

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN
EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la Propiedad
Intelectual
Oficina internacional



(43) Fecha de publicación internacional
23 de Abril de 2009 (23.04.2009)

PCT

(10) Número de Publicación Internacional
WO 2009/050318 A1

(51) Clasificación Internacional de Patentes:
C07D 231/14 (2006.01) *A61P 3/10* (2006.01)
A61K 31/4152 (2006.01) *A61P 9/10* (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01)

(21) Número de la solicitud internacional:
PCT/ES2008/000653

(22) Fecha de presentación internacional:
9 de Octubre de 2008 (09.10.2008)

(25) Idioma de presentación: español

(26) Idioma de publicación: español

(30) Datos relativos a la prioridad:
P200702691 15 de Octubre de 2007 (15.10.2007) ES

(71) Solicitantes (*para todos los Estados designados salvo US*): FUNDACIÓN INSTITUTO MEDITERRÁNEO PARA EL AVANCE DE LA BIOTECNOLOGÍA Y LA INVESTIGACIÓN SANITARIA (IMABIS) [ES/ES]; Avda. Carlos Haya, 25. Local Bajo, E-29010 MALAGA (ES). CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS-CSIC [ES/ES]; Serrano, 142, E-28006 Madrid (ES).

(72) Inventores; e

(75) Inventores/Solicitantes (*para US solamente*): **RO-DRÍGUEZ DE FONSECA, Fernando** [ES/ES]; Fundación Instituto Mediterráneo para el Avance de Biotecnología y La Investigación Sanitaria (IMABIS), Avda. Carlos Haya, 25. Local Bajo, E-29010 MALAGA (ES). **MACÍAS GONZÁLEZ, Manuel** [ES/ES]; Fundación Instituto Mediterráneo para el Avance de Biotecnología y La Investigación Sanitaria (IMABIS), Avda. Carlos Haya, 25. Local Bajo, E-29010 MALAGA (ES). **SERRANO CRIADO, María Antonia** [ES/ES]; Fundación Instituto Mediterráneo para el Avance de Biotecnología y La Investigación Sanitaria (IMABIS), Avda. Carlos Haya, 25. Local Bajo, E-29010 MALAGA (ES). **GOYA LAZA, María Pilar** [ES/ES]; Instituto de Química Médica - CSIC, Juan De La Cierva, 3, E-28006 Madrid (ES). **HERNAN ALVARADO, Mario** [ES/ES]; Instituto de Química Médica - CSIC, Juan De La Cierva, 3, E-28006 Madrid (ES). **ELGUERO BERTOLINI, José** [ES/ES]; Instituto de Química Médica - CSIC, Juan De La Cierva, 3, E-28006 Madrid (ES). **JAGEROVIC, Nadine** [FR/ES]; Instituto de Química Médica - CSIC, Juan De La Cierva, 3, E-28006 Madrid (ES).

(74) Mandatario: **BLAZQUEZ PUERTA, Rafael**; FUNDACIÓN IMABIS, Avda. Carlos Haya, 25. Local Bajo, E-29010 MALAGA (ES).

[Continúa en la página siguiente]

(54) Title: PYRAZOLE DERIVATIVES OF FATTY ACID AMIDES AS PPAR-ALPHA RECEPTOR SPECIFIC ACTIVATORS, PREPARATION METHOD THEREOF AND USE OF SAME

(54) Título: DERIVADOS PIRAZÓLICOS DE AMIDAS DE ÁCIDOS GRASOS COMO ACTIVADORES ESPECÍFICOS DE RECEPTORES PPAR-ALFA, PROCEDIMIENTO DE PREPARACIÓN Y UTILIZACIÓN

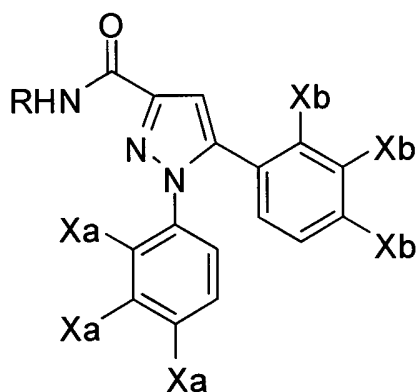


Figura 1

(57) Abstract: The invention relates to a novel class of pyrazole derivatives of fatty acid amides and the pharmaceutically acceptable salts, solvates and hydrates thereof, which demonstrate selective affinity for the alpha subtype of the peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR) and which consequently modulate the actions regulated by said receptors, specifically satiety induction and food intake control, reduction in body mass gain and regulation of fat metabolism.

(57) Resumen: El objeto de la presente invención se refiere a una nueva clase de derivados pirazólicos de amidas de ácidos grasos y a sus sales, solvatos e hidratos farmacéuticamente aceptables, que muestran afinidad selectiva por el subtipo alfa de los receptores activados por el proliferador de peroxisomas (PPAR) y que, por tanto, modulan las acciones reguladas por estos receptores, en concreto la inducción de saciedad y control de la ingesta, la disminución de la ganancia de la masa corporal y la regulación del metabolismo lipídico.

WO 2009/050318 A1



(81) **Estados designados** (a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección nacional admisible): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, 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, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) **Estados designados** (a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección regional admisible): ARIPO

(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europea (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publicada:

- con informe de búsqueda internacional
- antes de la expiración del plazo para modificar las reivindicaciones y para ser republicada si se reciben modificaciones

Derivados pirazólicos de amidas de ácidos grasos como activadores específicos de receptores PPAR-alfa, procedimiento de preparación y utilización

DESCRIPCIÓN

5

OBJETO DE LA INVENCIÓN

El objeto de la invención se refiere a una nueva clase de derivados de pirazol y a sus sales, solvatos e hidratos farmacéuticamente aceptables, que muestran afinidad selectiva por el subtipo alfa de los receptores activados por el proliferador de peroxisomas (PPAR) y que, por tanto, modulan las acciones reguladas por estos receptores, en concreto la inducción de saciedad y control de la ingesta, la disminución de la ganancia de la masa corporal y la regulación del metabolismo lipídico.

15 **ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN**

Los receptores activados por el proliferador de peroxisoma (PPAR) son una superfamilia perteneciente a los receptores nucleares de hormonas, que son factores de transcripción activados por ligando que juegan un papel fundamental en la regulación del metabolismo de lípidos y de glúcidos.

20 Tres subtipos de receptores PPAR han sido descritos: PPARalfa, PPARgamma y PPARdelta, véase Kota, B. P. y col. *Pharmacol. Res.* 51 (2005): 85. La activación del subtipo PPARgamma por ligandos potencia las acciones de la insulina en el hombre y reduce los niveles de glucosa circulante en los modelos de roedores de diabetes. El receptor de PPARgamma que se expresa en el tejido adiposo, juega una función central en la regulación de la diferenciación de adipocitos *in vitro*. Se conoce menos acerca de la biología del subtipo PPARdelta, aunque parece jugar un papel importante en el control de la hiperglucemia y la hiperlipemia, véase

25

Berger, J. y Moller, D.E. Annu. Rev. Med. 53 (2002): 409 y Berger, J. y col. J. Biol. Chem. 274 (1999): 6718-6725.

La activación del subtipo PPARalfa por sus ligandos naturales está relacionada con el control de los niveles de lípidos circulantes. Se han descrito ácidos grasos de cadena media y larga y eicosanoides, véase *Forman, B. M. y col. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 94 (1997): 4312*, que producen una reducción sustancial de los triglicéridos del plasma, una reducción moderada del colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad (LDL) y un efecto de saciedad. Por ello, el subtipo alfa de esta familia de receptores se presenta como una diana terapéutica muy interesante para el tratamiento de las enfermedades relacionadas con alteraciones metabólicas como las dislipemias, enfermedad cardiovascular, diabetes y obesidad, véase *Cheng, P.T. y col. Mini. Rev. Med. Chem. 5 (2005): 741 y Evans, R.M. y col. Nature Medicine. 10 (2004): 1.*

Las dislipemias son desórdenes en el metabolismo lipídico que se caracterizan por concentraciones anormales de uno o más tipos de lípidos (ej. Colesterol y Triglicéridos), y/o apolipoproteínas (ej. Tipo A, B, C y E), y/o lipoproteínas (ej. de baja densidad (LDL), de muy baja densidad (VLDL) y de densidad intermedia (IDL)). La molécula de colesterol es transportada normalmente unida a las lipoproteínas LDL. La elevación de los niveles de esta composición está directamente relacionada con el riesgo de enfermedad coronaria. Un porcentaje más pequeño de la molécula de colesterol es transportada a través de las lipoproteínas HDL, cuya función principal es extraer el colesterol depositado en las paredes arteriales y transportarlo hasta el hígado para su eliminación vía intestino. Se ha descrito que un nivel elevado de HDL-colesterol está asociado con la disminución del riesgo de enfermedad coronaria. Por tanto, en el tratamiento de las dislipemias es igualmente importante tanto disminuir los niveles de LDL-colesterol como elevar los niveles de HDL-colesterol, véase *Gordon, T. y col. Am. J. Med. 62 (1977): 707, Stampfer, M.J. y col. N. England J. Med., 325 (1991): 373 y*

Kannel, W.B. y col. Ann. Internal Med. 90 (1979): 85-91. En la actualidad se están utilizando clínicamente los derivados de fibrato, como por ejemplo clofibrato, véase *Arduini, A. y col. WO 2002009682 (2002)*, bezafibrato y fenofibrato, véase *Cheng, K. y col. WO 2002015845 (2002)*., para el control
5 de las dislipemias uniéndose al subtipo PPARalfa, controlando así ciertos factores de transcripción implicados en algunos de los procesos anteriormente descritos, véase *Linton, M.F. y Fazio, M. F. Curr. Atheroscler. Rep. 2 (2000): 29.*

Además del tratamiento de las dislipemias, se están utilizando agentes
10 agonistas duales de PPARalfa/gamma con potencial uso para el tratamiento de la diabetes tipo 2, véase *Henke, B.R. J. Med. Chem. 47 (2004): 4118.* Distintos glitazones (derivados de bencil-2,4-tiazolidindiona) han sido aprobados para su uso en el tratamiento de la diabetes. Entre ellos se incluye isaglitazon, véase *Ishii, S. y col. WO 2003018010 (2003)*, troglitazon,
15 *rosiglitazon y pioglitazon, véase Hulin, B. y col. Current Pharm. Design. 2 (1996): 85.* Están en desarrollo o en distintas fases de investigación clínica nuevas moléculas que están demostrando una actividad dual como activadores de los subtipos PPARalfa y gamma como el KRP-297, véase *Murakami, K. Biochem. J. 353 (2001): 231*, algunos tiazoles, véase *Chen, S.*
20 *WO 2001021602 (2001).* y derivados del ácido propiónico, véase *Brand, C.L. y col. WO 2002069994 (2002).*

Por último, distintas líneas de investigación se están concentrando en el desarrollo agentes selectivos del subtipo PPARalfa, como los derivados del ácido fenilpropiónico, véase *Nombra, M. y col. J. Med. Chem. 46 (2003):*
25 *3581*, o los de triazol y triazolona LY518674, véase *Xu, Y. y col. Med. Chem. 46 (2003): 5121*, como potencial tratamiento en enfermedades relacionadas con desórdenes del perfil lipídico y composición de grasa corporal.

Aunque los agentes actuales están dando buenos resultados en el tratamiento de algunas enfermedades como la diabetes, todavía se hace

necesario seguir buscando nuevos compuestos con potencial terapéutico contra nuevas enfermedades, que no presenten los problemas de efectos adversos mostrados por los actuales, sobre todo los relacionados con hepatotoxicidad, véase *Harold, E. y col. Diabetes Care. 25 (2002): 815.*

- 5 En cuanto a las estructuras químicas, en la presente invención se describen derivados de diarilpirazol con grupos amida de ácidos grasos en el anillo. Existen en la literatura, véase a) *Thomas B. F., Francisco M. Y., Seltzman H. H., Thomas J. B., Fix S. E., Schulz A., Gilliam A. F., Pertwee R. G., Stevenson L. A., Bioorg. Med. Chem., 2005, 13, 5463.* b) *Wiley J. L.,*
- 10 *Jefferson R. G., Grier M. C., Mahadevan A. Razdan R. K., J. Pharmacol. Exp. Ther., 2001, 296(3), 1013.* c) *Jagerovic N. y col., Pat. Esp. P200502196 (2005).* d) *Martin B. R. y col., patente US 6509367,* algunas estructuras relacionadas en las cuales generalmente el anillo de pirazol lleva un metilo en posición 4 mientras que en los compuestos aquí reivindicados en dicha
- 15 posición hay un hidrógeno. Con respecto de su función como activadores PPARalfa sólo se encuentran referencias al anillo de pirazol como sustituyente en compuestos de tipo aromático véase *Jeppesen y col. US 6407127 B2, Jeppesen y col. US 6602901 B2 y Evans y col. US 6214850* , sin llegar a entrar en conflicto con la estructura base de la que forma parte
- 20 en este estudio.

EXPLICACIÓN DE LA INVENCION

- La invención se refiere a una nueva clase de moléculas,
- 25 concretamente derivados pirazólicos de amidas de ácidos grasos como activadores específicos de receptores PPAR-alfa, así como a su procedimiento de preparación y su utilización.

Estas moléculas pueden ser utilizadas para la preparación de un medicamento para la inducción de saciedad y control de la ingesta, modulación de la grasa corporal y regulación del metabolismo lipídico así como la preparación de un medicamento para el tratamiento de la diabetes, 5 obesidad, síndrome metabólico y enfermedades cardiovasculares.

BREVE DESCRIPCION DE LAS FIGURAS

Figura 1: Fórmula estructural de los derivados pirazólicos de amidas de ácidos grasos.

10 **Figura 2:** Esquema del procedimiento de preparación de los derivados pirazólicos de amidas de ácidos grasos.

Figura 3: Fórmula del 5-(4-clorofenil)-1-fenilpirazol-3-carboxilato de etilo.

Figura 4: Fórmula del 1,5-di-(4-clorofenil)pirazol-3-carboxilato de etilo.

Figura 5: Fórmula de *N*-(Oleil)-5-(4-clorofenil)-1-fenil-1*H*-pirazol-3-carboxamida 15

Figura 6: Fórmula de *N*-(Oleil)-1,5-di-(4-clorofenil)-1*H*-pirazol-3-carboxamida

Figura 7: Fórmula de *N*-(Hexadecil)-5-(4-clorofenil)-1-fenil-1*H*-pirazol-3-carboxamida.

20 **Figura 8:** Fórmula de *N*-(Hexadecil)-1,5-di-(4-clorofenil)-1*H*-pirazol-3-carboxamida.

Figura 9: Interacción entre PPARalfa y el coactivador TIF2 inducidos por ligando por GST pull down. El valor del vector con solo GST fue restado de todos los compuestos y disolvente (DMSO). Las muestras fueron detectadas y cuantificadas con respecto a la cantidad de PPARalfa utilizada en un 25 Fosfoimager (Fuji FLA 300 reader). Se muestra un gel al 15% SDS-PAGE.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La presente invención es continuación de un proyecto anterior en el que se describió al ácido graso endógeno oleiletanolamida (OEA) como un nuevo ligando capaz de activar al subtipo PPARalfa y su acción como inductor de saciedad y controlador de la ingesta en ratas, inhibidor de la ganancia de la masa corporal y el regulador del metabolismo lipídico, véase *Piomelli, D y Rodríguez de Fonseca, F. US 6911474 (2005)*.

Los compuestos descritos a continuación son una nueva clase de moléculas derivados sustituidos del pirazol que, en general, fueron capaces de inducir la interacción entre PPARalfa y sus coactivadores en solución, algunos de ellos, incluso con mayor efectividad que la OEA, mediante ensayos *in vitro*. Además mostraron efectos similares a los de la molécula de referencia en los ensayos *in vivo*.

Por tanto, estos nuevos compuestos son útiles en la mejora de las condiciones fisiológicas reguladas por agonistas de los receptores PPAR alfa, como por ejemplo los relacionados con la modulación de la grasa corporal y la inhibición de la ingesta, mostrando así, gran potencial de aplicación en el tratamiento de las enfermedades o situaciones patológicas derivadas de las anteriores condiciones, al tiempo que pueden disminuir los efectos adversos de los tratamientos actuales.

Los compuestos de la presente invención corresponden a derivados de pirazol con sustituyentes arilos en posiciones 1 y 5, con hidrógeno en posición 4 y grupos carboxamida en posición 3 que corresponden a la fórmula A (ver Figura 1) donde Xa y Xb son idénticos o diferentes y representan cada uno independientemente un átomo de hidrógeno o un átomo de halógeno y R representa grupos alquilo lineal ó alqueno lineal con un número de átomos de C comprendido entre 14 y 20. En particular, el objeto de la presente invención corresponde a los siguientes derivados pirazólicos de amidas de ácidos grasos:

- *N*-(Oleil)-5-(4-clorofenil)-1-fenil-1*H*-pirazol-3-carboxamida, **4 (MA06)**
- *N*-(Oleil)-1,5-di-(4-clorofenil)-1*H*-pirazol-3-carboxamida, **5 (MA016)**
- *N*-(Hexadecil)-5-(4-clorofenil)-1-fenil-1*H*-pirazol-3-carboxamida, **6 (MA010)**
- 5 - *N*-(Hexadecil)-1,5-di-(4-clorofenil)-1*H*-pirazol-3-carboxamida, **7(MA017)**

La preparación y obtención de los compuestos recogidos se puede realizar según el esquema de reacción descrito en la Figura 2 para la fórmula A. (figura 1)

- 10 La ruta sintética descrita en la Figura 2 se llevó a cabo inicialmente a través de la preparación del dicetoéster **1**, véase *Gardner T. S., Wenis E., Lee J., J. Org. Chem., 1961, 26, 1514.*, a partir de la reacción de la acetofenona y oxalato de dietilo en medio básico.

- Los ésteres pirazólicos **2-3** fueron preparados, véase a) *Finar I. L., Hurlock R. J., J. Chem. Soc., 1958, 3259*, por reacción del dicetoéster **1** con la respectiva arilhidrazina en proporciones equimolares durante un periodo de tiempo comprendido entre 24 y 48 horas. En general, la reacción ha sido descrita para dar predominantemente el isómero 1*H*-pirazol-3-carboxilato, véase *Ashton W. T., Doss G.A., J. Heterocyclic Chem., 1993, 30, 307*; b)
- 15 *Murray W. V., Wachter M. P., J. Heterocyclic Chem., 1989, 26, 1389.*
- 20 Previamente a la siguiente transformación, se separa el éster carboxílico mediante extracción con éter seguida de lavado con solución de bicarbonato y agua.

- Finalmente, la síntesis de los compuestos **4-7** fue llevada a cabo por
- 25 reacción de la una amina de fórmula general R-NH₂, siendo R una cadena carbonada de entre 14 y 20 átomos de C (por ejemplo oleilamina y 1-hexadecilamina) con el 1,5-diarilpirazol-3-carboxilato de etilo **2-3**, empleando para ello Al(CH₃)₃ en CH₂Cl₂, durante un periodo de tiempo comprendido entre 20 y 48 horas, véase *Weinreb S. M., Lipton M., Basha A.,*
- 30 *Tetrahedron Lett., 1977, 4171* (véase Figura 2). La separación de de los

derivados pirazólicos obtenidos se lleva a cabo mediante lavado, secado y evaporación del disolvente.

Los expertos en la técnica apreciarán que los compuestos de la presente invención se pueden utilizar en la forma de una sal o un solvato de los mismos siendo ambos farmacéuticamente aceptables. Las sales fisiológicamente aceptables incluyen sales convencionales formadas a partir de los ácidos o bases inorgánicas u orgánicas farmacéuticamente aceptables, así como las sales de adición de ácidos de amonio cuaternario.

En un primer uso, la presente invención se refiere a un método para modular el subtipo alfa de receptores activados por el proliferador de peroxisomas poniendo en contacto el receptor con al menos un compuesto de los representados por la fórmula estructural de la figura 1, y sus sales, solvatos e hidratos farmacéuticamente aceptables. Como se usa en esta memoria descriptiva, un "ligando de PPAR-alfa" es un compuesto que se une a un PPAR-alfa humano y a moléculas coactivadoras para dar lugar a procesos de transcripción tal y como se describe más adelante en el ensayo de unión GST. Se podrán utilizar los derivados pirazólicos de ácidos grasos para la preparación de un medicamento destinado a la prevención o tratamiento de cualquier patología mediada por los PPAR-alfa.

En un segundo uso, la presente invención se refiere a los métodos y composiciones que contienen los productos representados por la fórmula estructural de la figura 1 y sus sales, solvatos e hidratos farmacéuticamente aceptables, que consiguen una disminución del apetito y de la ganancia de la masa corporal cuando son administradas a animales de laboratorio (ej. ratas, ratones, conejos). Se podrán por tanto utilizar los derivados pirazólicos para la preparación de medicamento para la inducción de saciedad y control de la ingesta, modulación de la grasa corporal y regulación del metabolismo lipídico.

Otra posible utilización sería para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la diabetes, obesidad, síndrome metabólico y enfermedades cardiovasculares. En cosmética se podrían emplear particularmente para la reducción de la grasa subcutánea.

- 5 Los compuestos de esta invención se pueden preparar mediante la química orgánica habitual tal y como se ilustra mediante los ejemplos operativos acompañantes. Los siguientes ejemplos se exponen para ilustrar la síntesis de algunos compuestos particulares de la presente invención y para ejemplificar los procedimientos generales. De acuerdo con lo anterior, la
- 10 siguiente sección de ejemplos no tiene la intención de limitar de ningún modo el alcance de la invención contemplada en la presente memoria descriptiva.

MODO DE REALIZACIÓN DE LA INVENCION

- 15 Los siguientes ejemplos tienen carácter informativo y en ningún caso limitante de las metodologías empleadas, las cuales pueden ser alteradas con el fin de alcanzar unos resultados similares.

En esta memoria descriptiva los símbolos y convenciones usadas en estos procedimientos, esquemas y ejemplos son consistentes con los usados en el Sistema Internacional y la bibliografía científica contemporánea, por

20 ejemplo, el Journal of Medicinal Chemistry. Salvo que se indique otra cosa, todos los materiales de partida se obtuvieron de proveedores comerciales y se usaron sin purificación adicional. Específicamente, se pueden usar las siguientes abreviaturas en los ejemplos y a lo largo de toda la memoria

25 descriptiva: g (gramos); mg (miligramos); kg (kilogramos); μ g (microgramos); l o L (litros); ml o mL (mililitros); μ l o μ L (microlitros); mmol (milimoles); mol (moles); P.f. (punto de fusión); Hz (hertzio); MHz (megahertzio); δ (desplazamiento químico); s (singlete); d (doblete); t (triplete); q (cuartete); m (multiplete); RMN (resonancia magnética nuclear);

EM (espectro de masas); IE (Impacto electrónico); m/z (Relación masa/carga); AE (Análisis Elemental); Rto (Rendimiento); M (molar); col. (colaboradores); TEA (triethylamina); AcOH (ácido acético); MeOH (metanol); THF (tetrahidrofurano); EtOH (etanol); CH_2Cl_2 (diclorometano); AcOEt (Acetato de etilo); CDCl_3 (cloroformo deuterado); DMSO (dimetilsulfóxido); GST (sulfur-transferasa de glutathione); PBS (búfer fosfato salino); TIF2 (factor intermediario de transcripción 2). Salvo que se indique lo contrario, todas las temperaturas se expresan en °C (grados Celsius).

10 Derivados

Ejemplo 1.- Preparación y obtención de los 1,5-diarilpirazol-3-carboxilato de etilo, 2-3.

Procedimiento general.

A una solución del 4-(4-clorofenil)-2,4-dioxobutanoato de etilo **1** en ácido acético glacial (10 ml) fue adicionada una cantidad equimolar de la arilhidrazina. La solución fue refluída y a continuación elaborada volcando la solución sobre agua (15 ml). El aceite amarillento fue separado por extracción con éter (3 x 50 ml) y el extracto orgánico fue lavado con solución de bicarbonato de sodio (3 x 15 ml) y agua (3 x 15 ml). El extracto fue
20 secado (Na_2SO_4) y tras posterior rotaevaporación del disolvente se obtuvo predominantemente el isómero 1H-pirazol-3-carboxilato como un aceite amarillo viscoso el cual se purificó por cromatografía de columna sobre sílica gel utilizando como eluyente AcOEt/Hexano(1/9).

El compuesto representado en la Figura 3 se preparó siguiendo el
25 procedimiento descrito anteriormente utilizando como reactivo de partida 3,0 g (11,78 mmol) del 4-(4-clorofenil)-2,4-dioxobutanoato de etilo **1** y 1,27 g (11,78 mmol) de fenilhidrazina en ácido acético glacial (10 ml). La disolución fue refluída durante 24 horas y se trató como se describe en el procedimiento general; se obtuvieron 3,03 g de un sólido amarillo.

Rto: 79%; P.f.: 94-95 °C.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: 7,29-7,18 (m, 7H, *Hs*(2)Ar, *Hs* Ph);
5 7,07 (d, 2H, |*J*| = 8,5 Hz, *Hs*(3)Ar); 6,95 (s, 1H, *H*(4)Pir); 4,38 (q, 2H, |*J*| =
7,0 Hz, *CH*₂CH₃); 1,34 (t, 3H, |*J*| = 7,0 Hz, CH₃).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃) δ: 162,2 (C=O); 144,3 (C(3)Pir); 143,3
(C(5)Pir); 139,2 (C(1)Ph); 134,8 (C(1)Ar); 129,8 (C(3)Ar); 129,0 (C(3)Ph);
10 128,8 (C(2)Ar); 128,7 (C(4)Ar); 127,9 (C(4)Ph); 125,6 (C(2)Ph); 109,9
(C(4)Pir); 61,1 (CH₂); 14,3 (CH₃).

EM (IE): *m/z* = [M+1]⁺ 329 (32%); [M-1]⁺ 327 (100%).

15 El compuesto representado en la Figura 4 se preparó siguiendo el
procedimiento descrito anteriormente utilizando como reactivo de partida 3,0
g (11,78 mmol) del 4-clorofenil-2,4-dioxobutanoato de etilo **1** y 2,11 g
(11,78 mmol) del clorhidrato de 4-clorofenilhidrazina en ácido acético glacial
(10 ml). La disolución fue refluída durante 48 horas y se trató como se
20 describe en el procedimiento general; se obtuvieron 2,55 g de un sólido
amarillo.

Rto: 60%; P.f.: 120-121 °C.

25 **¹H-RMN** (300 MHz, CDCl₃) δ: 7,29-7,23 (m, 4H, *Hs*(2)Ar₁, *Hs*(2)Ar₅);
7,20 (d, 2H, |*J*| = 8,5 Hz, *Hs*(3)Ar₅); 7,08 (d, 2H, |*J*| = 8,3 Hz, *Hs*(3)Ar₁);
6,95(s, 1H, *H*(4)Pir); 4,39 (q, 2H, |*J*| = 7,1 Hz, *CH*₂CH₃); 1,35 (t, 3H, |*J*| =
7,1 Hz, CH₃).

30 **¹³C-RMN** (75 MHz, CDCl₃) δ: 162,0 (C=O); 144,7 (C(3)Pir); 143,4
(C(5)Pir); 137,7 (C(1)Ar₅); 135,1 (C(1)Ar₁); 134,3 (C(4)Ar₅); 129,9 (C(3)Ar₅);
129,3 (C(3)Ar₁); 129,0 (C(2)Ar₅); 127,6 (C(4)Ar₁); 126,7 (C(2)Ar₁); 110,2
(C(4)Pir); 61,2 (CH₂); 14,4 (CH₃).

35 **EM** (IE): *m/z* = [M+1]⁺ 362 (64%); [M-1]⁺ 360 (94%); 288 (100%).

5 **Ejemplo 2.- Preparación y obtención de las 1,5-diaril-1H-pirazol-3-carboxamidas, 4-7.**

Procedimiento general.

A la respectiva amina (5 equiv) en CH₂Cl₂ anhidro (50 ml) fue
adicionada gota a gota durante 5 minutos una solución comercial 2M de
10 Al(CH₃)₃ en heptano (5 equiv) y agitada durante una hora a temperatura
ambiente. Tras la agitación, una solución del respectivo 1H-pirazol-3-
carboxilato **2-3** (1 equiv) en CH₂Cl₂ anhidro (50 ml) fue adicionada y la
mezcla fue refluida. La reacción fue elaborada por adición lenta y cuidadosa
de una solución 2N HCl (50 ml). La fase orgánica fue lavada con una solución
15 2N HCl (3 x 15 ml) y secada sobre Na₂SO₄. El disolvente CH₂Cl₂ fue
evaporado al vacío y purificado por cromatografía de columna sobre silica gel
utilizando como eluyente AcOEt/Hexano(1/4).

El compuesto representado en la Figura 5 se preparó siguiendo el
procedimiento descrito anteriormente utilizando como reactivo de partida
20 0,61 g (2,29 mmol) de la oleilamina comercial disuelta en CH₂Cl₂ anhidro
(50 ml), 1,15 ml (2,29 mmol) de la solución comercial 2M de Al(CH₃)₃ en
heptano y 0,15 g (0,45 mmol) de 5-(4-clorofenil)-1-fenilpirazol-3-carboxilato
de etilo **2** disuelto en CH₂Cl₂ anhidro (50 ml), la mezcla se calentó a reflujo
durante 24 horas y se trató como se describe en el procedimiento general;
25 se obtuvieron 0,22 g de una cera amarilla.

Rto: 90%;

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: 7,34-7,19 (m, 7H, *Hs*(2)Ar, *Hs* Ph);
30 7,07 (d, 2H, |*J*| = 8,5 Hz, *Hs*(3)Ar); 6,96(s, 1H, *H*(4)Pir); 5,32-5,25 (m, 2H,

$\text{CH}=\text{CH}$); 3,38 (q, 2H, $|J| = 6,8$ Hz); 1,94-1,90 (m, 4H); 1,55-1,49 (m, 2H); 1,22-1,18 (m, 22H); 0,80 (t, 3H, $|J| = 6,7$ Hz, CH_3).

^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3) δ : 161,5 (CO); 147,4 ($\alpha(3)\text{Pir}$); 143,6 ($\alpha(5)\text{Pir}$); 139,3 ($\alpha(1)\text{Ph}$); 134,7 ($\alpha(1)\text{Ar}$); 129,8 ($\alpha(3)\text{Ar}$); 129,7 ($\text{CH}=\text{CH}$); 129,1 ($\alpha(3)\text{Ph}$); 128,8 ($\alpha(2)\text{Ar}$); 128,3 ($\alpha(4)\text{Ar}$); 128,1 ($\alpha(4)\text{Ph}$); 125,3 ($\alpha(2)\text{Ph}$); 108,1 ($\alpha(4)\text{Pir}$); 39,2 ($\text{CONH}-\text{CH}_2$); 32,5 ($\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2$); 31,8 ($\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3$); 31,7 ($\text{CONHCH}_2-\text{CH}_2$); 29,7-29,1 ($(\text{CH}_2)_4-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_3$); 27,1 ($\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_2-\text{CH}_3$); 26,9 ($\text{CONH}(\text{CH}_2)_2-\text{CH}_2$); 22,6 (CH_2CH_3); 14,0 (CH_3).

EM (IE): $m/z = [\text{M}+1]^+ 547$ (42%); $[\text{M}-1]^+ 549$ (20%); 281 (100%).

AE: Calculado ($\text{C}_{34}\text{H}_{46}\text{ClN}_3\text{O}$, 547,33) C: 74,49; H: 8,46; N: 7,67.

Encontrado C: 74,76; H: 8,70; N: 7,91.

El compuesto de la Figura 6 se preparó siguiendo el procedimiento descrito anteriormente utilizando como reactivo de partida 0,92 g (3,46 mmol) de la oleilamina comercial disuelta en CH_2Cl_2 anhidro (50 ml), 1,73 ml (3,46 mmol) de la solución comercial 2M de $\text{Al}(\text{CH}_3)_3$ en heptano y 0,25 g (0,69 mmol) del 1,5-di-(4-clorofenil)pirazol-3-carboxilato de etilo **3** disuelto en CH_2Cl_2 anhidro (50 ml), la mezcla se calentó a reflujo durante 20 horas y se trató como se describe en el procedimiento general; se obtuvieron 0,35 g de una cera amarilla.

Rto: 88%

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3) δ : 7,30-7,19 (m, 4H, $H\alpha(2)\text{Ar}_1$, $H\alpha(2)\text{Ar}_5$); 7,17 (d, 2H, $|J| = 8,7$ Hz, $H\alpha(3)\text{Ar}_5$); 7,08 (d, 2H, $|J| = 8,4$ Hz, $H\alpha(3)\text{Ar}_1$); 6,96(s, 1H, $H(4)\text{Pir}$); 5,31-5,25 (m, 2H, $\text{CH}=\text{CH}$); 3,38 (q, 2H, $|J| = 6,7$ Hz); 1,94-1,90 (m, 4H); 1,54-1,49 (m, 2H); 1,22-1,18 (m, 22H); 0,80 (t, 3H, $|J| = 6,7$ Hz, CH_3).

^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3) δ : 161,3 (CO); 147,7 ($\alpha(3)\text{Pir}$); 143,7 ($\alpha(5)\text{Pir}$); 137,8 ($\alpha(1)\text{Ar}_5$); 135,0 ($\alpha(1)\text{Ar}_1$); 134,2 ($\alpha(4)\text{Ar}_5$); 129,9 ($\alpha(3)\text{Ar}_5$);

129,7 ($\underline{\text{CH}}=\underline{\text{CH}}$); 129,3 ($\alpha(3)\text{Ar}_1$); 129,0 ($\alpha(2)\text{Ar}_5$); 127,9 ($\alpha(4)\text{Ar}_1$); 126,5 ($\alpha(2)\text{Ar}_1$); 108,4 ($\alpha(4)\text{Pir}$); 39,2 ($\text{CONH}-\underline{\text{CH}}_2$); 32,5 ($\underline{\text{CH}}_2-\text{CH}=\text{CH}-\underline{\text{CH}}_2$); 31,8 ($\underline{\text{CH}}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3$); 31,7 ($\text{CONHCH}_2-\underline{\text{CH}}_2$); 29,7-29,2 ($(\underline{\text{CH}}_2)_4-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-(\underline{\text{CH}}_2)_3$); 27,2 ($\underline{\text{CH}}_2-(\text{CH}_2)_2-\text{CH}_3$); 26,9 ($\text{CONH}(\text{CH}_2)_2-\underline{\text{CH}}_2$); 22,6 ($\underline{\text{CH}}_2\text{CH}_3$);
 5 14,5 ($\underline{\text{CH}}_3$).

EM (IE): $m/z = [\text{M}+1]^+ 583$ (13%); $[\text{M}-1]^+ 581$ (19%); 315 (100%).

AE: Calculado ($\text{C}_{34}\text{H}_{45}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}$, 581,29) C: 70,09; H: 7,78; N: 7,21.
 10 Encontrado C: 70,23; H: 7,48; N: 7,25.

El compuesto de la Figura 7 se preparó siguiendo el procedimiento descrito anteriormente utilizando como reactivo de partida 0,92 g (3,82 mmol) de la 1-hexadecilamina comercial disuelta en CH_2Cl_2 anhidro (50 ml),
 15 1,91 ml (3,82 mmol) de la solución comercial 2M de $\text{Al}(\text{CH}_3)_3$ en heptano y 0,25 g (0,76 mmol) de 5-(4-clorofenil)-1-fenilpirazol-3-carboxilato de etilo **2** disuelto en CH_2Cl_2 anhidro (50 ml), la mezcla se calentó a reflujo durante 48 horas y se trató como se describe en el procedimiento general; se obtuvieron 0,36 g de un sólido blanco.

20

Rto: 93%; P.f.: 59-60 °C (Hexano).

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3) δ : 7,33-7,31 (m, 2H, $Hs(2)\text{Ar}$); 7,23-7,19 (m, 5H, $Hs\text{ Ph}$); 7,08 (d, 2H, $|J| = 8,4$ Hz, $Hs(3)\text{Ar}$); 6,97(s, 1H, $H(4)\text{Pir}$);
 25 3,38 (q, 2H, $|J| = 6,7$ Hz); 1,56-1,51 (m, 2H); 1,30-1,17 (m, 26H); 0,82 (t, 3H, $|J| = 6,9$ Hz, $Hs(3)$, CH_3).

^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3) δ : 162,5 (CO); 147,4 ($\alpha(3)\text{Pir}$); 143,6 ($\alpha(5)\text{Pir}$); 139,3 ($\alpha(1)\text{Ph}$); 134,7 ($\alpha(1)\text{Ar}$); 129,9 ($\alpha(3)\text{Ar}$); 129,0 ($\alpha(3)\text{Ph}$);
 30 128,8 ($\alpha(2)\text{Ar}$); 128,3 ($\alpha(4)\text{Ar}$); 128,1 ($\alpha(4)\text{Ph}$); 125,7 ($\alpha(2)\text{Ph}$); 108,5 ($\alpha(4)\text{Pir}$); 39,6 ($\text{CONH}-\underline{\text{CH}}_2$); 32,3 ($\text{CONHCH}_2-\underline{\text{CH}}_2$); 30,1-29,7 ($\text{CONH}(\text{CH}_2)_3-(\underline{\text{CH}}_2)_{11}$); 27,4 ($\text{CONH}(\text{CH}_2)_2-\underline{\text{CH}}_2$); 23,0 ($\underline{\text{CH}}_2\text{CH}_3$); 14,5 ($\underline{\text{CH}}_3$).

EM (IE): $m/z = [\text{M}+1]^+ 523$ (5%); $[\text{M}-1]^+ 521$ (13%); 281 (100%).

AE: Calculado ($C_{32}H_{44}ClN_3O$, 521,32) C: 76,31; H: 8,49; N: 8,05.
Encontrado C: 73,90; H: 8,44; N: 7,95.

5 El compuesto de la Figura 8 se preparó siguiendo el procedimiento descrito anteriormente utilizando como reactivo de partida 0,83 g (3,46 mmol) de la 1-hexadecilamina comercial disuelta en CH_2Cl_2 anhidro (50 ml), 1,73 ml (3,46 mmol) de la solución comercial 2M de $Al(CH_3)_3$ en heptano y 0,25 g (0,69 mmol) del 1,5-di-(4-clorofenil)pirazol-3-carboxilato de etilo **3**
10 disuelto en CH_2Cl_2 anhidro (50 ml), la mezcla se calentó a reflujo durante 20 horas y se trató como se describe en el procedimiento general; se obtuvieron 0,34 g de un sólido blanco.

Rto: 90%; P.f.: 78-79 °C (Hexano).

15

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 7,30-7,19 (m, 4H, $H\alpha(2)Ar_1$, $H\alpha(2)Ar_5$); 7,17 (d, 2H, $|J| = 8,7$ Hz, $H\alpha(3)Ar_5$); 7,07 (d, 2H, $|J| = 6,7$ Hz, $H\alpha(3)Ar_1$); 6,96(s, 1H, $H(4)Pir$); 3,38 (q, 2H, $|J| = 7,0$ Hz); 1,58-1,49 (m, 2H); 1,29-1,17 (m, 26H); 0,80 (t, 3H, $|J| = 6,7$ Hz, $H\alpha(3)$, CH_3).

20

^{13}C -RMN (75 MHz, $CDCl_3$) δ : 161,3 (CO); 147,7 ($\alpha(3)Pir$); 143,7 ($\alpha(5)Pir$); 137,8 ($\alpha(1)Ar_5$); 135,0 ($\alpha(1)Ar_1$); 134,2 ($\alpha(4)Ar_5$); 129,9 ($\alpha(3)Ar_5$); 129,3 ($\alpha(3)Ar_1$); 129,0 ($\alpha(2)Ar_5$); 128,3 ($\alpha(4)Ar_1$); 126,9 ($\alpha(2)Ar_1$); 108,4 ($\alpha(4)Pir$); 39,6 (CONH- $\underline{CH_2}$); 32,3 (CONHCH $_2$ - $\underline{CH_2}$); 30,1-29,7 (CONH(CH $_2$) $_3$ - $\underline{CH_2}$) $_{11}$); 27,3 (CONH(CH $_2$) $_2$ - $\underline{CH_2}$); 23,0 ($\underline{CH_2CH_3}$); 14,5 ($\underline{CH_3}$).

25

EM (IE): $m/z = [M+1]^+ 557$ 10%; $[M-1]^+ 555$ (15%); 315 (100%).

AE: Calculado ($C_{32}H_{43}Cl_2N_3O$, 555,28) C: 69,05; H: 7,79; N: 7,55.
30 Encontrado C: 68,89; H: 7,51; N: 7,73.

Ensayo *in vitro* de interacción proteína PPARalfa con proteína de fusión TIF2 Y GST (GST-Pull-down Assays)

La precipitación a través de GST (también conocida como GST-*pull down*) es un método *in vitro* utilizado para determinar y cuantificar la existencia de interacciones físicas entre proteínas, siendo útil para confirmar en nuestro caso la interacción del factor de transcripción PPAR- α y el coactivador TIF2 inducida por ligando, véase Macías-Gonzalez, M y col. *J. Biol. Chem.* 277 (2002): 18501. A partir de las resinas 4B sefarosa-glutation con GST solo o GST-TIF2₆₄₆₋₉₂₆ al 50% en PBS, se llevó a cabo una centrifugación eliminando el sobrenadante y se añadió a la fase precipitada un tampón de bloqueo para evitar uniones inespecíficas con PBS y albúmina sérica bovina (*Aldrich*) centrifugando de nuevo. A continuación se añadió tampón de inmunoprecipitación (al 50%) a la fase precipitada. Se tomó 50 μ L de la resina sefarosa-glutation con GST o GST-TIF2 en tampón de inmunoprecipitación y se añadió: 20 μ L de PPAR- α marcado con ³⁵[S] preincubado con OEA, GW7647 (Tocris, Bioscience) y compuestos sintéticos (MA006, MA010, MA016 y MA017), 8 μ L del mismo ligando en 100% DMSO y 22 μ L de tampón de inmunoprecipitación durante 20 minutos a 30 °C y 40 minutos a temperatura ambiente. Tras la incubación, las proteínas marcadas que no resultaron en una fusión con GST-TIF2₆₄₆₋₉₂₆ unidos a resinas sefarosa por glutathione fueron lavadas con el tampón de inmunoprecipitación después de centrifugar a máxima velocidad.

Desechado el sobrenadante, la fase precipitada con los complejos marcados unidos a sefarosa se resuspendió con tampón de carga de proteínas (a proporción 1:1 en volumen) y se calentó en agitación unos 95 °C durante 5 minutos, separando la resina sefarosa del complejo GST-TIF2₆₄₆₋₉₂₆ con ³⁵S PPAR α tras una nueva centrifugación de 5 minutos a máxima velocidad. A continuación, se cargaron las diferentes muestras del sobrenadante en el gel y se realizó una electroforesis SDS-PAGE a 100 V durante 1 hora aproximadamente. Finalmente, se cuantificaron y visualizaron los geles sobre un lector *Fuji FLA3000* por fosforescencia, con el software *Image Gauge* (Fuji).

Los resultados se muestran en la Figura 9 , en la cual las columnas representan el valor medio de al menos 3 experimentos, con su respectiva desviación estándar (Student's t-test p values se calcularon con respecto a al disolvente) * $p < 0.05$

Estudios de ingesta de comida: tratamiento agudo

Los efectos de los diferentes compuestos sobre la conducta en alimentación fueron analizados en ratas *Wistar* machos privados de comida durante 24 horas, que fueron habituados a su manipulación, véase Navarro, M y col. 1996 *J. Neurochem.* 67 (1996):1982, Rodríguez de Fonseca, F. y col. *Nature.* 414 (2001):209 y Fu, J y col. *Nature.* 425 (2003):90. Para este fin, 48 horas antes de cada ensayo las ratas se disponían en jaulas individuales, se retiraba el material de base (arena o serrín), y se situaban pequeños contenedores con comida dentro de las jaulas durante 4 horas. Pasada esta fase inicial, los animales fueron privados de comida durante 24 horas, siempre con acceso libre al agua. Transcurridas las 24 horas de ayuno, se establecieron distintos grupos de tratamiento (N=8-10 cada grupo) administrándose i.p. distintas dosis de los compuestos pirazólicos correspondientes a cada sesión experimental en su solución vehículo en un volumen de 1mL/kg, además de un grupo control tratado únicamente con el vehículo:

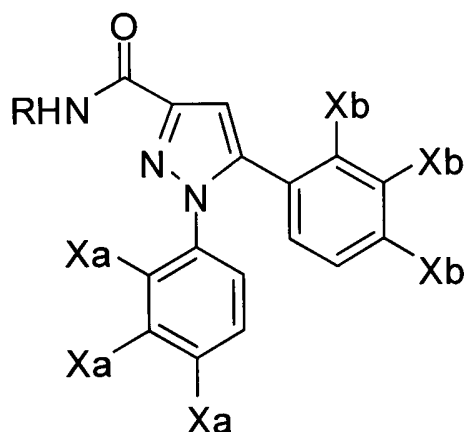
- 1) Grupo tratado con dosis 0.03 mg/kg en solución vehículo.
- 2) Grupo tratado con dosis 0.3 mg/kg en vehículo.
- 3) Grupo con dosis 3 mg/kg en vehículo.
- 4) Grupo tratado con dosis 10 mg/kg en vehículo sólo para MA-017.
- 5) Grupo control tratado con el vehículo tween-80 al 5% en suero fisiológico.

A los 15 minutos de la administración se colocaban los contenedores con una cantidad de comida conocida (normalmente 30-40 g) y una botella de agua fresca. Estos contenedores de comida se pesaron a los 30, 60, 120 y 240 minutos después de su presentación, de modo que fue controlada la

5 comida ingerida por cada animal (ver Figuras 10 a 13).

REIVINDICACIONES

1.- Derivados pirazólicos de amidas de ácidos grasos como activadores específicos de receptores PPAR-alfa que corresponden a la fórmula A:



5

en la cual:

- los sustituyentes arilos en posiciones 1 y 5 del anillo pirazólico incluyen grupos Xa y Xb que pueden ser idénticos o diferentes y representan cada uno independientemente un átomo de hidrógeno o un átomo de halógeno
 - 10 - el grupo carboxamida en posición 3 incluye una cadena R que representa grupos alquilo lineal ó alquenilo lineal,
- caracterizados porque en la posición 4 del anillo pirazólico hay un átomo de hidrógeno y porque la cadena R del grupo carboxiamida esta formada por un número de átomos de carbono comprendido entre 14 y 20.

15

2.- Derivados pirazólicos de amidas de ácidos grasos como activadores específicos de receptores PPAR-alfa según la reivindicación 1, caracterizado porque dichos derivados son:

- *N*-(Oleil)-5-(4-clorofenil)-1-fenil-1*H*-pirazol-3-carboxamida, **4 (MA06)**

- *N*-(Oleil)-1,5-di-(4-clorofenil)-1*H*-pirazol-3-carboxamida, **5 (MA016)**
- *N*-(Hexadecil)-5-(4-clorofenil)-1-fenil-1*H*-pirazol-3-carboxamida, **6 (MA010)**
- *N*-(Hexadecil)-1,5-di-(4-clorofenil)-1*H*-pirazol-3-carboxamida, **7(MA017)**

5

3.- Procedimiento de preparación de derivados pirazólicos de amidas de ácidos grasos como activadores específicos de receptores PPAR-alfa caracterizado porque incluye las siguientes etapas:

- a) Reacción entre acetofenona y oxalato de dietilo en medio básico para preparar un dicetoéster.
- b) reacción entre el dicetoéster y una arilhidracina en proporciones equimolares durante un periodo de tiempo comprendido entre 24 y 48 horas, para obtener ésteres carboxílicos de pirazoles.
- c) separación del éster carboxílico obtenido en la etapa anterior mediante extracción con éter, lavado con solución de bicarbonato de sodio y agua.
- d) secado del extracto de la etapa anterior y evaporación del disolvente.
- e) transformación en un solo paso de los ésteres carboxílicos de los pirazoles obtenidos y separados en las etapas anteriores mediante reacción con aminas de fórmula general R-NH₂, siendo R una cadena carbonada de entre 14 y 20 átomos de C, en presencia de trimetilaluminio y utilizando diclorometano como disolvente, durante un periodo de tiempo comprendido entre 20 y 48 horas, para obtener los derivados pirazólicos de amidas.
- f) separación de los derivados pirazólicos de amidas obtenidos mediante lavado, secado y evaporación del disolvente.

25

4.- Procedimiento de preparación de derivados pirazólicos de amidas de ácidos grasos como activadores específicos de receptores PPAR-alfa, según

la reivindicación 3, caracterizado porque el dicetoéster utilizado es el 4-clorofenil-1,3-dioxobutanoato de etilo y la arilhidracina es la fenilhidracina.

5 **5.-** Procedimiento de preparación de derivados pirazólicos de amidas de ácidos grasos como activadores específicos de receptores PPAR-alfa, según la reivindicación 3, caracterizado porque el dicetoéster utilizado es el 4-clorofenil-1,3-dioxobutanoato de etilo y la arilhidracina es la clorofenilhidracina.

10 **6.-** Procedimiento de preparación de derivados pirazólicos de amidas de ácidos grasos como activadores específicos de receptores PPAR-alfa según las reivindicaciones 3 y 4, caracterizado porque la amina utilizada es oleilamina.

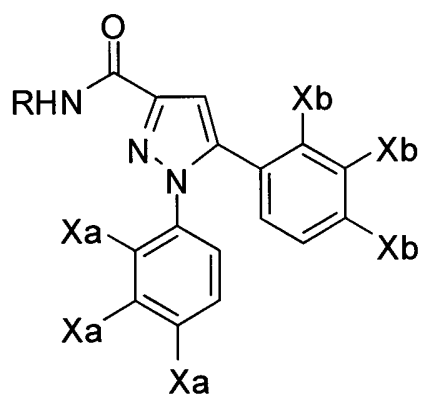
15 **7.-** Procedimiento de preparación de derivados pirazólicos de amidas de ácidos grasos como activadores específicos de receptores PPAR-alfa según las reivindicaciones 3 y 5, caracterizado porque la amina utilizada es oleilamina.

20 **8.-** Procedimiento de preparación de derivados pirazólicos de amidas de ácidos grasos como activadores específicos de receptores PPAR-alfa según las reivindicaciones 3 y 4, caracterizado porque la amina utilizada es hexadecilamina.

25 **9.-** Procedimiento de preparación de derivados pirazólicos de amidas de ácidos grasos como activadores específicos de receptores PPAR-alfa según

las reivindicaciones 3 y 5, caracterizado porque la amina utilizada es hexadecilamina.

- 5 **10.-** Utilización de los derivados pirazólicos de amidas de ácidos grasos según las reivindicaciones 1 y 2 para la preparación de un medicamento destinado a la prevención o tratamiento de una patología mediada por el subtipo alfa de los receptores activados por el proliferador de peroxisomas (PPAR).
- 10 **11.-** Utilización de los derivados pirazólicos de amidas de ácidos grasos según la reivindicación 10 para la preparación de un medicamento para la inducción de saciedad y control de la ingesta, modulación de la grasa corporal y regulación del metabolismo lipídico.
- 15 **12.-** Utilización de los derivados pirazólicos de amidas de ácidos grasos según la reivindicación 10 para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la diabetes, obesidad, síndrome metabólico y enfermedades cardiovasculares.
- 20 **13.-** Utilización de los derivados pirazólicos de amidas de ácidos grasos para la preparación de un compuesto de uso cosmético, particularmente para la reducción de la grasa subcutánea.
- 25 **14.-** Sales, solvatos e hidratos farmacéuticamente aceptables de los derivados pirazólicos de amidas de ácidos grasos según las reivindicaciones 1 y 2

**Figura 1**

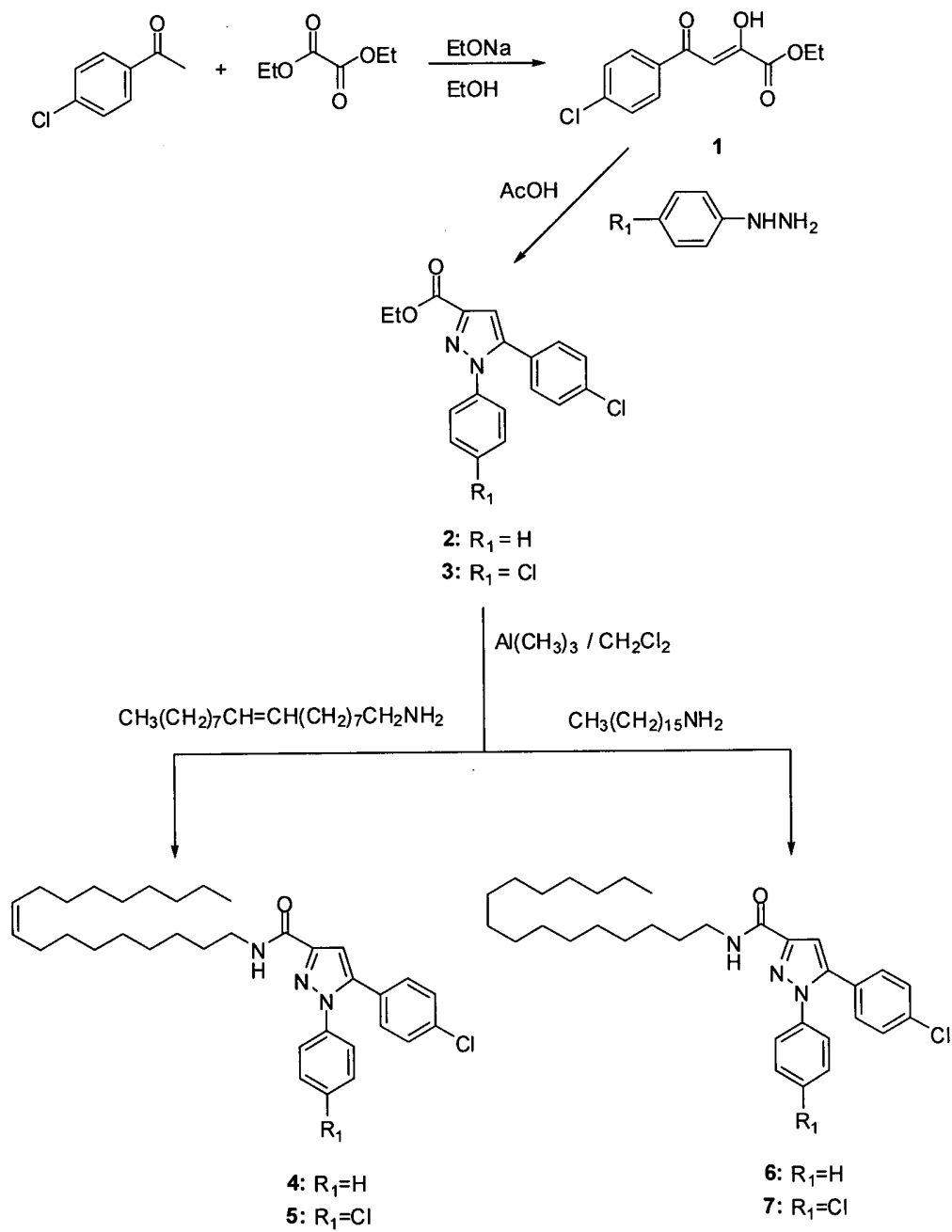
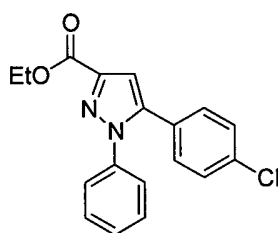
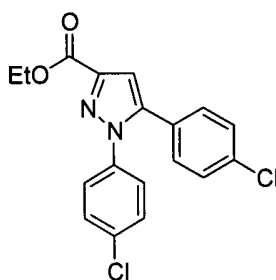
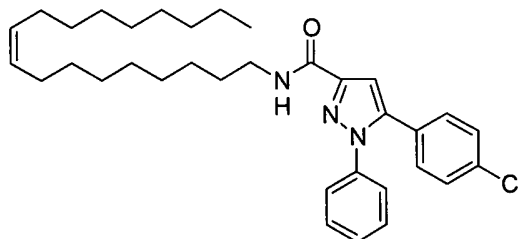
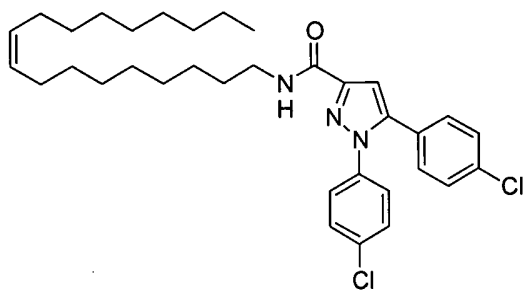
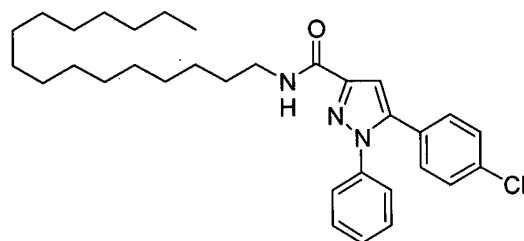
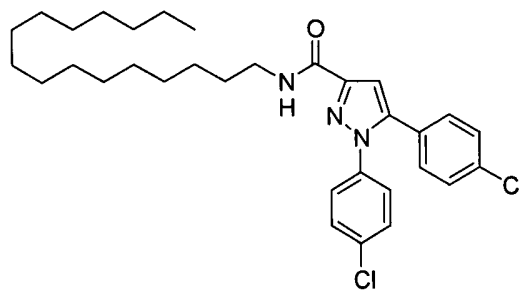


Figura 2

**Figura 3****Figura 4****Figura 5**

**Figura 6****Figura 7****Figura 8**

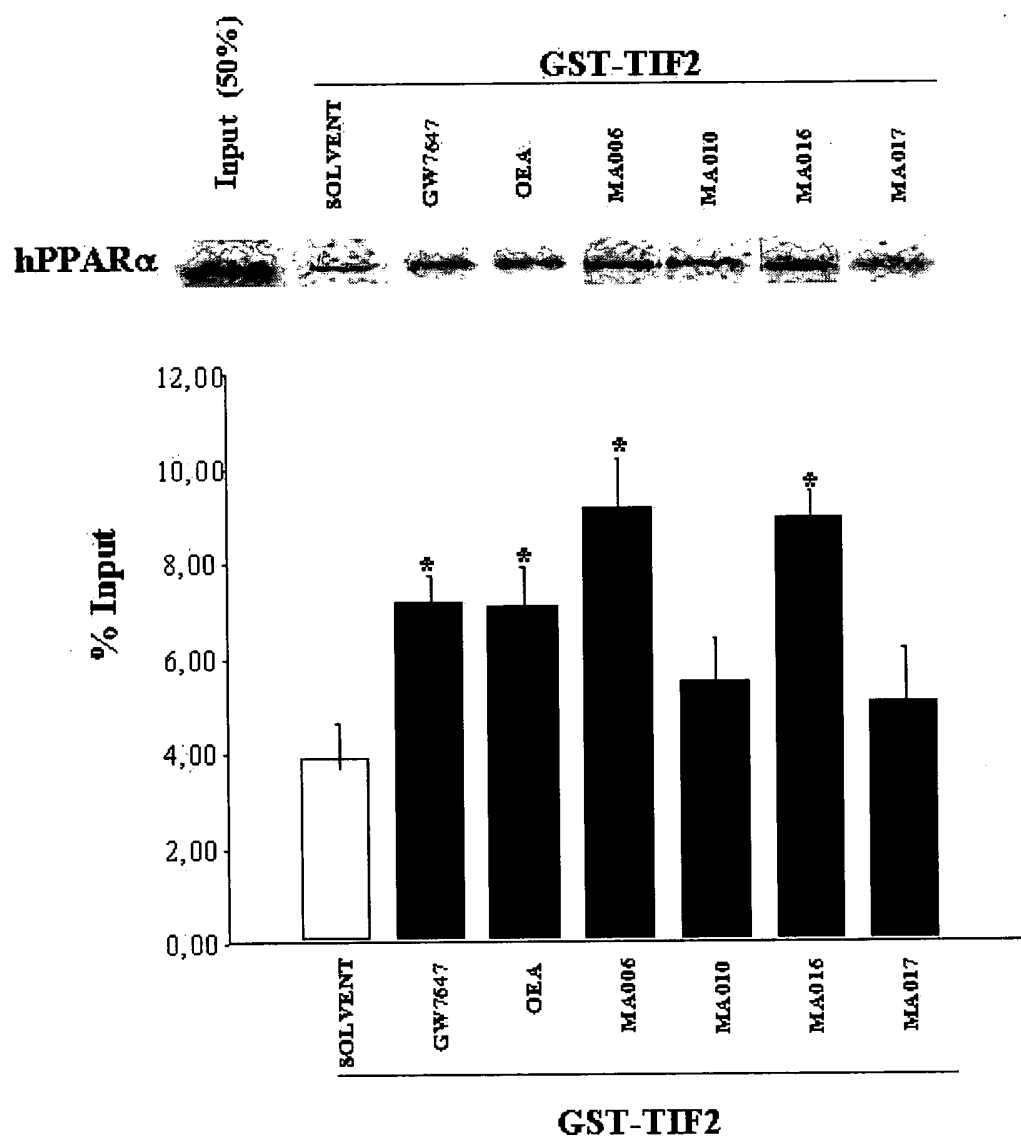
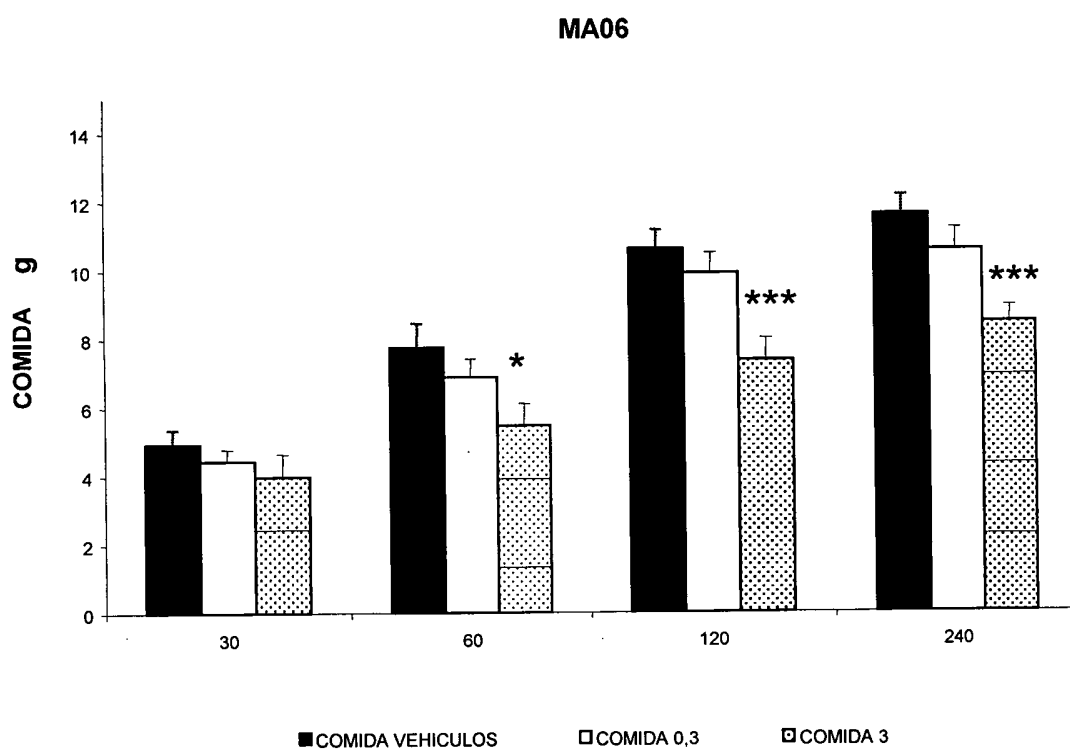
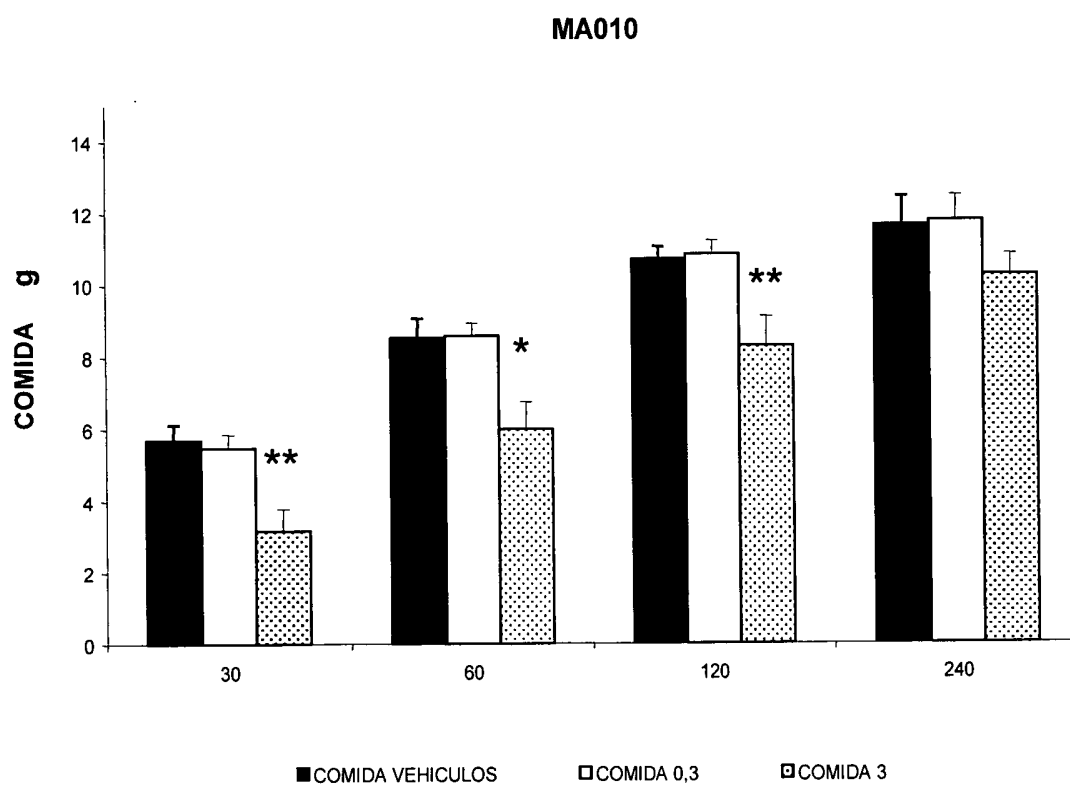
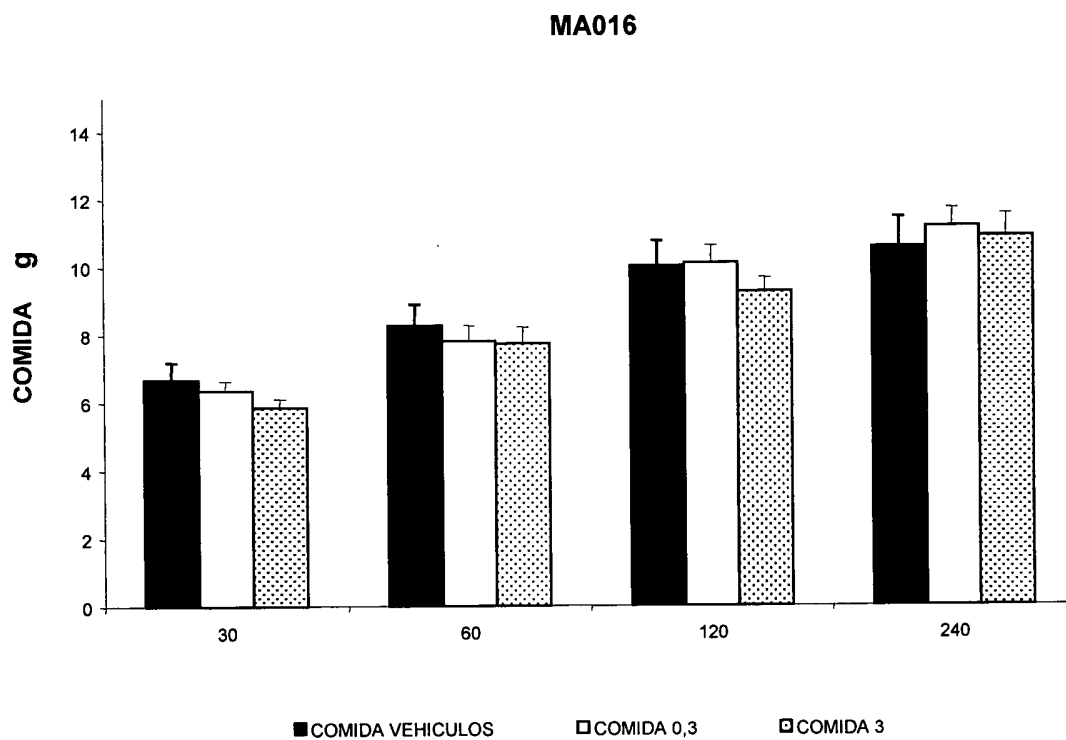
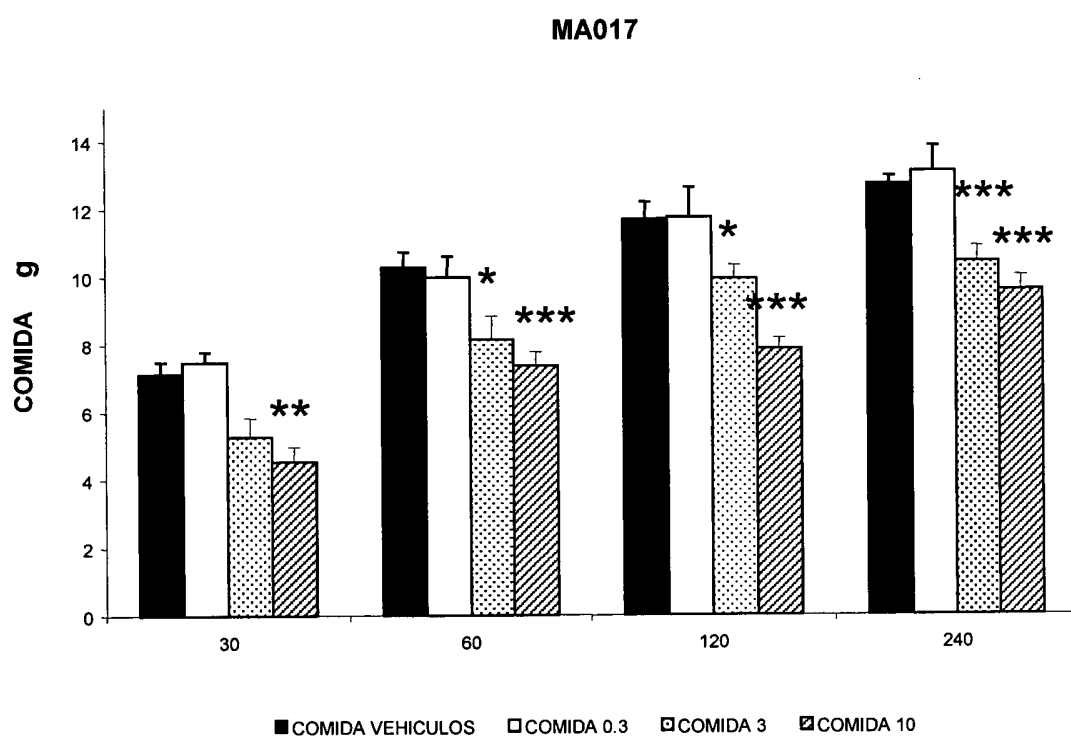


Figura 9

**Figura 10**

**Figura 11**

**Figura 12**

**Figura 13**

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ ES 2008/000653

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

see extra sheet

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

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

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

INVENES,EPODOC, WPI, BEILSTEIN, REGISTRY, HCAPLUS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 20030199536 A (THOMAS BRIAN T. and col.) 23.10.2003, claims 1,9,11; page 9, tab the 4, compuestos BT-5,BT-3,BT-4.	1-14
A	US 6509367 A (MARTIN BILLY R. and col.) 21.01.2003, columns 29,30; tab the 2, compuestos O-1269 and O-1270.	1-14
A	WILEY, J.L. and col. Novthe pyrazole cannabinoids: insights into CB1 receptor recognition and activation. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 2001, Vol. 296, Nº 3, pages 1013-1022, ISSN 0022-3565. Page 1016, tab the 2.	1-14
A	WO 2007028849 A1 (CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS) 15.03.2007. the whole document.	1-14

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T"	later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance.		
"E" earlier document but published on or after the international filing date		
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"X"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"O" document referring to an oral disclosure use, exhibition, or other means	"Y"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
	"&"	document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

03 February 2009 (03.02.2009)

Date of mailing of the international search report

(09/02/2009)

Name and mailing address of the ISA/
O.E.P.M.

Paseo de la Castellana, 75 28071 Madrid, España.
Facsimile No. 34 91 3495304

Authorized officer

E. Albarrán Gómez

Telephone No. +34 91 349 30 38

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES 2008/000653

C (continuation).

DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of documents, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2003018081 A1 (PIOMELLI, D. Y RODRIGUEZ DE FONSECA, F.) 23.01.2003, the whole document.	1-14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/ ES 2008/000653

Patent document cited in the search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2003199536 A	23.10.2003	US 6825209 B CA 2482004 A WO 03088968 A AU 2003223471 A EP 1494673 AB EP 20030719602 AT 404198 T	30.11.2004 30.10.2003 30.10.2003 03.11.2003 12.01.2005 14.04.2003 15.08.2008
US 6509367 B	21.01.2003	NONE	-----
WO 2007028849 A	15.03.2007	ES 2289888 A	01.02.2008
US 2003018081 A	23.01.2003	WO 02080860 A CA 2442683 A AU 2002338329 B US 6911474 B UA 77627 C EP 1408945 A MXPA 03008823 A CN 1523982 A JP 2004526745 T US 2005054730 A US 2005154064 A US 2005187254 A US 2009005447 A	17.10.2002 17.10.2002 07.09.2006 28.06.2005 16.02.2004 21.04.2004 12.08.2004 25.08.2004 02.09.2004 10.03.2005 14.07.2005 25.08.2005 01.01.2009
-----	-----	-----	-----

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ ES 2008/000653

CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D 231/14 (2006.01)

A61K 31/4152 (2006.01)

A61P 3/04 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional N°
PCT/ ES 2008/000653

A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

Ver hoja adicional

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o según la clasificación nacional y CIP.

B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

Otra documentación consultada, además de la documentación mínima, en la medida en que tales documentos formen parte de los sectores comprendidos por la búsqueda

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES,EPODOC, WPI, BEILSTEIN, REGISTRY, HCAPLUS

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones N°
A	US 20030199536 A (THOMAS BRIAN T. y col.) 23.10.2003, reivindicaciones 1,9,11; página 9, tabla 4, compuestos BT-5,BT-3,BT-4.	1-14
A	US 6509367 A (MARTIN BILLY R. y col.) 21.01.2003, columnas 29,30; tabla 2, compuestos O-1269 y O-1270.	1-14
A	WILEY, J.L. y col. Novel pyrazole cannabinoids: insights into CB1 receptor recognition and activation. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 2001, Vol. 296, N° 3, páginas 1013-1022, ISSN 0022-3565. Página 1016, tabla 2.	1-14
A	WO 2007028849 A1 (CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS) 15.03.2007. Todo el documento.	1-14

☒ En la continuación del Recuadro C se relacionan otros documentos

☒ Los documentos de familias de patentes se indican en el Anexo

* Categorías especiales de documentos citados:	"T"	documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.
"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.	"X"	documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.
"E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.	"Y"	documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.
"L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).	"&"	documento que forma parte de la misma familia de patentes.
"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.		
"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.		

Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional.

03 Febrero 2009 (03.02.2009)

Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional

09 de Febrero de 2009 (09/02/2009)

Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional
O.E.P.M.

Paseo de la Castellana, 75 28071 Madrid, España.
N° de fax 34 91 3495304

Funcionario autorizado

E. Albarrán Gómez

N° de teléfono +34 91 349 30 38

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional N°

PCT/ES 2008/000653

C (continuación). DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES		
Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones N°
A	US 2003018081 A1 (PIOMELLI, D. Y RODRIGUEZ DE FONSECA, F.) 23.01.2003, Todo el documento.	1-14

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Información relativa a miembros de familias de patentes

Solicitud internacional N°

PCT/ES 2008/000653

Documento de patente citado en el informe de búsqueda	Fecha de Publicación	Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de Publicación
US 2003199536 A	23.10.2003	US 6825209 B CA 2482004 A WO 03088968 A AU 2003223471 A EP 1494673 AB EP 20030719602 AT 404198 T	30.11.2004 30.10.2003 30.10.2003 03.11.2003 12.01.2005 14.04.2003 15.08.2008
US 6509367 B	21.01.2003	NINGUNO	-----
WO 2007028849 A	15.03.2007	ES 2289888 A	01.02.2008
US 2003018081 A	23.01.2003	WO 02080860 A CA 2442683 A AU 2002338329 B US 6911474 B UA 77627 C EP 1408945 A MXPA 03008823 A CN 1523982 A JP 2004526745 T US 2005054730 A US 2005154064 A US 2005187254 A US 2009005447 A	17.10.2002 17.10.2002 07.09.2006 28.06.2005 16.02.2004 21.04.2004 12.08.2004 25.08.2004 02.09.2004 10.03.2005 14.07.2005 25.08.2005 01.01.2009

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional N°

PCT/ ES 2008/000653

CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

C07D 231/14 (2006.01)

A61K 31/4152 (2006.01)

A61P 3/04 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)