(Z)-enyl)-3-*n*-pentylurea (191 mg, 0.53 mmol) and potassium thiocyanate (154 mg, 1.58 mmol) in dry DMSO (4 mL) were stirred at rt. After 24 h, the reaction mixture was diluted with water (10 mL) and extracted with ethyl acetate (3×5 mL). The combined organic extracts were washed with water, brine and dried (Na_2SO_4) and concentrated in *vacuo*. The residue was purified by SiO_2 column chromatography to give the title urea (116 mg, 65%) as a colorless syrup. TLC: EtOAc/hexanes (2:3), $R_f \sim 0.32$; ^1H NMR (300 MHz) δ 5.28-5.42 (m, 2H), 4.42 (br s, 2H), 3.10-3.20 (m, 4H), 2.94 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 2.00-2.10 (m, 4H), 1.70-1.80 (m, 2H), 1.20-1.56 (m, 14H), 0.88 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz) δ 158.92, 130.20, 129.68, 112.84, 40.67, 40.54, 34.23, 30.22, 30.03, 29.31, 29.08, 27.66, 27.19, 27.15, 27.04, 22.66, 14.27; IR (neat) 2929, 2856, 2153, 1630, 1573, 1456, 1256 cm^{-1} . HRMS calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{OS}$ $[\text{M}+1]^+$ 340.2423, found 340.2421.



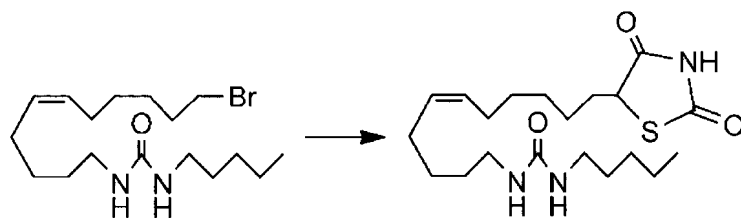
[00173] **1-(11-(1*H*-Tetrazol-5-ylthio)undec-5(*Z*)-enyl)-3-pentylurea (15).** Following the procedure utilized to prepare analog **19**, 1-*n*-pentyl-3-(11-thiocyanatoundec-5(*Z*)-enyl)urea (150 mg, 0.44 mmol) was treated with sodium azide to give analog **15** (104 mg, 62%) as a sticky solid. TLC: 5% MeOH/CH₂Cl₂, *R*_f ~ 0.40; ¹H NMR (300 MHz) δ 5.28-5.42 (m, 2H), 4.63 (br s, 2H), 3.30 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H), 3.17-3.23 (m, 4H), 1.95-2.04 (m, 4H), 1.44-1.80 (m, 6H), 1.24-1.42 (m, 10H), 0.89 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H); ¹³C NMR (CD₃OD, 75 MHz) δ 160.17, 155.38, 129.65, 129.58, 39.81, 39.69, 32.38, 29.87, 29.79, 29.36, 28.99, 28.96, 27.84, 26.84, 26.72, 26.69, 22.31, 13.21. HRMS (ESI-neg) calcd for C₁₈H₃₃N₆OS [M-1]⁻ 381.2442, found 381.2348.

[00174] **Synthesis of Analog 12.**



[00175] ***N*-(11-(3-*n*-Pentylureido)undec-6(*Z*)-enyl)benzenesulfonamide (12).** To a solution of benzenesulfonamide (50 mg, 0.31 mmol) in THF/HMPA (4:1; 5 mL) was added *n*-butyllithium (2.5 M soln in hexane, 125 μL, 0.31 mmol) at -78 °C under an argon atmosphere. A solution of 1-(11-bromoundec-5(*Z*)-enyl)-3-*n*-pentylurea (115 mg, 0.32 mmol) in THF (2 mL) was added dropwise. After 2 h at the same temperature, the reaction was quenched with saturated aq. NH₄Cl (5 mL). The mixture was extracted with EtOAc (3 × 5 mL) and the combined extracts were washed with water, brine, dried, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by SiO₂ column chromatography to give analog **12** (44 mg, 32%) as a colorless solid, mp 73.5-73.6 °C. TLC: 5% MeOH/CH₂Cl₂, *R*_f ~ 0.40; ¹H NMR (300 MHz) δ 7.84-7.90 (m, 2H), 7.46-7.60 (m, 3H), 5.48 (br s, -NH, 1H), 5.24-5.38 (m, 2H), 4.70 (br s, -NH, 1H), 4.60 (br s, -NH, 1H), 3.08-3.20 (m, 4H), 2.88-2.94 (q, *J* = 6.4 Hz, 2H), 1.94-2.40 (m, 4H), 1.20-1.58 (m, 16 H), 0.88 (t, *J* = 6.8 Hz, 3H); ¹³C NMR (75 MHz) δ 159.90, 140.06, 132.69, 130.03, 129.98, 129.27, 127.19, 43.26, 40.80, 40.52, 30.09, 29.99, 29.61, 29.28, 29.16, 27.02, 26.99, 26.96, 26.13, 22.63, 14.25. HRMS calcd for C₂₃H₄₀N₃O₃S [M + 1]⁺ 438.2790, found 438.2782.

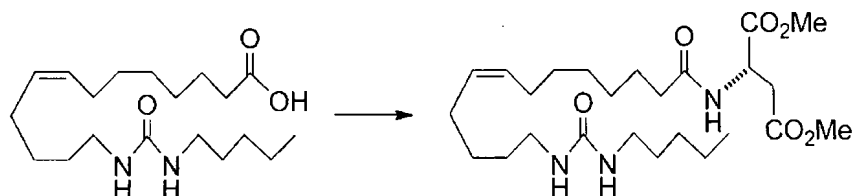
[00176] **Synthesis of Analog 24.**



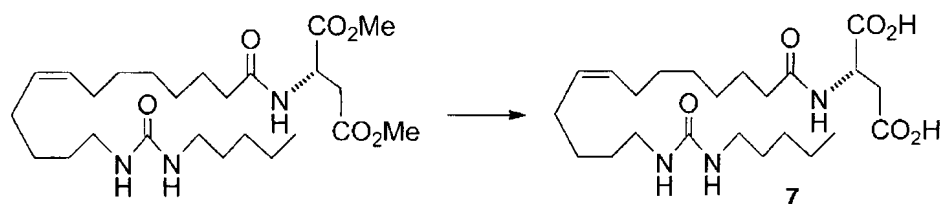
[00177] **1-(11-(2,4-Dioxothiazolidin-5-yl)undec-5(*Z*)-enyl)-3-*n*-pentylurea (24).** *n*-Butyllithium (1.10 mL, 2.76 mmol, 2.5 M solution in hexanes) was added dropwise to a -78 °C solution of thiazolidine-2,4-dione (0.16 g, 1.38 mmol) in dry THF/HMPA (50 mL, 4:1) under an argon atmosphere. After 30 min, the reaction mixture was warmed to 0 °C over 1h, kept at that

temperature for 2h, and then re-cooled to -78 °C. Following the addition of a solution of 1-(11-bromoundec-5(Z)-enyl)-3-*n*-pentylurea (0.50 g, 1.38 mmol) in THF (15 mL), the reaction temperature was slowly increased to rt over 3h and stirred further for 12 h. The reaction mixture was quenched with sat. aq. NH₄Cl (5 mL), the pH was adjusted to 4 using 1 M oxalic acid, and the reaction mixture was extracted with EtOAc (3 × 125 mL). The combined extracts were washed with water (2 × 100 mL), brine (100 mL), dried (Na₂SO₄) and concentrated in *vacuo*. The residue was purified by SiO₂ column chromatography using 5% MeOH/CH₂Cl₂ to afford analog **24** (169 mg, 31%) as a colorless solid, mp 92.8-93 °C. TLC: 10% MeOH/CH₂Cl₂, *R_f* ~ 0.20; ¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz) δ 5.30-5.40 (m, 2H), 4.42 (dd, *J* = 3.4, 4.2 Hz, 1H), 3.04-3.13 (m, 4H), 2.00-2.16 (m, 4H), 1.80-1.96 (m, 2H), 1.24-1.58 (m, 16H), 0.91 (t, *J* = 6.7 Hz, 3H); ¹³C NMR (75 MHz) δ 177.09, 172.56, 160.15, 129.68, 129.60, 51.89, 39.69, 32.57, 29.90, 29.83, 29.23, 29.02, 28.43, 26.88, 26.73, 26.47, 22.35, 13.27. HRMS calcd for C₂₀H₃₆N₃O₃S [M+1]⁺ 398.2477, found 398.2477.

[00178] Synthesis of Analog 7.



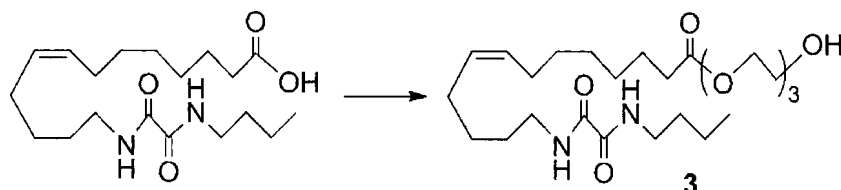
[00179] **(S)-Dimethyl 2-(13-(3-*n*-pentylureido)tridec-8(*Z*)-enamido)succinate.** *L*-Aspartic acid dimethyl ester hydrochloride (38 mg, 0.19 mmol) and HATU (67 mg, 0.18 mmol) were added to a stirring solution of 13-(3-*n*-pentylureido)tridec-8(*Z*)-enoic acid² (50 mg, 0.15 mmol) in anhydrous DMF (20 mL) under an argon atmosphere. After 5 min, 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride (EDCI; 33 mg, 0.17 mmol) was added followed by diisopropylethylamine (33 μ L, 0.19 mmol). After 12 h, the reaction mixture was diluted with EtOAc (30 mL), washed with water (30 mL), and brine (20 mL). The combined aqueous layers were back-extracted with EtOAc (3 $\times$ 30 mL). The combined organic extracts were dried over Na₂SO₄, concentrated under reduced pressure, and the residue was purified by SiO₂ column chromatography using 50% EtOAc/hexanes as eluent to give the title diester (60 mg, 84%) as a viscous oil. TLC: EtOAc/hexanes (3:2), *R*_f $\sim$ 0.30; ¹H NMR (300 MHz) δ 6.62 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 5.22-5.40 (m, 2H), 4.85-5.04 (m, 1H), 4.80-4.88 (m, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.66 (s, 3H), 3.10-3.20 (m, 4H), 3.01 (dd, *J* = 4.3, 10 Hz, 1H), 2.82 (dd, *J* = 4.6, 10 Hz, 1H), 2.25 (t, *J* = 8.3 Hz, 2H), 1.98-2.07 (m, 4H), 1.60-1.68 (m, 4H), 1.20-1.50 (m, 14H), 0.88 (t, *J* = 6.7 Hz, 3H); ¹³C NMR (75 MHz) δ 173.51, 171.81, 171.52, 159.02, 130.33, 129.76, 53.05, 52.30, 48.57, 40.61, 40.55, 36.61, 36.28, 30.24, 30.20, 29.51, 29.31, 29.10, 28.88, 27.20, 27.12, 25.72, 22.66, 14.26.



[00180] **(S)-2-(13-(3-*n*-Pentylureido)tridec-8(*Z*)-enamido)succinic acid (7).** LiOH (2 mL, 2 M aqueous solution) was added to a 0 $^{\circ}$ C solution of the above (S)-dimethyl 2-(13-(3-*n*-pentylureido)tridec-8(*Z*)-enamido)succinate (60 mg, 0.12 mmol) in THF (25 mL) and deionized H₂O (4 mL). After stirring at room temperature overnight, the reaction mixture was cooled to 0 $^{\circ}$ C, the pH was adjusted to 4 with 1 M aq. oxalic acid, and the mixture was extracted with EtOAc (3 $\times$ 15 mL). The combined extracts were washed with water (30 mL), brine (25 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by SiO₂ column chromatography using 25% EtOAc/hexanes as eluent to give analog 7 (48 mg, 85%) as a colorless oil. TLC: 5% MeOH/EtOAc (3:2), *R*_f $\sim$ 0.30; ¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz) δ 5.30-5.38

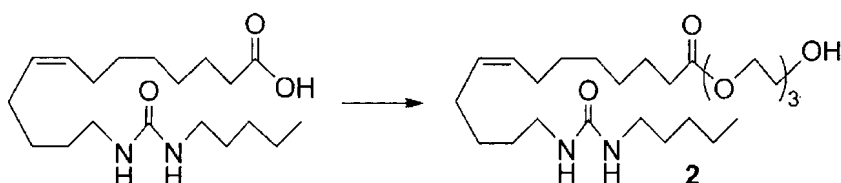
(m, 2H), 4.72 (t, $J = 4.2$ Hz, 1H), 3.26-3.32 (m, 4H), 2.86 (dd, $J = 4.3, 10$ Hz, 1H), 2.77 (dd, $J = 4.6, 10$ Hz, 1H), 2.22 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H), 1.98-2.10 (m, 4H), 1.54-1.64 (m, 4H), 1.20-1.52 (m, 14H), 0.89 (t, $J = 6.7$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (CD_3OD , 75 MHz) δ 174.93, 173.01, 172.83, 160.17, 129.94, 129.39, 49.0, 39.81, 39.73, 35.78, 35.60, 29.90, 29.82, 29.49, 29.02, 28.87, 26.90, 26.73, 25.70, 22.35, 13.29. HRMS calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{42}\text{N}_3\text{O}_6$ $[\text{M}+1]^+$ 456.3074, found 456.3071.

[00181] Synthesis of Analog 3.



[00182] 2-(2-(2-Hydroxyethoxy)ethoxy)ethyl 13-(2-(*n*-butylamino)-2-oxoacetamido)tridec-8(*Z*)-enoate (3). Triethylene glycol (0.12 g, 0.8 mmol; dried over molecular sieves) was added to a solution of 13-(2-(*n*-butylamino)-2-oxoacetamido)tridec-8(*Z*)-enoic acid² (30 mg, 0.08 mmol) and *N,N*-dimethylaminopyridine (DMAP, 11 mg, 0.09 mmol) in anhydrous dichloromethane (10 mL) under an argon atmosphere at room temperature. After 3 min, solid EDCI (18 mg, 0.09 mmol) was added. After 12 h, the reaction mixture was diluted with EtOAc (10 mL), washed with water (5 mL), and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by SiO_2 column chromatography using EtOAc to give analog 3 (33 mg, 82%) as a colorless solid, mp 71.7-71.9 °C. TLC: EtOAc/hexanes (4:1), $R_f \sim 0.30$; ^1H NMR (300 MHz) δ 7.46 (br s, 2H), 5.24-5.40 (m, 2H), 4.23 (t, $J = 4.6$ Hz, 2H), 3.58-3.78 (m, 10H), 3.27 (apparent q, $J = 6.7$ Hz, 4H), 2.32 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 1.50-1.66 (m, 6H), 1.24-1.44 (m, 14H), 0.92 (t, $J = 6.7$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz) δ 174.10, 160.09, 130.66, 129.24, 72.70, 70.76, 70.55, 69.42, 39.80, 39.61, 34.35, 31.45, 29.69, 29.21, 29.12, 29.02, 27.36, 27.07, 26.92, 25.04, 20.21, 13.90. HRMS calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{47}\text{N}_2\text{O}_7$ $[\text{M}+1]^+$ 487.3383, found 487.3379.

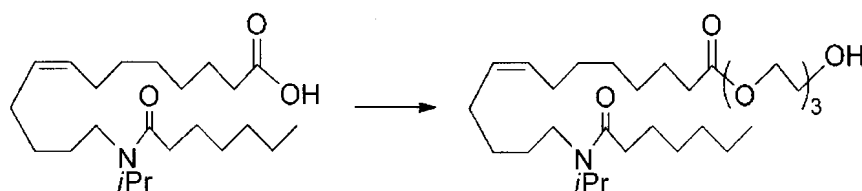
[00183] Synthesis of Analog 2.



[00184] 2-(2-(2-Hydroxyethoxy)ethoxy)ethyl 13-(3-*n*-pentylureido)tridec-8(*Z*)-enoate (2). 13-(3-*n*-Pentylureido)tridec-8(*Z*)-enoic acid² (80 mg, 0.20 mmol) was condensed with triethylene glycol as described above to give analog 2 (86 mg, 78%) as a colorless solid, mp 42.4-42.6 °C. TLC: EtOAc, $R_f \sim 0.20$; ^1H NMR (300 MHz) δ 5.24-5.40 (m, 2H), 4.28 (br s, 2H), 4.23 (dd, $J = 4.9, 1.0$ Hz, 2H), 3.58-3.68 (m, 10H), 3.10-3.20 (m, 4H), 2.52 (br s, -OH, 1H), 2.33 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 1.90-2.10 (m, 4H), 1.44-1.64 (m, 4H), 1.22-1.40 (m, 14), 0.88 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz) δ 174.22, 158.50, 130.41, 129.62, 72.76, 70.75, 70.51, 69.38, 63.47, 61.94,

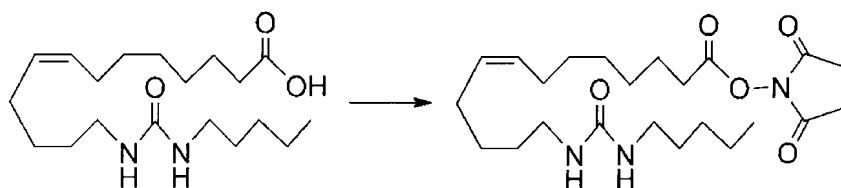
40.78, 40.71, 34.33, 30.13, 30.08, 29.57, 29.25, 29.09, 28.94, 27.23, 27.15, 27.06, 25.03, 22.61, 14.24. HRMS calcd for $C_{25}H_{49}N_2O_6$ $[M+1]^+$ 473.3591, found 473.3588.

[00185] Synthesis of Analog 1.

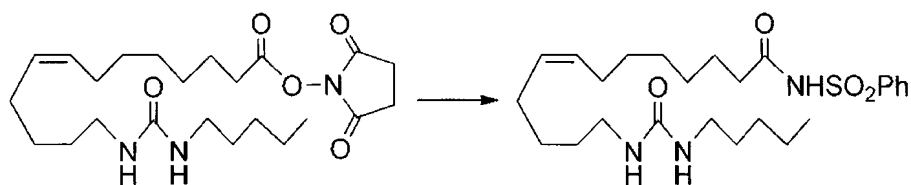


[00186] 2-(2-(2-Hydroxyethoxy)ethoxy)ethyl 13-(N-isopropylheptanamido)tridec-8(Z)-enoate (1). 13-(N-Isopropylheptanamido)tridec-8(Z)-enoic acid² (60 mg, 0.16 mmol) was condensed with triethylene glycol as described above to give analog **1** (58 mg, 73%) as a viscous, colorless oil. TLC: EtOAc (4:1), $R_f \sim 0.40$; ^1H NMR (300 MHz, 65/35 mixture of rotamers) δ 5.26-5.40 (m, 2H), 4.62-4.70 (m, 0.5H), 4.20-4.26 (m, 2H), 3.98-4.08 (m, 0.5H), 3.58-3.76 (m, 10H), 3.04-3.16 (m, 2H), 2.20-2.36 (m, 4H for the two rotamers), 1.98-2.10 (m, 4H), 1.46-1.66 (m, 6H), 1.24-1.38 (m, 14H), 1.18 and 1.10 (d, $J = 7.3$ Hz, 6H for two rotamers), 0.87 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz) δ 174.05, 174.01, 173.10, 172.55, 130.75, 130.11, 129.85, 129.15, 72.70, 70.76, 70.55, 69.40, 63.43, 61.94, 48.30, 45.52, 43.53, 41.09, 34.36, 34.32, 34.10, 34.0, 31.93, 31.89, 31.28, 29.90, 29.75, 29.69, 29.56, 29.43, 29.23, 29.12, 27.84, 27.48, 27.42, 27.35, 27.18, 26.93, 25.88, 25.70, 25.05, 25.02, 22.76, 21.60, 20.75, 14.28. HRMS calcd for $C_{29}H_{56}NO_6$ $[M+1]^+$ 514.4108, found 514.4111.

[00187] Synthesis of Analog 8.

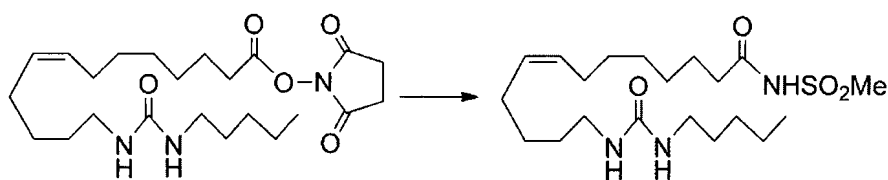


[00188] N-Hydroxysuccinimidyl 13-(3-n-pentylureido)tridec-8(Z)-enoate. A mixture of 13-(3-n-pentylureido)tridec-8(Z)-enoic acid² (100 mg, 0.29 mmol) and *N*-hydroxysuccinimide (37 mg, 0.31 mmol) were azeotropically dried using anhydrous benzene (2×5 mL), then dissolved in dry CH_2Cl_2 (5 mL). To this was added EDCI (67 mg, 0.35 mmol) and DMAP (38 mg, 0.31 mmol) under an argon atmosphere. After 12 h at rt, the reaction mixture was diluted with more CH_2Cl_2 (20 mL), washed with water, brine, dried (Na_2SO_4) and concentrated in *vacuo*. The residue was purified by SiO_2 column chromatography to give the title NHS ester (110 mg, 86%) as a sticky solid that was used immediately without further purification. TLC: EtOAc/hexanes (7:3), $R_f \sim 0.40$; ^1H NMR (400 MHz) δ 5.27-5.36 (m, 2H), 4.48 (br s, 2H), 3.09-3.15 (m, 4H), 2.81 (br s, 4H), 2.58 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 1.94-2.06 (m, 4H), 1.68-1.74 (m, 2H), 1.20-1.50 (m, 16 H), 0.86 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz) δ 169.40, 168.96, 158.62, 130.29, 129.71, 40.75, 40.68, 31.12, 30.18, 30.14, 29.51, 29.28, 28.80, 27.21, 27.19, 27.10, 25.81, 24.72, 22.62, 14.24.



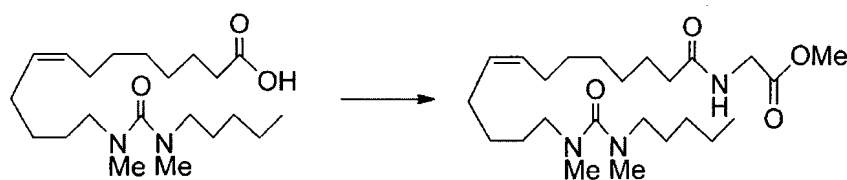
[00189] **13-(3-*n*-Pentylureido)-*N*-(phenylsulfonyl)tridec-8(*Z*)-enamide (8).** A mixture of *N*-hydroxysuccinimidyl 13-(3-*n*-pentylureido)tridec-8(*Z*)-enoate (150 mg, 0.34 mmol) from above, benzenesulfonamide (78 mg, 0.49 mmol) and 4-dimethylaminopyridine (DMAP; 50 mg, 0.40 mmol) were heated in dry hexamethylphosphoramide (HMPA; 3 mL) at 80 °C for 24 h. After cooling to rt, the reaction mixture was diluted with water and extracted into EtOAc (3 × 10 mL). The combined extracts were washed with water, brine, dried (Na₂SO₄) and concentrated in *vacuo*. The residue was purified by SiO₂ column chromatography to give analog **8** (105 mg, 65%) as a colorless solid, mp 91.4-91.6 °C. TLC: EtOAc/hexanes (3:2), *R_f* ~ 0.30; ¹H NMR (300 MHz) δ 8.00-8.10 (dd, *J* = 0.9, 7.3 Hz, 2H), 7.44-7.60 (m, 3H), 5.28-5.42 (m, 2H), 5.03 (br s, -NH, 1H), 4.57 (br s, -NH, 1H), 3.21 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H), 3.12 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 2.29 (t, *J* = 7.9 Hz, 2H), 1.98-2.10 (m, 4H), 1.18-1.60 (m, 18H), 0.90 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H); ¹³C NMR (75 MHz) δ 172.66, 159.28, 139.67, 133.57, 130.69, 129.65, 128.93, 128.40, 41.41, 40.53, 36.22, 29.89, 29.61, 29.24, 28.87, 28.33, 27.69, 26.91, 26.69, 26.47, 24.70, 22.588, 14.22. HRMS calcd for C₂₅H₄₂N₃O₄S [M+1]⁺ 480.2896, found 480.2899.

[00190] **Synthesis of Analog 9.**



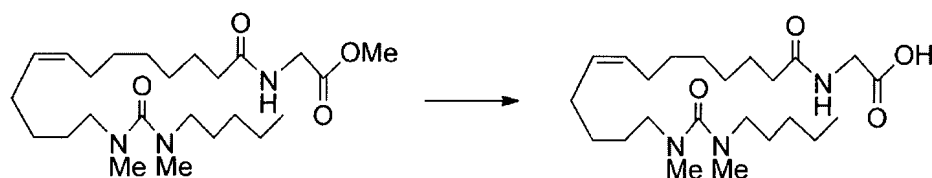
[00191] ***N*-(Methylsulfonyl)-13-(3-*n*-pentylureido)tridec-8(*Z*)-enamide (9).** *N*-Hydroxysuccinimidyl 13-(3-*n*-pentylureido)tridec-8(*Z*)-enoate from above (150 mg, 0.34 mmol) was reacted with methanesulfonamide (48 mg, 0.50 mmol) as described above to give analog **8** (102 mg, 72%) as a colorless solid, mp 113.5-113.6 °C. TLC: EtOAc/hexanes (1:1), *R_f* ~ 0.30; ¹H NMR (300 MHz) δ 5.30-5.40 (m, 2H), 3.21 (s, 3H), 3.04-3.12 (m, 4H), 2.29 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 2.00-2.10 (m, 4H), 1.22-1.66 (m, 18H), 0.90 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H); ¹³C NMR (75 MHz) δ 175.14, 161.50, 131.17, 130.78, 41.44, 41.10, 41.02, 37.13, 31.22, 31.15, 30.73, 30.34, 30.07, 30.05, 28.19, 28.17, 28.03, 25.80, 23.66, 14.56. HRMS calcd for C₂₀H₄₀N₃O₄S [M+1]⁺ 418.2740, found 418.2739.

[00192] **Synthesis of Analog 6.**

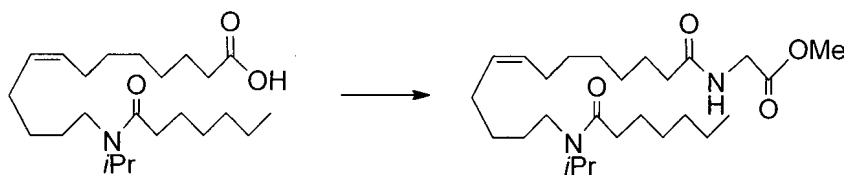


[00193] Methyl 2-(13-(1,3-dimethyl-3-*n*-pentylureido)tridec-8(*Z*)-enamido)acetate.

Glycine hydrochloride (32 mg, 0.29 mmol) and 1-hydroxybenzotriazole (32 mg, 0.23 mmol; HOBt) were added to a solution of 13-(1,3-dimethyl-3-*n*-pentylureido)tridec-8(*Z*)-enoic acid² (70 mg, 0.19 mmol) and diisopropylethylamine (50 μ L, 0.29 mmol) in anhydrous DMF (20 mL) under an argon atmosphere. After 5 min, 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride (45 mg, 0.23 mmol; EDCI) was added as a solid. After stirring for 12 h at room temperature, the reaction mixture was diluted with water (30 mL) and extracted with EtOAc (3 $\times$ 30 mL). The combined organic extracts were dried over Na₂SO₄, concentrated under reduced pressure, and the residue was purified by SiO₂ column chromatography using 30% EtOAc/hexanes as eluent to give the title methyl ester (65 mg, 79%) as a viscous oil. TLC: EtOAc/hexanes (7:3), *R*_f ~ 0.40; ¹H NMR (300 MHz) δ 6.18 (br s, -NH, 1H), 5.26-5.40 (m, 2H), 4.04 (d, *J* = 5.2 Hz, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.11 (apparent q, *J* = 7.6 Hz, 4H), 2.77 (s, 3H), 2.76 (s, 3H), 2.24 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 1.96-2.08 (m, 4H), 1.46-1.70 (m, 6H), 1.20-1.38 (m, 12H), 0.88 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H); ¹³C NMR (100 MHz) δ 170.69, 170.07, 165.65, 130.36, 129.38, 52.45, 50.43, 50.42, 41.23, 35.86, 30.09, 29.62, 29.26, 29.22, 29.05, 27.32, 27.15, 26.67, 25.74, 25.38, 21.65, 14.48. HRMS Calcd for C₂₄H₄₆N₃O₄ [M+1]⁺ 440.3488, found 440.3485.

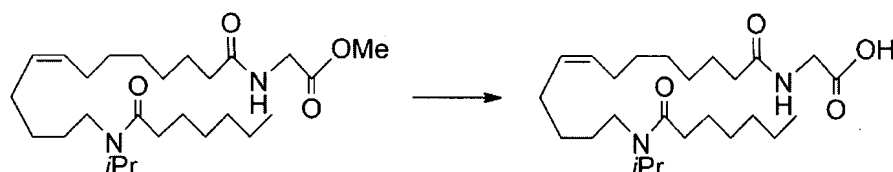
**[00194] 2-(13-(1,3-Dimethyl-3-*n*-pentylureido)tridec-8(*Z*)-enamido)acetic acid (6).**

Following the ester hydrolysis conditions described above, methyl 2-(13-(1,3-dimethyl-3-*n*-pentylureido)tridec-8(*Z*)-enamido)acetate was converted into analog **6** (87%), obtained as a colorless liquid. TLC: EtOAc/hexanes (4:1), *R*_f ~ 0.40; ¹H NMR (300 MHz) δ 6.39 (br s, -NH, 1H), 5.24-5.40 (m, 2H), 4.03 (d, *J* = 4.5 Hz, 2H), 3.16 (apparent q, *J* = 5.8 Hz, 4H), 2.79 (s, 3H), 2.77 (s, 3H), 2.25 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 1.90-2.10 (m, 4H), 1.48-1.70 (m, 6H), 1.20-1.40 (m, 12H), 0.88 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H); ¹³C NMR (100 MHz) δ 174.31, 171.97, 166.01, 130.44, 129.51, 50.79, 50.61, 41.72, 36.86, 36.72, 36.42, 29.64, 29.18, 29.05, 27.36, 27.26, 27.09, 27.04, 25.76, 22.63, 14.24. HRMS Calcd for C₂₃H₄₄N₃O₄ [M+1]⁺ 426.3332, found 426.3315.

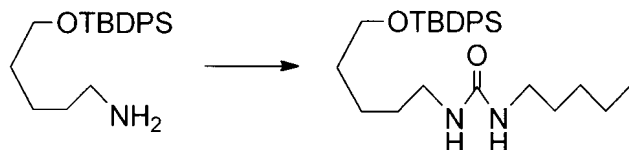
[00195] Synthesis of Analog 5.

[00196] Methyl 2-(13-(*N*-Isopropylheptanamido)tridec-8(*Z*)-enamido)acetate. 13-(*N*-Isopropyl heptanamido)tridec-8(*Z*)-enoic acid² (100 mg, 0.26 mmol) was condensed with glycine methyl ester as described above to give the corresponding amide (97 mg, 82%) as a colorless

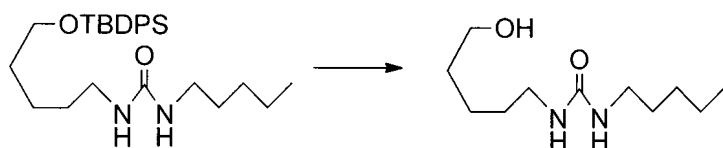
syrup that was used directly in the next step. TLC: EtOAc (2:1), $R_f \sim 0.45$; ^1H NMR (300 MHz, 1:1 mixture of rotamers) δ 6.25 (br s, -NH, 0.5 H), 6.08 (br s, -NH, 0.5 H), 5.24-5.42 (m, 2H), 4.60-4.72 (m, 1H), 4.05 (d, $J = 2.4$ Hz, 2H), 3.76 (s, 1.5 H), 3.75 (s, 1.5 H), 3.06-3.15 (m, 2H), 2.20-2.38 (m, 4H), 1.90-2.10 (m, 4H), 1.40-1.68 (m, 6 H), 1.24-1.38 (m, 14 H), 1.19 (d, $J = 6.7$ Hz, 3 H), 1.10 (d, $J = 6.7$ Hz, 3 H), 0.88 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz) δ 173.60, 173.46, 173.16, 172.60, 170.82, 130.84, 130.12, 129.88, 129.16, 53.66, 52.58, 52.53, 48.35, 45.52, 43.55, 41.38, 41.15, 36.57, 34.11, 34.02, 31.95, 31.92, 31.32, 29.92, 29.72, 29.63, 29.60, 29.45, 29.40, 29.26, 29.21, 28.97, 27.94, 27.45, 27.41, 27.26, 27.16, 26.96, 25.91, 25.80, 25.75, 22.79, 21.62, 20.78, 14.31.



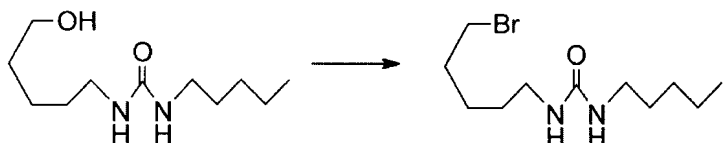
[00197] **2-(13-(N-Isopropylheptanamido)tridec-8(Z)-enamido)acetic acid (5).** Following the ester hydrolysis conditions described above, methyl 2-(13-(N-isopropylheptanamido)tridec-8(Z)-enamido)acetate (50 mg, 0.10 mmol) was hydrolyzed to give analog **5** (44 mg, 91%) obtained as a colorless liquid. TLC: EtOAc (4:1), $R_f \sim 0.20$; ^1H NMR (300 MHz, 65/35 mixture of rotamers) δ 6.47 and 6.35 (br s, -NH, 1H for the two rotamers), 5.24-5.42 (m, 2H), 4.60-4.70 (m, 1H), 4.05 and 4.06 (d, $J = 2.8$ Hz, 2H for the two rotamers), 3.06-3.18 (m, 2H), 2.20-2.38 (m, 4H), 1.90-2.10 (m, 4H), 1.50-1.68 (m, 6H), 1.24-1.38 (m, 14H), 1.20 and 1.10 (d, $J = 7.3$ Hz, 6H for the two rotamers), 0.87 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz) δ 174.35, 174.23, 174.18, 173.64, 172.0, 171.93, 130.98, 130.25, 129.75, 129.0, 48.86, 45.99, 43.77, 41.79, 41.62, 41.48, 34.05, 33.95, 31.85, 31.79, 31.13, 29.62, 29.51, 29.35, 29.31, 29.23, 28.85, 28.81, 27.83, 27.44, 27.34, 27.21, 27.02, 26.90, 26.03, 25.87, 25.80, 25.75, 22.75, 21.54, 20.70, 14.29. HRMS calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{47}\text{N}_2\text{O}_4$ $[\text{M}+1]^+$ 439.3536, found 439.3531.

[00198] Synthesis of Analog 31.**[00199] 1-(5-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)pentyl)-3-*n*-pentylurea.***5-(tert*-

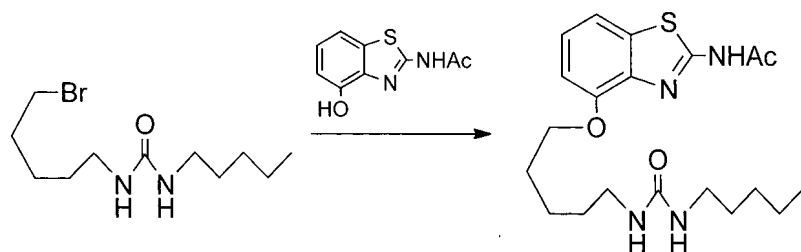
Butyldiphenylsilyloxy)pentan-1-amine⁵ (3.0 g, 8.78 mmol) was reacted with *n*-pentyl isocyanate (995 mg, 8.78 mmol) as described above to give the title urea (85%) as a colorless oil. TLC: EtOAc/hexanes (2:3), $R_f \sim 0.40$; ^1H NMR (300 MHz) δ 7.60-7.70 (m, 4H), 7.30-7.40 (m, 6H), 4.24 (br s, -NH, 2H), 3.64 (t, $J = 7.9$ Hz, 2H), 3.06-3.20 (m, 4H), 1.20-1.60 (m, 12 H), 1.03 (s, 9H), 0.89 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz) δ 159.7, 134.90, 132.47, 132.40, 129.70, 128.81, 128.71, 127.92, 63.2, 40.91, 40.81, 32.42, 29.60, 29.28, 27.11, 23.30, 22.35, 19.38. HRMS calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{43}\text{N}_2\text{O}_2\text{Si}$ $[\text{M}+1]^+$ 455.3094, found 455.3093.



[00200] 1-(5-Hydroxypentyl)-3-*n*-pentylurea. 1-(5-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)pentyl)-3-*n*-pentylurea (3.0 g, 6.60 mmol) was de-silylated as described above to give the title alcohol (1.31 g, 92%) as a colorless solid, mp 81.4-81.8 °C. TLC: EtOAc/hexanes (7:3), $R_f \sim 0.40$; ^1H NMR (CD_3OD , 300 MHz) δ 3.54 (t, $J = 5.8$ Hz, 2H), 3.06 (q, $J = 6.4$ Hz, 4H), 1.22-1.60 (m, 12H), 0.89 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (CD_3OD , 100 MHz) δ 160.17, 61.67, 39.82, 39.77, 32.17, 30.02, 29.91, 29.03, 23.04, 22.34, 13.25. HRMS calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}+1]^+$ 217.1916, found 217.1916.

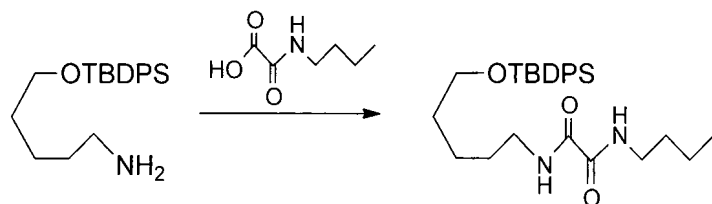


[00201] 1-(5-Bromopentyl)-3-*n*-pentylurea. Following the protocol described above, 1-(5-hydroxypentyl)-3-*n*-pentylurea (1.30 g, 6.02 mmol) was converted into the corresponding bromide (1.45 g, 87%), obtained as a colorless oil. TLC: EtOAc/hexanes (2:3), $R_f \sim 0.40$; ^1H NMR (300 MHz) δ 4.44 (br s, -NH, 2H), 3.40 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 3.10-3.20 (m, 4H), 1.82-1.92 (m, 2H), 1.40-1.58 (m, 6H), 1.24-1.38 (m, 4H), 0.89 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz) δ 159.46, 40.02, 33.88, 33.02, 30.29, 29.92, 29.36, 25.83, 22.12, 14.02. HRMS calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{24}\text{BrN}_2\text{O}$ $[\text{M}+1]^+$ 279.1072, found 279.1073.



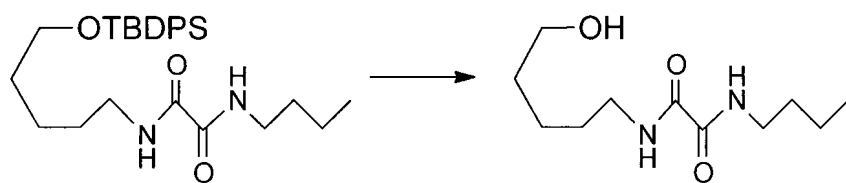
[00202] *N*-(4-(5-(3-*n*-Pentylureido)pentyloxy)benzo[d]thiazol-2-yl)acetamide (31). A mixture of 1-(5-bromopentyl)-3-*n*-pentylurea (100 mg, 0.37 mmol), commercial *N*-(4-hydroxybenzo[d]thiazol-2-yl)acetamide (100 mg, 0.48 mmol), and K_2CO_3 (67 mg, 0.48 mmol) in DMF (5 mL) was heated at 60 °C. After 6 h, the reaction mixture was cooled to rt, diluted with water (25 mL), and extracted into EtOAc (3 × 10 mL). The combined organic extracts were washed with water (2 × 5 mL), brine (10 mL), dried (Na_2SO_4) and concentrated in *vacuo*. The residue thus obtained was purified by silica gel column chromatography to give **31** (61 mg, 40%), mp 61.6-61.8 °C. TLC: EtOAc/hexane (3:2), R_f ~ 0.40; ^1H NMR (300 MHz) δ 7.39 (dd, J = 0.9, 7.3 Hz, 1H), 7.20 (dd, J = 7.8, 7.3 Hz, 1H), 6.86 (dd, J = 0.9, 7.8 Hz, 1H), 4.42 (br s, -NH, 2H), 4.17 (t, J = 5.4 Hz, 2H), 3.19-3.30 (m, 4H), 2.33 (s, 3H), 1.82-1.98 (m, 2H), 1.64-1.80 (m, 4H), 1.42-1.60 (m, 2H), 1.24-1.40 (m, 4H), 0.88 (t, J = 7.3 Hz, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz) δ 170.16, 159.91, 158.94, 151.37, 139.10, 133.67, 124.40, 113.94, 108.68, 68.21, 40.64, 39.98, 30.27, 29.30, 28.33, 26.54, 23.25, 22.64, 22.33, 14.26. HRMS (ESI-neg) calcd for $C_{20}H_{29}N_4O_3S$ [$M-1$] $^-$ 405.1960, found 405.1938.

[00203] Synthesis of Analog 32.

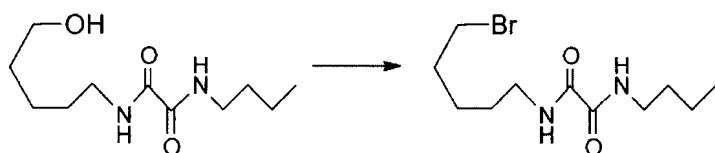


[00204] *N*¹-*n*-Butyl-*N*²-(5-(*tert*-butyldiphenylsilyloxy)pentyl)oxalamide. A mixture of 2-(*n*-butylamino)-2-oxoacetic acid (22 mg, 0.15), 5-(*tert*-butyldiphenylsilyloxy)pentan-1-amine⁵ (50 mg, 0.15 mmol), *N,N*-diisopropylethylamine (40 mg, 0.30 mmol), and 2-(1*H*-7-azabenzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium hexafluorophosphate methanaminium (HATU, 72 mg, 0.19 mmol) in dry DMF (5 mL) was stirred at rt overnight under an argon atmosphere, then quenched with water (2 mL). The reaction mixture was extracted with EtOAc (3 × 5 mL). The combined organic extracts were washed with water, dried and concentrated in *vacuo*. The residue was purified by flash SiO_2 column chromatography using EtOAc/hexanes (1:3) as eluent to give the title oxamide (65 mg, 91%) as a colorless oil. TLC: 50% EtOAc/hexane, R_f ~ 0.56; ^1H NMR (400 MHz) δ 7.55-7.70 (m, 4H), 7.60 (br s, -NH, 2H), 7.35-7.40 (m, 6H), 3.65 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 3.35-3.25 (m, 4H), 1.55-1.35 (m, 10H), 1.05 (s, 9H), 0.92 (t, J = 7.3 Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz) δ 160.28, 160.25, 135.80, 134.20, 129.85, 127.90, 63.80, 40.0, 39.70, 32.40, 31.50,

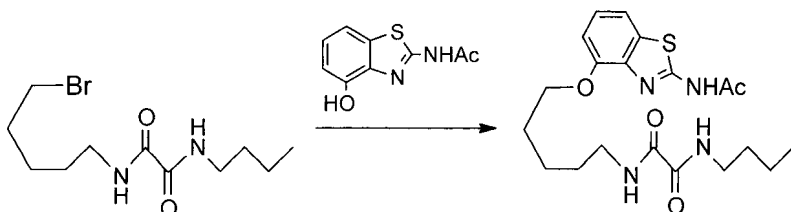
29.20, 27.10, 27.05, 23.40, 20.30, 19.45, 14.0. HRMS calcd for $C_{27}H_{41}N_2O_3Si$ $[M+1]^+$ 469.2886, found 469.2892.



[00205] N^1 - n -Butyl- N^2 -(5-hydroxypentyl)oxalamide. A mixture of N^1 - n -butyl- N^2 -(5-(*tert*-butyldiphenylsilyloxy)pentyl)oxalamide (65 mg, 0.14 mmol) and *n*-tetrabutylammonium fluoride (0.41 mL, 1 M soln, 0.42 mmol) in dry THF solution was stirred at room temperature under an argon atmosphere for 12 h. All volatiles were evaporated *in vacuo*, the residue was dissolved in EtOAc (30 mL) and the organic layer was washed with water (10 mL), brine (15 mL), dried and evaporated. Purification of the residue via SiO_2 column chromatography using EtOAc/hexanes (1:2) as eluent gave the title compound (30 mg, 92%) as a colorless solid, mp 136-137 °C. TLC: 50% EtOAc/hexane, $R_f \sim 0.28$; ^1H NMR (300 MHz) δ 7.65 (br s, NH, 1H), 7.60 (br s, -NH, 1H), 3.65 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H), 3.35-3.25 (m, 4H), 1.90 (br s -OH, 1H), 1.60-1.50 (m, 6H), 1.40-1.35 (m, 4H), 0.92 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz) δ 160.25, 160.10, 62.70, 39.80, 39.65, 32.40, 31.45, 29.20, 23.25, 20.20, 13.85. HRMS calcd for $C_{11}H_{23}N_2O_3$ $[M+1]^+$ 231.1709, found 231.1701.



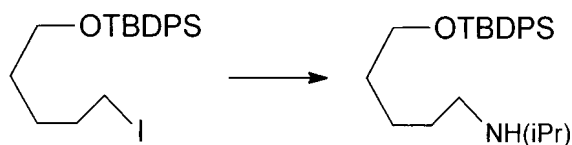
[00206] N^1 -(5-Bromopentyl)- N^2 - n -butyloxalamide. A solution of carbon tetrabromide (51 mg, 0.15 mmol) in CH_2Cl_2 (5 mL) was stirred into a 0 °C solution of triphenylphosphine (48 mg, 0.18 mmol) and N^1 - n -butyl- N^2 -(5-hydroxypentyl)oxalamide (30 mg, 0.130 mmol) in dry CH_2Cl_2 (5 mL) under an argon atmosphere. After 2 h, the reaction mixture was washed with water (5 mL), brine (10 mL), dried over anhydrous Na_2SO_4 , and all volatiles were removed under reduced pressure. The residue was purified by SiO_2 column chromatography using EtOAc/hexane (1:4) to give compound the title compound (32 mg, 84%) as a colorless solid, mp 109-110 °C. TLC: 50% EtOAc/hexanes, $R_f \sim 0.50$; ^1H NMR (300 MHz) δ 7.55 (br s, NH, 1H), 7.50 (br s, -NH, 1H), 3.40 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H), 3.25-3.35 (m, 4H), 1.80-1.85 (m, 2H), 1.40-1.60 (m, 6H), 1.25-1.35 (m, 2H), 0.92 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz) δ 160.30, 160.15, 39.65, 33.65, 32.45, 31.40, 28.60, 25.60, 20.20, 13.90. HRMS calcd for $C_{11}H_{22}BrN_2O_2$ $[M+1]^+$ 293.0865, found 293.0870.



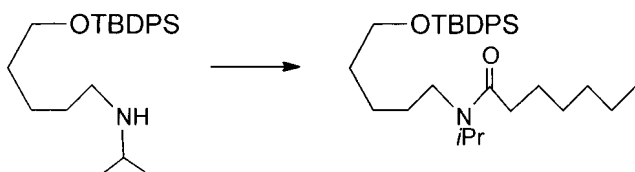
286
205

[00207] ***N*¹-(5-(2-Acetamidobenzo[d]thiazol-4-yloxy)pentyl)-*N*²-*n*-butyloxalamide.** A mixture of *N*¹-(5-bromopentyl)-*N*²-*n*-butyloxalamide (32 mg, 0.11 mmol), commercial *N*-(4-hydroxybenzo[d]thiazol-2-yl)acetamide (22 mg, 0.11 mmol), and K₂CO₃ (45 mg, 0.32 mmol) in DMF (3 mL) was heated at 80 °C for 3h, then cooled to room temperature, diluted with water (15 mL) and extracted into EtOAc (3 × 10 mL). The combined organic extracts were washed with water (2 × 5 mL), brine (10 mL), dried (Na₂SO₄) and concentrated in *vacuo*. The residue was purified by silica gel column chromatography using EtOAc/hexanes (1:2) as eluent to give analog **32** (35 mg, 76%) as a colorless solid, mp 154-155 °C. TLC: 70% EtOAc/hexanes, R_f ~ 0.35; ¹H NMR (300 MHz) δ 11.05 (br s, NH, 1H), 8.30 (br s, NH, 1H), 7.70 (br s, NH, 1H), 7.40 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.25 (dd, *J* = 7.4, 7.8 Hz, 1H), 6.85 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 4.20 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 3.50 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H), 3.35 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H), 2.35 (s, 3H), 1.95-1.90 (m, 2H), 1.85-1.80 (m, 2H), 1.70-1.65 (m, 2H), 1.60-1.55 (m, 2H), 1.40-1.35 (m, 2H), 0.95 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H); ¹³C NMR (75 MHz) δ 169.40, 160.55, 159.90, 157.85, 151.50, 139.10, 134.00, 124.75, 113.75, 108.10, 68.90, 39.80, 39.30, 31.35, 28.20, 27.40, 23.70, 23.45, 20.25, 13.90. HRMS calcd for C₂₀H₂₉N₄O₄S [M+1]⁺ 421.1910, found 421.1906.

[00208] **Synthesis of Analog 30.**

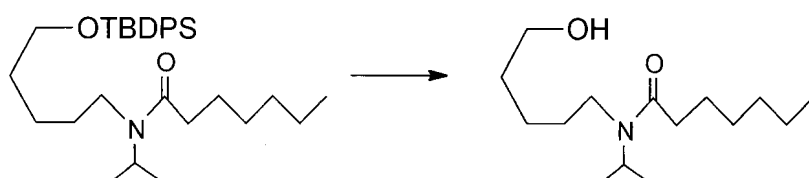


[00209] **5-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)-*N*-isopropylpentan-1-amine.** Following literature precedent,² a mixture of 1-(*tert*-butyldiphenylsilyloxy)-5-iodopentane⁶ (1.50 g, 3.32 mmol), isopropylamine (1.70 mL, 19.92 mmol) and K₂CO₃ (1.37 g, 10.03 mmol) was reacted to give the title amine (0.92 g, 72%) as a colorless liquid. TLC: MeOH/CH₂Cl₂ (1:4), R_f ~ 0.30; ¹H NMR (300 MHz) δ 7.65-7.67 (m, 4H), 7.30-7.40 (m, 6H), 3.65 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 2.70-2.82 (m, 1H), 2.55 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 1.50-1.64 (m, 2H), 1.32-1.48 (m, 4H), 1.05 (d, *J* = 5.8 Hz, 3H), 1.04 (s, 9H); ¹³C NMR (100 MHz) δ 135.68, 134.21, 129.63, 127.70, 63.95, 48.81, 47.64, 32.60, 30.27, 27.0, 23.76, 23.15, 19.34. HRMS calcd for C₂₄H₃₈NOSi [M+1]⁺ 384.2723, found 384.2724.



[00210] ***N*-(5-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)pentyl)-*N*-isopropylheptanamide.** Following literature precedent,² 5-(*tert*-butyldiphenylsilyloxy)-*N*-isopropylpentan-1-amine (0.90 g, 2.30 mmol) was condensed with heptanoic acid (0.26 g, 2.0 mmol) to give the title amide (0.90 g, 79%) as a viscous oil. TLC: EtOAc/hexanes (3:8), R_f ~ 0.60; ¹H NMR (300 MHz, 1:1 mixture of rotamers) δ 7.65-7.67 (m, 4H), 7.30-7.40 (m, 6H), 4.62-4.72 (m, 0.5 H), 4.00-4.80 (m, 0.5H), 3.62 (t, *J* = 4.8 Hz, 1H), 3.68 (t, *J* = 4.8 Hz, 1H), 3.02 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H), 3.16 (t, *J* = 5.2 Hz,

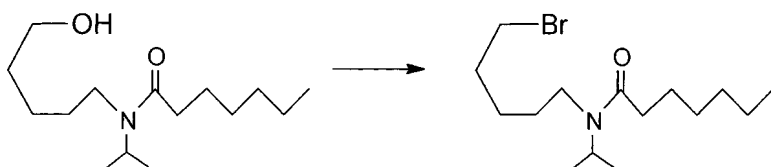
1H), 2.38 (t, $J = 5.3$ Hz, 1H), 2.24 (t, $J = 5.3$ Hz, 1H), 1.50-1.68 (m, 6H), 1.26-1.44 (m, 8H), 1.18 (d, $J = 7.3$ Hz 3H), 1.12, (d, $J = 7.3$ Hz 3H), 1.03 (s, 4.5 H), 1.04 (s, 4.5H), 0.88 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz) δ 173.38, 172.76, 135.80, 135.78, 134.36, 134.12, 129.85, 129.73, 127.88, 127.82, 64.22, 63.68, 48.43, 45.62, 43.64, 41.27, 34.13, 34.05, 32.61, 32.36, 31.96, 31.93, 31.51, 29.63, 29.47, 27.10, 27.03, 25.94, 25.78, 24.03, 23.77, 22.81, 21.63, 20.78, 19.47, 14.33, 14.28. HRMS calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{50}\text{NO}_2\text{Si}$ $[\text{M}+1]^+$ 496.3611, found 496.3615.



[00211] *N*-(5-Hydroxypentyl)-*N*-isopropylheptanamide.

N-(5-(*tert*-

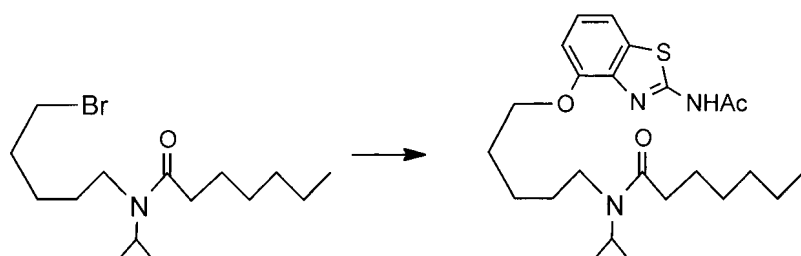
Butyldiphenylsilyloxy)pentyl)-*N*-isopropylheptanamide (0.70 g, 1.37 mmol) was de-silylated as described above to give the title alcohol (0.34 g, 96%) as a colorless solid. TLC: EtOAc/hexanes (2:3), $R_f \sim 0.30$; ^1H NMR (300 MHz, 53/47 mixture of rotamers) δ 4.58-4.66 and 3.96-4.08 (m, 1H for the two rotamers), 3.56 and 3.70 (t, $J = 5.4$ Hz, 2H for the two rotamers), 3.02-3.16 (m, 2H), 2.30 and 2.26 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H for the two rotamers), 1.50-1.64 (m, 6H), 1.22-1.40 (m, 8H), 1.13 and 1.09 (d, $J = 7.5$ Hz, 6H for the two rotamers), 0.84 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz) δ 172.81 62.66, 62.60, 48.41, 45.55, 43.56, 41.04, 34.08, 34.0, 32.46, 32.43, 31.86, 31.57, 29.40, 25.87, 25.70, 23.77, 23.73, 22.75, 21.57, 20.72, 14.26. HRMS calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{32}\text{NO}_2$ $[\text{M}+1]^+$ 258.2433, found 258.2436.



[00212] *N*-(5-Bromopentyl)-*N*-isopropylheptanamide.

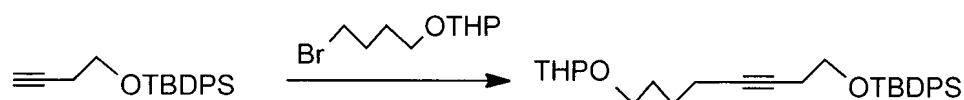
N-(5-Hydroxypentyl)-*N*-

isopropylheptanamide (0.25 g, 0.97 mmol) was converted to the corresponding bromide as described above to give the title compound (0.25 g, 82%) as a colorless oil. TLC: EtOAc/hexanes (3:7), $R_f \sim 0.40$; ^1H NMR (300 MHz, 55/45 mixture of rotamers) δ 4.60-4.70 and 3.96-4.10 (m, 1H for two rotamers), 3.46 and 3.36 (t, $J = 5.8$ Hz 2H for two rotamers), 3.02-3.10 (m, 2H), 2.30 and 2.22 (t, $J = 7.9$ Hz, 2H for two rotamers), 1.80-1.97 (m, 2H), 1.40-1.70 (m, 6H), 1.20-1.40 (m, 6H), 1.16 and 1.10, (d, $J = 7.3$ Hz, 6H for two rotamers), 0.86 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz) δ 172.79, 172.39, 48.17, 45.47, 43.32, 40.70, 33.89, 33.87, 33.49, 32.48, 32.30, 31.81, 31.78, 30.78, 29.27, 28.74, 26.05, 25.84, 25.69, 25.54, 22.64, 21.47, 20.62, 14.17. HRMS calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{31}\text{BrNO}$ $[\text{M}+1]^+$ 320.1589, found 320.1588.

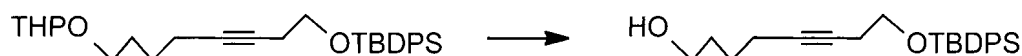
288
287

[00213] N-(5-(2-Acetamidobenzo[d]thiazol-4-yloxy)pentyl)-N-isopropylheptanamide (30). *N*-(5-Bromopentyl)-*N*-isopropylheptanamide (75 mg, 0.23 mmol) was alkylated with commercial *N*-(4-hydroxybenzo[d]thiazol-2-yl)acetamide (54 mg, 0.26 mmol) as described above to give analog **30** (43 mg, 42%) as a sticky solid. TLC: EtOAc/hexanes (1:4), $R_f \sim 0.30$; ^1H NMR (300 MHz, 45/55 mixture of rotamers) δ 11.50 (br s, -NH, 1H), 7.37-7.42 (m, 1H), 7.18-7.26 (m, 1H), 6.84-6.88 (m, 1H), 4.58-4.78 and 4.00-4.10 (m, 1H for two rotamers), 4.02 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H), 3.12 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 2.22-2.45 (m, 5H), 1.82-1.92 (m, 2H), 1.44-1.70 (m, 4H), 1.20-1.40 (m, 8H), 1.11-1.19 (m, 6H), 0.82-0.95 (m, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz) δ 173.94, 172.78, 169.40, 169.36, 157.89, 151.62, 138.43, 138.32, 133.91, 133.87, 124.92, 124.85, 114.02, 113.87, 109.66, 108.35, 69.46, 69.08, 48.53, 48.33, 45.94, 43.61, 41.20, 34.26, 34.09, 31.91, 31.88, 31.39, 29.55, 29.45, 29.37, 29.30, 25.88, 25.77, 25.71, 24.43, 24.16, 23.55, 22.77, 21.59, 20.80, 14.28. HRMS (ESI-neg) calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$ $[\text{M}-1]^-$ 446.2477, found 446.2434.

[00214] Synthesis of Analog 33.

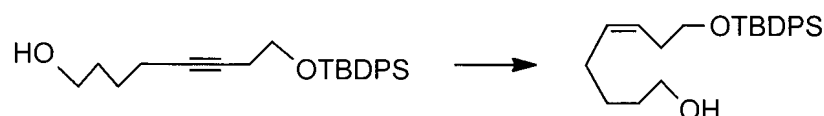


[00215] 1-(tert-Butyldiphenylsilyloxy)-8-(tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)oct-3-yne. 4-(tert-Butyldiphenylsilyloxy)-1-butyne⁷ (5.0 g, 16.23 mmol) was coupled with 2-(4-bromobutoxy)tetrahydro-2H-pyran⁸ (4.59 g, 19.48 mmol) as described above to give the title acetylene (5.57 g, 74%) as a colorless oil. TLC: EtOAc/hexanes (1:9), $R_f \sim 0.40$; ^1H NMR (300 MHz) δ 7.66-7.69 (m, 4H), 7.34-7.42 (m, 6H), 4.57 (t, $J = 4.3$ Hz, 1H), 3.78-3.86 (m, 2H), 3.73-3.90 (m, 3H), 3.32-3.40 (m, 3H), 2.40-2.45 (m, 2H), 2.06-2.10 (m, 2H), 1.93-2.02 (m, 2H), 1.40-1.80 (m, 6H), 1.02 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz) δ 137.87, 133.96, 129.70, 128.0, 99.0, 81.0, 77.41, 67.32, 63.15, 62.51, 30.97, 29.20, 27.0, 26.98, 26.0, 25.74, 23.18, 19.83, 19.44, 18.88. HRMS calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{41}\text{O}_3\text{Si}$ $[\text{M}+1]^+$ 465.2825, found 465.2829.



[00216] 8-(tert-Butyldiphenylsilyloxy)oct-5-yn-1-ol. 1-(tert-Butyldiphenylsilyloxy)-8-(tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)oct-3-yne (5.50 g, 11.84 mmol) was de-silylated as described above to give the title compound (3.87 g, 86%) as a colorless oil. TLC: EtOAc/hexanes (2:3), $R_f \sim 0.40$; ^1H NMR (300 MHz) δ 7.60-7.68 (m, 4H), 7.30-7.40 (m, 6H), 3.77 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H), 3.60-3.72 (m, 2H), 2.40-2.48 (m, 2H), 2.22-2.40 (m, 2H), 1.50-1.70 (m, 4H), 1.03 (s, 9H); ^{13}C

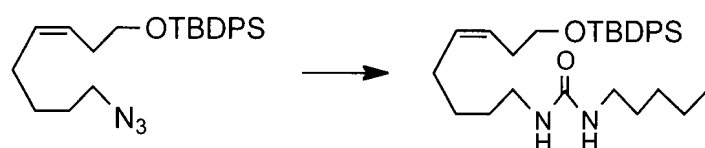
NMR (100 MHz) δ 135.83, 133.96, 129.90, 127.92, 81.31, 63.16, 62.60, 32.0, 27.0, 25.43, 23.17, 19.43, 18.78. HRMS calcd for $C_{24}H_{33}O_2Si$ $[M+1]^+$ 381.2250, found 381.2256.



[00217] **8-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)oct-5(*Z*)-en-1-ol.** 8-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)oct-5-yn-1-ol (5.32 g, 14.0 mmol) was semi-hydrogenated as described above to give 8-(*tert*-butyldiphenylsilyloxy)oct-5(*Z*)-en-1-ol (5.18 g, 97%) as a colorless oil whose spectral values were in agreement with literature data.⁹ TLC: EtOAc/hexanes (2:3), $R_f \sim 0.45$; ^1H NMR (300 MHz) δ 7.60-7.70 (m, 4H), 7.30-7.40 (m, 6H), 5.34-5.44 (m, 2H), 3.65 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 3.58-3.64 (m, 2H), 2.23 (q, $J = 4.2$ Hz, 2H), 1.98-2.20 (m, 2H), 1.30-1.60 (m, 4H), 1.03 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz) δ 135.84, 134.21, 131.64, 129.82, 127.87, 126.28, 63.94, 63.12, 32.54, 31.12, 27.23, 27.11, 26.02.

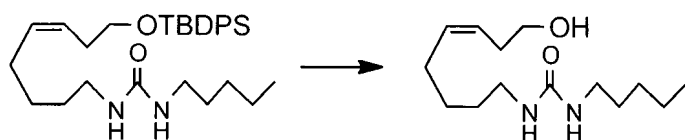


[00218] **1-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)-8-azido-oct-3(*Z*)-en.** Following the procedure described above, 8-(*tert*-butyldiphenylsilyloxy)-oct-5(*Z*)-en-1-ol (5.20 g, 13.61 mmol) was transformed into the title azide (3.98 g, 72%), obtained as a colorless oil. TLC: EtOAc/hexanes (1:9), $R_f \sim 0.60$; ^1H NMR (300 MHz) δ 7.60-7.70 (m, 4H), 7.30-7.40 (m, 6H), 5.34-5.44 (m, 2H), 3.63 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 3.22 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 2.31 (q, $J = 3.6$ Hz, 2H), 1.95-2.05 (m, 2H), 1.50-1.60 (m, 2H), 1.30-1.40 (m, 2H), 1.03 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz) δ 135.98, 135.90, 134.28, 131.24, 130.05, 129.79, 128.10, 127.87, 126.76, 63.98, 51.64, 31.24, 28.74, 27.29, 27.16, 27.07, 27.0, 19.55; IR (neat) 2931, 2858, 2095, 1111 cm^{-1} . HRMS calcd for $C_{24}H_{34}N_3OSi$ $[M+1]^+$ 408.2471, found 408.2470.

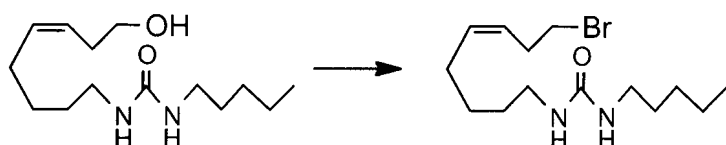


[00219] **1-(8-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)oct-5(*Z*)-enyl)-3-*n*-pentylurea.** 1-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)-8-azido-oct-3(*Z*)-en was reduced to the corresponding amine using triphenylphosphine as described above. The crude amine was reacted with *n*-pentyl isocyanate in THF as noted above and the product was purified by SiO_2 column chromatography eluting with 20% EtOAc/hexane to afford the title compound (1.94 g, 84%) as a viscous oil. TLC: EtOAc/hexanes (2:3), $R_f \sim 0.45$; ^1H NMR (300 MHz) δ 7.60-7.70 (m, 4H), 7.30-7.40 (m, 6H), 5.35-5.42 (m, 2H), 4.65 (br s, -NH, 2H), 3.64 (t, $J = 5.5$ Hz, 2H), 3.06-3.18 (m, 4H), 2.24-2.34 (q, $J = 3.9$ Hz, 2H), 1.94-2.02 (q, $J = 3.6$ Hz, 2H), 1.20-1.50 (m, 10H), 1.03 (s, 9H), 0.83 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz) δ 159.52, 135.85, 134.21, 131.53, 129.85, 127.90, 126.28,

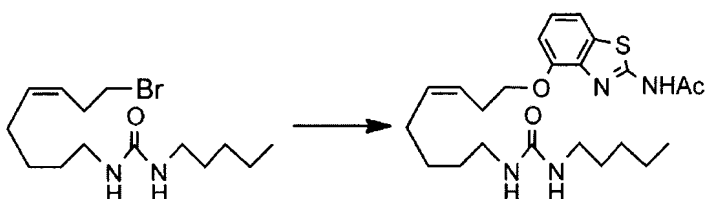
63.93, 40.58, 40.50, 31.13, 30.43, 30.41, 29.45, 27.35, 22.77, 19.47, 14.36. HRMS calcd for $C_{30}H_{47}N_2O_2Si$ $[M+1]^+$ 495.3407, found 495.3406.



[00220] 1-(8-Hydroxyoct-5(Z)-enyl)-3-n-pentylurea. 1-(8-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)oct-5(Z)-enyl)-3-*n*-pentylurea (3.0 g, 6.07 mmol) was de-silylated as described above to give the title alcohol (1.44 g, 93%) as a colorless solid, mp 57.8-57.9 °C. TLC: EtOAc/hexanes (1:4), $R_f \sim 0.30$; ^1H NMR (300 MHz) δ 5.30-5.60 (m, 2H), 4.40 (br s, -NH, 2H), 3.63 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 3.08-3.22 (m, 4H), 2.29 (q, $J = 5.3$ Hz, 2H), 2.09 (q, $J = 5.2$ Hz, 2H), 1.20-1.58 (m, 10H), 0.88 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz) δ 159.48, 132.35, 126.21, 62.28, 40.54, 40.15, 31.12, 30.28, 29.96, 29.35, 27.02, 26.98, 22.68, 14.27. HRMS calcd for $C_{14}H_{29}N_2O_2$ $[M+1]^+$ 257.2229, found 257.2236.

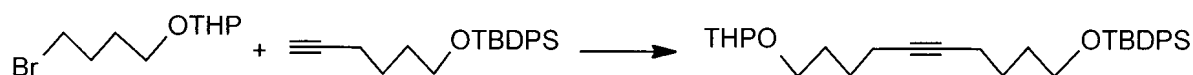


[00221] 1-(8-Bromooct-5(Z)-enyl)-3-n-pentylurea. Obtained in 82% yield as a colorless oil. TLC: EtOAc/hexanes (2:3), $R_f \sim 0.60$; ^1H NMR (300 MHz) δ 5.30-5.58 (m, 2H), 4.70 (br s, 2H), 3.35 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 3.08-3.19 (m, 4H), 2.60 (q, $J = 5.6$ Hz, 2H), 2.05 (q, $J = 5.4$ Hz, 2H), 1.24-1.54 (m, 10H), 0.88 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz) δ 159.54, 132.73, 126.45, 40.53, 40.33, 32.85, 30.98, 30.33, 30.30, 29.36, 27.36, 27.0, 22.69, 14.28. HRMS calcd for $C_{14}H_{28}BrN_2O$ $[M+1]^+$ 319.1385, found 319.1392.



[00222] N-(4-(8-(3-n-Pentylureido)oct-3(Z)-enyoxy)benzo[d]thiazol-2-yl)acetamide (33). Obtained in 40% yield as a colorless solid, mp 113.7-113.8 °C. TLC: EtOAc/hexane (3:2), $R_f \sim 0.40$; ^1H NMR (300 MHz) δ 12.10 (br s, -NH, 1H), 7.40 (dd, $J = 0.8, 7.8$ Hz, 1H), 7.22 (dt, $J = 0.6, 8.9$ Hz, 1H), 6.90 (dd, $J = 0.5, 6.9$ Hz, 1H), 5.40-5.50 (m, 2H), 4.60 (br s, -NH, 2H), 4.20 (t, $J = 5.3$ Hz, 2H), 3.05-3.20 (m, 4H), 2.65 (q, $J = 3.9$ Hz, 2H), 2.29 (s, 3H), 2.15 (q, $J = 3.9$ Hz, 2H), 1.40-1.70 (m, 10 H), 0.87 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz) δ 170.07, 159.21, 158.52, 151.46, 138.41, 133.84, 132.26, 126.13, 124.81, 113.81, 108.29, 68.46, 40.75, 40.64, 30.20, 29.30, 27.78, 26.84, 26.47, 23.42, 22.62, 14.24. HRMS calcd for $C_{23}H_{35}N_4O_3S$ $[M+1]^+$ 447.2430, found 447.2431.

[00223] Synthesis of Analog 4.

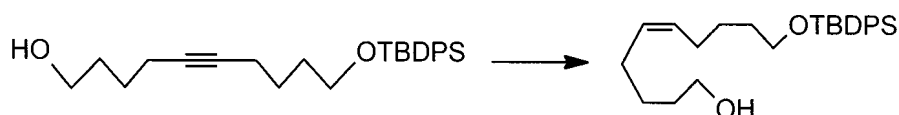


[00224] 1-(Tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)-10-(tert-butyldiphenylsilyloxy)dec-5-yne.

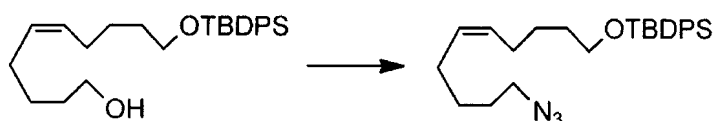
Obtained in 73% yield as a colorless oil. TLC: 15% EtOAc/hexanes, $R_f \sim 0.50$; ^1H NMR (500 MHz) δ 7.64-7.68 (m, 4H), 7.34-7.42 (m, 6H), 4.62 (t, $J = 4.3$ Hz, 1H), 3.78-3.92 (m, 2H), 3.68 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H), 3.40-3.56 (m, 2H), 2.14-2.26 (m, 4H), 1.42-1.90 (m, 14H), 1.04 (s, 9H); ^{13}C NMR (75 MHz) δ 135.83, 132.02, 129.80, 127.88, 99.0, 80.52, 80.30, 67.31, 63.74, 62.49, 32.0, 31.06, 29.21, 27.14, 26.21, 25.82, 25.78, 19.89, 18.90, 18.81. HRMS calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{45}\text{O}_3\text{Si}$ [$\text{M} + 1$] $^+$ 493.3138, found 493.3140.



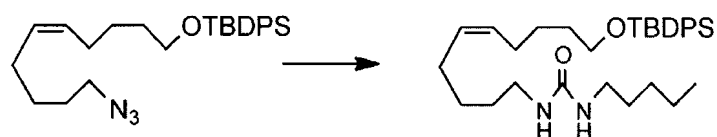
[00225] 10-(tert-Butyldiphenylsilyloxy)dec-5-yn-1-ol. Obtained in 88% yield as a colorless oil whose spectral values were in agreement with literature data.¹⁰ TLC: EtOAc/hexanes (3:7), $R_f \sim 0.40$; ^1H NMR (300 MHz) δ 7.64-7.68 (m, 4H), 7.34-7.42 (m, 6H), 3.67 (t, $J = 5.3$ Hz, 4H), 2.06-2.22 (m, 4H), 1.50-1.64 (m, 8H), 1.04 (s, 9H); ^{13}C NMR (75 MHz) δ 135.82, 135.08, 134.27, 129.80, 127.87, 80.74, 80.60, 63.67, 62.69, 32.09, 31.99, 27.12, 26.83, 25.78, 25.58, 25.48, 19.49, 18.79, 18.76.



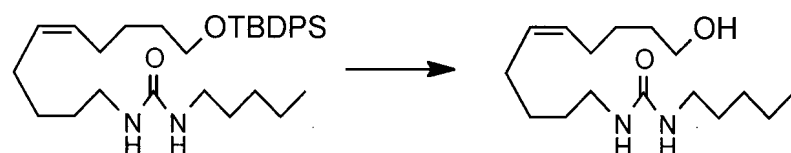
[00226] 10-(tert-Butyldiphenylsilyloxy)dec-5(Z)-en-1-ol. Obtained in 92% yield as a colorless oil whose spectral values were in agreement with literature data.¹⁰ TLC: EtOAc/hexanes (3:7), $R_f \sim 0.45$; ^1H NMR (300 MHz) δ 7.64-7.68 (m, 4H), 7.42-7.25 (m, 6H), 5.30-5.40 (m, 2H), 3.67 (t, $J = 5.3$ Hz, 4H), 2.06-2.22 (m, 4H), 1.40-1.64 (m, 8H), 1.04 (s, 9H); ^{13}C NMR (75 MHz) δ 135.90, 135.81, 134.37, 129.92, 129.87, 129.84, 127.98, 127.80, 64.09, 63.05, 32.47, 27.24, 27.22, 27.13, 26.21, 26.14, 19.51.



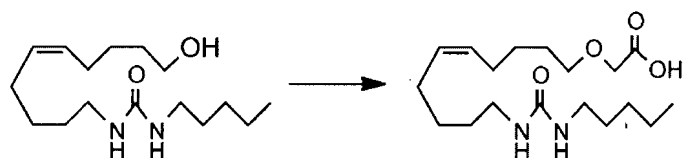
[00227] 1-(10-Azidodec-5(Z)-enyloxy)(tert-butyldiphenylsilane). Obtained in 71% yield as a colorless oil. TLC: EtOAc/hexanes (1:9), $R_f \sim 0.60$; ^1H NMR (300 MHz) δ 7.64-7.68 (m, 4H), 7.25-7.42 (m, 6H), 5.30-5.40 (m, 2H), 3.65 (t, $J = 5.3$ Hz, 2H), 3.24 (t, $J = 4.9$ Hz, 2H), 2.06-2.22 (m, 4H), 1.40-1.64 (m, 8H), 1.04 (s, 9H); ^{13}C NMR (75 MHz) δ 137.87, 134.35, 130.69, 129.74, 127.91, 64.02, 51.62, 32.44, 28.67, 27.21, 27.16, 27.08, 26.91, 26.16, 19.48; IR (neat) 2930, 2861, 2331, 2324, 2096, 1106 cm^{-1} . HRMS calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{38}\text{N}_3\text{OSi}$ [$\text{M} + 1$] $^+$ 436.2784, found 436.2784.



[00228] **1-(10-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)dec-5(*Z*)-enyl)-3-*n*-pentylurea.** Obtained in 78% yield as a colorless oil. TLC: EtOAc/hexanes (2:3), $R_f \sim 0.60$; ^1H NMR (300 MHz) δ 7.64-7.68 (m, 4H), 7.34-7.42 (m, 6H), 5.22-5.43 (m, 2H), 4.50 (br s, -NH, 2H), 3.65 (t, $J = 6.2$ Hz, 2H), 3.10-3.40 (m, 4H), 1.96-2.06 (m, 4H), 1.20-1.60 (m, 14H), 1.03 (s, 9H), 0.88 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz) δ 159.08, 136.03, 134.02, 130.03, 128.26, 126.82, 63.28, 40.67, 40.47, 32.91, 30.48, 29.28, 27.26, 27.22, 26.93, 26.02, 22.64, 19.39, 14.26. HRMS calcd for $\text{C}_{32}\text{H}_{51}\text{N}_2\text{O}_2\text{Si}$ $[\text{M}+1]^+$ 523.3720, found 523.3724.



[00229] **1-(10-Hydroxydec-5(*Z*)-enyl)-3-*n*-pentylurea.** Obtained in 94% yield as a colorless oil. TLC: EtOAc/hexanes (7:3), $R_f \sim 0.30$; ^1H NMR (400 MHz) δ 5.30-5.43 (m, 2H), 4.28 (br s, 2H), 3.63 (q, $J = 4.6$ Hz, 2H), 3.10-3.20 (m, 4H), 2.00-2.10 (m, 4H), 1.24-1.64 (m, 14H), 0.88 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz) δ 158.67, 130.17, 129.88, 62.71, 40.59, 40.34, 32.52, 30.23, 30.0, 29.32, 27.09, 26.96, 25.99, 22.52, 14.25. HRMS calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{33}\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}+1]^+$ 285.2542, found 285.2545.

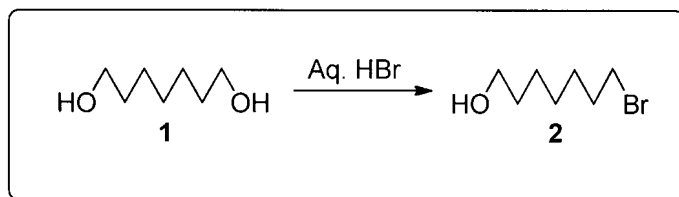


[00230] **2-(10-(3-*n*-Pentylureido)dec-5(*Z*)-enyl)oxyacetic acid (4).** A solution of 1-(10-hydroxydec-5(*Z*)-enyl)-3-*n*-pentylurea (66 mg, 0.23 mmol) and tetra-*n*-butylammonium sulfate (39 mg, 0.12 mmol) in benzene/50% aq. KOH (4 mL, 1:1) was stirred at 10 °C. After 15 min, *tert*-butyl 2-bromoacetate (136 mg, 0.70 mmol) was added to the reaction mixture and stirred at the same temperature for an additional 1 h. The reaction mixture was then diluted with water (10 mL) and extracted into EtOAc (2 $\times$ 10 mL). The combined organic extracts were washed with water, brine and dried (Na_2SO_4) and concentrated in *vacuo*. The residue was dissolved in CH_2Cl_2 (4 mL), cooled to 0 °C, and trifluoroacetic acid (1 mL) was added dropwise. The reaction mixture was diluted with more CH_2Cl_2 (5 mL), washed with water, brine and dried (Na_2SO_4). The residue was purified by SiO_2 column chromatography to give analog **4** (37 mg, 47%) as a sticky solid. TLC: EtOAc, $R_f \sim 0.30$; ^1H NMR (400 MHz) δ 5.30-5.42 (m, 2H), 4.06 (s, 2H), 3.54 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 3.07-3.15 (m, 4H), 2.00-2.12 (m, 4H), 1.21-1.66 (m, 14H), 0.88 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz) δ 174.32, 160.08, 130.33, 129.71, 71.60, 68.12, 41.11, 41.02,

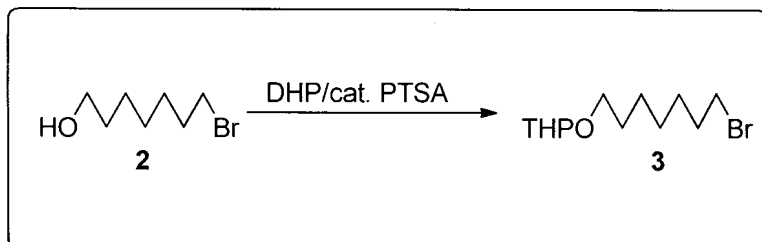
29.68, 29.40, 29.17, 28.96, 27.20, 27.07, 26.64, 25.96, 22.55, 14.20. HRMS calcd for $C_{18}H_{35}N_2O_4$ $[M+1]^+$ 343.2597, found 343.2594.

Example 2: Synthesis of Sodium (S)-2-(13-(3-pentylureido)tridec-8(Z)-enamido)succinate (NIH-F=EET A or JLJ)

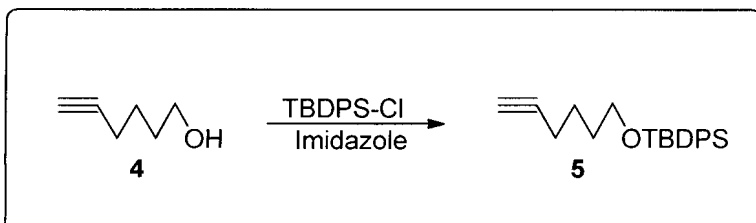
[00231] As set forth in Figures 16A and 16B, the synthesis of EET A is as follows:



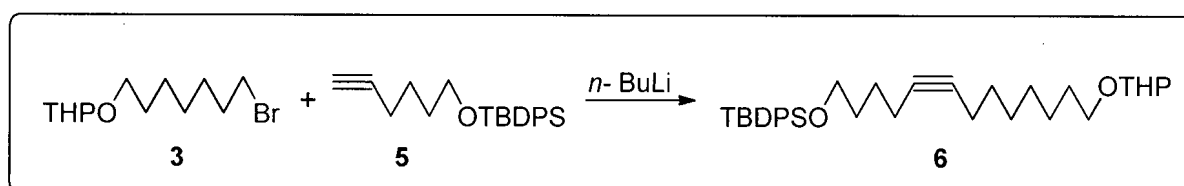
[00232] **7-bromoheptan-1-ol¹ (2):** Heptane-1,7-diol (36.0 g, 272 mmol; Alfa Aesar) and aq. 48% HBr (38 mL, 0.9 equiv.) were heated under reflux in benzene (400 mL) with water removal using a Dean-Stark apparatus. After 16 h, all volatiles were removed *in vacuo* and the residue was purified by SiO_2 column chromatography using a gradient of 10-30% EtOAc/hexanes as eluent to give 7-bromoheptan-1-ol (26.22 g, 62%) as a colorless oil. TLC: 50% EtOAc/hexanes, $R_f \approx 0.40$; ^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 3.61 (t, 2H, $J = 7.1$ Hz), 3.39 (t, 2H, $J = 6.8$ Hz), 1.80-1.88 (m, 2H), 1.52-1.58 (m, 2H), 1.30-1.46 (m, 6H).



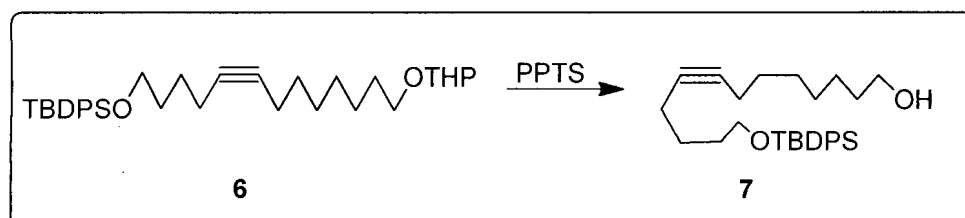
[00233] **2-(7-Bromoheptyloxy)tetrahydro-2H-pyran² (3):** Dihydropyran (5.20 g, 6.11 mmol) was added to a stirring $0^\circ C$ solution of 7-bromoheptan-1-ol (2) (11.0 g, 56.7 mmol) and a catalytic amount of PTSA in CH_2Cl_2 . After stirring at rt for 12 h, the reaction mixture was diluted with CH_2Cl_2 (200 mL), washed with water (100 mL $\times$ 2), brine (100 mL $\times$ 3), dried over anhydrous sodium sulphate, and evaporated. The residue was purified by silica gel column chromatography using a gradient of 10-20% ethyl acetate/hexane as eluent to give 2-(7-bromoheptyloxy)tetrahydro-2H-pyran (3) (14.50 g, 92%) as a colorless oil. TLC: 10% EtOAc/hexanes, $R_f \approx 0.55$; ^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4.58-4.56 (m, 1H), 3.84-3.88 (m, 1H), 3.68-3.77 (m, 1H), 3.46-3.51 (m, 1H), 3.33-3.43 (m, 3H), 1.80-1.81 (m, 2H), 1.30-1.62 (m, 14 H).



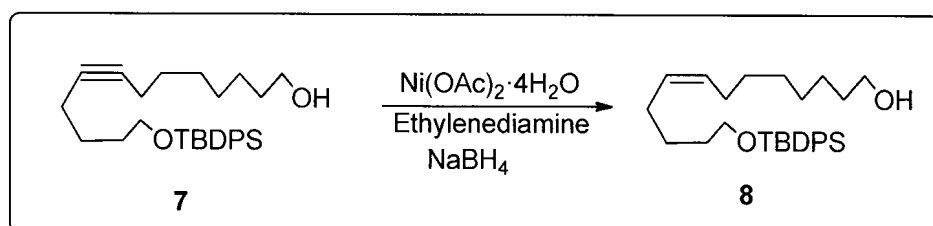
[00234] ***tert*-Butyl(hex-5-yn-1-yloxy)diphenylsilane³ (5):** *tert*-Butyldiphenylchlorosilane (3.2 mL, 12.4 mmol) was added dropwise to a stirring, 0°C solution of 5-hexyn-1-ol (**4**, 1.07 g, 10.9 mmol) and anhydrous imidazole (1.84 g, 27.1 mmol) in anhydrous CH₂Cl₂ (20 mL) under an argon atmosphere. After complete addition, the reaction mixture was stirred at room temperature for 12 hours, then quenched with saturated aq. NH₄Cl solution (50 mL) and extracted with Et₂O (3 × 50 mL). The combined ethereal extracts were washed with saturated aq. NaCl solution (25 mL), dried over NaSO₄, and the solvent was removed in vacuo. The residue was purified by flash chromatography (5% ethyl acetate/hexane) to yield 1-*tert*-butyldiphenylsilyloxy-hex-5-yne (**5**) (3.54 g, 10.5 mmol, 96%) as a colorless oil. TLC: 5% EtOAc/hexanes, R_f ≈ 0.65; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.77-7.65 (m, 4H), 7.40-7.30 (m, 6H), 3.70 (t, 2H, *J* = 5.6 Hz), 2.40-2.25 (m, 2H), 2.05 (t, 1H, *J* = 2.8 Hz), 1.90-1.70 (m, 4H), 1.18 (s, 9H).



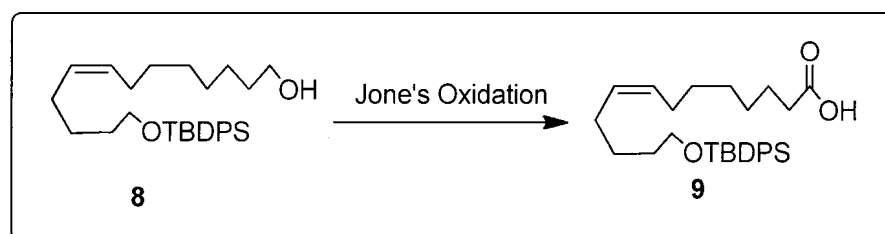
[00235] ***tert*-Butyldiphenyl((tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)tridec-5-yn-1-yl)oxy)silane (6):** *n*-Butyllithium (14.3 mL, 35.9 mmol, 2.5 M solution in hexanes) was added dropwise to a -78°C solution of *tert*-butyl(hex-5-ynyloxy)diphenylsilane (10 g, 29.76 mmol) in THF and dry HMPA (4:1, 200 mL) under an argon atmosphere. After 30 min, the reaction mixture was warmed to 0°C over a period of 1 h and held there for 2 h. The reaction mixture was re-cooled -78°C and a THF solution (50 mL) of bromide **3** (8.20 g, 29.3 mmol) was added. The reaction temperature was allowed to warm to rt over 3h and was held at this temperature for 12 h before being quenched by adding saturated aq. NH₄Cl solution (5 mL). The pH of the reaction mixture was adjusted to ~ 4 using 1 M oxalic acid and extracted with EtOAc (2 × 250 mL). The combined organic extracts were washed sequentially with water (2 × 100 mL) and brine (100 mL), the organic layer was dried using anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under vacuo. Residue was purified by silica gel column chromatography using 10% EtOAc/hexanes to afford **6** (12.4 g, 78%) as a colorless thick oil. ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 7.68-7.64 (m, 4H), 7.42-7.34 (m, 6H), 4.57 (t, *J* = 4.3 Hz, 1H), 3.86-3.78 (m, 1H), 3.65 (t, *J* = 6.3 Hz, 3H), 3.54-3.32 (m, 4H), 2.22-2.10 (m, 4H), 1.84-1.24 (m, 18H), 1.04 (s, 9H); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 135.82, 135.77, 134.25, 129.72, 127.85, 127.80, 127.77, 99.09, 99.05, 80.59, 80.22, 67.84, 67.74, 63.70, 62.58, 62.54, 31.00, 25.73, 19.92, 19.44, 18.97, 18.77.



[00236] **13-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)tridec-8-yn-1-ol (7)**: A solution of **6** (15.0 g, 0.59 mmol) and a catalytic amount of PPTS (10 mg) in MeOH (20 mL) was stirred at 0°C for 10h, then quenched with saturated aq. NaHCO₃ solution. Most of the methanol was evaporated in vacuo. The residue was diluted with water (100 mL) and extracted with ethyl acetate (100 mL × 3). The combined organic extracts were concentrated under reduced pressure and the residue was purified by silica gel column chromatography using 20-30 % ethyl acetate /hexane as eluent to afford **7** as a colorless oil (8.80 g, 78.7%). TLC: 20% EtOAc/hexanes, $R_f \approx 0.36$; ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 7.68-7.65 (m, 4H), 7.41-7.35 (m, 6H), 3.66-3.62 (m, 4H), 2.10-1.95 (m, 4H), 1.64-1.50 (m, 2H), 1.48-1.20 (m, 10H), 1.04 (s, 9H); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 135.79, 135.77, 134.26, 129.73, 127.84, 127.83, 127.80, 127.78, 80.56, 80.28, 63.72, 63.22, 32.96, 31.90, 29.01, 25.78, 19.45, 18.95, 18.77.

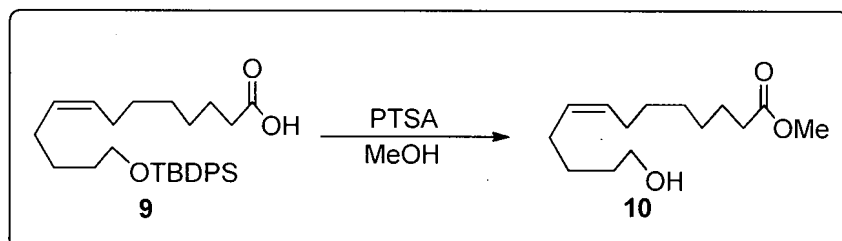


[00237] **13-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)tridec-8(*Z*)-en-1-ol (8)**: In a two neck round bottom flask, NaBH₄ (176 mg, 4.65 mmol) was added in small portions to a solution of Ni(OAc)₂·4H₂O (1.16 g, 9.3 mmol) in absolute ethanol (10 mL) under a hydrogen atmosphere (1 atm). After 15 min, dry ethylenediamine (0.56 g, 9.3 mmol) was added followed after an additional 15 min by a solution of alcohol **7** (8.0 g, 18.7 mmol) in absolute ethanol (25 mL). The reduction was monitored by TLC until complete and then diluted with ether (50 mL), passed through a small pad of silica gel to remove inorganic impurities. The filtrate was concentrated under reduced pressure to afford **8** as a viscous, colorless oil (7.60 g, 95%). TLC: 50% EtOAc/hexane, $R_f \approx 0.42$; ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 7.68-7.65 (m, 4H), 7.41-7.35 (m, 6H), 5.40-5.30 (m, 2H), 3.58-3.65 (m, 4H), 1.88-2.10 (m, 4H), 1.50-1.61 (m, 4H), 1.25-1.45 (m, 10H), 1.04 (s, 9H); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 135.83, 134.36, 130.30, 129.98, 129.77, 127.85, 64.09, 63.17, 32.48, 29.96, 29.53, 27.49, 27.37, 27.21, 27.16, 26.23, 26.01, 19.50.

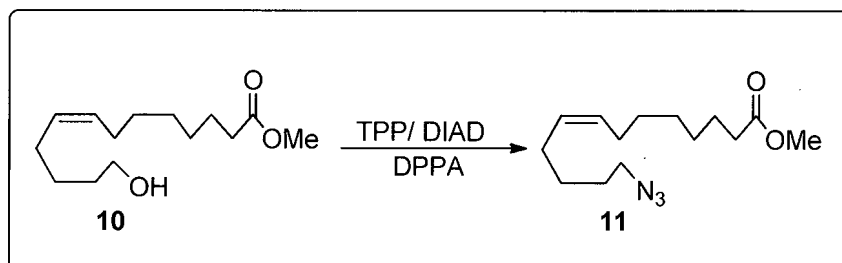


[00238] **13-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)tridec-8(*Z*)-enoic acid (9)**: Jones reagent (5.8 mL of a 10 N solution in water) in acetone (25 mL) was added to a stirring, -40°C solution of alcohol **8** (5.0 g, 11.8 mmol) in acetone (75 mL). After 1 h, the reaction mixture was warmed to -10°C and maintained for another 2 h, then quenched with an excess (5.0 equiv) of isopropanol. The green chromium salts were removed by filtration and the filter cake was washed with acetone. The

combined filtrates and washings were concentrated *in vacuo* and the resultant residue was dissolved in EtOAc (100 mL), washed with water (50 mL), dried over anhydrous sodium sulphate, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by SiO₂ column chromatography using 15% EtOAc/hexanes as eluent to give **9** (3.84 g, 74.20%) as a liquid. TLC: 40% EtOAc/hexanes, $R_f \approx 0.40$. ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 7.68-7.64 (m, 4H), 7.43-7.34 (m, 6H), 5.40-5.26 (m, 2H), 3.66 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 2.35 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 2.10-1.90 (m, 4H) 1.64-1.50 (m, 2H), 1.48-1.20 (m, 10H), 1.04 (s, 9H); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 180.62, 135.81, 134.34, 130.10, 130.07, 129.73, 127.82, 127.80, 127.79, 64.06, 32.44, 29.12, 27.38, 27.18, 27.12, 26.19, 24.87, 19.47.

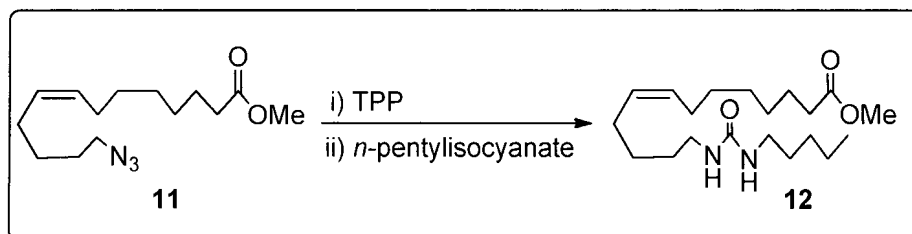


[00239] **Methyl 13-hydroxytridec-8(Z)-enoate⁴ (10)**: A solution of **9** (7.60 g, 3.49 mmol) and *p*-toluenesulphonic acid (50 mg; PTSA) in MeOH (50 mL) was stirred at room temperature for 4 h, and then concentrated *in vacuo*. The residue was purified by SiO₂ column chromatography using 25% EtOAc/hexanes as eluent to give **10** (3.41 g, 87%) as a colorless oil. TLC: 40% EtOAc/hexanes, $R_f \approx 0.35$; ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 5.40-5.36 (m, 2H), 3.60-3.66 (m, 5H), 2.30 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 2.10-1.90 (m, 4H) 1.64-1.50 (m, 2H), 1.48-1.20 (m, 10H).



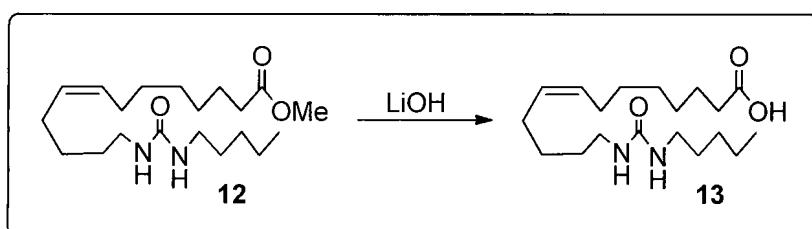
[00240] **Methyl 13-azidotridec-8(Z)-enoate⁵ (11)**: Diisopropyl azodicarboxylate (DIAD; 3.0 g, 14.8 mmol) was added dropwise to a -20°C solution of triphenylphosphine (3.9 g, 14.8 mmol) in dry THF (100 mL) under an argon atmosphere. After stirring for 10 min, a solution of **10** (3.0 g, 4.75 mmol) in anhydrous THF (5 mL) was added dropwise. After 30 min at -20°C, the reaction mixture was warmed to 0°C and diphenylphosphorylazide (DPPA, 4.0 g, 14.5 mmol) was added dropwise. After stirring at room temperature for 6 h, the reaction was quenched with water (3 mL), diluted with ether (100 mL), and washed with brine (40 mL). The aqueous layer was back-extracted with ether (2 × 150 mL). The combined organic extracts were dried over Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by SiO₂ column chromatography using 5% EtOAc/hexanes as eluent to afford **11** (2.72 g, 82%) as light yellow oil. TLC: 10% EtOAc/hexanes, $R_f \approx 0.45$; ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 5.40-5.34 (m, 2H), 3.64

(s, 3H), 3.26 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 2.30 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H) 2.10-1.98 (m, 4 H) 1.66-1.54 (m, 2H), 1.48-1.24 (m, 10H).



[00241] **Methyl 13-(3-pentylureido)tridec-8(Z)-enoate⁶ (12):** Triphenylphosphine (2.7 g., 11.0 mmol) was added to a room temperature solution of **11** (1.4 g, 5.24 mmol) in dry THF (25 mL). After 2 h, water (200 μ L) was added and the stirring was continued for another 8 h. The reaction mixture was then diluted with EtOAc (100 mL), washed with water (20 mL) and brine (25 mL). Aqueous layers were back-extracted with EtOAc (2 $\times$ 30 mL). The combined organic extracts were dried over Na_2SO_4 , concentrated under reduced pressure and further dried under high vacuum for 4 h. The crude amine was used in the next step without additional purification. Procedure ref.: S. Chandrasekhar; S. S. Sultana; N. Kiranmai; Ch. Narsihmulu *Tetrahedron Lett.* **2007**: 48, 2373.

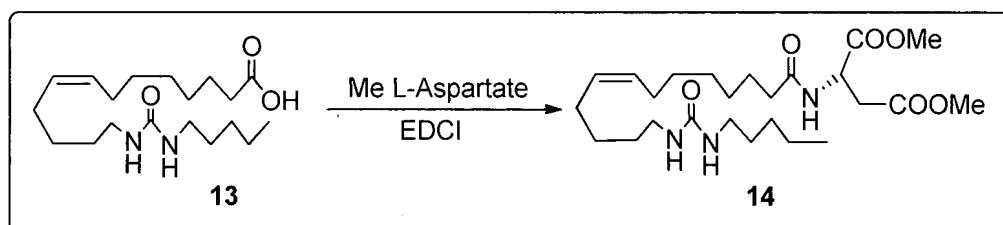
[00242] *n*-Pentyl isocyanate (0.78 g, 6.9 mmol) was added to a room temperature solution of the above crude amine (1.4 g, 5.8 mmol) in dry THF (25 mL). After 6 h, reaction mixture was concentrated under reduced pressure and the residue was purified by SiO_2 column chromatography using 30% EtOAc/hexanes as eluent to give **12** (1.70 g, 85%) as a colorless, viscous oil. TLC: 50% EtOAc/hexanes, $R_f \approx 0.40$; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ 5.40-5.26 (m, 2H), 4.46-4.32 (m, NH, 2H), 3.66 (s, 3H), 3.18-3.10 (m, 4H), 2.34 (t, $J = 7.7$ Hz 4H), 2.06-1.94 (m, 4H), 1.66-1.56 (m, 2H), 1.54-1.42 (m, 14 H), 0.88 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H).



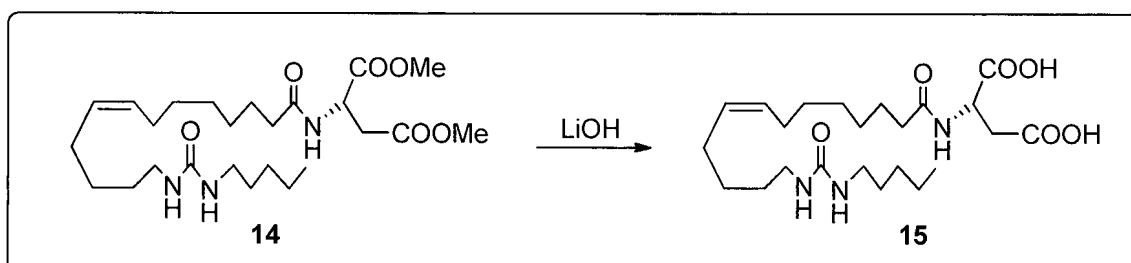
[00243] **Methyl 13-(3-pentylureido)tridec-8(Z)-enoic acid⁷ (13):** LiOH (6.2 mL, 2.0 M aqueous solution, 3.0 equiv) was added to a 0°C solution of **12** (1.80 g, 5.8 mmol) in THF (25 mL) and deionized H_2O (4 mL). After stirring at room temperature overnight, the reaction mixture was cooled to 0°C , the pH was adjusted to 4.0 with 1 M aq. oxalic acid, and extracted with ethyl acetate (2 $\times$ 20 mL). The combined extracts were washed with water (30 mL), brine (25 mL), dried over anhydrous Na_2SO_4 , and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by SiO_2 column chromatography using 25% EtOAc/hexanes as eluent to give **13** (1.48 g, 86%) as white solid, m.p. = 67.1°C . TLC: 80% EtOAc/hexanes, $R_f \approx 0.30$; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ 5.40-5.26 (m, 2H), 3.17-3.10 (m, 4H), 2.32 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 2.09-1.95 (m, 4H), 1.65-1.48

298
297

(m, 6H), 1.44-1.22 (m, 12H), 0.89 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ 178.5, 159.6, 130.5, 129.5, 40.9, 40.8, 34.4, 29.9, 29.8, 29.2, 28.7, 28.5, 27.2, 26.7, 24.9, 22.6, 14.2.

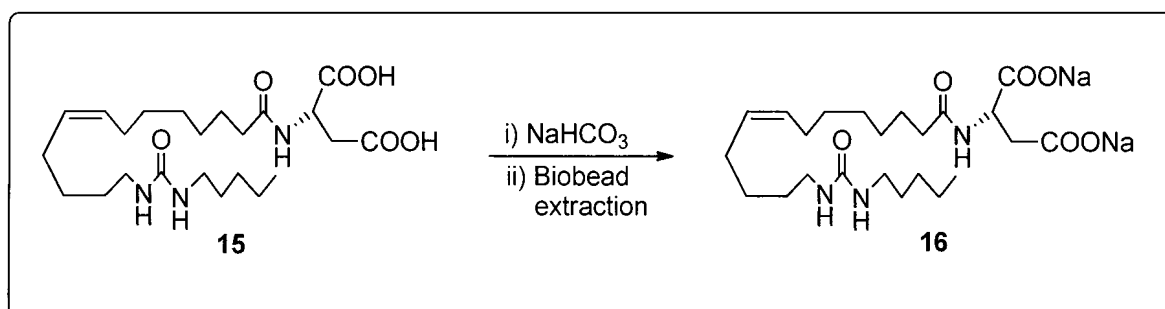


[00244] (S)-2-(13-(3-Pentylureido)tridec-8(Z)-enamido)succinate (14): L-Aspartic acid dimethyl ester (38 mg, 0.191 mmol) and HATU (67 mg, 0.176 mmol) were added to a stirring solution of **13** (50 mg, 0.147 mmol) and DIPEA (74 mg, 0.573 mmol) in anhydrous DMF (2 mL) under an argon atmosphere. After 5 min, 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide (33.8 mg, 0.176 mmol; EDCI) was added as a solid. After stirring for 12 h at room temperature, the reaction mixture was diluted with EtOAc (15 mL), washed with water (5 mL), and brine (10 mL). The combined aqueous layers were back-extracted with EtOAc (3×10 mL). The combined organic extracts were dried over Na_2SO_4 , concentrated under reduced pressure, and the residue was purified by SiO_2 column chromatography using 50% EtOAc/hexanes as eluent to give **14** (60 mg, 84%) as viscous oil. TLC: 60% EtOAc/hexanes, $R_f \approx 0.35$; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ 6.64 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 5.38-5.30 (m, 2H), 4.90-4.82 (m, 1H), 4.58-4.44 (m, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.66 (s, 3H), 3.20-3.10 (m, 4H), 3.04 (dd, $J_1 = 4.3$ Hz, $J_2 = 13.1$ Hz, 1H), 2.84 (dd, $J_1 = 4.6$ Hz, $J_2 = 12.8$ Hz, 1H), 2.22 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H), 2.05-1.98 (m, 4H), 1.70-1.60 (m, 2H), 1.50-1.20 (m, 16H), 0.88 (t, $J = 6.7$ Hz, 3H).



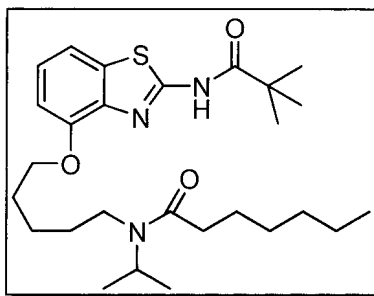
[00245] (S)-2-(13-(3-pentylureido)tridec-8(Z)-enamido)succinic acid (15): An aqueous solution of LiOH (2 mL, 2 M solution, 6.0 equiv) was added to a 0°C solution of **14** (60 mg, 0.124 mmol) in THF (8 mL) and deionized H_2O (2 mL). After stirring at room temperature overnight, the reaction mixture was cooled to 0°C , the pH was adjusted to 4.0 with 1 M aq. oxalic acid, and extracted with ethyl acetate (2×10 mL). The combined extracts were washed with water (5 mL), brine (5 mL), dried over anhydrous Na_2SO_4 , and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by SiO_2 column chromatography using 70-90% EtOAc/hexanes as eluent to give **15** (48 mg, 85%) as a viscous, colorless oil. TLC: 5% MeOH/EtOAc, $R_f \approx 0.20$; ^1H NMR (CD_3OD , 400 MHz) δ 5.38-5.30 (m, 2H), 4.72 (t, $J = 4.3$ Hz, 1H), 3.12-3.05 (m, 4H), 2.90-2.72 (m, 2H), 2.22 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H), 2.10-1.98 (m, 4H), 1.60-1.22 (m, 18H), 1.20 (t, $J = 7.1$ Hz,

3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ 174.9, 173.0, 172.8, 160.1, 129.9, 129.3, 51.8, 49.8, 39.8, 39.7, 35.7, 35.6, 29.9, 29.8, 29.5, 29.0, 28.8, 26.9, 26.7, 25.7, 22.3, 13.2.



[00246] **Disodium (*S*)-2-(13-(3-pentylureido)tridec-8(*Z*)-enamido)succinate (16):** Sodium bicarbonate (93 mg, 1.1 mmol) was added to a stirring solution of **15** (100 mg, 0.22 mmol) in THF/ H_2O (4:1, 5 mL) at rt. After 2 h, the THF was removed in vacuo and the remaining aqueous phase was stirred with SM-2 Bio-Beads (Bio-Rad, 20-50 mesh; 2 g). After 1 h, the Bio-Beads were collected by filtration on a sintered-glass funnel, washed with water (5 mL $\times$ 2) and finally with 95% ethanol (20 mL $\times$ 3). Evaporation of the ethanol washes in vacuo gave **16** (72 mg, 84%) as a white solid, m.p. = 258.5°C. TLC: 10% MeOH/ CH_2Cl_2 , $R_f \sim 0.15$; ^1H NMR (CD_3OD , 500 MHz) δ 5.25-5.23 (m, 2H), 4.40 (t, 1H, $J = 4.0$), 3.01-2.97 (m, 4H), 2.58-2.56 (m, 2H), 2.13 (t, 2H, $J = 7.0$), 1.96-1.94 (m, 4H), 1.51-1.47 (m, 2H), 1.30-1.19 (m, 16H), 0.83 (t, 3H, $J = 7.0$); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 178.52, 178.38, 173.99, 160.21, 129.93, 129.37, 52.66, 39.81, 39.74, 36.27, 29.50, 28.93, 26.76, 22.34, 13.26.

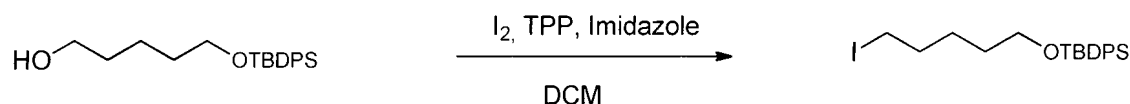
Example 3: Synthesis of *N*-Isopropyl-*N*-(5-(2-pivalamidobenzo[d]thiazol-4-yloxy)pentyl)heptanamide (MV=EET-B or SRD-2)



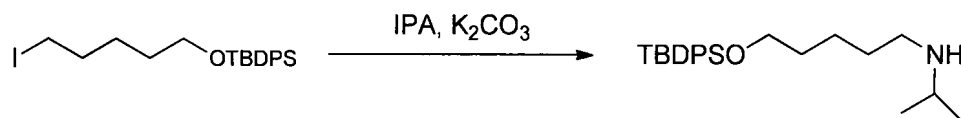
[00247] As set forth in Figure 15, the synthesis of EET B is as follows:

[00248] **5-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)pentan-1-ol (2):** Imidazole (0.65 g, 9.60 mmol) was added to a stirring solution of pentan-1,5-diol (1.00 g, 9.60 mmol) in dry dichloromethane (10 mL) at 0°C under an argon atmosphere followed by the dropwise addition of *tert*-butylchlorodiphenylsilane (3.85 mL, 9.60 mmol) in CH_2Cl_2 (2 mL). The reaction was allowed to slowly reach room temperature. After 12 hours, the reaction mixture was washed with water (2 $\times$ 30 mL), brine (20 mL), dried over Na_2SO_4 , and concentrated under reduced pressure. The residue which was purified by SiO_2 flash chromatography using 30% ethyl acetate/hexane as

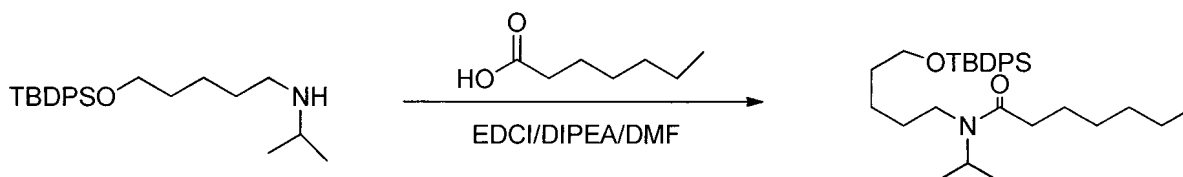
eluent to furnish **2** (1.35 g, 46%), recovered SM and di-protected compound. TLC: 30% EtOAc/hexanes, $R_f \sim 0.38$; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ 7.67-7.62 (m, 4H), 7.45-7.35 (m, 6H), 3.67 (t, 2H, $J = 6.0$ Hz), 3.52 (t, 2H, $J = 6.7$ Hz), 2.03-1.93 (m, 2H), 1.72-1.64 (m, 4H), 1.04 (s, 9H).



[00249] ***tert*-Butyl(5-iodopentyloxy)diphenylsilane (3)**: Imidazole (310 mg, 4.40 mmol), iodine (440 mg, 3.5 mmol), and a solution of **2** (1 g, 2.98 mmol) in CH_2Cl_2 (2 mL) were added sequentially to a 0°C solution of PPh_3 (450 mg, 3.5 mmol) in CH_2Cl_2 (15 mL) and kept in the dark. After 2 h, the reaction mixture was quenched by adding 20% aq. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (5 mL). The aqueous layer was extracted with CH_2Cl_2 (2×50 mL). The combined organic extracts were washed with brine (30 mL), dried over anhydrous Na_2SO_4 , and the solvent was removed *in vacuo*. The residue was purified by careful column chromatography using 5% EtOAc/hexane to afford iodide **3** (1.25 mg, 92%). TLC: 10% EtOAc/hexane, $R_f \sim 0.85$; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ 7.67-7.62 (m, 4H), 7.45-7.35 (m, 6H), 3.67 (t, 2H, $J = 6.0$ Hz), 3.41 (t, 2H, $J = 6.7$ Hz), 2.03-1.93 (m, 2H), 1.72-1.64 (m, 4H), 1.04 (s, 9H).

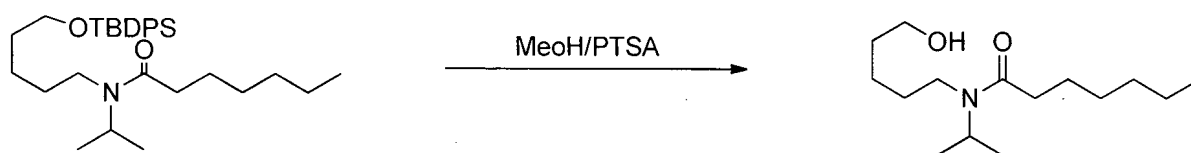


[00250] ***5*-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)-*N*-isopropylpentan-1-amine (4)**: K_2CO_3 (1.50 g, 11.05 mmol), isopropylamine (0.65 mL, 11.05 mmol) and iodide **3** (2.50 g, 5.83 mmol) in dry THF (15 mL) were heated at 66°C in a sealed tube under an argon atmosphere. After 12 h, water (5 mL) was added to the reaction mixture which was then extracted with EtOAc (3×50 mL). The combined organic extracts were dried over MgSO_4 and concentrated under reduced pressure to afford **4** as a colorless liquid (1.90 g, 92%) sufficiently pure it was used without further purification. TLC: MeOH/ CH_2Cl_2 (1:4), $R_f \sim 0.30$; ^1H NMR (400 MHz) δ 7.65-7.67 (m, 4H), 7.30-7.40 (m, 6H), 3.65 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 2.70-2.82 (m, 1H), 2.55 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 1.50-1.64 (m, 2H), 1.32-1.50 (m, 4H), 1.05 (d, $J = 5.8$ Hz, 3H), 1.04 (s, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz) δ 135.68, 134.21, 129.63, 127.70, 63.95, 48.81, 47.64, 32.60, 30.27, 27.0, 23.76, 23.15, 19.34.

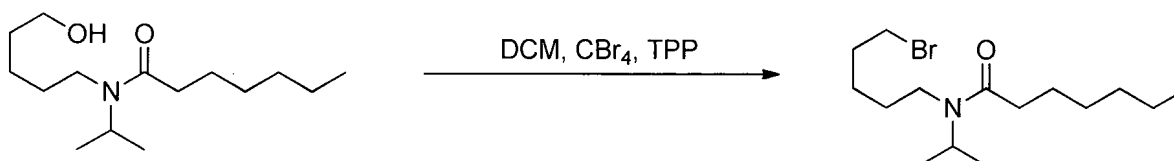


[00251] ***N*-(5-(*tert*-Butyldiphenylsilyloxy)pentyl)-*N*-isopropylheptanamide (5)**: Heptanoic acid (2.06 g, 15.86 mmol), and diisopropylethylamine (2.72 mL, 21.14 mmol; DIPEA) were added to a stirring solution of the amine **4** (4.00 g, 10.57 mmol) in anhydrous DMF (20 mL) under an argon atmosphere. After 5 min, 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide (3.04

g, 15.86 mmol; EDCI) was added as a solid. After stirring for 12 h at room temperature, the reaction mixture was diluted with EtOAc (100 mL), washed with water (2 × 30 mL), and brine (20 mL). The combined aqueous layers were back-extracted with EtOAc (3 × 30 mL). The combined organic extracts were dried over Na₂SO₄, concentrated under reduced pressure, and the residue was purified by SiO₂ column chromatography using 30% EtOAc/hexanes as eluent to give amide **5** (4.75 g, 91%) as a viscous oil. TLC: EtOAc/hexanes (3:7), *R_f* ~ 0.60; ¹H NMR (400 MHz, 1:1 mixture of rotamers) δ 7.65-7.67 (m, 4H), 7.30-7.40 (m, 6H), 4.62-4.72 and 3.96-4.80 (m, 1H, rotamers), 3.62 and 3.68 (t, *J* = 4.8 Hz, 2H, rotamers), 3.02 and 3.16 (t, *J* = 5.2 Hz, 2H, rotamers), 2.38 and 2.24 (t, *J* = 5.3 Hz, 2H, rotamers), 1.50-1.68 (m, 6H), 1.26-1.44 (m, 8H), 1.18 and 1.12, (d, *J* = 7.3 Hz, 6H, rotamers), 1.03 and 1.04 (s, 9H, rotamers), 0.88 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, 1:1 mixture of rotamers) δ 173.38, 172.76, 135.80, 135.78, 134.36, 134.12, 129.85, 129.73, 127.88, 127.82, 64.22, 63.68, 48.43, 45.62, 43.64, 41.27, 34.13, 34.05, 32.61, 32.36, 31.96, 31.93, 31.51, 29.63, 29.47, 27.10, 27.03, 25.94, 25.78, 24.03, 23.77, 22.81, 21.63, 20.78, 19.47, 14.33, 14.28.

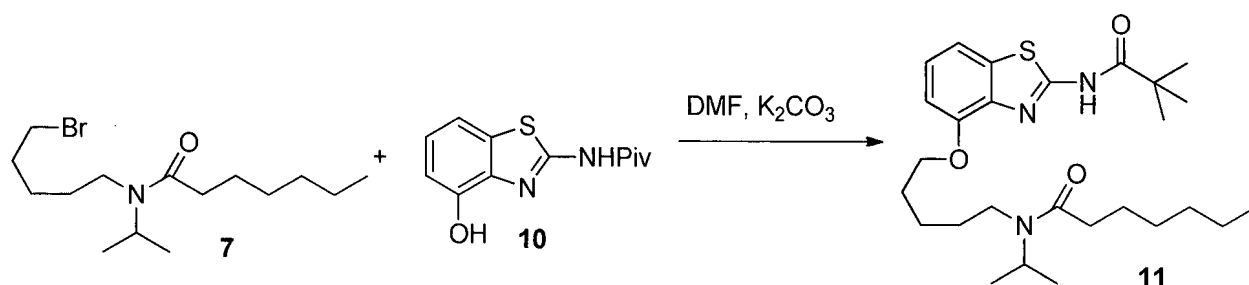


[00252] **N-(5-hydroxypentyl)-N-isopropylheptanamide (6)**: A solution of **5** (4.75 g, 9.02 mmol) and *p*-toluenesulfonic acid in MeOH (50 mL) was stirred at rt for 12 h, then quenched with solid NaHCO₃ and filtered. The filtrate was evaporated under vacuum and the residue was dissolved in ethyl acetate (50 mL). The ethyl acetate layer was washed with water (2 × 50 mL), brine (50 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel flash column chromatography using 50-60% ethyl acetate/hexane as eluent to afford alcohol **6** (2.35 g, 93%) as a colorless, viscous liquid. TLC: EtOAc/hexanes (1:1), *R_f* ~ 0.30; ¹H NMR (400 MHz, 55/45 mixture of rotamers) δ 4.58-4.66 and 3.96-4.08 (m, 1H, rotamers), 3.56 and 3.70 (t, *J* = 5.4 Hz, 2H, rotamers), 3.02 and 3.16 (t, *J* = 5.2 Hz, 2H, rotamers), 2.38 and 2.26 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H, rotamers), 1.50-1.64 (m, 6H), 1.22-1.40 (m, 8H), 1.13 and 1.09 (d, *J* = 7.5 Hz, 6H, rotamers), 0.84 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, 55/45 mixture of rotamers) δ 172.81, 62.66, 62.60, 48.41, 45.55, 43.56, 41.04, 34.08, 34.0, 32.46, 32.43, 31.86, 31.57, 29.40, 25.87, 25.70, 23.77, 23.73, 22.75, 21.57, 20.72, 14.26.



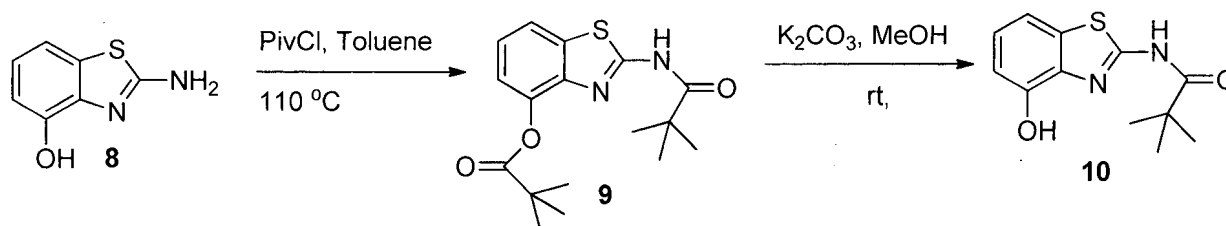
[00253] **N-(5-Bromopentyl)-N-isopropylheptanamide (7)**: TPP (4.45 g, 9.34 mmol) was added to a 0°C solution of alcohol **6** (2.00 g, 7.78 mmol) in dry CH₂Cl₂ (50 mL). After 10 min, CBr₄ (3.10 g, 9.34 mmol) was added and the stirring was continued at 0°C. After 2 h, water (20 mL) was added and the reaction mixture was extracted with EtOAc (3 × 50 mL). The combined

extracts were washed with water (2×20 mL), brine (20 mL), dried over Na_2SO_4 , and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by SiO_2 column chromatography using 30-35% ethyl acetate/hexane to afford **7** (2.20 g, 91%). TLC: EtOAc/hexanes (3:7), $R_f \sim 0.40$; ^1H NMR (400 MHz, 45/55 mixture of rotamers) δ 4.60-4.70 and 3.96-4.10 (m, 1H, rotamers), 3.46 and 3.36 (t, $J = 5.8$ Hz, rotamers), 3.02-3.10 (m, 2H), 2.30 and 2.22 (t, $J = 7.9$ Hz, 2H), 1.80-1.97 (m, 2H), 1.40-1.70 (m, 6H), 1.20-1.40 (m, 6H), 1.16 and 1.10, (d, $J = 7.3$ Hz, 6H, rotamers), 0.86 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, rotamers) δ 172.79, 172.39, 48.17, 45.47, 43.32, 40.70, 33.89, 33.87, 33.49, 32.48, 32.30, 31.81, 31.78, 30.78, 29.27, 28.74, 26.05, 25.84, 25.69, 25.54, 22.64, 21.47, 20.62, 14.17.



[00254] Isopropyl-N-(5-(2-pivalamidobenzo[d]thiazol-4-yloxy)pentyl)heptanamide (11):

A solution of bromide **7** (0.35 g, 1.09 mmol), *N*-(4-hydroxybenzo[d]thiazol-2-yl)pivalamide (**10**) (0.27 g, 1.09 mmol), and K_2CO_3 (0.30 g, 2.18 mmol) in DMF (10 mL) was heated at 80°C . After 4 h, the reaction mixture was cooled to rt, water (5 mL) was added and the mixture was extracted using ethyl acetate (3×30 mL). The combined organic extracts were washed with H_2O (2×20 mL), brine (20 mL), dried over Na_2SO_4 , and filtered. The filtrate was evaporated under reduced pressure and the residue was purified by silica gel column chromatography (50-70% EtOAc/hexanes) to give **11** (0.39 g, 72%) as a viscous liquid. TLC: EtOAc/hexanes (7:3), $R_f \sim 0.26$; ^1H NMR (400 MHz, 45/55 mixture of rotamers) δ 7.24 and 7.20 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H, rotamers), 7.16 and 7.14 (dd, $J = 7.4$ Hz, $J = 7.4$ Hz, 1H, rotamers), 6.90 and 6.80 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H, rotamers), 4.58-4.78 and 3.96-4.10 (m, 1H, rotamers), 4.02 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H), 3.12 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 2.30 and 2.27 (t, $J = 5.6$ Hz, 2H, rotamers), 1.82-1.92 (m, 2H), 1.44-1.70 (m, 4H), 1.38-1.32 (m, 8H), 1.20 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H), 1.13 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H), 1.11 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H), 0.88-0.85 (m, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, 45/55 mixture of rotamers) δ 189.64, 189.62, 173.04, 172.57, 172.55, 167.16, 167.09, 167.06, 146.85, 146.77, 146.67, 128.90, 128.87, 125.90, 125.79, 124.24, 124.13, 115.32, 115.06, 111.00, 110.09, 110.05, 68.97, 68.74, 58.50, 48.34, 45.62, 41.24, 41.10, 40.95, 34.10, 29.52, 29.15, 25.72, 24.28, 21.66, 20.76, 14.30.



303
302

[00255] **N-(4-hydroxybenzo[d]thiazol-2-yl)pivalamide (10)** To a suspension of 2'-aminobenzo[d]thiazol-4-ol (0.50 g, 3.01 mmol) in toluene (10 mL) was added trimethylacetyl chloride (3.60 mL, 30.10 mmol) at room temperature. The reaction mixture was stirred at 115 °C for 22 h. The solvents were evaporated and the residue was azeotroped with EtOAc to give 9 (0.78 g, 78%) as a tan solid. The suspension of the above solid (0.78 g) in MeOH (15 mL) was treated with K₂CO₃ (0.20 g, 3.50 mmol) and stirred at room temperature for 6 h. MeOH was evaporated and the residue was diluted with H₂O. The resulting mixture was neutralized with concd HCl to pH = 7 and extracted with EtOAc (3 × 30 mL). The combined organic phases were dried over sodium sulfate, filtered, and concentrated in vacuo to provide **10** (0.48 g, 82%) as a tan solid. TLC: EtOAc/hexanes (7:3), *R_f* ~ 0.32; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 10.25 (br s, 1 H), 9.66 (br s, 1 H), 7.33 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.09 (dd, *J* = 7.4, 7.4, Hz, 1H), 6.82 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 1.45 (s, 9H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 177.15, 159.12, 148.10, 136.55, 133.00, 125.55, 113.40, 111.50, 39.70, 27.38.

Example 4: In Vitro Screening of EET Analog Library

[00256] In this Example, the inventors performed both vascular relaxation assays and a soluble epoxide hydrolase inhibition assay using the newly synthesized compounds. The results of these assays are recorded in the last three columns of Table 1 above and Figure 14. As a result of these assays, four compounds, compounds 26, 20, 7 and 30 were selected for further *in vivo* testing, as outlined in later Examples.

[00257] **Soluble Epoxide Hydrolase Inhibition.** Compounds were tested for their ability to inhibit recombinant soluble epoxide hydrolase (sEH) protein. The assay utilizes (3-Phenyl-oxiranyl)-acetic acid cyano-(6-methoxy-naphthalen-2-yl)-methyl ester (PHOME), a sensitive substrate for sEH that can be used to monitor the activity of both human and murine enzymes. Hydrolysis of the substrate epoxide yields a highly fluorescent product, 6-methoxy-2-Naphthaldehyde, which can be monitored at excitation and emission wavelengths of 330 and 465 nm, respectively. See Wolf et al., *Anal Biochem* 355:71-80, 2006 PMID: 16729954. Human recombinant sEH was incubated with substrate and compounds ranging in concentration from 0.1 to 1000 nM. The percent activity remaining at each concentration was plotted and an IC₅₀ (concentration at which there is 50% inhibition) determined utilizing statistical software.

[00258] **Vasodilator Activity.** Vasorelaxant activity was measured in bovine coronary artery. Bovine hearts were obtained and the left anterior descending coronary artery was dissected and cleaned of connective tissue. Vessels of 1 mm diameter were cut into rings of 3 mm width as previously described (3, 27, 39). Vessels were stored in Krebs buffer consisting of (in mM) 119 NaCl, 4.8 KCl, 24 NaHCO₃, 1.2 KH₂PO₄, 1.2 MgSO₄, 11 glucose, 0.02 EDTA, and 3.2 CaCl₂. The vessels were suspended from a pair of stainless steel hooks in a 6-ml water-jacketed organ chamber. The organ chamber was filled with Krebs buffer and bubbled with 95% O₂-5% CO₂ at 37°C. One hook was anchored to a steel rod and the other hook to a force transducer (model FT-

03C; Grass Instruments, West Warwick, RI). Tension of the vessel was measured by an ETH-400 bridge amplifier, and the data were acquired with a MacLab 8e analog-to-digital converter and MacLab software version 3.5.6 (AD Instruments, Milford, MA) and stored on a Macintosh computer for subsequent data analysis.

[00259] Basal tension was set at the length-tension maximum of 3.5 g and equilibrated for 1.5 h. KCl (40 mM) was added to the chamber until reproducible maximal contractions were maintained. U-46619 (10–20 nM), a thromboxane receptor agonist, was used to precontract the vessels from basal tension to between 50% and 90% of the maximal KCl contraction. Cumulative additions of compounds were added to the chamber. Between concentration-response curves, the chambers were rinsed with fresh Krebs buffer, 40 mM KCl was administered to determine the maximum contraction, and the vessels were rinsed. Consecutive concentration-response curves were performed with 14,15-EET followed by a concentration-response curve to a compound. The experiment was always repeated with the order of the agonists reversed. In control experiments with consecutive concentration-response curves to 14,15-EET, the second concentration-response curve with compound was identical to the first. Tension was represented as percent relaxation where 100% relaxation was basal pre-U-46619 tension. The relaxation was plotted versus compound concentration and the EC₅₀ determined utilizing statistical software.

[00260] **Results of Vasodilator and sEH Inhibitory Activity Assays.** The results of vasorelaxant and sEH inhibitory activities of the 33 synthesized compounds are summarized in Table 1. Using the pharmacophoric moiety of EET, a number of EET analogs were designed with improved solubility and resistance to auto-oxidation, etherification and metabolism by soluble epoxide hydrolase (sEH). It is observed that these compounds possess activity analogous to EET as evident from their vasorelaxant activity in bovine coronary artery and sEH inhibitory (sEH_i) activity. Among these, four compounds among those that were designed by replacing COOH group of the EET pharmacophore with isosteric replacement or a heterocyclic surrogate were studied for potential antihypertensive effect. The results of vasorelaxant and sEH inhibitory activities of these compounds are summarized in Table 2 below.

Table 2: Characteristics of the compounds selected for testing in the *in vivo* models.

Compound	Structure	Vascular relaxation		SEHi activity
		% relaxation (10μM)	EC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (nM)
SRD-I-71-9		109	.32	>500
LGK-I-119-15		119	0.18	11
JLJ-I-94-6		91	1.6	392
MV-IV-110-20		96	1.3	>500

Example 5: *In Vitro* Testing of Four Compounds Using Rat Models of Hypertension.

[00261] **Telemetry Blood Pressure Measurement.** To accurately detect changes in blood pressure and heart rate, telemetry transmitters (Data Sciences Inc., St. Paul, MN) were implanted in rats one week prior to the experimental period according to manufacturer's specifications while under pentobarbital anesthesia. In brief, an incision was made to expose the femoral artery that was occluded to allow insertion of the transmitter catheter. The catheter was secured in place with tissue glue and the transmitter body was sutured in place and the incision line was closed. Rats were allowed to recover from surgery and were returned to individual housing. A baseline arterial pressure was recorded for prior to the experimental period. Mean arterial pressure was continuously recorded throughout the experimental period.

[00262] **Angiotensin Hypertension.** Telemetry transmitters were implanted into male Sprague-Dawley rats (225-275 g) as described. After recording basal blood pressure, osmotic pumps were implanted (s.c.) to deliver angiotensin at a dose of 60 ng/min. EET analogs were administered by an osmotic pump (2mg/d, i.p.) and blood pressure was continuously monitored.

[00263] **Spontaneously hypertensive rats (SHR).** Telemetry transmitters were implanted into male SHR as described. After the surgical recovery period, baseline mean arterial pressure was recorded. In this series of experiments, EET analogs were administered by osmotic pump (2 mg/d, i.p.) and blood pressure was continuously monitored.

[00264] **Protein excretion measurements.** Animals were placed in a metabolic cage and urine was collected in a conical tube. Samples were stored at -80°C until assayed. Urinary protein excretion was assessed as an index for renal injury. Protein was determined by the Bradford colorimetric method and creatinine was determined by the picric acid colorimetric method.

[00265] Telemetry and urinary analysis methods are further outlined in the following publications: Imig JD, Zhao X, Zaharis CZ, Olearczyk JJ, Pollock DM, Newman JW, Kim IH, Hammock BD. An orally active epoxide hydrolase inhibitor lowers blood pressure and provides renal protection in salt-sensitive hypertension. *Hypertension* 46:975-981, 2005. PMID: 1615779; Elmarakby AA, Quigley JE, Olearczyk JJ, Srindhar A, Cook AK, Inscho EW, Pollock DM, Imig JD. Chemokine receptor 2b blockade inhibition provides renal protection in angiotensin II-salt hypertension. *Hypertension* 50:1069-1076, 2007. PMID: 17938380; and Olearczyk JJ, Quigley JE, Mitchell B, Yamamoto T, Kim IH, Newman JW, Lauria A, Hammock BD, Imig JD. Inhibition of the soluble epoxide hydrolase protects the kidney from damage in hypertensive Goto-Kakizaki rats. *Clinical Science* 116:61-70, 2009. PMID: 18459944. These publications are incorporated by reference herein.

[00266] **Statistical analysis.** All data are presented as mean $\pm$ SEM. Mean arterial blood pressure data were analyzed using analysis of variance (ANOVA) for repeated measurements. Differences were considered statistically significant with $p < 0.05$ compared to the control.

Analyses were performed using GraphPad Prism Version 4.0 software (GraphPad Software Inc, La Jolla, CA).

[00267] Results-Effects on blood pressure and heart rate. *Spontaneously hypertensive rat (SHR).* In this model of hypertension, blood pressure lowering abilities of four selected compounds were studied. It is observed that two of these four compounds had blood pressure lowering effects. SRD (chemical structure shown in Figure 1A) and LGK (chemical structure shown in Figure 2A) lacked blood pressure lowering actions in SHR. In the SRD treated SHR group, after two weeks of treatment the blood pressure was similar to the vehicle treated SHR group (150 ± 5.0 vs. 141 ± 3.0 mmHg) (see Fig. 1B-C). After two weeks of treatment, LGK did not change the blood pressure (137 ± 1.0 vs. 141 ± 3.0 mmHg) compared to the vehicle in SHR (Fig. 2 C-D). Similar to their effects on blood pressure, neither SRD nor LGK affected the heart rate (SRD, 344 ± 23.0 vs. 331 ± 17.0 BPM; LGK, 325 ± 11.0 vs. 331 ± 17.0 BPM) compared to vehicle SHR.

[00268] Two weeks treatment with JLJ (chemical structure shown in Figure 3A) caused a moderate decrease in blood pressure in SHR compared to vehicle treated group (131 ± 2.0 vs. 141 ± 3.0 mmHg) and its blood pressure lowering effect has been seen from the first week of the treatment (Fig. 3 B-C). The compound MV (chemical structure shown in Figure 4A) also demonstrates a similar blood pressure lowering effect in SHR and caused a 12 mmHg decrease in blood pressure compared to vehicle (129 ± 2.0 vs. 141 ± 3.0 mmHg). Moreover, similar to JLJ, it was observed that MV started to lower blood pressure within four days of the treatment in SHR and maintained this effect until the end of the two-week treatment period (see Fig. 4 B-C). In contrast to their blood pressure lowering effect it was further observed that, neither JLJ nor MV had any affect on the heart rate (JLJ, 316 ± 23.0 vs. 331 ± 17.0 BPM; MV, 318 ± 24.0 vs. 331 ± 17.0 BPM) compared to vehicle SHR. Considering promising blood pressure lowering effects of JLJ and MV in SHR model, we have further tested these compounds in another model of hypertension, angiotensin II (Ang II) hypertension.

[00269] Ang II hypertensive rats. The compound JLJ demonstrates an attenuating effect on the Ang II induced elevation in blood pressure from the beginning of the treatment and this was maintained throughout the treatment period. It is observed that at the end of two-week of treatment period JLJ markedly attenuated the Ang II induced hypertension compared to vehicle (135 ± 5.0 vs. 150 ± 3.2 mmHg) (Fig. 5 A-B). Similar to JLJ, the compound MV also demonstrates marked attenuating effect on the Ang II hypertension (107 ± 2.0 vs. 150 ± 3.2 mmHg) and this attenuating effect was observed throughout the treatment period (Fig. 6 A-B). Similar to the SHR, in ANG II hypertension neither JLJ (410 ± 25.0 vs. 396 ± 25.0 BPM) nor MV (385 ± 16.0 vs. 396 ± 25.0 BPM) demonstrates any effect on the heart rate compared to vehicle after two weeks of treatment.

308
307**[00270] Effects of MV on sodium excretion and protein excretion in Ang II hypertension.**

In the present study we have observed that the two weeks treatment with compound MV (chemical structure shown in Figure 4A) caused natriuresis compared to vehicle (2.7 ± 0.3 vs. 1.9 ± 0.7 mmol/d) in Ang II hypertension. It is also observed that the compound MV decreased the urinary protein to creatinine ratio (1.5 ± 0.2 vs. 2.8 ± 0.7), an indicator of renal injury, in Ang II hypertension.

Example 6: Effect of EET Analogs in treating cisplatin nephrotoxicity

[00271] In this Example, the inventors investigated the kidney protective effect of two newly developed orally active EET analogs in cisplatin-induced nephrotoxicity. It was demonstrated that EET analogs offered marked reno-protection during cisplatin administration and this effect was related to their anti-oxidative, anti-inflammatory, anti-ER stress and anti-apoptotic activities. We have further demonstrated that while protecting the kidney from the deleterious nephrotoxic effect of cisplatin, these EET analogs did not compromise cisplatin's chemotherapeutic effect.

[00272] Nephrotoxicity severely limits the use of the anti-cancer drug cisplatin. Oxidative stress, inflammation and endoplasmic reticulum (ER) stress contribute to cisplatin-induced nephrotoxicity. We developed orally active EET analogs (including without limitation compounds EET-A & EET-B) by modifying the carboxylate, olefins, and epoxide moieties of EET pharmacophore. We determined if administering the claimed EET analogs would decrease nephrotoxicity, including cisplatin-induced nephrotoxicity. Cisplatin was administered (7mg/kg i.p.) in rats pretreated for 7 days with EET analogs (10mg/kg/d p.o., n=5) or vehicle (n=7). On day 5 following cisplatin injection, urine, plasma, and kidneys were collected. Cisplatin-induced nephrotoxicity was manifest by a 3-5-fold increase in BUN, plasma creatinine (PCr), urinary N-acetyl-(D)-glucosaminidase activity (NAG), kidney injury molecule-1 (KIM-1), and renal tubular cast formation. EET analogs attenuated cisplatin-induced increases in BUN (vehicle: 241 ± 51 vs. EET-A: 108 ± 30 & EET-B: 120 ± 33 mg/dL), PCr (3.1 ± 0.2 vs. 2.0 ± 0.2 & 1.4 ± 0.2 mg/dL), KIM-1 (296 ± 94 vs. 85 ± 29 & 57 ± 13 ng/d), and NAG (3.0 ± 0.6 vs. 0.5 ± 0.1 & 0.6 ± 0.2 U/d) ($P < 0.05$). Cisplatin-induced renal tubular cast formation was reduced 50% by EET analog treatment. EET analogs attenuated cisplatin-induced kidney TBARS formation (vehicle: 16 ± 2 vs. EET-A: 7 ± 1 ; EET-B: 8 ± 1 $\mu\text{mol/g}$) and cause 2-3-folds decrease in kidney expression of *NOX1* and *gp91phox* mRNAs ($P < 0.05$). Cisplatin-induced nephrotoxicity was accompanied by elevated renal inflammation and ER stress resulting in increased kidney mRNA expression of inflammatory (*TNF- α* , *IL-6*, *IL-1 β*) and ER stress (*caspase 12*, *GRP78*) genes. EET analogs caused 30-70% reductions in the expression of these inflammatory and ER stress genes ($P < 0.05$). Cisplatin caused apoptotic signalling in the kidney with elevated *Bak/Bcl2* and *Bax/Bcl2* mRNA expression ratios and renal cortical caspase 3 activity. EET analogs caused 2-14-folds reduction in kidney *Bak/Bcl2* and *Bax/Bcl2* mRNA expression ratios as well as a 50% reduction in renal caspase 3 activity ($P < 0.05$). In an *in vitro* study with several cancer cell-lines,

we also demonstrate that EET analog's kidney protective effects dose not compromise cisplatin's anti-cancer property. Collectively, these data demonstrate that orally active EET analogs protect from nephrotoxcity, including cisplatin-induced nephrotoxicity, by reducing oxidative stress, inflammation, and ER stress without affecting cisplatin's chemotherapeutic effects. In addition, the EET analogs will also protect against other common cisplatin side effects, including loss of hearing.

[00273] In vivo Animal experiments. Experiments were approved and carried out according to the guidelines of the Institutional Animal Care and Use Committee, Medical College of Wisconsin, Milwaukee, USA. Male Wistar-Kyoto (WKY) rats weighing 180-200 g (Charles River, MA, USA). All animals were kept in a temperature-controlled environment with a 12-h light/dark cycle and were allowed free access to food and water at all times. An acclimatization period of 6 days was allowed for the rats before experimentation. The rats were assigned into four groups. Group 1 (WKY, n=5-7): Rats received drinking water *ad libitum* for seven days and on day 7 DMSO (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) was administered (300-500 μ l i.p.). DMSO was used to prepare the cisplatin (CP) (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) solution used in this study, and the maximum volume of the injection set at 500 μ l. Group 2 (CP+Vehicle, n=5-7): Rats were pretreated with vehicle (0.05% ethanol and 0.1% PEG-400 v/v) in drinking water for seven days and then on day 7 CP was administered (7mg/kg i.p.) followed by another five days treatment with vehicle. Group 3 (CP+EET-A, n=5-7): These rats are pretreated with the EET analog EET-A (10mg/kg/day p.o.) for seven days in drinking water and then on day 7 administered CP as a single injection (7mg/kg i.p.) followed by another five days treatment with EET-A. Group 4 (CP+EET-B, n=5-7): Rats of this group are pretreated with another EET analog EET-B (10mg/kg/day) for 7 days in drinking water and then on day 7 CP was administered as a single injection (7mg/kg i.p.) followed by another five days treatment with EET-B. Rats of groups 2, 3 and 4 had free access to vehicle, EET-A and -B in drinking water, respectively. One day before the rats were sacrificed, urine of each rat was collected over a 24-h period, and the volume was measured. Five days after CP or DMSO administration, rats were anesthetized for blood sample collection followed by euthanasia and tissue collection. Urine and plasma samples were kept frozen at -80⁰C until analyzed. The kidneys were removed, washed with physiological saline and stored at -80⁰C until used for RT-PCR analysis, thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) measurement and caspase 3 activity assay. A part of the kidney also preserved in 10% buffered formalin for histological examination.

[00274] Biochemical analysis. The levels of blood urea nitrogen (BUN) (BioAssay Systems, Hayward, CA, USA) and serum creatinine (Cayman Chemical Company, Ann Arbor, MI, USA) were measured spectrophotometrically using commercial kits. Urinary content of creatinine and protein were measured using commercial kits (Cayman Chemical Company, Ann Arbor, MI, USA), and the activity of urinary N-acetyl-b-glucosaminidase (NAG) in the urine was measured by a kit from Diazyme (Diazyme Laboratories, Poway, CA, USA). While urine content of kidney

injury molecule-1 (KIM-1) was measured using ELISA (R&D Systems, Inc. Minneapolis, MN, USA).

[00275] Determination of malondialdehyde in the kidney. Malondialdehyde (MDA) is a thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) that is formed as an end-product of lipid peroxidation and serves as an important index of oxidative stress. To determine the kidney MDA level, the rat kidney was homogenized with buffer containing 1.5% potassium chloride to obtain a 1:10 (w/v) whole kidney homogenate. Using a commercially available kit (Cayman Chemical Company, Ann Arbor, MI, USA), MDA was measured spectrophotometrically after reaction with thiobarbituric acid.

[00276] Determination of Caspase 3 activity. Caspase 3 activity in the kidney homogenate was determined using a commercial fluorimetric assay kit (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA). Kidney homogenate was prepared with a lysis Buffer (50 mM HEPES, pH 7.4, with 5 mM CHAPS and 5 mM DTT). Kidney homogenate was centrifuged at 10,000 g for 10 min and the resulting supernatant was used for the assay. The caspase 3 fluorimetric assay is based on the hydrolysis of the peptide substrate acetyl-Asp-Glu-ValAsp-7-amido-4-methylcoumarin (Ac-DEVD-AMC) by caspase 3, resulting in the release of the fluorescent 7-amino-4-methylcoumarin (AMC) moiety. The caspase 3 activity is expressed as nmol of AMC/min/ μ L.

[00277] Real-Time PCR Analyses. Real-Time analysis was carried out to assess the expression of oxidative (*gp91phox*, *NOX1*, *SOD1*, *SOD2*, *SOD3*), inflammatory (*TNF- α* , *IL-6*, *IL-1 β*), apoptotic (*Bax*, *Bak*, *Bcl-2*) and endoplasmic reticulum stress (*GRP78*, *caspase 12*) related genes in the kidney. Total RNA was isolated from kidney homogenate using TRIzol LS reagents (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA, USA) according to the manufacturer's instructions. The isolated RNA was treated with RNase-free DNase (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) to remove traces of genomic DNA contamination. The mRNA samples were quantified by spectrophotometry at 260 nm and 1 μ g of total RNA was reverse-transcribed to cDNA using iScript™ Select cDNA Synthesis Kit (Bio-Rad, Hercules, CA, USA).

[00278] The target gene expression was quantified by iScript One-Step RT-PCR Kit with SYBR green using MyiQ™ Single Color Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA). Each amplified sample in all wells was analyzed for homogeneity using dissociation curve analysis using iQ5 Optical System Software, Version 2.1 (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA). After denaturation at 95°C for 2 min, 40 cycles were performed at 95°C for 10 s and at 60°C for 30 s. Each sample was run in triplicate, and the comparative threshold cycle (C_t) method was used to quantify fold increase ($2^{-\Delta\Delta C_t}$) in the expression of the target genes compared to controls. In analyzing the relative expression of the target genes, the C_t values were normalized to a housekeeping gene (*pgk1*). Statistical analyses were carried out for at least 5-7 experimental samples in each experimental group. Primers used in this study were designed based on several earlier reports. HA

10% buffered formalin, renal tissues were sectioned and stained with periodic acid-Schiff (PAS) reagents for histological examination. The numbers of tubules that contain proteinaceous casts were determined at magnification of $\times 200$ to assess tubular damage using an image analyzing software NIS Elements AR version 3.0 (Nikon instruments inc., Melville, NY, USA). The percentage area positive for cast was calculated from the mean of eight cortical and five medullary fields ($\times 200$) for each kidney sample. To minimize observer bias, the cast area calculation was performed in a blinded fashion without knowledge of the treatment group from which the tissues are originated.

[00279] In vitro anti-tumor activity of cisplatin in the presence and absence of EET analog. In this study, HEK293, U87MG, Hela cell-lines were obtained from the ATCC (Manassas, VA, USA) (HEK293, U87MG, Hela), and NCCIT was collected from Department of Pediatrics, UT Southwestern Medical Center at Dallas, TX, USA. All cell lines were maintained in DMEM or RPIM with 10% fetal bovine serum and penicillin/streptomycin purchased from Life Technologies (Grand Island, NY, USA). Cisplatin was purchased from either Sigma (St. Louis, MO, USA) or CalBiochem/EMD Biosciences (Billerica, MA, USA). Cells were seeded in 96-well plates at 500 to 4,000 cells per well depends on cell type. Twenty-four hours later, the cells were treated with cisplatin or vehicle and/or the EET analogue EET-A at various concentrations for 72 h. Cell viability was measured by alamar blue assay using resazurin (Sigma Aldrich) according to the manufacturer's guidelines. Viability results were measured by fluorescence/absorbance in a 96-well plate reader from BMG Labtech (Cary, NC, USA) and the IC_{50} was calculated by GraphPad Prism5 software (GraphPad Software Inc, La Jolla, CA, USA).

[00280] Statistical analysis. Results are reported as mean $\pm$ S.E.M. Statistical significance between two measurements was determined by the two-tailed unpaired Student's *t* test (and among groups it was determined by repeated measure one-way analysis of variance followed by Tukey's post-hoc test) by using GraphPad Prism[®] Version 4.0 software (GraphPad Software Inc, La Jolla, CA, USA). Probability values of $P < 0.05$ were considered significant where the critical value of *P* was two-sided.

[00281] Results. EET analog treatment attenuates renal dysfunction and injury in cisplatin administered rats. To investigate the effects of EET analogs in cisplatin (CP)-induced renal dysfunction, levels of urea (blood urea nitrogen or BUN) and creatinine were measured in the serum of both EET analog-treated and -untreated rats after five days of the CP administration. As shown in the Figure 8, CP administration caused 3 and 9-fold increase in the serum creatinine and BUN levels (Figures 7a and 7b), respectively ($P < 0.05$). Treatment with EET analogs (EET-A and -B) resulted in 30-50% reductions in the elevated levels of serum creatinine and BUN in rats administered with CP compared to those given vehicle (DMSO) ($P < 0.05$). To determine the effects of EET analogs in CP-induced renal dysfunction, we further studied urinary excretion of KIM-1, NAG and protein after five days of CP administration

(Figures 7c and 7d). There were 5 and 10-fold increases in urinary excretion of NAG and KIM-1 in the CP-administered rats compared to vehicle-administered controls ($P<0.05$). Moreover, we also demonstrated that cisplatin-administration caused marked proteinuria compare to vehicle administration (vehicle vs. cisplatin, 25.7 ± 1 vs. 53 ± 5.1 mg/d, $P<0.05$). Both EET analogs, EET-A and EET-B resulted 30-50% reduction in the urinary excretion of NAG and KIM-1 compared to CP-administered rats treated with vehicle ($P<0.05$) (Figures 7c-d).

[00282] We have also observed at least a 40% reduction of cisplatin-induced proteinuria by both EET analogs (Vehicle vs. EET-A and -B; 53 ± 5 vs. 33 ± 8 and 32 ± 3 mg/d, $P<0.05$). In the present study the CP-induced kidney dysfunction was further assessed using histological examination of the kidney. Administration of CP resulted in tubular injury as manifested by a vacuolation and desquamation of the renal epithelial cells along with severe intra-tubular proteinaceous cast formation in both the cortical and medullary regions of the kidney compared to vehicle-administered rats. Both EET analogs protected the kidney in CP-administered rats with $\geq 50\%$ reduction of the tubular cast area in cortex and medulla compared to CP-administered rats treated with vehicle ($P<0.05$) (Figures 8a-b).

[00283] **EET analog treatment attenuates cisplatin-induced renal oxidative stress, inflammatory response and endoplasmic reticulum stress.** Real-Time PCR analysis of the mRNA expressions of NADPH oxidase subunits NOX1 and gp91phox (Figure 9) demonstrated increased expression of these oxidative marker genes in cisplatin (CP) administered rats ($P<0.05$). There was 2-3-folds attenuation in the cisplatin-induced increase in the renal expression of NOX1 and gp91phox mRNA were reduced by EET analogs A and B ($P<0.05$) (Figure 9a-b). CP-administration also resulted in a marked elevation in the kidney content of melondialdehyde (MDA), which is one of the important indicators of oxidative stress. Treatment with EET analogs caused 50% reduction of MDA level in the kidney of CP-administered rats ($P<0.05$) (Figure 9c). It was further observed that administration of CP resulted in 2-5-folds reductions in the mRNA expression of superoxide dismutase (SOD) 1 and SOD3 ($P<0.05$) while expression of *SOD2* was unchanged. Treatment with EET analogs caused 2-3-folds increase in the expression of *SOD1* in the CP- administered rats ($P<0.05$) while the expression of *SOD3* remained unaltered across the experimental groups (Figures 9d-f).

[00284] To investigate the effect of EET analogs on the CP-induced inflammation that is associated with renal dysfunction, we studied the renal expression of mRNAs that code for tumour necrosis factor- α (TNF- α), interleukin- 6 (IL-6) and interleukin-1 β . These variables demonstrated a 2-50-fold increase in their expression in the vehicle treated CP-administered rats compared to the rats administered vehicle ($P<0.05$) (Figures 10a-c). Treatment with both EET analogs (EET-A and B) resulted in 40-60% reductions in the renal mRNA expressions of all the inflammatory markers in CP-administered rats (all $P<0.05$).

[00285] We have also observed 4-fold increase in the mRNA expressions of ER stress markers GRP78/BiP and caspase 12 in the vehicle treated CP-administered rats compared to vehicle-administered rats ($P<0.05$) (Figures 11a-b). In CP-administered rats, treatment with both EET analogs (EET-A and B) caused 2-4-fold reduction in the elevated renal expressions of GRP78 and caspase 12 mRNAs compared to vehicle treatment ($P<0.05$) (Figures 11a-b).

[00286] **EET analog treatment attenuates cisplatin-induced renal apoptosis.** There was a 70% reduction in the renal expression of Bcl-2 mRNA in the vehicle treated CP-administered rats compared to rats administered vehicle ($P<0.05$) (Figure 12a). EET analog treatment caused 2-10-fold increase in the expression of the anti-apoptotic Bcl-2 in the CP-administered rats compared to vehicle treated CP-administered rats ($P<0.05$) (Figure 12a). Moreover, CP administration resulted in 4-20-fold raise in the Bax/Bcl-2 and Bak/Bcl-2 ratios, and therefore indicated elevated apoptotic signalling in the CP-administered rats (Figures 12b-c) ($P<0.05$). EET analogs treatment caused 2-3-fold reduction in Bax/Bcl-2 and Bak/Bcl-2 ratios compared to CP-administered rats treated with vehicle ($P<0.05$) (Figures 12c-d). The CP-induced elevated apoptotic signalling was further characterized with higher caspase 3 activity (Figure 12d) in CP-administered rats compared to the rats administered vehicle ($P<0.05$). Treatment with EET analogs attenuated such CP-induced caspase 3 activity by 50% compared to the CP-administered rats treated with vehicle ($P<0.05$) (Figure 12d). These results clearly demonstrated attenuation of CP-induced apoptotic signaling in the presence of EET analog treatment.

[00287] **EET analog treatment dose not compromise the chemotherapeutic effect of cisplatin.** We demonstrate that in three different cancer cell lines, Hela, NCCIT and U87 cisplatin markedly inhibit the cell growth with IC_{50} ranged from 1.1 – 9.24 μ M (Figure 13a). In a similar approach with these cell lines, EET-A had no observable effects on cell number (Figure 13b). Moreover, concurrent application of EET-A and cisplatin did not influence the cisplatin's chemotherapeutic effect neither on the normal kidney cells (data not shown) nor on the NCCIT cancer cell line (Figure 13c). It is demonstrated that when cisplatin and EET-A were used concurrently, the IC_{50} for cisplatin was 2.60, 2.55, and 2.44 μ M with 0, 1, and 10 ng/ml EET in NCCIT cells.

[00288] **Discussion.** A critical limitation of cisplatin chemotherapy is the induction of tubulointestinal inflammation, renal oxidative stress, ER stress and tubular cell apoptosis that lead to acute kidney injury. It is reported that 40% cancer patients who treated with cisplatin develops acute renal injury. Unfortunately, efficient pharmacotherapies to attenuate this debilitating complication of a widely used chemotherapy like cisplatin are not available. In an attempt to contribute to this area, current study investigated the kidney protective effect of chronic treatment of epoxyeicosatrienoic acid (EET) analogs on cisplatin-induced nephrotoxicity.

[00289] There is strong evidence that EET analogs have ability to protect organ by mechanisms involving its anti-inflammatory, anti-apoptotic and anti-oxidative activities. With this background, in the present study we hypothesized that with its strong organ protective ability, EET will protect the kidney from cisplatin nephrotoxicity. In our attempt, we have synthesized two novel EET analogs and investigated their kidney protective effects in cisplatin-induced nephrotoxicity using a clinically relevant approach with chronic administration of EET analogs in drinking water to the rat. We demonstrate that a single administration of cisplatin caused marked renal injury evident from increased PCr, BUN, urinary excretion of renal tubular injury markers like NAG and KIM-1 along with marked proteinuria and tubular cast formation. Our results supports several earlier studies reported cisplatin-induced nephrotoxicity in pre-clinical animal models. Interestingly, we also demonstrate that the chronic treatment with EET analogs in drinking water markedly protected the kidney from cisplatin-induced nephrotoxic injury with reductions in all renal injury markers studied in this study. In relation to our approach in the present study, a recent study demonstrated that acute administration of sEH inhibitor could reduce cisplatin-induced renal dysfunction in mice. However, it is known that current sEH inhibitors are limited in effects as they undergo metabolism and incorporation into the membrane,³⁶ thus indicates a limitation of this finding in clinical translational implication. Moreover, the study carried out by Parrish et al.³⁵ did not provide evidence on the possible mechanism by which EET or sEH inhibitor reduces renal dysfunction in cisplatin-induced nephrotoxicity.

[00290] Currently, we demonstrate marked over-expression of mRNAs for the major components of NADPH oxidase (*NOX1* and *gp91phox*) in cisplatin-induced nephrotoxicity. Over-expression of these oxidative marker genes further accompanied by increased ROS generation evident from the elevated kidney lipid per-oxidation in the cisplatin-administered rat. We also demonstrate reduced renal *SOD1* and *SOD3* expressions, and suggest that such reduction contributes to the oxidative stress in cisplatin administered rat. Similar observations are reported in earlier studies where cisplatin-induced nephropathy is accompanied by increased MDA level and elevated expression and activity of NADPH oxidase. Interestingly, our study also demonstrate that EET analogs markedly reduced the renal oxidative stress by reducing the renal lipid per-oxidation, marked reductions in the expression of the major NADPH oxidase subunits, and also by increased expression of *SOD1*. Indeed, in a recent study it is reported that EET up-regulates the expression and activity of SOD during toxic insult, thus enhance ROS scavenging and reduce oxidative stress. Similar to our findings, in another pathological model characterized with renal injury, EET mediated reduction in oxidative stress and renal injury has been reported. Apart from oxidative stress, we also demonstrate that cisplatin-induced nephrotoxicity is further accompanied by elevated renal inflammatory response and supports earlier evidences on important role for inflammatory mechanisms in the pathogenesis of

cisplatin-induced nephrotoxicity. Indeed, cisplatin induces increased renal expression of a variety of inflammatory chemokines and cytokines, such as TNF- α and IL-1 β .

[00291] We further demonstrate that EET analog treatment reduced renal expression of these inflammatory markers in cisplatin-induced nephrotoxicity. Our data support earlier reports of anti-inflammatory activity of EET that has been implicated in EET mediated organ protection in a number of pathologies characterized with organ injury. For instance, increased bioavailability of EET by sEH inhibition provides kidney protection in streptozotocin-induced diabetes. Moreover, over-expression of the EET producing enzyme CYP2J2 markedly protected kidney in a chronic renal failure model of 5/6 nephrectomy. Thus, our data clearly indicate that along with marked reduction in oxidative stress, attenuation of cisplatin-induced renal inflammatory responses is another mechanism by which EET analog protected kidney from cisplatin-induced nephrotoxicity.

[00292] We have further investigated EET analog's effect on cisplatin-induced endoplasmic reticulum (ER) stress. There is evidence that ER is one of the sub-cellular targets of toxins and play important role in xenobiotic-induced nephrotoxicity. In the present study we examined the renal expression of caspase 12 and GRP78 (glucose-regulated protein 78) mRNAs to investigate the involvement of the ER stress in cisplatin-induced nephrotoxicity. GRP78 is considered one of the hallmarks of ER stress, while caspase 12 is an ER-specific caspase that is activated by ER stress and specifically participates in ER stress-induced apoptosis. We observe marked up-regulation in the renal expression of these ER stress markers that is attenuated by EET analog treatment. Our study supports earlier observations that cisplatin-induced nephrotoxicity is associated with ER stress. Most importantly, the present study also provided an interesting and novel finding regarding the biological actions of EET, and demonstrates an important aspect on the therapeutic potential of this lipid mediator in treating cisplatin-induced nephrotoxicity.

[00293] Cisplatin and other drug-related nephrotoxicity is associated with apoptosis¹⁰ that is caused by elevated oxidative stress, inflammation and ER stress. It is reported that during cisplatin-induced nephrotoxicity, the cellular stress caused by oxidative stress, inflammation and ER stress leads to a reduction of anti-apoptotic Bcl2 and activation of the pro-apoptotic Bcl2 family proteins like the Bcl-2 associated X protein (Bax) and Bcl-2 antagonist/killer protein (Bak) in the kidney. This enhanced pro-apoptotic signaling leads to the activation of caspase 3 followed by apoptosis of the renal cells.. Here, we demonstrate that EET analog treatment protect the kidney from cisplatin-induced cell death by increasing the expression of anti-apoptotic Bcl2 and reducing the pro-apoptotic Bak/Bcl2 and Bax/Bcl2 ratios along with a marked reduction in caspase 3 activity.

[00294] We also demonstrate an EET analog mediated attenuation in the renal expression of caspase 12 that plays an essential role in ER stress mediated apoptosis. Indeed, it is earlier reported that EET attenuates several major apoptotic events including elevated Bcl2 protein

mediated pro-apoptotic signaling and caspase 3 activity. These observations support our view on EET analog's ability to reduce renal cell death in cisplatin-induced nephrotoxicity through its effect on the Bcl2 proteins, ER stress specific caspase 12 and on the apoptosis executioner caspase, caspase 3.

[00295] We have clearly demonstrated that EET analog treatment provides protection from cisplatin-induced nephrotoxicity through multiple mechanisms, and strongly indicate a possible therapeutic promise. However, it is important that before the clinical use of new cytoprotective agents, not only protection from toxicity, but also the absence of an interference of the agent with the anti-cancer activity of the cytotoxic agents used is demonstrated. To this end, in an *in vitro* approach we have investigated whether *in vitro* exposure of normal kidney cells (HEK293) or several human cancer cell- lines (Hela, NCCIT, U87) to various concentrations of an EET analog (EET-A) influence cell growth or the cytotoxic effect of cisplatin. Considering the comparable kidney protective effects of the two EET analogs used in this study, we have chosen one EET analog for this particular experiment. We demonstrated that in the presence and absence of EET analog (EET-A) cisplatin is equally potent in exerting its chemotherapeutic effect. Moreover, we have also investigated if EET-A influence the growth of any of the cancer lines used in this study, and clearly demonstrated that EET-A had no effect on the growth of any of these cancer cell lines.

[00296] In conclusion, we have provided strong evidence that the kidney protective effect of the above-identified EET analogs in drug-induced nephrotoxicity, including cisplatin-induced nephrotoxicity. We have demonstrated that these EET analogs offered kidney protection by the inhibition of multiple signaling pathways that critically involve in the patho- physiology of cisplatin-induced nephrotoxicity. This study highlighted several important biological actions of novel EET analogs in terms of their anti-oxidative, anti-inflammatory, anti-ER stress and anti-apoptotic activities. The results of the current study strengthen our view on the therapeutic promise of these novel EET analogs in treating cisplatin-induced nephrotoxicity without compromising cisplatin's chemotherapeutic potential.

[00297] While this invention has been described in conjunction with the various exemplary embodiments outlined above, various alternatives, modifications, variations, improvements and/or substantial equivalents, whether known or that are or may be presently unforeseen, may become apparent to those having at least ordinary skill in the art. Accordingly, the exemplary embodiments according to this invention, as set forth above, are intended to be illustrative, not limiting. Various changes may be made without departing from the spirit and scope of the invention. Therefore, the invention is intended to embrace all known or later-developed alternatives, modifications, variations, improvements, and/or substantial equivalents of these exemplary embodiments. All technical publications, patents and published patent applications cited herein are hereby incorporated by reference in their entirety for all purposes.

References

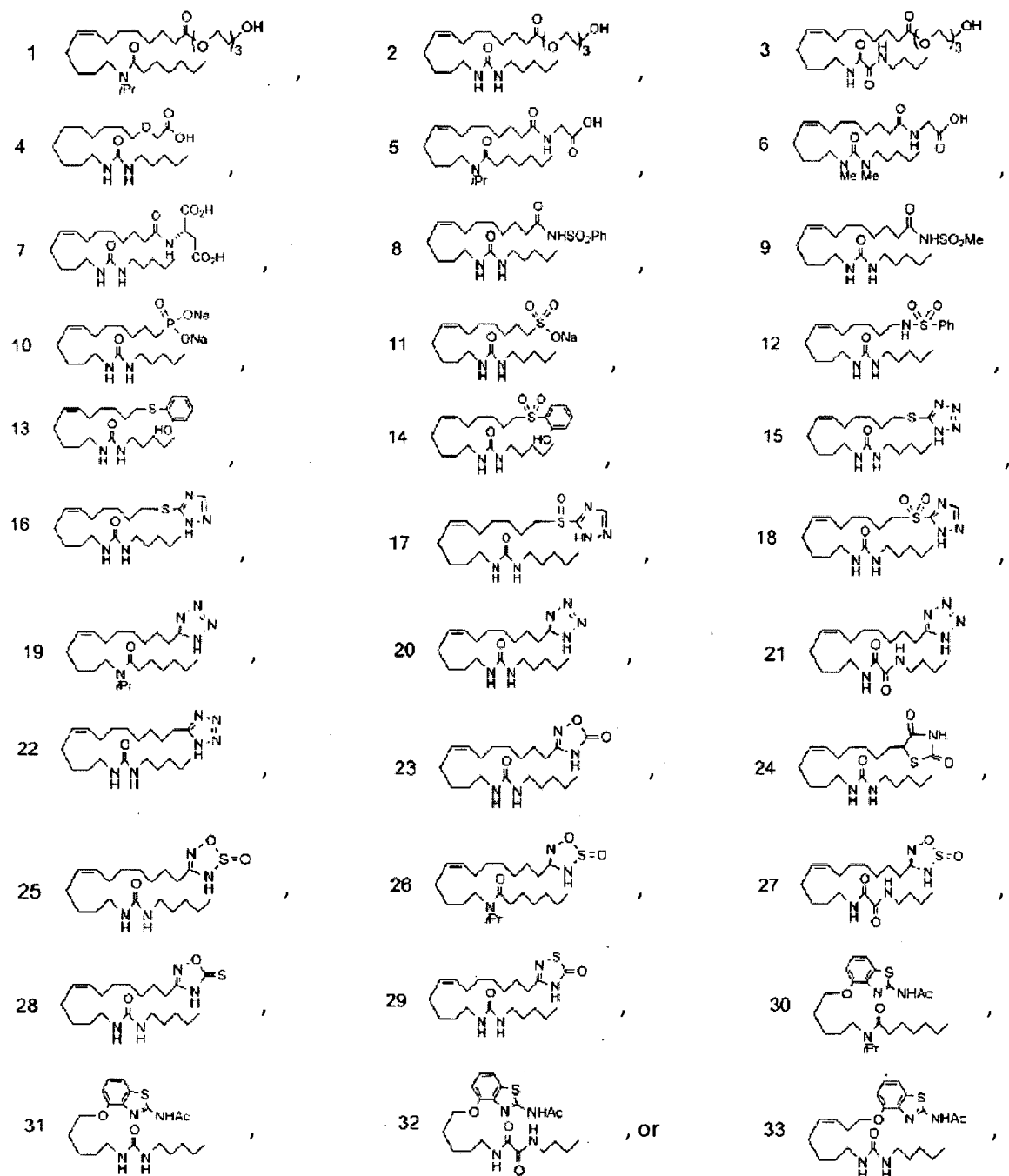
1. American Heart Association. High blood pressure statistica. Available at: <http://www.americanheart.org/presenter.jhtml?identifier=4621>. Accessed November 2010.
2. Jacobson et al. Prostaglandins, and Membrane Ion Transport. New York: Raven Press, 1985:311-318.
3. Sakairi et al. Am J Physiol 1995;268:F931-939.
4. Campbell et al. Circ Res 1996;78:415-423.
5. Archer S et al. Circulation 2003;107:769-776.
6. Fisslthaler et al. Nature 1999;401:493-497.
7. King et al. Pharmacogenet Genomics 2005;15:7-13.
8. Capdevila et al. Kidney Int 2007;72:683-689.
9. Imig JD. Am J Physiol Renal Physiol 2005;289:F496-503.
10. Imig et al. Hypertension 2005;46:975-981.
11. Imig et al. J Hypertens 2001;19:983-992.
12. Imig et al. Nat Rev Drug Discov 2009;8:794-805.
13. Sodhi et al. J Pharmacol Exp Ther 2009; 331:906-916.
14. Imig et al. U.S. Patent #7,550,617, Issued June 23, 2009
15. Imig et al. U.S. Patent #7,732,470, Issued June 8, 2010
16. Heizer et al. Stroke 1991;22:1389-1393.
17. Krotz et al. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2004;24:595-600.
18. Node et al. Science 1999;285:1276-1279.
19. Davis et al. Proc Natl Acad Sci USA 2002;99:2222-2227.
20. Fleming I. Prostaglandins Other Lipid Mediat 2007;82:60-67.
21. Yang et al. Arch. Biochem Biophys 2009;489:82-91.
22. Potente et al. J Biol Chem 2003;278:29619-29625.
23. Sun et al. Circ Res 2002;90:1020-1027.
24. Simpkins et al. Am J Pathol 2009;174:2086-2095.
25. Zhang et al. Stroke 2008;39:2073-2078.
26. Terashvili et al. J Pharmacol Exp Ther 2008;326:614-622.
27. Inceoglu et al. Life Sci 2006;79:2311-2319.
28. Bongers et al. Pharmacoeconomics. 2012; 30(1):17-34.
29. Costantini et al. Scientific World Journal. 2011; 11:1981-94.
30. Levy et al. Curr Med Res Opin. 2011; 27(12):2253-9.
31. Wang et al. Nat Rev Drug Discov ;4(4):307-20.
32. Lameire et al. Acta Clin Belg. 2011; 66(5):337-45.
33. Miller et al. Toxins (Basel). 2010; 2(11):2490-518.
34. Yao et al. Am J Med Sci. 2007 Aug;334(2):115-24.
35. Lieberthal et al. Am J Physiol. 1996 Apr;270(4 Pt 2):F700-8.
36. Ma et al. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2010; 37(4):460-5.
37. Pabla N and Dong Z (2008) Kidney Int 73:994-1007.
38. Imig JD. Physiol Rev. 2012 Jan;92(1):101-30.
39. Imig JD. J Cardiovasc Pharmacol. 2010; 56(4):329-35.
40. Imig JD. Am J Physiol Renal Physiol. 2005; 289(3):F496-503.
41. Pfister et al. Adv Pharmacol. 2010;60:27-59.
42. Gauthier et al. J Cardiovasc Pharmacol. 2007 Dec;50(6):601-8.
43. Olearczyk et al. Clin Sci (Lond). 2009; 116(1):61-70.
44. Elmarakby et al. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2011; 301(5):R1307-17.
45. Imig JD, Hammock BD. Nat Rev Drug Discov. 2009 Oct;8(10):794-805.
46. Yang et al. Mol Pharmacol 60: 310-320, 2001.
47. Yang et al. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2007; 293(1):H142-51.
48. Morisseau C, Hammock BD (2005). Annu Rev Pharmacol Toxicol 45: 311-333.
49. Falck J Med Chem 2009, 52: 5069-5075.
50. Batchu et al. Br J Pharmacol. 2011; 162(4):897-907.
51. Simpkins et al. Am J Pathol. 2009; 174(6):2086-95.

52. Zhao et al. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2006; 290(6):H2187-95.
53. Jia Z et al. Kidney Int. 2011; 79(1):77-88.
54. Liu et al.. Eye (Lond). 2010; 24(1):137-44.
55. Xu et al. Nephrol Dial Transplant. 2010; 25(12):3859-67.
56. Akcali et al. World J Gastroenterol. 2004; 10(2):279-83.
57. Chabrashvili et al. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2003; 285(1):R117-24.
58. Inagi R. Nephron Exp Nephrol. 2009; 112(1):e1-9.
59. Mukhopadhyay et al. Free Radic Biol Med. 2012; 52(2):497-506.
60. Aleisa et al. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2007; 34(12):1252-9.
61. Sahu et al. Food Chem Toxicol. 2011 Dec;49(12):3090-7.
62. Parrish et al. Cell Biol Toxicol. 2009; 25(3):217-25.
63. Spector et al. Prog Lipid Res. 2004; 43(1):55-90.
64. Suddek GM.. 2011 Oct 11. doi: 10.1111/j.1472-8206.2011.00996.x.
65. El-Beshbishy et al. Eur J Pharmacol. 2011; 668(1-2):278-84.
66. Liu et al. J Pharmacol Exp Ther. 2011; 339(2):451-63.
67. Ramesh G and Reeves WB (2002) J Clin Invest 110:835–842.
68. Yamate et al. Vet Pathol 39:322–333.
69. Faubel et al. J Pharmacol Exp Ther 322:8–15.
70. Zhang et al. (2007) Kidney Int 72:37–44.
71. Zhao et al. Hum Gene Ther. 2012 Jan 19.
72. Cribb et al. Drug Metab Rev. 2005; 37(3):405-42.
73. Mandic et al. J Biol Chem. 2003; 278(11):9100-6.
74. Peyrou et al. Toxicol Sci. 2007 Sep;99(1):346-53. Epub 2007 Jun 12. PubMed PMID: 17567590.
75. Breckenridge et al. Oncogene. 2003; 22(53):8608-18.
76. Park et al. (2002) et al. J Am Soc Nephrol 13:858–865.
77. Wei et al. (2007) Kidney Int 72:53–62.
78. Lorz et al. J Am Soc Nephrol. 2004; 15(2):380-9.

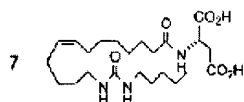
CLAIMS

What is claimed is:

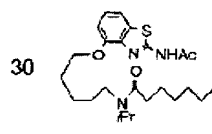
1. A compound selected from the group consisting of



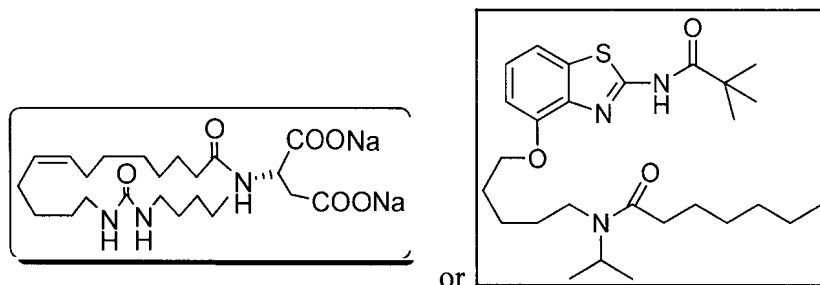
2. The compound of claim 1, wherein the structure is



3. The compound of claim 1, wherein the structure is



4. A compound selected from the group consisting of



5. A composition comprising a compound of claims 1 or 4 and a pharmaceutically acceptable carrier.

5. A method of reducing hypertension in a subject, comprising administering to a subject a therapeutically effective amount of a compound according to claims 1 or 4, wherein hypertension in said subject is reduced.

6. Use of a compound according to claims 1 or 4 for the manufacture of a medicament for treating hypertension in a subject.

7. A compound according to claims 1 or 4 for use in the treatment of hypertension in a subject.

8. A method of reducing nephrotoxicity in a subject, comprising administering to a subject a therapeutically effective amount of a compound according to claims 1 or 4, wherein nephrotoxicity in said subject is reduced.

9. The method of claim 8, wherein the nephrotoxicity is drug-induced.

10. The method of claim 9, wherein the nephrotoxicity is cisplatin-induced.

11. Use of a compound according to claims 1 or 4 for the manufacture of a medicament for treating drug-induced nephrotoxicity in a subject.

12. A compound according to claims 1 or 4 for use in the treatment of drug-induced nephrotoxicity in a subject.

321
320

13. A method of reducing cisplatin nephrotoxicity in a subject, comprising administering to a subject a therapeutically effective amount of a compound according to claims 1 or 4, wherein cisplatin nephrotoxicity in said subject is reduced.

14. Use of a compound according to claims 1 or 4 for the manufacture of a medicament for treating cisplatin nephrotoxicity in a subject.

15. A compound according to claims 1 or 4 for use in the treatment of cisplatin nephrotoxicity in a subject.

ABSTRACT

[00298] Compounds and compositions comprising epoxyeicosatrienoic acid (EET) analogs that act as EET agonists and are useful as medications in the treatment of drug-induced nephrotoxicity, hypertension and other related conditions. Methods of making and using the compounds and compositions are further described.

SRD-I-71-9

A



FIGURE 1

324
323

2/29

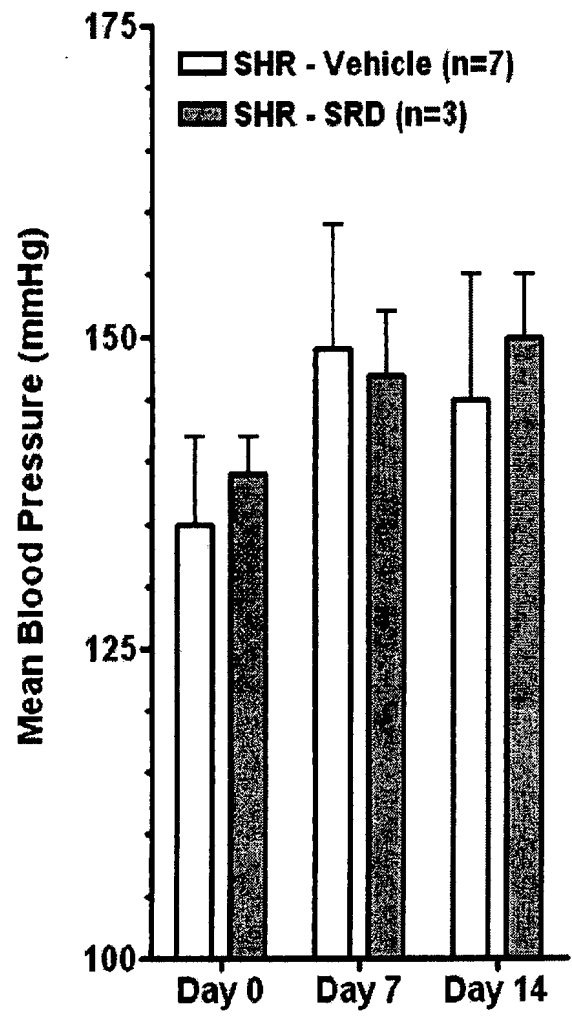


FIGURE 1C

225
324

3/29

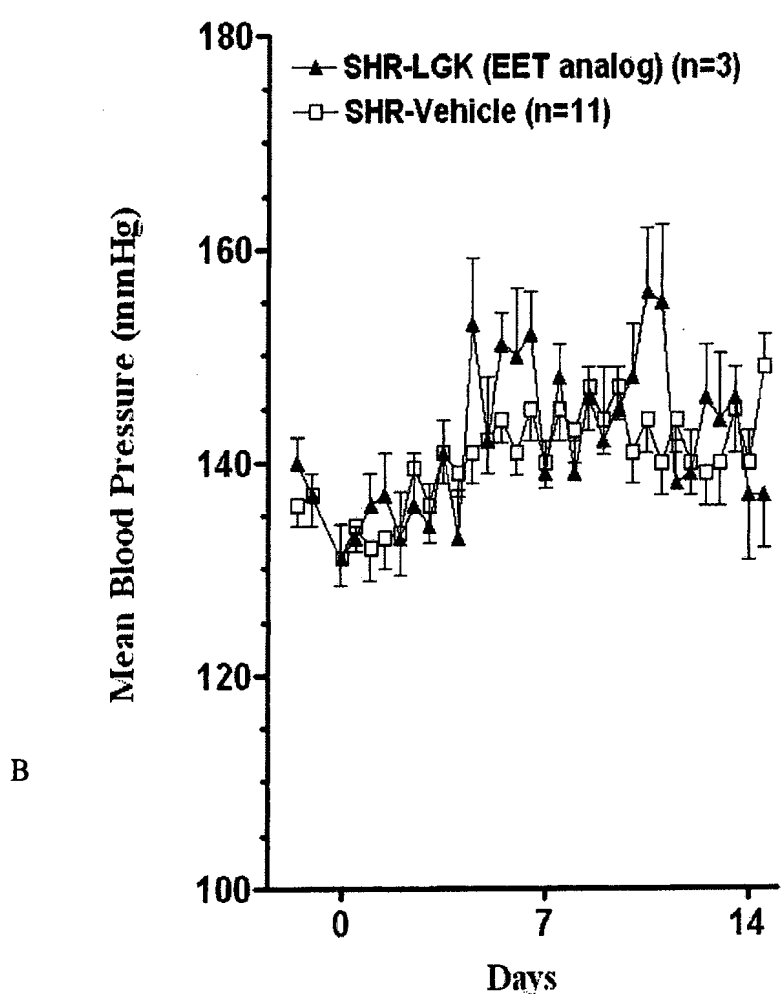
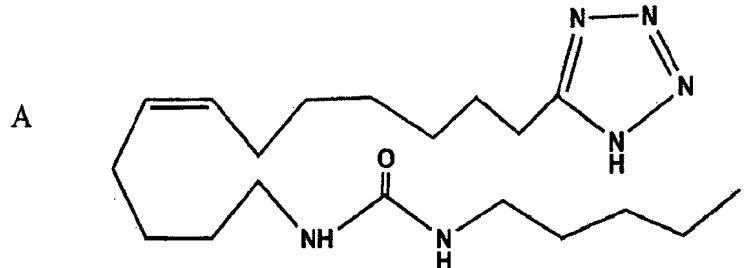


FIGURE 2

376
325

4/29

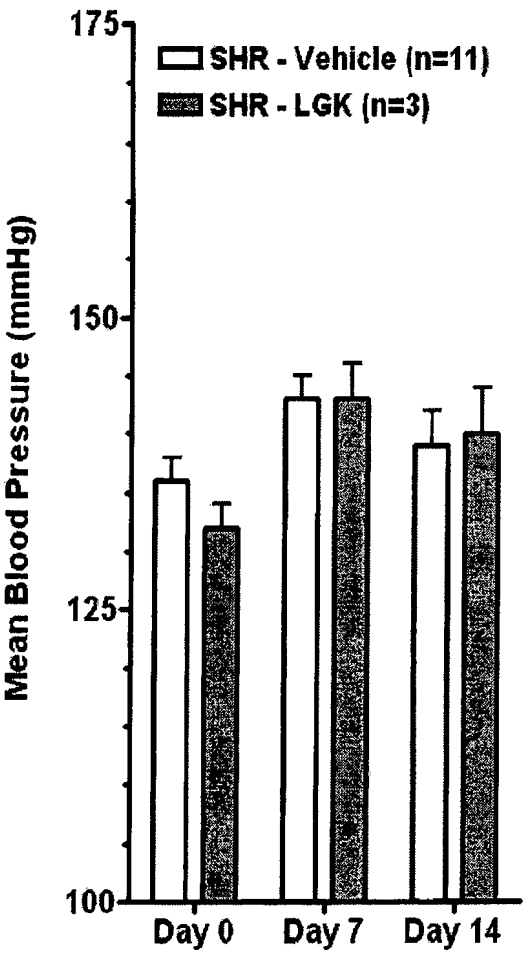
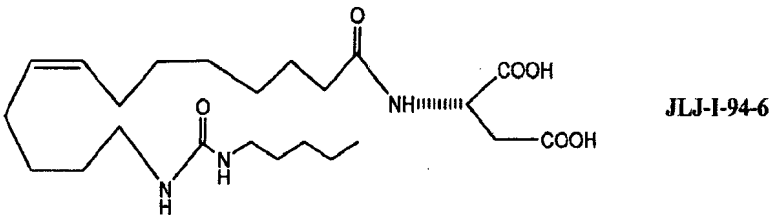


FIGURE 2C

367
328

5/29

A



B

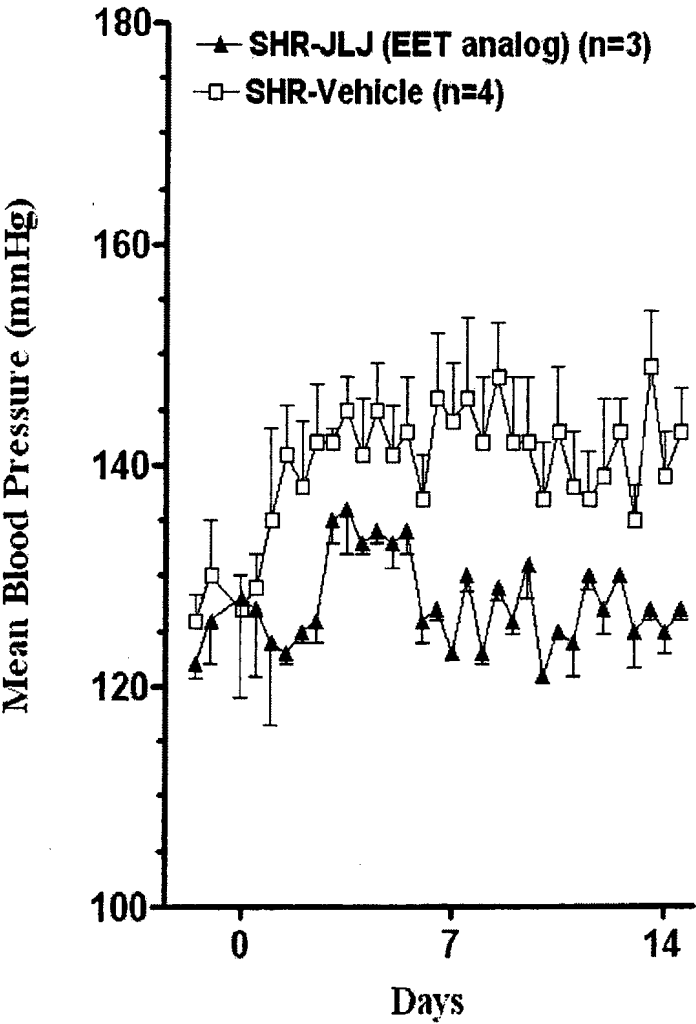


FIGURE 3

328
327

6/29

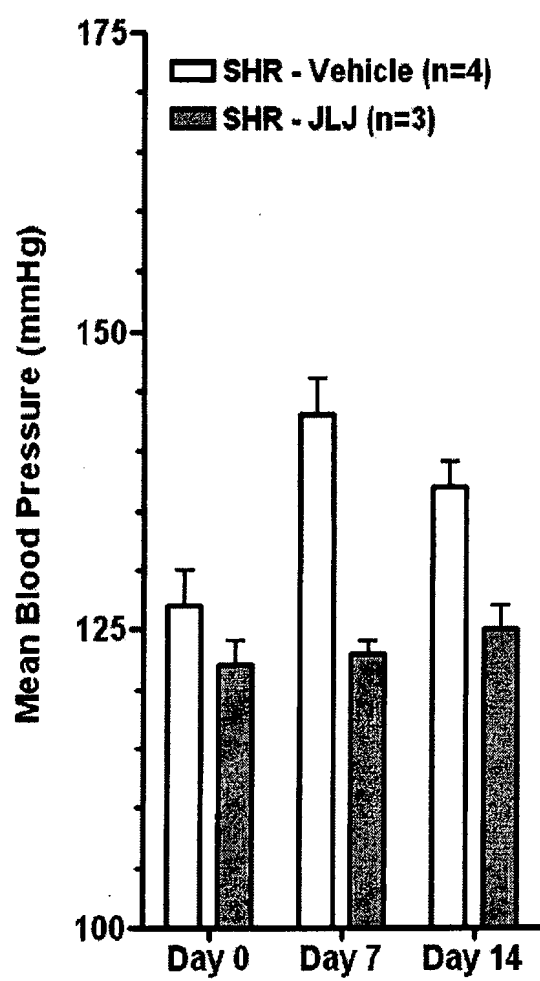
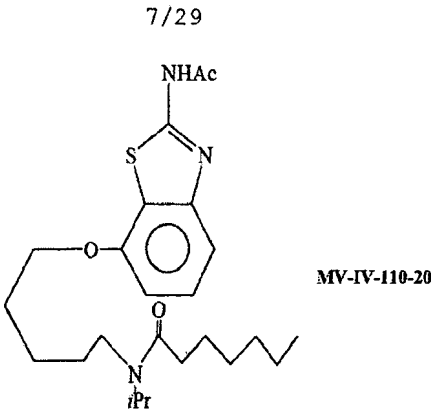


FIGURE 3C

328
328

A



B

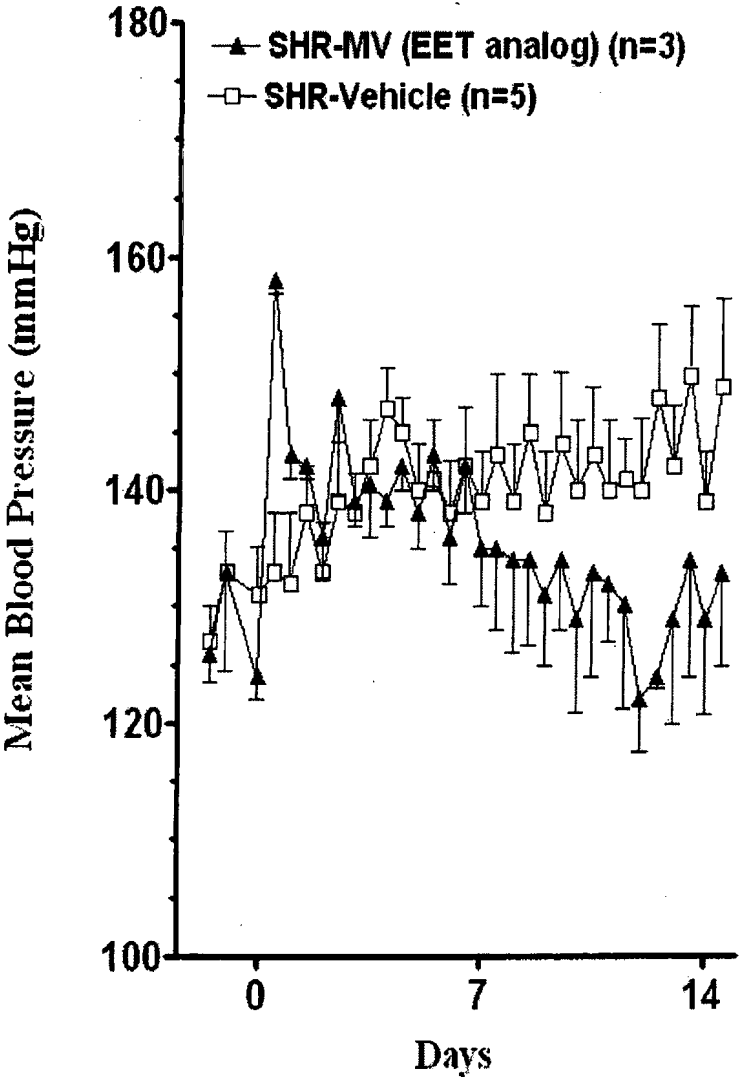


FIGURE 4

8/29

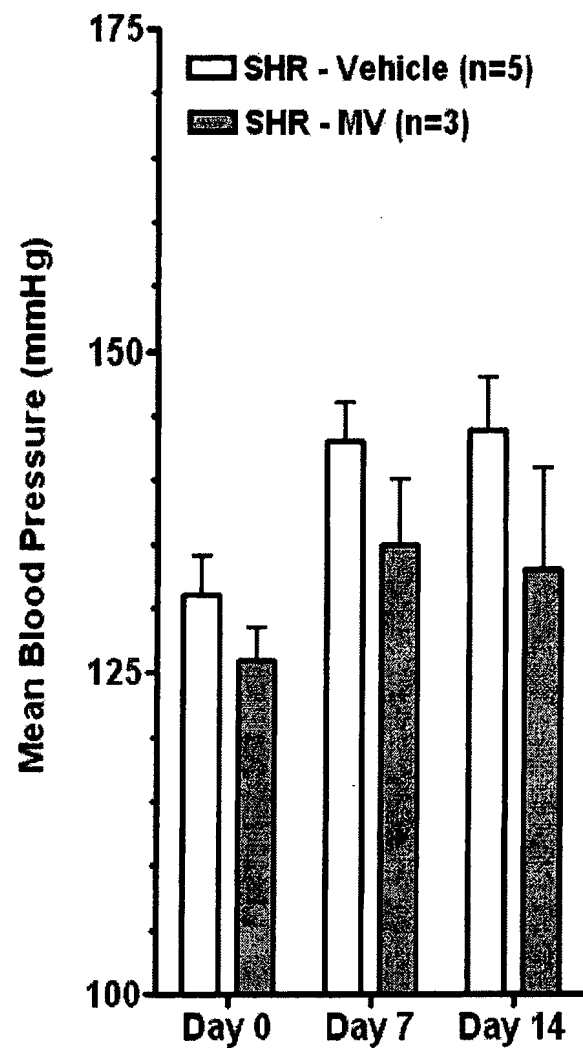


FIGURE 4C

331
330

9/29

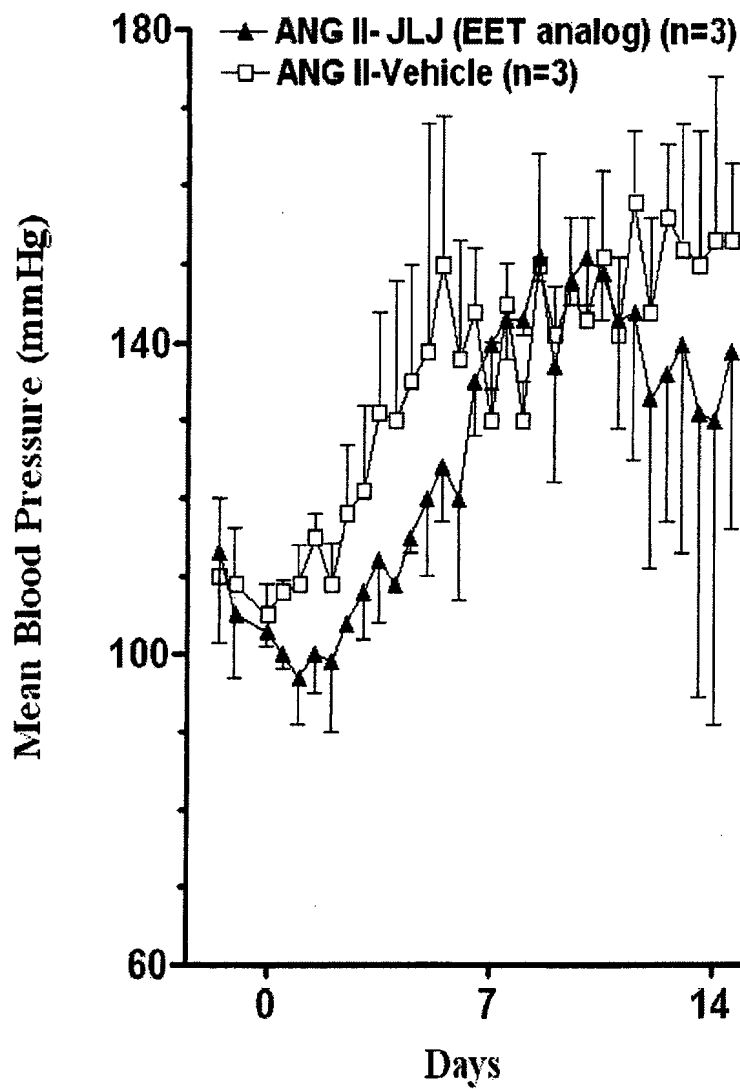


FIGURE 5

10/29

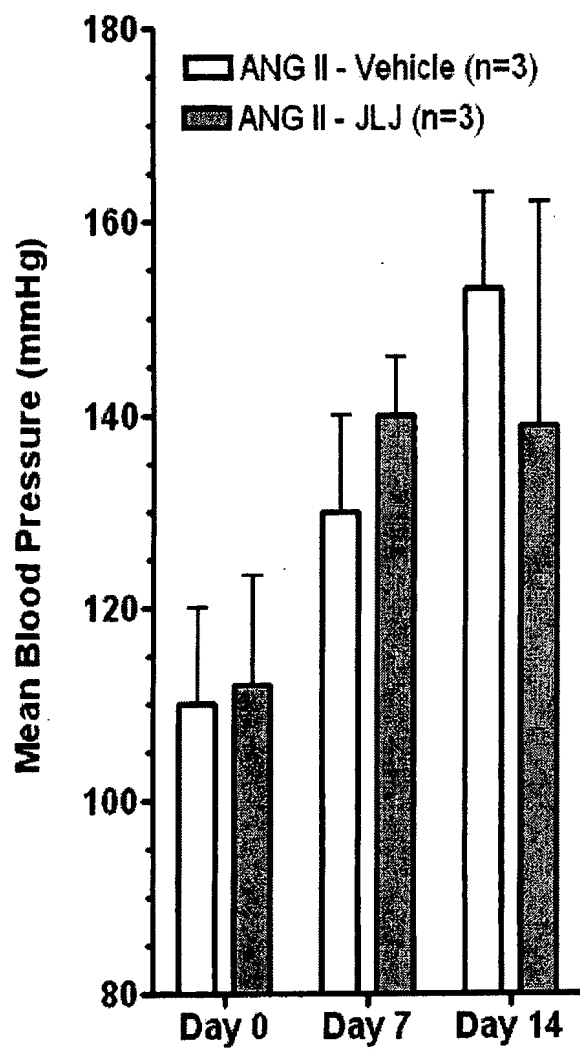


FIGURE 5B

335
332

11/29

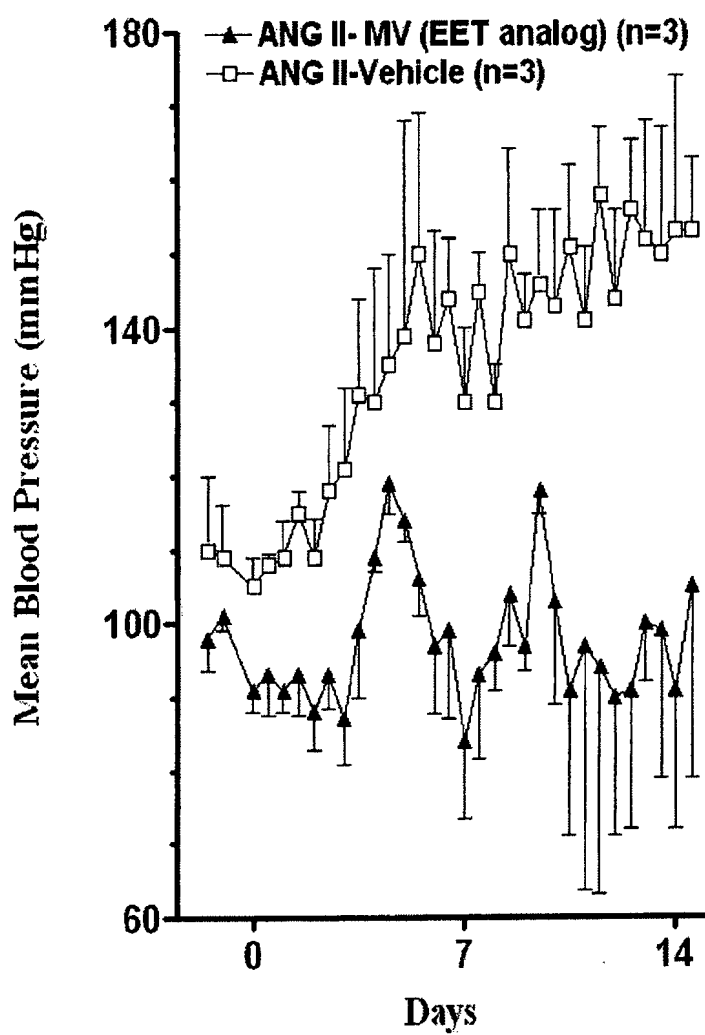


FIGURE 6

334
333

12/29

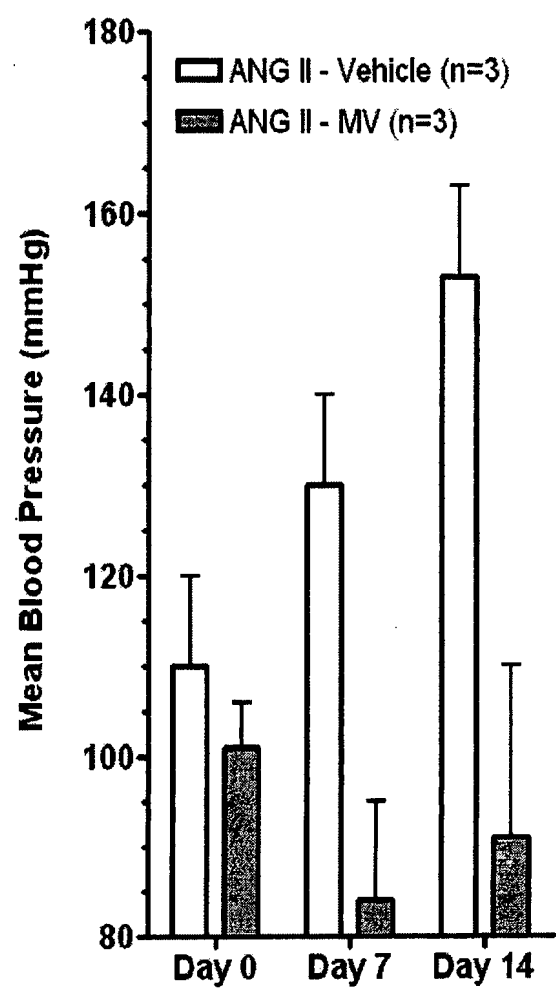


FIGURE 6B

13/29

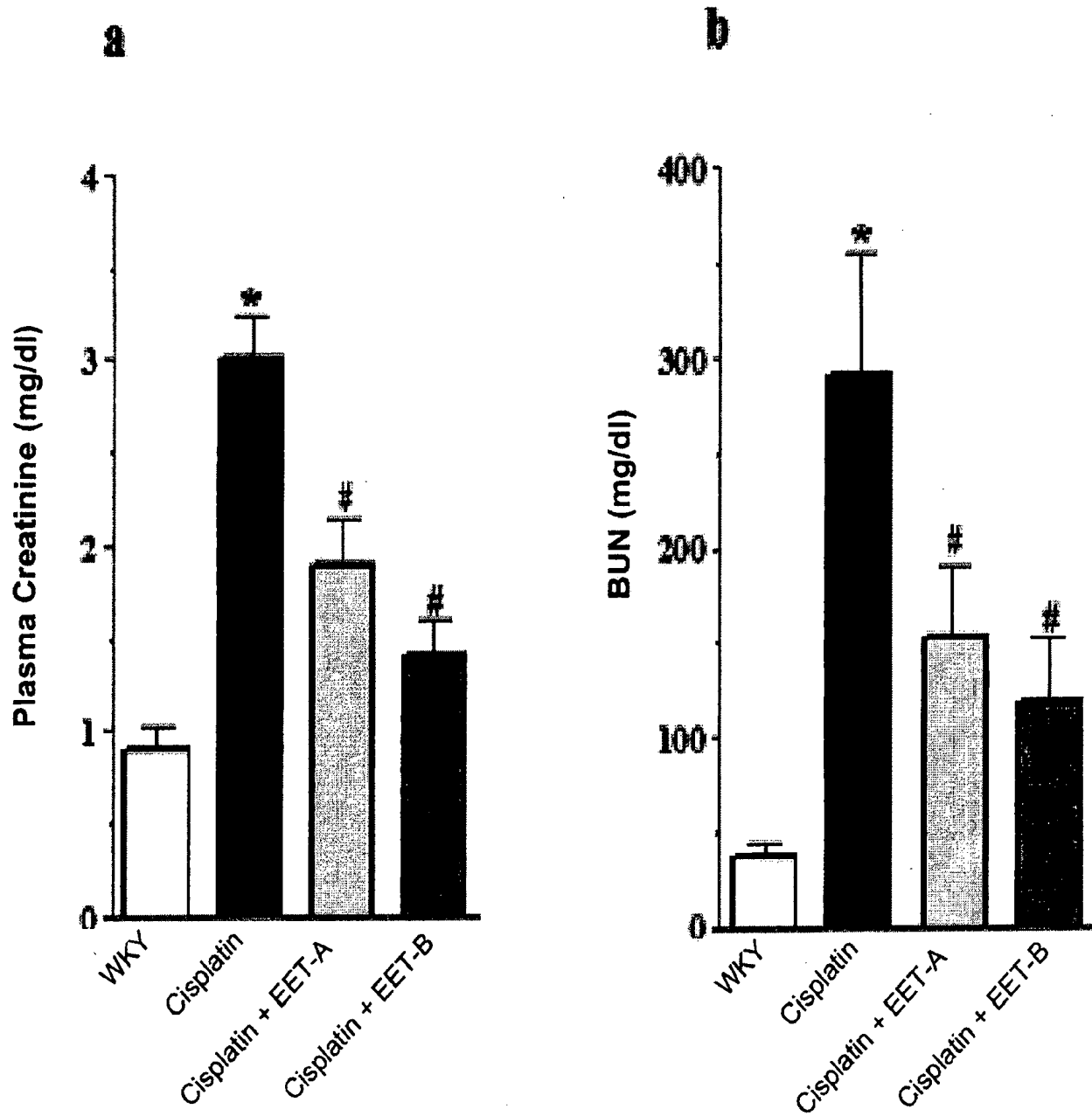


Figure 7

14/29

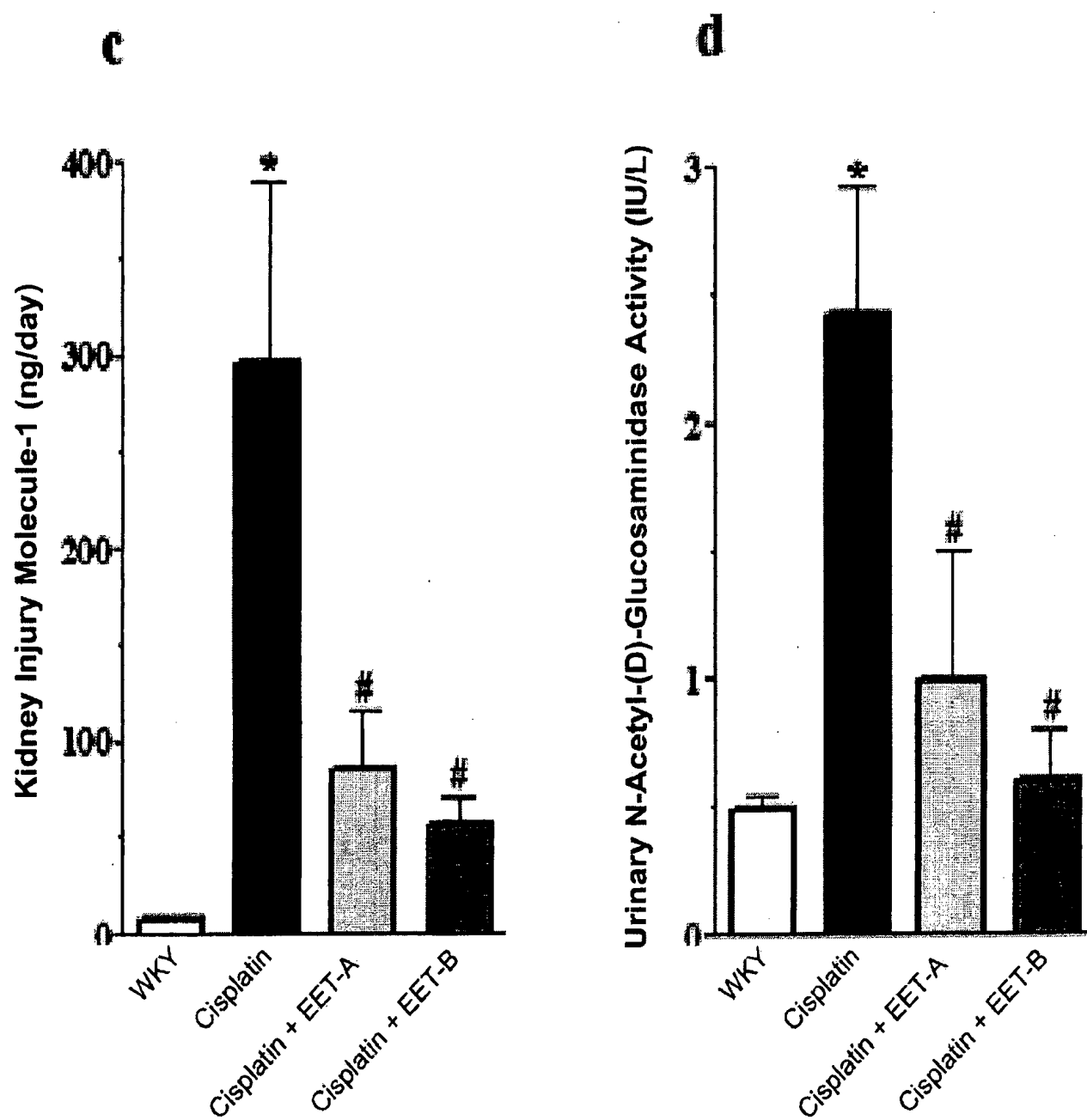


Figure 7, continued

337
336

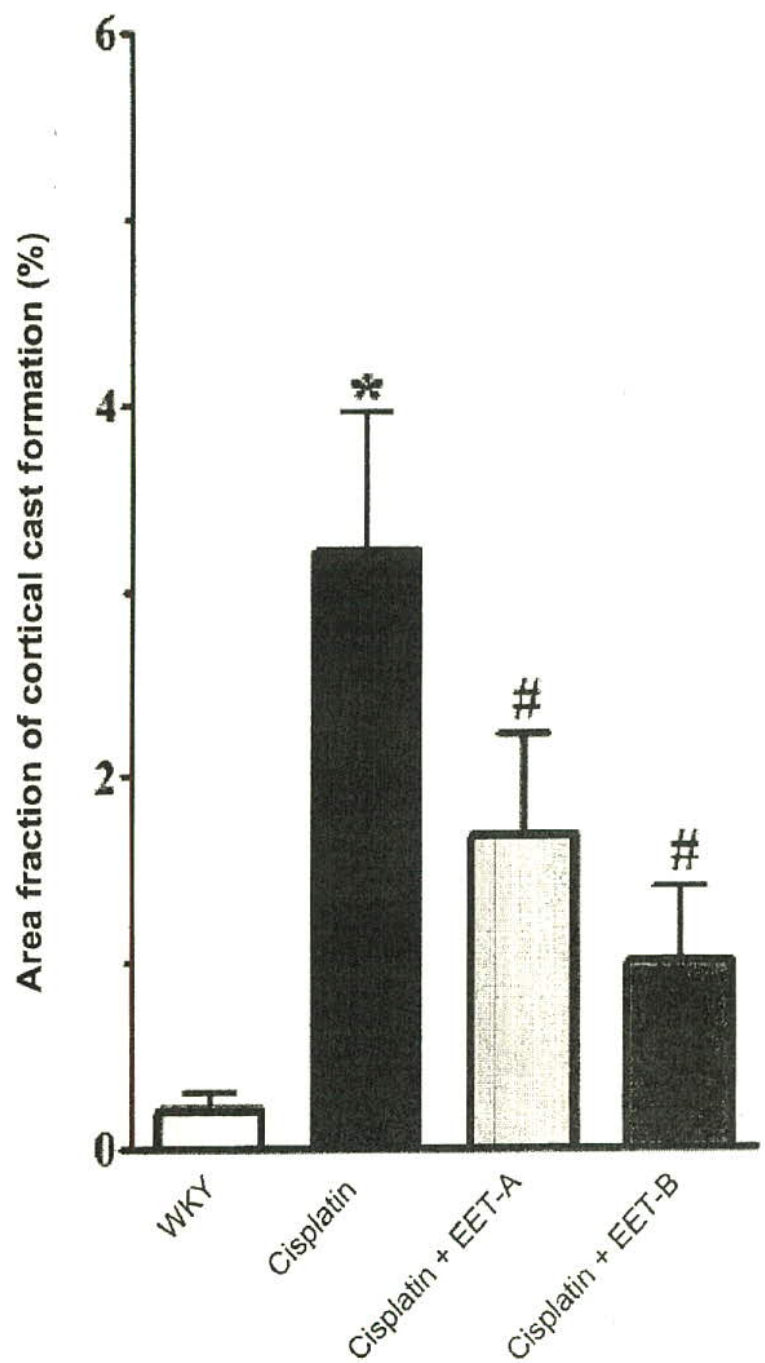
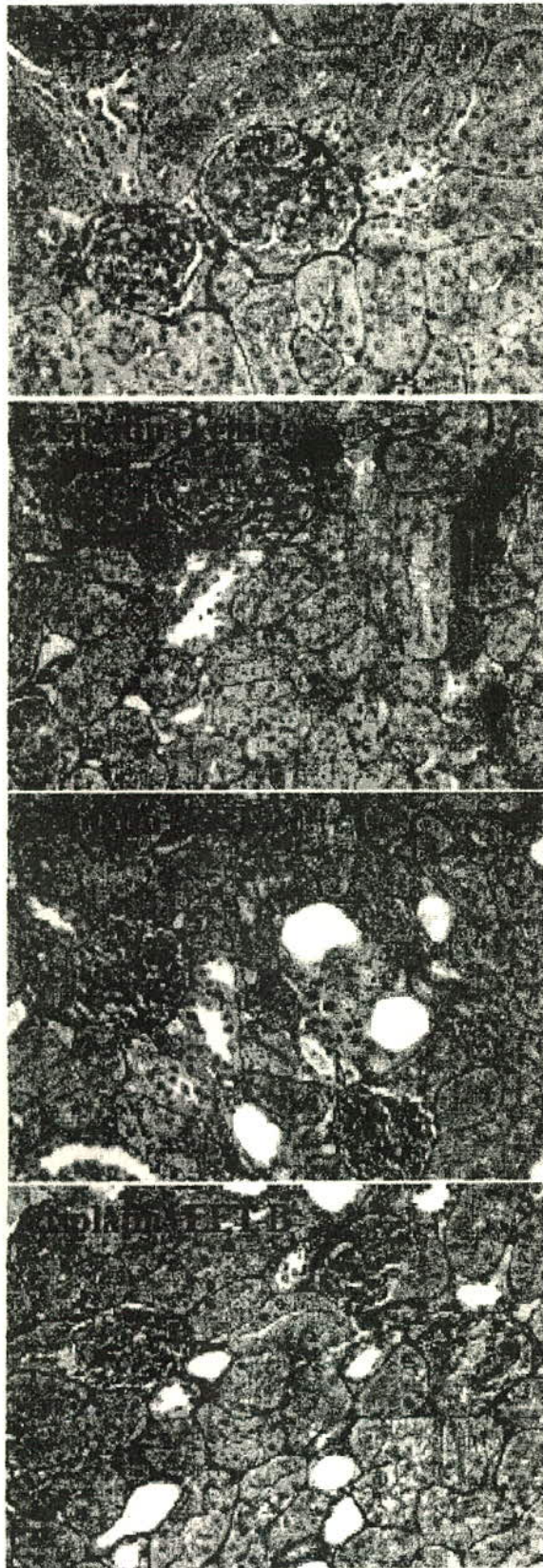


Figure 8

338
334

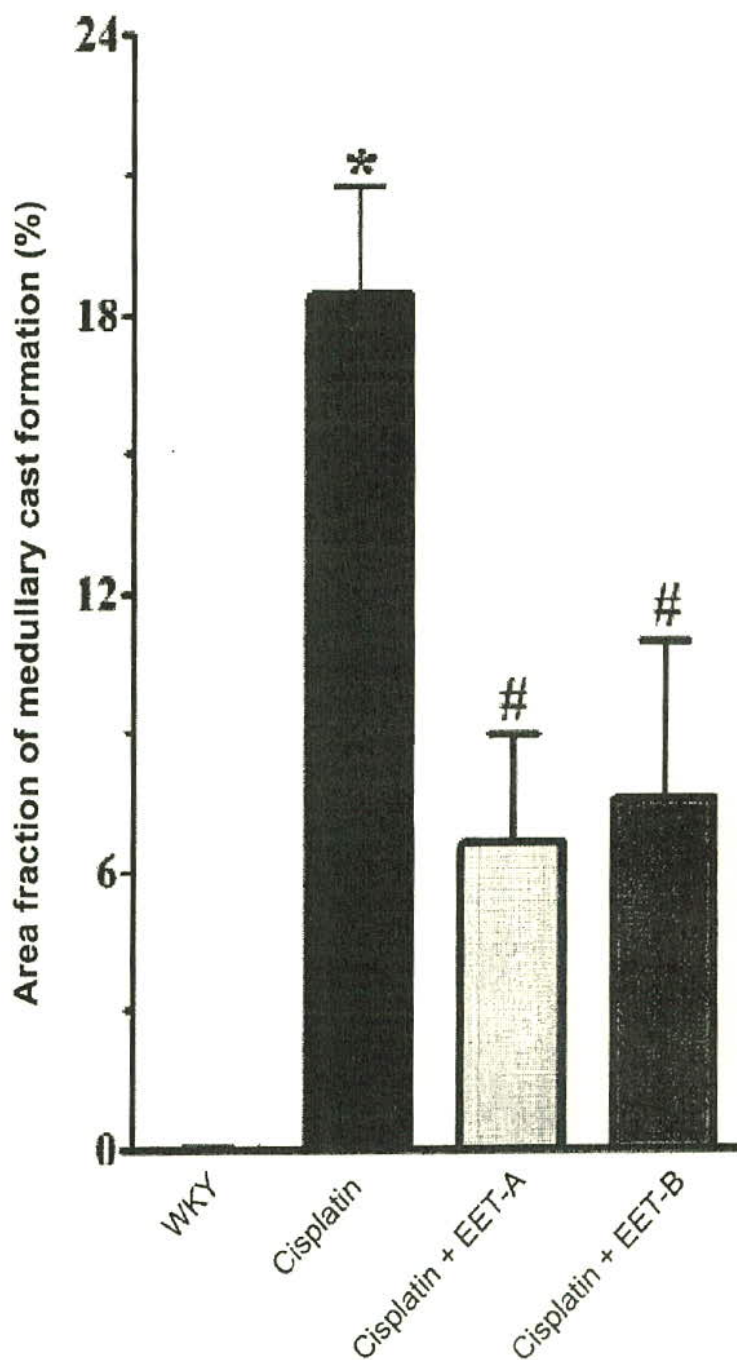
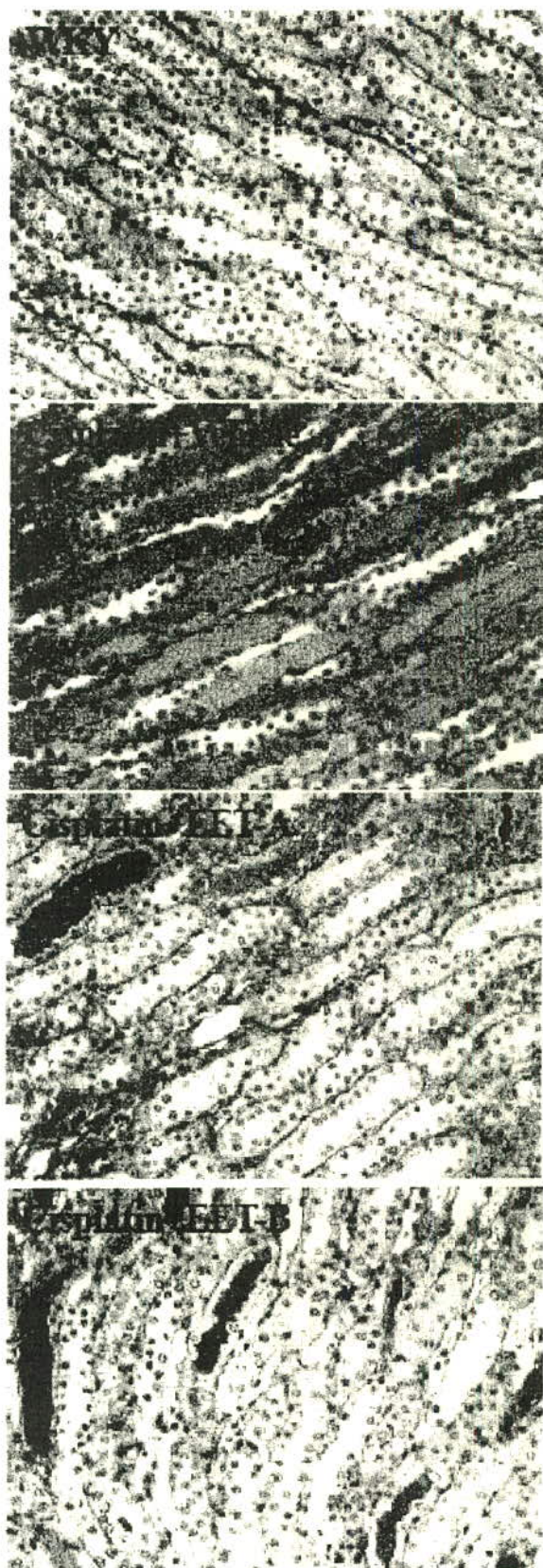


Figure 8, continued

17/29

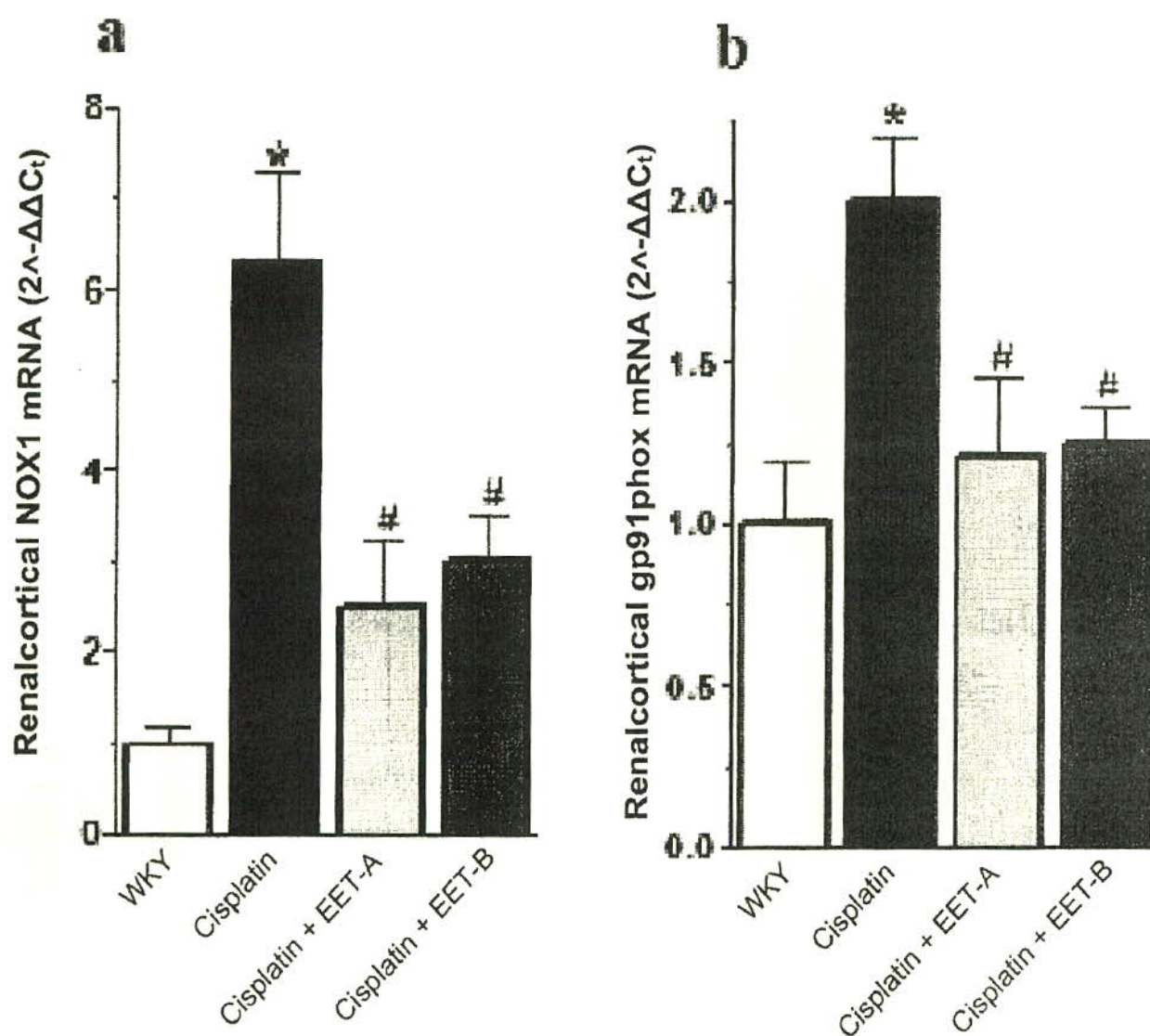


Figure 9

18/29

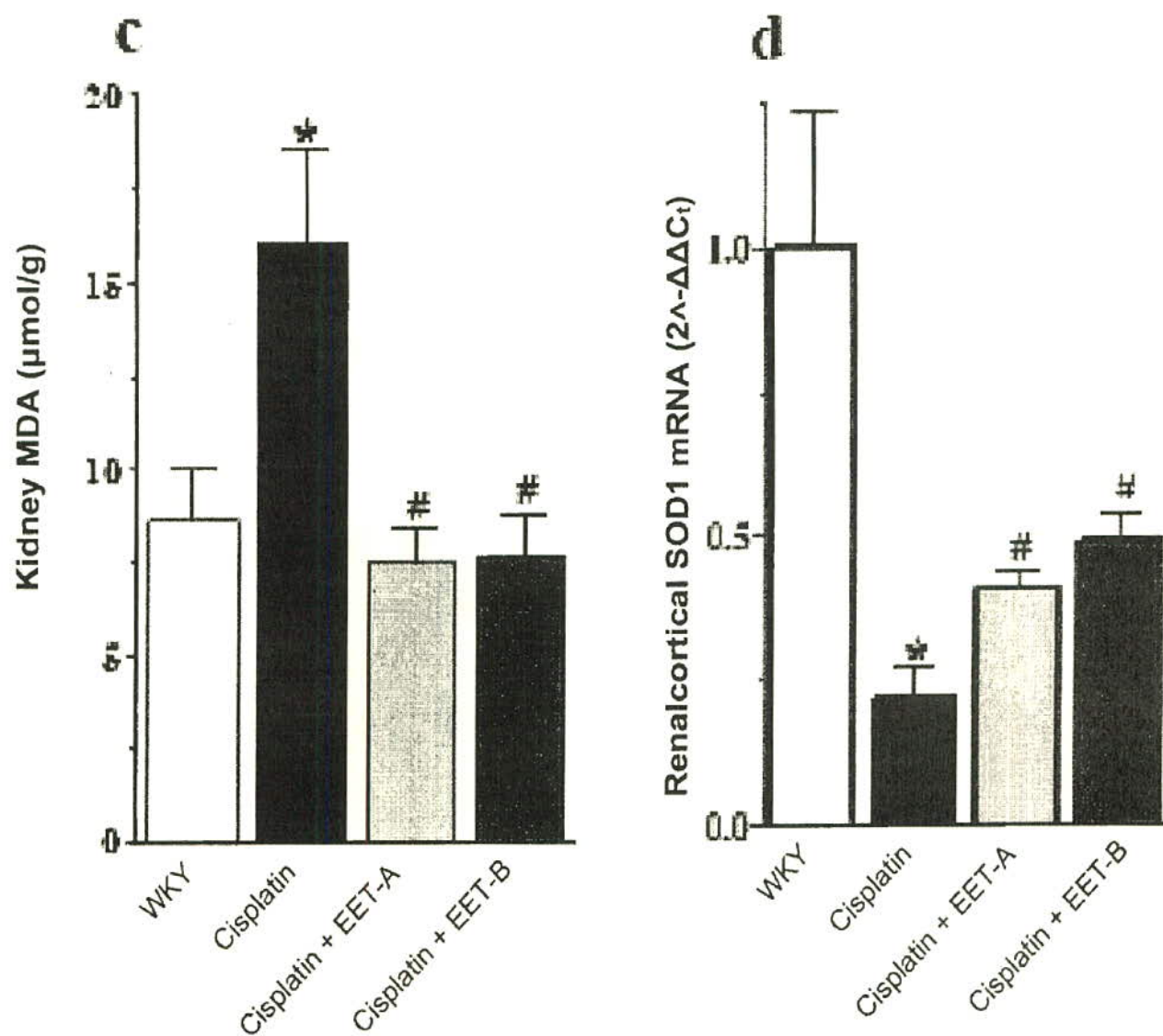


Figure 9, continued

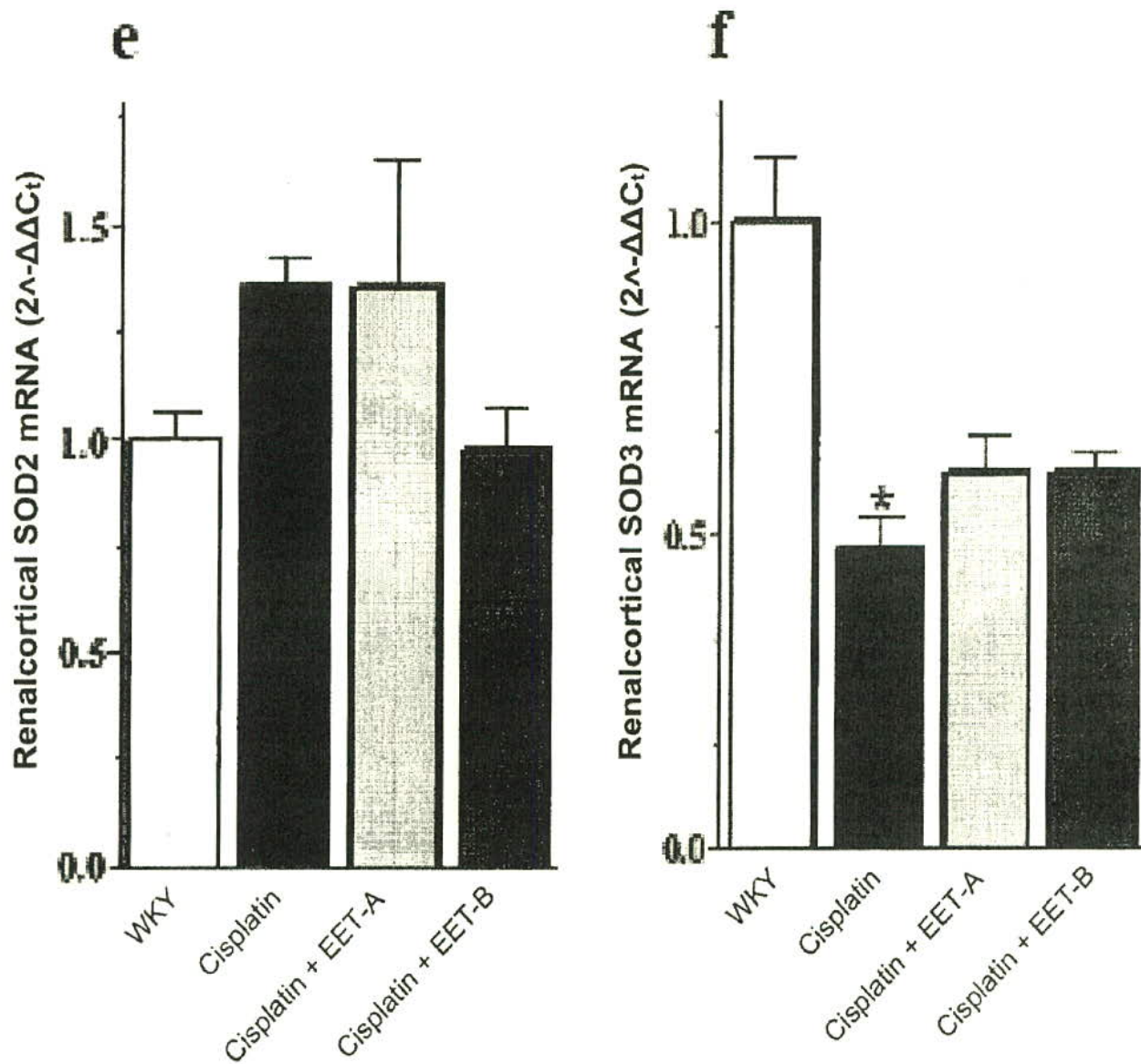


Figure 9, continued

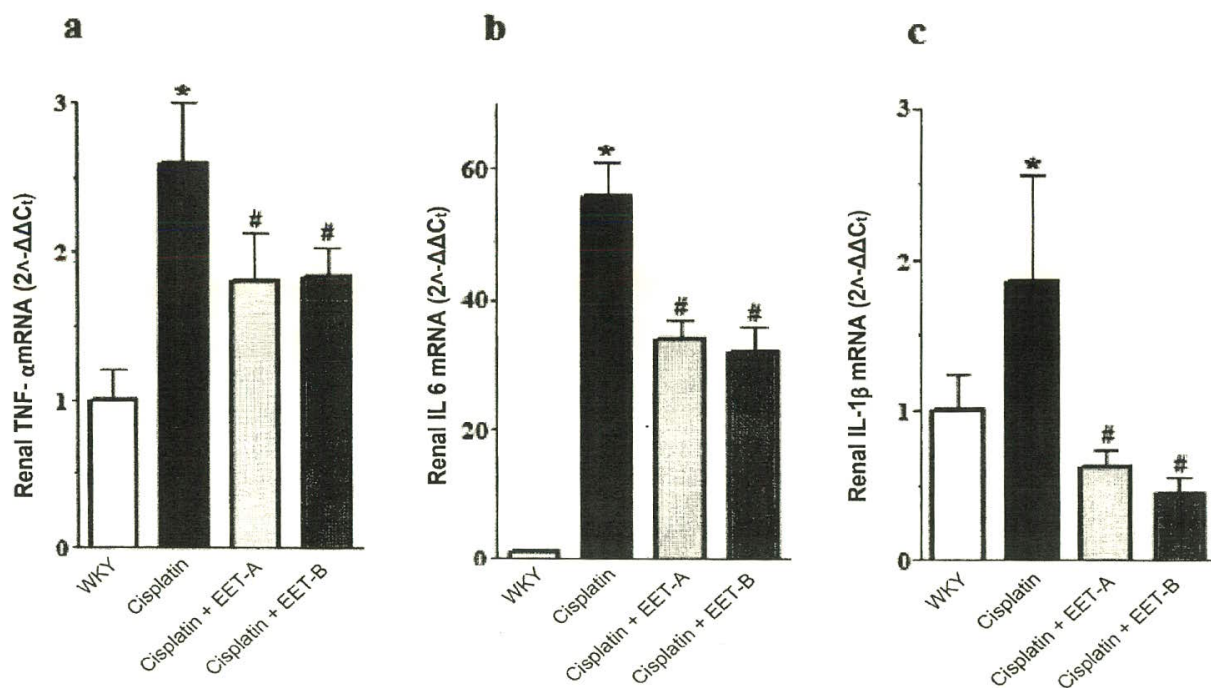


Figure 10

341
245

21/29

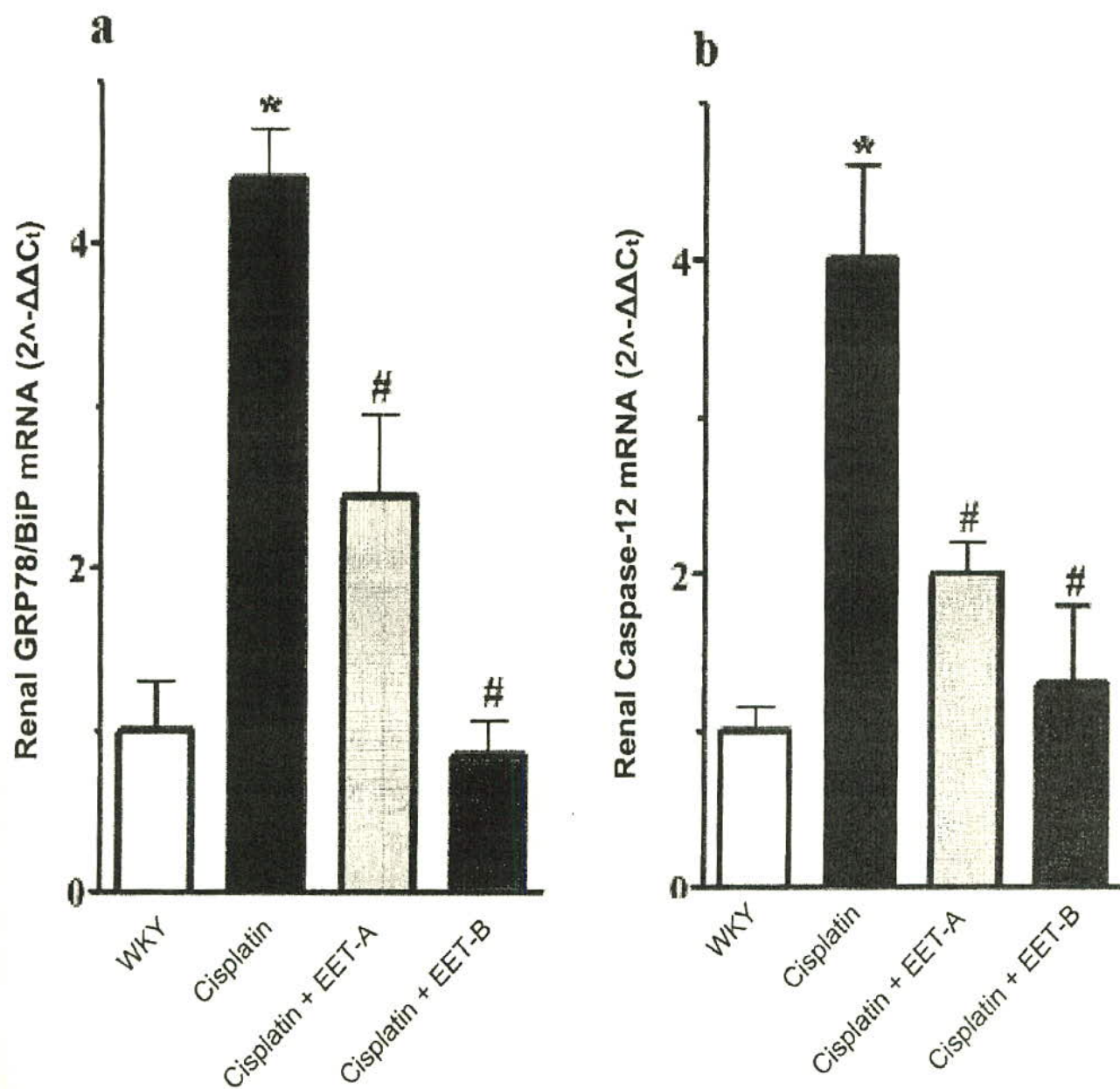


Figure 11

349
34B

22/29

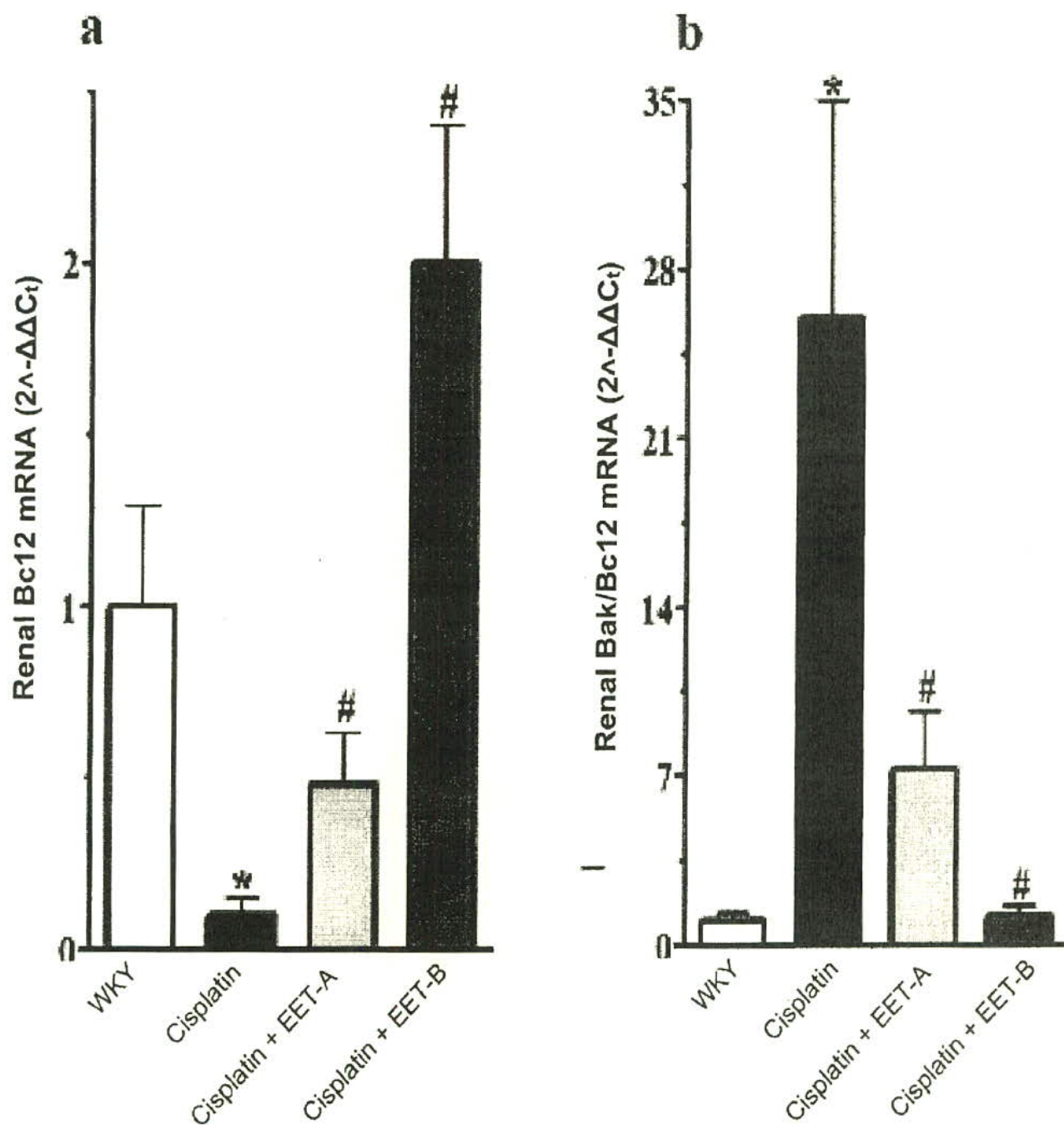


Figure 12

23/29

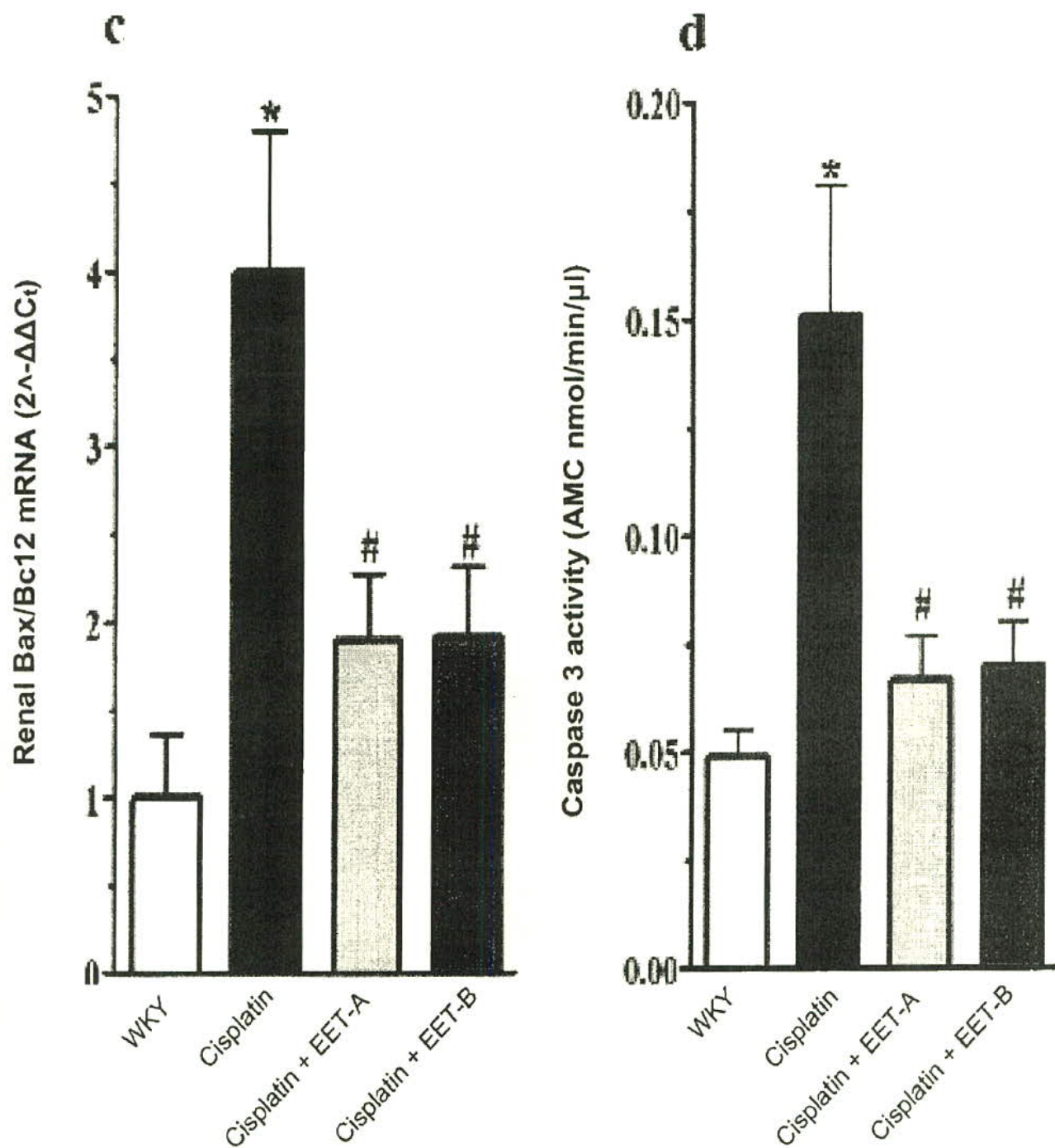


Figure 12, continued

346
345

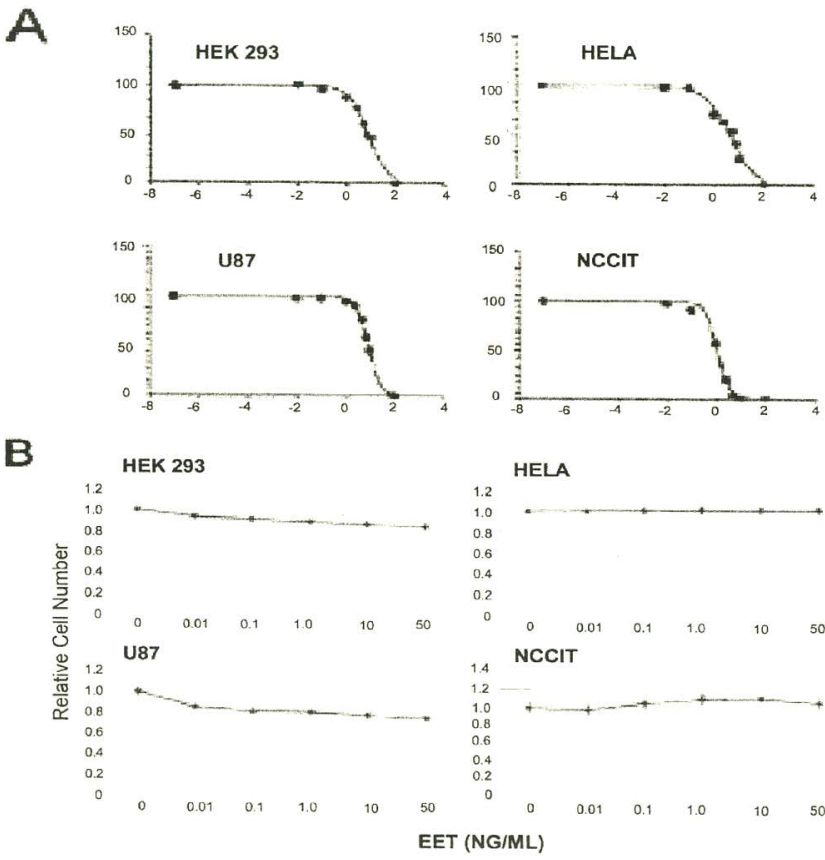


Figure 13

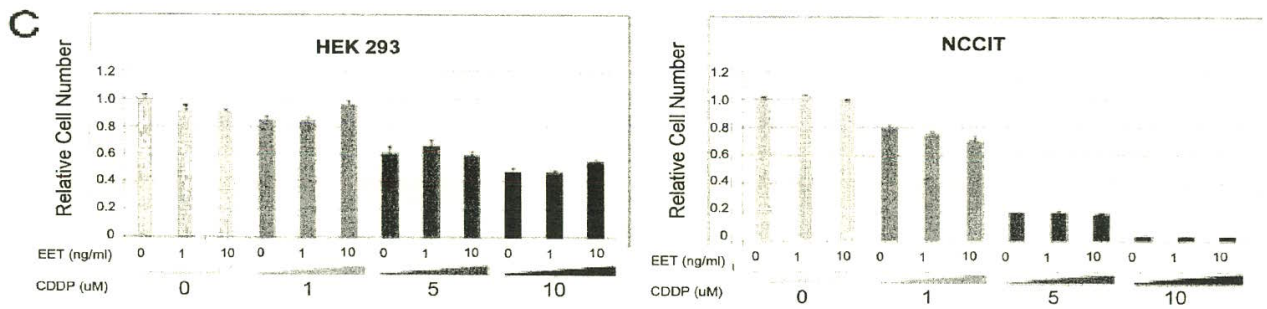


Figure 13, continued

347
346

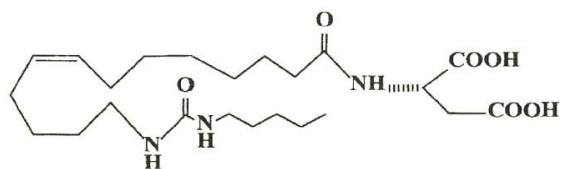
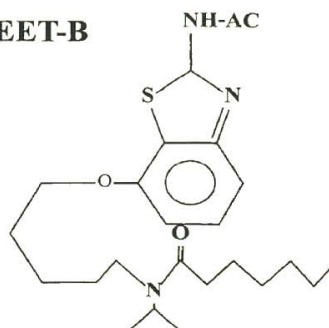
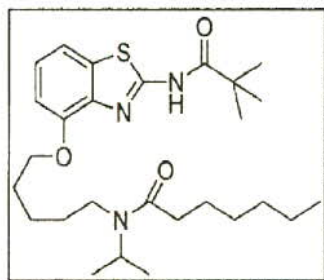
EET-A**(S)-2-(13-(3-butylureido)tridec-8(Z)-namido)succinic acid****EET-B****N-(5-((2-acetamidobenzo[d]thiazol-4-yl)oxy)pentyl)-N-isopropylheptanamide**

Figure 14

N-isopropyl-*N*-(5-((2-pivalamidobenzo[d]thiazol-4-yl)oxy)pentyl)heptanamide



(EET-B)

Scheme

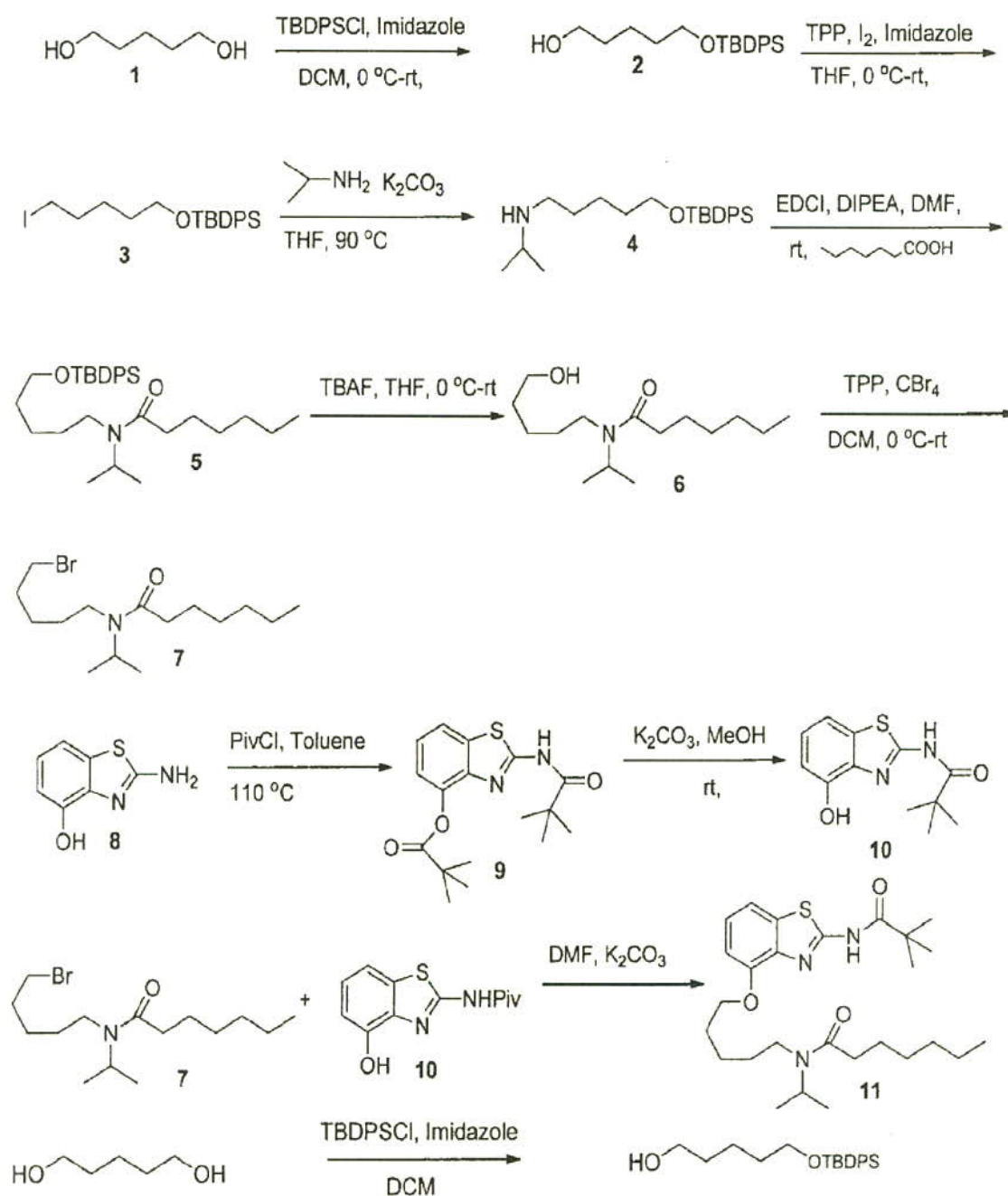


FIGURE 15

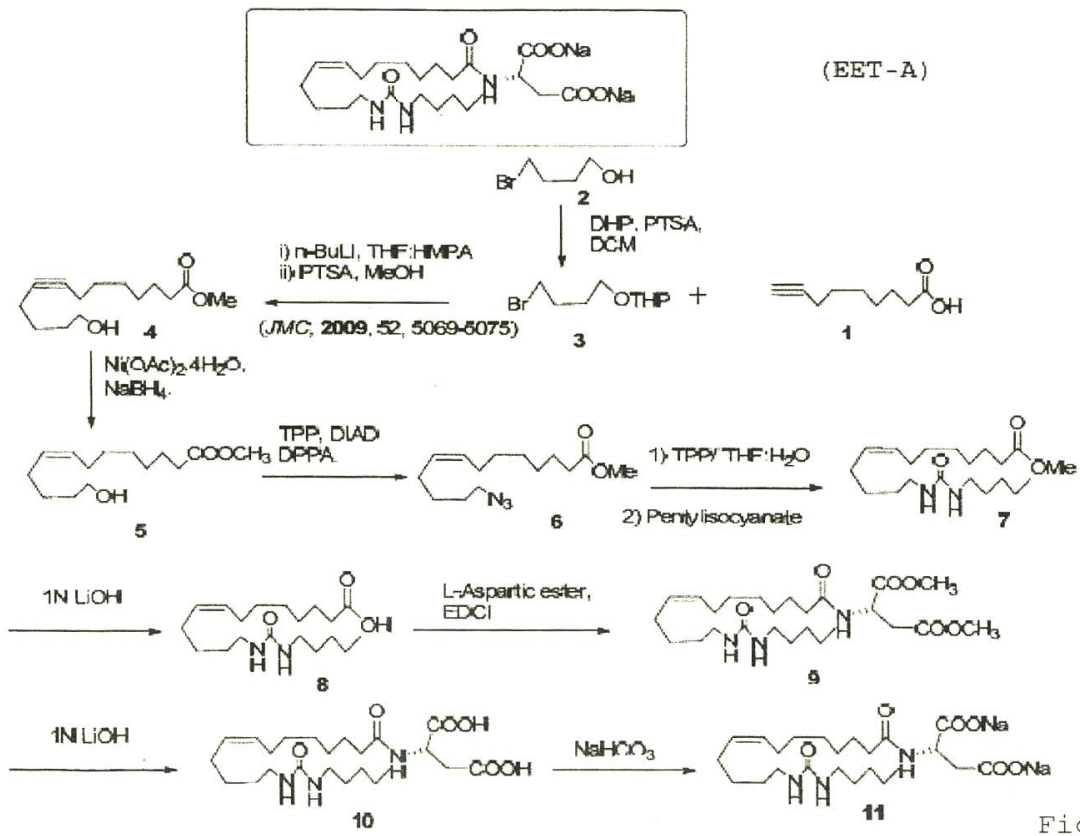


Figure 16B



(10) International Publication Number
WO 2012/138706 A1

(43) International Publication Date
11 October 2012 (11.10.2012)

(51) International Patent Classification:

C07C 233/46 (2006.01) A61P 9/12 (2006.01)
C07C 233/56 (2006.01) A61K 31/17 (2006.01)
C07C 275/20 (2006.01) A61K 31/16 (2006.01)

[US/US]; 2728 E. Amherst St., University Park, TX 75225 (US).

(74) Agent: RABE, Ann. E.; Quarles & Brady LLP, 411 E. Wisconsin Avenue, Milwaukee, WI 53202 (US).

(21) International Application Number:

PCT/US2012/032090

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(22) International Filing Date:

4 April 2012 (04.04.2012)

(25) Filing Language:

English

(26) Publication Language:

English

(30) Priority Data:

61/472,410 6 April 2011 (06.04.2011) US
61/608,361 8 March 2012 (08.03.2012) US

(71) Applicant (for all designated States except US): MCW RESEARCH FOUNDATION, INC. [US/US]; 8701 Wattertown Plan Road, Milwaukee, WI 53226 (US).

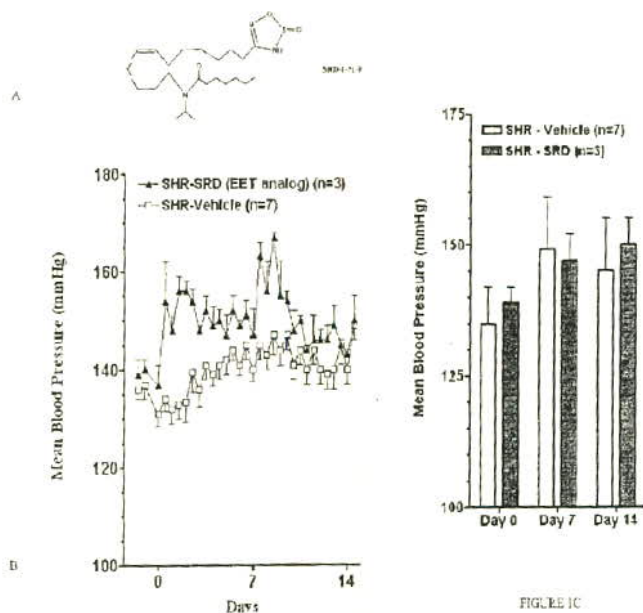
(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): IMIG, John, David / [US/US]; 190 Overlook Court, Pewaukee, WI 53072 (US). CAMPBELL, William, B. [US/US]; 5211 N. Lake Drive, Whitefish Bay, WI 53217 (US). FALCK, John, Russell

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK,

[Continued on next page]

(54) Title: EPOXYEICOSATRIENOIC ACID ANALOGS AND METHODS OF MAKING AND USING THE SAME



(57) Abstract: Compounds and compositions comprising epoxyeicosatrienoic acid (EET) analogs that act as EET agonists and are useful as medications in the treatment of drug-induced nephrotoxicity, hypertension and other related conditions. Methods of making and using the compounds and compositions are further described.

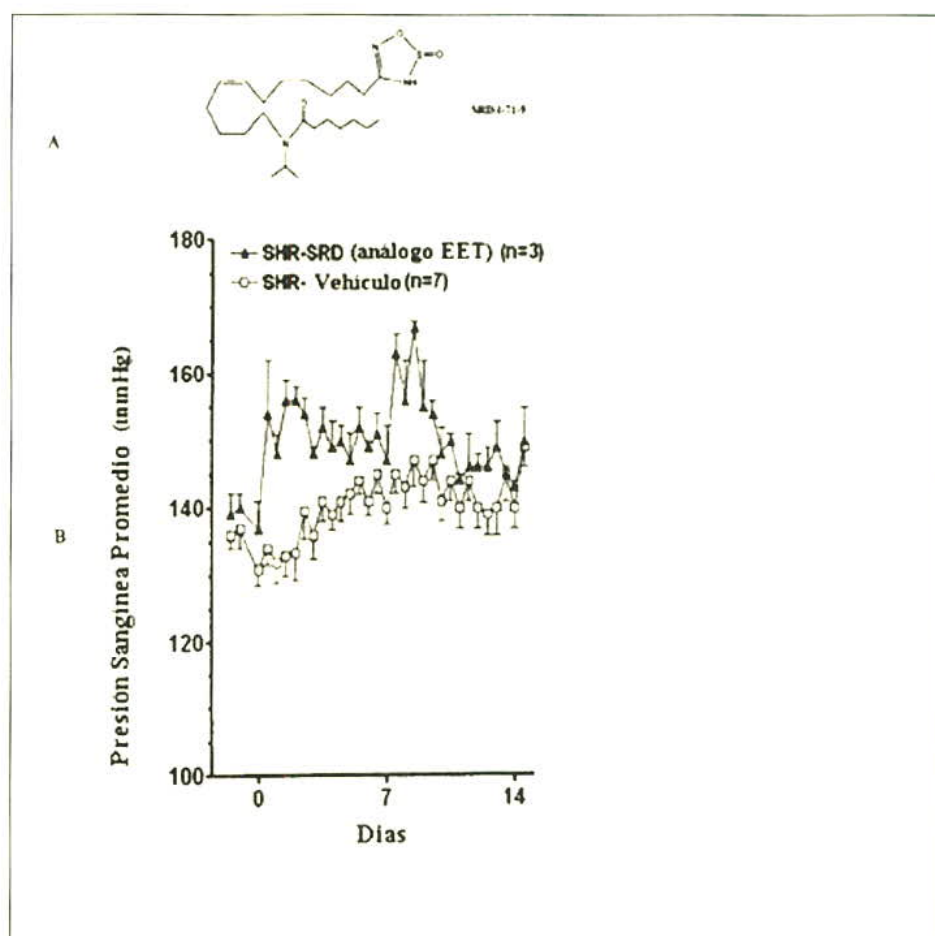
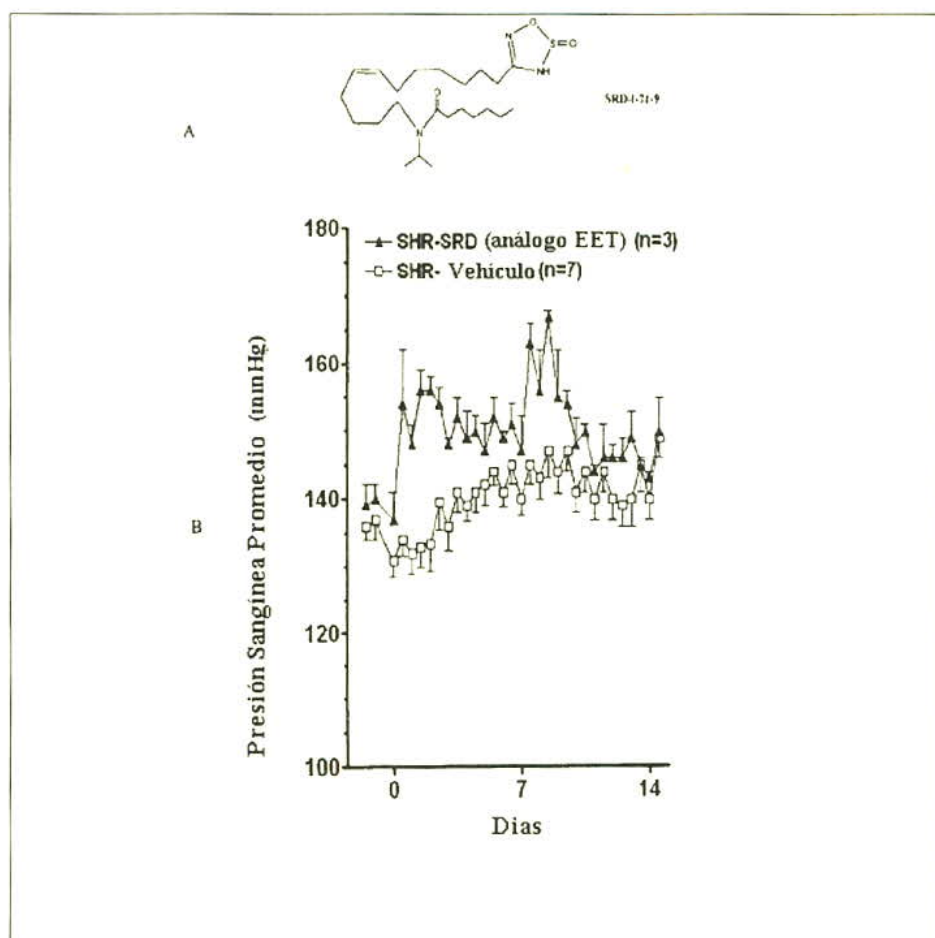
355
252

WO 2012/138706 A1

SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG). **Published:**

— with international search report (Art. 21(3))

354
353





No. 13-261736- -00000-0000

Fecha: 2013-11-06 11:16:21
Tra. 11 PATENTE IYII
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 DIR. NUEVASCR
Eve. 378 FASE NACIONAL I
Folios: 35

353

PATENTE DE INVENCION ☐

MODELO C

☐	Indicación que se solicita una patente.
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Descripción de la invención
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☐

MODELO DE UTILIDAD PCT ☐

Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

☐	Indicación que se solicita una PCT
☐	Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita Diseño industrial
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita un esquema de trazado
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica de un esquema de trazado
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐