

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 420 115**

51 Int. Cl.:

C07C 233/68 (2006.01)
C07C 233/77 (2006.01)
C07C 63/04 (2006.01)
C07C 69/78 (2006.01)
A61K 31/167 (2006.01)
A61K 31/192 (2006.01)
A61K 31/216 (2006.01)
A61K 31/235 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.02.2005 E 09012361 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.04.2013 EP 2177503**

54 Título: **Moduladores de receptores de cannabinoides**

30 Prioridad:

20.02.2004 GB 0403864

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

22.08.2013

73 Titular/es:

**UCL BUSINESS PLC (100.0%)
The Network Building 97 Tottenham Court Road
London W1T 4TP, GB**

72 Inventor/es:

**OKUYAMA, MASAHIRO;
BAKER, DAVID;
PRYCE, GARETH;
SELWOOD, DAVID y
VISINTIN, CRISTINA**

74 Agente/Representante:

ES 2 420 115 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).

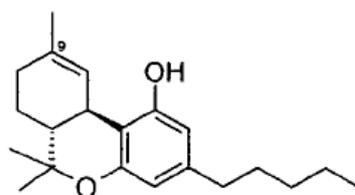
DESCRIPCIÓN

Moduladores de receptores de cannabinoides.

- 5 La presente invención se refiere a compuestos tal como se definen en las reivindicaciones adjuntas.

Antecedentes de la invención

- 10 Recientemente se ha renovado el interés en los usos terapéuticos del cannabis médico y de cannabinoides sintéticos, tales como Δ^9 -tetrahidrocannabinol (THC) [1], el componente activo del cannabis.

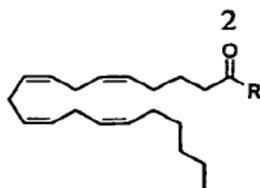


[1] Δ^9 -THC

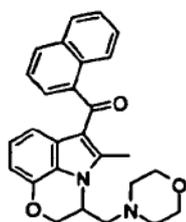
- 15 El THC puede ser terapéuticamente beneficioso en varias áreas principales de la medicina incluyendo el control de dolor agudo y en particular crónico/neuropático, náuseas, anorexia, SIDA, glaucoma, asma y en esclerosis múltiple [Baker, D. *et al*, Nature 2000, 404, 84-87; Baker, D. *et al*, FASEB J. 2001, 15, 300-302; Schnelle, M. *et al*, Forsch. Komplementarmed 1999, 6 Sup. 3, 28-36].

- 20 Se han notificado varios ligandos cannabinoides en la bibliografía. En líneas generales, pueden dividirse los ligandos cannabinoides en tres grupos principales que consisten en (i) cannabinoides clásicos, tales como (-)- Δ^9 -tetrahidrocannabinol, Δ^9 -THC [1] y CP55,940 [9]; (ii) endocannabinoides, tales como anandamida [2] y 2-
25 araquidonoilglicerol [3]; y (iii) análogos heterocíclicos no clásicos tipificados por heterociclos tales como WIN 55,212 [7] y el antagonista SR141716A selectivo de CB₁ [8] [Pertwee, R. G., Pharmacology & Therapeutics 1997, 74, 129-180]. También se han notificado análogos de anandamida restringidos conformacionalmente [Berglund, B. A. *et al*, Drug Design and Discovery 2000, 16, 281-294]. Sin embargo, hasta la fecha la

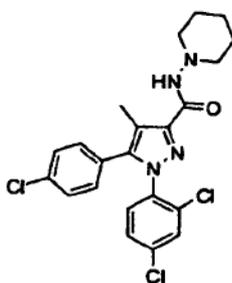
utilidad terapéutica de fármacos cannabinoides ha estado limitada por sus propiedades psicoactivas indeseables.



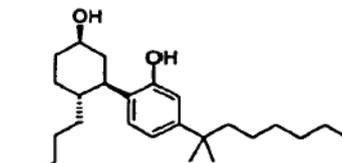
[2] anandamida, R= NHCH₂CH₂OH
 [3] araquidonilglicerol R= OCH(CH₂OH)₂



[7] WIN55,212



[8] SR141716A



[9] CP55,940

5

Se sabe que los cannabinoides modulan el procesamiento nociceptivo en modelos de dolor agudo, inflamatorio y neuropático [Pertwee, R. G., Prog. Neurobiol. 2001, 63, 569-611]. Más específicamente, la investigación se ha centrado en el papel de los cannabinoides en modelos de hiperalgesia neuropática [Herzberg, U. *et al*, Neurosci. Lett. 1997, 221, 157-160] e hiperalgesia inflamatoria [Richardson, J. D., Pain 1998, 75, 111-119; Iaggar, *et al*, Pain 1998, 76, 189-199; Calignano, A. *et al*, Nature 1998, 394, 277-281; Hanus, L. *et al*, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A 1999, 96, 14228-14233]. También se ha sugerido que la expresión de receptores de cannabinoides y el nivel de cannabinoides endógenos pueden cambiar durante la inflamación y la hiperalgesia [Pertwee, R. G., Prog. Neurobiol. 2001, 63, 569-611].

Se cree que el sistema de señalización cannabinoide implica dos receptores de cannabinoides clonados (CB₁ y CB₂), ligandos endocannabinoides tales como anandamida [2] y 2-araquidonilglicerol [3] y un sistema de degradación de endocannabinoides [Howlett, A. C. *et al*, International Union of Pharmacology XXVII, Pharmacol. Rev. 2002, 54, 161-202; Pertwee, R. G., Pharmacology of cannabinoid receptor ligands. Curr. Med. Chem. 1999, 6, 635-664].

Una función importante del sistema de cannabinoides es actuar como regulador de la liberación sináptica de neurotransmisores [Kreitzer, A. C. *et al*, *Neuron* 2001, 29, 717-727; Wilson, R. I. *et al*, *Neuron* 2001, 31, 453-462]. CB₁ se expresa a niveles elevados en el SNC, particularmente el globo pálido, la sustancia negra, el cerebelo y el hipocampo [Howlett, A. C., *Neurobiol. Dis.* 1998, 5, 405-416]. Esto concuerda con los efectos adversos conocidos del cannabis en el procesamiento de la memoria a corto plazo y el equilibrio [Howlett, A. C. *et al*, *International Union of Pharmacology XXVII, Pharmacol. Rev.* 2002, 54, 161-202]. CB₂ se expresa por leucocitos y su modulación no provoca efectos psicoactivos; además no representa una diana significativa para el tratamiento de síntomas ya que la mayoría de los efectos están mediados por CB₁.

Aunque muchos efectos de los cannabinoides están mediados centralmente por receptores en el SNC [Howlett, A. C. *et al*, *International Union of Pharmacology XXVII, Pharmacol. Rev.* 2002, 54, 161-202], se entiende que los receptores CB periféricos también desempeñan un papel importante, particularmente en el dolor y en el tracto gastrointestinal. Por ejemplo, CB₁ también se expresa en tejidos periféricos, tales como en ganglios de la raíz dorsal, nervios periféricos y terminaciones neuromusculares, permitiendo así que se regule la neurotransmisión fuera del SNC [Pertwee, R. G., *Life Sci* 1999, 65, 597-605]. Por consiguiente, la actividad terapéutica en condiciones tales como las que implican dolor [Fox, A. *et al*, *Pain* 2001, 92, 91-100] o hipermotilidad intestinal, puede localizarse en sitios que no son el SNC. Sin embargo, hasta la fecha la investigación en el sistema de cannabinoides periférico se ha visto dificultada por la ausencia de agentes farmacológicos que seleccionen como diana selectivamente receptores periféricos con respecto a los del SNC.

Con el fin de eliminar efectos psicoactivos adversos, es deseable excluir agonistas cannabinoides del SNC. Existen dos métodos establecidos para la exclusión del SNC de agentes de molécula pequeña. En primer lugar, un método implica excluir sustancias del SNC controlando cuidadosamente sus propiedades fisicoquímicas de modo que se impida que atraviesen la barrera hematoencefálica (BHE). La BHE está formada por células endoteliales cerebrales, con uniones intercelulares estrechas y poca fenestración [Tamai, I. *et al*, *J. Pharm. Sci.* 2000, 89, 1371-1388]. Por

consiguiente, las sustancias deben penetrar al cerebro o bien mediante difusión pasiva a través de membranas plasmáticas o bien mediante mecanismos de transporte activo. Por tanto, la BHE forma una barrera eficaz frente a muchas sustancias que circulan periféricamente.

5

Un método alternativo de excluir compuestos del cerebro es incorporar características estructurales que permitan que se bombeen de manera activa a través de la BHE. Un ejemplo de este tipo es el agonista opiode loperamida; aunque lipófila, la loperamida contiene características estructurales reconocidas por el transportador de p-glicoproteína (MDR1) que permiten que se bombee de manera activa a través de la barrera hematoencefálica. [Wandel, C. *et al*, *Anesthesiology* 2002, 96, 913-920; Seelig, A. *et al*, *Eur. J. Pharm. Sci.* 2000; 12, 31-40].

La presente invención busca proporcionar nuevos moduladores de receptores de cannabinoides. Más particularmente, la invención busca proporcionar moduladores de receptores de cannabinoides que alivian y/o eliminan algunas de las desventajas asociadas comúnmente con moduladores de la técnica anterior, por ejemplo efectos secundarios psicoactivos indeseables. Más específicamente, aunque no exclusivamente, la invención busca proporcionar moduladores que seleccionen como diana selectivamente receptores de cannabinoides periféricos.

15
20

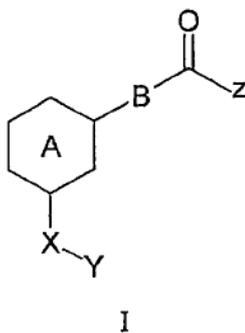
Descripción de la invención

Un primer aspecto de la invención se refiere a un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como se define en las realizaciones adjuntas.

25

Realizaciones

Realización 1. Un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

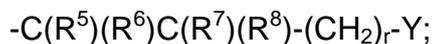


en la que:

- 5 Z es NR^1R^2 en el que cada uno de R^1 y R^2 es independientemente H o un grupo alquilo o cicloalquilo, cada uno de los cuales puede estar sustituido opcionalmente con uno o más grupos OH o halógeno;

X-Y se selecciona de

10



- 15 en los que cada uno de R^5 , R^6 , R^7 y R^8 es independientemente H o alquilo, y cada uno de p y r es independientemente 2, 3 ó 4;

Y es un grupo funcional polar seleccionado de OH, CN, COOR^3 , CONR^3R^4 , en los que cada uno de R^3 y R^4 es independientemente H o un grupo alquilo;

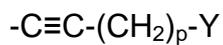
20

A es fenilo; y

B es $(\text{CH}_2)_n$ en el que n es 0.

- 25 Realización 2. Un compuesto según la realización 1, en el que Y se selecciona de OH, CN, COOMe, COOH, CONH_2 , CONHMe y CONMe₂.

Realización 3. Un compuesto según cualquier realización anterior, en el que X-Y es:



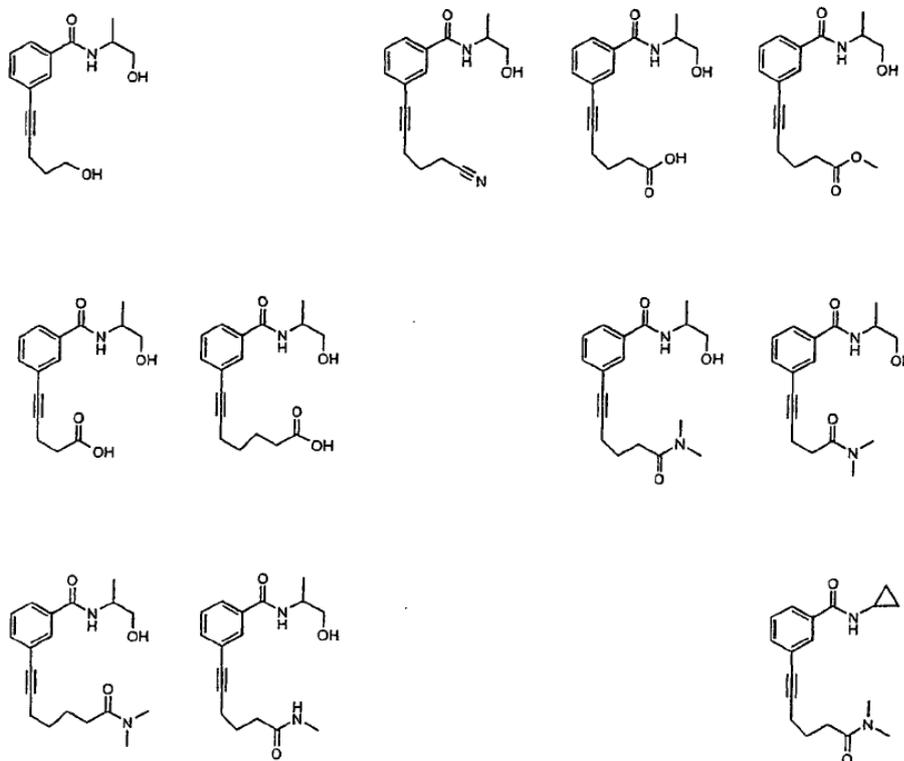
5 en el que p es 2, 3 ó 4.

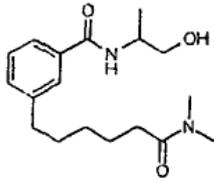
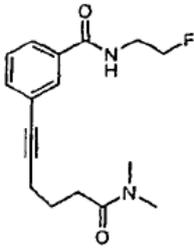
Realización 4. Un compuesto según la realización 1 o la realización 2, en el que X-Y es $(\text{CH}_2)_s-\text{Y}$ y s es 4 ó 5.

10 Realización 5. Un compuesto según cualquier realización anterior, en el que Z se selecciona de $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{F}$, NH-ciclopropilo, $\text{NHCH}(\text{Me})\text{CH}_2\text{OH}$ y $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$.

Realización 6. Un compuesto según la realización 1, que se selecciona de los siguientes:

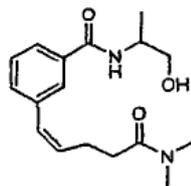
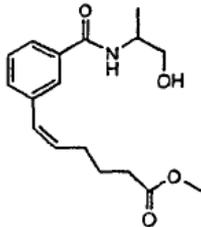
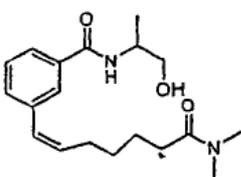
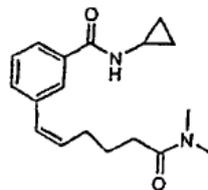
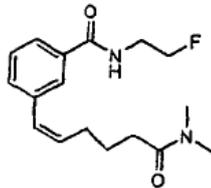
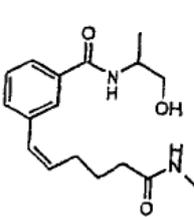
15





y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

5 Realización 7. Un compuesto seleccionado de los siguientes:



10 Realización 8. Uso de un compuesto según cualquier realización anterior en la preparación de un medicamento para tratar un trastorno muscular.

Realización 9. Uso de un compuesto según una cualquiera de las realizaciones 1 a 7, en la preparación de un medicamento para controlar la espasticidad y los temblores.

Realización 10. Uso de un compuesto según una cualquiera de las realizaciones 1 a 7, en la preparación de un medicamento para tratar un trastorno gastrointestinal.

5 Realización 11. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto según una cualquiera de las realizaciones 1 a 7, mezclado con un diluyente, excipiente o portador farmacéuticamente aceptable.

Realización 12. Un compuesto según una cualquiera de las realizaciones 1 a 7, para su uso en medicina.

10

Realización 13. Un compuesto según una cualquiera de las realizaciones 1 a 7, para su uso en el tratamiento de un trastorno muscular.

15 Realización 14. Un compuesto para su uso según las realización 13, en el que el trastorno muscular es un trastorno neuromuscular.

Realización 15. Un compuesto según una cualquiera de las realizaciones 1 a 7, para su uso en el control de la espasticidad y los temblores.

20 Realización 16. Un compuesto según una cualquiera de las realizaciones 1 a 7, para su uso en el tratamiento de un trastorno gastrointestinal.

25 Realización 17. Un compuesto para su uso según la realización 16, en el que el trastorno gastrointestinal se selecciona de una úlcera gástrica, enfermedad de Crohn, diarrea secretora e íleo paralítico.

Ventajosamente, los compuestos de la presente invención muestran preferiblemente solubilidad acuosa mejorada y/o lipofilia disminuida en comparación con moduladores de receptores de cannabinoides de la técnica anterior.

30

Un segundo aspecto de la invención se refiere al uso de un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como se define en el presente documento en la preparación de un medicamento para tratar un trastorno muscular.

Un tercer aspecto de la invención se refiere al uso de un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como se definió anteriormente en la preparación de un medicamento para controlar la espasticidad y los temblores.

5

Un cuarto aspecto de la invención se refiere al uso de un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como se definió anteriormente en la preparación de un medicamento para tratar un trastorno gastrointestinal.

10 Un quinto aspecto de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención tal como se definió anteriormente mezclado con un diluyente, excipiente o portador farmacéuticamente aceptable.

Descripción detallada

15

Cannabinoide

Un cannabinoide es una entidad que puede unirse a un receptor de cannabinoides, en particular CB1 y/o CB2. Los cannabinoides típicos incluyen los aproximadamente 30 derivados de 2-(2-isopropil-5-metilfenil)-5-pentilresorcinol que se encuentran en el cáñamo de India, *Cannabis sativa*, entre los que se encuentran los responsables de las acciones narcóticas de la planta y sus extractos. Ejemplos de cannabinoides son cannabidiol, cannabinol, trans- Δ^9 -tetrahidrocannabinol, trans- Δ^8 -tetrahidrocannabinol y ácido Δ^9 -tetrahydro-cannabinólico. Otros ejemplos de cannabinoides incluyen anandamida, metanandamida y R(+)-WIN55,212.

20

25

Endocannabinoide

Este término significa un cannabinoide que existe de manera natural en el organismo, en contraposición con un cannabinoide administrado de manera exógena. Los endocannabinoides se tratan por Di Marzo (1998) Biochimica et Biophysica Acta vol. 1392 páginas 153-175.

30

Un ejemplo de un endocannabinoide es anandamida. Pueden encontrarse enseñanzas sobre esta entidad y anandamida amidasa en el documento US-A-5874459. El

documento enseña el uso de inhibidores de anandamida amidasa como agentes analgésicos.

Receptor de cannabinoides

- 5 Un receptor de cannabinoides es una cualquiera o más de varias proteínas de membrana que se unen a cannabinoles y compuestos estructuralmente similares y median en su acción intracelular.

Se han encontrado dos receptores para el componente psicoactivo de la marihuana, Δ^9 -tetrahidrocannabinol (THC), los receptores de cannabinoides CB₁ y CB₂ (Pertwee 10 1997 Pharmacol Ther vol. 74 129-180). Ambos receptores son receptores acoplados a proteína G de 7 dominios transmembrana. Los receptores CB₁ se encuentran en el cerebro y los testículos. Los receptores CB₂ se encuentran en el bazo y no en el cerebro.

15 Para ambos tipos de receptor, araquidonoleotanolamida (anandamida) es un supuesto ligando endógeno y ambos tipos se acoplan negativamente a adenilato ciclasa que disminuye los niveles de AMP cíclico intracelulares. Ejemplos de secuencias para tales receptores son de *Mus musculus* e incluyen: CB₁, código de la base de datos 20 CB1R_MOUSE, 473 aminoácidos (52,94 kDa); CB₂, código de la base de datos CB2R_MOUSE, 347 aminoácidos (38,21 kDa). A continuación se dan más detalles sobre CB₁ y CB₂.

Receptor de cannabinoides 1 (CB1 o CNR1)

- 25 Se han presentado enseñanzas anteriores sobre CB₁ por Victor A. McKusick *et al* en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Omim>. La siguiente información referente a CB₁ se ha extraído de esta fuente.

Los cannabinoides son compuestos psicoactivos de la marihuana, principalmente delta- 30 9-tetrahidrocannabinol, así como los análogos sintéticos. Matsuda *et al* [Nature 346: 561-564, 1990] clonaron un receptor de cannabinoides a partir de cerebro de rata. Usando un clon cósmico de la secuencia codificante entera del gen humano, Modi y Bonner [Abstract, Cytogenet. Cell Genet. 58: 1915 solo, 1991] mapearon el locus CNR

humano en 6q14-q15 mediante hibridación *in situ*. Gerard *et al.* [Biochem. J. 279: 129-134,1991] aislaron un ADNc que codifica para un receptor de cannabinoides de una biblioteca de ADNc de tronco encefálico humano. La secuencia de aminoácidos deducida codificaba para una proteína de 472 residuos que compartía una identidad del 5 97,3% con el receptor de cannabinoides de rata clonado por Matsuda *et al* [*ibid*, 1990]. Proporcionaron pruebas de la existencia de un receptor de cannabinoides idéntico expresado en testículos de ser humano. Hoehe *et al* [New Biologist 3: 880-885, 1991] determinaron la localización genómica del gene de CNR mediante combinación de mapeo de ligamiento genético e hibridación *in situ* cromosómica. Se sugirió ligamiento 10 estrecho con CGA que se localiza en 6q21.1-q23; lod máximo= 2,71 a theta = 0,0. Además, CNR se unió a marcadores que definen el locus D6Z1, una secuencia localizada exclusivamente en centrómeros de todos los cromosomas y enriquecida en el cromosoma 6. Ledent *et al* [Science 283:401-484, 1999] investigaron la función del receptor de cannabinoides central (CB1) mediante la ruptura del gen en ratones. Los 15 ratones mutantes no respondieron a fármacos cannabinoides, demostrando el papel exclusivo de CB1 en la mediación de analgesia, refuerzo, hipotermia, hipolocomoción e hipotensión.

Receptor de cannabinoides 2 (CB2 o CNR2)

20 Se han presentado enseñanzas anteriores sobre CB2 por Victor A. McKusick *et al* en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Omim>. La siguiente información referente a CB2 se ha extraído de esta fuente.

Además de sus conocidas propiedades psicoactivas, la marihuana, o su componente 25 cannabinoide activo principal, delta-9-tetrahidrocannabinol, ejerce efectos analgésicos, antiinflamatorios, inmunosupresores, anticonvulsivos y antieméticos así como el alivio de la presión intraocular en glaucoma. El receptor de cannabinoides 1 acoplado a proteína G (CNR1; 114610), que se expresa en el cerebro pero no en la periferia, aparte de niveles bajos en testículos, no explica fácilmente los efectos no psicoactivos 30 de los cannabinoides.

Usando PCR con cebadores degenerados para examinar una biblioteca de ADNc de células de leucemia promielocítica [Munro, Nature 365: 61-65, 1993] obtuvieron un

ADNc que codificaba para CNR2, que los autores llamaron CX5. El análisis de secuencia predijo que la proteína deducida de 360 aminoácidos con 7 dominios transmembrana tenía una identidad de aminoácidos del 44% con CNR1 global y una identidad del 68% con los residuos transmembrana que se propone que confieren especificidad con el ligando. El análisis de unión determinó que CNR2 codifica para un receptor de alta afinidad por cannabinoides, con afinidad más alta que CNR1 por cannabinol. El análisis de transferencia tipo Northern reveló que la expresión de transcritos de 2,5 y 5,0 kb en la línea celular mielóide HL60 aumentó con la diferenciación de mieloides o de granulocitos. Usando el homólogo CX5 de rata, Munro [1993, *ibid*] encontró que el transcrito de 2,5 kb se expresa en el bazo pero no en el cerebro, riñón, pulmón, timo, hígado o epitelio nasal. El análisis de hibridación *in situ* demostró expresión en zonas marginales esplénicas. El análisis de PCR detectó expresión de CNR2 en macrófagos esplénicos purificados pero no en células T CD5+. Munro [1993, *ibid*] supuso que la localización de CNR2 sugiere que su ligando endógeno debe tener un papel inmunomodulador. El International Radiation Hybrid Mapping Consortium mapeó el gen de CNR2 en el cromosoma (stSG90).

Compuestos

Tal como se menciona anteriormente en el presente documento, los compuestos de la presente invención muestran preferiblemente solubilidad acuosa mejorada y/o lipofilia disminuida en comparación con moduladores de cannabinoides de la técnica anterior. Preferiblemente, los compuestos de la invención no atraviesan la barrera hematoencefálica en ningún grado sustancial.

La presente invención se refiere a compuestos de fórmula I, tal como se definen en el presente documento.

Tal como se usa en el presente documento, el término "alquilo" incluye tanto grupos alquilo saturados de cadena lineal como ramificada. Preferiblemente, el grupo alquilo es un grupo alquilo C₁₋₂₀, más preferiblemente uno C₁₋₁₅, todavía más preferiblemente un grupo alquilo C₁₋₁₀, todavía más preferiblemente un grupo alquilo C₁₋₆. Los grupos alquilo particularmente preferidos incluyen, por ejemplo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, terc-butilo, pentilo y hexilo.

El experto en la técnica apreciará que el término “alquilenos” se interpreta en consecuencia, es decir en el contexto de la presente invención, el término “alquilenos” abarca una cadena de carbono saturada, lineal o ramificada que porta un grupo Y terminal.

Tal como se usa en el presente documento, el término “cicloalquilo” se refiere a un grupo alquilo cíclico.

10 Tal como se usa en el presente documento, el término “alqueno” se refiere a un grupo que contiene uno o más dobles enlaces, que puede estar ramificado o no ramificado, y sustituido (mono o poli) o no sustituido. Preferiblemente el grupo alqueno es un grupo alqueno C₂₋₂₀, más preferiblemente un grupo alqueno C₂₋₁₅, todavía más preferiblemente un grupo alqueno C₂₋₁₀ o preferiblemente un grupo alqueno C₂₋₆. Los
15 sustituyentes adecuados incluyen, por ejemplo, alquilo, hidroxilo, halo, alcoxilo, nitro, COOH, CO₂-alquilo, alqueno, CN, NH₂, CF₃ o un grupo cíclico. El experto en la técnica apreciará que el término “alqueno” se interpreta en consecuencia, es decir en el contexto de la presente invención, el término “alqueno” abarca una cadena de carbono insaturada lineal o ramificada, sustituida (mono o poli) o no sustituida que
20 contiene uno o más dobles enlaces y que porta un grupo Y terminal.

Tal como se usa en el presente documento, el término “alquino” se refiere a un grupo que contiene uno o más triples enlaces, que puede estar ramificado o no ramificado, y sustituido (mono o poli) o no sustituido. Preferiblemente el grupo alquino es un grupo alquino C₂₋₂₀, más preferiblemente un grupo alquino C₂₋₁₅, todavía más preferiblemente un grupo alquino C₂₋₁₀ o preferiblemente un grupo alquino C₂₋₆. Los
25 sustituyentes adecuados incluyen, por ejemplo, alquilo, hidroxilo, halo, alcoxilo, nitro, COOH, CO₂-alquilo, alqueno, CN, NH₂, CF₃ o un grupo cíclico. El experto en la técnica apreciará que el término “alquino” se interpreta en consecuencia, es decir en el contexto de la presente invención, el término “alquino” abarca una cadena de carbono insaturada lineal o ramificada, sustituida (mono o poli) o no sustituida que
30 contiene uno o más triples enlaces y que porta un grupo Y terminal.

Tal como se usa en el presente documento, el término "arilo" se refiere a un grupo aromático C₆₋₁₀ que puede estar sustituido (mono o poli) o no sustituido. Los ejemplos típicos incluyen fenilo y naftilo, etc. Los sustituyentes adecuados incluyen, por ejemplo, alquilo, hidroxilo, halo, alcoxilo, nitro, COOH, CO₂-alquilo, alquenilo, CN, NH₂, CF₃ o un grupo cíclico.

El término "heteroarilo" se refiere a un grupo arilo tal como se definió anteriormente que contiene uno o más heteroátomos. Los heteroátomos adecuados resultarán evidentes para los expertos en la técnica e incluyen, por ejemplo, azufre, nitrógeno, oxígeno, fósforo y silicio. Los sustituyentes adecuados incluyen, por ejemplo, alquilo, hidroxilo, halo, alcoxilo, nitro, COOH, CO₂-alquilo, alquenilo, CN, NH₂, CF₃ o un grupo cíclico.

Los compuestos de la invención contienen un grupo Y funcional polar, que está unido al grupo arilo, A, por medio de un grupo X de unión hidrocarbilo saturado o insaturado.

Para compuestos de fórmula I, Y se selecciona de OH, CN, COOR³, CONR³R⁴, en los que cada uno de R³ y R⁴ es independientemente H o un grupo alquilo.

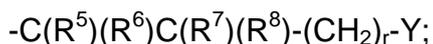
Para compuestos de fórmula I, más preferiblemente Y se selecciona de OH, CN, COOMe, COOH, CONH₂, CONHMe y CONMe₂.

Para todas las realizaciones anteriores, preferiblemente cada uno de R¹, R², R³ y R⁴ es independientemente H, un grupo alquilo, un grupo arilo o un grupo cicloalquilo, cada uno de los cuales puede estar sustituido opcionalmente con uno o más sustituyentes seleccionados de hidroxilo, halo, alcoxilo, nitro y un grupo cíclico.

En los compuestos de la invención, n es 0; es decir, B está ausente y el resto -C(=O)Z está unido directamente al grupo arilo, A.

Para compuestos de fórmula I, X-Y se selecciona de

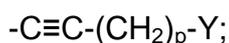




en los que cada uno de R^5 , R^6 , R^7 y R^8 es independientemente H o alquilo, y cada uno de p, q y r es independientemente 2, 3 ó 4.

5

Para compuestos de fórmula I, incluso más preferiblemente, X-Y se selecciona de



10 en el que cada uno de p y q es independientemente 2, 3 ó 4.

En una realización preferida, R^5 y R^6 son ambos H.

Para compuestos de fórmula I en otra realización preferida, X-Y es

15



En otra realización preferida, X-Y es $(\text{CH}_2)_s-\text{Y}$ en el que s es 4 ó 5.

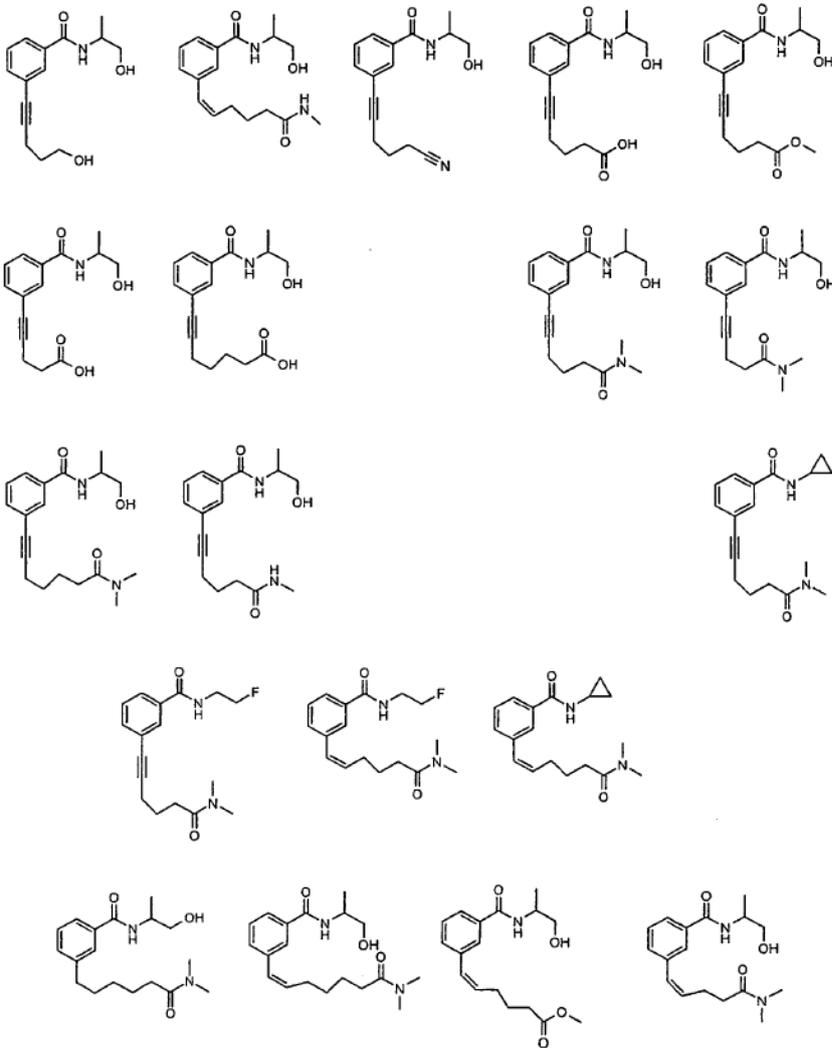
20 En los compuestos de la invención, Z es NR^1R^2 y cada uno de R^1 y R^2 es independientemente H o un grupo alquilo o cicloalquilo, cada uno de los cuales puede estar sustituido opcionalmente con uno o más grupos OH o halógeno.

En una realización preferida, Z se selecciona de $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{F}$, NH-ciclopropilo,
25 $\text{NHCH}(\text{Me})\text{CH}_2\text{OH}$ y $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$.

Se investigaron los compuestos de la invención para determinar la unión y la activación del receptor de cannabinoides *in vitro* y para determinar el potencial psicoactivo *in vivo*, usando ratones. Se cuantificaron niveles en el SNC usando medición directa de niveles cerebrales del compuesto (para compuestos que carecen de efectos en el SNC). Se evaluó la activación de cannabinoides periférica usando ensayos de motilidad intestinal. Pueden encontrarse detalles adicionales de los estudios de unión en la sección de ejemplos adjunta.

30

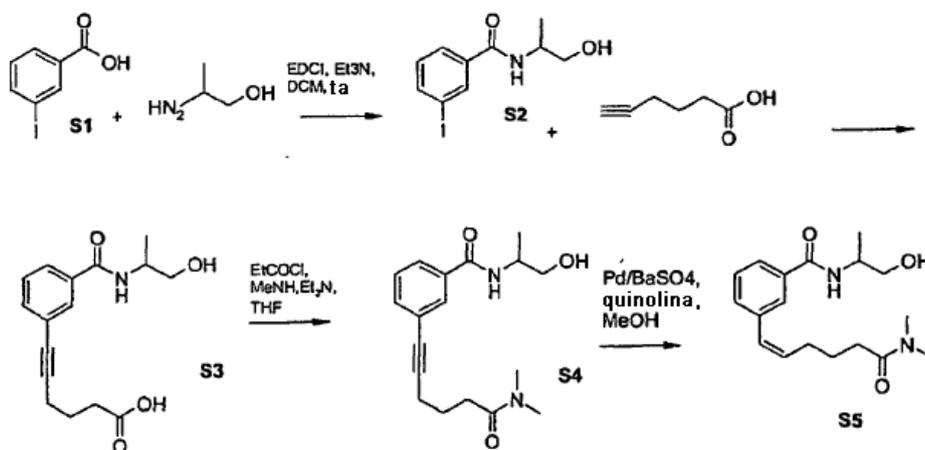
Compuestos especialmente preferidos de la invención se seleccionan de los siguientes:



5

Síntesis

Los compuestos de fórmula I se sintetizan según el esquema 1 a continuación.



Esquema 1

5 En resumen, se usó una reacción de acoplamiento de Songashira catalizada por paladio para insertar una variedad de cadenas laterales de alquilo en benzoato de 3-yodometilo. Se sintetizaron los compuestos (S5) objetivo y análogos relacionados mediante una ruta de cuatro etapas simple. En primer lugar, se hizo reaccionar el ácido (S1) con DL alaninol en presencia de una diimida (EDCI) para dar la amida (S2) con buen rendimiento. El acoplamiento catalizado por paladio [Hoye, R. C. *et al*, J. Org. Chem. 1999, 64, 2450-2453; Hopper, A. T. *et al*, J. Med. Chem. 1998, 41, 420-427] de la amida con el ácido de alquino en presencia de Cu^I y pirrolidina avanzó suavemente para dar el alquino (S3). Se transformó el ácido (S3) cuantitativamente en (S4) usando cloroformiato de etilo y dimetilamina HCl. La reducción catalizada de Lindlar proporcionó el alqueno (S5) objetivo. La flexibilidad de este método permite la síntesis de un gran número de compuestos diferentes usando una gama de alquinos para el acoplamiento de Sonogashira o empezando con una amina diferente para la formación de amida en la primera etapa.

20 Aplicaciones terapéuticas

Otro aspecto se refiere al uso de un compuesto de la invención según la invención en la preparación de un medicamento para tratar un trastorno muscular. Las realizaciones preferidas son idénticas a las expuestas anteriormente para compuestos de fórmula general I.

25

Preferiblemente, el trastorno muscular es un trastorno neuromuscular.

Tal como se usa en el presente documento la expresión “preparación de un medicamento” incluye el uso de un compuesto de fórmula I directamente como medicamento además de su uso en un programa de examen para seleccionar agentes
5 adicionales o en cualquier fase de la fabricación de un medicamento de este tipo.

El término “trastorno muscular” se usa en un sentido amplio para cubrir cualquier trastorno o enfermedad muscular, en particular una enfermedad o un trastorno
10 neurológico, más particularmente, una enfermedad neurodegenerativa o un estado adverso que implica control neuromuscular. Por tanto, el término incluye, por ejemplo, CREAE, EM, espasticidad, enfermedad de Parkinson, corea de Huntington, lesión de médula espinal, epilepsia, síndrome de Tourette y espasmo de la vejiga. Aunque no hay un papel claro para los receptores de cannabinoides periféricos en el control de la
15 espasticidad en esclerosis múltiple y EAE, las barreras sangre:SNC están comprometidas en áreas lesionadas y pueden proporcionar acceso selectivo de agentes terapéuticos [Butter, C. *et al*, J. Neurol. Sci. 1991, 104, 9-12; Daniel, P. M. *et al*, J. Neurol. Sci. 1983, 60, 367-376; Juhler, M. *et al*, Brain Res. 1984, 302, 347-355].

20 Además de los trastornos mencionados anteriormente, la presente invención también tiene aplicaciones en otros campos en los que está presente o se manifiesta temblor o espasmo muscular, tales como incontinencia, asma, espasmo bronquial, hipo, etc.

Otro aspecto se refiere al uso de un compuesto de la invención según la invención en
25 la preparación de un medicamento para controlar la espasticidad y los temblores.

Los compuestos de la invención también tienen aplicaciones terapéuticas en el tratamiento de diversos trastornos gastrointestinales.

30 Se conoce que los receptores CB₁ periféricos modulan la motilidad gastrointestinal, secreción intestinal y gastroprotección. El tracto digestivo contiene cannabinoides endógenos (anandamida y 2-araquidonoilglicerol), y pueden encontrarse receptores de cannabinoides CB₁ en nervios mientéricos y de la submucosa. La activación de

receptores CB₁ entéricos (intestinales) localizados antes de la unión/antes de la sinapsis produce inhibición de contracciones inducidas eléctricamente (un efecto que está asociado con la inhibición de la liberación de acetilcolina a partir de nervios entéricos) en diversos tejidos intestinales aislados, incluyendo el íleo y el colon humanos. Los agonistas cannabinoides inhiben la motilidad intestinal en roedores *in vivo* y este efecto está mediado, al menos en parte, por la activación de receptores CB₁ periféricos (es decir intestinales), tanto en el tránsito gastrointestinal superior [Izzo, A. A. *et al*, Br. J. Pharmacol. 2000, 129, 1627-1632; Landi, M. *et al*, Eur. J. Pharmacol. 2002, 450, 77-83] como en el colon [Pinto, L. *et al*, Gastroenterology 2002, 123, 227-234]. Por tanto, la medición de la motilidad intestinal *in vivo* es un modelo útil para evaluar la actividad de fármacos cannabinoides que actúan en la periferia.

Otro aspecto se refiere al uso de un compuesto de la invención según la invención en la preparación de un medicamento para tratar un trastorno gastrointestinal.

Preferiblemente, el trastorno gastrointestinal se selecciona de uno o más de los siguientes: úlceras gástricas, enfermedad de Crohn, diarrea secretora e íleo paralítico.

Tal como se usa en el presente documento el término “íleo paralítico” se refiere a parálisis o inactividad del intestino que impide el paso de material dentro del intestino. Normalmente, esto puede ser el resultado de fármacos anticolinérgicos, lesión o enfermedad. El íleo paralítico es un acontecimiento común tras la cirugía.

Preferiblemente para todas las aplicaciones terapéuticas anteriores, el modulador modula selectivamente receptores de cannabinoides periféricos.

Incluso más preferiblemente, el modulador modula selectivamente receptores de cannabinoides periféricos con respecto a receptores de cannabinoides centrales.

Tal como se usa en el presente documento, el término “selectivamente” se refiere a moduladores que son selectivos para receptores de cannabinoides periféricos. Preferiblemente son selectivos con respecto a receptores de cannabinoides centrales. Preferiblemente los moduladores de la invención tienen una razón de selectividad para

receptores de cannabinoides periféricos superior a 10 con respecto a 1, más preferiblemente superior a 100 con respecto a 1, más preferiblemente superior a 300 con respecto a 1, con respecto a receptores de cannabinoides centrales. El experto en la técnica puede determinar fácilmente las razones de selectividad.

5

Para algunas aplicaciones, preferiblemente el modulador de la presente invención tiene un valor de CE_{50} de menos de aproximadamente 1000 nM, preferiblemente menos de 100 nM, más preferiblemente menos de aproximadamente 75 nM, incluso más preferiblemente menos de aproximadamente 50 nM, preferiblemente menos de aproximadamente 25 nM, preferiblemente menos de aproximadamente 20 nM, preferiblemente menos de aproximadamente 15 nM, preferiblemente menos de aproximadamente 10 nM, preferiblemente menos de aproximadamente 5 nM.

Más preferiblemente, el modulador se une de manera sustancialmente exclusiva a receptores de cannabinoides periféricos.

En una realización particularmente preferida, el modulador es un agonista de receptor de cannabinoides. Tal como se usa en el presente documento el término “agonista” se usa en su sentido normal en la técnica, es decir, un compuesto químico que activa funcionalmente el receptor al que se une.

En una realización particularmente preferida, el modulador no agoniza sustancialmente receptores de cannabinoides centrales.

Todavía incluso más preferiblemente el modulador está excluido sustancialmente del SNC. Por tanto, el modulador puede modular receptores de cannabinoides periféricos sin producir efectos en el SNC, tales como efectos psicoactivos indeseables.

Otro aspecto de la invención se refiere a un método de tratamiento de un trastorno asociado con la modulación de receptores de cannabinoides periféricos, comprendiendo dicho método administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I tal como se definió anteriormente.

Preferiblemente, dicho trastorno está asociado con la desactivación de receptores de cannabinoides periféricos.

5 Composiciones farmacéuticas

Un aspecto adicional de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como se definió anteriormente mezclado con un diluyente, excipiente o portador farmacéuticamente aceptable.

10 Aunque los compuestos de la presente invención (incluyendo sus sales, ésteres farmacéuticamente aceptables y solvatos farmacéuticamente aceptables) pueden administrarse solos, generalmente se administrarán mezclados con un portador, excipiente o diluyente farmacéutico, particularmente para la terapia humana. Las
15 composiciones farmacéuticas pueden ser para uso humano o animal en medicina humana y veterinaria.

Pueden encontrarse ejemplos de tales excipientes adecuados para las diversas formas diferentes de composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento en
20 “Handbook of Pharmaceutical Excipients”, 2ª edición, (1994), editado por A Wade y PJ Weller.

Portadores o diluyentes aceptables para el uso terapéutico se conocen bien en la técnica farmacéutica, y se describen, por ejemplo, en Remington’s Pharmaceutical
25 Sciences, Mack Publishing Co. (A. R Gennaro edit. 1985).

Los ejemplos de portadores adecuados incluyen lactosa, almidón, glucosa, metilcelulosa, estearato de magnesio, manitol y sorbitol. Los ejemplos de diluyentes adecuados incluyen etanol, glicerol y agua.

30 La elección de portador, excipiente o diluyente farmacéutico puede seleccionarse con respecto a la vía de administración prevista y la práctica farmacéutica convencional. Las composiciones farmacéuticas pueden comprender como, o además del, portador,

excipiente o diluyente cualquier aglutinante, lubricante, agente de suspensión, agente de recubrimiento, agente solubilizante.

5 Los ejemplos de aglutinantes adecuados incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales tales como glucosa, lactosa anhidra, lactosa de flujo libre, beta-lactosa, edulcorantes de maíz, gomas naturales y sintéticas, tales como goma arábica, tragacanto o alginato de sodio, carboximetilcelulosa y polietilenglicol.

10 Los ejemplos de lubricantes adecuados incluyen oleato de sodio, estearato de sodio, estearato de magnesio, benzoato de sodio, acetato de sodio y cloruro de sodio.

15 Pueden proporcionarse conservantes, estabilizantes, colorantes e incluso agentes aromatizantes en la composición farmacéutica. Los ejemplos de conservantes incluyen benzoato de sodio, ácido sórbico y ésteres de ácido p-hidroxibenzoico. También pueden usarse antioxidantes y agentes de suspensión.

Sales/ésteres

20 Los compuestos de la invención pueden estar presentes como sales o como ésteres, en particular sales o ésteres farmacéuticamente aceptables.

25 Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la invención incluyen sales de adición de ácido o de base adecuadas de los mismos. Puede encontrarse una revisión de sales farmacéuticas adecuadas en Berge *et al*, J Pharm Sci, 66, 1-19 (1977). Las sales se forman, por ejemplo con ácidos inorgánicos fuertes tales como ácidos minerales, por ejemplo ácido sulfúrico, ácido fosfórico o hidrácidos halogenados; con ácidos carboxílicos orgánicos fuertes, tales como ácidos alcanocarboxílicos de 1 a 4 átomos de carbono que no están sustituidos o están sustituidos (por ejemplo, con halógeno), tales como ácido acético; con ácidos dicarboxílicos saturados o insaturados, por ejemplo oxálico, malónico, succínico, maleico, fumárico, ftálico o tetraftálico; con 30 ácidos hidroxicarboxílicos, por ejemplo ácido ascórbico, glicólico, láctico, málico, tartárico o cítrico; con aminoácidos, por ejemplo ácido aspártico o glutámico; con ácido benzoico; o con ácidos sulfónicos orgánicos, tales como ácidos alquil (C₁-C₄)- o aril-

sulfónicos que no están sustituidos o están sustituidos (por ejemplo, con un halógeno) tal como ácido metano- o p-toluenosulfónico.

Los ésteres se forman usando o bien ácidos orgánicos o bien alcoholes/hidróxidos, dependiendo del grupo funcional que está esterificándose. Los ácidos orgánicos incluyen ácidos carboxílicos, tales como ácidos alcanocarboxílicos de 1 a 12 átomos de carbono que no están sustituidos o están sustituidos (por ejemplo, con halógeno), tales como ácido acético; con ácido dicarboxílico saturado o insaturado, por ejemplo oxálico, malónico, succínico, maleico, fumárico, ftálico o tetraftálico; con ácidos hidroxicarboxílicos, por ejemplo ácido ascórbico, glicólico, láctico, málico, tartárico o cítrico; con aminoácidos, por ejemplo ácido aspártico o glutámico; con ácido benzoico; o con ácidos sulfónicos orgánicos, tales como ácidos alquil (C₁-C₄)- o aril-sulfónicos que no están sustituidos o están sustituidos (por ejemplo, con un halógeno) tales como ácido metano- o p-toluenosulfónico. Los hidróxidos adecuados incluyen hidróxidos inorgánicos, tales como hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, hidróxido de calcio, hidróxido de aluminio. Los alcoholes incluyen alcanoalcoholes de 1-12 átomos de carbono que pueden estar no sustituidos o sustituidos (por ejemplo con un halógeno).

Enantiómeros/tautómeros

En todos los aspectos de la presente invención tratados previamente, la invención incluye, cuando sea apropiado, todos los enantiómeros y tautómeros de compuestos de la invención. El experto en la técnica reconocerá compuestos que poseen propiedades ópticas (uno o más átomos de carbono quiral) o características tautoméricas. Los enantiómeros y/o tautómeros correspondientes pueden aislarse/prepararse mediante métodos conocidos en la técnica. Por tanto, la invención abarca los enantiómeros y/o tautómeros en su forma aislada, o mezclas de los mismos, tales como por ejemplo, mezclas racémicas de enantiómeros.

Estereoisómeros e isómeros geométricos

Algunos de los agentes específicos de la invención pueden existir como estereoisómeros y/o isómeros geométricos, por ejemplo pueden poseer uno o más centros asimétricos y/o geométricos y por tanto pueden existir en dos o más formas estereoisoméricas y/o geométricas. La presente invención contempla el uso de todos

los estereoisómeros e isómeros geométricos individuales de estos agentes inhibidores, y mezclas de los mismos. Los términos usados en las reivindicaciones abarcan estas formas, siempre que dichas formas mantengan la actividad funcional apropiada (aunque no necesariamente en el mismo grado).

5

La presente invención también incluye todas las variaciones isotópicas adecuadas del agente o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Una variación isotópica de un agente de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se define como una en la que al menos un átomo se sustituye por un átomo que tiene el mismo número atómico pero una masa atómica diferente de la masa atómica encontrada habitualmente en la naturaleza. Los ejemplos de isótopos que pueden incorporarse en el agente y las sales farmacéuticamente aceptables del mismo incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, azufre, flúor y cloro tales como ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{17}O , ^{18}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F y ^{36}Cl , respectivamente.

10 Determinadas variaciones isotópicas del agente y las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, por ejemplo, aquellas en las que se incorpora un isótopo radiactivo tal como ^3H o ^{14}C , son útiles en estudios de distribución tisular de fármaco y/o sustrato. Se prefieren particularmente isótopos tritiados, es decir, ^3H , y de carbono 14, es decir, ^{14}C , por su facilidad de preparación y detectabilidad. Además, la

15 sustitución con isótopos tales como deuterio, es decir, ^2H , puede proporcionar determinadas ventajas terapéuticas que resultan de una estabilidad metabólica superior, por ejemplo, aumento de la semivida *in vivo* o reducción de requerimientos de dosificación y por tanto puede preferirse en algunas circunstancias. Generalmente pueden prepararse variaciones isotópicas del agente de la presente invención y las

20 sales farmacéuticamente aceptables del mismo de esta invención mediante procedimientos convencionales usando variaciones isotópicas apropiadas de reactivos adecuados.

Solvatos

30 La presente invención también incluye formas de solvato de los compuestos de la presente invención. Los términos usados en las reivindicaciones abarcan estas formas.

Administración

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden adaptarse para vías de administración oral, rectal, vaginal, parenteral, intramuscular, intraperitoneal, intraarterial, intratecal, intrabronquial, subcutánea, intradérmica, intravenosa, nasal, bucal o sublingual.

Para la administración oral, se hace un uso particular de comprimidos fabricados por compresión, píldoras, comprimidos, cápsulas de gelatina, gotas y cápsulas. Preferiblemente, estas composiciones contienen desde 1 hasta 250 mg y más preferiblemente desde 10-100 mg, de principio activo por dosis.

Otras formas de administración comprenden disoluciones o emulsiones que pueden inyectarse por vía intravenosa, por vía intraarterial, por vía intratecal, por vía subcutánea, por vía intradérmica, por vía intraperitoneal o por vía intramuscular, y que se preparan a partir de disoluciones estériles o que pueden esterilizarse. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención también pueden estar en forma de supositorios, óvulos vaginales, suspensiones, emulsiones, lociones, pomadas, cremas, geles, pulverizaciones, disoluciones o polvos finos.

Un medio alternativo de administración transdérmica es mediante el uso de un parche cutáneo. Por ejemplo, el principio activo puede incorporarse en una crema que consiste en una emulsión acuosa de polietilenglicoles o parafina líquida. El principio activo también puede incorporarse, a una concentración de entre el 1 y el 10% en peso, en una pomada que consiste en una base de cera blanca o de parafina blanda blanca junto con estabilizadores y conservantes tal como pueden requerirse.

Las formas inyectables pueden contener entre 10 - 1000 mg, preferiblemente entre 10 - 250 mg, de principio activo por dosis.

Las composiciones pueden formularse en forma farmacéutica unitaria, es decir, en forma de porciones diferenciadas que contienen una dosis unitaria, o un múltiplo o subunidad de una dosis unitaria.

Dosificación

Un experto habitual en la técnica puede determinar fácilmente una dosis apropiada de una de las presentes composiciones para administrar a un sujeto sin excesiva experimentación. Normalmente, un médico determinará la dosificación real que será la más adecuada para un paciente individual y dependerá de un variedad de factores que incluyen la actividad del compuesto específico empleado, la estabilidad metabólica y la duración de acción de ese compuesto, la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo, la dieta, el modo y el tiempo de administración, la tasa de excreción, la combinación de fármacos, la gravedad del estado particular y el individuo que se somete a terapia. Las dosificaciones dadas a conocer en el presente documento son a modo de ejemplo del caso promedio. Por supuesto, puede haber ejemplos individuales en los que existan motivos para intervalos de dosificación superiores o inferiores, y tales están dentro del alcance de esta invención.

Dependiendo de la necesidad, el agente puede administrarse a una dosis de desde 0,01 hasta 30 mg/kg de peso corporal, tal como desde 0,1 hasta 10 mg/kg, más preferiblemente desde 0,1 hasta 1 mg/kg de peso corporal.

En una realización a modo de ejemplo, se administrarán una o más dosis de 10 a 150 mg/día al paciente.

Combinaciones

En una realización particularmente preferida, el uno o más compuestos de la invención se administran en combinación con uno o más agentes farmacéuticamente activos distintos. En tales casos, los compuestos de la invención pueden administrarse consecutiva, simultánea o secuencialmente con el uno o más de otros agentes farmacéuticamente activos.

La presente invención se describe adicionalmente a modo de ejemplo, y con referencia a las siguientes figuras en las que:

La figura 1 muestra la inhibición de contracciones en conducto deferente de rata. En más detalle, la CI_{50} del compuesto (16) en este ensayo es de aproximadamente 0,1

nm. En el mismo ensayo R(+)-WIN55,212 demostró una CI_{50} en CB1 de aproximadamente 5 nm, que concuerda con su afinidad de unión conocida. Este ensayo demuestra el potencial de agonista y el efecto del compuesto (16) se neutralizó por el antagonista SR141716A de CB1.

5

La figura 2 muestra hipomotilidad en ratones de tipo natural.

La figura 3 muestra hipotermia en ratones de tipo natural. Se evaluó la temperatura y la motilidad a los 5 minutos en una cámara de actividad de campo abierto de 27 cm² [Brooks *et al* 2002] antes y después (20 min.) de inyección de vehículo (alcohol, Cremophor, PBS (1:1:18)), compuesto (16) o el agonista de CB1 que penetra en el SNC R(+)-Win 55,212. Este último compuesto indujo efectos miméticos del cannabis típicos mientras que el compuesto (16) era inactivo a 1 mg/kg (anterior) e incluso a 20 mg/kg i.v.

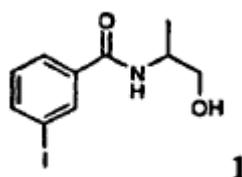
15

La figura 4 muestra la evaluación de la espasticidad en ratones con CREAE. Se desarrolló espasticidad tras el desarrollo de EAE crónica inducida por inyección de homogeneizado de médula espinal de ratón en adyuvante completo de Freund en el día 0 y 7. Esto sucedió 60-80 días tras la inducción en ratones ABH.*Cnr1*^{+/+} de tipo natural y 30-40 días tras la inducción en ratones ABH.*Cnr1*^{-/-} deficientes para el gen del receptor CB1 (*Cnr1*). Se evaluó la espasticidad mediante la resistencia a la flexión completa de las extremidades traseras frente a un extensiómetro [Baker *et al* 2000], antes y después del tratamiento con o bien el agonista CP55,940 de CB₁/CB₂ completo o el agonista de CB₁/CB₂”CB₃” completo inyectado por vía intraperitoneal o bien el compuesto (16) inyectado por vía intravenosa en vehículo (alcohol:Cremophor:PBS (1:1:18)). Los resultados representan el porcentaje de cambio \pm EEM desde el nivel inicial (n<10-12 por grupo) 10 minutos tras la administración. Se realizó el análisis estadístico de los datos sin procesar y se analizaron por parejas desde los niveles iniciales (***) P<0,001). Los efectos antiespasmódicos de agonistas que penetran en el SNC se perdieron en ratones deficientes para CB₁ lo que indica que CB₂”CB₃” no es una diana para la actividad antiespasmódica. El vehículo solo era inactivo [Baker *et al* 2000]. El compuesto (16) mostró actividad antiespasmódica significativa en ratones de tipo natural y era activo cuando se administró en PBS solo (no mostrado).

25
30

Ejemplos

Se purificaron los compuestos mediante HPLC de fase inversa (Gilson) usando una columna C-18 preparativa (Hypersil PEP 100x21 mm de diámetro interno, 5 μ m de tamaño de partícula y 100 Å de tamaño de poro) y gradiente isocrático a lo largo de 20 minutos.

N-(2-Hidroxi-1-metil-etil)-3-yodobenzamida (1)

10 A una disolución de ácido 3-yodobenzoico (10,02 g, 40,30 mmol), en diclorometano seco, a temperatura ambiente (180 ml) bajo una atmósfera de nitrógeno, se le añadió EDCI (7,72 g, 40,30 mmol) seguida por trietilamina (8,0 ml, 60,45 mmol) y se agitó al mezcla a temperatura ambiente durante 5 minutos adicionales. Entonces se añadió DL alaninol (3,02 g, 40,3 mmol) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 16 h. Se lavó la mezcla de reacción con una mezcla de salmuera saturada y bicarbonato de sodio saturado (1:1; 2x150 ml) seguido por disolución de salmuera saturada (100 ml). Se separaron las fases orgánicas y se secaron sobre sulfato de magnesio y se evaporó el disolvente a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (DCM:MeOH, gradiente del 1% al 8% de metanol) para proporcionar el compuesto 1 (4,14 g, 13,6 mmol, rendimiento del 34%) como un sólido de color blanquecino.

25 $\delta(^1\text{H})(\text{CDCl}_3)$; 1,41 (3H, d, J 6,8 Hz), 3,70 (1H, dd, J_1 5,5, J_2 10,9 Hz), 3,80 (1H, dd, J_1 2,9, J_2 10,9 Hz), 4,38 (1H, m), 6,46 (1H, m), 7,27 (2H, t, J 7,8 Hz), 7,93 (1H, d, J 7,88 Hz), 8,21 (1H, s).

$\delta(^{13}\text{C})(\text{CDCl}_3)$; 17,49 (CH_3), 48,53 (CH_2), 67,19 (CH_2), 94,59 (C), 126,79 (CH), 129,58 (CH), 130,62 (CH), 136,37 (CH), 136,83 (C), 166,71(C).

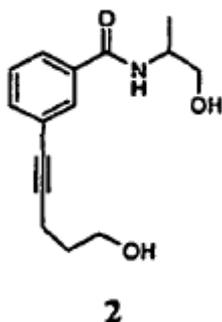
Calculado $C_{10}H_{11}NO_2 \cdot \frac{1}{2} H_2O$: C 38,23%, H 3,85%, N 4,46%; hallado: C 38,95%, H 3,80%, N 4,08% [Drug Design and Discovery 2000, 281-294].

Procedimiento general para la reacción de acoplamiento de Sonogashira

5 Método A

[Tetrahedron 2000, 56, 4777-4792] Se añadieron cloruro de bis(trifenilfosfina)paladio (III) (3,5% mol), yoduro de cobre (I) (8% mol) y trietilamina (4 mmol) a una disolución de N-(2-hidroxi-1-metil-etil)-3-yodobenzamida (1) (1 mmol) en DMF (5 ml). Se agitó la mezcla durante 1 h bajo una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente. Se
10 añadió el alquino (1 mmol) y se agitó la mezcla de reacción a 60°C durante 2 horas. Se concentró la mezcla de reacción a vacío y se purificó el residuo mediante cromatografía ultrarrápida corta sobre gel de sílice (DCM:MeOH, gradiente del 1% al 4% de metanol) para proporcionar el compuesto deseado.

15 N-(2-Hidroxi-1-metil-etil)-3-(5-hidroxi-pent-1-inil)-benzamida (2)



Se usó el método A para sintetizar el compuesto mencionado (2), acoplando (1) (0,50 g, 1,64 mmol) con 4-pentil-1-ol para proporcionar N-(2-hidroxi-1-metil-etil)-3-(5-hidroxi-
20 pent-1-inil)-benzamida (2) (0,314 g, 1,20 mmol; 73%).

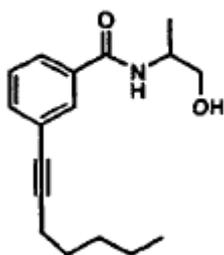
$\delta(^1H)(CDCl_3)$; 1,19 (3H, d, J 6,8 Hz), 1,68-1,81 (3H, m), 2,45 (2H, t, J 6,9 Hz), 3,04-3,17 (1H, m), 3,39-3,74 (5H, m), 4,12-4,23 (1H, m), 6,52 (1H, d, J 7,2 Hz), 7,22 (1H, dd, J₁ 6,3, J₂ 11,67 Hz), 7,39 (1H, d, J 7,7 Hz), 7,60 (1H, d, J 7,8 Hz), 7,68 (1H, s).

25

$\delta(^{13}\text{C})$ (CDCl_3); 16,30 (CH_3), 17,440 (CH_3), 31,66 (CH_2), 48,49 (CH_2), 61,92 (CH_2), 67,00 (CH_2), 80,64 (C), 91,03 (C), 124,66 (C), 126,79 (CH), 128,93 (CH), 130,32 (CH), 134,74 (CH), 134,90 (C), 167,79(C).

5 EM (ES) m/z 262 (M+H).

3-Hept-1-inil-N-(2-hidroxi-1-metil-etil)-benzamida (3)



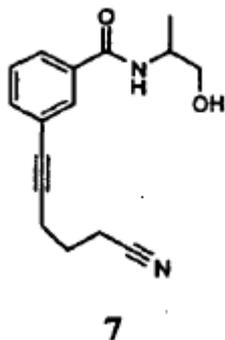
3

10 Se usó el método A para sintetizar el compuesto mencionado (3), acoplado (1) (0,25 g, 0,84 mmol) con 1-heptino para proporcionar 3 (0,236 g, 0,80 mmol; 95%) como un aceite incoloro.

15 $\delta(^1\text{H})$ (CDCl_3); 0,89 (3H, t, J 6,8 Hz), 1,22 (3H, d, J 6,8 Hz), 1,29-1,41 (4H, m), 1,53-1,60 (2H, m), 2,36 (2H, t, J 7,1 Hz), 2,81 (2H, m), 2,89 (1H, m), 4,15-4,19 (1H, m), 6,67 (1H, d, J 7,3 Hz), 7,24 (1H, t, J 7,7 Hz), 7,44 (1H, d, J 7,7 Hz), 7,63 (1H, d, J 7,8 Hz), 7,73 (1H, s).

20 $\delta(^{13}\text{C})$ (CDCl_3); 14,31 (CH_3), 17,40 (CH_3), 19,71 (CH_2), 22,57 (CH_3), 28,73 (CH_2), 31,49 (CH_2), 48,44 (CH), 66,79 (CH_2), 67,00 (CH_2), 80,13 (C) 92,04 (C), 124,97 (C), 126,53 (CH), 128,90 (CH), 130,33 (CH), 132,45 (CH), 134,95 (C), 167,80(C).

EM (ES) m/z 274 (M+H).

3-(5-Ciano-pentil-1-inil)-N-(2-hidroxi-1-metil-etil)benzamida (7)

Se usó el método A para sintetizar el compuesto mencionado (7), acoplado (1) (0,300
 5 g, 0,983 mmol) con hex-5-inonitrilo (119 mg, 1,28 mmol) para dar 0,124 g de 3-(5-
 ciano-pentil-1-inil)-N-(2-hidroxi-1-metil-etil)benzamida (7) con un rendimiento del 46,6%
 tras purificación.

$\delta(^1\text{H})$ (CDCl_3); 1,29 (3H, d, J 6,8 Hz), 1,97 (2H, m), 2,55-2,64 (4H, m), 3,67 (1H, m),
 10 3,78 (1H, m), 4,28 (1H, m), 6,41 (1H, m), 7,36 (1H, t, J 7,8 Hz), 7,51 (1H, d, J 7,8 Hz),
 7,72 (1H, d, J 7,8 Hz), 7,80 (1H, s).

$\delta(^{13}\text{C})$ (CDCl_3); 16,68 (CH_2), 17,50 (CH_3), 18,94 (CH_2), 24,87 (CH_2), 48,52 (CH), 67,22
 15 (CH_2), 81,95 (C), 88,5 (C), 119,55 (C), 124,13 (C), 127,07 (CH), 129,06 (CH), 130,45
 (CH), 134,80 (CH), 135,00 (C), 167,61 (C).

EM (ES) m/z 271 (M+H).

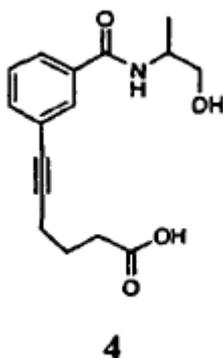
Método B

20 [J. Org. Chem. 1999, 64, 4777-4792; J. Med Chem. 1998, 41, 420-427] Se añadieron
 tetrakis(trifenilfosfina)paladio (0) (2% mol) y yoduro de cobre (I) (7% mol) a pirrolidina
 (15 ml) en un matraz de fondo redondo y se agitó a temperatura ambiente bajo una
 atmósfera de nitrógeno, durante 5 minutos. A esta disolución se le añadió N-(2-hidroxi-
 1-metil-etil)-3-yodobenzamida (1 mmol) y se agitó durante 15 minutos adicionales a
 25 temperatura ambiente. Se añadió el alquino (1 mmol) y se agitó la mezcla de reacción a
 60°C durante 3 horas. Se concentró la mezcla de reacción a vacío, se trató el residuo
 con DOWEX50 WX80 (10 x el peso del material de partida); se lavó DOWEX50 WX80

con acetonitrilo (3x20 ml), luego se suspendió en una mezcla de acetonitrilo/agua (3/1). Se disolvió el residuo anterior en acetonitrilo/agua (1:1, 20 ml), y se añadió a la suspensión de resina y se agitó durante 20 minutos. Se separó la resina por filtración, se lavó con acetonitrilo/agua (3/1) y se eliminó el disolvente del filtrado a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna ultrarrápida corta sobre gel de sílice (DCM:MeOH:AcOH, gradiente del 1% al 8% de metanol, con el 1% de AcOH) para proporcionar el compuesto deseado.

Método B¹: Se realizó el tratamiento del material en bruto con DOWEX50 WX80 en presencia de metanol en lugar de acetonitrilo/agua (3/1).

Ácido 6-[3-(2-hidroxi-1-metil-etilcarbamoyl)fenil]-hex-5-inoico (4)



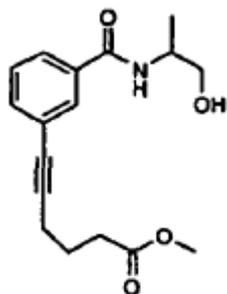
Se acopló la yodobenzamida (1) (2,00 g, 6,5 mmol) con ácido 5-hexinoico usando el método B dando el producto (4) (1,87 g, 6,42 mmol; rendimiento del 99%).

$\delta(^1\text{H})(\text{CDCl}_3)$; 1,49 (3H, d, J 6,8 Hz), 2,14 (2H, t, J 7,2 Hz), 2,67-2,76 (4H, m), 3,83-3,90 (2H, m) 4,39-4,45 (1H, m) 7,64 (1H, t, J 7,7 Hz), 7,76 (1H, d, J 7,7 Hz), 7,99 (1H, d, J 7,8 Hz), 8,10 (1H, s).

$\delta(^{13}\text{C})(\text{CD}_3\text{OD})$; 17,47 (CH_2), 19,99 (CH_3), 36,25 (CH_2), 66,54 (CH_2), 81,82 (C), 91,53 (C), 126,03 (C), 128,05 (CH), 129,99 (CH), 131,75 (CH), 135,69 (CH), 136,58 (C), 168,538 (C).

EM (CI) m/z 290 (M+H).

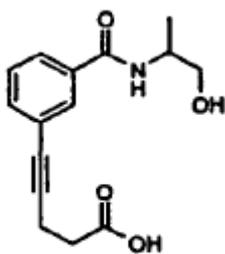
Éster metílico del ácido 6-[3-(2-hidroxi-1-metil-etilcarbamoil)-fenil]-hex-5-inoico (20)



20

- 5 Si se usó el método B¹ en el tratamiento final, se obtuvo éster metílico del ácido 6-[3-9(2-hidroxi-1-metil-etilcarbamoil)-fenil]-hex-5-inoico (20) en lugar de el ácido 4. Se acopló 1 (0,100 g, 0,32 mmol) con ácido 5-hexinoico (0,091 g, 0,276 mmol) para dar 20 (0,091 g, 0,27 mmol, rendimiento del 85%).
- 10 $\delta(^1\text{H})(\text{CDCl}_3)$; 1,31 (3H, d, J 6,8 Hz), 1,96 (2H, t, J 7,2 Hz), 2,03 (3H, s), 2,39-2,59 (4H, m), 3,61-3,72 (2H, m), 4,19-4,27 (1H, m), 7,46 (1H, t, J 7,7 Hz), 7,48 (1H, d, J 7,6 Hz), 7,94 (1H, d, J 7,8 Hz), 8,05 (1H, s).

Ácido 5-[3-(2-hidroxi-1-metil-etilcarbamoil)fenil]-hex-4-inoico (5)



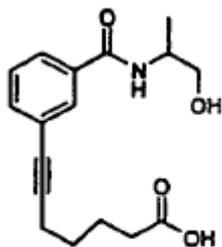
5

- 15 Se acopló la yodobenzamida (1) (2,00 g, 6,5 mmol) con ácido 5-hexinoico usando el método B proporcionando (4) (1,87 g, 6,42 mmol; rendimiento del 99%).
- 20 $\delta(^1\text{H})(\text{CD}_3\text{OD})$; 1,40 (3H, d, J 6,8 Hz), 2,70-2,824 (2H, m), 2,87-2,89 (2H, m), 3,74-3,77 (2H, m), 4,30-4,36 (1H, m), 7,54 (1H, t, J 7,7 Hz), 7,6 (1H, d, J 7,6 Hz), 7,91 (1H, d, J 7,8 Hz), 7,99 (1H, s).

$\delta(^{13}\text{C})$ (CD_3OD); 16,21 (CH_2), 17,03 (CH_3), 34,94 (CH_2), 66,08 (CH_2), 81,05 (C), 90,53 (C), 125,46 (C), 127,70 (CH), 129,56 (CH), 131,39 (CH), 135,27 (CH), 136,19 (C), 169,28 (C), 175,80 (C).

5

Ácido 7-[3-(2-hidroxi-1-metil-etilcarbamoil)fenil]-hex-6-inoico (6)



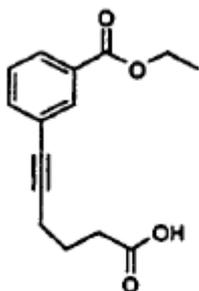
6

Se acopló la yodobenzamida (1) (0,50 g, 1,64 mmol) con ácido 6-heptinoico (0,212 g, 1,64 mmol) usando el método B para dar el ácido 7-[3-(2-hidroxi-1-metil-etilcarbamoil)fenil]-hex-6-inoico (6) (0,487 g, 1,60 mmol; rendimiento del 98%).

$\delta(^1\text{H})$ (CD_3OD); 1,22 (3H, d, J 6,8 Hz), 1,44-1,68 (2H, m), 1,73-1,80 (2H, m), 2,30-2,46 (2H, m), 3,54-3,63 (2H, m), 4,12-4,39 (1H, m) 7,36 (1H, t, J 7,7 Hz), 7,49 (1H, d, J 7,7 Hz), 7,72 (1H, d, J 7,8 Hz), 7,82 (1H, s).

15

$\delta(^{13}\text{C})$ (CD_3OD); 17,06 (CH_3), 19,70 (CH_2), 25,39 (CH_2), 29,23 (CH_2), 49,16 (CH_2), 66,14 (CH_2), 81,16 (C), 91,55 (C), 125,75 (C), 127,53 (CH), 129,54 (CH), 131,32 (CH), 135,24 (CH), 136,20 (C), 169,34 (C).

Éster etílico del ácido 3-(5-carboxi-pent-1-inil)-benzoico (14)**14**

Se acopló la yodobenzamida (1) (1,50 g, 5,4 mmol) con ácido 5-hexinoico usando el
 5 método B para dar éster etílico del ácido 3-(5-carboxipent-1-inil)-benzoico (14) (0,903 g,
 3,4 mmol; rendimiento del 64%).

$\delta(^1\text{H})(\text{CDCl}_3)$; 1,39 (3H, d, J 7,1 Hz), 1,83-1,99 (2H, m), 2,44-2,59 (4H, m), 4,37 (2H, q,
 10 J 7,1 Hz), 7,35 (1H, t, J 7,8 Hz), 7,58 (1H, d, J 7,6 Hz), 7,82 (1H, d, J 7,8 Hz), 7,92 (1H,
 s).

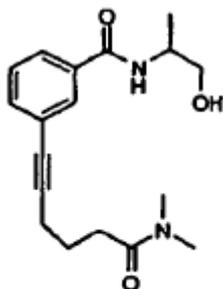
$\delta(^{13}\text{C})(\text{CDCl}_3)$; 14,28(CH₃), 18,79 (CH₂), 23,59 (CH₂), 61,13 (CH₂), 80,72 (C), 89,67
 (C), 124,07 (C), 128,28 (CH), 128,72 (CH), 130,69 (C), 132,22 (CH), 135,65 (CH),
 15 166,03 (C).

Síntesis de amidasMétodo C:

A una disolución del ácido alquinoico (1 mmol) en THF seco (6 ml) bajo atmósfera de
 nitrógeno, se le añadió trietilamina (2 mmol) y entonces se enfrió a -10°C. A la mezcla
 20 de reacción se le añadió cloroformiato de etilo (1 mmol) y entonces se agitó durante 15
 minutos adicionales a -10°C. Mientras tanto se preparó una disolución de clorhidrato de
 amina (3 mmol), agua (0,88 ml), trietilamina (0,63 ml, 6 mmol) y THF (1,76 ml) y se
 añadió gota a gota a la mezcla de reacción. Se dejó calentar la reacción hasta 5°C en
 1,5 h y entonces se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos adicionales. Se
 25 vertió la mezcla en una mezcla 1:1 de salmuera saturada y bicarbonato de sodio
 saturado (50 ml) y entonces se extrajo con DCM (5x50 ml). Se evaporó la fase orgánica
 a vacío, se purificó el residuo mediante cromatografía en columna corta sobre gel de

sílice (DCM:MeOH, gradiente del 1% al 10% de metanol) para dar el compuesto deseado.

3-(5-Dimetilcarbamoil-pent-1-inil)-N-(2-hidroxi-1-metil-etil)benzamida (8)



5

8

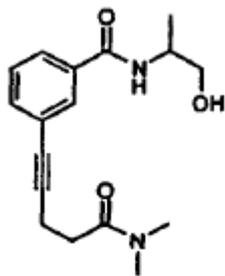
Se hizo reaccionar ácido 6-[3-(2-hidroxi-1-metil-etilcarbamoil)fenil]-hex-5-inoico (4) (0,109 g, 0,377 mmol) usando el método C con clorhidrato de dimetilamina para obtener 8 (0,115 g, 0,363 mmol; rendimiento del 96%).

10

$\delta(^1\text{H})$ (CDCl_3); 1,29 (3H, d, J 6,8 Hz), 1,81-1,94 (2H, m), 2,37-2,47 (4H, m), 2,91 (3H, s), 3,00 (3H, s), 3,38-3,64 (2H, m) 4,19-4,43 (1H, m) 6,78 (1H, d, J 7,2 Hz), 7,29 (1H, t, J 7,7 Hz), 7,42 (1H, d, J 7,7 Hz), 7,68 (1H, d, J 7,8 Hz), 7,75 (1H, s).

15 $\delta(^{13}\text{C})$ (CDCl_3); 17,42(CH_3), 19,36 (CH_2), 24,45 (CH_2), 32,30 (CH_2), 35,83(CH_3), 37,67 (CH_3), 48,51 (CH), 66,90 (CH_2), 80,91 (C), 90,92 (C), 124,60 (C), 126,85 (CH), 128,85 (CH), 130,39 (CH), 134,58 (CH), 135,13 (C), 167,63 (C), 172,87(C).

EM (ES) m/z 317 (M+H).

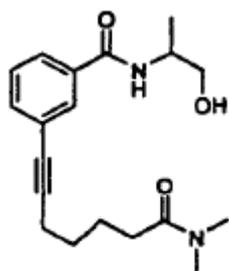
3-(4-Dimetilcarbamoil-pent-1-inil)-N-(2-hidroxi-1-metil-etil)benzamida (9)**9**

Se hizo reaccionar ácido 5-[3-(2-hidroxi-1-metil-etilcarbamoil)fenil]-hex-4-inoico (5) (0,100 g, 0,36 mmol) usando el método C con clorhidrato de dimetilamina para obtener 9 (0,084 g, 0,28 mmol; rendimiento del 77%).

$\delta(^1\text{H})(\text{CDCl}_3)$; 1,26 (3H, d, J 6,8 Hz), 2,58-2,75 (4H, m), 2,91 (3H, s), 3,01 (3H, s), 3,40-3,77 (2H, m), 4,19-4,43 (1H, m), 6,72 (1H, d, J 7,1 Hz), 7,29 (1H, t, J 7,8 Hz), 7,44 (1H, d, J 7,7 Hz), 7,67 (1H, d, J 7,8 Hz), 7,96 (1H, s).

$\delta(^{13}\text{C})(\text{CDCl}_3)$; 15,39 (CH_2), 16,98(CH_3), 32,43 (CH_2), 35,49(CH_3), 37,15 (CH_3), 48,13 (CH), 66,64 (CH_2), 80,14 (C), 90,19 (C), 123,99 (C), 126,60 (CH), 128,43 (CH), 129,95 (CH), 134,19 (CH), 134,75 (C), 167,26 (C), 171,14(C).

15

3-(6-Dimetilcarbamoil-pent-1-inil)-N-(2-hidroxi-1-metil-etil)benzamida (10)**10**

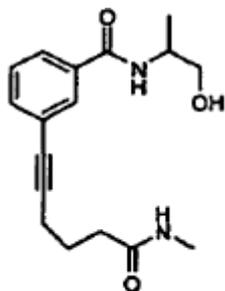
Se hizo reaccionar ácido 7-[3-(2-hidroxi-1-metil-etilcarbamoil)fenil]-hex-6-inoico (6) (0,100 g, 0,32 mmol) usando el método C con clorhidrato de dimetilamina para obtener 10 (0,091 g, 0,276 mmol; rendimiento del 85%).

$\delta(^1\text{H})(\text{CDCl}_3)$; 1,26 (3H, d, J 6,8 Hz), 1,59-1,80 (4H, m), 2,31-2,43 (4H, m), 2,91 (3H, s),
 2,98 (3H, s), 3,60 (1H, dd, J_1 11,1 Hz, J_{2_1} 5,3 Hz), 3,74 (1H, dd, J_1 11,1 Hz, J_{2_1} 3,5 Hz),
 6,85 (1H, d, J 7,2 Hz), 7,27 (1H, t, J 7,7 Hz), 7,43 (1H, d, J 7,7 Hz), 7,69 (1H, d, J 7,8
 5 Hz), 7,76 (1H, s).

$\delta(^{13}\text{C})(\text{CDCl}_3)$; 16,99 (CH_3), 19,15 (CH_2), 24,30 (CH_2), 28,19 (CH_2), 32,45 (CH_2), 35,46
 (CH_3), 37,33 (CH_3), 48,12 (CH), 66,50 (CH_2), 80,37 (C), 90,85 (C), 124,26 (C), 126,55
 (CH), 128,44 (CH), 129,98 (CH), 134,06 (CH), 134,74 (C), 167,24 (C), 172,98(C).

10

3-(5-Metilcarbamoil-pent-1-inil)-N-(2-hidroxi-1-metil-etil)benzamida (22)

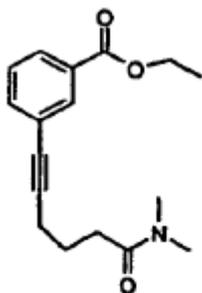


22

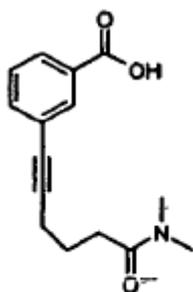
Se hizo reaccionar ácido 6-[3-(2-hidroxi-1-metil-etilcarbamoil)fenil]-hex-5-inoico (4)
 15 (0,400 g, 1,37 mmol) usando el método C con clorhidrato de metilamina (0,609 g) para
 dar 3-(5-metilcarbamoil-pent-1-inil)-N-(2-hidroxi-1-metiletil)benzamida (22) (0,221 g,
 0,724 mmol; rendimiento del 53%).

$\delta(^1\text{H})(\text{CDCl}_3)$; 1,29 (3H, d, J 6,8 Hz), 1,88-1,97 (2H, m), 2,33-2,44 (4H, m), 2,79 (3H, s),
 20 2,81 (3H, s), 3,65 (2H, dd, J_1 5,6, J_2 11,1 Hz), 3,79 (2H, dd, J_1 3,6, J_2 11,1 Hz), 4,23-
 4,31 (1H, m), 5,93 (1H, sa), 6,55 (1H, d, J 7,3 Hz), 7,33 (1H, t, J 7,7 Hz), 7,7 (1H, d, J
 7,7 Hz), 7,69 (1H, d, J 7,7 Hz), 7,77 (1H, s).

$\delta(^{13}\text{C})(\text{CDCl}_3)$; 17,44 (CH_3), 19,29 (CH_2), 26,70 (CH_3), 35,58 (CH_2), 48,57 (CH), 67,20
 25 (CH_2), 80,91 (C), 90,69 (C), 124,60 (C), 126,81 (CH), 128,95 (CH), 130,41 (CH), 134,68
 (CH), 134,98 (C), 167,63 (C), 173,47 (C).

Éster etílico del ácido 3-(5-dimetilcarbamoil-pent-inil)benzoico (23)**23**

- 5 Se hizo reaccionar éster etílico del ácido 3-(5-carboxi-pent-1-inil)-benzoico (4) (0,900 g, 3,4 mmol) usando el método C con clorhidrato de dimetilamina para dar éster etílico del ácido 3-(5-dimetilcarbamoil-pent-inil)benzoico (23) (0,873 g, 3,04 mmol; rendimiento del 89%).
- 10 $\delta(^1\text{H})(\text{CDCl}_3)$; 1,39 (3H, d, J 7,1 Hz), 1,87-2,00 (2H, m), 2,43-2,54 (4H, m), 2,95 (3H, s), 3,03 (3H, s), 4,37 (2H, q, J 7,1 Hz), 7,32 (1H, t, J 7,8 Hz), 7,55 (1H, d, J 7,6 Hz), 7,92 (1H, d, J 7,8 Hz), 8,04 (1H, s).
- $\delta(^{13}\text{C})(\text{CDCl}_3)$; 14,28 (CH₃), 18,97 (CH₂), 24,01 (CH₂), 31,87 (CH₂), 35,39 (CH₃), 37,20 (CH₃), 61,10 (CH₂), 80,39 (C), 90,60 (C), 124,26 (C), 128,27 (CH), 128,60 (CH), 130,69 (C), 132,62 (CH), 135,58(CH), 166,0 (C), 172,26 (C).
- 15

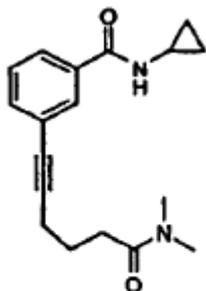
Ácido 3-(5-dimetilcarbamoil-pent-1-inil)-benzoico (24)**24**

Se trató éster etílico del ácido 3-(5-dimetilcarbamoil-pent-inil)benzoico (0,800 g, 2,78 mmol) con disolución de hidróxido de sodio 1 M (6 ml) durante la noche. A la mezcla de reacción se le añadieron 7 ml de disolución de HCl 1 M y se eliminó el disolvente a vacío. Se trituró el residuo con acetato de etilo, para dar ácido 3-(5-dimetilcarbamoil-pent-1-inil)-benzoico (24) (0,590 g, 2,05 mmol; rendimiento del 74%) como un polvo de color blanquecino.

$\delta(^1\text{H})(\text{CDCl}_3)$; 1,85-2,00 (2H, m), 2,48-2,58 (4H, m), 2,93 (3H, s), 3,08 (3H, s), 7,40 (1H, t, J 7,8 Hz), 7,58 (1H, d, J 7,6 Hz), 7,91 (1H, d, J 7,8 Hz), 7,97 (1H, s).

10

N-Ciclopropil-3-(5-dimetilcarbamoil-pent-1-inil)benzamida (25)



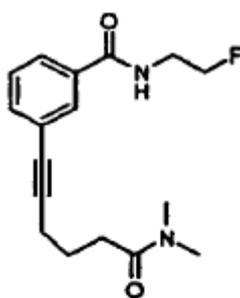
25

A una disolución de ácido 3-(5-dimetilcarbamoil-pent-1-inil)-benzoico (0,100 g, 0,38 mmol) en diclorometano seco (1,57 ml) bajo una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente, se le añadió EDCI (0,0728 g, 0,38 mmol) seguida por trietilamina (0,162 ml, 1,14 mmol), se agitó la mezcla resultante a temperatura ambiente durante 5 minutos adicionales. Entonces se añadió ciclopropilamina (0,027 g, 0,38 mmol) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 16 h. Se lavó la mezcla de reacción con una mezcla de salmuera saturada y bicarbonato de sodio saturado (1:1; 2x150 ml) seguido por disolución de salmuera saturada (100 ml). Se separó la fase orgánica y se secó sobre sulfato de magnesio y se evaporó el disolvente a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (DCM:MeOH, gradiente del 95% al 5% de metanol) para proporcionar N-ciclopropil-3-(5-dimetilcarbamoil-pent-1-inil)benzamida (25) (0,10 g, 0,34 mmol, rendimiento del 91%).

$\delta(^1\text{H})(\text{CDCl}_3)$; 0,59-0,64 (2H, m), 0,83-0,90 (2H, m), 1,90-2,00 (2H, m), 2,49-2,53 (4H, m), 2,87-2,93 (1H, m), 2,95 (3H, s), 3,03 (3H, s), 6,25 (1H, sa), 7,33 (1H, t, J 7,8 Hz), 7,44-7,49 (1H, m), 7,63-7,72 (1H, m), 7,84 (1H, s).

5 $\delta(^{13}\text{C})(\text{CDCl}_3)$; 6,76(CH_2), 18,98 (CH_2), 23,16 (CH), 24,02 (CH_2), 31,87 (CH_2), 35,39 (CH_3), 37,22 (CH_3), 80,39 (C), 90,75 (C), 124,38 (C), 126,13 (CH), 128,40 (CH), 128,53 (C), 129,84 (CH), 134,25 (CH).

3-(5-Dimetilcarbamoil-pent-1-inil)-N-(2-fluoro-etil)benzamida (26)



26

10

A una disolución de ácido 3-(5-dimetilcarbamoil-pent-1-inil)-benzoico (0,100 g, 0,38 mmol) en diclorometano seco (1,5 ml) bajo una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente, se le añadió EDCI (0,0728 g, 0,38 mmol) seguida por trietilamina (0,162 ml, 1,4 mmol), se agitó la mezcla resultante a temperatura ambiente durante 5 minutos adicionales. Entonces se añadió 2-fluoroetilamina (0,189 g, 1,9 mmol) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 16 h. Se lavó la mezcla de reacción con una mezcla de salmuera saturada y bicarbonato de sodio saturado (1:1; 2x150 ml) seguido por disolución de salmuera saturada (100 ml). Se separó la fase orgánica y se secó sobre sulfato de magnesio y se evaporó el disolvente a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (DCM:MeOH, gradiente del 95% al 5% de metanol) para proporcionar 3-(5-dimetilcarbamoil-pent-1-inil)-N-(2-fluoro-etil)benzamida (26) (0,103 g, 0,34 mmol, rendimiento del 91%).

25 $\delta(^1\text{H})(\text{CDCl}_3)$; 1,83-2,00 (2H, m), 2,48-2,52 (4H, m), 2,94 (3H, s), 3,02 (3H, s), 3,68-3,72 (1H, m), 3,73-3,82 (1H, m), 4,50 (3H, t, J 4,8 Hz), 4,66 (3H, t, J 4,8 Hz), 6,69 (1H, sa), 7,34 (1H, t, J 7,7 Hz), 7,44-7,46 (1H, m), 7,62-7,68 (1H, m), 7,93 (1H, s).

$\delta(^{13}\text{C})(\text{CDCl}_3)$; 18,97 (CH_2), 24,01 (CH_2), 31,87 (CH_2), 35,40 (CH_3), 37,23 (CH_3), 40,35 (CH_2), 40,62 (CH_2), 80,37 (C), 81,57 (CH_2), 81,57 (CH_2), 90,75 (C), 124,48 (C), 126,24 (CH), 128,40 (CH), 130,05 (CH), 131,94 (CH_2), 134,45(C), 167,04 (C), 172,30 (C).

5

Método general para la hidrogenación de Lindlar

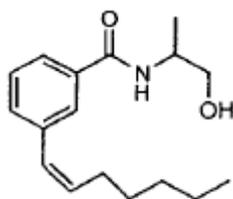
Método D:

Se combinaron quinolina (143 μl , 1,3 mmol), paladio sobre sulfato de bario reducido (5%) (143 mg) y el alquino (1 mmol) en metanol (14 ml) y se agitaron bajo presión atmosférica de hidrógeno hasta que la ^1H -RMN del producto en bruto mostró que la reducción era completa. Se retiró el catalizador por filtración a través de un lecho de Celite, que se lavó varias veces con metanol. Se evaporó el filtrado a vacío y se purificó el producto mediante HPLC preparativa.

15 Método E:

Se combinaron quinolina (25 μl , 0,21 mmol), paladio sobre sulfato de bario reducido (5%) (360 mg) y el alquino (1 mmol) en metanol (15 ml) y se agitaron bajo presión atmosférica de hidrógeno hasta que la ^1H -RMN del producto en bruto mostró que la reducción era completa. Se retiró el catalizador por filtración a través de un lecho de Celite, que se lavó varias veces con metanol. Se evaporó el filtrado a vacío y se purificó el producto mediante HPLC preparativa.

3-Hept-1-enil-N-(2-hidroxi-1-metil-etil)-benzamida (11) (ejemplo de referencia)



11

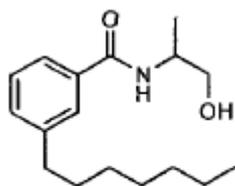
25

La hidrogenación del alquino 3 (0,050 g, 0,18 mmol) usando el método D dio dos productos, que se separaron mediante cromatografía HPLC de fase inversa preparativa

(el 55% de acetonitrilo/el 45% de agua, programa isocrático de 20 min.), compuesto mencionado 11 (12 mg) (y el compuesto totalmente reducido 3-heptil-N-(2-hidroxi-1-metil-etil)-benzamida (12) (7 mg).

- 5 $\delta(^1\text{H})(\text{CDCl}_3)$; 0,88 (3H, t, J 7,0 Hz), 1,30 (3H, d, J 6,8 Hz), 1,33-1,52 (4H, m), 2,26-2,34 (2H, m), 3,66-3,81 (2H, m), 4,25-4,35 (1H, m), 5,69-5,78 (1H, m), 6,22 (1H, sa), 6,43 (1H, d, J 11,7 Hz), 7,26 (1H, s), 7,36 (1H, d, J 7,5 Hz), 7,55-7,65 (1H, m), 7,71 (1H, s).

3-Heptil-N-(2-hidroxi-1-metil-etil)-benzamida (12) (ejemplo de referencia)



12

10

- $\delta(^1\text{H})(\text{CDCl}_3)$; 0,808 (3H, t, J 6,6 Hz), 1,21 (3H, d, J 6,8 Hz), 1,24 (4H, m), 1,52-1,57 (2H, m), 2,53-2,58 (2H, m), 3,56 (1H, dd, J_1 5,7, J_2 10,9 Hz), 3,69 (1H, dd, J_1 3,6, J_2 10,9 Hz), 4,15-4,23 (1H, m), 6,22 (1H, da, J 5,6 Hz), 7,25 (2H, d, J 7,7 Hz), 7,50 (1H, m), 7,70 (1H, s).

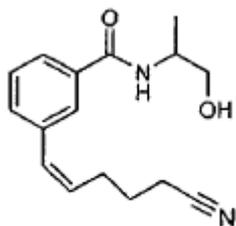
15

$\delta(^{13}\text{C})(\text{CDCl}_3)$; 14,24 (CH_3), 17,52 (CH_3), 23,01 (CH_2), 29,50 (CH_2), 29,63 (CH_2), 31,77 (CH_2), 32,15 (CH_2), 36,23 (CH_2), 48,57 (CH), 67,49 (CH_2), 124,47 (CH), 127,52 (CH), 128,79 (CH), 132,09 (CH), 134,72 (C), 134,72 (C), 143,97 (C), 168,78 (C).

20

EM (ES) m/z 277 (M+H).

3-(5-Ciano-pent-1-enil)-N-(2-hidroxi-1-metil-etil)-benzamida (15) (ejemplo de referencia)



15

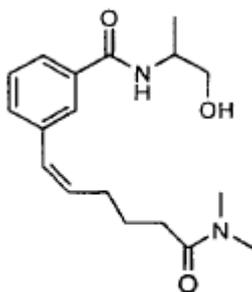
5 Se hidrogenó alquino 7 (0,030 g, 0,1 mmol) tal como se describió en el método E para dar 3-(5-ciano-pentil)-N-(2-hidroxi-1-metil-etil)-benzamida (15 mg) que se purificó mediante cromatografía HPLC de fase inversa (el 20% de acetonitrilo/el 80% de agua, programa isocrático de 20 min.).

10 $\delta(^1\text{H})$ (CDCl_3); 1,29 (d, $J = 6,9$ Hz, 3H), 1,82 (m, 2H), 2,38 (t, $J = 7,0$ Hz, 2H), 2,48 (m, 2H), 2,78 (m, 1H), 3,65 (m, 1H), 3,79 (m, 1H), 4,29 (m, 1H), 5,65 (m, 1H), 6,38 (m, 1H), 6,56 (d, $J = 11,5$ Hz, 1H), 7,34-7,44 (m, 2H), 7,64-7,68 (m, 2H).

$\delta(^{13}\text{C})$ (CDCl_3); 17,00 (CH_2), 17,45 (CH_3), 25,67 (CH_2), 27,50 (CH_2), 48,60 (CH), 67,20 (CH₂), 120,00 (C), 125,90 (CH), 127,50 (CH), 129,00 (CH), 130,77 (CH), 131,10 (CH), 132,22 (CH), 135,04 (CH), 137,83 (C), 168,4 (C).

EM (ES) m/z 273 (M+H).

20 3-(5-Dimetilcarbamoil-pent-1-enil)-N-(2-hidroxi-1-metil-etil)benzamida (16) (ejemplo de referencia)



16

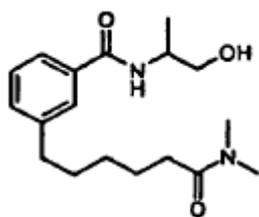
Se sintetizó el alquino 8 (0,100 g, 0,3 mmol) mediante reducción catalizada de Lindlar usando el método E para obtener una mezcla de 16 y 3-(5-dimetilcarbamoil-pentil)-N-(2-hidroxi-1-metil-etil)-benzamida (13) que se separaron mediante cromatografía HPLC de fase inversa (el 20% de acetonitrilo/el 80% de agua, programa isocrático de 20 min.) (16, 34 mg).

$\delta(^1\text{H})(\text{CDCl}_3)$; 1,31 (3H, t, J 6,8 Hz), 1,81-1,91 (2H, m), 2,26-2,39 (4H, m), 2,90 (3H, s); (3H, s); 3,65 (2H, dd, J_1 5,5, J_2 11,2 Hz), 3,83 (2H, dd, J_1 3,2, J_2 11,2 Hz), 4,27-4,30 (1H, m), 5,68-5,77 (1H, m), 6,46 (1H, d, J 11,6 Hz), 7,24-7,33 (1H, m), 7,38 (1H, d, J 7,6 Hz), 7,74-7,79 (2H, m).

$\delta(^{13}\text{C})(\text{CDCl}_3)$; 16,93 (CH₃), 24,80 (CH₂), 28,22 (CH₂), 32,51 (CH₂), 35,73 (CH), 37,45 (CH), 48,32 (CH₂), 66,73 (CH₂), 126,20 (CH), 126,35 (CH), 128,58 (CH), 129,12 (CH), 131,88 (CH), 132,63 (CH), 134,70 (C), 137,5 (C), 168,00(C), 173,11(C).

EM (ES) m/z 319 (M+H).

3-(5-Dimetilcarbamoil-pentil)-N-(2-hidroxi-1-metil-etil)-benzamida (13)



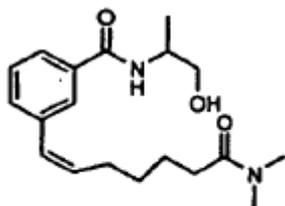
13

$\delta(^1\text{H})(\text{CDCl}_3)$; 1,28-1,36 (5H, m), 1,64 (2H, m), 2,29 (2H, t, J 7,3 Hz), 2,63 (2H, t, J 7,4 Hz), 2,91 (3H, s), 2,98 (3H, s), 3,63 (1H, m), 3,78 (2H, m), 4,19-4,30 (2H, m), 6,94 (1H, m), 7,26-7,32 (2H, m), 7,45-7,67 (3H, m).

$\delta(^{13}\text{C})(\text{CDCl}_3)$; 17,43 (CH₃), 25,09 (CH₂), 28,81 (CH₂), 31,14 (CH₂), 33,52 (CH₂), 35,54 (CH), 35,89 (CH), 37,80 (CH), 48,55 (CH), 67,08 (CH₂), 125,05 (CH), 127,50 (CH), 128,81 (CH), 132,00 (CH), 134,93(C), 143,13 (C), 168,70 (C), 173,73 (C).

EM (ES) m/z 321 (M+H).

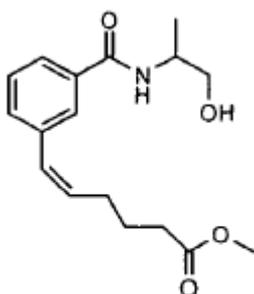
3-(6-Dimetilcarbamoil-hex-1-enil)-N-(2-hidroxi-1-metil-etil)-benzamida (17)



5 **17**

Se sintetizó 3-(6-dimetilcarbamoil-hex-1-enil)-N-(2-hidroxi-1-metil-etil)-benzamida (0,037 g, 0,11 mmol) 17 mediante reducción catalizada de Lindlar usando el método D para obtener una mezcla de 17 y el compuesto saturado más el 20% del isómero trans que se separaron mediante HPLC preparativa, desafortunadamente la separación de los isómeros cis y trans no fue muy satisfactoria y se contaminó el compuesto 17 (15 mg) con algo de isómero trans (el 10% de trans).

15 Éster metílico del ácido 6-[3-(2-hidroxi-1-metil-etilcarbamoil)-fenil]-hex-5-enoico (21)

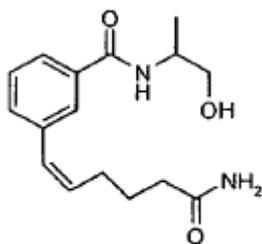


21

Se sintetizó éster metílico del ácido 6-[3-(2-hidroxi-1-metil-etilcarbamoil)-fenil]-hex-5-enoico (21) (0,100 g, 1,7 mmol) mediante reducción catalizada de Lindlar a partir del alquino 20 usando el método D, para obtener una mezcla de 21 y el 5% del isómero trans que no se separó. Se usó la mezcla como producto en bruto.

$\delta(^1\text{H})(\text{CD}_3\text{OD})$; 1,15 (3H, t, J 6,7 Hz), 1,52-1,71 (2H, m), 2,19-2,29 (4H, m), 3,47-3,56 (2H, m), 4,06-4,12 (2H, m), 5,59-5,67 (1H, m), 5,46 (2H, sa), 5,62-5,68 (1H, m), 6,39 (1H, d, J 11,6 Hz), 7,25-7,33 (1H, m), 7,41 (1H, d, J 8,0 Hz), 7,52-7,61 (2H, m).

5 3-(5-Carbamoil-pent-1-enil)-N-(2-hidroxi-1-metil-etil)-benzamida (19)
(ejemplo de referencia)



19

10 Se disolvió 21 (0,030 g, 0,10 mmol) en 2 ml de disolución al 33% de amoniaco en agua y se agitó a temperatura ambiente durante 8 h. Se eliminó el disolvente y se purificó el producto mediante cromatografía HPLC de fase inversa (el 18% de acetonitrilo/el 82% de agua, programa isocrático de 20 min.) para dar 19 (7 mg).

15 $\delta(^1\text{H})(\text{CDCl}_3)$; 1,22 (3H, t, J 6,8,0 Hz), 1,75-1,79 (2H, m), 2,20-2,32 (4H, m), 3,65 (2H, dd, J_1 5,8, J_2 11,2 Hz), 3,83 (2H, dd, J_1 2,9, J_2 11,2 Hz), 4,24-4,32 (1H, m), 5,46 (2H, sa), 5,62-5,68 (1H, m), 6,39 (1H, d, J 11,6 Hz), 7,20-7,22 (1H, m), 7,32 (1H, d, J 7,6 Hz), 7,68 (1H, s), 7,74 (1H, d, J 7,7 Hz).

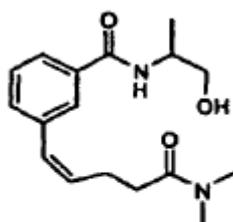
EM (CI) m/z 291 (M+H).

20 Método general para hidrogenación de BER/Ni
Se suspendieron borohidruro soportado en polímero (borohidruro sobre Amberlite IRA-400 2,5 mmol $\text{BH}_4^-/1$ g de resina) (BER) (0,750 g) y acetato de níquel tetrahidratado (0,046 g, 1,9 mmol) en 7 ml de metanol, se burbujeó hidrógeno a través de la suspensión hasta que apareció un recubrimiento de color negro de níquel sobre la resina, entonces a la mezcla bajo hidrógeno se le añadió el alquino (1 mmol) disuelto en 7 ml de metanol. Se agitó la mezcla durante 9 horas y entonces se filtró. Se lavó la

resina varias veces con metanol y entonces se evaporó el filtrado combinado a vacío. Se disolvió el residuo en un disolvente apropiado y se filtró a través de Celite para eliminar el níquel. Se purificó el producto mediante cromatografía HPLC de fase inversa preparativa.

5

3-(4-Dimetilcarbamoil-but-1-enil)-N-(2-hidroxi-1-metil-etil)-benzamida (27)

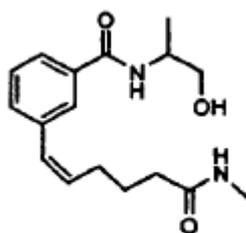


27

La hidrogenación del alquino 9 (0,055 g, 0,18 mmol) usando catalizador BER/Ni dio el
 10 40% de 27, el 5% del compuesto saturado y el 55% de material de partida. Se separó la mezcla mediante cromatografía HPLC de fase inversa (el 20% de acetonitrilo/el 80% de agua, programa isocrático de 20 min.) para dar 27 (15 mg).

$\delta(^1\text{H})(\text{CDCl}_3)$; 1,30 (3H, d, J 6,8 Hz), 2,53-2,70 (4H, m), 2,99 (3H, s), 3,07 (3H, s), 3,65-
 15 3,69 (1H, m) 3,81-3,95 (1H, m), 3,98-3,40 (1H, m), 4,30-4,31 (1H, m), 5,68-5,77 (1H, m), 6,47 (1H, d, J 11,6 Hz), 7,29 (1H, m), 7,37-7,46 (1H, m), 7,85-7,95 (1H, m), 8,22 (1H, s).

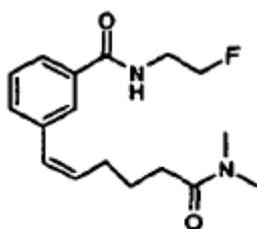
$\delta(^{13}\text{C})(\text{CDCl}_3)$; 16,84(CH₃), 24,68 (CH₂), 32,59 (CH₂), 35,89 (CH₃), 37,96 (CH₃), 48,33
 20 (CH), 66,76 (CH₂), 125,67 (CH), 126,90 (CH), 128,71 (CH), 130,03 (CH), 131,15 (CH), 131,88 (CH), 134,46 (C), 136,70 (C), 167,23 (C), 173,30 (C).

N-(2-Hidroxi-1-metil-etil)-3-(5-metilcarbamoil-pent-1-enil)-benzamida (18)**18**

Se hidrogenó el alquino 22 (0,055 g, 0,16 mmol) usando catalizador BER/Ni para dar
 5 una mezcla del 45% de 18 y el 55% de material de partida. Se separó la mezcla
 mediante cromatografía HPLC de fase inversa (el 18% de acetonitrilo/el 82% de agua,
 programa isocrático de 20 min.) para dar 18 (19 mg).

$\delta(^1\text{H})(\text{CDCl}_3)$; 1,29 (3H, t, J 6,8.0 Hz), 1,88-1,97 (2H, m), 2,35 (2H, d, J 7,4 Hz), 2,47
 10 (1H, d, J 6,8 Hz), 2,80 (3H, d, J 4,8 Hz); 3,65 (2H, dd, J_1 5,5, J_2 11,0 Hz), 3,79 (2H, dd,
 J_1 3,5, J_2 11,2 Hz), 4,23-4,31 (1H, m), 5,73 (1H, sa), 6,53 (1H, da, J 6,2 Hz), 7,33 (1H, t,
 J 7,7 Hz), 7,45 (1H, d, J 7,7 Hz), 7,69 (1H, d, J 7,8 Hz), 7,76 (1H, s).

$\delta(^{13}\text{C})(\text{CDCl}_3)$; 17,07 (CH₃), 18,91 (CH₂), 24,44 (CH₂), 26,32 (CH₃), 35,19 (CH₂), 48,19
 15 (CH), 66,87 (CH₂), 122,23 (C), 126,41 (CH), 128,57 (CH), 129,99 (CH), 134,31 (CH),
 134,59 (C), 167,00 (C), 178,00 (C).

3-(5-Dimetilcarbamoil-pent-1-enil)-N-(2-fluoro-etil)-benzamida (28)**28**

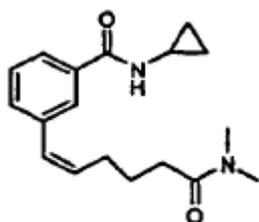
20

La hidrogenación de 3-(5-dimetilcarbamoil-pent-1-enil)-N-(2-fluoro-etil)benzamida (26)
 (0,040 g, 0,13 mmol) usando catalizador BER/Ni dio el 40% de 28 y el 55% de material
 de partida. Se separó la mezcla mediante cromatografía HPLC de fase inversa (el 30%

de acetonitrilo/el 70% de agua, programa isocrático de 20 min.) para dar 3-(5-dimetilcarbamoil-pent-1-enil)-N-(2-fluoro-etil)-benzamida 28 (5 mg).

5 $\delta(^1\text{H})(\text{CDCl}_3)$; 1,80-1,89 (2H, m), 2,31-2,41 (4H, m), 2,88 (3H, s), 2,97 (3H, s), 3,68-3,72 (1H, m), 3,74 (1H, dd, J_1 5,4, J_2 10,7 Hz), 3,82 (1H, dd, J_1 5,4, J_2 10,7 Hz), 5,72-5,78 (1H, m), 6,43 (1H, d, J 11,7 Hz), 7,31 (1H, d, J 7,7 Hz), 7,40 (1H, t, J 7,7 Hz), 7,81 (1H, d, J 7,9 Hz), 8,02 (1H, s).

N-Ciclopropil-3-(5-dimetilcarbamoil-pent-1-enil)-benzamida (29)



10 **29**

La hidrogenación usando catalizador BER/Ni durante la noche de 3-(N-ciclopropil-3-(5-dimetilcarbamoil-pent-1-enil)benzamida (25) (0,040 g, 0,13 mmol) dio el 90% de 28 y el 10% de material de partida. Se separó la mezcla mediante cromatografía HPLC de fase
15 inversa (el 30% de acetonitrilo/el 70% de agua, programa isocrático de 20 min.) para dar N-ciclopropil-3-(5-dimetilcarbamoil-pent-1-enil)-benzamida (10 mg).

20 $\delta(^1\text{H})(\text{CDCl}_3)$; 0,64-0,69 (2H, m), 0,78-0,84 (2H, m), 1,78-1,83 (2H, m), 2,28-2,36 (4H, m), 2,88 (3H, s), 2,89-2,93 (1H, m), 2,97 (3H, s), 5,65-5,75 (1H, m), 6,43 (1H, d, J 11,7 Hz), 7,33 (1H, t, J 7,8 Hz), 7,44-7,49 (1H, m), 7,63-7,72 (1H, m), 7,84 (1H, s).

Validación como agonistas de CB1 con acción periférica

Estudios de unión de radioligando *in vitro*

25 Se llevan a cabo ensayos de unión de radioligando [Ross, R. A. *et al*, Br. J. Pharmacol. 1999, 128, 735-743] con el antagonista [3H]SR141716A (0,5 nM) o [3H]CP55940 (0,5 nM) del receptor CB₁ en membranas de bazo y cerebro. Se realizan los ensayos en tampón de ensayo que contiene BSA 1 mg/ml, siendo el volumen de ensayo total de 500 μl . Se inicia la unión mediante la adición de membranas (100 μg). Se mantiene la

concentración de vehículo del 0,1% de DMSO constante todo el tiempo. Se llevan a cabo los ensayos a 37°C durante 60 minutos antes de la terminación mediante adición de tampón de lavado helado (tampón Tris 50 mM, BSA 1 mg/ml) y filtración a vacío usando un colector de muestreo de 12 pocillos (Brandel Cell Harvester) y filtros de fibra de vidrio GF/B de Whatman que se habían empapado en tampón de lavado a 4°C durante 24 horas. Se lava cada tubo de reacción cinco veces con una alícuota de 4 ml de tampón. Se secan en horno los filtros durante 60 minutos y entonces se colocan en 5 ml de líquido de centelleo (Ultima Gold XR, Packard), y se cuantifica la radiactividad mediante espectrometría de centelleo de líquidos. Se define la unión específica como la diferencia entre la unión que se produce en presencia y ausencia de ligando no marcado 1 μ M y es del 71% y del 40% del radioligando unido total en cerebro y bazo respectivamente. Se calculan las concentraciones de ligandos competidores (compuestos de prueba) para producir un desplazamiento del 50% del radioligando (CI₅₀) de sitios de unión específicos usando GraphPad Prism (GraphPad Software, San Diego). Se calculan los valores de la constante de inhibición (K_i) usando la ecuación de Cheng y Prusoff [Cheng, Y. y Prusoff, W. H., *Biochem. Pharmacol.* 1973, 22, 3099-3108].

Actividad moduladora del receptor de cannabinoides *in vitro*

Se evalúan compuestos para determinar el potencial de modulación de cannabinoides usando una preparación de conducto deferente de ratón [Ward S, Mastriani D, Casiano F y Arnold R (1990) *J Pharmacol Exp Ther* 255:1230-1239] que proporciona evidencias del agonismo de CB₁, en vez de simple unión a receptor que no siempre refleja el potencial agonista. El compuesto (16) mostró efectos significativos en este sistema (figura 1) con una CI₅₀ de ~1 nM en comparación con el agonista completo R(+) WIN55,212 conocido (CI₅₀ ~5 nM). Esto se inhibió por el antagonista SR141716A selectivo de CB₁ indicando que la contracción observada estaba mediada mediante el receptor CB₁ periférico.

30 Activación del receptor CB₁ periférico *in vivo*

Tránsito gastrointestinal superior

Se mide el tránsito gastrointestinal usando el método del carbón. Los ratones reciben por vía oral 0,1 ml (10 g/ratón) de un marcador negro (suspensión de carbón al 10% en

goma arábica al 5%), y tras 20 minutos se sacrifican los ratones por asfixia con CO₂ y se extirpa el intestino delgado. Se mide la distancia que se ha desplazado el marcador y se expresa como un porcentaje de la longitud total del intestino delgado desde el píloro hasta el ciego [Izzo, A. A. *et al*, Br. J. Pharmacol. 2000, 129, 1627-1632]. Se administran agonistas cannabinoides 30 min. antes de la administración de carbón.

Prueba de propulsión colónica

Se mide la propulsión colónica distal según Pinto *et al* [Gastroenterology 2002, 123, 227-2-34]. Treinta minutos tras la administración de fármacos cannabinoides, una única perla de vidrio de 3 mm se inserta 2 cm dentro del colon distal de cada ratón. Se determinó el tiempo requerido para la expulsión de la perla de vidrio para cada animal. El valor de tiempo de expulsión medio superior es un índice de una inhibición más fuerte de la propulsión colónica.

Actividad psicotrópica de cannabinoides con actividad periférica

Se conoce que muchos agonistas de CB₁ inducen “efectos tetrádicos” asociados psicotrópicos debido a la unión central a receptores CB [Howlett, A. C. *et al*, International Union of Pharmacology. XXVII, Pharmacol. Rev. 2002, 54, 161-202]. Se realizaron estudios para investigar si los compuestos de la presente invención también se unen a receptores CB₁ centrales. Esto se evalúa midiendo la capacidad de los compuestos de inducir sedación, ptosis, hipomotilidad, catalepsia e hipotermia en ratones normales [Brooks, J. W. *et al*, Eur. J. Pharmacol. 2002, 439, 83-92], tras administración i.v., i.p. y oral.

Determinación de niveles cerebrales de compuesto

Cuantificación de permeabilidad en el cerebro y la médula espinal

Puede medirse directamente la penetración en cerebro/médula espinal de los compuestos tal como sigue. Se mide la captación en cerebro y médula espinal en rata anestesiada usando el método convencional expuesto en Ohno *et al* [Ohno, K. *et al*, Am. J. Physiol 1978, 235, H299-H307]. En resumen, se inyecta el compuesto por vía intravenosa (femoral), o bien como único bolo o bien como infusión gradual. Se toman varias muestras de plasma (arteria femoral) para calcular la concentración plasmática a lo largo del tiempo (integral, área bajo la curva). Se toman muestras finales de cerebro

y médula espinal para medir la penetración en el cerebro (corrigiendo para el compuesto en sangre residual o bien mediante lavado con solución salina o bien midiendo el volumen de sangre contenido usando circulación corta de un marcador de baja permeabilidad inerte tal como [^{14}C]-sacarosa). PS (cm.s-1), en igual a Ccerebral/Cplasmática integral, en la que PS = permeabilidad x área superficial (cm²) de producto para la captación cerebral, y C es concentración. Alternativamente, se mide una razón tejido/plasma en estado estacionario como un índice más aproximado, de nuevo con lavado de sangre o corrección. Se realiza la comparación con compuestos control que se conoce que tienen baja permeabilidad a través de la BHE, por ejemplo sacarosa o insulina radiomarcada, usadas en condiciones idénticas.

Caracterización preliminar de la biología de agonismo de CB₁

Actividad nociceptiva de cannabinoides con actividad periférica

Hay evidencias de nocicepción mediada por CB₁ en la periferia [Fox, A. *et al*, Pain 2001, 92, 91-100]. Por tanto, se realizaron estudios en ligación parcial del nervio ciático en ratas y ratones deficientes.

Evaluación de espasticidad

Se realizaron estudios adicionales usando ratones deficientes para cannabinoides, incluyendo ratones deficientes para CB₁, CB₂, VR-1, FAAH y CB₁ condicional. Puede inducirse espasticidad en ABH (se produce espasticidad significativa en el 50-60% de los animales en 80 días tras 3-4 episodios de enfermedad¹) o en ABH.CB₁ -/- (se produce espasticidad significativa en el 80-100% de los animales en 30-40 días tras 1-2 episodios de enfermedad). Se inyectan compuestos inicialmente por vía intravenosa (para limitar efectos de primer paso), i.p. o por vía oral. Se evalúa la espasticidad (n=6-7/grupo) mediante la resistencia a la flexión de las extremidades traseras usando un extensiómetro [Baker, D. *et al*, Nature 2000, 404, 84-87]. Los animales sirven como su propio control y se analizarán por parejas. Para reducir el número de animales, esfuerzo y gasto, tras un periodo libre de fármaco (la espasticidad vuelve en el plazo de 24 h) estos animales reciben diferentes dosis y/o vehículo. Se administran localmente (por vía subcutánea, intramuscular) dosis bajas de agonistas de CB₁ y CP55,940 activo en el SNC, como control en ratones ABH con espasmos y se analiza la ausencia de actividad en una extremidad contralateral [Fox,

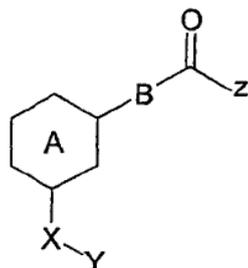
A. *et al*, Pain 2001, 92, 91-100]. Puede eliminarse la expresión de CB₁ en el sistema nervioso periférico, incluyendo ganglios de la raíz dorsal, un sitio fuera del SNC para la nocicepción mediada por CB, usando un ratón transgénico para periferina-Cre [Zhou, L. *et al*, FEBS Lett. 2002, 523, 68-72]. Se mantienen estos ratones deficientes
5 condicionales en el contexto genético de C57BL/6. Estos ratones desarrollan EAE tras la inducción con el péptido de 35-55 residuos de glicoproteína oligodendrocitaria de la mielina [Amor, S. *et al*, J. Immunol. 1994, 153, 4349-4356].

Evaluación *in vivo* en ratones normales y con CREAE

10 Un compuesto excluido del SNC proporciona una herramienta para examinar si un componente de un efecto antiespasmódico de cannabinoides está mediado mediante receptores CB periféricos. Se examinó el compuesto (16) para determinar efectos en el SNC en ratones normales tal como se muestra en las figuras 2 y 3. A una dosis de 1 mg/kg no se observó hipotermia o hipomotilidad. En ratones con CREAE se observó un
15 marcado efecto de espasticidad (figura 4) proporcionando fuertes evidencias de que puede conseguirse una inhibición selectiva de la espasticidad sin producir efectos en el SNC. Tal como se indicó anteriormente no hay un papel establecido para receptores de cannabinoides periféricos en el control de la espasticidad, sin embargo, la espasticidad es probablemente un producto de daño nervioso en la médula espinal, al menos en
20 EAE, [Baker, D. *et al*, FASEB J. 2001, 15, 300-302; Baker, D. *et al*, J. Neuroimmunol. 1990, 28, 261-270] y señales aberrantes hacia y desde la musculatura contribuyen probablemente, al menos en parte, a los espasmos musculares que se producen en la espasticidad.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,



5

I

en la que:

Z es NR^1R^2 en el que cada uno de R^1 y R^2 es independientemente H o un grupo alquilo o cicloalquilo, cada uno de los cuales puede estar sustituido opcionalmente con uno o más grupos OH o halógeno;

X-Y se selecciona de

15 $-\text{C}\equiv\text{C}-(\text{CH}_2)_p-\text{Y}$; y

$-\text{C}(\text{R}^5)(\text{R}^6)\text{C}(\text{R}^7)(\text{R}^8)-(\text{CH}_2)_r-\text{Y}$;

20 en los que cada uno de R^5 , R^6 , R^7 y R^8 es independientemente H o alquilo, y cada uno de p y r es independientemente 2, 3 ó 4;

Y es un grupo funcional polar seleccionado de OH, CN, COOR^3 , CONR^3R^4 , en los que cada uno de R^3 y R^4 es independientemente H o un grupo alquilo;

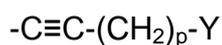
25 A es fenilo; y

B es $(\text{CH}_2)_n$ en el que n es 0.

2. Compuesto según la reivindicación 1, en el que Y se selecciona de OH, CN, COOMe, COOH, CONH₂, CONHMe y CONMe₂.

3. Compuesto según cualquier reivindicación anterior, en el que X-Y es:

5



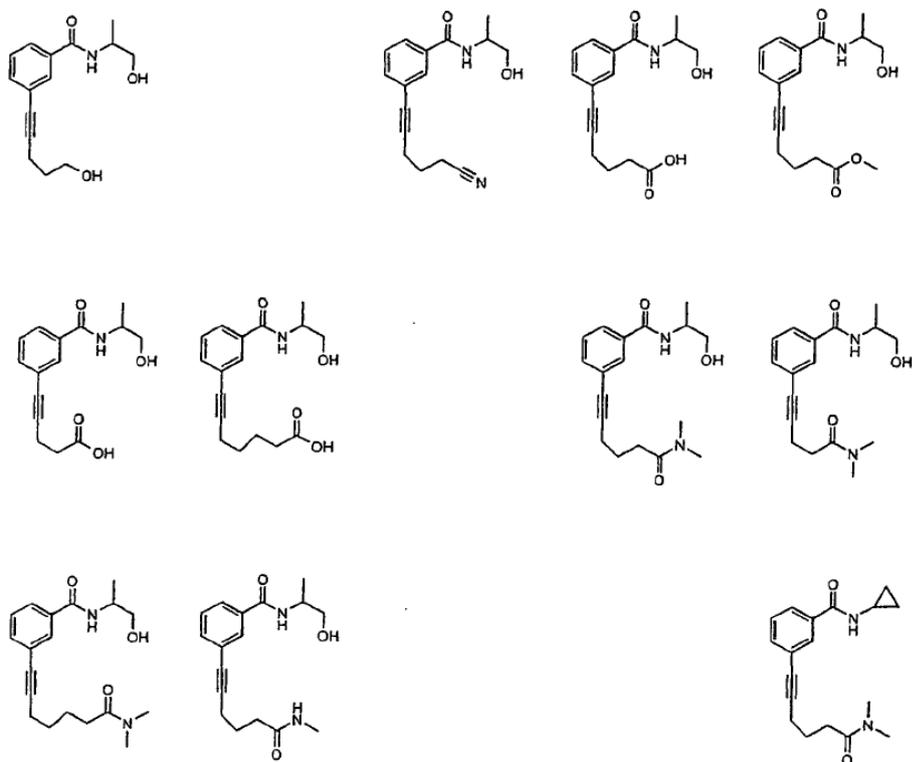
en el que p es 2, 3 ó 4.

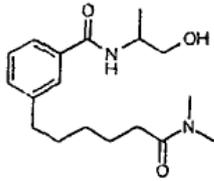
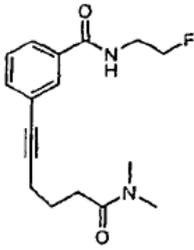
10 4. Compuesto según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que X-Y es (CH₂)_s-Y y s es 4 ó 5.

5. Compuesto según cualquier reivindicación anterior, en el que Z se selecciona de NHCH₂CH₂F, NH-ciclopropilo, NHCH(Me)CH₂OH y NHCH₂CH₂OH.

15

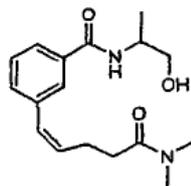
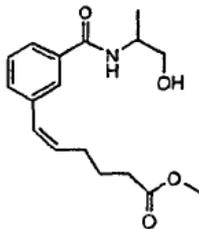
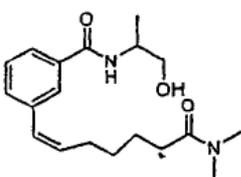
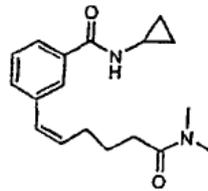
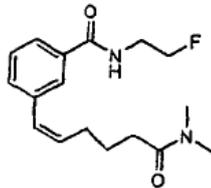
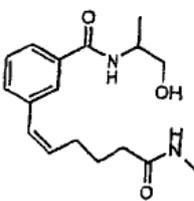
6. Compuesto según la reivindicación 1, que se selecciona de los siguientes:





y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

5 7. Compuesto seleccionado de los siguientes:



8. 10 Uso de un compuesto según cualquier reivindicación anterior en la preparación de un medicamento para tratar un trastorno muscular.

9. Uso de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en la preparación de un medicamento para controlar la espasticidad y los temblores.

10. Uso de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en la preparación de un medicamento para tratar un trastorno gastrointestinal.
11. Composición farmacéutica que comprende un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, mezclado con un diluyente, excipiente o portador farmacéuticamente aceptable.
12. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para su uso en medicina.
- 10 13. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para su uso en el tratamiento de un trastorno muscular.
14. Compuesto para su uso según la reivindicación 13, en el que el trastorno muscular es un trastorno neuromuscular.
- 15 15. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para su uso en el control de la espasticidad y los temblores.
- 20 16. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para su uso en el tratamiento de un trastorno gastrointestinal.
17. Compuesto para su uso según la reivindicación 16, en el que el trastorno gastrointestinal se selecciona de una úlcera gástrica, enfermedad de Crohn, diarrea secretora e íleo paralítico.
- 25

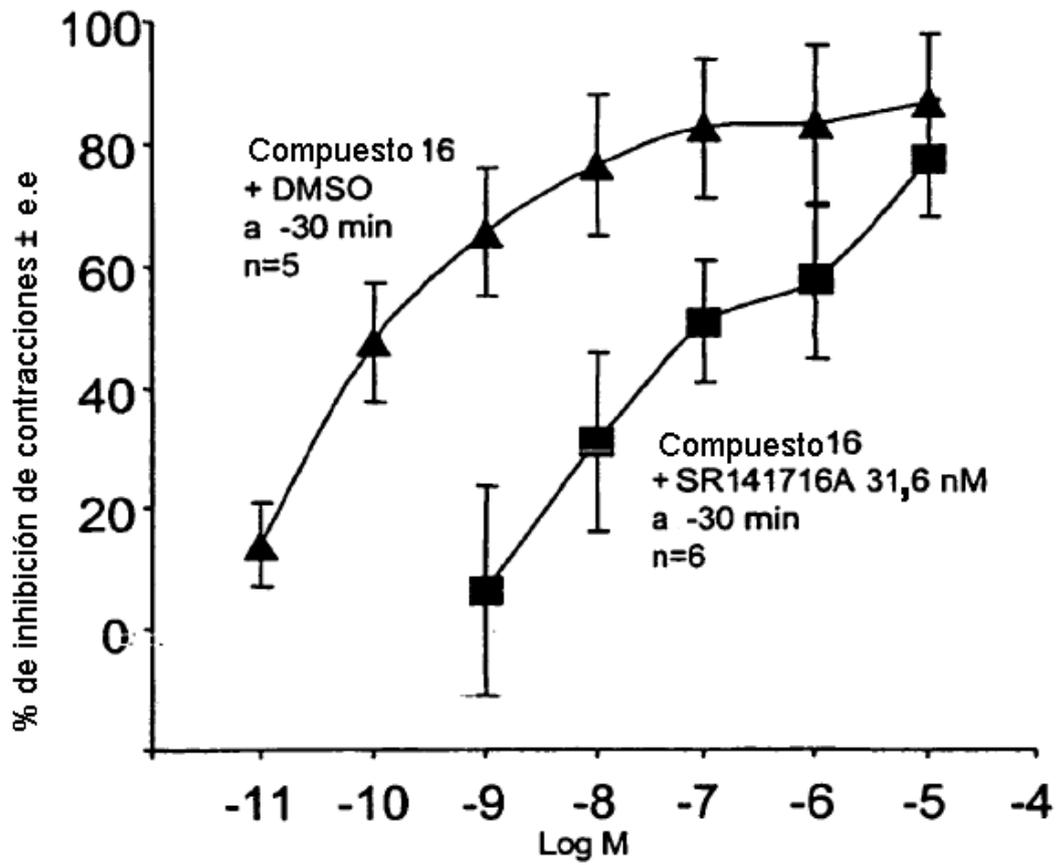


FIGURA 1

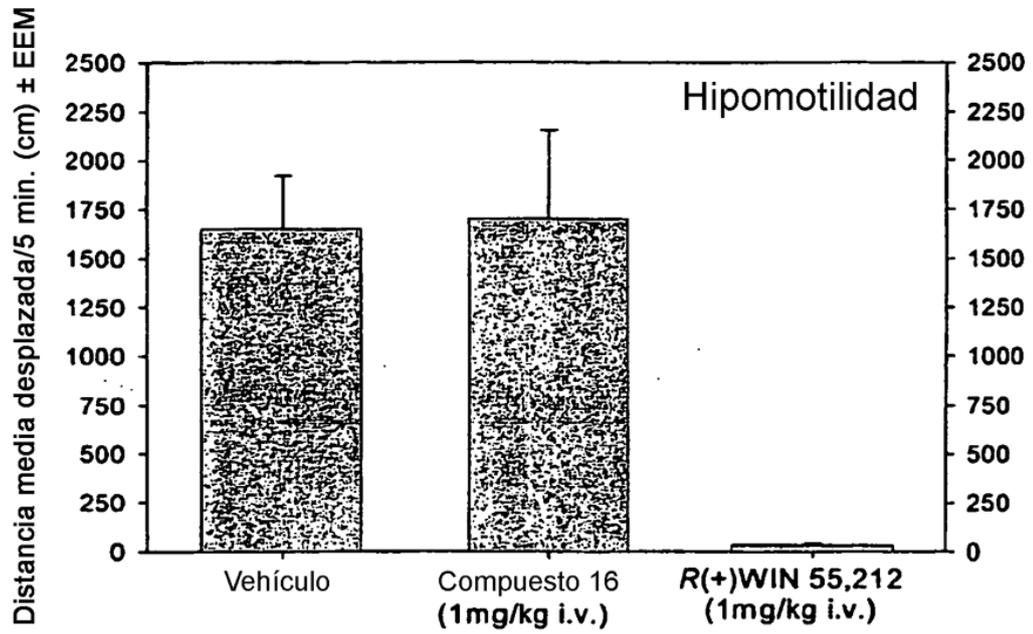


FIGURA 2

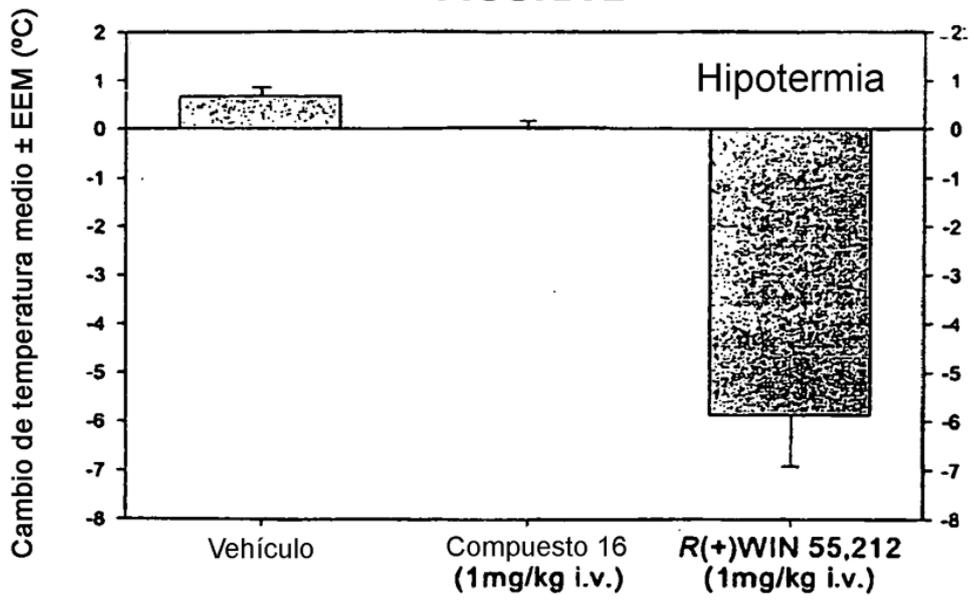


FIGURA 3

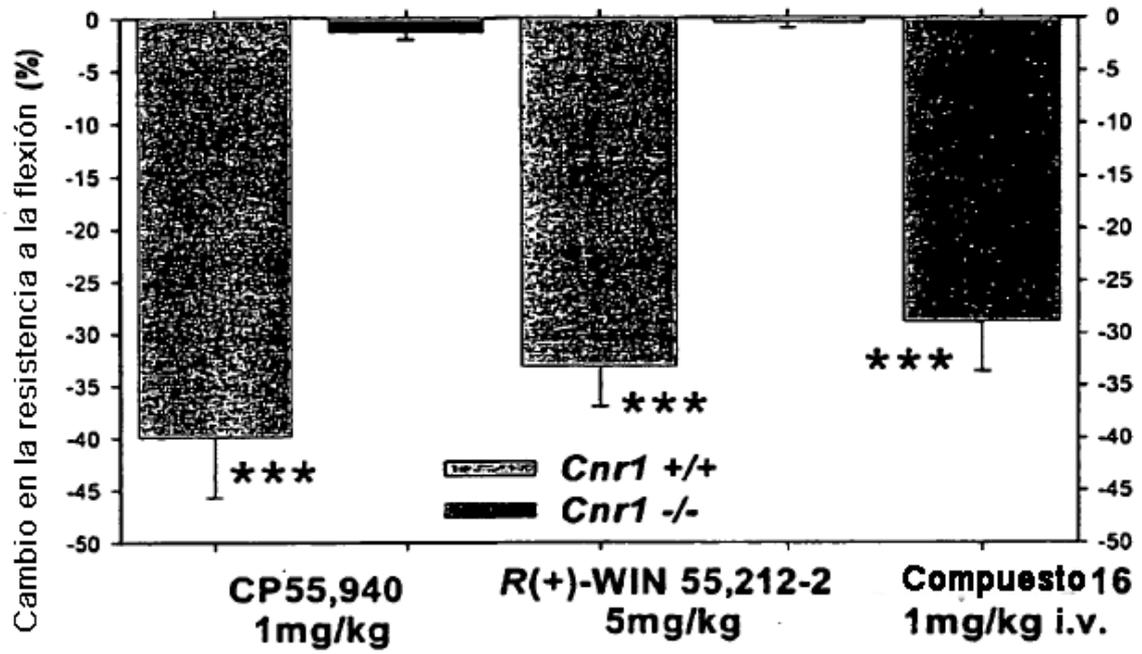


FIGURA 4