

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 557 314**

51 Int. Cl.:

A61K 8/42	(2006.01)	C07D 213/64	(2006.01)
A61K 31/16	(2006.01)	C07D 307/52	(2006.01)
C07C 233/09	(2006.01)	C07D 239/42	(2006.01)
C07C 233/13	(2006.01)	A61Q 19/00	(2006.01)
A61K 9/00	(2006.01)	C07C 233/20	(2006.01)
A61K 8/49	(2006.01)	C07D 277/46	(2006.01)
A61Q 7/02	(2006.01)	C07D 213/40	(2006.01)
C07D 333/20	(2006.01)	C07D 257/04	(2006.01)
C07D 237/20	(2006.01)	C07D 277/10	(2006.01)
C07D 277/82	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.05.2010 E 10723532 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.09.2015 EP 2435019**

54 Título: **Dodeca-2E,4E-dieno amidas y sus usos como medicamentos y cosméticos**

30 Prioridad:

29.05.2009 EP 09007245

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

25.01.2016

73 Titular/es:

**DR. AUGUST WOLFF GMBH & CO. KG
ARZNEIMITTEL (100.0%)
Sudbrackstrasse 56
33611 Bielefeld, DE**

72 Inventor/es:

GERTSCH, JÜRG

74 Agente/Representante:

PONTI SALES, Adelaida

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 557 314 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

Dodeca-2E,4E-dieno amidas y sus usos como medicamentos y cosméticos

[0001] La presente invención se refiere a una nueva clase de compuestos, a saber dodeca-2E,4E-dieno amidas específicas y su uso como medicamento, preferiblemente como un agente dermatológico, y como cosmético. Estos nuevos compuestos reconocen el sistema endocannabinoide y son particularmente útiles en el tratamiento y/o prevención de la inflamación, irritación, picor, prurito, dolor, edema, y/o afecciones proalérgicas o alérgicas en un paciente. Habitualmente, se aplican tópicamente a la piel o mucosa de un mamífero en forma de una composición farmacéutica o cosmética que comprende el compuesto y un portador farmacéutica y/o cosméticamente aceptable.

Antecedentes de la invención

[0002] El sistema endocannabinoide (ECS) comprende receptores de cannabinoides (CB₁ y CB₂, TRPV1 y potencialmente también GPR55), ligandos derivados del ácido araquidónico, y sus enzimas reguladoras. La importancia del sistema endocannabinoide en los tejidos periféricos se ha demostrado en numerosos estudios recientes (Di Marzo V. Targeting the endocannabinoide system: to enhance or reduce? Nat Rev Drug Discov. Mayo 2008; 7 (5): 438-55). Aunque la activación del sistema endocannabinoide periférico se asocia a menudo con efectos antiinflamatorios e inmunosupresores, en la piel el papel del ECS es más complejo. Se ha observado que la activación del receptor CB₂ desencadena endorfinas que localmente actúan como analgésico (Ibrahim MM, Porreca F, Lai J, Albrecht PJ, Rice FL, Khodorova A, Davar G, Makriyannis A, Vanderah TW, Mata HP, Malan TP Jr. CB₂ cannabinoid receptor activation produces antinociception by stimulating peripheral release of endogenous opioids. Proc Natl Acad Sci USA. 22 febrero 2005; 102 (8): 3093-8). Estudiando ratones knockout de CB, se ha observado que el ECS y el receptor CB₁ pueden inhibir la patogénesis de la dermatitis de contacto alérgica (Karsak M, Gaffal E, Data R, Wang-Eckhardt L, Rehnelt J, Petrosino S, Starowicz K, Steuder R, Schlicker E, Cravatt B, Mechoulam R, Buettner R, Werner S, Di Marzo V, Tüting T, Zimmer A. Attenuation of allergic contact dermatitis through the endocannabinoid system. Science. 8 junio 2007; 316 (5830): 1494-7). Curiosamente, en este estudio se demostró que los inhibidores de la degradación de la anandamida a través de hidrolasa de amida de ácido graso (FAAH) podrían ser una estrategia terapéutica prometedora para tratar diferentes formas de dermatitis. En general, el sistema endocannabinoide en la piel está presente, se han detectado receptores tanto CB₁ como CB₂ en queratinocitos y fibroblastos y los endocannabinoides se liberan en la piel donde parecen regular múltiples señales implicadas en la inflamación. La anandamida ejerce efectos antiinflamatorios y antialérgicos (Leonti M, Casu L, Raduner S, Cottiglia F, Floris C, Altmann KH, Gertsch J. Falcarinol is a covalent cannabinoid CB₁ receptor antagonists and induces pro-allergic effects in skin. Biochem. Pharmacol. 2010, 79: 1815-1826). Además, se ha observado que los inhibidores de la recaptación de anandamida ejercen un conjunto de efectos beneficiosos, incluyendo dolor neuropático y periférico (Yates ML, Baker EL. Inactivation and Biotransformation of the endogenous cannabinoids anandamide and 2-arachidonoyl glycerol. Mol. Pharmacol. 2009, 76: 11-17.). Sin embargo, los mecanismos subyacentes no se entienden completamente y todavía quedan muchas preguntas por responder.

[0003] La clase de compuestos de dodeca-2E,4E-dieno amidas se conocen en la técnica anterior. El documento WO09/065090 reivindica Glidobactina A (GibA), que consiste en un anillo de doce miembros unido a través de treonina a un grupo dodeca-2E,4E-dienilo, y análogos como inhibidores de proteasoma. En el documento US 4692510 se reivindica que el compuesto tiene propiedades antibacterianas, antifúngicas y actividad antitumoral. La glidobactina A (BU-2867T A) se utiliza como material de partida para la síntesis de los antibióticos BU-2867T semisintéticos (US 4742047).

[0004] Se utilizaron degradaciones químicas y enzimáticas y análisis espectrales posteriores para elucidar las estructuras de antibióticos antitumorales, Glidobactinas A, B y C (Oka M. Glidobactins A, B and C, new antitumor antibiotics II. Structure elucidation. J. Antibiotics 1988; 41: 1338-1350). Se formó el N-[4(S)-amino-2(E)-pentenoil]-^α N-[N-2(E),4(E)-dodecadienoil-L-treoninil]-eritro-4-hidroxi-L-lisina durante la hidrólisis ácida suave de Glidobactina A. Se describe que el compuesto es completamente bioinactivo. La escisión enzimática de GibA por papaína produjo 2,4-dodecadienoiltreonina. En un segundo estudio, el mismo grupo investigó la influencia de modificaciones químicas en Glidobactina en su función biológica (Oka M. Chemical Modification on the antitumor antibiotic Glidobactin. J. Antibiotics 1988; 41: 1812-1822). Se realizaron modificaciones del grupo de ácido graso, la treonina fue sustituida por otros aminoácidos y se obtuvieron dihidroderivados de GibA utilizando glidobactina hidrogenada como precursor. Los compuestos seleccionados contienen un grupo de amida de dodeca-2E,4E-dieno. Se proporcionan datos para la actividad antitumoral de los compuestos.

[0005] Además, la espicamicina es un antibiótico antitumoral producido por *Streptomyces alanosinicus* 879-MT₃. Se han sintetizado derivados de espicamicina con estructura de ácido graso modificado y se evaluó su actividad antitumoral (Sakai T. Structure-antitumor relationship of semisynthetic spicamycin derivatives. J. Antibiotics 1995; 48: 1467-1480). Se observó que la 6-{4-desoxi-4-[(2E, 4E)-dodecadienoil]glicilamino-L-glicero-β-L-mannoheptopiranosilamino}-9H-purina mostraba una excelente antitumoral actividad con un índice terapéutico de 16.

[0006] El análisis de extractos de tallo de *Piper guineense* por GC-MS dio lugar a la detección e identificación de tres dodeca-2E,4E-dieno amidas diferentes, a saber, N-isobutil-2,4-dodecadienamida, N-pirrolidil-2,4-dodecadienamida y

N-piperidil-2,4-dodecadienamida (Adesina S.K. GC/MS investigations of the minor constituents of Piper Guineense stem. Pharmazie 2002; 57: 622-627). Los datos biológicos para los compuestos, sin embargo, no se proporcionan.

[0007] Además, la síntesis de N-isobutil-dodeca-trans-2,trans-4-dienamida y N- (2'-p-hidroxifenileti)dodeca-trans-2,trans-4-dienamida a partir de dodeca-trans-2,trans-4-dienoato de metilo ha sido descrita (Burden R.S. Amides of vegetable origin. Part XII. A new series of alka-2,4-dienoic tyramine-amides from Anacyclus pyrethrum D.C. (Compositae). J. Chem. Soc. Sec. C: Org. Chem. 1969: 2477-2481). El artículo, sin embargo, no divulga datos biológicos para los compuestos.

[0008] Además, la dodeca-2E,4E-dieno isobutil amida ha sido descrita como parte de una formulación de equinácea en WO06/002493. Además, la síntesis de dodeca-2E,4E-dieno isobutil amida se ha descrito mediante el uso de una reacción de Wittig modificada (Sharma S.D. Synthesis of N-isobutyl-2(E),4(E)-dienamides & N-isobutyl-dodeca-2(E),4(E)-dienamides. Indian J. Chem. 1979; 18B: 81-82) y a través de reacciones de acoplamiento cruzado catalizadas por paladio (Abarbi M. Efficient synthesis of conjugated (2E)- o (2Z)-en-4-ynoic acids and (2E,4E)- o (2Z,4E)-dienoic acids via palladium-catalyzed accross coupling. Synthesis 1996; 1: 82-86).

[0009] Para alcanamidas aisladas a partir de las raíces de *Echinacea angustifolia* se investigó la afinidad hacia los receptores CB₁ y CB₂. Además, también se midió la inhibición de FAAH (Woelkart K. The endocannabinoid system was a target for alkamides from Echinacea angustifolia roots. Planta Med 2005; 71: 701-705). En el mismo, se observó que la dodeca-2E,4E-dieno isobutil amida presentaba afinidades con ambos receptores CB en el intervalo micromolar de un solo dígito y era solamente un inhibidor muy débil de FAAH.

[0010] En una perspectiva, los efectos de amidas de ácidos grasos de planta sobre el sistema endocannabinoide humano que da lugar a la inmunomodulación, se describe que la dodeca-2E,4E-dieno isobutil amida tiene una afinidad hacia receptores CB₂ con K_i <100 nm (Gertsch J. Immunomodulatory lipids in plants: Plant fatty acids and the human endocannabinoid system. Planta Med 2008; 74: 638-650). A diferencia de otros compuestos, la dodeca-2E,4E-dieno isobutil amida no inhibió FAAH. Se describe que el compuesto exhibe un polimorfismo de lípidos pronunciado y forma micelas en medio acuoso. El autoensamblaje de dichos compuestos bioactivos "de tipo jabonoso" no sólo puede influir en la farmacodinámica, sino también en la farmacocinética de otros compuestos lipófilos.

[0011] La inhibición de la producción de prostaglandina E₂ puede ser uno de los procesos que contribuye a las capacidades antiinflamatorias de las especies de *Echinacea* (LaLone C.A. Echinacea species and alkamides inhibit prostaglandin E₂ production in RAW264.7 mouse macrophage cells. J. Agric. Food Chem. 2007; 55: 7314-7322). La dodeca-2E,4E-dieno isobutil amida (alcanamida de Bauer 11) inhibía la producción de PGE₂ a 50 µM. No se observó citotoxicidad significativa a esta concentración. Sin embargo, esto se contradice con el hallazgo de otro grupo en el que se ha encontrado que dicho compuesto causaba el 50% de muerte celular a 50 µM (Chen Y. Macrophage activating effects of new alkamides from the roots of Echinacea species. J. Nat. Prod. 2005; 68: 773-776).

[0012] Además, los extractos de 19 especies *Piper* se han cribado por su potencial inhibidor de 5-lipoxigenasa (5-LOX) y ciclooxigenasa-1 (COX-1) (Stöhr J.R. Constituents of Chinese Piper species and their inhibitory activity on prostaglandin and leukotriene biosynthesis in vitro. J. Ethnopharmacol 2001; 75: 133-139). Varios extractos fueron capaces de inhibir considerablemente la biosíntesis de leucotrienos (5-LOX) y/o prostaglandina (COX-1) a concentraciones de 10 µg/ml y 26 µg/ml, respectivamente. Algunos de estos extractos también contenían dodeca-2E,4E-dieno isobutil amida.

[0013] Además, WO09/041787 describe el uso de un extracto de *Piper nigrum* para prevenir y tratar enfermedades inflamatorias o infecciosas. La deca-2E,4E-dieno isobutil amida se describe como uno de los ingredientes contenidos.

[0014] La síntesis de deca-2E,4Z-dieno isobutil amida (cis-Pellitorin) y su uso para dar un sabor "caliente" espinoso a los alimentos y productos de higiene oral se describen en WO04/000787.

[0015] Las dienamidas de interés insecticida se pueden sintetizar usando un acoplamiento cruzado de Stille (Abarbi M. A synthetic approach to natural dienamides of insecticidal interest. Synth. Commun. 1998; 28: 239-249). Las N-isobutil-2E,4E-dodecadienamida y N-pirrolidin-2E,4E-dodecadienamida se describen como ejemplos específicos.

[0016] Se ha descrito la homologación de dos carbonos a aldehídos insaturados no ramificados o ramificados con metilo utilizando dietil metilformilfosfonato dimetilhidrazona y dietil etilformil-2-fosfonato dimetilhidrazona, que contienen un grupo aldehído protegido en lugar del grupo éster habitual (Petroski R.J. New phosphonate reagents for aldehyde homologation. Synth Commun 2007; 37: 3841-3854). El (2E,4E)-dodeca-2,4-dienal no se menciona como ejemplo específico.

[0017] Como es evidente a partir de las 2E,4E-dodecadieno amidas anteriores, sin embargo, no se dan a conocer de forma inequívoca en la técnica anterior como adecuadas y activas en el tratamiento y prevención de trastornos de la piel.

[0018] Además, incluso si se conocen en la técnica anterior un gran número de agentes dermatológicos y preparaciones para el tratamiento de cualquier tipo de malestar de la piel, existe todavía una fuerte demanda de encontrar nuevos agentes activos que sean más eficaces, requiriendo incluso cantidades reducidas a aplicar, y que tengan menos efectos secundarios indeseables.

[0019] Por lo tanto, el objetivo subyacente de la presente invención es la provisión de nuevos compuestos adecuados como medicamentos. Es un objetivo adicional de la presente invención proporcionar nuevos compuestos adecuados como agentes dermatológicos para tratar y prevenir varias afecciones, incluyendo la inflamación, irritación, picor, prurito, dolor, edema, y/o afecciones proalérgicas o alérgicas etc., en particular de la piel y mucosa de un mamífero, cuyos compuestos son más eficaces, requieren cantidades reducidas de principio activo en comparación con los compuestos de la técnica anterior, y tienen menos efectos secundarios indeseables.

Características de la invención

[0020] Los objetivos tal como se han mencionado anteriormente sorprendentemente se han resuelto según la presente invención. Así, la presente invención se refiere a una nueva clase de compuestos de dodeca-2*E*,4*E*-dieno amidas específicas, tal como se definen en las reivindicaciones 1 y 12.

[0021] Además, la presente invención se refiere al uso de estos compuestos como medicamento, preferiblemente un agente dermatológico, y como un cosmético. Los compuestos son eficaces en el tratamiento y/o prevención de la inflamación, irritación, picor, prurito, dolor, edema, y/o afecciones proalérgicas o alérgicas, en particular de la piel y mucosa de un mamífero. Otras afecciones incluyen trastornos del crecimiento del cabello (por ejemplo, formas de alopecia, efluvio) y trastornos de las glándulas sebáceas (por ejemplo, acné, seborrea), tumores benignos y malignos de la piel, enfermedades de la piel hiperproliferativas (por ejemplo, psoriasis), crecimiento excesivo de pelo (por ejemplo hirsutismo), diferentes formas de dermatitis, afecciones de la piel seca, y esclerosis sistémica (esclerodermia).

Descripción de las figuras

[0022]

Figura 1: inhibición de la re-captación de AEA por 2*E*,4*E*-dienamidas **1** y **9** en monocitos primarios humanos y células U937. (a) En monocitos humanos primarios, **1** y **9** (1 μ M) inhibían potentemente la captación de [³H]-AEA, mientras que UCM707 (1 μ M) eran claramente menos activas, (b) El valor EC₅₀ del control positivo de UCM707 (1421 $\pm$ 296 nM) está en el mismo intervalo que los valores de EC₅₀ para **1** (1227 $\pm$ 305 nM) y **9** (869 $\pm$ 172 nM). Los datos son valores promedio $\pm$ SEM de 3 experimentos independientes en una curva de dosis-respuesta sigmoidal.

Figura 2: Efectos dependientes de la concentración de **4** y **5** sobre la actividad de FAAH. El compuesto **4** inhibió dependiente de la concentración la actividad de FAAH hasta el intervalo de CMC (<3 μ M) con una inhibición máxima del 40% a 2 μ M. El compuesto **5** mostró un patrón de inhibición de FAAH multifásico, que puede estar relacionado con la CMC (<1 μ M). La inhibición máxima (32%) de **5** se midió a 1 μ M. Los datos son los valores promedio $\pm$ SEM de 3 experimentos independientes.

Figura 3: Efectos de concentraciones bajas en nM de *N*-alquilamida **7** sobre la actividad de FAAH sola y en combinación con el inhibidor de FAAH URB597. El ejemplo **7** mostró efectos sinérgicos con URB597. Los datos son los valores promedio $\pm$ SEM de 3 experimentos independientes.

Figura 4: **1** y **9** inhiben la liberación de TNF-alfa inducida por LPS en medio de cultivo (medida mediante ELISA). Los macrófagos humanos (10⁶ células) fueron estimuladas con LPS (500 ng/ml) y se trataron con UCM707 y/o los compuestos **1** y **9** a 5 μ M durante 18 h. N = 3 $\pm$ SEM.

Figura 5: UCM707 (control positivo) y los compuestos **1** y **9** disminuyen la producción de NO₂⁻. Los macrófagos humanos (10⁶ células) fueron estimulados con LPS (500 ng/ml) y se trataron con UCM707 y/o los compuestos **1** y **9** a 5 μ M durante 18 h. Los sobrenadantes de cultivo se analizaron para determinar los niveles de nitrito, usando el reactivo de Griess como un reflejo de la producción de NO. Los resultados son el promedio $\pm$ SEM de cuatro experimentos independientes realizados por duplicado.

Figura 6: En el receptor CB que expresa queratinocitos HaCaT humanos (10 (6) células) UCM707 (control) **1** y **9** como el endocannabinoide anandamida (cada uno 5 μ M) inhibieron la quimiocina IL-8 inducida por tolerógeno (10 μ g/ml) (estimulación e incubación de 6h). N = 3 $\pm$ SEM.

Descripción detallada de la invención

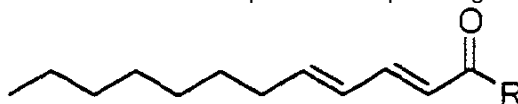
[0023] Según la presente invención, el solicitante ha desarrollado la nueva clase de compuestos de dodeca-2*E*,4*E*-dieno amidas y ha encontrado sorprendentemente que estos compuestos pueden utilizarse eficazmente como

medicamento, preferiblemente como agente dermatológico, y como cosmético debido a su naturaleza lipofílica. Las afecciones y enfermedades a tratar son particularmente inflamación, picazón, prurito, irritación, dolor, edema, y/o afecciones proalérgicas o alérgicas. Los compuestos resultaron ser eficaces no sólo en el tratamiento, sino también en la prevención de las afecciones mencionadas anteriormente. Las condiciones afecciones también reacciones inflamatorias e irritación de la piel y mucosa de un mamífero, preferiblemente de un ser humano, por ejemplo, causadas por el estrés ambiental e influencias, tales como la radiación UV, sustancias tóxicas, y alérgenos en general. De este modo, los compuestos han demostrado que reducen de manera eficaz varios tipos de molestias en la piel y la mucosa tal como se mencionó anteriormente. En particular, han demostrado que proporcionan propiedades analgésicas y anti-pruríticas.

[0024] Sin pretender estar ligado por ninguna teoría, el solicitante cree que la razón de la actividad de las dodeca-2*E*,4*E*-dieno amidas se basa en su función como moduladores del sistema endocannabinoide. A este respecto se sabe que los endocannabinoides *N*-araquidonoiletanolamida (Anandamida, AEA) y 2-araquidonoilglicerol (2-AG) se unen a los receptores de cannabinoide CB₁ y CB₂ acoplados a proteína G. El receptor CB₁ se expresa principalmente (pero no exclusivamente) en las neuronas, el receptor CB₂ está presente principalmente en inmunocitos, tales como monocitos (esplenocitos), macrófagos, células B, pero también en las células astrogiales. En la piel, los receptores CB, en particular el receptor CB₂, se expresan en queratinocitos y fibroblastos. Tras la activación del receptor CB, los endocannabinoides son transportados activamente a través de la membrana celular y se degradan. Las enzimas metabólicas hidrolasa de amida de ácido graso (FAAH) y monoacilglicerol lipasa (MAGL) son responsables de la hidrólisis de AEA y 2-AG, respectivamente, lo que conduce a la inactivación de estas moléculas de señalización. Aunque se ha observado que la activación del receptor CB₁ media los distintos efectos neurofisiológicos, se sabe que la modulación del receptor CB₂ por agonistas y agonistas inversos interfiere con diferentes procesos inflamatorios. La activación del receptor CB₂ puede dar lugar a efectos antiinflamatorios *in vivo* y la modulación del receptor CB₂ se ha implicado en la patofisiología de una serie de enfermedades, incluyendo dolor crónico, inflamación del tracto gastrointestinal, osteoporosis, y enfermedades del hígado. Las plantas emplean moléculas de señalización de lípidos estructuralmente similares a los animales para procesar información celular, incluidos los derivados de ácidos grasos de tipo endocannabinoide. Dado que las plantas no suelen sintetizar el ácido araquidónico, se producen diferentes *N*-aciletanolaminas, como por ejemplo *N*-palmitoiletanolamida, en las plantas y se ha observado que estos lípidos también actúan sobre proteínas directa o indirectamente asociadas con el sistema endocannabinoide (ECS) en animales y seres humanos, tales como FAAH, el receptor portencial transitorio de receptor vaniloide (TRPV1) o el receptor cannabinoide recién postulado GPR55.

[0025] De este modo, según la presente invención, se ha encontrado que las dodeca-2*E*,4*E*-dieno amidas muestran una interferencia funcional significativa con el ECS que se supone que es una razón para su actividad farmacológica. En particular, las dodeca-2*E*,4*E*-dieno amidas reivindicadas inhiben la re-captación de AEA. Además, algunos compuestos de la invención también inhiben la FAAH. En otras palabras, estos compuestos inhiben la re-captación de AEA además de o sin inhibir la actividad de FAAH y sin afectar los receptores CB₁ y CB₂.

[0026] Los compuestos de la presente invención están representados por la siguiente fórmula (1):



fórmula (1)

en la que R es un residuo $-NR^1R^2$ con R¹ y R² definidos como en la reivindicación 1.

[0027] Los sustituyentes adecuados de las cadenas de carbono y los anillos según la invención son halógenos, preferiblemente F, Cl y Br y I, alquilo C₁-C₁₀, alcoxi C₁-C₁₀, arilo C₆-C₂₀, hidroxilo, -SH, -SO₃H, grupos amina, -COOH, y COOR', en el que R' es un alquilo C₁-C₁₀ o un metal alcalino. En general, los grupos alquilo y alcoxi particularmente preferidos utilizados como sustituyentes según la presente invención tal como se describe en el presente documento son grupos alquilo C₁-C₆ y alcoxi C₁-C₆, más preferiblemente metilo, etilo, n-propilo, i-propilo, n-butilo, i-butilo, n-pentilo, iso-pentilo, metoxi, etoxi, n-propoxi, i-propoxi, n-butoxi, i-butoxi, n-pentoxi, iso-pentoxi. Del mismo modo, los grupos arilo particularmente preferidos son grupos arilo C₆-C₁₀, lo más preferiblemente, fenilo. Los sustituyentes adecuados se seleccionan también entre alquínilo, alquínilo, cicloalquilo, heteroarilo, heterocíclico tal como se definen en el presente documento a continuación.

[0028] Los heteroátomos adecuados según la presente invención son O, S, N, P, más preferiblemente O y N.

[0029] En los compuestos preferidos de la invención R¹ es hidrógeno y R² se selecciona del grupo de arilo C₆-C₂₀ sustituido o no sustituido, heteroarilo C₅-C₂₀ sustituido o no sustituido, arilalquilo o heteroarilalquilo C₆-C₂₀ sustituido o no sustituido, o hidroxialquilo C₁-C₂₀.

[0030] En los compuestos más preferidos de la presente invención R^1 es hidrógeno y R^2 se selecciona entre hidroxialquilo C_1-C_{20} , furanilalquilo C_1-C_{10} , pirrolilalquilo C_1-C_{10} , (alquil C_1-C_{10} -pirrolil)-alquilo C_1-C_{10} , bencilo, alcoxi C_1-C_{10} -bencilo, alcoxi C_1-C_{10} -fenalquilo y bifenilo.

5 [0031] En compuestos aún más preferidos de la presente invención R^1 es hidrógeno y R^2 se selecciona entre hidroxialquilo C_1-C_{20} , furanilmetilo, (metilpirrolil)metilo, metoxibencilo, metoxifenetilo, y bifenililo. Preferiblemente R^2 se selecciona entre hidroxialquilo C_1-C_6 , furanilmetilo, (metilpirrolil)metilo, metoxibencilo, metoxifenetilo, y bifenililo.

10 [0032] En compuestos particularmente preferidos de la presente invención R^1 es hidrógeno y R^2 se selecciona entre 2-hidroxietilo, furan-3-ilmetilo, (1-metil-1*H*-pirrol-3-il)metilo, 2-metoxibencilo, 3-metoxibencilo, 4-metoxibencilo, 3-metoxifenetilo, y bifenililo.

15 [0033] Según la presente invención, en los compuestos de fórmula (1), R puede también ser seleccionarse del grupo que consiste en los siguientes radicales (que pueden estar sustituidos por grupos sustituyentes tal como se definen en el presente documento):

20

25

30

35

40

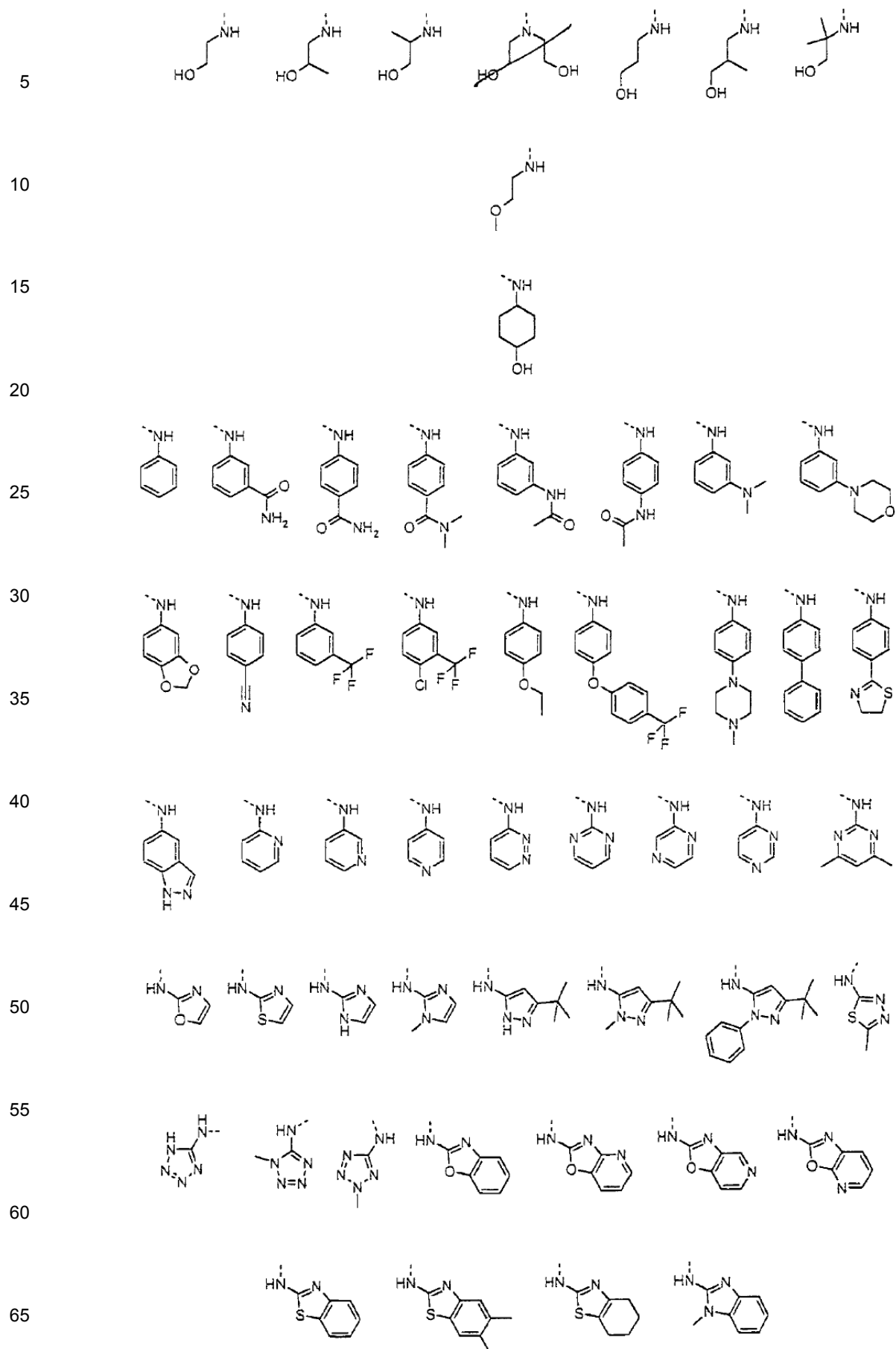
45

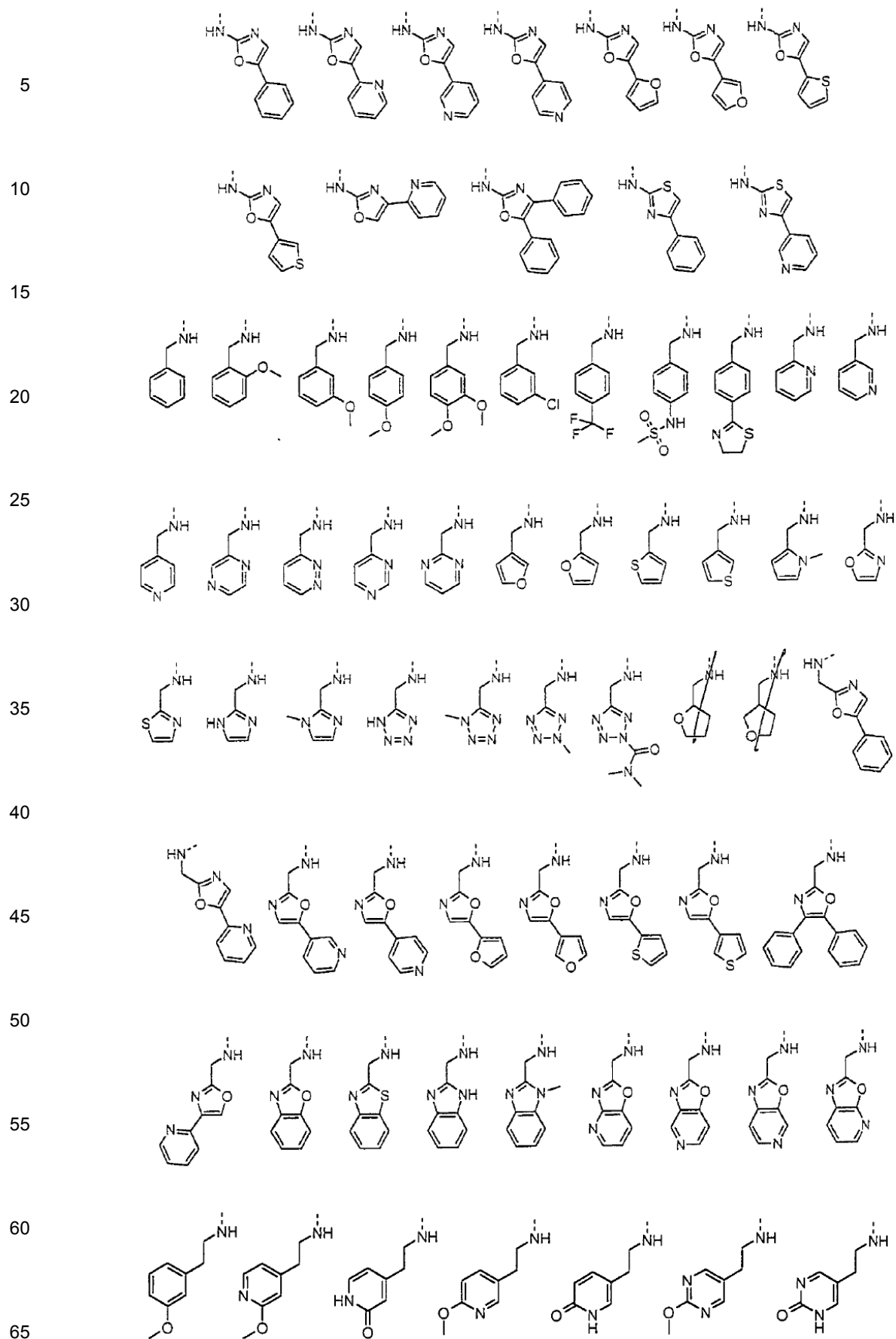
50

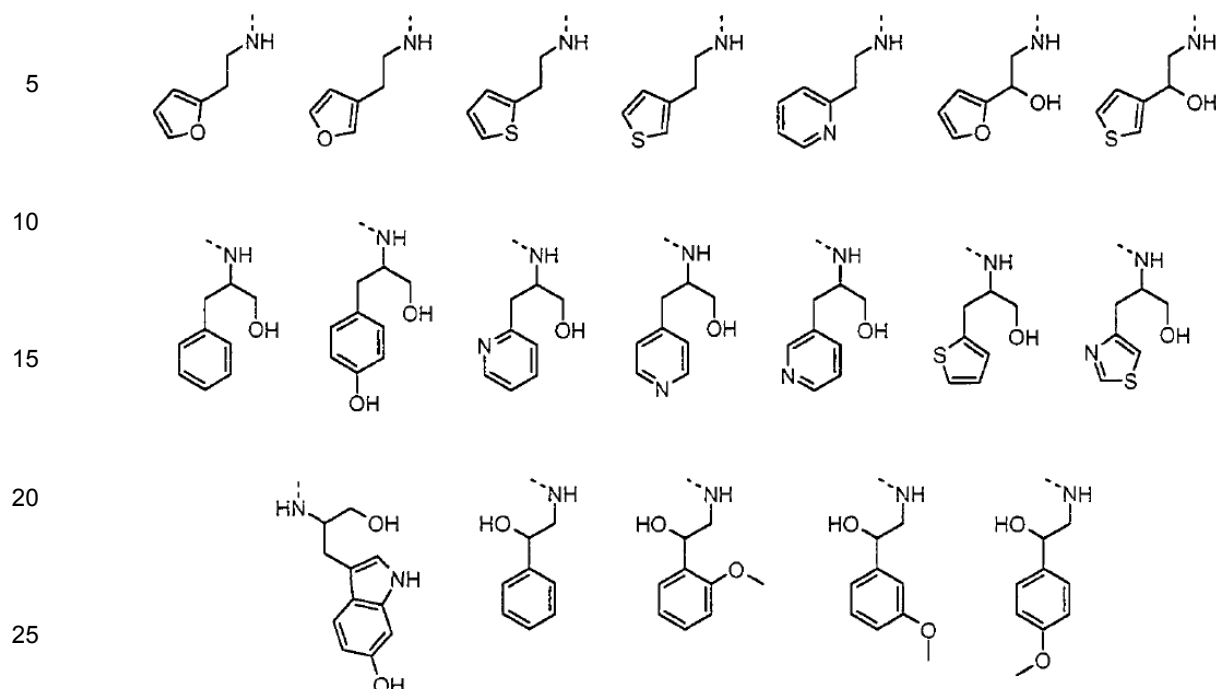
55

60

65







[0034] En particular, según la presente invención, los términos empleados para la definición de los grupos R, R¹ y R², así como los respectivos sustituyentes de las cadenas de carbono y los anillos tienen el significado como se describe a continuación:

Alquilo es un alquilo de cadena lineal o ramificado que tiene 1, 2, 3, 4, 5 ó 6 átomos de carbono, tales como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, terc-butilo, n-pentilo, isopentilo, neopentilo, o hexilo.

Alqueno es un alquilo de cadena lineal o ramificada que tiene 2, 3, 4, 5 ó 6 átomos de carbono y de uno a tres dobles enlaces, preferiblemente uno o dos dobles enlaces, lo más preferiblemente un doble enlace. Los ejemplos preferidos de un grupo alqueno C₂-C₆ son etenilo, prop-1-enilo, prop-2-enilo, isoprop-1-enilo, n-but-1-enilo, n-but-2-enilo, n-but-3-enilo, isobut-1-enil, isobut-2-enilo, n-pent-1-enilo, n-pent-2-enilo, n-pent-3-enilo, n-pent-4-enilo, n-pent-1,3-enilo, isopent-1-enilo, isopent-2-enilo, neopent-1-enilo, n-hex-1-enilo, n-hex-2-enilo, n-hex-3-enilo, n-hex-4-enilo, n-hex-5-enilo, n-hex-1,3-enilo, n-hex-2,4-enilo, n-hex-3,5-enilo, y n-hex-1,3,5-enilo. Los ejemplos más preferidos de un grupo alqueno C₂₋₆ son etenilo y prop-1-enilo.

Alquino es un alquilo de cadena lineal o ramificada que tiene 2, 3, 4, 5 ó 6 átomos de carbono y de uno a tres triples enlaces, preferiblemente uno o dos triples enlaces, lo más preferiblemente un triple enlace. Los ejemplos preferidos de un grupo alquino C₂-C₆ son etinilo, prop-1-inil, prop-2-inilo, n-but-1-inilo, n-but-2-inilo, n-but-3-inilo, n-pent-1-inilo, n-pent-2-inilo, n-pent-3-inilo, n-pent-4-inilo, n-pent-1,3-inilo, isopent-1-inilo, neopent-1-inilo, n-hex-1-inilo, n-hex-2-inilo, n-hex-3-inilo, n-hex-4-inilo, n-hex-5-inilo, n-hex-1,3-inilo, n-hex-2,4-inilo, n-hex-3,5-inilo, y n-hex-1,3,5-inilo. Los ejemplos más preferidos de un grupo alquino C₂-C₆ son etinilo y prop-1-inilo.

Cicloalquilo es un anillo alquilo que tiene 3, 4, 5, 6 ó 7 de átomos de carbono como máximo, tales como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo o cicloheptilo, más preferiblemente 3, 4, 5 o 6 átomos de carbono.

Heteroarilo es un grupo aromático que tiene 1, 2, 3, 4 ó 5 átomos de carbono y al menos un heteroátomo seleccionado entre O, N y/o S y se selecciona preferiblemente entre tienilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, piridilo, pirazinilo, pirimidinilo, isotiazolilo, isoxazilo, furanilo, e indazolilo, más preferiblemente entre tienilo, furanilo, imidazolilo, piridilo, y pirimidinilo.

Heterociclilo es un anillo saturado o insaturado que contiene al menos un heteroátomo seleccionado entre O, N y/o S y 1, 2, 3, 4, 5, 6 ó 7 átomos de carbono. Preferiblemente, heterociclilo comprende como máximo 11 átomos en el anillo (incluyendo carbono y heteroátomos) y más preferiblemente es un anillo de 4 a 8 miembros, e incluso se selecciona más preferiblemente entre tetrahydrofuranilo, azetidino, pirrolidinilo, piperidinilo, piranilo, morfolinilo, tiomorfolinilo y, más preferiblemente entre piperidinilo y pirrolidinilo.

Halógeno es un átomo de halógeno seleccionado entre F, Cl, Br y I, preferiblemente F, Cl y Br.

[0035] Los compuestos preferidos según la invención son también aquellos en los que R¹ es hidrógeno y R² se selecciona entre el grupo de hidroalquilo (por ejemplo, hidroxietilo e hidroxipropilo), arilalquilo (por ejemplo, bencilo, metoxifenetilo, metoxifenilmetilo), arilo (por ejemplo, fenilo), heteroarilalquilo (por ejemplo, furaniletilo, tiofeniletilo, tiofenilmetilo, tetrazolilmetilo y piridiletilo) y heteroarilo (por ejemplo, tiazolilo, benzotiazolilo, piridazinilo, y pirimidinilo). Estos grupos pueden estar sustituidos adicionalmente con sustituyentes tal como se describe en el presente documento.

[0036] Los compuestos según la presente invención preferiblemente no son aquellos en los que $-NR^1R^2$ sea $-NHCH_2CH(CH_3)_2$, $-NHCH_2CH(CH_3)CH_2CH_3$, $-NH(CH_2)_2CH(CH_3)_2$, pirrolidinilo no sustituido, y piperidinilo no sustituido. En otras palabras, dodeca-2E,4E-dieno isobutil amida, dodeca-2E,4E-dieno 2-metilbutil amida, dodeca-2E,4E-dieno 3-metilbutilo amida, dodeca-2E,4E-dieno pirrolidil amida (es decir, no sustituido en el anillo de pirrolidina), y dodeca-2E,4E-dieno piperidinil amida (es decir, no sustituido en el anillo de piperidina) se excluyen de la presente invención. Además, la dodeca-2E,4E-dieno p-hidroxifenetil amida se excluye preferiblemente también de la presente invención.

[0037] Además, también se excluyen compuestos de la presente invención en los que R^1 es hidrógeno y R^2 comprende un grupo $-CH-C(=O)$ unido directamente a través del grupo $-CH$ al átomo de N de $-NR^1R^2$. En otras palabras, todos los compuestos que comprenden un grupo ácido α -amino conectado directamente a través del átomo de N con el átomo C de carbonilo en el grupo de dodeca-2E,4E-dieno se excluyen de la presente invención. Además, los compuestos según la presente invención no contienen un anillo heterocíclico (mono o poli) insaturado de 12 miembros.

[0038] Algunos de estos compuestos ya se dan a conocer en la técnica anterior como principios activos en composiciones farmacéuticas, sin embargo, no se sabe que sean adecuados en el tratamiento/prevención de los trastornos de la piel tal como se describen en este documento.

[0039] Los compuestos de fórmula estructural (1) son eficaces como moduladores del sistema endocannabinoide y son particularmente eficaces como inhibidores del AEAT (transporte de AEA). Son útiles para el tratamiento y/o prevención de trastornos sensibles a la inhibición de AEAT, tales como inflamación, irritación, picor, prurito, dolor, edema y/o afecciones proalérgicas, afecciones alérgicas y otras enfermedades, en particular con participación de AEAT.

Isómeros ópticos - diastereómeros - isómeros geométricos – tautómeros

[0040] Los compuestos de fórmula estructural (1) contienen uno o más centros asimétricos y pueden presentarse como racematos y mezclas racémicas, enantiómeros individuales, mezclas diastereoméricas y diastereómeros individuales. La presente invención pretende abarcar todas dichas formas isoméricas de los compuestos de fórmula estructural (1).

[0041] Los compuestos de fórmula estructural (1) se pueden separar en sus diastereómeros individuales mediante, por ejemplo, cristalización fraccionada en un disolvente adecuado, por ejemplo metanol o acetato de etilo o una mezcla de los mismos, o mediante cromatografía quiral usando una fase estacionaria ópticamente activa. La estereoquímica absoluta puede determinarse por cristalografía de rayos X de productos cristalinos o intermedios cristalinos que se derivan, si es necesario, con un reactivo que contiene un centro asimétrico de configuración absoluta conocida.

[0042] Alternativamente, cualquier estereoisómero de un compuesto de la fórmula general (1) puede obtenerse mediante síntesis estereoespecífica usando materiales de partida ópticamente puros o reactivos de configuración absoluta conocida.

Sales

[0043] Los compuestos según la invención pueden estar presentes en forma de sales farmacéuticamente aceptables. El término "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales preparadas a partir de bases o ácidos no tóxicos farmacéuticamente aceptables, incluyendo bases inorgánicas u orgánicas y ácidos inorgánicos u orgánicos. Las sales derivadas de bases inorgánicas incluyen sales de aluminio, amonio, calcio, cobre, férrico, ferroso, litio, magnesio, mangánicas, manganosa, potasio, sodio, zinc y similares. Se prefieren particularmente las sales de amonio, calcio, litio, magnesio, potasio y sodio. Las sales derivadas de bases orgánicas no tóxicas farmacéuticamente aceptables incluyen sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas que incluyen aminas de origen natural sustituidas, aminas cíclicas y resinas de intercambio iónico básicas, tales como arginina, betaína, cafeína, colina, N,N'-dibenciletilendiamina, dietilamina, 2-dietilaminoetanol, 2-dimetilaminoetanol, etanolamina, etilendiamina, N-etilmorfolina, N-etilpiperidina, glucamina, glucosamina, histidina, hidrabamina, isopropilamina, lisina, metilglucamina, morfolina, piperazina, piperidina, resinas de poliamina, procaína, purinas, teobromina, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina, trometamina y similares.

[0044] Cuando el compuesto de la presente invención es básico, las sales pueden prepararse a partir de ácidos no tóxicos farmacéuticamente aceptables, incluyendo ácidos inorgánicos y orgánicos. Tales ácidos incluyen ácido acético, bencenosulfónico, benzoico, alcanforsulfónico, cítrico, etanosulfónico, fórmico, fumárico, glucónico, glutámico, bromhídrico, clorhídrico, isetiónico, láctico, maleico, málico, mandélico, metanosulfónico, malónico, múico, nítrico, parnoico, pantoténico, fosfórico, propiónico, succínico, sulfúrico, tartárico, p-toluenosulfónico, trifluoroacético y similares. Particularmente preferidos son los ácidos cítrico, fumárico, bromhídrico, clorhídrico, maleico, fosfórico, sulfúrico y tartárico.

Administración, intervalos de dosificación y formulación

[0045] Los compuestos de la invención se incorporan en preparaciones farmacéuticas o cosméticas mediante la mezcla de éstos con un portador o excipiente farmacéuticamente o cosméticamente aceptables. Los portadores adecuados son conocidos por el experto. Preferiblemente, la composición es una composición dermatológica adecuada para ser aplicada por vía tópica sobre la piel o mucosa de un mamífero. La forma de la composición no está particularmente limitada, sin embargo, las formas preferidas son emulsiones, suspensiones y soluciones. En ciertas realizaciones, las composiciones están en forma de lociones, cremas, geles, soluciones, sprays, limpiadores, polvos, ungüentos, ceras, lápices labiales, jabones, champús, soluciones hidroalcohólicas, suspensiones, espumas, crema exfoliante, almohadillas saturadas, agentes acondicionadores de piel o cabello.

[0046] Las composiciones según la invención, sin embargo, se pueden aplicar en cualquier otra forma conocida por la persona experta, tal como oral o parenteral. Los ejemplos no limitantes son sublingual, vaginal, rectal, intravenosa, nasal, intramuscular, por inhalación, ocular y percutánea. Los portadores y excipientes adecuados son conocidos habitualmente por el experto.

[0047] Las composiciones según la presente invención pueden contener los compuestos de dieno amida en cantidades de 0,001 a 40% en peso de la composición, preferiblemente de 0,01 a 5% en peso, más preferiblemente de 0,1 a 2% en peso y lo más preferiblemente de 0,5 a 1,5% en peso.

[0048] Las composiciones según la presente invención pueden contener agentes auxiliares cosmética y farmacéuticamente/dermatológicamente aceptables empleados habitualmente en las preparaciones cosméticas y farmacéuticas y conocidos por el experto. Éstos incluyen, por ejemplo, conservantes, bactericidas, perfumes, espesantes, emulsionantes, agentes tensioactivos, agentes suavizantes, agentes hidratantes, aceites, grasas, ceras, disolventes orgánicos, agua, alcoholes, polioles, polímeros, estabilizadores de espuma, agentes antiespumantes, potenciadores de la penetración u otros componentes convencionales de una preparación farmacéutica o cosmética.

Preparación de compuestos de la invención

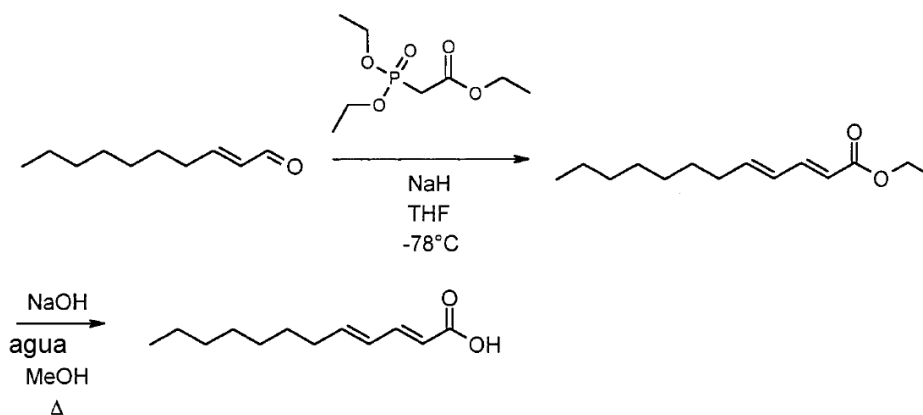
[0049] Los compuestos de fórmula (1), cuando existen como una mezcla diastereomérica, pueden separarse en pares diastereoméricos de enantiómeros mediante cristalización fraccionada a partir de un disolvente adecuado, tal como metanol, acetato de etilo o una mezcla de los mismos. El par de enantiómeros así obtenido puede separarse en estereoisómeros individuales por medios convencionales usando un ácido ópticamente activo como agente de separación. Alternativamente, cualquier enantiómero de un compuesto de la fórmula (1) puede obtenerse mediante síntesis estereoespecífica usando materiales de partida ópticamente puros o reactivos de configuración conocida.

[0050] Los compuestos de fórmula (1) de la presente invención se pueden preparar según los procedimientos de los siguientes esquemas y ejemplos, usando materiales apropiados y se ejemplifican adicionalmente mediante los siguientes ejemplos específicos. Además, mediante la utilización de los procedimientos descritos en el presente documento, en combinación con la capacidad de la técnica, se pueden preparar fácilmente compuestos adicionales de la presente invención reivindicados en este documento. Los compuestos ilustrados en los ejemplos no deben interpretarse, sin embargo, como que forman el único género que se considera como la invención. Los ejemplos ilustran adicionalmente detalles para la preparación de los compuestos de la presente invención. Los expertos en la materia entenderán fácilmente que pueden usarse variaciones conocidas de las condiciones y procesos de los siguientes procedimientos preparativos para preparar estos compuestos. Los compuestos que contienen un grupo básico o ácido se pueden convertir adicionalmente en la forma de sus sales farmacéuticamente aceptables, tales como las descritas anteriormente. Todas las temperaturas están en grados Celsius.

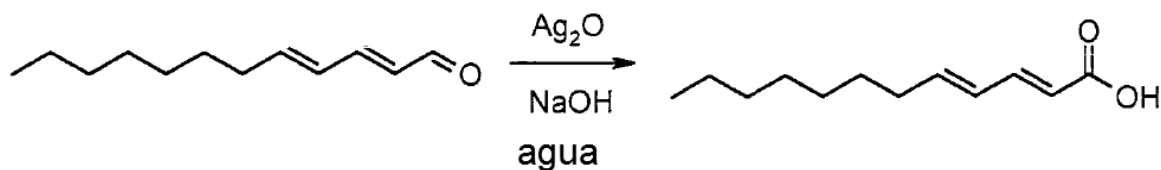
[0051] En los esquemas, las preparaciones y ejemplos a continuación, los diversos símbolos de reactivos y abreviaturas tienen los siguientes significados:

AcOH	Ácido acético
Boc	terc-butoxicarbonilo
DCM	diclorometano
DIEA	etil-diisopropilamina
DMAP	4-dimetilaminopiridina
DMF	N,N-dimetilformamida
Et ₂ O	éter dietílico
EtOH	etanol
H	hora(s)
HATU	hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il) -N,N,N',N'-tetrametiluronio
HRMS	espectrometría de masas de alta resolución
m/z	relación masa-carga
MeOH	metanol
Pf	punto de fusión

PM	peso molecular
RMN	Resonancia magnética nuclear
TA	Temperatura ambiente
TEA	Trietilamina
THF	tetrahidrofurano
TLC	cromatografía en capa fina
T _R (min)	tiempo de retención de HPLC

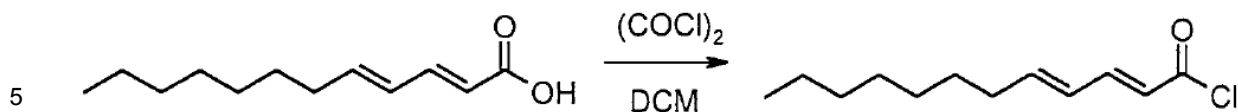
Esquema de Reacción 1:**Síntesis de ácido (2E,4E)-dodeca-2,4-dienoico usando una reacción de Wittig-Horner****[0052]**

[0053] El material de partida para la síntesis de compuestos de la presente invención, ácido (2E,4E)-2,4-dienoico, se puede obtener haciendo reaccionar (2E)-dec-2-enal con un trialquilfosfonoacetato en presencia de una base, tal como hidruro de sodio o butil litio, en un disolvente inerte como tetrahidrofurano a una temperatura apropiada. El éster así obtenido se puede hidrolizar en presencia de una base, tal como hidróxido de sodio o hidróxido de litio, en un disolvente adecuado, tal como una mezcla de agua y metanol o agua y THF a una temperatura dada.

Esquema de Reacción 2:**Oxidación de (2E,4E)-dodeca-2,4-dienal****[0054]**

[0055] Alternativamente, el (2E,4E)-dodeca-2,4-dienal puede hacerse reaccionar con un agente oxidante, tal como óxido de plata, en presencia de una base como hidróxido de sodio en un disolvente adecuado, tal como agua o una mezcla de THF y agua, para producir ácido (2E,4E)-dodeca-2,4-dienoico.

Esquema de Reacción 3:**Formación de cloruro de ácido****[0056]**

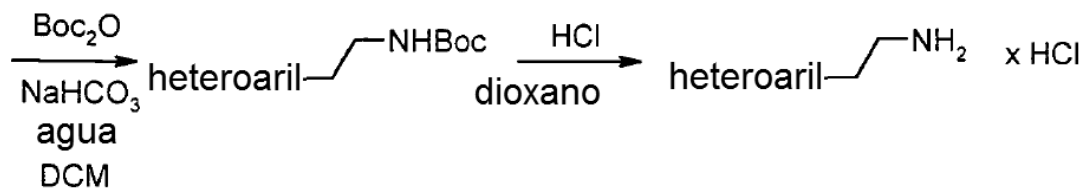
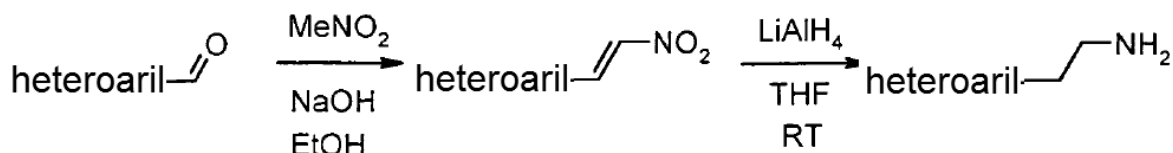
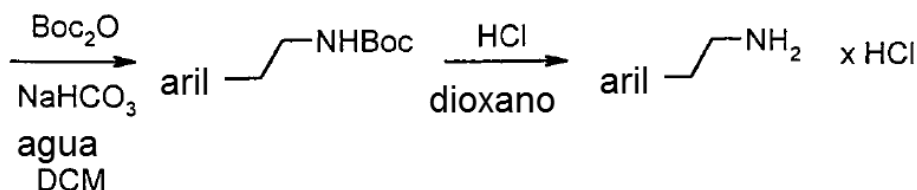
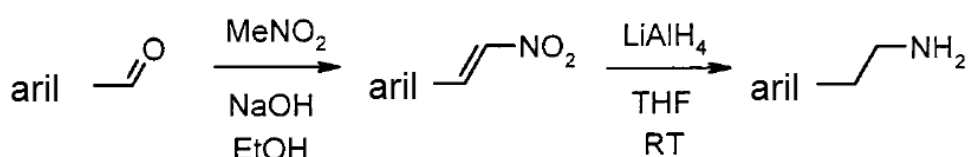


[0057] El ácido (2E,4E)-dodeca-2,4-dienoico puede convertirse en el correspondiente cloruro de ácido por reacción con un reactivo, tal como cloruro de oxalilo o cloruro de tionilo, en un disolvente adecuado como DCM.

Esquema de Reacción 4:

Síntesis de aminas que implica una reacción de Henry

[0058]



[0059] Se pueden obtener 2-ariletilaminas opcionalmente sustituidas tal como se muestra en el Esquema de Reacción 4. La reacción de un arilcarboxaldehído opcionalmente sustituido con nitrometano en un disolvente como etanol en presencia de hidróxido de sodio o acetato de amonio produce los nitroalquenos correspondientes. La posterior reducción con hidruro de litio y aluminio en dioxano a temperatura ambiente produce las aminas objetivo.

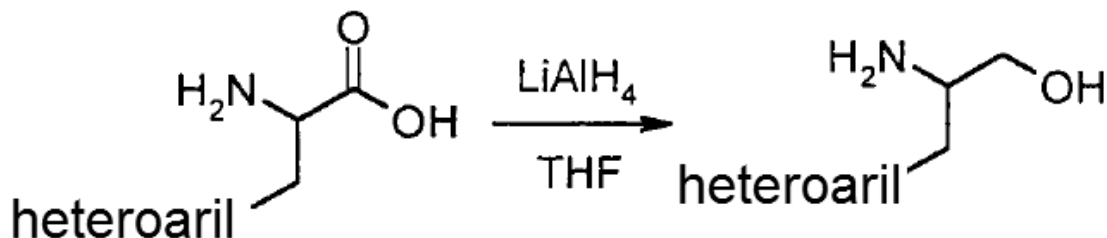
[0060] En algunos casos, las aminas están protegidas con Boc para la purificación. El grupo protector se introduce mediante la reacción de la amina con dicarbonato de di-terc-butilo en presencia de una base, tal como bicarbonato de sodio, en un disolvente adecuado, tal como una mezcla de agua y DCM. Tras el proceso de purificación, se puede obtener la amina después de la desprotección con un ácido, tal como cloruro de hidrógeno en dioxano. La amina se puede aislar como su sal de clorhidrato o se puede liberar la base libre.

[0061] La misma secuencia de reacción también se puede realizar utilizando un heteroarilcarboxaldehído opcionalmente sustituido.

Esquema de Reacción 5:

Síntesis de aminoalcoholes

[0062]

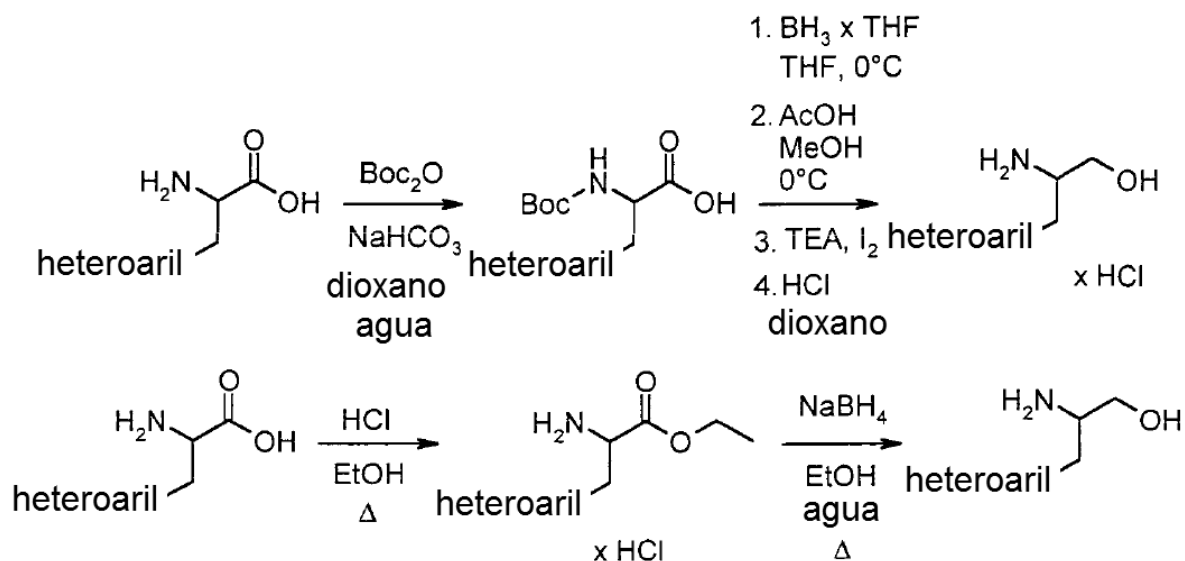


[0063] El Esquema de Reacción 5 muestra la síntesis de derivados de heterorilalaninol opcionalmente sustituidos. La heteroarilalanina opcionalmente sustituida se hace reaccionar con un agente reductor, tal como hidruro de litio y aluminio o borano, en un disolvente inerte como tetrahidrofurano o éter dietílico a una temperatura adecuada para producir el aminoalcohol correspondiente.

Esquema de Reacción 6:

Rutas alternativas para la síntesis de aminoalcoholes

[0064]



[0065] En algunos casos la reducción directa de una heteroarilalanina opcionalmente sustituida no es posible. En tales casos, se prepara un derivado del aminoácido y este intermedio se somete a una reacción de reducción, tal como se representa en el Esquema de Reacción 6.

[0066] Por ejemplo se puede introducir un grupo protector Boc usando un reactivo como dicarbonato de di-terc-butilo en un disolvente apropiado, tal como una mezcla de dioxano y agua, en presencia de una base como bicarbonato de sodio. La reducción de la función ácida se puede lograr mediante tratamiento con un reactivo, tal como complejo de borano y tetrahidrofurano, en un disolvente como THF a una temperatura adecuada. La mezcla de reacción se puede hidrolizar mediante el uso de una mezcla de ácido acético y metanol a baja temperatura. El producto impuro se puede tratar posteriormente con yodo en presencia de una base, tal como trietilamina. Después de la reducción, puede llevarse a cabo la desprotección de la función amina por reacción del producto intermedio con un ácido como ácido clorhídrico en un disolvente tal como dioxano. La base libre puede liberarse posteriormente o se puede usar el clorhidrato para las siguientes reacciones.

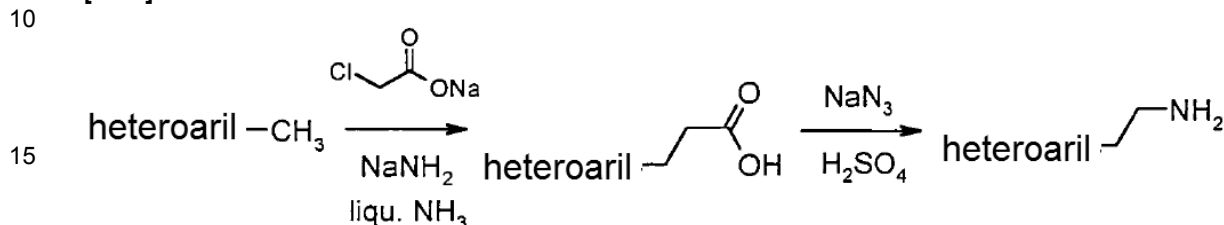
[0067] Alternativamente, la heteroarilalanina opcionalmente sustituida se puede convertir en el correspondiente clorhidrato del aminoéster. La esterificación se puede lograr calentando el aminoácido en un alcohol adecuado como metanol o etanol en presencia de ácido clorhídrico, ácido paratoluenosulfónico o cloruro de tionilo. La función éster

se puede reducir usando un reactivo, tal como borohidruro de sodio, en un disolvente como una mezcla de etanol y agua a temperatura elevada. La función éster también se puede realizar utilizando un reactivo, tal como borano o hidruro de litio y aluminio, en un disolvente inerte, tal como tetrahidrofurano o dietil éter.

5 Esquema de Reacción 7:

Síntesis de 2-heteroariletilaminas utilizando una transposición de Curtius

[0068]

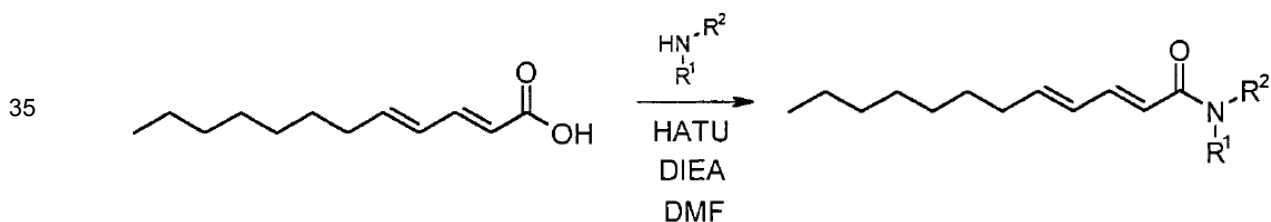


20 [0069] Tal como se muestra en el Esquema de Reacción 7, pueden hacerse reaccionar compuestos heteroaromáticos sustituidos con metilo opcionalmente sustituidos con un reactivo, tal como cloroacetato de sodio, en presencia de amida de sodio en amoníaco líquido para obtener los correspondientes ácidos heteroarilpropiónico. La reacción posterior con azida de sodio en presencia de ácido sulfúrico proporciona las aminas objetivo.

25 Esquema de Reacción 8:

Acoplamiento de ácido (2E,4E)-dodeca-2,4-dienoico con aminas

[0070]

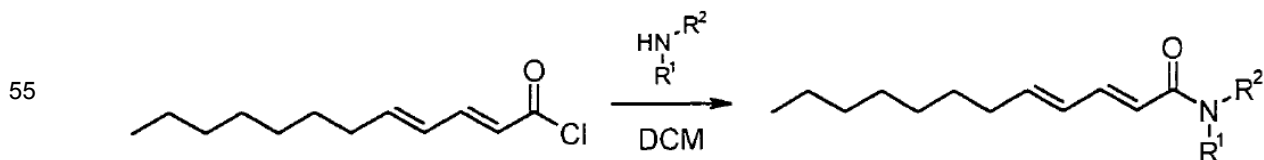


45 [0071] El ácido (2E,4E)-dodeca-2,4-dienoico, obtenido tal como se describe en los Esquemas de Reacción 1 y 2, respectivamente, se puede acoplar con aminas HNR¹R² utilizando un reactivo de acoplamiento apropiado, tal como HATU, en un disolvente adecuado como DMF en presencia o sin una base como DIEA. Alternativamente, el ácido también puede activarse con otros reactivos adecuados, por ejemplo mediante la formación de un anhídrido mixto usando un reactivo, tal como cloroformiato de etilo.

Esquema de Reacción 9:

Reacción de cloruro de (2E,4E)-2,4-dodeca-dienoilo con aminas

[0072]



[0073] Una vía alternativa que conduce a las moléculas objetivo comienza con cloruro de (2E,4E)-dodeca-2,4-dienoilo. La reacción con una amina HNR¹R² en un disolvente inerte como DCM produce los productos deseados. La reacción puede llevarse a cabo en presencia o sin una base, tal como DMAP.

65 Análisis

[0074] Los compuestos de la presente invención se analizaron usando diversos métodos analíticos. Estos métodos se resumen a continuación.

Puntos de fusión

[0075] Los puntos de fusión (pf) se determinaron en capilares abiertos utilizando un aparato Büchi MEltng Point B-540.

Espectros de RMN

[0076] Los espectros de resonancia magnética nuclear (^1H -RMN y ^{13}C -RMN) se registraron en un espectrómetro Bruker Avance 400 MHz y se analizaron utilizando el software Topspin 1.3. Los desplazamientos químicos (δ) se presentan en partes por millón (ppm) con relación a CDCl_3 , que se ajustó a 7,26 ppm para el análisis de los espectros de ^1H y 77,00 ppm para la evaluación de los espectros de ^{13}C , las constantes de acoplamiento (J) se expresaron en hertz. Las señales se citaron de la siguiente manera: s, singlete; d, doblete; t, triplete; m, multiplete.

Análisis por GC y HPLC acoplado a MS de alta resolución

[0077] Los espectros de masas ESI positivo de alta resolución se obtuvieron en un espectrómetro de masas FTR-ICR-ESI 4.7T Ultima (Varian, Inc., Palo Alto, CA, EE.UU.) con un voltaje de ionización de 3,0-3,8 kV. La pureza de las N-alkil amidas (Ejemplo 1, Ejemplos 3-10 y compuestos A-E) se evaluó mediante cromatografía de gases utilizando una columna ZB-5 de 15 m x 0,25 mm, película de 0,25 μm . Se han aplicado dos perfiles de temperatura para detectar la impureza. Sistema A: El horno se mantuvo a 55°C durante 3 min, y a continuación se aumentó la temperatura a una velocidad de 6°C/min hasta 230°C y se mantuvo durante 10 min. Sistema B: La temperatura se aumentó desde 150°C a una velocidad de 6°C/min hasta 230°C y se mantuvo durante 20 min. Dado que el Ejemplo 2 se descomponía durante la cromatografía de gases, la pureza del Ejemplo 2 se evaluó mediante cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) en una columna C18 Waters Symmetry[®] (4,6 x 100 mm) con detección mediante un detector de conjunto de diodos UV. Se utilizaron dos sistemas de disolventes diferentes para mostrar la pureza. Sistema A: La fase móvil fueron agua y acetonitrilo usando el siguiente programa de elución en gradiente: inicial 60% de acetonitrilo durante 2 min, a continuación un gradiente lineal hasta 95% de acetonitrilo durante 7 min, que se mantuvo durante 1 min, seguido de un gradiente lineal hasta 60% de acetonitrilo durante 1 min, que se mantuvo durante 1 min. Sistema B: El mismo programa de elución en gradiente se adoptó como en el sistema A, pero usando metanol en lugar de acetonitrilo. La pureza se muestra como la media de los dos sistemas aplicados.

LC-MS analítico

Resumen de las condiciones analíticas:

[0078] Agilent 1100 con ELSD (PL-ELS 2100) y el detector de conjunto de diodos con detección UV entre 220 y 320 nm y detector selectivo de masas (MSD) en modo ESI + y ESI- (intervalo de masas: $m/z = 100-800$),
Columna: C18, 3,5 μm , 2,1 mm x 50 mm, Waters Xbridge,
gradiente lineal con acetonitrilo en agua (HCOOH al 0,1%)
Velocidad de flujo de 0,8 ml/min; temperatura de la columna: 30°C;
Fase móvil A: acetonitrilo (HCOOH al 0,1%)
Fase móvil B: agua (HCOOH al 0,1%)

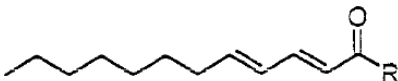
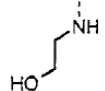
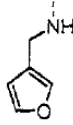
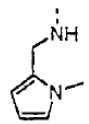
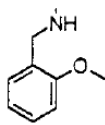
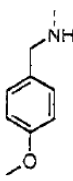
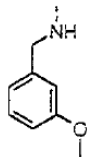
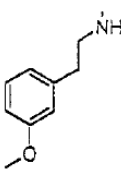
o
Agilent 1200 con detector de conjunto de diodos con detección UV entre 220 y 320 nm y detector selectivo de masas (MSD) en modo ESI + y ESI- (intervalo de masas: $m/z = 100-800$),
Columna: C18, 3,5 μm , 2,1 mm x 50 mm, Waters Xbridge,
gradiente lineal con acetonitrilo en agua (HCOOH al 0,1%)
Velocidad de flujo de 0,8 ml/min; temperatura de la columna: 30°C;
Fase móvil A: acetonitrilo (HCOOH al 0,1%)
Fase móvil B: agua (HCOOH al 0,1%)

Gradiente A:

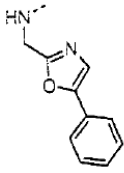
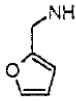
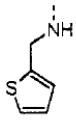
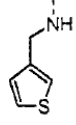
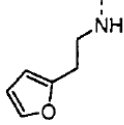
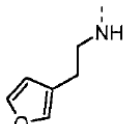
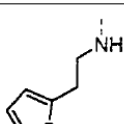
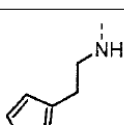
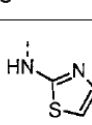
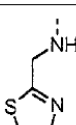
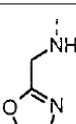
[0079] gradiente lineal de 2% a 98% de acetonitrilo en agua (HCOOH al 0,01%)
0,0 min 2% A
3,5 min 98% A
6,0 min 98% A

[0080] A continuación se describen los ejemplos detallados de la invención que pueden prepararse a través de los esquemas de reacción 1 a 9.

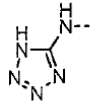
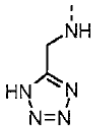
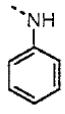
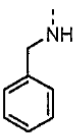
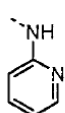
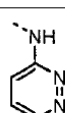
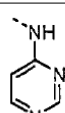
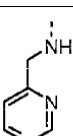
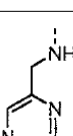
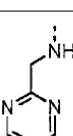
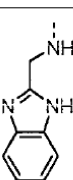
Tabla 1:

					
		HPLC ¹⁾		MS ¹⁾	
No.	R	t _R (min)	procedimiento	PM (calc.) base libre	[M+H ⁺] (hallado)
1		n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
4		n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
5		n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
6		n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
7		n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
8		n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
9		n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
10		n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

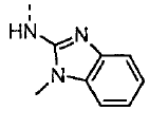
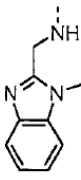
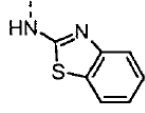
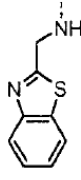
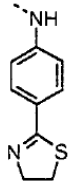
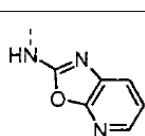
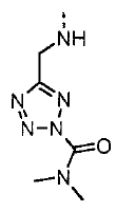
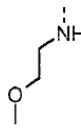
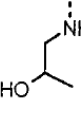
(continuación)

No.	R	HPLC ¹⁾		MS ¹⁾	
		t _R (min)	Procedimiento	PM (calc.) base libre	[M+H ⁺] (hallado)
11		4.08	A	352.48	353
12		3.96	A	275.39	276
14		4.05	A	291.46	292
15		4.04	A	291.46	292
16		4.02	A	289.42	290
17		4.01	A	289.42	290
18		4.10	A	305.49	306
19		4.09	A	305.49	306
20		4.02	A	278.42	279
21		3.78	A	292.45	293
22		3.71	A	276.38	277

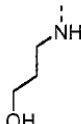
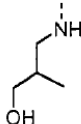
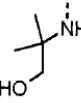
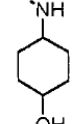
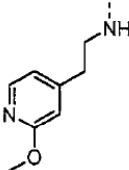
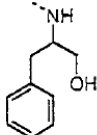
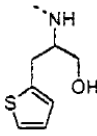
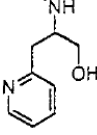
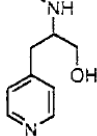
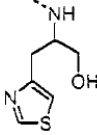
(continuación)

No.	R	HPLC ¹⁾		MS ¹⁾	
		t _R (min)	Procedimiento	PM (calc.) base libre	[M+H ⁺] (hallado)
23		3.71	A	263.35	264
24		3.56	A	277.37	278
25		4.17	A	271.41	272
26		4.09	A	285.43	286
27		3.84	A	272.39	273
28		3.84	A	273.38	274
29		3.89	A	273.38	274
30		3.61	A	287.41	288
31		3.67	A	287.41	288
32		3.64	A	287.41	288
33		3.22	A	325.46	326

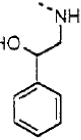
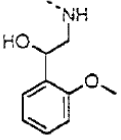
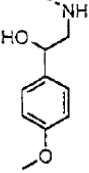
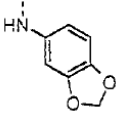
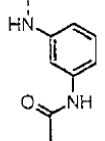
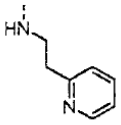
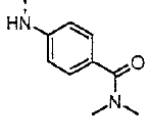
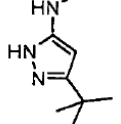
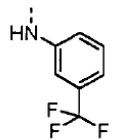
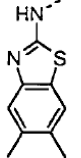
(continuation)

No.	R	HPLC ¹⁾		MS ¹⁾	
		t _R (min)	Procedimiento	PM (calc.) base libre	[M+H ⁺] (hallado)
34		3.50	A	325.46	326
35		3.26	A	339.48	340
36		4.34	A	328.48	329
37		4.21	A	342.51	343
38		3.94	A	356.53	357
39		3.84	A	313.40	314
40		3.79	A	348.45	349
41		3.75	A	253.39	254
42		3.58	A	253.39	254
43		3.60	A	253.39	254

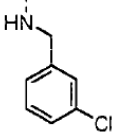
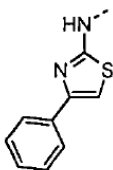
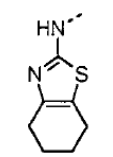
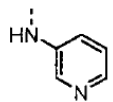
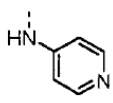
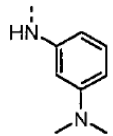
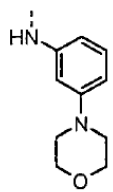
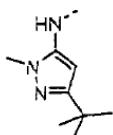
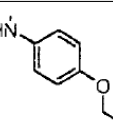
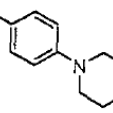
(continuación)

No.	R	HPLC ¹⁾		MS ¹⁾	
		t _R (min)	Procedimiento	PM (calc.) base libre	[M+H ⁺](hallado)
44		3.56	A	253.39	254
45		3.70	A	267.42	268
46		3.83	A	267.42	268
47		3.67	A	293.45	294
48		3.87	A	330.47	331
49		3.90	A	329.49	330
50		3.88	A	335.51	336
51		3.09	A	330.47	331
52		3.01	A	330.47	331
53		3.60	A	336.50	337

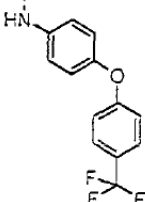
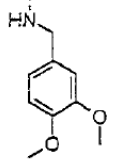
(continuación)

No.	R	HPLC ¹⁾		MS ¹⁾	
		t _R (min)	Procedimiento	PM (calc.) base libre	[M+H ⁺] (hallado)
54		3.90	A	315.46	316
55		3.94	A	345.49	346
56		3.87	A	345.49	346
66		4.13	A	315.42	316
67		3.87	A	328.46	329
68		3.18	A	300.45	301
69		3.89	A	342.49	343
70		4.03	A	317.48	318
71		4.43	A	339.40	340
72		4.55	A	356.53	357

(continuación)

No.	R	HPLC ¹⁾		MS ¹⁾	
		t _R (min)	Procedimiento	PM (calc.) base libre	[M+H ⁺] (hallado)
73		4.24	A	319.88	320
74		4.46	A	354.52	355
75		4.36	A	332.51	333
76		3.42	A	272.39	273
77		3.20	A	272.39	273
78		3.90	A	314.47	315
79		4.10	A	356.51	357
80		4.14	A	331.51	332
81		4.23	A	315.46	316
83		3.30	A	369.55	370

(continuación)

No.	R	HPLC ¹⁾		MS ¹⁾	
		t _R (min)	Procedimiento	PM (calc.) base libre	[M+H ⁺](hallado)
84		4.62	A	431.50	432
85		3.96	A	345.49	346

1) Para los ejemplos 1 a 10 los datos analíticos se proporcionan en la descripción detallada de la preparación (ver a continuación)

(aquí, n.d.: no disponible)

- 5 **[0081]** Los siguientes ejemplos se proporcionan para ilustrar la invención y no son limitativos de ninguna manera del alcance de la invención.

Procedimiento general para la síntesis de los Ejemplos 1 a 10 y los compuestos A a E.

- 10 **[0082]** Se disolvió hidruro sódico al 60% (39 mmol) en THF a 0°C. Después de la adición de fosfonoacetato de trietilo (39 mmol), la mezcla de reacción se agitó durante 30 min a temperatura ambiente. A continuación, se añadió (E)-dec-2-enal (32,4 mmol) gota a gota a -78°C y se dejó reaccionar durante otros 30 min. El éster se extrajo con acetato de etilo y se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice. Después de la saponificación del éster con NaOH 2M a 60°C durante 3 h en MeOH, la mezcla de reacción se acidificó (pH = 2) mediante la adición de HCl diluido. El ácido se extrajo con acetato de etilo y se evaporó el disolvente. Sin purificación adicional el ácido se convirtió en el cloruro de ácido mediante la adición de cloruro de tionilo y reflujo en Et₂O durante 90 min. Después de extraer el exceso de cloruro de tionilo en alto vacío, se añadió la amina apropiada (1,5 equivalentes) lentamente a temperatura ambiente al cloruro de ácido disuelto en Et₂O y se dejó de agitar durante 60 min a temperatura ambiente. Después de no observar más conversión (comprobado por TLC) (después de 1-2 horas), la reacción se detuvo mediante la adición de una solución saturada de NaHCO₃ y la amida se extrajo con acetato de etilo. Los productos impuros secos se purificaron finalmente mediante cromatografía en columna ultrarrápida ("flash") y se analizaron mediante MS y RMN.

Ejemplo 1: (2E,4E)-N-(2-hidroxiethyl)dodeca-2,4 dieno amida (1)

- 25 **[0083]** Sólido blanco. Pf 89,3-92,3°C. HRMS (ESI) calculado para C₁₄H₂₅NO₂ (M + Na⁺) m/z 262,1778 hallado 262,1774. ¹H RMN (CDCl₃) δ (ppm): 7,22 (dd, 1H, 9,7, 14,9 Hz), 6,03-6,20 (m, 3H), 5,79 (d, 1H, J = 14,9 Hz), 3,75 (t, 2H, J = 5,2 Hz), 3,47-3,53 (m, 2H), 3,18 (s ancho, 1H), 2,14 (dd, 2H, J = 6,7 Hz, J = 13,7 Hz), 1,36-1,46 (m, 2H), 1,20-1,34 (m, 8H), 0,84-0,92 (m, 3H). ¹³C RMN (CDCl₃) δ (ppm): 14,07, 22,61, 28,75, 29,08, 29,13, 31,76, 32,98, 42,73, 62,56, 120,81, 128,08, 142,24, 144,09, 167,75.

Ejemplo 4: (2E,4E)-N-(furan-3-ilmetil)dodeca-2,4-dieno-amida (4).

- 35 **[0084]** Sólido blanco. Pf 108,9-110,2°C. HRMS (ESI) calculado para C₁₇H₂₅NO₂ (M + Na⁺) m/z 298,1778 hallado 298,1781. ¹H RMN (CDCl₃) δ (ppm): 7,37 (s, 2H), 7,21 (dd, 1H, 10,3 Hz, 15,1 Hz), 6,36 (s, ancho 1H), 5,76 (s, 1H), 6,2-6,14 (m, 2H), 5,73 (d, 1H, 16,9 Hz), 5,66 (s, 1H), 4,36 (d, 2H, 5,4 Hz), 2,14 (dd, 2H, J = 6,9 Hz, J = 12,9 Hz), 1,35-1,46 (m, 2H), 1,19-1,34 (m, 8H), 0,83-0,91 (m, 3H). ¹³C RMN (CDCl₃) δ (ppm): 14,06, 22,61, 28,76, 29,08, 29,12, 31,75, 32,96, 34,50, 110,32, 121,10, 122,25, 128,10, 140,16, 141,89, 143,45, 143,75, 166,23.

Ejemplo 5: (2E, 4E)-N-((1-metil-1H-pirrol-3-il)metil)dodeca-2,4-dieno amida (5).

- 40 **[0085]** Sólido de color marrón. Pf 99,8-101,4°C. HRMS (ESI) calculado para C₁₈H₂₈N₂O (M + Na⁺) m/z 311,2094

hallado 311,2098. ^1H RMN (CDCl_3) δ (ppm): 7,21 (dd, 1H, 10,0 Hz, $J = 15,2$ Hz), 6,60 (t, 1H, 2,2 Hz), 6,01-6,13 (m, 4H), 5,70 (d, 1H, 15,8 Hz), 5,60 (s, ancho 1H), 4,49 (d, 2H, $J = 5,5$ Hz), 3,56 (s, 3H), 2,14 (dd, 2H, 6,6 Hz, 12,9 Hz), 1,35-1,47 (m, 2H), 1,20-1,34 (m, 8H), 0,83-0,92 (m, 3H). ^{13}C RMN (CDCl_3) δ (ppm): 14,05, 22,59, 28,74, 29,06, 29,06, 31,73, 32,93, 33,76, 35,14, 106,95, 108,80, 121,10, 123,09, 128,09, 128,67, 141,87, 143,73, 165,70.

Ejemplo 6: (2E,4E)-N-(2-metoxibencil)dodeca-2,4-dieno amida (6)

[0086] Sólido blanco. 99,1%. Pf 112,5-114,4°C. HRMS (ESI) calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{29}\text{NO}_2$ ($\text{M} + \text{Na}^+$) m/z 338,2090 hallado 338,2092. ^1H RMN (CDCl_3) δ (ppm): 7,22-7,30 (m, 2H), 7,18 (dd, 1H, $J = 9,9$ Hz, 15,0 Hz), 6,90 (dt, 1H, 1,0 Hz, 7,5 Hz), 6,86 (d, 1H, 8,4 Hz), 6,00-6,19 (m, 2H), 5,9 (s ancho 1H), 5,73 (d, 1H, 15,0 Hz), 4,51 (d, 2H, $J = 5,8$ Hz), 3,85 (s, 3H), 2,12 (dd, 2H, 6,8 Hz, 13,3 Hz), 1,18-1,33 (m, 10H), 0,83-0,91 (m, 3H). ^{13}C RMN (CDCl_3) δ (ppm): 14,05, 22,60, 28,78, 29,07, 29,10, 31,74, 32,92, 39,36, 55,3, 110,25, 120,71, 121,73, 126,33, 128,21, 128,80, 129,89, 141,35, 143,14, 157,52, 166,05.

Ejemplo 7: (2E,4E)-N-(4-metoxibencil)dodeca-2,4-dieno amida (7)

[0087] Sólido blanco. Pf 125,1-126,2°C. HRMS (ESI) calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{29}\text{NO}_2$ ($\text{M} + \text{Na}^+$) m/z 388,2090 hallado 388,2092. ^1H RMN (CDCl_3) δ (ppm): 7,23-7,26 (m, 1H), 7,17-7,23 (m, 2H), 6,60-6,90 (m, 2H), 6,1-6,20 (m, 2H), 5,75 (s ancho 1H), 5,74 (d, 1H, $J = 15,2$ Hz), 4,43 (d, 2H, $J = 5,6$ Hz), 3,78 (s, 3H), 2,13 (dd, 2H, $J = 6,8$ Hz, 13,6 Hz), 1,18-1,34 (m, 10H), 0,83-0,91 (m, 3H). ^{13}C RMN (CDCl_3) δ (ppm): 14,08, 22,63, 28,65, 28,79, 29,10, 29,14, 31,78, 32,97, 43,20, 55,31, 100,87, 114,10, 121,36, 128,17, 129,26, 130,45, 141,77, 143,57, 159,06, 166,14.

Ejemplo 8: (2E,4E)-N-(3-metoxibencil)dodeca-2,4-dieno amida (8)

[0088] Sólido blanco. Pf 82,2-84,2°C. HRMS (ESI) calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{29}\text{NO}_2$ ($\text{M} + \text{Na}^+$) m/z 388,2090 hallado 388,2090. ^1H RMN (CDCl_3) δ (ppm): 7,22-7,30 (m, 2H), 7,18 (dd, 1H, 9,9 Hz, $J = 15,0$ Hz), 6,90 (dt, 1H, 1,0 Hz, 7,5 Hz), 6,86 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,00-6,19 (m, 2H), 5,9 (s ancho 1H), 5,73 (d, 1H, 15,0 Hz), 4,51 (d, 2H, 5,8 Hz), 3,85 (s, 3H), 2,12 (dd, 2H, $J = 6,8$ Hz, $J = 13,3$ Hz), 1,18-1,33 (m, 10H), 0,83-0,91 (m, 3H). ^{13}C RMN (CDCl_3) δ (ppm): 14,06, 22,61, 28,77, 29,08, 29,12, 31,76, 32,95, 43,65, 55,22, 113,00, 113,37, 120,07, 121,27, 128,15, 129,71, 139,93, 141,86, 143,63, 159,88, 166,22.

Ejemplo 9: (2E,4E)-N-(3-metoxifenetil)dodeca-2,4-dieno-amida (9)

[0089] Sólido blanco. Pf 95,3-96,5°C. HRMS (ESI) calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{31}\text{NO}_2$ ($\text{M} + \text{Na}^+$) m/z 352,2247 hallado 352,2246. ^1H RMN (CDCl_3) δ (ppm): 7,14-7,24 (m, 2H), 6,75-6,80 (m, 2H), 6,73-6,75 (m, 1H), 6,5-6,10 (m, 2H), 5,67 (d, 1H, 14,9 Hz), 5,48 (s ancho 1H), 3,79 (s, 3H), 3,59 (dd, 2H, 6,8 Hz, 13,0 Hz), 2,82 (t, 2H, 6,9 Hz), 2,13 (dd, 2H, 6,7 Hz, 13,0 Hz), 1,22-1,33 (m, 10H), 0,84-0,90 (m, 3H). ^{13}C RMN (CDCl_3) δ (ppm): 14,06, 22,61, 28,77, 29,08, 29,11, 31,75, 32,94, 35,74, 40,53, 55,16, 111,90, 114,41, 121,08, 121,50, 128,14, 129,61, 140,57, 141,45, 143,40, 159,82, 166,31.

Ejemplo 10: (2E, 4E)-N-(bifenil-4-il)dodeca-2,4-dieno amida (10)

[0090] Pardusco sólido. Pf 169,2-169,7°C. HRMS (ESI) calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{29}\text{NO}$ ($\text{M} + \text{H}^+$) m/z 348,2322 hallado 348,2323. ^1H RMN (CDCl_3) δ (ppm): 7,61-7,69 (m, 2H), 7,53-7,60 (m, 4H), 5,42 (t, 2H, 7,8 Hz), 7,29-7,38 (m, 2H), 6,10-6,21 (m, 2H), 5,91 (d, 1H, 14,8 Hz), 2,17 (dd, 2H, $J = 6,6$ Hz, $J = 13,4$ Hz), 1,56 (s ancho 1H), 1,21-1,35 (m, 8H), 0,85-0,92 (m, 3H). ^{13}C RMN (CDCl_3) δ (ppm): 14,07, 22,62, 28,76, 29,08, 29,15, 31,76, 33,04, 120,24 (2C), 121,68, 126,78 (2C), 127,05, 127,56 (2C), 128,12, 128,74 (2C), 137,01, 137,46, 140,47, 142,95, 144,50, 164,61.

Compuesto A: (2E,4E)-N-isobutildodeca-2,4-dieno amida

[0091] Sólido blanco. Pf 89,1-89,9°C. HRMS (ESI) calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{29}\text{NO}$ ($\text{M} + \text{H}^+$) m/z 252,2322 hallado 252,2322. ^1H RMN (CDCl_3) δ (ppm): 7,18 (dd, 1H, 9,7 Hz, 14,9 Hz), 6,01-6,17 (m, 1H), 5,74 (d, 4H, 14,7 Hz), 5,43 (s ancho 1H), 3,16 (t, 2H, 6,53 Hz), 2,14 (dd, 2H, $J = 7,1$ Hz, $J = 13,8$ Hz), 1,79 (quinteto 1H, $J = 6,8$ Hz), 1,35-1,46 (m, 2H), 1,20-1,35 (m, 8H), 0,92 (d, 6H, $J = 6,6$ Hz), 0,88 (t, 3H, $J = 7,1$ Hz). ^{13}C RMN (CDCl_3) δ (ppm): 14,04, 20,10 (2C), 22,59, 28,60, 28,78, 29,07, 29,10, 31,74, 32,92, 46,90, 121,78, 128,19, 141,19, 143,09, 166,40.

Compuesto B: (2E,4E)-N-(2-metilbutil)dodeca-2,4-dieno amida

[0092] Sólido blanco. Mezcla enantiomérica 1:1. Pf 67,1-68,1°C. HRMS (ESI) calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{31}\text{NO}$ ($\text{M} + \text{H}^+$) m/z 266,2478 hallado 266,2479. ^1H RMN (CDCl_3) δ (ppm): 7,17 (dd, 1H, 10,0 Hz, $J = 14,9$ Hz), 6,1-6,13 (m, 2H), 5,75 (d, 1H, 15,2 Hz), 5,55 (s, ancho 1H), 3,22-3,31 (m, 1H), 3,9-3,18 (m, 1H), 2,13 (dd, 2H, 6,8 Hz, 13,8 Hz), 1,51-1,62 (m, 1H), 1,35-1,47 (m, 3H), 1,21-1,33 (m, 8H), 1,1-1,21 (m, 1H), 0,83-0,95 (m, 9H). ^{13}C RMN (CDCl_3) δ (ppm): 11,26, 14,07, 17,17, 22,62, 27,00, 28,81, 29,09, 29,12, 31,76, 32,94, 35,04, 45,18, 121,74, 128,19, 141,25, 143,18, 166,42.

Compuesto C: (2E,4E)-N-isopentildodeca-2,4-dieno amida

[0093] Sólido blanco. Pf 72,1-73,4.°C. HRMS (ESI) calculado para $C_{17}H_{31}NO$ ($M + H^+$) m/z 266,2478 hallado 266,2479. 1H RMN ($CDCl_3$) δ (ppm): 7,17 (dd, 1H, $J = 9,9$ Hz, 15,0 Hz), 6,00-6,17 (m, 2H), 5,72 (d, 1H, $J = 15,0$ Hz), 5,49 (s, ancho 1H), 3,3- 3,37 (m, 2H), 2,12 (dd, 2H, $J = 6,8$ Hz, $J = 13,5$ Hz), 1,62 (septeto, 1H, 6,7 Hz), 1,35-1,47 (m, 4H), 1,18-1,33 (m, 8H), 0,91 (d, 6H, $J = 6,4$ Hz), 0,87 (t, 3H, $J = 7,0$ Hz). ^{13}C RMN ($CDCl_3$) δ (ppm): 14,06, 22,44 (2C), 22,62, 25,85, 28,78, 29,08, 29,12, 31,76, 32,94, 37,89, 38,57, 121,67, 128,19, 141,19, 143,16, 166,31.

Compuesto D: (2E,4E)-1-(pirrolidin-1-il)dodeca-2,4-dien-1-ona

[0094] Sólido amarillento. Pf 44,5-46,7°C. HRMS (ESI) calculado para $C_{16}H_{27}NO$ ($M + H^+$) m/z 250,2165 hallado 250,2165. 1H RMN ($CDCl_3$) δ (ppm): 7,18-7,24 (m, 1H), 6,9-6,18 (m, 1H), 6,4-6,7 (m, 1H), 5,98-6,04 (m, 1H), 3,43-3,53 (m, 4H), 2,10 (dd, 2H, 7,1 Hz, 14,2 Hz), 1,87-1,96 (m, 2H), 1,77-1,86 (m, 2H), 1,31-1,42 (m, 2H), 1,16-1,30 (m, 8H), 0,80-0,87 (m, 3H). ^{13}C RMN ($CDCl_3$) δ (ppm): 14,04, 22,59, 24,32, 26,09, 28,77, 29,07, 29,10, 31,74, 32,94, 45,80, 46,40, 119,83, 128,66, 142,13, 143,08, 165,16.

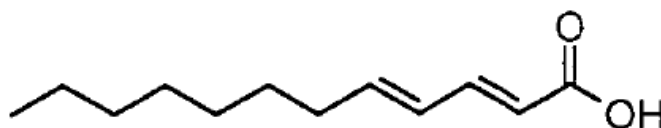
Compuesto E: (2E,4E)-1-(piperidin-1-il)dodeca-2,4-dien-1-ona

[0095] Sólido blanco. Pf 40,6-41,9°C. HRMS (ESI) calculado para $C_{17}H_{29}NO$ ($M + H^+$) m/z 264,2322 hallado 264,2322. 1H RMN ($CDCl_3$) δ (ppm): 7,21 (dd, 1H, 10,6 Hz, 14,8 Hz), 6,23 (d, 1H, $J = 14,7$ Hz), 6,11-6,20 (m, 1H), 5,98-6,07 (m, 1H), 3,53 (d, 4H, $J = 45,1$ Hz), 2,12 (dd, 2H, 7,1 Hz, 14,0 Hz), 1,59-1,67 (m, 2H), 1,34-1,45 (m, 2H), 1,19-1,33 (m, 8H), 0,83-0,90 (m, 3H). ^{13}C RMN ($CDCl_3$) δ (ppm): 14,04, 22,60, 24,64, 25,58, 26,63, 28,80, 29,08, 29,10, 31,74, 32,90, 43,10, 46,81, 118,51, 128,78, 142,50, 142,75, 165,65.

Intermedios comunes:

Ácido (2E,4E)-dodeca-2,4-dienoico (método del óxido de plata)

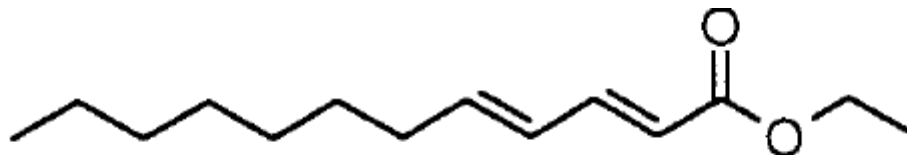
[0096]



[0097] Se suspendió óxido de plata (1,93 g) en agua (10 ml) y se añadió (2E,4E)-dodeca-2,4-dienal (1,00 g). Se añadió hidróxido de sodio acuoso (2,22 g, solución al 50%) gota a gota a una velocidad tal que la temperatura de la mezcla de reacción no subía por encima de 60°C. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche y, posteriormente, se trató con HCl 1N, hasta que la capa acuosa era ácida. Las capas se separaron y se extrajo la capa acuosa con EtOAc. La capa orgánica combinada se lavó con solución acuosa saturada de cloruro sódico, se secó sobre Na_2SO_4 , y el disolvente se evaporó.

(2E,4E)-dodeca-2,4-dienoato de etilo

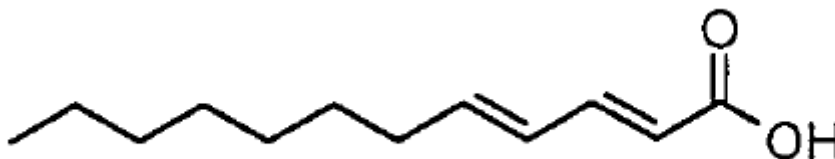
[0098]



[0099] Se suspendió hidruro sódico (3,11 g) en tetrahidrofurano seco (200 ml) y se enfrió hasta 0°C. Se añadió gota a gota fosfonato de O,O-dietil etoxicarbonilmetilo (15,43 ml). La mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 30 min y se enfrió hasta -78°C después de lo cual se añadió gota a gota (E)-dec-2-enal (11,90 ml). Se continuó la agitación a esta temperatura durante 2 h, después de lo cual la mezcla se calentó hasta temperatura ambiente. La mezcla de reacción se vertió en agua, y la fase acuosa se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica combinada se lavó con solución acuosa saturada de cloruro sódico, se secó sobre sulfato sódico, y el disolvente se evaporó. El producto impuro se purificó mediante cromatografía en columna.

Ácido (2E,4E)-dodeca-2,4-dienoico (saponificación)

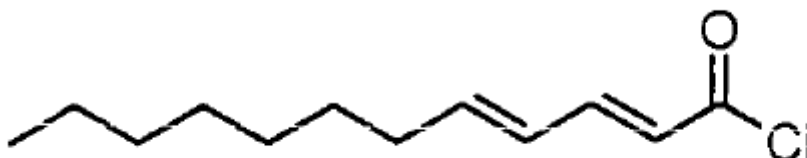
[0100]



[0101] Se disolvió (2*E*,4*E*)-dodeca-2,4-dienoato de etilo (11,84 g) en metanol (130 ml) y se añadió solución acuosa de hidróxido sódico 2 M (35 ml). La mezcla de reacción se calentó hasta 60°C hasta que se observó la conversión completa. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la mezcla se acidificó con HCl acuoso diluido. La mezcla de reacción se extrajo con acetato de etilo y la capa orgánica se lavó con solución acuosa saturada de cloruro sódico, se secó sobre sulfato de sodio, y los disolventes se evaporaron. El producto impuro se utilizó para la siguiente etapa sin purificación adicional.

Cloruro de (2*E*,4*E*)-dodeca-2,4-dienoilo

[0102]

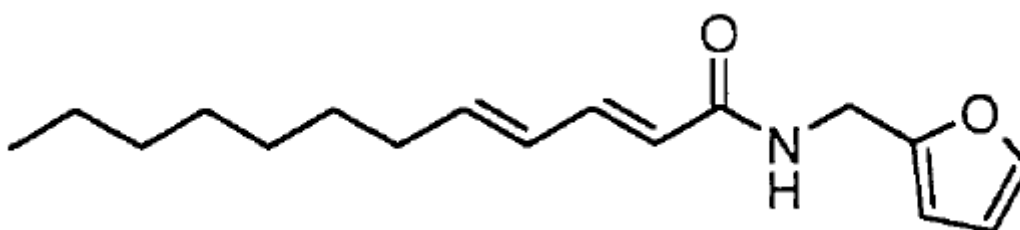


[0103] Se disolvió ácido (2*E*,4*E*)-dodeca-2,4-dienoico (2,5 g) en diclorometano (25 ml). Se añadió cloruro de oxalilo (2,23 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. Se extraen el disolvente y cloruro de oxalilo en exceso, y el residuo se destiló varias veces con DCM. El cloruro de ácido impuro se usó como tal en la siguiente etapa.

Síntesis del ejemplo 12:

Ejemplo 12:

[0104]

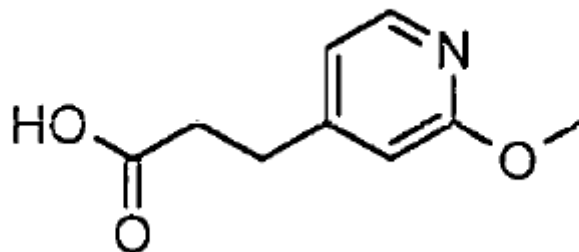


[0105] Se disolvió ácido (2*E*,4*E*)-dodeca-2,4-dienoico (100 mg) en *N,N*-dimetilformamida seca (2 ml). Se añadieron HATU (291 mg) y *N,N*-diisopropiletilamina (0,127 ml) y la mezcla de reacción se agitó durante 30 min, después de lo cual se añadió 2-aminometiltetrahydrofurano (54 mg). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se diluyó con agua, se extrajo con DCM, se filtró sobre un separador de fases y la capa orgánica se evaporó. El producto impuro se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida ("flash").

Síntesis del ejemplo 48:

Intermedio 48a):

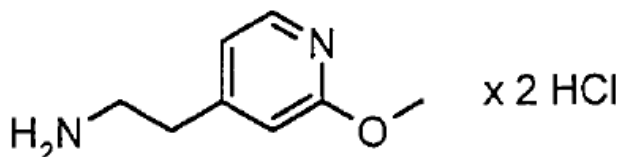
[0106]



[0107] Se condensó amoníaco en un matraz de fondo redondo. Mientras se enfriaba el amoníaco líquido con un baño de CO₂/acetona, se añadió rápidamente NaNH₂ (1,73 g). A continuación, se añadió lentamente 2-metoxi-4-metilpiridina (5,02 g) a través de una jeringa en el transcurso de 5 min. La mezcla de reacción se volvió amarilla inmediatamente, pero el material de partida parecía precipitar. Se retiró el baño de enfriamiento, y después de 20 min, la mezcla de reacción se había vuelto de color marrón oscuro. El baño de refrigeración se colocó de nuevo, y se añadió por partes 2-cloroacetato de sodio (4,74 g) en el transcurso de 5 min. Después de agitar durante 35 min, se extrajo el baño de enfriamiento; la mezcla de reacción se había solidificado parcialmente. 50 min más tarde, la mezcla de reacción se agitó de nuevo, y después de otros 40 min, se añadió con cuidado NH₄Cl (3,29 g). La mezcla de reacción turbia de color marrón claro inmediatamente se volvió clara y amarilla. La mezcla se dejó en agitación a TA durante la noche para permitir que el amoníaco se evapore. Al residuo pastoso, se añadió agua (50 ml) para dar una mezcla turbia de color amarillento. El pH de la mezcla se ajustó a ~4 usando HCl acuoso 3 M; al principio, se formó un precipitado blanco, seguido de grumos de color gris oscuro. La mezcla se extrajo con DCM (2 x 50 ml), el extracto combinado se lavó con solución acuosa saturada de cloruro sódico (50 ml), se secó sobre sulfato de sodio, y se concentró a vacío. El residuo se recogió con NaOH acuoso 1M (50 ml), y se lavó con éter dietílico (50 ml). La capa acuosa básica se ajustó a pH ~4-5 utilizando HCl 3M (aq), y se extrajo con DCM (2 x 25 ml). A continuación, el pH se ajustó a pH ~3-4, y la capa acuosa se extrajo de nuevo con DCM (2 x 25 ml). La capa orgánica combinada se secó sobre sulfato de sodio, y se concentró a vacío.

Intermedio 48b):

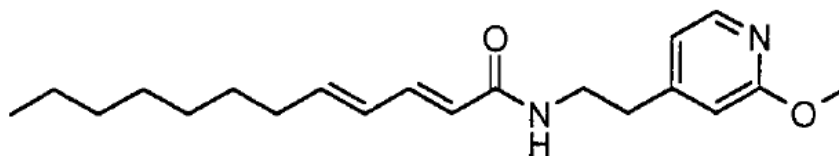
[0108]



[0109] Se colocó ácido sulfúrico (9,78 g) se colocó en un matraz de fondo redondo de 50 ml. Se añadió ácido 3-(2-metoxipiridin-4-il)propanoico (1,42 g) y la mezcla se calentó hasta 70°C. En cuanto la mezcla de reacción se había quedado clara (en menos de 1 h), se añadió azida de sodio (417 mg) en porciones muy pequeñas en el transcurso de 1,5 h. La agitación a 70°C continuó durante 3,5 h; a continuación, se continuó agitando a TA durante la noche. La mezcla de reacción se vertió en hielo (~80 g), y se añadió NaOH acuoso 5 M (40 ml) para ajustar el pH => 10. La mezcla se extrajo con cloroformo (50 ml y 2 x 25 ml). La capa orgánica combinada se secó sobre sulfato de sodio, se concentró al vacío y se destiló con DCM (50 ml). El producto impuro se disolvió en EtOH seco (5 ml); se añadió HCl 4M en dioxano (6 ml) para dar una mezcla turbia, de color rojo, y los disolventes se evaporaron. El residuo se disolvió en EtOH (~50 ml) mediante calentamiento, bajo atmósfera de nitrógeno. La solución se dejó enfriar durante 3 h. Se añadió éter diisopropílico (~2 ml). Después de 1,5 h, se añadió una segunda porción de éter diisopropílico (~2 ml), y la solución se dejó reposar a TA durante una noche. Se añadió éter diisopropílico adicional (~2 ml) y la solución se almacenó a 4°C durante 3 días. El precipitado se separó por filtración, se lavó con éter diisopropílico y se secó en una corriente de nitrógeno.

Ejemplo 48:

[0110]



[0111] Se disolvió cloruro de (2E,4E)-dodeca-2,4-dienoilo (100 mg) en DCM (2 ml). Se añadió el intermedio 48b) (106 mg) seguido de DMAP (56,9 mg). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche y se diluyó con agua. La separación de fases se logró utilizando un separador de fases. La capa orgánica se evaporó, y el producto impuro se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida ("flash").

ENSAYOS BIOLÓGICOS

A. Ensayos de desplazamiento de radioligando en los receptores CB₁ y CB₂

[0112] Para el receptor CB₁, se realizaron experimentos de unión en presencia de 0,39 nM de radioligando [³H]CP55.940 (168 Ci/mmol) (Perkin Elmer, Waltham, MA, EE.UU.) a 30°C en viales de vidrio siliconados junto con 7,16 µg de la membrana que sobreexpresa de forma recombinante CB₁ (No. RBHCBI1M, Perkin Elmer, Waltham, MA, EE.UU.), que se resuspendió en 0,2 ml (volumen final) de tampón de unión (TRIS- HCl 50 mM, EGTA 2,5 mM, MgCl₂ 5 mM, BSA libre de ácido graso 0,5 mg/ml, pH 7,4). Los compuestos de ensayo estaban presentes en concentraciones variables y la unión no específica del radioligando se determinó en presencia de CP55.940 10 µM (Tocris Cookson Ltd., Bristol, Reino Unido). Después de 1,5 h de incubación, la suspensión se filtró rápidamente a través de filtros de fibra de vidrio GF/C prehumedecidas en polietilénimina al 0,05% en un recolector de células de 96 pocillos y se lavó nueve veces con 0,5 ml de tampón de lavado enfriado con hielo (TRIS-HCl 50 mM, EGTA 2,5 mM, MgCl₂ 5 mM, BSA al 2%, pH 7,4). Se midió la radiactividad en los filtros se midió con un contador de centelleo Beckman LS 6500 en 3 ml de líquido de centelleo Ultima Gold (Perkin Elmer, Waltham, MA, EE.UU.). Los datos recogidos de tres experimentos independientes realizados por triplicado se normalizaron entre 100% y 0% de unión específica para [³H]CP55.940. Estos datos fueron gráficamente linealizados proyectando representaciones de Hill, lo que permitió el cálculo de los valores IC₅₀. Derivado de la constante de disociación (K_D) de [³H]CP55.940 y el desplazamiento dependiente de la concentración (valor de IC₅₀), se calcularon las constantes de inhibición (K_i) de los compuestos competidores utilizando la ecuación de Cheng-Prusoff [$K_i = IC_{50}/(1 + L/K_D)$].

[0113] Para los estudios de unión a receptores CB₂, se resuspendieron 3,8 µg de membrana que sobreexpresa de forma recombinante CB₂ (No. RBXC2M, Perkin Elmer, Waltham, MA, EE.UU.) en 0,6 ml de tampón de unión (véase más arriba) junto con 0,11 nM del radioligando [³H]CP55.940. El ensayo de unión a CB₂ se llevó a cabo de la misma manera que para CB₁.

B. Mediciones de la concentración micelar crítica (CMC)

[0114] Se llevó a cabo micelización con una versión modificada del método descrito por Eliyahu et al., Novel dextran-spermine conjugates as transfecting agents: comparing water-soluble and micellar polymers. Gene Ther. 2005 Mar; 12 (6): 494 a 503. Los compuestos (a partir de soluciones madre 2 mM) se mezclaron a concentraciones crecientes con fluoresceína 0,1 nM (ácido libre, 99%, Fluka, Suiza) a temperatura ambiente en agua destilada Nanopure. Los experimentos se llevaron a cabo en placas de microtitulación de 96 pocillos (excitación a 485 nm, emisión a 535 nm). Dado que la emisión de la fluoresceína es dependiente del pH, el pH de la mezcla se mantuvo constante a 6,9. El intervalo de CMC se determinó como el intervalo de concentraciones donde se detectó el primer aumento estadísticamente significativo en la fluorescencia. A una resolución adecuada del intervalo de concentraciones este aumento no fue gradual sino repentino.

C. Captación celular de [³H]-AEA

[0115] Se desarrollaron células U937 de linfoma humano en medio RPMI 1640 (Invitrogen, Basilea, Suiza) suplementado con suero bovino fetal al 10%, fungizone 1 g/ml (anfotericina B), penicilina 100 unidades/ml, estreptomycin 100 g/ml, y L-glutamina 2 mM (todos de Invitrogen) y seleccionaron para el ensayo de captación celular de AEA. Se aislaron monocitos primarios humanos y se cultivaron como se ha descrito anteriormente (Raduner S, Majewska A, Chen JZ, Xie XQ, Hamon J, Faller B, Altmann KH, Gertsch J. Alkylamides from Echinacea are a new class of cannabinomimetics. Cannabinoid type 2 receptor-dependent and -independent immunomodulatory effects. J Biol Chem. Mayo 2006 19; 281(20): 14192-206). Se recogieron 5 x 10⁵ células y se suspendieron en 500 µl de PBS estéril (Sigma, San Louis, MO, EE.UU.), utilizando tubos de vidrio silanizado. Las

células se preincubaron 10 min a 37°C en presencia de compuestos de prueba en un intervalo de concentraciones de 10^{-8} – 10^{-4} M o en presencia de la misma cantidad de disolvente (control). A continuación, se añadió una mezcla de [3 H]-AEA 50 nM (60 Ci/mmol) (American Radiolabeled Chemicals, Inc., San Louis, MO, EE.UU.) y 50 nM de AEA no radiactivo (Tocris Cookson Ltd., Bristol, Reino Unido) y las muestras se incubaron a 37°C durante diferentes momentos en el intervalo de 1-60 min. La reacción se detuvo por filtración rápida sobre filtros GF/C Whatman previamente humedecidos en BSA al 0,25%. Los filtros se lavaron tres veces con 1 ml de tampón de Krebs-HEPES enfriado con hielo (NaCl 118 mM, KCl 4,7 mM, CaCl_2 1,3 mM, MgSO_4 2,4 mM, NaH_2PO_4 1 mM, NaHCO_3 20 mM, glucosa 11,1 mM, Na_2EDTA 3,98 μM , ácido ascórbico 110 mM, HepesNa 10 mM y BSA libre de ácido graso al 1%, pH 7,4) y se añadieron 3 ml de líquido de centelleo Ultima Gold (Perkin Elmer, Waltham, MA, EE.UU.). La radiactividad unida a los filtros se midió usando un contador de centelleo Beckman LS6500. Los resultados se expresaron como % de captación de AEA en comparación con las células tratadas con disolvente y los valores EC_{50} e IC_{50} se calcularon a partir de las curvas sigmoideas, que se generaron usando GraphPad Prism (GraphPad Software, San Diego, CA, Estados Unidos).

D. Inhibición por la amida de ácido graso hidrolasa (FAAH)

[0116] La actividad FAAH se evaluó utilizando un homogeneizado de cerebro de cerdo según el método descrito por Omeir et al., Araquidonoil ethanolamide-[1.2-14C] as a substrate for anandamide amidase. Life Sci. 1995; 56 (23-24): 1999-2005 y adaptado por Fowler et al, Ibuprofen inhibits rat brain deamidation of anandamide at pharmacologically relevant concentrations. Mode of inhibition and structure-activity relationship. J Pharmacol Exp Ther. 1997 Nov; 283 (2): 729-34. Brevemente, se incubaron 10 μl de compuestos de prueba a la concentración adecuada o disolvente a 37°C durante 20 min con 165 μl de homogeneizado de cerebro de cerdo diluido en Tris-HCl 10 mM y EDTA 1 mM, pH 7,6 (que corresponde 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de proteína total), BSA libre de ácido graso al 1% p/v (Sigma, San Louis, MO, EE.UU.) y 25 μl de una mezcla 1:1 de AEA no radioactivo [3 H]-AEA (60 Ci mmol^{-1}) (concentración en el ensayo fue 2 μM). Sucesivamente, se añadieron 400 μl de una mezcla 1:1 (v/v) de metanol:cloroformo a cada muestra y, después de agitación vigorosa, se separaron las fases acuosa y orgánica por centrifugación a 10.000 rpm durante 10 min. Se midió la radiactividad asociada a [3 H]-etanolamina (producida por la descomposición catalizada por FAAH de [3 H]-AEA) tras la adición de 3 ml de líquido de centelleo Ultima Gold (Perkin Elmer, Waltham, MA, EE.UU.) a 200 μl de la fase acuosa (fase superior), usando un contador de centelleo Beckman LS6500. Los resultados se expresaron como % de la actividad de FAAH vs. homogeneizado de cerebro de cerdo tratado sólo con disolvente.

E. Inhibición por monoacilglicerol lipasa (MAGL)

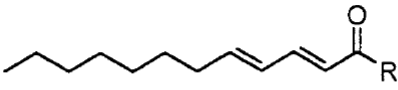
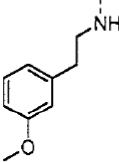
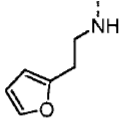
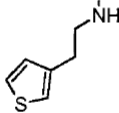
[0117] La actividad de MAGL se evaluó usando el Kit de ensayo de cribado de inhibidores de monoacilglicerol lipasa (Cayman Chemicals, MI, US) y el procedimiento experimental se llevó a cabo según el protocolo del kit. Brevemente, se añadieron 10 μl de compuestos de prueba a diferentes concentraciones (intervalo 0,1-20 μM) a 150 μl de tampón de ensayo, 10 μl de MAGL recombinante humana y 10 μl de araquidonoil-1-tio-glicerol (150 μM en el ensayo). La placa se incubó a temperatura ambiente durante 5 min, después se añadieron 10 μl de DTNB (ácido 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzoico), reactivo de Ellman) a cada pocillo. La placa se agitó durante 10 segundos y la absorbancia se midió a 415 nm utilizando un espectrofluorímetro Genius Pro (Tecan, Grödig, Austria). La actividad enzimática inicial del 100% se calculó usando disolvente en lugar de compuestos de prueba, mientras que el nivel base se midió sin la enzima recombinante humana. El blanco se sustrajo de cada valor y los resultados se expresaron como % de la actividad enzimática inicial.

Análisis estadístico

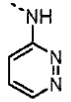
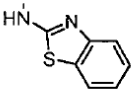
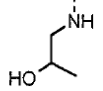
[0118] Cada experimento se llevó a cabo por triplicado y los resultados se expresan como valores promedio de al menos tres experimentos independientes $\pm$ error estándar de la media (SEM). La significación estadística de los datos se evaluó mediante la prueba t de Student para datos no apareados. $P < 0,05$ se tomó como resultados significativos.

[0119] Los resultados obtenidos aplicando ensayos biológicos A a D se muestran en la Tabla 2 a continuación.

Tabla 2: Afinidad de unión (K_i) para receptores cannabinoides, concentraciones micelares críticas (CMC), EC_{50} de transporte de araquidonoiletanolamida (AEAT) e inhibición de amida de ácido graso hidrolasa (FAAH) para los ejemplos seleccionados de la invención (determinación tal como se describe en los ensayos biológicos A a D)

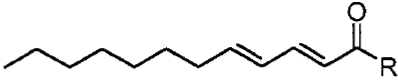
						
Ejemplo		Afinidad de receptor		CMC	AEAT	Inhibición de FAAH a 1 μ M
	R	K_i CB ₂ (nM)	K_i CB ₁ (nM)	(μ M)	EC_{50} (μ M)	% de control
1		>20'000	>20'000	>10	1.22 ± 0.24	<10
9		9440 ± 889	>20'000	>5	0.87 ± 0.12	14.63 ± 2.91
16		n.d. ²⁾	n.d.	n.d.	0.89 ± 0.40	n.d.
19		n.d.	n.d.	n.d.	0.52 ± 0.47	n.d.
20		n.d.	n.d.	n.d.	0.78 ± 0.25	n.d.

(continuación)

Ejemplo		Afinidad de receptor		CMC	AEAT	Inhibición de FAAH a 1 μ M
	R	K_i CB ₂ (nM)	K_i CB ₁ (nM)	(μ M)	EC_{50} (μ M)	% of control
28		n.d.	n.d.	n.d.	10.8 ± 1.9	n.d.
36		n.d.	n.d.	n.d.	0.56 ± 0.31	n.d.
42		n.d.	n.d.	n.d.	3.9 ± 0.25	n.d.
2) n.d. = no determinado						

[0120] Para la comparación, los compuestos de la técnica anterior también se han perfilado frente a los miembros del sistema endocannabinoide. Los resultados se representan en la Tabla 3.

Tabla 3: Afinidad de unión (K_i) para receptores cannabinoides, concentraciones micelares críticas (CMC), EC_{50} de transporte de araquidonoiletanolamida (AEAT) e inhibición de amida de ácido graso hidrolasa (FAAH) para los compuestos conocidos de la bibliografía (determinación tal como se describe en los ensayos biológicos A a D)

						
		Afinidad de receptor		CMC	AEAT	Inhibición de FAAH a 1 μ M
	R	K_i CB ₂ (nM)	K_i CB ₁ (nM)	(μ M)	EC_{50} (μ M)	% de control
A		60 $\pm$ 7	1940 $\pm$ 213	<0.5	>10	<10
B		1104 $\pm$ 84	1512 $\pm$ 214	>5	>10	<10
C		1455 $\pm$ 14	>20'000	>5	>10	<10
D		<10'000	>20'000	>5	>10	<10
E		2639 $\pm$ 224	2192 $\pm$ 180	>5	>10	<10

F. Ensayo funcional celular del transporte de anandamida (humana)

[0121] El transporte de anandamida se determina usando células U-937 humanas como fuente de receptor. Se usa [³H]-anandamida (0,1 Ci/mmol), concentración final 0,1 μ M, como sustrato. Se utiliza AM-404 como compuesto de referencia. Las reacciones se llevan a cabo en tampón KRH (pH 7,4) a 37°C durante 20 min. La reacción se termina por filtración rápida al vacío sobre filtros de fibra de vidrio. Se determina la radioactividad atrapada en los filtros y se compara con los valores control con el fin de determinar cualquier interacción del compuesto de prueba con la captación de anandamida (Hiiliard C.J. The movement of N-arachidonylethanolamide (anadamide) across cellular membranes. Chem. Physics Lipids 2008; 108: 123-134, con modificaciones).

G. Inhibición de amida de ácido graso hidrolasa recombinante humana (método fluorimétrico)

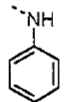
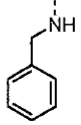
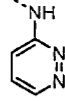
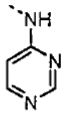
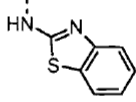
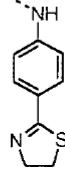
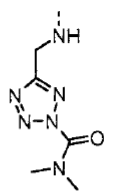
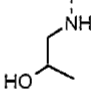
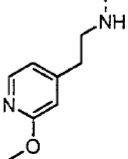
[0122] La actividad de FAAH se mide utilizando el método modificado descrito por Omeir et al., Arachidonoyl ethanolamide-[1,1-¹⁴C] as a substrate for anandamide amidase. Life Sci. 1995; 56 (23-24): 1999-2005. La enzima recombinante humana se preincuba con compuestos de compuesto de referencia (methylarachidonoyl fluorofosfonato de metilaraquidonilo, MAFP) y de prueba durante 30 min a temperatura ambiente en Tris 50 mM que contenía EDTA 1 mM y BSA libre de ácido graso al 0,1% (pH 8,0). A continuación, se añade el sustrato (7-amino-4-metil-cumarina araquidonamida, AMC-anandamida) y se incuba durante 30 min a temperatura ambiente. La reacción se detiene mediante la adición de 2,5 μ l de URB597 10 μ M. La 7-amino-4-metil-cumarina (AMC) liberada es detectada por fluorometría con el fin de establecer cualquier interacción de los compuestos de prueba con la enzima FAAH.

[0123] Los resultados obtenidos aplicando los ensayos biológicos F y G se muestran en la Tabla 4.

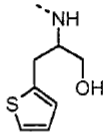
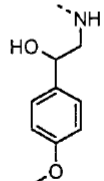
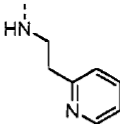
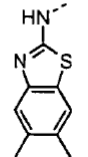
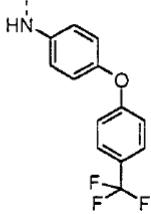
Tabla 4: Inhibición del transporte de anandamida (AEAT) y la amida de ácido graso hidrolasa (FAAH) para ejemplos seleccionados de la invención (determinación tal como se describe en los ensayos biológicos F y G)

Ejemplo		Inhibición de AEAT a 1 μ M	Inhibición de FAAH a 1 μ M
	R	% de control	% de control
1		28	9
7		28	6
9		34	16
16		57	42
19		34	53

(continuación)

Ejemplo		Inhibición de AEAt a 1 μ M	Inhibición de FAAH a 1 μ M
	R	% de control	% de control
20		47	-16
24		30	2
25		47	2
27		31	-10
28		35	-2
35		42	61
37		38	9
39		120	101
41		27	45
47		50	6

(continuación)

Ejemplo		Inhibición de AEAT a 1 μ M	Inhibición de FAAH a 1 μ M
	R	% de control	% de control
49		25	25
56		36	-1
68		41	-2
72		37	30
84		30	30

H. Modelo in vivo para prurito asociado con el modelo de oxazolona de una reacción de hipersensibilidad de tipo retardada

[0124] Se mide la actividad de rascado en ratones después de la aplicación tópica del compuesto de prueba. Se mide el grosor de la oreja y se determinan parámetros histológicos (véase, por ejemplo Elliott G.R. An automated method for registering and quantifying scratching activity in mice: use for drug evaluation. J. Pharmacol. Toxicol. Methods. 2000; 44: 453-459 y Gijbels M.J. Therapeutic interventions in mice with chronic proliferative dermatitis (cpdm/cpdm). Exp. Dermatol. 2000; 9: 351-358).

[0125] Tal como es evidente a partir de los resultados presentados anteriormente, los compuestos representativos de la presente invención muestran claramente un perfil diferente de los compuestos de la técnica anterior. Los ejemplos representativos de la presente invención han demostrado inhibir la re-captación de AEA. Además, varios ejemplos también inhiben la FAAH. En cambio, ninguno de los compuestos de la técnica anterior inhibía la re-captación de AEA o FAAH cuando se ensayan en los ensayos descritos en el presente documento. El compuesto A exhibe una alta afinidad hacia CB₂ y una moderada afinidad hacia CB₁, mientras que los compuestos B y E son ligandos de afinidad moderada para ambos, CB₁ y CB₂. El compuesto C muestra una afinidad moderada hacia CB₂ mientras que no tiene afinidad hacia CB₁ y, finalmente, el compuesto D no interacciona en absoluto con el sistema endocannabinoide. Por lo tanto, la presente invención describe dodeca-2*E*,4*E*-dieno amidas con un perfil inesperado con respecto a la interacción con el sistema endocannabinoide.

Ejemplos de una composición farmacéutica

Ejemplo de composición 1:

[0126]

Crema	
Compuesto 1	1,00
Alcohol cetosteárilico	7,00
Macrogol-6-cetosteáril éter	1,50
Macrogol-25-cetosteáril éter	1,50
Parafina líquida	12,00
Propilenglicol	8,00
Metilparabeno	0,15
Etilparabeno	0,08
Butilhidroxitolueno	0,04
Edetato disódico	0,05
Agua	68,68

Ejemplo de composición 2**[0127]**

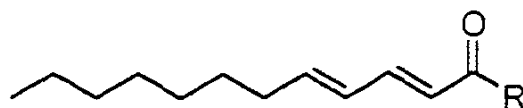
Gel	
Compuesto 9	0,50
Etanol	15,00
Aceite de ricino hidrogenado polioxil 40	1,00
Butilhidroxitolueno	0,04
Edetato disódico	0,05
Carbómero	0,50
Trietanolamina	0,70
Agua	82,21

Aplicación industrial – Utilidad

[0128] Los resultados anteriores muestran claramente los efectos técnicos mejorados proporcionados por los compuestos de dodeca-2*E*,4*E*-dieno amida de la presente invención. Sorprendentemente, se ha descubierto por los presentes inventores que estos compuestos son adecuados como principios activos en composiciones farmacéuticas y cosméticas, preferiblemente agentes dermatológicos. Además, los compuestos han demostrado ser eficaces en el tratamiento y/o prevención de varias enfermedades y afecciones incluyendo, pero sin limitación, inflamación, irritación, picor, prurito, dolor, edema, y/o afecciones proalérgicas o alérgicas, en particular cuando se aplican tópicamente a la piel o mucosa en forma de composiciones farmacéuticas o cosméticas que contienen un portador adecuado, preferiblemente un portador apolar. En particular, la inflamación inducida por señales de estrés celular puede atenuarse de manera efectiva por estos compuestos. Además, los compuestos de la invención son eficaces en el tratamiento/prevención de afecciones del crecimiento del pelo (por ejemplo, alopecia, efluvio), trastornos de las glándulas sebáceas (por ejemplo, acné, seborrea), tumores benignos y malignos de la piel, enfermedades hiperproliferativas de la piel (por ejemplo, psoriasis), crecimiento excesivo del cabello (por ejemplo hirsutismo), diferentes formas de dermatitis, afecciones de la piel seca y/o esclerosis sistémica (por ejemplo, esclerodermia). Los compuestos de fórmula (1) son moduladores del sistema endocannabinoide y como tales son útiles en el tratamiento, control o prevención de las enfermedades, trastornos o afecciones antes mencionados que son sensibles a uno o más constituyentes del sistema endocannabinoide incluyendo, pero sin limitación, CB₁ y CB₂, TRPV1, GPR55, FAAH, monoacilglicerol lipasa (MAGL) o AEAT. Las composiciones y preparaciones farmacéuticas (dermatológicas) que contienen los compuestos de la presente invención son altamente activos, incluso si la cantidad de compuesto activo se reduce en comparación con los compuestos de la técnica anterior, y muestran menos efectos secundarios indeseables.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de la siguiente fórmula (1)



fórmula (1)

en el que R es un residuo $-NR^1R^2$

en el que R^1 es hidrógeno y R^2 se selecciona del grupo de hidroxialquilo, arilalquilo, arilo, heteroarilalquilo, y heteroarilo, con la condición de que R^2 no comprenda un grupo $-CH-C(=O)-$ unido directamente a través del grupo $-CH$ al átomo de N de $-NR^1R^2$ ni un anillo heterocíclico insaturado de 12 miembros, para utilizar como medicamento, preferiblemente como agente dermatológico.

2. Compuesto para utilizar, según la reivindicación 1, en el que

R^2 se selecciona del grupo de arilo C_6-C_{20} sustituido o no sustituido, heteroarilo C_5-C_{20} sustituido o no sustituido, arilalquilo o heteroarilalquilo C_6-C_{20} sustituido o no sustituido, o hidroxialquilo C_1-C_{20} .

3. Compuesto para utilizar, según la reivindicación 1 y/o reivindicación 2, en el que los sustituyentes se seleccionan entre halógenos, preferiblemente F, Cl, y Br y I, alquilo C_1-C_{10} , alcoxi C_1-C_{10} , hidroxilo, $-SH$, $-SO_3H$, grupos amino, $-COOH$, y $-COOR'$, en el que R' es un alquilo C_1-C_{10} o un metal alcalino, y preferiblemente entre F, Cl, alquilo C_1-C_6 , alcoxi C_1-C_6 , hidroxilo, $-SH$, $-SO_3H$, grupos amino, $-COOH$, y $-COOR'$, en el que R' es un alquilo C_1-C_6 o un metal alcalino.

4. Compuesto para utilizar, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que

R^2 se selecciona entre furanil-alquilo C_1-C_{10} , pirrolil-alquilo C_1-C_{10} , (alquil C_1-C_{10} -pirrolil)-alquilo C_1-C_{10} , bencilo, alcoxi C_1-C_{10} -bencilo, alcoxi C_1-C_{10} -fenalquilo, y bifenililo.

5. Compuesto para utilizar, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que

R^2 se selecciona entre hidroxil-alquilo C_1-C_6 , furanilmetilo, (metilpirrolil)metilo, metoxibencilo, metoxifenetilo, y bifenililo.

6. Compuesto para utilizar, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que

R^2 se selecciona entre 2-hidroxietilo, furan-3-il-metilo, (1-metil-1H-pirrol-3-il)metilo, 2-metoxibencilo, 3-metoxibencilo, 4-metoxibencilo, 3-metoxifenetilo, y bifenil-4-ilo.

7. Compuesto para utilizar, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para utilizar en el tratamiento y/o la prevención de la inflamación, irritación, picor, prurito, dolor, edema, y/o afecciones proalérgicas o alérgicas, preferiblemente, en la piel y/o mucosa de un mamífero, y/o alopecia, efluvio, trastornos de las glándulas sebáceas, tumores benignos y malignos de la piel, enfermedades hiperproliferativas de la piel, crecimiento excesivo de pelo, dermatitis, afecciones de la piel seca y/o esclerosis sistémica.

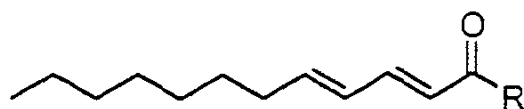
8. Compuesto para utilizar, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, que se aplica de forma tópica sobre la piel o la mucosa de un mamífero.

9. Utilización no terapéutica del compuesto, según cualquiera de las reivindicaciones 1-6 y 8, como cosmético, preferiblemente para el tratamiento cosmético de la piel y/o la mucosa de un mamífero.

10. Utilización no terapéutica del compuesto, según la reivindicación 9, para reducir la irritación, picor, prurito, y/o afecciones proalérgicas o alérgicas, y alopecia, efluvio, trastornos de las glándulas sebáceas, enfermedades hiperproliferativas de la piel, crecimiento excesivo de pelo, dermatitis, afecciones de la piel seca y/o esclerosis sistémica.

11. Composición que comprende el compuesto, según cualquiera de las reivindicaciones 1-8, y un portador farmacéutica y/o cosméticamente aceptable, preferiblemente un portador apolar, en la que la composición es preferiblemente un linimento, crema para la piel, gel o loción.

12. Dodeca-2E,4E-dieno amida de la siguiente fórmula (1)



fórmula (1)

en el que R es un residuo $-NR^1R^2$

en el que R^1 es hidrógeno y R^2 se selecciona del grupo de hidroxialquilo, arilalquilo, arilo, heteroarilalquilo, y heteroarilo, con la condición de que se excluye la dodeca-2E,4E-dieno p-hidroxifenetil amida, y/o R^2 no comprende un grupo $-CH-C(=O)-$ unido directamente a través del grupo $-CH$ al átomo de N de $-NR^1R^2$ ni un anillo heterocíclico insaturado de 12 miembros.

13. Dodeca-2E,4E-dieno amida, según la reivindicación 12, en la que R^2 se selecciona entre 2-hidroxietilo, furan-3-il-metilo, (1-metil-1H-pirrol-3-il)metilo, 2-metoxibencilo, 3-metoxibencilo, 4-metoxibencilo, 3-metoxifenetilo, y bifenil-4-ilo.

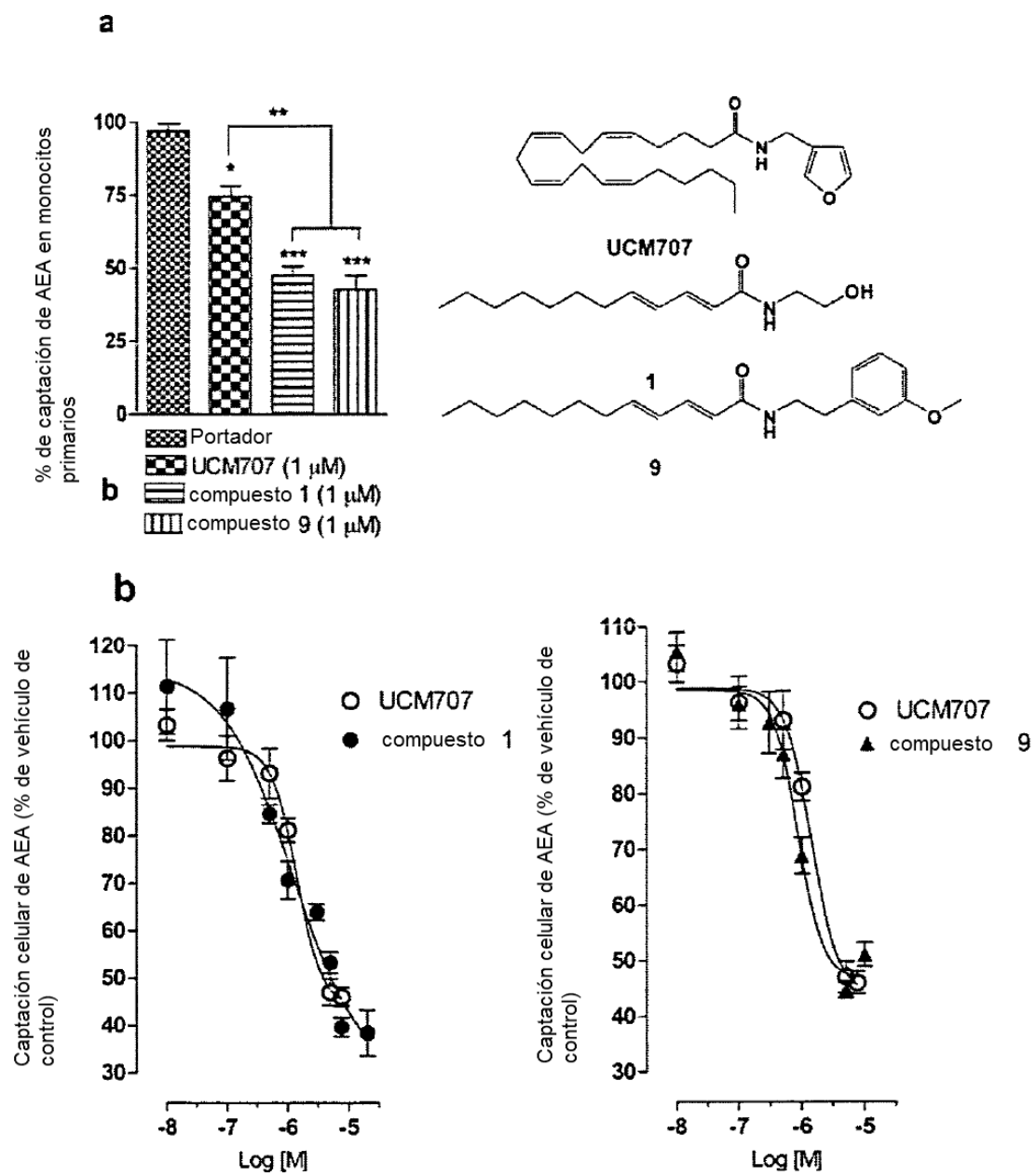
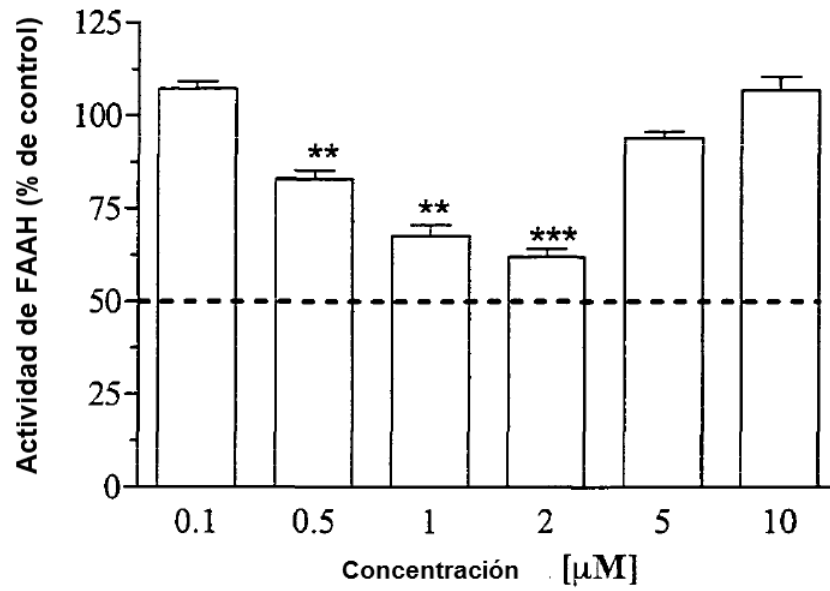


Figura 1

N-alquilamida 4



N-alquilamida 5

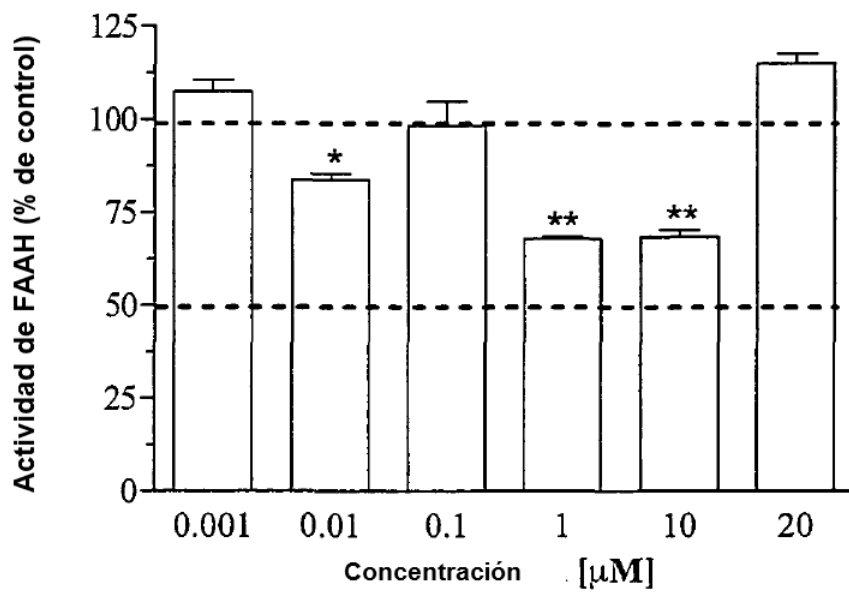


Figura 2

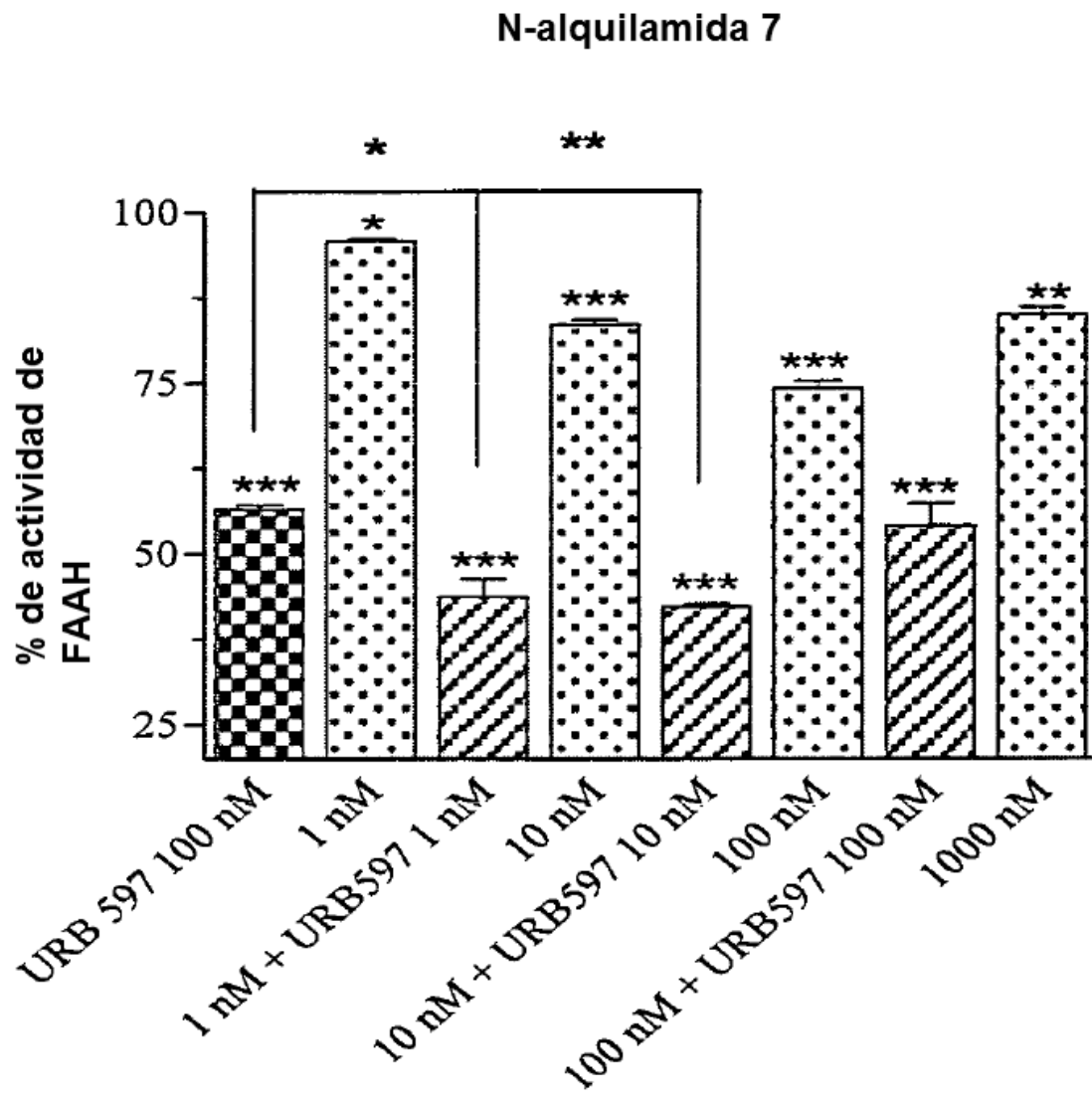


Figura 3

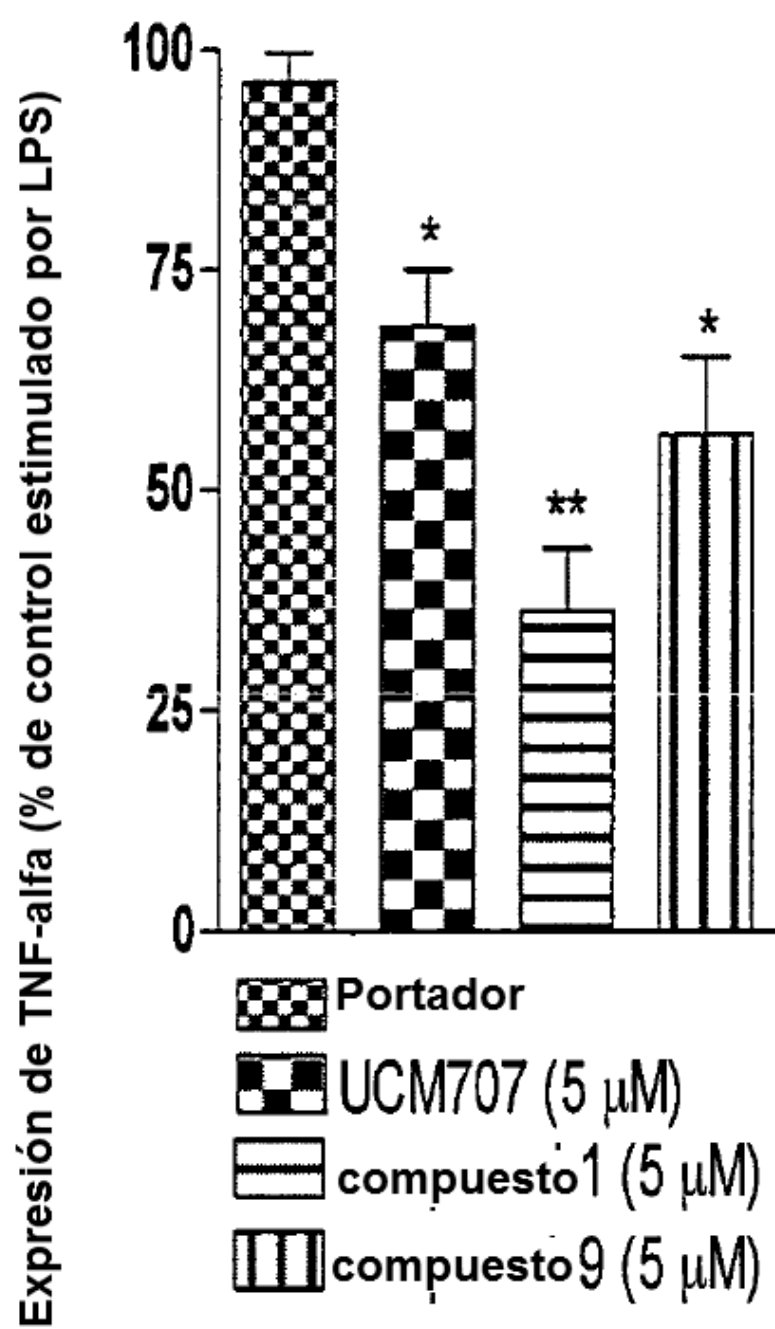


Figura 4

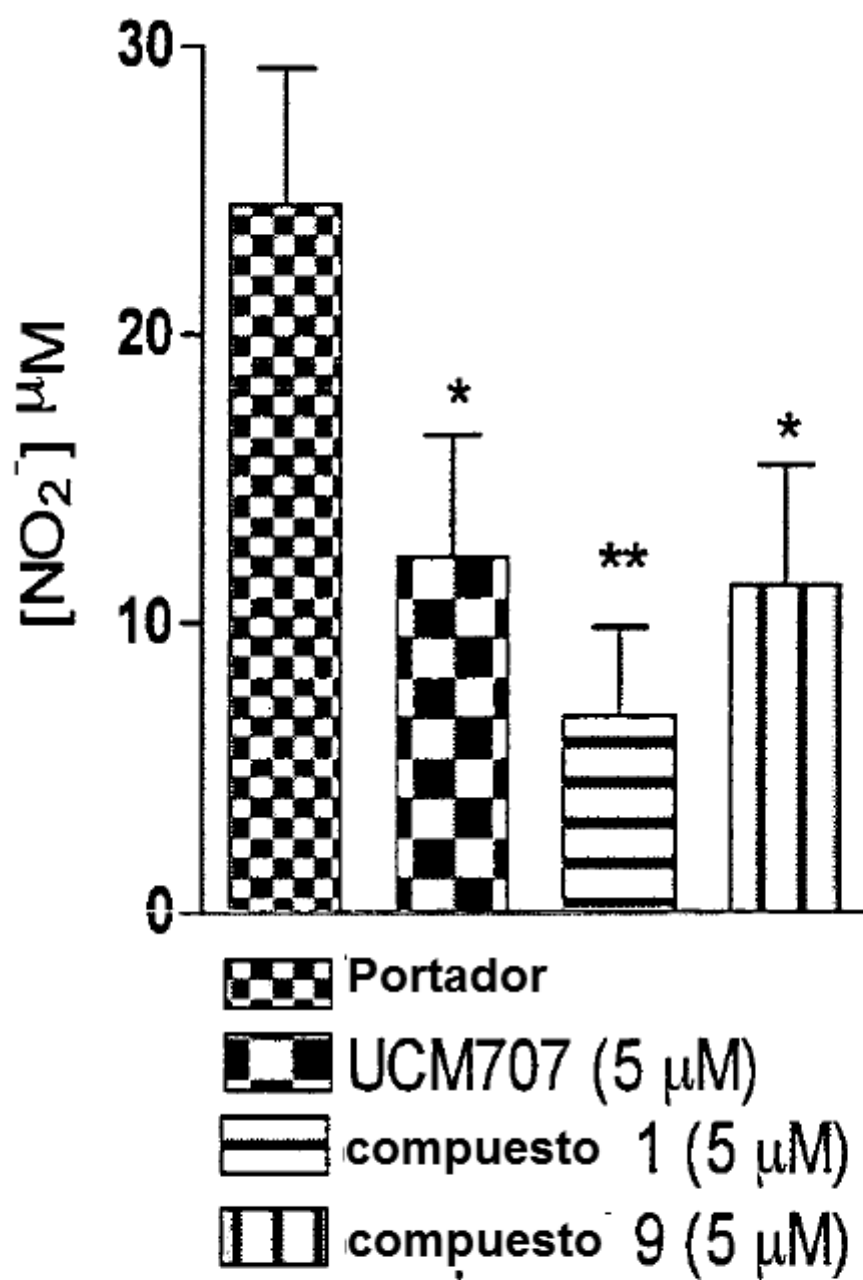


Figura 5

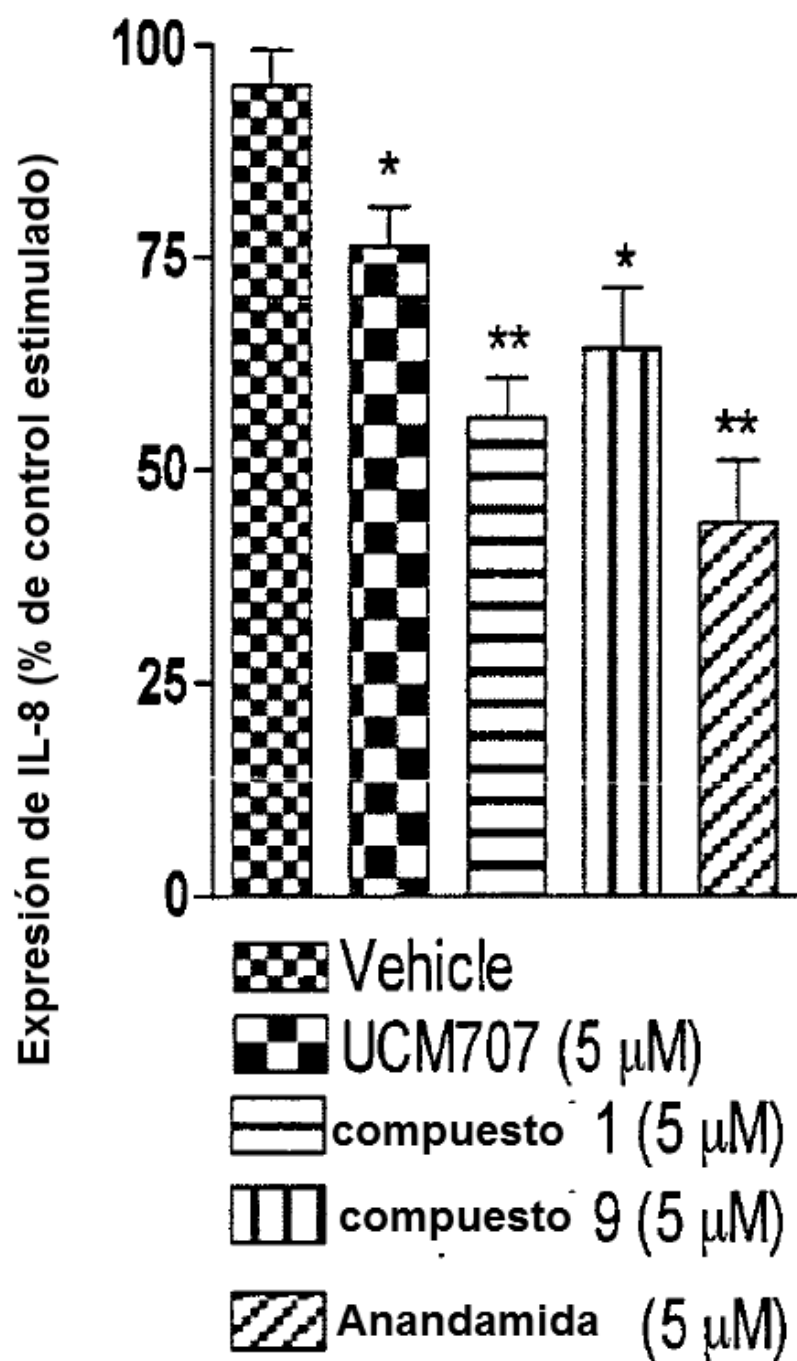


Figura 6