

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 368 199**

51 Int. Cl.:
C07C 233/18 (2006.01)
C07D 307/20 (2006.01)
A61K 31/164 (2006.01)
A61K 31/341 (2006.01)
A61K 31/44 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)
C07C 235/74 (2006.01)
C07C 271/12 (2006.01)
C07C 271/22 (2006.01)
C07D 295/088 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **99929712 .0**
96 Fecha de presentación: **07.07.1999**
97 Número de publicación de la solicitud: **1259478**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **27.11.2002**

54 Título: **DERIVADOS COVALENTES DE ALCANOLAMIDAS DE ÁCIDOS MONOCARBOXÍLICOS Y DICARBOXÍLICOS FUNCIONALMENTE ACTIVOS EN EL RECEPTOR CANNABINOIDE CB2.**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
15.11.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
15.11.2011

73 Titular/es:
INNOVET ITALIA S.R.L.
VIA EGADI, 7
20144 MILANO, IT

72 Inventor/es:
COMELLI, Cristina;
DELLA VALLE, Francesco;
DELLA VALLE, Maria, Federica y
MARCOLONGO, Gabriele

74 Agente: **de Justo Bailey, Mario**

ES 2 368 199 T3

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

DESCRIPCIÓN

Derivados covalentes de alcanolamidas de ácidos monocarboxílicos y dicarboxílicos funcionalmente activos en el receptor cannabinoide CB2

5

Campo de la invención

La presente invención se refiere a derivados novedosos de alcanolamidas de ácidos monocarboxílicos y dicarboxílicos con aminoalcoholes que pueden utilizarse como agonistas del receptor cannabinoide CB2 y, por lo tanto, como fármacos activos en afecciones patológicas que pueden controlarse por estimulación y/o coestimulación de este receptor.

10

Técnica anterior

Los efectos farmacológicos de los cannabinoides fuera del sistema nervioso central, tales como, por ejemplo, efectos hipotensivos vasculares y endoculares y efectos antiasmáticos y relajantes musculares se conocen desde hace algún tiempo pero, debido a los efectos psicomiméticos concomitantes de estas moléculas, su uso terapéutico está limitado al tratamiento de afecciones patológicas muy graves tales como los estados caquéticos asociados al SIDA y en cualquier caso, en situaciones clínicas particularmente controladas (Hollister L.E. Pharmacol. Rev. 1986, 38: 1-20). Con respecto a la multiplicidad de los efectos de los cannabinoides, los mecanismos celulares y moleculares en los que éstos se basan están actualmente en investigación activa.

15

20

Investigaciones recientes han demostrado las funciones de los así llamados receptores cannabinoides CB. De éstos, el receptor CB1, que fue originalmente identificado en el sistema nervioso central (SNC), y el receptor CB2, que se localiza principalmente en células periféricas del sistema inmune y recientemente se ha encontrado en los linfocitos T (Galiegue S. y cols. Eur. J. Pharmacol. 1995, 232: 54-61; Munro S. y cols. Nature 1993, 365: 61-65; Schatz A. R. y cols. Tox. Appl. Pharmacol. 1997, 142: 248-287), se han estudiado en particular.

25

Se considera actualmente que los receptores CB2 puede mediar los efectos de los cannabinoides sobre células del sistema inmune tales como los mastocitos y los linfocitos, por modulación inhibitoria de los niveles de citocinas proinflamatorias que son expresadas y secretadas en exceso por estas células cuando están hiperactivadas por exposición a toxinas tisulares de varios tipos (Matsuda L.A. Cit. Rev. Neurobiol. 1997, 11: 143-146). Por consiguiente, se considera que los agonistas funcionales del receptor CB2, junto con los agonistas funcionales del receptor CB1 que también se han encontrado recientemente en el sistema nervioso periférico (Hohmann A.G. y cols. 1997 Abstract Soc. Neurosci. 23: 1954; Richardson J.D. y cols 1998 J. Neurosci. 18: 451-457) sobre células del sistema inmune (Galiegue S. y cols. Eur. J. Pharmacol. 1995, 232: 54-61) y sobre células de la línea monocitos-macrófagos (Berdyshev E.V. y cols. Eur. J. Pharmacol. 1997, 330: 231-240), tienen asignadas esencialmente las funciones de controlar procesos neuroinmunoinflamatorios (Richardson J.D. y cols. Pain 1998, 75: 111-119; Calignano A. y cols. Nature 1998, 394: 277-281). En estas afecciones, se ha demostrado que la activación funcional sinérgica del receptor CB2 y del receptor CB1 ocasiona el máximo control de los procesos neuroinmunoinflamatorios, incluyendo el fenómeno hiperálgico que frecuentemente acompaña a estos procesos (Calignano A. y cols. Nature 1998, 394: 277-281). Esta sinergia de acción resulta de la activación funcional simultánea de los receptores CB1 y CB2 que se distribuyen y/o expresan de forma distinta, cuantitativamente, en componentes tisulares funcionalmente conectados entre sí en una relación mutua activador-efector, sobre la base de los mediadores químicos liberados de ese modo con estímulo agonista (Calignano A. y cols. Nature 1998, 394: 277-281; Levi-Montalcini R. y cols. TINS 1996, 19: 514-520). Se ha demostrado que la neurocina NGF es un modulador fundamental de los procesos neuroinmunoinflamatorios desencadenados por productos nocivos de diversos tipos, estando muchas de las poblaciones celulares implicadas en estos procesos dependientes de NGF para su supervivencia, maduración, diferenciación y expresión génica (Levi-Montalcini R. y cols. TINS 1996, 19: 514-520). Es un hecho conocido que el receptor -conocido como trk- que tiene una alta afinidad por NGF, se expresa a nivel del sistema nervioso periférico, en los macrófagos tisulares y en diversas líneas celulares con un carácter inmune tales como los mastocitos, células basófilas y linfocitos. También se sabe que estas poblaciones tisulares también expresan los receptores cannabinoides CB1 y CB2, aunque con un patrón cuantitativo diferente (Galiegue S. y cols. Eur. J. Pharmacol. 1995, 232: 54-61).

30

35

40

45

50

55

Resultados recientes demuestran un papel protector del receptor CB2 en procesos neurodegenerativos mediados por aminoácidos excitotóxicos (Skaper S.D. y cols. Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 1996, 93: 3984-3989). También se ha descubierto muy recientemente que la proteína vírica gp120 del virus VIH responsable del SIDA puede estimular, por interacción con un "supersitio" específico que está presente en una región bien conservada del virus y que puede actuar de este modo como un "superantígeno" (Patella V. y cols. J. Immunol. 1998, 161: 5647-5655), la liberación diferencial desde el mastocito de citocinas específicas -en particular IL4 y IL13- que a su vez son responsables de la maduración y la consiguiente prevalencia de las células Th2 del sistema inmune, por medio de las que el virus encuentra las mejores condiciones de propagación (Marone G. - Artículo para el Congreso de Roma 5-7 de marzo de 1999 - Accademia Nazionale dei Lincei). También se ha demostrado que las células Th2 del sistema inmune (con especial referencia al clon CD4+) expresan el receptor trk que tiene una alta afinidad por NGF y ellas mismas producen NGF como resultado de la estimulación antigénica (Ehrhard P.B. y cols. 1993 Proc. Acad. Sci. EE.UU., 90:

60

65

10984-10988).

Recientemente se ha demostrado que el NGF facilita y refuerza la expresión génica y la replicación del virus VIH (Ensolí F. y cols 1994 (Virology, 200: 668-676)). Los niveles de neuroquina NGF en el suero de pacientes que padecen SIDA son particularmente altos y contribuyen al avance de la enfermedad (Pica F. y cols. AIDS 1998, 12: 2025-2029). Recientemente se ha demostrado que, en condiciones de estimulación antigénica, los niveles elevados de NGF refuerzan el retorno, la proliferación y la diferenciación tisular de los monocitos circulantes a macrófagos. También se sabe que los macrófagos, por medio de quimiorreceptores adecuados, son reservorios tisulares del virus y elementos de tropismo aumentado para los linfocitos T en los sitios de inflamación donde la propagación del VIH está ampliamente facilitada (Di Marzio P. y cols. AIDS Res. H. Retrov. 1998, 14: 129-138; Gurwitz D. y cols. Mol. Med. Today 1998, 4: 196-200). Recientemente se ha demostrado que, como resultado de la estimulación antigénica, los endocannabinoides funcionalmente activos en los receptores CB1 y CB2 modulan de forma distinta la expresión y/o la secreción de citocinas proinflamatorias tales como, por ejemplo, IL4, por los monocitos/macrófagos (Berdishev E.V. y cols. Eur. J. Pharmacol. 1997, 330: 231-240). También se sabe que, no sólo los niveles séricos, sino también los niveles tisulares de NGF son particularmente altos durante los procesos neuroinmunoinflamatorios (Levi-Montalcini R. TINS 1996, 19: 514-520). El mastocito es la sede de la síntesis, almacenamiento y liberación de NGF biológicamente activo que es liberado fácilmente por el mastocito en respuesta a estímulos neurogénicos e inmunogénicos (Leon A. y cols. Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU., 91: 3739-3743). Tanto el estímulo antigénico representado por la proteína vírica gp120, como también el estímulo neurogénico representado por la sustancia P que se libera a nivel endotelial en condiciones de exposición al virus VIH (Annunziata P. y cols AIDS 1998, 12: 2377-2385) son activadores de la hiperdesgranulación de mastocitos. En condiciones de hiperactivación de mastocitos, se conoce la sensibilización de fibras nociceptivas mediadas por NGF con un aumento en los niveles de sustancia P liberada a nivel de las terminaciones nerviosas periféricas. Se sabe que esta liberación de transmisores puede tener lugar de forma ortodrómica por reflejo axonal, o directamente a nivel periférico por medio de un ligando endógeno aún no identificado (Biro T. y cols. J. Invest. Dermatol. 1997, 2: 56-60), debido a la activación de receptores vainilloides adecuados -conocidos como VR- localizados tanto en las terminaciones nerviosas como directamente sobre el mastocito (Biro T. y cols. Blood 1998, 91: 1332-1340).

En condiciones de hiperactivación del mastocito por estímulos neurogénicos e inmunogénicos también se sabe que la activación funcional del receptor CB2 expresado por el mastocito ocasiona una modulación inhibitoria de la expresión y de la secreción de mediadores contenidos en él (Facci L. y cols. Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 1995, 92: 3376-3380). También se sabe que la activación funcional del receptor CB1 por moléculas de amida de N-acilvainillina reduce la sensibilización inducida por NGF sobre líneas celulares específicas que coexpresan el receptor cannabinoide CB1 (Bisogno T. y cols. 1998 Patente N° MI98A002064). También se ha demostrado que esta desensibilización depende de una modulación inhibitoria de los niveles de receptor trk expresados por las líneas celulares específicas por las moléculas de amida de N-acilvainillina anteriormente mencionadas (Di Marzo y cols. PNAS 1999, presentado). Estas moléculas de amida de N-acilvainillina, que son agonistas funcionales del receptor CB1, dada su estructura química, también ocasionan una ocupación funcional del receptor vainilloide VR que resulta en un refuerzo significativo del efecto desensibilizador del NGF provocado por la activación funcional del receptor CB1 por medio de amida de N-acilvainillina (Di Marzo y cols PNAS, 1999, presentado).

Hasta el momento, no se ha conocido ni la actividad de las moléculas funcionalmente agonistas del receptor CB2 y de las moléculas funcionalmente agonistas del receptor CB1, ni la sinergia entre estas acciones a nivel de las interacciones entre los mastocitos y los linfocitos Th2 resultantes de la estimulación inducida por la proteína vírica gp120 sobre los mastocitos. Se ha descubierto recientemente que las moléculas con una estructura de tipo amida de N-acilvainillina que se ha encontrado que son capaces de actuar como agonistas funcionales del receptor cannabinoide periférico CB1, tienen una actividad fuertemente sinérgica con moléculas que pueden actuar como agonistas funcionales del receptor CB2 expresado por el mastocito (Bisogno T. y cols. solicitud de patente italiana N° MI98A002064), tales como las moléculas descubiertas por los autores de esta patente.

Moléculas específicamente capaces de modular el receptor cannabinoide periférico CB2, amidas y ácidos bicarboxílicos alifáticos con aminoalcoholes y aminoéteres se divulgan en el documento WO96/18391.

También se sabe que la biodisponibilidad de compuestos con escasa solubilidad tanto en un ambiente acuoso como en un ambiente lipídico -un elemento esencial para los fines de manifestación de un efecto biológico importante-, a menudo está muy limitada y es muy variable y, en cualquier caso tal como para constituir un problema a evaluarse con cuidado con miras a su uso para fines terapéuticos.

La biodisponibilidad está de hecho influenciada por diversos factores y, en primer lugar, por las características químicas y físicas del compuesto. El tamaño de la molécula, su carga, su capacidad para unirse o mezclarse con compuestos endógenos tales como sales biliares, proteínas plasmáticas o lípidos plasmáticos o linfáticos, su estabilidad en el pH ácido de los jugos gástricos, por ejemplo, están entre los factores que pueden influir ampliamente en la biodisponibilidad de un compuesto.

Más generalmente, un cierto grado de solubilidad en un medio acuoso favorece tanto su rápida disolución en los fluidos biológicos como su posterior contacto con las membranas celulares, a través de las que difunden después como resultado de procesos de transporte activo o pasivo; la solubilidad en agua sola, sin embargo, no asegura per

se la biodisponibilidad óptima.

Para conseguir este objetivo, un compuesto también debe tener un cierto grado de liposolubilidad que le permita tener una interacción eficaz con las membranas plasmáticas celulares que constituyen barreras que deben atravesar por difusión pasiva. De hecho, puesto que, en los tejidos, existe un sistema de "disolventes" formado por lípidos de las membranas celulares y por los líquidos intersticiales y citoplasmáticos, la absorción representa un proceso extremadamente complejo que es dependiente de las características químicas y físicas del compuesto; aunque, por un lado, la liposolubilidad favorece el paso del compuesto a través de las membranas celulares, por otro lado, este paso está controlado y depende proporcionalmente de la concentración del compuesto en la fase acuosa, que está también en parte correlacionada con su capacidad para ionizarse en un medio fisiológico.

Sumario de la invención

Los autores de la presente solicitud de patente han encontrado ahora que los derivados novedosos de alcanolamidas de ácidos monocarboxílicos y dicarboxílicos con aminoalcoholes pueden utilizarse como fármacos con coeficientes de reparto lípido/agua y/o con niveles de solubilidad que son claramente favorables a la interacción con membranas biológicas. En los derivados covalentes novedosos de la invención, que se ha encontrado que son sorprendentemente estables, el hidrógeno del residuo alcohólico de la alcanolamina está sustituido con grupos específicos que pueden dar un enlace covalente con el oxígeno.

Se ha encontrado que los fármacos novedosos son funcionalmente activos, como tales, sobre el receptor cannabinoide CB2, mientras que son inactivos sobre el receptor CB1. También se ha mostrado una clara sinergia de acción entre los compuestos mencionados y las moléculas de un carácter amida de N-acilvainillina que son funcionalmente activas sobre el receptor CB1.

Un objeto adicional de la presente invención es el uso de los compuestos covalentes novedosos anteriormente mencionados -solos o en asociación con moléculas de amida de N-acilvainillina activas sobre el receptor periférico CB1- para la preparación de composiciones farmacéuticas para uso humano y veterinario, que son eficaces para el tratamiento de las siguientes afecciones patológicas: afecciones inmunoinflamatorias de diversas regiones tisulares, afecciones neurodegenerativas, afecciones debidas a la propagación de virus oportunistas, así como afecciones patológicas en las que se observa un efecto no psicomimético de cannabinoides; y sus composiciones para administración por diversas vías, incluidas las vías parenteral, endovenosa, intramuscular y subcutánea, la vía gastroentérica, las vías dérmica tópica y de membrana mucosa y las vías transdérmica, oftálmica y nasopulmonar.

Descripción detallada de la invención

La presente invención hace referencia a los siguientes compuestos:

- N-[2-(etoxicarbonil)oxietil]hexadecanamida;
- N-[2-(isobutiloxicarbonil)oxietil]hexadecanamida;
- N-[3-(etoxicarbonil)oxipropil]hexadecanamida;
- N,N¹-bis[2-(etoxicarbonil)oxietil]nonandiamida;
- N-[2-(bencilaminocarbonil)oxietil]hexadecanamida;
- N-[2-((etoxicarbonilmetil)aminocarbonil)oxietil] hexadecanamida;
- N-[2-[(2-piperidinoetoxi)carbonil]oxietil]hexadecanamida;
- metanosulfonato de N-[2-[(2-piperidinoetoxi)carbonil]oxietil]hexadecanamida;
- éter tetrahidrofuranílico de N-[2-(hidroxietil)hexadecanamida;
- éter tetrahidrofuranílico de N, N¹-bis(2-hidroxietil)nonandiamida;
- éter tetrahidropiranílico de N-[2-(hidroxietil)hexadecanamida;
- éter tetrahidropiranílico de N, N¹-bis(2-hidroxietil)nonandiamida;
- N-[2-(etoxicarbonil)oxietil]oleilamida.

Preparación de los compuestos de la invención

Los compuestos de la invención pueden prepararse haciendo reaccionar un intermedio seleccionado de entre:

- N-(2-hidroxietil) hexadecanamida,
- 5 - N-(3-hidroxipropil) hexadecanamida,
- N,N¹-bis (2-hidroxietil) nonandiamida,
- N-[2-[(2-piperidinoetoxi)carbonil]oxietil] hexadecanamida,
- 10 - N-bis(2-hidroxietil) hexadecanamida,
- N-(2-hidroxietil) oleoilamida, con un compuesto X' seleccionado de entre:
- 15 - cloroformiato de etilo,
- cloroformiato de isobutilo,
- cloroformiato de (2-bromoetilo),
- 20 - bencilisocianato,
- acetato isocianato de etilo,
- ácido metanosulfónico,
- 25 - metanosulfonato de piridinio.

La reacción para la condensación de los intermedios anteriormente mencionados con los compuestos X' generalmente se lleva a cabo en un disolvente inerte y preferentemente a una temperatura de entre -10°C y el punto de ebullición del disolvente utilizado.

Una base orgánica tal como, por ejemplo, una amina terciaria, o una base inorgánica tal como un carbonato o un bicarbonato de un metal alcalino o un metal alcalinotérreo también puede utilizarse de forma ventajosa.

35 Alternativamente, cuando el compuesto X' contiene un grupo carbonilo que está destinado a reaccionar con el grupo hidroxilo del intermedio, este grupo carbonilo puede activarse para la condensación en una forma conocida, por ejemplo, transformándolo en un éster de hidroxisuccinimida o en un anhídrido mixto, o llevando a cabo la reacción de condensación en presencia de un agente de condensación tal como una carbodiimida.

40 Los compuestos X' son conocidos y/o están comercialmente disponibles o pueden prepararse a partir de productos conocidos y/o comercialmente disponibles de acuerdo con procedimientos bien conocidos por un experto en la técnica.

45 Los intermedios pueden prepararse como se describe en los documentos EP 0 550 008, EP 0 550 006 y EP 0 570 714 que se incorporan al presente documento por referencia.

La preparación de los compuestos de la invención se describe adicionalmente por los siguientes ejemplos de preparación.

50 **Ejemplo 1: Preparación de N-[2-(etoxicarbonil)oxietil] hexadecanamida (PEA-EC)**

Se disolvieron 3,0 g de N-(2-hidroxietil) hexadecanamida (10 mmoles) en 75 ml de tetrahidrofurano (THF) a 45°C con agitación. Se añadieron 1,11 g de N-metilmorfolina (11 mmoles) y 1,19 g de cloroformiato de etilo (11 mmoles) y la mezcla resultante se agitó durante 3 horas adicionales a temperatura ambiente. La mezcla se evaporó después hasta sequedad a vacío. El residuo se llevó a 50 ml de agua y se extrajo 3 veces con 30 ml de acetato de etilo; las fases orgánicas se lavaron dos veces con 20 ml de agua, se recombinaron y se evaporaron a sequedad. El residuo se cristalizó a partir de 30 ml de éter terc-butilmetílico. El cristalizado se separó por filtración, se lavó dos veces con 5 ml de éter terc-butilmetílico frío y finalmente se secó a un alto grado de vacío. El rendimiento de la reacción fue del 93%.

60 El producto N-[2-(etoxicarbonil)oxietil] hexadecanamida tenía las siguientes características químicas y físicas:

fórmula empírica:	C ₂₁ H ₄₁ NO ₄
peso de la fórmula:	371,57
composición elemental:	C = 67,88%; H = 11,12%;

solubilidad en agua:	N = 3,77%,
solubilidad en disolventes orgánicos:	O = 17,22% ligeramente soluble
punto de fusión:	10 mg/ml en etanol,
CCF en acetato de etilo al 100%:	acetato de etilo y n-octanol
CCF en heptano/isopropanol/acetato de etilo/agua (40:20:50:2):	71-73°C Rf = 0,62
	Rf = 0,70

Ejemplo 2: Preparación de N-[2-(isobutiloxycarbonil)oxietil] hexadecanamida (PEA-IBC)

5 Se disolvieron 3,0 g de N-(2-hidroxietil) hexadecanamida (10 mmoles) en 75 ml de tetrahidrofurano (THF) a 45°C con agitación. Se añadieron 1,11 g de N-metilmorfolina (11 mmoles) y 1,502 g de cloroformiato de isobutilo (11 mmoles) y la mezcla resultante se agitó durante 3 horas adicionales a temperatura ambiente. La mezcla se evaporó después a sequedad a vacío. El residuo se llevó a 50 ml de agua y se extrajo 3 veces con 30 ml de acetato de etilo; las fases orgánicas se lavaron dos veces con 20 ml de agua, se recombinaron y se evaporaron a sequedad. El residuo se cristalizó a partir de 30 ml de éter terc-butilmetílico frío y finalmente se secó en un alto grado de vacío. El rendimiento de la reacción fue del 95%.

10 El producto N-[2-(isobutiloxycarbonil)oxietil] hexadecanamida tenía las siguientes características químico-físicas:

fórmula empírica:	$C_{23}H_{45}NO_4$
peso de la fórmula:	399,62
composición elemental:	C = 69,13%; H = 11,35%; N = 3,50%; O = 16,02%
solubilidad en agua:	ligeramente soluble
solubilidad en disolventes orgánicos:	1 mg/ml en acetato de etilo, 10 mg/ml en etanol, y n-octanol, caliente
punto de fusión:	65-67°C
CCF en acetato de etilo al 100%:	Rf = 0,66
CCF en heptano/isopropanol/acetato de etilo/agua (40:20:50:2):	Rf = 0,73

15 Ejemplo 3: Preparación de N-[3-(etoxicarbonil)oxipropil] hexadecanamida (PPA-EC)

20 Se suspendieron 3,14 g de N-(3-hidroxipropil) hexadecanamida (10 mmoles) en 75 ml de tetrahidrofurano (THF) a 45°C con agitación. Se añadieron 1,11 g de N-metilmorfolina (11 mmoles) y 1,19 g de cloroformiato de etilo (11 mmoles) y la mezcla resultante se agitó durante otras 3 horas a temperatura ambiente. La mezcla se evaporó después hasta sequedad a vacío. El residuo se llevó a 50 ml de agua y se extrajo 3 veces con 30 ml de acetato de etilo; las fases orgánicas se lavaron dos veces con 20 ml de agua, se recombinaron y se evaporaron a sequedad. El residuo se cristalizó a partir de 30 ml de éter terc-butilmetílico. El cristalizado se separó por filtración, se lavó dos veces con 5 ml de éter terc-butilmetílico frío y finalmente se secó en un alto grado de vacío. El rendimiento de la reacción fue del 92%.

25 El producto (N-[3-(etoxicarbonil)oxipropil] hexadecanamida tenía las siguientes características químico-físicas:

fórmula empírica:	$C_{22}H_{43}NO_4$
peso de la fórmula:	385,59
composición elemental:	C = 68,53%; H = 11,24%; N = 3,63%; O = 16,60%
solubilidad en agua:	ligeramente soluble
solubilidad en disolventes orgánicos:	10 mg/ml en etanol, acetato de etilo y n-octanol
punto de fusión:	66-68°C
CCF en acetato de etilo al 100%:	Rf = 0,61
CCF en heptano/isopropanol/acetato de etilo/agua (40:20:50:2):	Rf = 0,68

30 Ejemplo 4: Preparación de N,N¹-bis[2-(etoxicarbonil)oxietil] nonandiamida (ADM-EC)

Se disolvieron 1,37 g de N,N¹-bis (2-hidroxietil) nonandiamida (5 mmoles) en 20 ml de piridina anhidra. La disolución

se enfrió hasta 4°C y se suplementó con 1,19 g de cloroformiato de etilo (11 mmoles); la mezcla resultante se agitó durante 1 hora a 4°C y después durante 3 horas a temperatura ambiente. La mezcla se evaporó después hasta sequedad a vacío. El residuo se llevó a 50 ml de agua y se extrajo 3 veces con 30 ml de acetato de etilo; las fases orgánica se lavaron dos veces con 10 ml de agua, se recombinaron y se evaporaron a sequedad. El residuo se cristalizó dos veces, primero a partir de 20 ml de acetato de etilo y posteriormente a partir de 20 ml de éter terc-butilmetílico. El cristalizado se separó por filtración, se lavó dos veces con 5 ml de éter terc-butilmetílico frío y finalmente se secó en un alto grado de vacío. El rendimiento de la reacción fue del 88%.

El producto, N,N¹-bis[2-(etoxicarbonil)oxietil] nonandiamida tenía las siguientes características químicas y físicas:

fórmula empírica:	C ₁₉ H ₃₄ N ₂ O ₈
peso de la fórmula:	418,5
composición elemental:	C = 54,53%; H = 8,19%; N = 6,69%; O = 30,59%
solubilidad en agua:	ligeramente soluble
solubilidad en disolventes orgánicos:	10 mg/ml en etanol, DMSO
punto de fusión:	78-80°C
CCF en acetato de etilo al 100%:	Rf = 0,75
CCF en tolueno/etanol/ácido acético (63:30:5)	Rf = 0,52

Ejemplo 5: Preparación de N-[2-bencilaminocarbonil]oxietil] hexadecanamida (PEA-BCM)

Se suspendieron 3,0 g de N-(2-hidroxietil) hexadecanamida (10 mmoles) en 60 ml de tolueno anhidro; la mezcla se agitó y se calentó con reflujo del disolvente sobre tamices moleculares anhidros de 4 Å con recirculación. Se añadieron 3,0 ml de bencilisocianato y la mezcla resultante se calentó con reflujo durante 6 horas. Se añadieron después 2 ml de metanol y se continuó la calefacción a temperatura durante un hora más. El producto cristalizó como resultado del enfriamiento a temperatura ambiente. El cristalizado se separó por filtración, se lavó dos veces con 5 ml de tolueno frío y finalmente se secó en un alto grado de vacío. El rendimiento de la reacción fue del 94%.

El producto, N-[2-bencilaminocarbonil]oxietil] hexadecanamida tenía las siguientes características químicas y físicas:

fórmula empírica:	C ₂₆ H ₄₄ N ₂ O ₃
peso de la fórmula:	432,65
composición elemental:	C = 72,18%; H = 10,25%; N = 6,48%; O = 11,09%
solubilidad en agua:	ligeramente soluble
solubilidad en disolventes orgánicos:	10 mg/ml en acetato de etilo y n-octanol, caliente
punto de fusión:	126,5
CCF en acetato de etilo al 100%:	Rf = 0,47
CCF en heptano/isopropanol/acetato de etilo/agua (40:20:50:2):	Rf = 0,65

Ejemplo 6: Preparación de N-[2-(etoxicarbonilmetil) aminocarbonil] oxietil] hexadecanamida (PEA-EGC)

Se suspendieron 3,0 g de N-(2-hidroxietil) hexadecanamida (10 mmoles) en 60 ml de tolueno anhidro; la mezcla se agitó y se calentó con reflujo del disolvente sobre tamices moleculares anhidros de 4 Å con recirculación. Se añadieron 3,0 g de acetato isocianato de etilo y la mezcla resultante se calentó con reflujo durante 6 horas. La mezcla se enfrió después hasta 4°C. El cristalizado formado se separó por filtración y se cristalizó a partir de 20 ml de tolueno, frío; después se separó de nuevo por filtración, se lavó dos veces con 5 ml de tolueno frío y finalmente se secó en un alto grado de vacío. El rendimiento de la reacción fue del 92%.

El producto, N-[2-[(etoxicarbonilmetil)aminocarbonil] oxietil] hexadecanamida tenía las siguientes características químicas y físicas:

fórmula empírica:	C ₂₃ H ₄₄ N ₂ O ₅
peso de la fórmula:	428,62
composición elemental:	C = 64,45%; H = 10,35%; N = 6,54%; O = 18,66%
solubilidad en agua:	ligeramente soluble
solubilidad en disolventes orgánicos:	10 mg/ml en etanol, n-octanol, caliente
punto de fusión:	105-106°C

CCF en acetato de etilo al 100%:	Rf = 0,40
CCF en heptano/isopropanol/acetato de etilo/agua (40:20:50,2):	Rf = 0,58

Ejemplo 7: Preparación de N-[2-[(2-piperidinoetoxi) carbonil] oxietil] hexadecanamida (PEA-PEC)

5 Se disolvieron 3,0 g de N-(2-hidroxietil) hexadecanamida (10 mmoles) en 60 ml de tetrahidrofurano (THF) en una atmósfera de N₂ anhidra. Se añadieron 1,11 g de N-metilmorfolina (11 mmoles) y la mezcla se suplementó adicionalmente con 1,88 g de cloroformiato de (2-bromoetilo) (10 mmoles) lentamente, gota a gota, durante un periodo de 30 minutos. La mezcla resultante se mantuvo a temperatura ambiente con agitación durante 3 horas adicionales y después se evaporó a sequedad. El residuo se llevó a 20 ml de agua y se extrajo 3 veces con 20 ml de acetato de etilo. Las fases orgánicas se lavaron dos veces con 20 ml de agua, se recombinaron y se evaporaron a sequedad. El residuo se llevó a 50 ml de tetrahidrofurano anhidro y se suplementó con 1,70 g de piperidina (20 mmoles). La mezcla se calentó a reflujo con agitación durante 6 horas; después se enfrió hasta temperatura ambiente y se suplementó con 20 ml de agua y 60 ml de acetato de etilo. La fase acuosa se desechó, la fase orgánica se lavó con 10 ml de una disolución de NH₃ 2M fría y después con 20 ml de agua fría. Las fases acuosas se desecharon y la fase orgánica se evaporó a sequedad. El residuo se cristalizó a partir de 30 ml de acetato de etilo frío. El cristalizado se separó por filtración, se lavó dos veces con 5 ml de acetato de etilo frío y finalmente se secó en un alto grado de vacío. El rendimiento de la reacción fue del 89%.

El producto, N-[2-[(2-piperidinoetoxi)carbonil]oxietil] hexadecanamida tenía las siguientes características químicas y físicas:

20 fórmula empírica:	C ₂₆ H ₅₀ N ₂ O ₄
peso de la fórmula:	454,70
composición elemental:	C = 68,68%; H = 11,08%; N = 6,16%; O = 14,08%
solubilidad en agua:	ligeramente soluble
solubilidad en disolventes orgánicos:	10 mg/ml en etanol,
CCF en acetato de etilo al 100%:	65-67°C
punto de fusión:	Rf = 0,05
CCF en tolueno/etanol/ácido acético (65:30:5):	Rf = 0,11

Ejemplo 8: Preparación de metanosulfonato de N-[2-[(2-piperidinoetoxi)-carbonil]oxietil] hexadecanamida (PEA-PECMetS)

25 Se disolvieron 4,5 g de N-[2-[(2-piperidinoetoxi)carbonil]oxietil] hexadecanamida en 50 ml de etanol anhidro y se suplementaron con 0,96 g de ácido metanosulfónico, frío. La mezcla se evaporó a sequedad y el residuo se llevó a 100 ml de agua destilada. La disolución se congeló y liofilizó.

El producto, metanosulfonato de N-[2-[(2-piperidinoetoxi)carbonil]oxietil] hexadecanamida tenía las siguientes características químicas y físicas:

30 fórmula empírica:	C ₂₇ H ₂₄ N ₂ O ₇ S
peso de la fórmula:	550,82
composición elemental:	C = 58,88%; H = 9,88%; N = 5,09%; O = 20,23%; S = 5,82%
solubilidad en agua:	10 mg/ml
solubilidad en disolventes orgánicos:	10 mg/ml en etanol y DMSO
punto de fusión:	n.d.
CCF en tolueno/etanol/ácido acético (65:30:5):	Rf = 0,11

Ejemplo 9: Preparación del éter tetrahidrofuranílico de N-(2-hidroxietil) hexadecanamida (PEA-THF)

35 Se suspendieron 3,0 g de N-(2-hidroxietil) hexadecanamida (10 mmoles) en 20 ml de 2,3-dihidrofurano y se enfrió hasta 4°C. La mezcla se suplementó con 200 mg de metanosulfonato de piridinio con agitación continua y después se calentó a 50°C durante 60 minutos. La mezcla se llevó a temperatura ambiente, se suplementó con 50 ml de acetato de etilo y se extrajo dos veces con 10 ml de agua fría. Las fases acuosas se separaron y desecharon y la fase orgánica se evaporó a sequedad a vacío. El residuo se cristalizó a partir de 20 ml de éter terc-butilmetílico. El cristalizado se separó por filtración, se lavó dos veces con 4 ml de éter terc-butilmetílico frío y finalmente se secó en un alto grado de vacío. El rendimiento de la reacción fue del 90%.

El producto, el éter tetrahidrofuranílico de N-(2-hidroxietil) hexadecanamida tenía las siguientes características químicas y físicas:

fórmula empírica:	$C_{22}H_{43}NO_3$
peso de la fórmula:	369,59
composición elemental:	C = 71,50%; H = 11,73%; N = 3,97%; O = 12,99%
solubilidad en agua:	ligeramente soluble
solubilidad en disolventes orgánicos:	10 mg/ml en etanol y DMSO
punto de fusión:	63-65°C
CCF en acetato de etilo al 100%:	Rf = 0,41
CCF en heptano/isopropanol/acetato de etilo/agua (40:20:50:2):	Rf = 0,62

5 Ejemplo 10: Preparación del éter tetrahidrofuranílico de N,N¹-bis(2-hidroxietil) nonandiamida (ADM-THF)

10 Se suspendieron 1,37 g de N,N¹-bis (2-hidroxietil) nonandiamida (5 mmoles) en 6 ml de 2,3-dihidrofurano. La mezcla se agitó a 4°C y se suplementó con 60 mg de metanosulfonato de piridinio; la mezcla se calentó después a 50°C durante 60 minutos. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente, se suplementó con 30 ml de acetato de etilo y se extrajo dos veces con 5 ml de agua fría. Las fases acuosas se separaron y desecharon y las fases orgánicas se evaporaron a sequedad a vacío. Después del secado minucioso en un alto grado de vacío, el residuo se dispersó en frío con 5 ml de éter terc-butilmetílico. El sólido pulverulento obtenido de este modo se separó por filtración, se lavó dos veces con 2 ml de éter terc-butilmetílico frío y finalmente se secó en un alto grado de vacío. El rendimiento de la reacción fue del 94%.

15 El producto, el éter tetrahidrofuranílico de N,N¹-bis(2-hidroxietil) nonandiamida tenía las siguientes características químicas y físicas:

fórmula empírica:	$C_{21}H_{38}N_2O_6$
peso de la fórmula:	414,55
composición elemental:	C = 60,84%; H = 9,24%; N = 6,76%; O = 23,16%
solubilidad en agua:	10 mg/ml en agua
solubilidad en disolventes orgánicos:	10 mg/ml en etanol y DMSO
punto de fusión:	58-60°C
CCF en acetonitrilo/agua (9:1)	Rf = 0,52
CCF en tolueno/etanol/ácido acético (65:30:5):	Rf = 0,44

20 Ejemplo 11: Preparación del éter tetrahidropiranílico de N-(2-hidroxietil) hexadecanamida (PEA-THP)

25 Se suspendieron 3,0 g de N-(2-hidroxietil) hexadecanamida (10 mmoles) en 20 ml de 3,4-dihidropirano y se enfriaron hasta 4°C. Se añadieron 200 mg de metanosulfonato de piridinio y la mezcla se agitó a 50°C durante 60 minutos. La mezcla se llevó después a temperatura ambiente, se suplementó con 50 ml de acetato de etilo y se extrajo dos veces con 10 ml de agua fría. Las fases acuosas se separaron y desecharon y la fase orgánica se evaporó a sequedad con rotación. El residuo se llevó a 20 ml de éter de petróleo y se cristalizó. El cristalizado se separó por filtración, se lavó dos veces con 4 ml de éter de petróleo frío y finalmente se secó en un alto grado de vacío. El rendimiento de la reacción fue del 93%.

30 El producto, el éter tetrahidropiranílico de N-(2-hidroxietil) hexadecanamida tenía las siguientes características químicas y físicas:

fórmula empírica:	$C_{23}H_{45}NO_3$
peso de la fórmula:	383,62
composición elemental:	C = 70,01%; H = 11,824%; N = 3,65%; O = 12,51%
solubilidad en agua:	ligeramente soluble
solubilidad en disolventes orgánicos:	10 mg/ml en acetato de etilo y n-octanol
punto de fusión:	52,5-54,5°C

CCF en acetato de etilo al 100%	Rf = 0,43
CCF en heptano/isopropanol/acetato de etilo/agua (40:20:50:2):	Rf = 0,65

Ejemplo 12: Preparación del éter tetrahidropiranílico de N,N¹-bis(2-hidroxietyl) nonandiamida (ADM-THP)

5 Se suspendieron 1,37 g de N,N¹-bis (2-hidroxietyl) nonandiamida (5 mmoles) en 6 ml de 3,4-dihidropirano. La mezcla se agitó a 4°C y se suplementó con 60 mg de metanosulfonato de piridinio; la mezcla se calentó después a 50°C durante 60 minutos. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente, se suplementó con 30 ml de acetato de etilo y se extrajo dos veces con 5 ml de agua. Las fases acuosas se separaron y desecharon y la fase orgánica se evaporó a sequedad a vacío. Después de secar minuciosamente en un alto grado de vacío, el residuo se dispersó en frío con 5 ml de éter terc-butilmetílico. El sólido pulverulento así obtenido se separó por filtración, se lavó dos veces con 2 ml
10 de éter terc-butilmetílico y finalmente se secó en un alto grado de vacío. El rendimiento de la reacción fue del 92%.

El producto, el éter tetrahidropiranílico de N,N¹-bis(2-hidroxietyl) nonandiamida tenía las siguientes características químico-físicas:

fórmula empírica:	C ₂₃ H ₄₂ N ₂ O ₆
peso de la fórmula:	442,60
composición elemental:	C = 62,42%; H = 9,57%; N = 6,33%; O = 21,69%
solubilidad en agua:	10 mg/ml
solubilidad en disolventes orgánicos:	10 mg/ml en etanol y DMSO
punto de fusión:	55-57°C
CCF en acetonitrilo/agua (9:1):	Rf = 0,56
CCF en tolueno/etanol/ácido acético (65:30:5):	Rf = 0,51

15

Ejemplo 13: Preparación de N-[2-(etoxicarbonil)oxietil] oleoilamida (OEA-EC)

20 Se disolvieron 3,3 g de N-(2-hidroxietyl) oleoilamida (10 mmoles) en 75 ml de tetrahidrofurano (THF) con agitación. La disolución se enfrió hasta 4°C y se suplementó con 1,11 g de N-metil morfolina (11 mmoles) y 1,19 g de cloroformiato de etilo (11 mmoles). La mezcla resultante se mantuvo a 4°C durante 30 minutos con agitación continua y después durante 24 horas adicionales a temperatura ambiente. La mezcla se evaporó después hasta sequedad a vacío. El residuo se llevó a 50 ml de agua y se extrajo 3 veces con 30 ml de acetato de etilo; las fases orgánica se lavaron dos veces con 20 ml de agua, se recombinaron y se evaporaron a sequedad. El residuo se purificó por cromatografía preparativa sobre gel de sílice con el uso de una mezcla de acetato de etilo y hexano en
25 una proporción de 50:50, como el eluyente. Las fracciones que contenían el producto se recombinaron y se evaporaron a sequedad. El residuo oleoso se secó en un alto grado de vacío (rendimiento del 80%).

El producto, N-[2-(etoxicarbonil)oxietil]oleoilamida tenía las siguientes características químicas y físicas:

fórmula empírica:	C ₂₃ H ₄₃ NO ₄
peso de la fórmula:	397,40
composición elemental:	C = 69,48%; H = 10,90%; N = 3,52%; O = 16,10%
solubilidad en agua:	ligeramente soluble
solubilidad en disolventes orgánicos:	10 mg/ml en etanol, acetato de etilo y n-octanol
CCF en acetato de etilo al 100%:	Rf=0,63
CCF en heptano/isopropanol/acetato de etilo/agua (40:20:50:2):	Rf=0,69

30

Características químicas y físicas de los compuestos de la invención

Las características químicas y físicas de los derivados de acuerdo con la invención se evaluaron por medida cuantitativa del parámetro de reparto lípido/agua.

35

Un parámetro útil para evaluar las propiedades de un compuesto en relación a su posible absorción está constituido de hecho por el coeficiente de reparto entre la fase de lipídica y la fase acuosa, que se considera que es una expresión de su lipofilicidad y su grado de hidrofiliicidad. En general, se acepta comúnmente que cuanto mayor es el coeficiente de reparto lípido/agua, mayor es la afinidad por las membranas celulares y por consiguiente mayor y más rápida es la absorción. Con el fin de evaluar las características de los derivados de la invención, se calculó el
40

parámetro RM de reparto entre la fase lipídica y la fase acuosa, extrapolado de la cromatografía de reparto en capa fina; este parámetro se utiliza comúnmente evaluando las características lipofílicas de compuestos (Tomlinson E.J. Chromatogr. 1975, 113, 1) y se utiliza comúnmente, por ejemplo, para anestésicos locales, en los que se ha demostrado una correlación entre éste y la actividad biológica (Bachrata M. y cols. J. Chromatogr. 1979, 171, 29-36).

5 El parámetro RM de reparto entre la fase lipídica y la fase acuosa se calculó tanto para los derivados como para las alcanolamidas no sustituidas, a partir del valor de Rf obtenido por cromatografía en capa fina sobre gel de sílice (partículas de 2-2,5 µmoles, porosidad media 60 Å, espesor 0,25 mm sobre placa de vidrio), de acuerdo con la fórmula:

$$RM = \log (1/Rf - 1)$$

10 y el ΔRM se obtuvo a partir de la diferencia entre los coeficientes RM del derivado y de la alcanolamida correspondiente. Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

15

Tabla I

compuesto Ejemplo Nº	disolvente 1			disolvente 2		
	RM	RF	ΔRM	RM	RF	ΔRM
1	0,62	-0,213	-1,001	0,70	-0,368	-0,403
2	0,66	-0,288	-1,076	0,73	-0,432	-0,467
5	0,47	0,052	-0,736	0,65	-0,269	-0,304
6	0,40	0,176	-0,612	0,58	-0,140	-0,175
7	0,05	1,28	0,49	-	-	-
9	0,41	0,158	-0,630	0,62	-0,213	-0,247
11	0,43	0,122	0,666	0,65	-0,269	-0,304
3	0,61	-0,194	-1,020	0,68	-0,327	-0,397
13	0,63	-0,231	-0,984	0,69	-0,347	-0,365
4	0,75	-0,477	-0,866	0,52	-0,035	-0,723
10	0,52	-0,035	-0,424	0,44	0,105	-0,584
12	0,56	-0,105	-0,494	0,51	-0,017	-0,706
<u>Disolvente 1:</u> acetato de etilo al 100%						
<u>Disolvente 2:</u> heptano: isopropanol: acetato de etilo: H ₂ O 40: 20 : 50 : 2						
<u>Disolvente 3:</u> acetonitrilo : H ₂ O 9:1						
<u>Disolvente 4:</u> tolueno: etanol: ácido acético 65: 30 : 5						

20 Puede verse a partir de los resultados obtenidos que los derivados covalentes de la presente invención sorprendentemente tienen una naturaleza lipofílica decididamente más marcada que las alcanolamidas de partida y por consiguiente una absorción más rápida tanto a nivel gastrointestinal como tópicamente. Debe señalarse también que, como ya se ha descrito en la técnica anterior, las sustituciones en los hidroxilos alcohólicos con carbamatos y carbonatos ya se han investigado con el fin de mejorar la solubilidad en agua de los "alcoholes impedidos", pero se encontró que los derivados resultantes son altamente inestables (Safadi M. y cols. Pharm. Res. 1993, 10, 1350-1355). Se ha observado que los derivados obtenidos por la invención. Por otro lado, sorprendentemente, poseen muy buenas características de liposolubilidad y se ha encontrado que son sustancialmente estables. Sin embargo, la solubilidad en agua puede alcanzarse también introduciendo sustituyentes que pueden ionizarse y que pueden así salificarse; los compuestos con buena solubilidad en disolventes acuosos se producen así, siendo esta característica particularmente importante tanto para asegurar la absorción como para la administración del agente farmacológico en disolución acuosa, por ejemplo, por una vía parenteral.

30 La capacidad demostrada sustituyendo el hidrógeno del residuo alcohólico de la alcanolamida con sustituyentes novedosos que pueden dar enlaces covalentes estables con el oxígeno forma parte de la presente invención.

Actividad biológica de los compuestos de la invención

35 Los compuestos de la invención se pusieron a prueba con el uso de pruebas bioquímicas in vitro que se describen en los siguientes ejemplos biológicos. Los compuestos se identifican en base al número del ejemplo dado en la

sección de ejemplos químicos precedente anteriormente.

Ejemplo A

- 5 Efecto de moléculas de alcanolamida en la unión de los ligandos sintéticos de los receptores de cannabinoides CB2 y CB1, respectivamente.

Se utilizaron células basófilas leucémicas de rata RBL-2H3+, que expresan selectivamente el receptor cannabinoide CB2, y células de neuroblastoma de ratón N18TG2 que expresan selectivamente el receptor cannabinoide CB1. Las células se cultivaron como se describe anteriormente (Facci L. y cols. (1995) Proc. Natl: Acad. Sci. EE.UU., 92: 3376-3380; Bisogno T. y cols. 1997 J. Biol. Chem., 272: 3315-3323).

Se usó WIN 55.212-2 como el ligando sintético selectivamente agonista para el receptor CB2.

- 15 Se usó SR141716A como el antagonista selectivo para el receptor CB1.

Se usó HU-210 como el antagonista selectivo para el receptor CB2.

- 20 [³H]SR141716A (55 Ci/mmol) se suministró por Amersham; [³H]WIN55.212-2 (43 Ci/mmol) se suministró por NEN. Las pruebas de unión se llevaron a cabo con membranas de las células resuspendidas en tampón de pH 7,0 de Tris 50 mM; MgCl₂ 2,5 mM, EDTA 0,8 mM; albúmina de suero bovino (BSA) al 0,05%; etanol al 0,01%, en presencia de 100 μM de fluoruro de fenilmetil-sulfonilo (PMSF-Sigma), con el uso de 300 pM de [³H]SR141716A y de [³H]WIN55.212-2, respectivamente, como el ligando.

- 25 Las membranas se incubaron durante 90' a 30°C y se filtraron en filtros de microfibra de vidrio (GFC-Whatman) y la radiactividad se detectó por centelleo líquido. La unión específica se calculó con el uso de bien SR141716A 10 μM o bien HU-210 10 μM.

- 30 Los valores de K_i se calcularon con la ecuación de Chang-Prusoff y se expresaron como concentración μM.

Tabla II

compuestos	K _i (μM) del receptor CB2 en células RBL-2H3+ con Lig. [³ H] WIN55.212-2	K _i (μM) del receptor CB1 en células N18TG2 con Lig. [³ H] SR141716A
fenil butazona	>15	>15
Comp. Ejemplo 4	0,002 ± 0,0009	>15
Comp. Ejemplo 6	0,001 ± 0,0008	>15
Comp. Ejemplo 1	0,006 ± 0,0018	>15
Comp. Ejemplo 7	0,009 ± 0,0025	>15

Ejemplo B

- 35 Efecto de moléculas de alcanolamida sobre la estimulación de AMP cíclico (AMPC) por forskolina.

Las pruebas se realizaron con el objetivo de comprobar si la unión de las moléculas de la presente invención al receptor CB2 tiene importancia funcional.

- 40 De hecho se sabe que la activación funcional del receptor CB2 permite, a nivel intracelular, la inhibición de la actividad enzimática de la adenilato ciclasa y una reducción en los niveles del segundo mensajero AMPC, resultando en un incremento en la conductancia de los canales de potasio y en una inhibición de la fosforilación proteica (Childers S.R. y cols. Biochem. Pharmacol. 1996, 52: 819-827).

- 45 Las dosificaciones de AMPC se llevaron a cabo en células RBL-2H3+ que fluían juntas en placas Petri con seis pocillos (Falcon); las células se estimularon durante 10' a 37°C con forskolina 1 μM (Fluka) en 400 ml de medio sin suero, conteniendo HEPES 20 mM, 0,1 mg/ml de BSA y 1-metil-3-isobutil xantina (Sigma) 0,1 mM y bien moléculas de etanol o bien moléculas de alcanolamida con o sin la adición de HU-210. Después de la incubación, se extrajeron las células y se evaluaron los niveles de AMPC con un kit Amersham adecuado de acuerdo con el procedimiento del fabricante. Los datos se expresaron en μM de CI₅₀.

50

Tabla III

Compuestos Ejemplo N ^o	μM de CI_{50}
4	1,8
4 + HU-210 (0,5 mM)	>20
6	1,9
6 + HU-210 (0,5 mM)	>20

Los derivados covalentes de la invención pueden así usarse útilmente para el tratamiento de procesos inflamatorios y también para aquellos con componentes hiperálgicos -ambos con una base neurogénica y con una base inmunogénica- asociados con afecciones patológicas inmunoinflamatorias y también con afecciones autoinmunes, con afecciones neurodegenerativas asociadas con procesos excitotóxicos, así como para afecciones en las que se conozca un efecto no psicomimético de los cannabinoides, siendo todos los efectos atribuibles a una actividad mediada por el receptor CB2; entre éstos, las siguientes afecciones patológicas se mencionan a modo de ejemplo no limitante: afecciones neurológicas tales como, por ejemplo, esclerosis múltiple, neuropatías periféricas -tanto somáticas como autónomas- con diversas etiologías, apoplejías y trombosis anóxico-isquémicas, traumatismo craneal y espinal, afecciones neurodegenerativas (complejo de demencia asociado al SIDA, demencia senil, síndrome de Alzheimer, síndrome de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica), epilepsia, ataques isquémicos transitorios (TIA), corea de Huntington, afecciones retinianas con una base anóxico-isquémica y también afecciones derivadas de glaucoma, cefaleas; afecciones víricas con especial referencia a afecciones sostenidas por la propagación de los así llamados virus oportunistas (tales como, por ejemplo, el virus VIH), es decir, virus que pueden usar los mecanismos de defensa del organismo mismo haciendo posible su propia propagación, afecciones de la piel tales como, por ejemplo, psoriasis, dermatitis atópica y dermatitis alérgica, líquen plano, dermatomiositis, esclerodermia, pénfigo, penfigoides, epidermolisis bullosa, lupus eritematoso discoide y sistémico, heliodermatitis, úlceras insidiosas, cicatrices hipertróficas, queloides, vestibulitis vulvar; afecciones de la membrana mucosa, tales como, por ejemplo, líquen plano oral, estomatitis, vaginitis aguda y recurrente, balanitis y balanopostitis y también las afecciones relacionadas con estados inflamatorios de las glándulas sexuales accesorias (próstata, vesícula seminal, etc.); afecciones respiratorias tales como, por ejemplo, asma, fibrosis pulmonar intersticial, rinitis alérgica; afecciones gastrointestinales, tales como, por ejemplo, inflamaciones crónicas de la mucosa; afecciones oftálmicas tales como, por ejemplo uveítis, uveoretinitis, síndrome de Sjogren, queratoconjuntivitis seca, úlceras corneales, conjuntivitis alérgicas e infecciosas y conjuntivitis papilar gigante, penfigoides cicatriciales; afecciones de las articulaciones, tales como, por ejemplo, artritis reumática, artritis reumatoide, artritis relacionada con psoriasis o con lupus, artritis y artrosis crónicas, condrodegeneración de origen traumático, infeccioso y degenerativo; afecciones cardiovasculares tales como, por ejemplo, reestenosis después de angioplastia, aterosclerosis y ataques isquémicos cardíacos, recurrencia de episodios de infarto; afecciones específicamente veterinarias tales como, por ejemplo, afecciones de los discos intervertebrales en perros y en caballos, síndrome de Stringhalt y laminitis en caballos, afecciones de la piel, las articulaciones o el tejido conectivo en caballos, en perros y en gatos.

Para el tratamiento de las afecciones anteriormente mencionadas, los derivados de la presente invención pueden administrarse por una vía sistémica parenteral (endovenosamente, intramuscularmente, subcutáneamente), una vía rectal, o una vía oral, pero también por una vía tópica (dérmica y mucosa, oftálmica, nasopulmonarmente) y por una vía transdérmica. Las dosis en las que se usan pueden variar de acuerdo con la vía de administración y la gravedad de la enfermedad y el estado general del paciente. En cualquier caso, las dosis terapéuticas previstas son desde 0,1 mg/día a 1 g/día durante un periodo de entre una semana y tres meses de administración continuada. De acuerdo con la naturaleza crónica de la afección, el tratamiento puede repetirse en diversos ciclos.

Los derivados de acuerdo con la invención pueden administrarse en composiciones farmacéuticas con excipientes o diluyentes que son aceptables desde el punto de vista del uso farmacéutico y son adecuados para los propósitos y en cualquier caso son tales como para permitir y/u optimizar la absorción por la vía de administración seleccionada. En particular, se conciben formulaciones en disolución o suspensión y también aquellas fabricadas con el uso de técnicas de micronización y/o comicronización preliminares con otros ingredientes activos o con excipientes para administración parental; para la vía oftálmica, pueden seleccionarse formas líquidas como lociones para el ojo y formas sólidas o semisólidas como insertos, geles y pomadas y para administración oral pueden estar en forma de cápsulas, comprimidos, polvos y pellas y también en formulaciones gastrorresistentes y también puede producirse con el uso de técnicas de microencapsulación, liposomización y micelización preliminares. Para las vías tópicas, incluyendo la vía transdérmica, pueden usarse formulaciones como supositorios, microenemas, cremas, pomadas, pulverizadores, geles, espumas, apósitos de distintos espesores y parches. Todas las posibles formas farmacéuticas indicadas para las diversas vías de administración también pueden formularse con excipientes o procedimientos tecnológicos adecuados para producir medicamentos de liberación rápida o de liberación lenta con los derivados de la invención.

También se ha encontrado que los compuestos de la presente invención también pueden usarse eficazmente como ingredientes cosméticos que tienen la función de acondicionadores y/o aditivos reológicos. Un objeto adicional de la

presente invención es por lo tanto el uso de los compuestos de fórmula (I) en cosméticos.

La invención se describe adicionalmente por los siguientes ejemplos no limitantes de la misma; también es posible usar otras formulaciones producidas con otros ingredientes y con otros excipientes para estos propósitos.

5

Ejemplo 14: ampollas para inyección

10	Compuesto del Ejemplo 8:	20 mg
	cloruro de sodio	17 mg
	agua para inyectables para llevar hasta	2 ml

Ejemplo 15: ampollas liofilizadas

Cada ampolla liofilizada contiene:

15

	Compuesto de Ejemplo 6 (comicronizado con manitol):	30 mg
20	N-(4-hidroxi-3-metoxibencil)oleoil amida (comicronizado con manitol)	30 mg
	manitol	80 mg
	cada ampolla de disolvente contiene:	
	lecitina de soja	40 mg
	agua para inyectables para llevar hasta	2 ml

Ejemplo 16: comprimidos

25	Compuesto del Ejemplo 4, micronizado	100 mg
	lactosa	100 mg
30	almidón de maíz	70 mg
	talco	8 mg
	estearato de magnesio	4 mg
	carboximetilcelulosa	8 mg

Ejemplo 17: cápsulas

35

	Compuesto del Ejemplo 7:	100 mg
	N-(4-hidroxi-3-metoxibencil)	
	palmitoilamida	50 mg
40	aceite de maíz	150 mg
	gelatina FU	70 mg
	glicerol FU	30 mg
	dióxido de titanio (E171)	0,5 mg
	eritrosina (E127)	1 mg

Ejemplo 18: loción para los ojos

45

	Compuesto del Ejemplo 8	2 mg
	cloruro de benzalconio	1 mg
50	hidrato de fosfato sódico monobásico	41 mg
	fosfato sódico dibásico.12H ₂ O	249,5 mg
	edetato de sodio	10 mg
	agua bidestilada para llevar hasta	10 ml

Ejemplo 19: pomada oftálmica

55

	Compuesto del Ejemplo 4, micronizado	100 mg
	vaselina blanca viscosa para llevar hasta	100 g

Ejemplo 20: crema para la piel

60

	Compuesto del Ejemplo 4	100 mg
	ácido hialurónico	200 mg
	monoestearato de sorbitán	500 mg
	monoestearato de polioxietilenosorbitán	3 g
65	ácido esteárico	3 g
	Aceite de vaselina	15 g

éster metílico de ácido para-oxibenzoico	200 mg
éster etílico de ácido para-oxibenzoico	50 mg
agua desmineralizada para llevar hasta	100 g

5 **Ejemplo 21: gel vaginal**

	Compuesto del Ejemplo 7	150 mg
	N-(4-hidroxi-3-metoxibencil)-palmitoilamida	100 mg
10	ácido hialurónico, sal sódica	100 mg
	alginato de sodio	2,5 g
	glicerol	5 g
	Bronopol	300 mg
	agua desmineralizada para llevar hasta	100 g

15 **Ejemplo 22: loción para uso tricológico**

	Compuesto del Ejemplo 4	300 mg
	propilenoglicol	25 g
20	alcohol etílico	50 g
	agua desmineralizada para llevar hasta	100 g

Ejemplo 23: gel para uso dental

25	Compuesto del Ejemplo 12	300 mg
	ácido hialurónico	
	(valorado en epitopo de unión biológica)	200 mg
	carbómero	300 mg
	sorbitol	20 g
	p-oxibenzoato de metilo	200 mg
30	p-oxibenzoato de etilo	50 mg
	aromatizante de menta	1 g
	agua desmineralizada para llevar hasta	100 g

REIVINDICACIONES

1. Compuestos según se enumeran:

- 5 - N-[2-(etoxicarbonil)oxietil]hexadecanamida;
 - N-[2-(isobutiloxicarbonil)oxietil]hexadecanamida;
 - N-[3-(etoxicarbonil)oxipropil]hexadecanamida;
 10 - N,N¹-bis[2-(etoxicarbonil)oxietil]nonandiamida;
 - N-[2-(bencilaminocarbonil)oxietil]hexadecanamida;
 15 - N-[2-((etoxicarbonilmetil)aminocarbonil)oxietil] hexadecanamida;
 - N-[2-[(2-piperidinoetoxi)carbonil]oxietil]hexadecanamida;
 20 - metanosulfonato de N-[2-[(2-piperidinoetoxi)carbonil]oxietil]hexadecanamida;
 - éter tetrahidrofuranílico de N-[2-(hidroxietil)hexadecanamida;
 - éter tetrahidrofuranílico de N, N¹-bis(2-hidroxietil)nonandiamida;
 25 - éter tetrahidropiránílico de N-[2-(hidroxietil)hexadecanamida;
 - éter tetrahidropiránílico de N, N¹-bis(2-hidroxietil)nonandiamida;
 30 - N-[2-(etoxicarbonil)oxietil]oleilamida.

2. Compuestos de acuerdo con la reivindicación 1, para el uso como medicamentos.

3. Compuestos de acuerdo con la reivindicación 2, para el uso como fármacos con actividad agonista en relación con los receptores cannabinoides CB2.

35 **4.** Compuestos de acuerdo con la reivindicación 3, para el uso, solos o en asociación con agonistas funcionales del receptor CB1 periférico, como fármacos para el tratamiento de procesos inflamatorios y también aquellos con un componente hiperálgico, tanto con una base neurogénica como con una base inmunogénica, asociados con afecciones patológicas inmunoinflamatorias y neurodegenerativas y afecciones patológicas en las que se observa un efecto no psicomimético de los cannabinoides mediado bien por los receptores CB2 o bien por los receptores CB1 periféricos.

5. Uso de los compuestos de acuerdo con la reivindicación 1 como aditivos cosméticos.