

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 469 115**

51 Int. Cl.:

C07D 207/48 (2006.01)

C07D 211/96 (2006.01)

A61K 31/451 (2006.01)

A61P 17/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.12.2010 E 10787772 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.03.2014 EP 2509945**

54 Título: **Derivados de 4 -(azacicloalquil)-benceno-1,3-diol como inhibidores de la tirosinasa y su síntesis y uso de los mismos**

30 Prioridad:

10.12.2009 US 282064 P

10.12.2009 FR 0958829

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

17.06.2014

73 Titular/es:

**GALDERMA RESEARCH & DEVELOPMENT
(100.0%)**

**Les Templiers 2400 Route des Colles
06410 Biot, FR**

72 Inventor/es:

**BOITEAU, JEAN-GUY y
LUZY, ANNE-PASCALE**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 469 115 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

Derivados de 4-(azacicloalquil)-benceno-1,3-diol como inhibidores de la tirosinasa y su síntesis y uso de los mismos

La invención se refiere a nuevos compuestos 4-(azacicloalquil)-benceno-1,3-dioles como productos industriales y de consumo. También se refiere a un método para su preparación y para su uso como inhibidores de la tirosinasa en composiciones farmacéuticas o cosméticas para el tratamiento y la prevención de las enfermedades de pigmentación.

La pigmentación de la piel, especialmente la piel humana, es el resultado de la síntesis de la melanina a cargo de las células dendríticas conocidas como melanocitos. Los melanocitos contienen orgánulos conocidos como melanosomas los cuales transfieren la melanina dentro de las capas superiores de keratinocitos que luego la transportan a la superficie de la piel mediante diferenciación de la epidermis (Gilchrest B A, Park H Y, Eller M S, Yaar M, Mechanisms of ultraviolet light-induced pigmentation. Photochem Photobiol 1996; 63: 1-10; Hearing V J, Tsukamoto K, Enzymatic control of pigmentation in mammals. FASEB J 1991; 2902-2909).

La tirosinasa es una enzima clave entre las enzimas melanogénicas las cuales catalizan los dos primeros pasos de la síntesis de melanina. Las mutaciones homocigotas de la tirosinasa ocasionan el albinismo oculocutáneo tipo I, caracterizado por una ausencia completa de síntesis de melanina (Touofuku K, Wada I, Spritz R A, Hearing V J, The molecular basis of oculocutaneous albinism type I (OCA1): sorting failure and degradation of mutant tyrosinases results in a lack of pigmentation. Biochem J 2001; 355: 259-269).

Se ha demostrado la importancia del desarrollo de nuevos enfoques terapéuticos con el fin de tratar las enfermedades de pigmentación que resultan de una aumento de la producción de melanina para las cuales no existe tratamiento que satisfaga todas las expectativas de los pacientes y dermatólogos igualmente.

La mayoría de los compuestos conocidos para aclarar la piel son fenoles o derivados de hidroquinonas. Estos compuestos inhiben la tirosinasa, aunque la mayoría de ellos son citotóxicos con respecto a los melanocitos. Este efecto tóxico puede llegar a causar despigmentación permanente de la piel. Sería de particular interés la producción de compuestos que puedan inhibir la melanogénesis mientras permanecen con baja citotoxicidad o desprovistos de toxicidad con respecto a los melanocitos.

Entre los compuestos que han sido descritos en la literatura, la solicitud de patente WO99/15148 da a conocer el uso de los 4-cicloalquilresorcinoles como agentes de despigmentación.

La patente FR 2 704 428 da a conocer el uso de los 4-haloresorcinoles como agentes de despigmentación.

Las solicitudes de patente WO2006/097224 y WO2006/097223 dan a conocer el uso de los 4-cicloalquilmetilresorcinoles como agentes de despigmentación.

La solicitud de patente WO2005/085169 da a conocer el uso de los alquil 3-(2,4-dihidroxifenil) propionatos como agentes de despigmentación.

La solicitud de patente WO2004/017936 da a conocer el uso de la 3-(2,4-dihidroxifenil) acrilamida como agente de despigmentación.

La solicitud de patente WO2004/052330 da a conocer el uso de los 4-[1,3]-ditian-2-il resorcinoles como agentes de despigmentación.

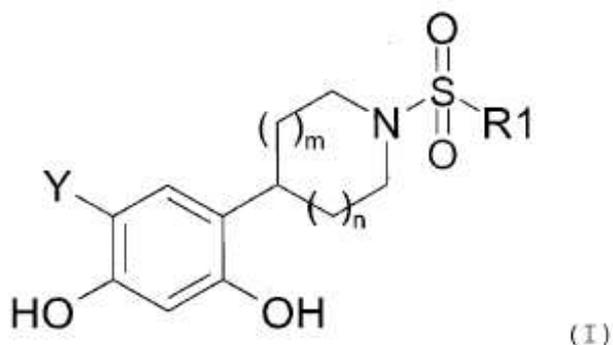
La patente WO 02/20474 da a conocer el uso de los 4-cicloalquilresorcinoles como agentes para aclarar la piel.

Más en particular, la patente EP 0 341 664 da a conocer el uso de los 4-alquilresorcinoles como agentes de despigmentación, entre ellos el 4-n-butil resorcinol, también conocido como Rucinol, el cual forma parte de la composición de la crema vendida bajo el nombre comercial Iklen®.

Sorprendentemente e inesperadamente, el Solicitante ha descubierto ahora que los nuevos compuestos con estructura de 4-(azacicloalquil)benceno-1,3-diol presentan una buena actividad inhibidora de la enzima tirosinasa y una muy baja citotoxicidad. Además, estos compuestos tienen una actividad inhibidora de la enzima tirosinasa que es mayor que la del Rucinol, mientras que es menos citotóxica que el Rucinol con respecto a los melanocitos.

Estos compuestos pueden tener aplicaciones en medicina humana, especialmente en dermatología y en el campo de la cosmética.

En consecuencia, la presente invención se refiere a compuestos con la siguiente fórmula general (I):



donde

R1 representa:

- un radical alquilo C1-C8;
- un radical cicloalquilo C3-C8;
- un radical metilcicloalquilo C4-C10;
- un radical arilo;
- un radical arilo sustituido;
- un radical heteroarilo ;
- un radical heteroarilo sustituido;
- un radical aralquilo; o
- un radical alcoxi C1-C5;

Y representa hidrógeno o flúor; y

m y n pueden tomar independientemente los valores de 0, 1 o 2;

así como las sales de los compuestos con la fórmula (I), y sus formas enantioméricas.

Las sales preferidas de los compuestos con la fórmula general (I) con un soporte farmacéuticamente aceptable que pueden citarse son las sales con una base orgánica o con una base inorgánica.

Ejemplos de bases inorgánicas adecuadas son las de hidróxido potásico, hidróxido sódico o hidróxido cálcico.

Ejemplos de bases orgánicas adecuadas son la morfolina, la piperazina y la lisina.

Los compuestos con la fórmula general (I) también pueden existir de forma hidratada o solvatada.

Ejemplos de solventes adecuados para formar solvatos son los alcoholes como el etanol o el isopropanol.

De acuerdo con la presente invención, el término "alquilo C1-C8" indica una cadena hidrocarbonada saturada lineal o ramificada que contiene de 1 a 8 átomos de carbono.

De acuerdo con la presente invención, el término "cicloalquilo C3-C8" indica una cadena hidrocarbonada saturada cíclica que contiene de 3 a 8 átomos de carbono.

De acuerdo con la presente invención, el término "metilcicloalquilo C4-C10" indica un grupo metilo sustituido con una cadena hidrocarbonada saturada cíclica o bicíclica que contiene de 3 a 9 átomos de carbono, los cuales pueden estar sustituidos con un átomo de oxígeno.

De acuerdo con la presente invención, el término "arilo" significa un grupo fenilo o naftilo.

De acuerdo con la presente invención, el término "arilo sustituido" indica un grupo fenilo o naftilo sustituido con uno o más grupos de átomos seleccionados entre un alquilo C1-C8, un alcoxi C1-C5, un halógeno y un grupo trifluorometilo.

De acuerdo con la presente invención, el término "heteroarilo" indica un grupo piridina o quinolina.

5 De acuerdo con la presente invención, el término "heteroarilo sustituido" significa un grupo piridina o quinolina sustituido con uno o más grupos de átomos seleccionados entre un alquilo C1-C8, un alcoxi C1-C5, un halógeno y un grupo trifluorometilo.

Las posibles sustituciones preferidas en el grupo fenilo, naftilo, piridina o quinolina son aquellas donde dichos radicales se sustituyen por metilo (C1 alquilo).

10 De acuerdo con la presente invención, el término "aralquilo" indica un radical alquilo C1-C8 como se define arriba y sustituido por un radical arilo sustituido o sin sustituir.

De acuerdo con la presente invención, el término "alcoxi C1-C5" indica un átomo de oxígeno sustituido por una cadena hidrocarbonada saturada lineal o ramificada que contiene de 1 a 5 átomos de carbono.

De acuerdo con la presente invención, el término "halógeno" indica un átomo de cloro, flúor, bromo o yodo.

15 De acuerdo con la presente invención, los compuestos particularmente preferidos con la fórmula (I) son aquellos donde R1 representa:

- un radical arilo sustituido;
- un radical aralquilo;
- un radical cicloalquilo C3-C8; o
- 20 • un radical metilcicloalquilo C4-C10;

Y representa hidrógeno o flúor; y

m y n pueden tomar independientemente los valores de 0, 1 o 2;

así como las sales de estos compuestos con la fórmula general (I) y sus formas enantioméricas.

25 De acuerdo con la presente invención, los compuestos particularmente más preferidos con la fórmula (I) son aquellos donde R1 representa:

- un radical arilo sustituido;
- un radical aralquilo;
- un radical cicloalquilo C3-C8; o
- un radical metilcicloalquilo C4-C10;
- 30 • Y representa hidrógeno o flúor; y
- m= 1 y n= 1;

así como las sales de estos compuestos con la fórmula general (I) y sus formas enantioméricas.

35 Los siguientes ejemplos de compuestos con la fórmula (I) que entran dentro del alcance de la presente invención podrían, en especial, citarse:

1: 4-(1-fenilmetanosulfonilpiperidin-4-il)-benceno-1,3-diol;

2: 4-[1-toluen-4-sulfonil]piperidin-4-il]-benceno-1,3-diol;

3: 4-[1-(butan-1-sulfonil)piperidin-4-il]-benceno-1,3-diol;

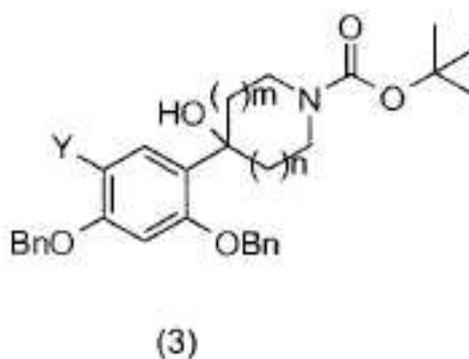
40 4: 4-(1-ciclohexilmetanosulfonilpiperidin-4-il)-benceno-1,3-diol;

5: 4-[1-(2-feniletanosulfonil)piperidin-4-il]-benceno-1,3-diol;

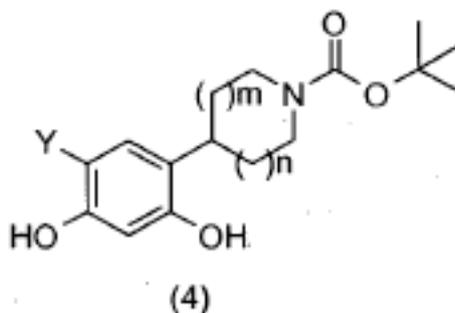
- 6: 1-[4-(2,4-dihidroxifenil)piperidina-1-sulfonilmetil]-7,7-dimetil-biciclo [2.2.1]heptan-2-ona;
- 7: 4-fluoro-6-[1-(toluen-4-sulfonil)piperidin-4-il]-benceno-1,3-diol;
- 8: 4-fluoro-6-(1-fenilmetanosulfonilpiperidin-4-il)-benceno-1,3-diol;
- 9: 4-fluoro-6-[1-(2-feniletanosulfonil)piperidin-4-il]-benceno-1,3-diol;
- 5 10: 4-(1-ciclohexilmetanosulfonilpiperidin-4-il)-6-fluorobenceno-1,3-diol;
- 11: 4-[1-(butan-1-sulfonil)piperidin-4-il]-6-fluorobenceno-1,3-diol;
- 12: 4-[1-(toluen-4-sulfonil)pirrolidin-3-il]-benceno-1,3-diol;
- 13: 4-(1-fenilmetanosulfonilpirrolidin-3-il)-benceno-1,3-diol;
- 14: 4-[1-(2-feniletanosulfonil)pirrolidin-3-il]-benceno-1,3-diol;
- 10 15: 4-fluoro-6-[1-(2-feniletanosulfonil)-pirrolidin-3-il]-benceno-1,3-diol;
- 16: 4-(1-ciclohexilmetanosulfonilpirrolidin-3-il)-benceno-1,3-diol;
- 17: 4-[1-(butan-1-sulfonil)pirrolidin-3-il]-benceno-1,3-diol.

15 Los compuestos con la fórmula general (I) se preparan utilizando el esquema de reacción general que se muestra en la Figura 1.

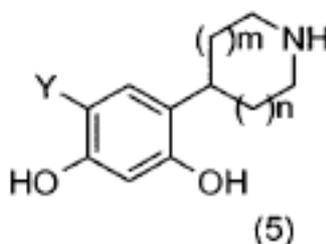
20 Los compuestos de 2,4-bisbenciloxibromobenceno (X= Br; Y= H) o de 1,5-bisbenciloxi-2-fluoro-4-yodobenceno (X= I; Y= F) (1), o bien disponibles comercialmente o preparados que utilizan métodos convencionales de síntesis (W D Langley, Org Synth I, 122 (1932) o, en el caso de compuestos fluorados: Mottram L F; Boonyrattanakalin S; Kovel R E; Peterson B R Organic Letters 2006, 8(4), 581-584), reaccionan en presencia de butil litio, por ejemplo con azacicloalcanonas (2), disponibles comercialmente o preparadas, utilizando los métodos convencionales de síntesis (W D Langley, Org Synth I, 122 (1932)) para proporcionar los alcoholes bencílicos correspondientes con la fórmula general (3) en la que Y= H o F (Annoura H; Nakanishi K; Uesugi M; Fukunaga A; Imajo S; Miyajima A; Tamura-Horikawa Y; Tamura S; Bioorg Med Chem 2002, 10 (2), 371-383).



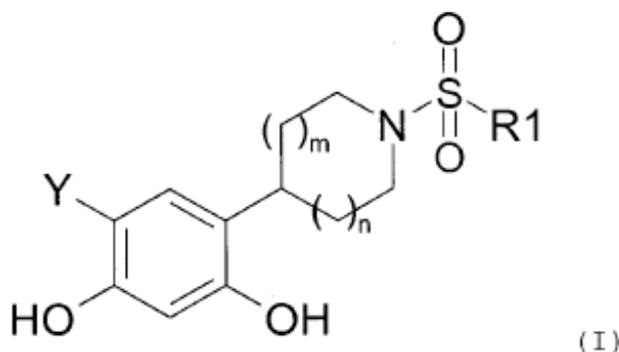
25 Los compuestos con la fórmula general (4) se obtienen mediante hidrogenación de los alcoholes bencílicos con fórmula general (3) en presencia de hidrógeno y un catalizador a base de paladio tal como paladio sobre carbón activo, por ejemplo en un solvente como el metanol (Merschaert A; Delhaye L; Ketesmont J-P; Brione W; Delbeke P; Mancuso V; Napora F; Diker K; Giraud D; Vanmarsenille M; Tetrahedron Lett 2003, 44 (24), 4531-4534).



5 Los compuestos con la fórmula general (4) se transforman en aminas con la fórmula general (5) mediante la acción del ácido trifluoroacético en un solvente como por ejemplo el diclorometano, (Kasyan A; Wagner C; Maier M E; Tetrahedron 1998, 54 (28), 8047-8054) o mediante la acción del cloruro de hidrógeno en solución con acetato de etilo, por ejemplo.



Los compuestos con la fórmula general (5) se transforman después en compuestos con la fórmula general (I) mediante reacción con un derivado que incluye una función clorosulfonilo, por ejemplo en un solvente como el DMF en presencia de una base como la diisopropilamina, por ejemplo.



10 La invención por tanto prevé al menos un compuesto con fórmula (I) para su uso como fármaco.

La invención también prevé al menos un compuesto con la fórmula general (I), como se ha descrito antes, para su uso como fármaco, en el que dicho compuesto exhibe una actividad inhibidora de tirosinasa.

15 La invención también prevé el uso de al menos un compuesto con la fórmula general (I) como se ha descrito antes, para la preparación de una composición farmacéutica o cosmética en la que dicho compuesto presenta una actividad inhibidora de tirosinasa.

Ventajosamente, los compuestos de la presente invención tienen un valor IC50 (dosis que inhibe el 50% de la actividad enzimática) hacia la tirosinasa de 10 μM o menor, más en particular 1 μM o menor.

20 La invención también se refiere a un compuesto con la fórmula general (I) para su uso en el tratamiento y/o prevención de las enfermedades de pigmentación.

Los compuestos con la fórmula general (I) de la invención son especialmente adecuados para su uso relacionado con el tratamiento y/o prevención de las enfermedades de pigmentación como el melasma, cloasma, lentigos, lentigo senil, hiperpigmentación irregular ligada al fotoenvejecimiento, pecas, hiperpigmentaciones post-inflamatorias debidas a la abrasión, una quemadura, una cicatriz, dermatosis, alergia de contacto, nevus, hiperpigmentaciones con un determinismo genético, hiperpigmentaciones de origen metabólico o medicamentoso, melanomas o cualquier otra lesión hiperpigmentaria.

La presente invención también se relaciona con una composición farmacéutica en particular para el tratamiento de las enfermedades citadas arriba, que se caracteriza porque incluye, en un soporte farmacéutico aceptable que es, además de eso, compatible con el modo de administración usado, un compuesto con la fórmula general (I) en una de sus formas isoméricas o enantioméricas, o una de sus sales con una base farmacéutica aceptable.

El término "soporte farmacéutico aceptable" significa que es compatible con la piel, mucosa, pelo y uñas.

La composición de la invención puede ser administrada tópicamente. Preferiblemente, la composición se envasa en una forma que sea adecuada para la aplicación tópica.

El término "aplicación tópica" significa que la composición farmacéutica de la invención está más especialmente destinada para el tratamiento de la piel y la mucosa y puede estar en forma líquida, pasta, o sólido, más especialmente en forma de ungüentos, cremas, soluciones o geles.

Las composiciones utilizadas para aplicación tópica tienen una concentración del compuesto de la invención que está generalmente en el rango de 0,001% a 10% en peso, preferiblemente en el rango de 0,01% a 5% en peso con respecto al peso total de la composición.

Los compuestos con la fórmula general (I) de la invención también poseen una aplicación en el campo de la cosmética, en especial, en la protección frente al efecto perjudicial del sol, con el fin de prevenir y/o combatir el envejecimiento fotoinducido o cronológico de la piel, y también para aclarar las pieles con un fototipo oscuro.

La invención, por lo tanto, también se refiere a una composición que comprende al menos uno de los compuestos con fórmula (I), en un soporte cosméticamente aceptable. El término "medio cosméticamente aceptable" se refiere a un medio que sea compatible con la piel, mucosa, pelo y uñas.

La composición también se refiere al uso cosmético de una composición que comprende al menos un compuesto con la fórmula general (I), para prevenir y/o tratar los signos del envejecimiento y/o la piel.

La invención también se refiere al uso cosmético de la composición que comprende al menos un compuesto con la fórmula general (I) para el cuidado del cuerpo o del pelo.

La composición cosmética de la invención que contiene un compuesto con la fórmula general (I) o una de sus formas isoméricas o enantioméricas o una de sus sales con una base cosméticamente aceptable en un soporte cosméticamente aceptable puede presentarse en forma de una crema, una leche, un gel, suspensiones de microesferas o nanoesferas o lípidos o vesículas poliméricas, almohadillas impregnadas, soluciones, sprays, espumas, bastoncillos, jabones, bases de lavado o champús.

La concentración del compuesto con la fórmula general (I) en la composición cosmética está preferiblemente en el rango de 0,001% al 10% en peso con respecto al peso total de la composición.

Las composiciones farmacéuticas y cosméticas descritas más arriba también pueden contener aditivos inertes o incluso ingredientes farmacológicos activos en las composiciones farmacéuticas, o combinaciones de dichos aditivos, y especialmente:

- agentes humectantes;
- agentes que mejoran el gusto;
- conservantes, como los ésteres del ácido parahidroxibenzoico;
- agentes estabilizadores;
- agentes reguladores de la humedad;
- agentes reguladores del pH;
- agentes modificadores de la presión osmótica;
- agentes emulsionantes;

- pantallas UV-A y UV-B;
- antioxidantes como el α -tocoferol, el butilhidroxianisol o el butilhidroxitolueno, la superóxido dismutasa, o el ubiquinol; el metabisulfito sódico;
- emolientes;
- 5 • hidratantes como el glicerol, PEG 400, la tiamorfolinona y sus derivados, o la urea;
- agentes antiseborréicos o antiacné como la S-carboximetilcisteína, la S-bencilcisteamina, sus sales o derivados, o el peróxido de benzilo.

10 Claramente, la persona experta se encargará de seleccionar cualquier compuesto a añadir a las composiciones citadas para que las propiedades ventajosas intrínsecamente asociadas con la presente invención no sean o no se modifiquen substancialmente por la adición prevista.

Se darán ahora algunos ejemplos totalmente a modo de ilustración no limitante de la producción de los compuestos con la fórmula general (I) de la invención, los resultados de las actividades biológicas de estos compuestos y varias formulaciones basadas en dichos compuestos.

15 **EJEMPLO 1: 4-(1-fenilmetanosulfonilpiperidin-4-il)-benceno-1,3-diol.**

a) 2,4-Bisbenciloxi-1-bromobenceno

20 Se añadieron 107 g (0,771 mol, 3 eq) de carbonato potásico (325 de grano) a una solución de 50,1 g (0,257 mol, 1 eq) de 4-bromoresorcinol al 97% en 500 ml de acetona. El medio de reacción se enfrió hasta 5-10° C y se añadieron, gota a gota, 75 ml (0,630 mol, 2,45 eq) de bromuro de benzilo. Se agitó el medio de reacción a temperatura ambiente durante toda la noche y después se calentó a 50° C durante 2 horas. Se evaporó el disolvente y el residuo se recogió en una mezcla de acetato de etilo-agua. Se extrajo la fase acuosa con acetato de etilo, se unieron las fases orgánicas, se lavaron con una solución saturada de cloruro sódico, se secaron sobre sulfato magnésico, se filtraron y se evaporaron. El residuo (114 g) se cromatografió en gel de sílice (600 g) eluyéndose con heptano/diclorometano 9/10.

25 Se obtuvieron 94,4 g de 2,4-bisbenciloxi-1-bromobenceno en forma de cristales blancos. Rendimiento = 99%.

b) Tert-butil 4-(2,4-bisbenciloxifenil)-4-hidroxipiperidina-1-carboxilato

30 Se añadieron 2ml (5 mmol, 1,2 eq) de n-butil litio 2,5 M en hexano a una solución de 1,55 g (4 mmol, 1 eq) de 2,4-bisbenciloxi-1-bromobenceno en 15 ml de metiltetrahidrofurano enfriado a -70 °C. El medio de reacción se agitó a -70° C durante 25 minutos y se añadió 1,0 g (5 mmol, 1,2 eq) de 1-boc-4-piperidona en solución en 10ml de metiltetrahidrofurano. Se agitó el medio de reacción a -70° C durante 1 hora y después se dejó toda la noche hasta alcanzar la temperatura ambiente. Se añadieron 15 ml de solución saturada de cloruro amónico suplementada con 2 ml de ácido clorhídrico 2 N al medio de reacción que se agitó vigorosamente durante 20 minutos y luego se extrajo con acetato de etilo. Se juntaron las fases orgánicas, se secaron sobre sulfato magnésico y se evaporaron. El residuo se cromatografió en gel de sílice (columna AnaLogix SF40-80 g), eluyéndose con heptano/acetato de etilo 80/20.

Se obtuvieron 730 mg de tert-butil 4-(2,4-bisbenciloxifenil)-4-hidroxipiperidina-1-carboxilato en forma de un aceite. Rendimiento = 37%.

c) Ácido 4-(2,4-dihidroxifenil)piperidina-1-carboxílico, tert-butil éster

40 Se agitó una mezcla de 82,3 g (0,168 mmol, 1 eq) de tert-butil 4-(2,4-bisbenciloxifenil)-4-hidroxipiperidina-1-carboxilato en 620 ml de acetato de etilo y 210 ml de etanol en presencia de 16,4 g de paladio al 10% sobre carbón activo a 55° C bajo hidrógeno a presión atmosférica durante 6 días. Se filtró el medio de reacción y el filtrado se concentró y se filtró. Se obtuvieron 38,9 g de tert-butil 4-(2,4-dihidroxifenil)piperidina-1-carboxilato en forma de sólido blancuzco. Rendimiento = 79%.

45 d) Hidrocloreto de 4-(2,4-dihidroxifenil)piperidinio

Se disolvieron 70 g de tert-butil 4-(2,4-dihidroxifenil)piperidina-1-carboxilato en 500 ml de acetato de etilo, luego se añadieron 150 ml de una solución de cloruro de hidrógeno en acetato de etilo. La mezcla de reacción se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente, después se filtró el sólido formado. Se obtuvieron 36 g de hidrocloreto de 4-(2,4-dihidroxifenil)piperidinio. Rendimiento = 69%.

50

e) 4-(1-fenilmetanosulfonilpiperidin-4-il)-benceno-1,3-diol

Se añadieron gota a gota 913 mg (4,79 mmol, 1,1 eq) de cloruro alfa-toluenosulfónico en solución en 5 ml de N,N-dimetilformamida a una solución de 1,0 g (4,35 mmol, 1 eq) de hidrocloreto de 4-(2,4-dihidroxifenil)piperidinio en 15 ml de N,N-dimetilformamida en presencia de 758 μ l (4,35 mmol, 1 eq) de diisopropiletilamina. Se agitó el medio de reacción a temperatura ambiente durante 4 horas. El medio de reacción se trató con agua y se extrajo con acetato de etilo. Las fases orgánicas se juntaron, se lavaron con agua, se secaron sobre sulfato magnésico y se secaron. El residuo se cromatografió en gel de sílice y se eluyó con heptano/acetato de etilo (gradiente).

Se obtuvieron 409 mg de 4-(1-fenilmetanosulfonilpiperidin-4-il)-benceno-1,3-diol en forma de sólido blanco. PF = 207-208° C. Rendimiento = 27%.

¹H NMR (DMSO, 400 MHz): 1,17 (m, 2H); 1,47 (d, J = 12 Hz, 2H); 2,73 (m, 3H); 3,63 (d, J = 12 Hz, 2H); 4,40 (s, 2H); 6,14 (dd, J = 8,4 & 2,4 Hz, 1H); 6,26 (d, J = 2,4 Hz, 1H); 6,79 (d, J = 7,9 Hz, 1H); 7,39 (m, 5H); 8,98 (s, 1H); 9,17 (s, 1H).

¹³C NMR (DMSO, 100 MHz): 31,4; 33,9; 46,3; 54,3; 102,3; 106,0; 121,7; 126,7; 128,0; 128,3; 129,6; 130,9; 155,1; 156,2.

EJEMPLO 2: 4-[1-(tolueno-4-sulfonil) piperidin-4-il]- benceno-1,3-diol

De manera análoga al ejemplo 1, pero utilizando cloruro de p-toluensulfonilo en lugar de cloruro de alfa-toluensulfonilo, se obtuvo 4-[1-(tolueno-4-sulfonil) piperidin-4-il]- benceno-1,3-diol. PF = 206-207° C.

¹H NMR (DMSO, 400 MHz): 1,60 (m, 2H); 1,70 (m, 2H); 2,19 (t, J = 10,9 Hz, 2H); 2,41 (s, 3H); 2,49 (m, 1H); 3,72 (d, J = 11,6 Hz, 1H); 6,12 (dd, J = 8,4 & 2,4 Hz, 1H); 6,22 (d, J = 2,4 Hz, 1H); 6,77 (d, J = 7,9 Hz, 1H); 7,46 (d, J = 8,4 Hz, 1H); 7,63 (d, J = 8,4 Hz, 1H); 8,98 (s, 1H); 9,10 (s, 1H).

¹³C NMR (DMSO, 100 MHz): 20,99; 30,7; 33,7; 46,8; 102,3; 106,0; 121,5; 126,7; 127,5; 129,7; 132,4; 143,4; 155,2; 156,2.

EJEMPLO 3: 4-[1-(butano-1-sulfonil) piperidin-4-il]- benceno-1,3-diol

De manera análoga al ejemplo 1, pero utilizando cloruro de butilsulfonilo, se obtuvo 4-[1-(butano-1-sulfonil) piperidin-4-il]- benceno-1,3-diol. PF = 182-183° C. Rendimiento = 33%.

¹H NMR (DMSO, 400 MHz): 0,90 (t, J = 7,2 Hz, 3H); 1,17 (m, 2H); 1,75-1,35 (m, 6H); 2,79 (m, 3H); 3,02 (t, J = 7,8 Hz, 2H); 3,66 (d, J = 11,6 Hz, 1H); 6,15 (dd, J = 8,4 & 2,0 Hz, 1H); 6,26 (d, J = 2,0 Hz, 1H); 6,82 (d, J = 7,9 Hz, 1H); 8,98 (s, 1H); 9,18 (s, 1H).

¹³C NMR (DMSO, 100 MHz): 13,5; 21,0; 24,7; 31,4; 33,9; 46,1; 47,3; 102,4; 106,0; 121,8; 126,7; 155,2; 156,2.

EJEMPLO 4: Ensayo de inhibición de la actividad tirosinasa.

La actividad de los inhibidores se midió utilizando un lisado de células B16F1 (línea de melanoma murino). En presencia del sustrato L-tirosina, la tirosinasa presente en estas células cataliza la hidroxilación de la L-tirosina a L-DOPA, después la oxidación de la L-DOPA a dopaquinona. La dopaquinona, en presencia de MBTH (3-metil-2-benzo-tiazolina hidrazona), es atrapada para formar un complejo rosa que absorbe a 520 nm.

Se cultivaron las células B16F1 en medio DMEM + suero de ternera fetal al 10% + α MSH 10^{-9} M durante 4 días a 37° C bajo un 7% de CO₂. Se trataron con tripsina, se lavaron con PBS, se contaron y se centrifugaron. Se recogió el sedimento de células en una cantidad de 10^7 de células/ml en tampón de lisis (fosfato sódico 10 mM, pH 6,8- Igepal 1%) y la suspensión se trató con ultrasonidos durante 10 segundos. Tras la centrifugación durante 30 minutos a 4.000 rpm, el sobrenadante obtenido constituyó el lisado celular usado como fuente de tirosinasa para el ensayo enzimático.

Los ensayos se llevaron a cabo por duplicado en palcas de 384 pocillos con un volumen total de 50 μ l. Cada pocillo contenía:

– 40 μ l de solución que contenía L-tirosina 1,25 mM, L-DOPA 6,25 μ M (cofactor) y MBTH 3,75 mM en tampón B (fosfato sódico 62,25 mM, pH 6,8- dimetilformamida 2,5%);

– 5 μ l de inhibidor diluido en DMSO;

- 5 µl de lisado celular diluido a la mitad en tampón Tris HCl 50 mM, pH 7,5.

La placa se incubó a 37^a C y se realizó un registro espectrográfico a 520 nm después de 6 horas de incubación. Para compensar cualquier absorción por los productos se usó una corrección de absorbancia (absorbancia a tiempo de 6 h. – absorbancia a tiempo cero).

- 5 Los inhibidores se ensayaron de forma dosis-dependiente con el fin de calcular el IC50 (dosis que inhibe el 50% de la actividad enzimática).

Se añadieron una serie de controles internos en cada experimento:

- control de 100% de actividad: los 5 µl de inhibidor se sustituyeron por 5 µl de DMSO;
- 10 DMSO; • control de 50% de actividad: los 5 µl de inhibidor se sustituyeron por 5 µl de feniltiourea 300 µM en
- control de 0% de actividad: el sustrato L-tirosina se sustituye por tampón B.

Los resultados obtenidos para los compuestos de la invención se muestran en la Tabla A:

15

Tabla A

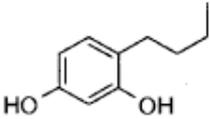
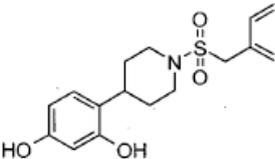
| Nombre | Estructura | Tirosina hidroxilasa/Dopa oxidasa IC50 (µM) |
|--------------------------------|------------|--|
| 4-butilresorcinol (Rucinol) | | 3 |
| Compuesto 2 | | 1,5 |

Ejemplo 5: Ensayo de inhibición de la melanogénesis

20 La inhibición de la melanogénesis se midió con células de melanoma humano MNT1 utilizando un protocolo adaptado de Reigner et al, Cell Mol Biol (1999) 45: 969-980. El ensayo se basaba en la incorporación de marcadores radiomarcados: el ¹⁴C-tiouracilo se incorporaba en la melanina de nueva síntesis y reflejaba la melanogénesis, mientras que la ³H-leucina se incorporaba a las proteínas y reflejaba la viabilidad celular y, como consecuencia, la toxicidad de los compuestos ensayados.

25 Las células MNT1 se incubaron en placas de 96 pocillos en presencia de los compuestos a ensayar y los radioisótopos. Tras 24 h de incubación a 37^o C, las células se lavaron y se midió la cantidad de los dos radioisótopos. Los compuestos a ensayar se midieron de forma dosis-dependiente con el fin de calcular la inhibición IC50 de la melanogénesis en base a la incorporación de ¹⁴C la cual se normalizó por la incorporación de ³H. Se calculó también la toxicidad celular IC50 en base a la incorporación de ³H.

Por lo tanto, este ensayo podría ser utilizado para diferenciar productos que inhiben específicamente la melanogénesis de aquellos que son citotóxicos con respecto a los melanocitos.

| Nombre | Fórmula | Melanogénesis IC50 | Toxicidad IC50 |
|--------------------------------|---|-----------------------|-------------------|
| 4-butilresorcinol (Rucinol) |  | 15 µM | 55 µM |
| Compuesto 1 |  | 0,2 µM | >999 µM |

5

Ejemplo 6: Formulaciones

Este ejemplo ilustra varias formulaciones basadas en los compuestos de la invención.

APLICACIÓN TÓPICA

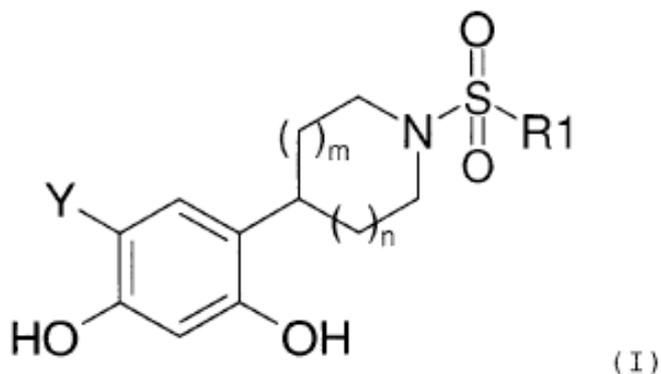
| | | | | |
|----|----|--|-----|----------|
| | a) | Ungüento | | |
| 10 | | • compuesto 2 | | 0,020 g |
| | | • isoprppil miristato | | 81,700 g |
| | | • aceite de vaselina fluido | | 9,100 g |
| | | • sílice ("Aerosil 200") | | 9,180 g |
| 15 | b) | Ungüento | | |
| | | • compuesto 2 | | 0,300 g |
| | | • vaselina blanca códex | qsp | 100 g |
| 20 | c) | Crema de agua en aceite no iónica | | |
| | | • compuesto 2 | | 0,100 g |
| | | • mezcla de alcoholes de lanolina emulsionados, ceras y aceites ("eucerin anhidro") | | 39,900 g |
| | | • metil para-hidroxibenzoato | | 0,075 g |
| | | • propil para-hidroxibenzoato | | 0,075 g |
| 25 | | • agua desmineralizada estéril | qsp | 100 g |

ES 2 469 115 T3

| | | | | |
|----|----|---|-----|----------|
| | d) | Loción | | |
| | • | compuesto 2 | | 0,100 g |
| | • | polietilenglicol (PEG 400) | | 69,900 g |
| | • | etanol 95% | | 30,000 g |
| 5 | | | | |
| | e) | Ungüento hidrofóbico | | |
| | • | compuesto 2 | | 0,300 g |
| | • | isopropil miristato | | 36,400 g |
| | • | aceite de silicona ("Rhodorsil 47V300") | | 36,400 g |
| 10 | • | cera de abejas | | 13,600 g |
| | • | aceite de silicona ("Abil 300,000 cst") | qsp | 100 g |
| | | | | |
| | f) | Crema de agua en aceite no iónica | | |
| | • | compuesto 2 | | 1,000 g |
| 15 | • | alcohol cetílico | | 4,000 g |
| | • | monoesterato de glicerol | | 2,500 g |
| | • | estearato de PEG 50 | | 2,500 g |
| | • | manteca de karité | | 9,200 g |
| | • | propilenglicol | | 2,000 g |
| 20 | • | metil para-hidroxibenzoato | | 0,075 g |
| | • | propil para-hidroxibenzoato | | 0,075 g |
| | • | agua desmineralizada estéril | qsp | 100 g |

REIVINDICACIONES

1. Compuestos con la siguiente fórmula general (I):



donde R1 representa:

- 5
- un radical alquilo C1-C8;
 - un radical cicloalquilo C3-C8;
 - un radical metilcicloalquilo C4-C10;
 - un radical arilo;
 - un radical arilo sustituido
- 10
- un radical heteroarilo;
 - un radical heteroarilo sustituido;
 - un radical aralquilo; o
 - un radical alcoxi C1-C5;

Y representa hidrógeno o flúor; y

- 15
- m y n pueden tomar independientemente los valores de 0, 1 o 2;

así como las sales de estos compuestos con la fórmula (I) y sus formas enantioméricas.

2. Compuesto de acuerdo con la Reivindicación 1, caracterizado porque está en forma de una sal formada con una base seleccionada a partir de bases orgánicas y de bases inorgánicas.

- 20
3. Compuesto de acuerdo con la Reivindicación 1 o 2, caracterizado porque está en forma de un hidrato o un solvato.

4. Compuesto de acuerdo con las Reivindicaciones de 1 a 3, caracterizado porque:

R1 representa:

- un radical arilo sustituido;
 - un radical aralquilo;
- 25
- un radical cicloalquilo C3-C8; o
 - un radical metilcicloalquilo C4-C10;

Y representa hidrógeno o flúor;

m = 1 y n = 1;

así como las sales de dichos compuestos con la fórmula general (I) y sus formas isoméricas y enantioméricas.

5. Compuesto de acuerdo con una de las Reivindicaciones de 1 hasta 4, caracterizado porque está seleccionado a partir de grupos constituidos por:

- 5 1: 4-(1-fenilmetanosulfonilpiperidin-4-il)-benceno-1,3-diol;
 2: 4-[1-toluen-4-sulfonil]piperidin-4-il]-benceno-1,3-diol;
 3: 4-[1-(butan-1-sulfonil)piperidin-4-il]-benceno-1,3-diol;
 4: 4-(1-ciclohexilmetanosulfonilpiperidin-4-il)-benceno-1,3-diol;
 5: 4-[1-(2-feniletanosulfonil)piperidin-4-il]-benceno-1,3-diol;
- 10 6: 1-[4-(2,4-dihidroxifenil)piperidina-1-sulfonilmetil]-7,7-dimetil-biciclo [2.2.1]heptan-2-ona;
 7: 4-fluoro-6-[1-(toluen-4-sulfonil)piperidin-4-il]-benceno-1,3-diol;
 8: 4-fluoro-6-(1-fenilmetanosulfonilpiperidin-4-il)-benceno-1,3-diol;
 9: 4-fluoro-6-[1-(2-feniletanosulfonil)piperidin-4-il]-benceno-1,3-diol;
 10: 4-(1-ciclohexilmetanosulfonilpiperidin-4-il)-6-fluorobenceno-1,3-diol;
- 15 11: 4-[1-(butan-1-sulfonil)piperidin-4-il]-6-fluorobenceno-1,3-diol;
 12: 4-[1-(toluen-4-sulfonil)pirrolidin-3-il]-benceno-1,3-diol;
 13: 4-(1-fenilmetanosulfonilpirrolidin-3-il)-benceno-1,3-diol;
 14: 4-[1-(2-feniletanosulfonil)pirrolidin-3-il]-benceno-1,3-diol;
 15: 4-fluoro-6-[1-(2-feniletanosulfonil)-pirrolidin-3-il]-benceno-1,3-diol;
- 20 16: 4-(1-ciclohexilmetanosulfonilpirrolidin-3-il)-benceno-1,3-diol;
 17: 4-[1-(butan-1-sulfonil)pirrolidin-3-il]-benceno-1,3-diol.

6. Compuesto de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones de 1 a 5, como un fármaco.

7. Compuesto de acuerdo con la Reivindicación 6, caracterizado porque dicho compuesto tiene una actividad inhibidora de tirosinasa.

25 8. Compuesto como fármaco de acuerdo con las Reivindicaciones 6 o 7, para su uso en el tratamiento y/o la prevención de las enfermedades pigmentarias.

30 9. Compuesto para su uso de acuerdo con la Reivindicación 8, caracterizado porque las enfermedades pigmentarias se seleccionan a partir de melasma, cloasma, lentigos, lentigo senil, hiperpigmentación irregular ligada al fotoenvejecimiento, pecas, hiperpigmentaciones post-inflamatorias debidas a la abrasión, una quemadura, una cicatriz, dermatosis, o alergia de contacto; nevus, hiperpigmentaciones con un determinismo genético, hiperpigmentaciones de origen metabólico o medicamentoso, melanomas o cualquier otra lesión hiperpigmentaria.

Figura 1

