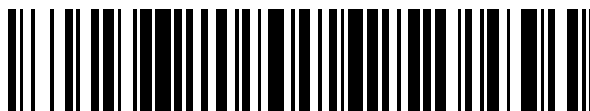


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 585 264**

51 Int. Cl.:

C07D 263/58 (2006.01)

A61K 31/423 (2006.01)

A61P 17/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.05.2013 E 13723678 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.05.2016 EP 2852581**

54 Título: **1,3-Benzoxazol-2(3H)-onas novedosas y su uso como medicamentos y cosméticos**

30 Prioridad:

21.05.2012 EP 12168639

21.05.2012 US 201261649587 P

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

04.10.2016

73 Titular/es:

DR. AUGUST WOLFF GMBH & CO. KG

ARZNEIMITTEL (100.0%)

Sudbrackstrasse 56

33611 Bielefeld, DE

72 Inventor/es:

SOEBERDT, MICHAEL;

KNIE, ULRICH y

ABELS, CHRISTOPH

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 585 264 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

1,3-Benzoxazol-2(3H)-onas novedosas y su uso como medicamentos y cosméticos

5 La presente invención se refiere a una clase novedosa de 1,3-benzoxazol-2(3H)-onas y a su uso como un medicamento, preferentemente como un agente dermatológico, y como cosméticos. Estos compuestos novedosos se dirigen al sistema endocannabinoide y son especialmente útiles en el tratamiento y/o la prevención de inflamación, irritación, comezón, prurito, dolor, edema, y/o afecciones pro-alérgicas o alérgicas en un paciente. Generalmente se aplican tópicamente a la piel o la 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

15 El sistema endocannabinoide (ECS, por sus siglas en inglés) comprende receptores cannabinoides (CB₁ y CB₂, TRPV1 y potencialmente también GPR55), ligandos derivados del ácido araquidónico, y sus enzimas reguladoras. La importancia del sistema endocannabinoide en tejidos periféricos se ha demostrado en numerosos estudios recientes (Di Marzo V. Targeting the endocannabinoid system: to enhance or reduce? Nat Rev Drug Discov. 2008 May; 7(5):438-55). Aunque la activación del sistema periférico endocannabinoide a menudo se asocia con efectos antiinflamatorios e inmunosupresores, el papel del ECS en la piel es más complejo. Se ha demostrado que la activación del receptor de CB₂ activa las endorfinas que actúan localmente como analgésicos (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 U S A. 2005 Feb 22;102(8):3093-8). Estudiando ratones knockout CB, se ha observado que el ECS y el receptor CB₁ pueden inhibir la patogénesis de la dermatitis alérgica por contacto (Karsak M, Gaffal E, Date 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. 2007 Jun 8;316(5830):1494-7). De manera interesante, en este estudio se demostró que los inhibidores de la degradación de anandamida a través de la amida de ácido graso hidrolasa (FAAH) podría ser una estrategia terapéutica prometedora para tratar formas diferentes de dermatitis. En términos generales, el sistema endocannabinoide en la piel está presente, ambos receptores CB₁ y CB₂ se han detectados en queratinocitos y fibroblastos y los endocannabinoides se liberan en la piel en donde parecen regular múltiples señales involucradas en la inflamación. La anandamida ejerce efectos antiinflamatorios y anti-alérgicos potentes (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 demostrado que los inhibidores de la recaptación de la anandamida ejercen varios efectos beneficiosos incluyendo dolor neuropático y periférico (Yates M L, Baker EL. Inactivation and Biotransformation of the endogenous cannabinoids anandamide and 2-arachidonoyl glycerol. Mol. Pharmacol. 2009, 76: 11-17). Sin embargo, los mecanismos fundamentales todavía no se comprenden completamente y hay todavía muchas preguntas pendientes de ser contestadas.

40 El documento WO2010/136221 desvela dodeca-2E,4E-dien amidas y su uso como medicamentos y cosméticos.

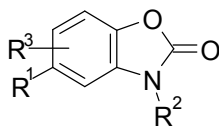
45 Así, la clase reivindicada de 1,3-benzoxazol-2(3H)-onas de la presente invención no se describe en la técnica anterior, dejada sola para ser adecuada y activa en el tratamiento y la prevención de trastornos de la piel.

Además, incluso si se conocen muchos agentes y preparaciones dermatológicas en la técnica anterior para tratar cualquier clase de molestia de la piel, hay todavía una fuerte demanda para encontrar nuevos agentes activos que sean más efectivos, requiriendo incluso que se apliquen menores cantidades, y que tengan menos efectos secundarios.

50 Así, el objetivo fundamental 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 inflamación, irritación, comezón, prurito, dolor, edema, y/o afecciones pro-alérgicas o alérgicas etc., especialmente de la piel y mucosa de un mamífero, cuyos compuestos son más efectivos, requieren cantidades reducidas de ingrediente activo en comparación con los compuestos de la técnica anterior, y tienen menos efectos secundarios indeseables.

Sumario de la invención

60 Los objetos antes mencionados se han resuelto sorprendentemente de acuerdo con la presente invención. Así, la presente invención se refiere a 1,3-benzoxazol-2(3H)-onas específicas según la fórmula (1) siguiente.



fórmula (1)

Los compuestos según la fórmula (1) son soluciones alternativas al mismo problema y no han sido obvios para el experto en la materia.

En la fórmula (1) el residuo R^1 se selecciona del grupo que consiste de $-(CH_2)_nN(R^4)C(O)R^5$ y $-C(O)NR^4R^6$. Preferentemente R^1 es $-(CH_2)_nN(R^4)C(O)R^5$.

En la fórmula (1) el residuo R^2 se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno; -alquilo C_{1-6} , opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de halógeno, OH, Oalquilo C_{1-6} , Ocicloalquilo C_{3-7} ; -cicloalquilo C_{3-7} , opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de halógeno, OH, Oalquilo C_{1-6} , Ocicloalquilo C_{3-7} ; -(cicloalquilo C_{3-7})-alquilo C_{1-6} , opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de halógeno, OH, Oalquilo C_{1-6} , Ocicloalquilo C_{3-7} . Aunque los sustituyentes opcionales antes mencionados son preferibles según la presente invención, otros sustituyentes como se menciona después en la descripción también son adecuados según la presente invención.

En la fórmula (1) el residuo R^3 se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, hidroxilo, metoxi o $-CN$.

En la fórmula (1) el residuo R^4 se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno o alquilo C_{1-6} .

En la fórmula (1) el residuo R^5 se selecciona del grupo que consiste en alquilo C_{8-15} , alquenilo C_{8-15} , alquinilo C_{8-15} , (aril C_{6-10})-alquilo C_{6-10} , (aril C_{6-10})-alquenilo C_{6-10} , y (aril C_{6-10})-alquinilo C_{6-10} . En todos estos grupos que contienen arilo, el arilo puede estar sustituido con uno o más de los sustituyentes como se menciona después en la presente descripción.

En la fórmula (1) el residuo R^6 se selecciona del grupo que consiste en alquilo C_{9-16} , alquenilo C_{9-16} , alquinilo C_{9-16} , (aril C_{6-10})-alquilo C_{7-11} , (aril C_{6-10})-alquenilo C_{7-11} , y (aril C_{6-10})-alquinilo C_{7-11} . En todos estos grupos que contienen arilo, el arilo puede estar sustituido con uno o más de los sustituyentes como se menciona después en la presente descripción.

En la fórmula (1) n es 0, 1, o 2, preferentemente 0 o 1, más preferentemente 0.

Preferentemente, los compuestos según la presente invención son aquellos en donde en la fórmula (1) R^1 es $-(CH_2)_nN(R^4)C(O)R^5$, n siendo 0 o 1, preferentemente 0; R^2 es hidrógeno o alquilo C_{1-6} , opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de halógeno, OH, Oalquilo C_{1-6} , Ocicloalquilo C_{3-7} ; R^3 es hidrógeno o halógeno, preferentemente hidrógeno; R^4 es hidrógeno; y R^5 se selecciona de alquilo C_{8-15} , alquenilo C_{8-15} , (aril C_{6-10})-alquilo C_{6-10} , y (aril C_{6-10})-alquenilo C_{6-10} . En estas definiciones el arilo está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes como se menciona posteriormente.

Preferentemente, los compuestos según la presente invención son aquellos en donde en la fórmula (1) R^1 es $-C(O)NR^4R^6$; R^2 es hidrógeno o alquilo C_{1-6} , opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de halógeno, OH, Oalquilo C_{1-6} , Ocicloalquilo C_{3-7} ; R^3 es hidrógeno o halógeno, preferentemente hidrógeno; R^4 es hidrógeno; y R^6 se selecciona de alquilo C_{9-16} , alquenilo C_{9-16} , (aril C_{6-10})-alquilo C_{7-11} , y (aril C_{6-10})-alquenilo C_{7-11} , en donde el arilo está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes como se menciona posteriormente.

Más preferentemente, los compuestos según la presente invención son aquellos en donde en la fórmula (1) R^1 es $-(CH_2)_nN(R^4)C(O)R^5$, n siendo 0; R^2 es hidrógeno o metilo; R^3 es hidrógeno; R^4 es hidrógeno; y R^5 se selecciona de alquilo C_{8-15} , alquenilo C_{8-15} (en donde el alquenilo contiene de 1, 2, o 3 dobles enlaces), (aril C_{6-10})-alquilo C_{6-10} , y (aril C_{6-10})-alquenilo C_{6-10} (en donde el alquenilo contiene 1 o 2 dobles enlaces).

Incluso preferentemente, los compuestos según la presente invención son aquellos en donde en la fórmula (1) R^1 es $-C(O)NR^4R^6$; R^2 es hidrógeno o metilo; R^3 es hidrógeno; R^4 es hidrógeno; y R^6 se selecciona de alquilo C_{9-16} , alquenilo C_{9-16} (en donde el alquenilo contiene 1, 2, o 3 dobles enlaces), (aril C_{6-10})-alquilo C_{7-11} , y (aril C_{6-10})-alquenilo C_{7-11} (en donde el alquenilo contiene 1 o 2 dobles enlaces).

Más preferentemente, los compuestos según la presente invención son aquellos en donde en la fórmula (1) R^1 es $-(CH_2)_nN(R^4)C(O)R^5$, n siendo 0; R^2 es hidrógeno o metilo; R^3 es hidrógeno; R^4 es hidrógeno; y R^5 se selecciona de alquilo C_{8-12} , alquenilo C_{8-12} (en donde el alquenilo contiene 2 dobles enlaces), (aril C_{6-10})-alquilo C_{6-8} , y (aril C_{6-10})-

alquenilo C₆₋₈ (en donde el alquenilo contiene 2 dobles enlaces).

En una realización particularmente preferida de la presente invención el compuesto según la fórmula (1) contiene R¹ siendo -(CH₂)_nN(R⁴)C(O)R⁵, n siendo 0, R² siendo hidrógeno o metilo, y R³ siendo hidrógeno. En la definición de R¹ en el presente documento, R⁴ es hidrógeno y R⁵ se selecciona de alquilo C₈₋₁₂, alquenilo C₈₋₁₂ que contiene un resto (2E,4E)-dieno como la insaturación, (aril C₆₋₁₀)-alquilo C₆₋₈, y (aril C₆₋₁₀)-alquenilo C₆₋₈ que contiene un resto (2E,4E)-dieno como la insaturación en el grupo alquenilo del mismo.

También preferentemente, los compuestos según la presente invención son aquellos en donde en la fórmula (1) R¹ es -C(O)NR⁴R⁶; R² es hidrógeno o metilo; R³ es hidrógeno; R⁴ es hidrógeno; y R⁶ se selecciona de alquilo C₉₋₁₃, alquenilo C₉₋₁₃ (en donde el alquenilo contiene 2 dobles enlaces), (aril C₆₋₁₀)-alquilo C₇₋₉, y (aril C₆₋₁₀)-alquenilo C₇₋₉ (en donde el alquenilo contiene 2 dobles enlaces).

En otra realización particularmente preferida de la presente invención el compuesto según la fórmula (1) contiene R¹ siendo -C(O)NR⁴R⁶, R² siendo hidrógeno o metilo, y R³ siendo hidrógeno. En la definición de R¹ en el presente documento, R⁴ es hidrógeno y R⁶ se selecciona de alquilo C₉₋₁₃, alquenilo C₉₋₁₃ que contiene un resto (2E,4E)-dieno como la insaturación, (aril C₆₋₁₀)-alquilo C₇₋₉, y (aril C₆₋₁₀)-alquenilo C₇₋₉ que contiene un resto (2E,4E)-dieno como la insaturación en el grupo alquenilo del mismo.

Además, la presente invención se refiere a los compuestos de fórmula (I) para su uso como un medicamento, preferentemente un agente dermatológico, y como un cosmético. Los compuestos son efectivos en el tratamiento y/o la prevención de inflamación, irritación, comezón, prurito, dolor, edema, y/o afecciones pro-alérgicas o alérgicas, especialmente de la piel y mucosa de un mamífero. Condiciones adicionales incluyen el 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 hiperproliferativas de la piel (por ejemplo soriasis), crecimiento excesivo de pelo (por ejemplo hirsutismo), formas diferentes de dermatitis, afecciones de piel seca, y esclerosis sistémica (escleroderma).

Descripción detallada de la invención

De acuerdo con la presente invención el solicitante ha desarrollado las nuevas 1,3-benzoxazol-2(3H)-onas como se definen en la fórmula (1) y ha encontrado sorprendentemente que estos compuestos pueden ser utilizados efectivamente como un medicamento, preferentemente como un agente dermatológico, y como un cosmético debido a su naturaleza lipofílica. Las afecciones y las enfermedades a ser tratadas son especialmente inflamación, comezón, prurito, irritación, dolor, edema, y/o afecciones pro-alérgicas o alérgicas. Los compuestos resultaron ser efectivos no solo en el tratamiento sino también en la prevención de las afecciones antes mencionadas. Las afecciones también comprenden reacciones inflamatorias e irritación de la piel y mucosa de un mamífero, preferentemente de un humano, por ejemplo causados por estrés e influencias ambientales, tales como irradiación UV, sustancias tóxicas, y alérgenos en general. Así, los compuestos han demostrado reducir efectivamente varias clases de molestias de la piel y de la mucosa como se mencionó antes. En particular, han demostrado proporcionar propiedades analgésicas y anti-pruríticas.

Sin querer quedar ligado a teoría alguna, el solicitante cree que la razón para la actividad de las 1,3-benzoxazol-2(3H)-onas de la presente invención se basa en su función como moduladores del sistema endocannabinoide. En este sentido se sabe que los endocannabinoides *N*-araquidonoiletanolamida (Anandamida, AEA) y 2-araquidonoilglicerol (2-AG) se unen a los receptores cannabinoides CB₁ y CB₂ acoplados a la proteína G. El receptor CB₁ es expresado principalmente (pero no exclusivamente) en las neuronas, el receptor de CB₂ está presente principalmente en los inmunocitos, tales como monocitos (esplenocitos), macrófagos, linfocitos B, pero también en las células astrogliales. En la piel, los receptores de CB, en particular el receptor de CB₂, es expresado en los queratinocitos y fibroblastos. Con la activación del receptor de CB, los endocannabinoides son transportados activamente por la membrana celular y degradados. Las enzimas metabólicas, amida de ácido graso hidrolasa (FAAH) y monoacil glicerol lipasa (MAGL), son responsables de la hidrólisis de AEA y 2-AG, respectivamente, llevando así a la inactivación de estas moléculas de señalización. Mientras la activación del receptor de CB₁ ha demostrado mediar distintos efectos neurofisiológicos, se sabe que la modulación del receptor de CB₂ tanto por los agonistas como por los agonistas inversos interfiere con los diferentes procesos inflamatorios. La activación del receptor de CB₂ puede llevar a efectos antiinflamatorios *in vivo* y la modulación del receptor de CB₂ ha sido implicada en la fisiopatología de varias enfermedades, incluyendo dolor crónico, inflamación del tracto gastrointestinal, osteoporosis, y afecciones hepáticas. Las plantas emplean moléculas de señalización de lípidos estructuralmente semejantes a las de los animales para procesar la información celular, incluyendo derivados de ácido graso de tipo endocannabinoide. Ya que las plantas no sintetizan generalmente el ácido araquidónico, diferentes *N*-aciletanolaminas como por ejemplo *N*-palmitoiletanolamida, se produce en las plantas y estos lípidos también han demostrados actuar en las proteínas directamente o indirectamente asociadas con el sistema endocannabinoide (ECS) en animales y humanos, tal como FAAH, el receptor vainilloide potencial del receptor transitorio (TRPV1) o el recientemente postulado receptor cannabinoide GPR55.

Así, de acuerdo con la presente invención se ha encontrado que las 1,3-benzoxazol-2(3H)-onas de fórmula (1) muestran una interferencia funcional significativa con el ECS que se asume es una razón para su actividad farmacológica. En particular, las 1,3-benzoxazol-2(3H)-onas reivindicadas inhiben la recaptación de FAAH o AEA. Además, algunos compuestos de la invención inhiben la recaptación de FAAH además de AEA. Es decir, estos compuestos inhiben la recaptación de AEA o la actividad de FAAH o ambos sin afectar los receptores CB₁ y CB₂.

Si no se describe en una manera diferente en el presente documento, los términos empleados para la definición/descripción en la fórmula (1) los respectivos grupos R (es decir R¹ a R⁶) incluyendo sus sustituyentes, si los hay, de acuerdo con la presente invención tienen los significados como se describe a continuación:

Alquilo es un alquilo de cadena lineal o ramificada que tiene 1, 2, 3, 4, 5 o 6 átomos de carbono, tal 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 o 6 átomos de carbono y uno a tres dobles enlaces, preferentemente uno o dos dobles enlaces, más preferentemente un doble enlace. Ejemplos preferidos de un grupo alqueno C₂₋₆ son etenilo, prop-1-enilo, pro-2-enilo, isoprop-1-enilo, n-but-1-enilo, n-but-2-enilo, n-but-3-enilo, isobut-1-enilo, 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. 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 o 6 átomos de carbono y uno a tres enlaces triples, preferentemente uno o dos enlaces triples, más preferentemente un enlace triple. Ejemplos preferidos de un grupo alquino C₂₋₆ son etinilo, prop-1-inilo, pro-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. Ejemplos más preferidos de un grupo alquino C₂₋₆ son etinilo y prop-1-inilo.

El cicloalquilo es un anillo alquilo que tiene 3, 4, 5, 6 o 7 átomos de carbono como máximo, tal como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo o cicloheptilo, más preferentemente 3, 4, 5 o 6 átomos de carbono.

Los anillos son sistemas de anillo de carbono saturados o mono- a poliinsaturados que pueden incluir uno o más heteroátomos, tales como O, N, S, y/o P. Se prefieren anillos de 5- o 6 miembros. Los anillos incluyen especialmente anillos arilo y heteroarilo, que pueden ser anillos aromáticos fusionados.

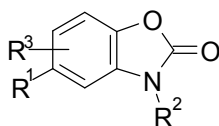
Arilo es un resto aromático que tiene 6 a 20 átomos de carbono, preferentemente 6 a 10 átomos de carbono, e incluye anillos aromáticos fusionados. El más preferido es fenilo.

Heteroarilo es un resto aromático que tiene 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o 9 átomos de carbono y por lo menos un heteroátomo seleccionado de O, N y/o S. Preferentemente, el heteroarilo comprende a lo más 10 átomos de anillo (incluyendo carbono y heteroátomos) y es seleccionado preferentemente de tienilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, piridilo, pirazinilo, pirimidinilo, piridazinilo, tiazolilo, oxazolilo, isotiazolilo, isoxazolilo, furanilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, tetrazolilo y indazolilo, más preferentemente de tienilo, furanilo, imidazolilo, piridilo, tiazolilo, oxazolilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, tetrazolilo y pirimidinilo.

Heterociclilo es un anillo saturado o insaturado que contiene por lo menos un heteroátomo seleccionado de O, N y/o S y 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7 átomos de carbono. Preferentemente, el heterociclilo comprende a lo más 11 átomos de anillo (incluyendo carbono y heteroátomos) y más preferentemente es un anillo de 4 a 8 miembros y aún más preferentemente se selecciona de tetrahidrofuranilo, azetidino, pirrolidinilo, piperidinilo, piranilo, morfolinilo, tiazolinilo, dioxanilo, dioxolanilo, y tiomorfolinilo, más preferentemente de piperidinilo, tiazolinilo, dioxanilo, dioxolanilo, y pirrolidinilo.

El halógeno es un átomo de halógeno seleccionado de F, Cl, Br y I, preferentemente de F, Cl y Br.

Los compuestos de la presente invención contienen la estructura básica de 1,3-benzoxazol-2(3H)-ona representada por la fórmula siguiente (1).



fórmula (1)

En los compuestos según la fórmula (1) se cree que la característica esencial para lograr la actividad moduladora/de direccionamiento del sistema endocannabinoide es la definición específica del residuo R^1 , a saber siendo cualquiera de $-(CH_2)_nN(R^4)C(O)R^5$ (n siendo 0, 1, o 2, preferentemente 0 o 1, más preferentemente 0) o $-C(O)NR^4R^6$.

5 Para ambas de las definiciones antes mencionadas de R^1 , y además independientemente una de la otra, las definiciones siguientes de R^2 a R^6 aplican según la presente invención:

10 R^2 se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno; alquilo C_{1-6} , tal como metilo, etilo, n- o i-propilo, n- o i-butilo, n- o i-pentilo, n- o i-hexilo, cada uno sustituido opcionalmente con uno o más sustituyentes seleccionados de halógeno, OH, Oalquilo C_{1-6} , -Ocicloalquilo C_{3-7} ; -cicloalquilo C_{3-7} , opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de halógeno, OH, Oalquilo C_{1-6} , Ocicloalquilo C_{3-7} ; -(cicloalquilo C_{3-7}) -alquilo C_{1-6} , sustituido opcionalmente con uno o más sustituyentes seleccionados de halógeno, OH, Oalquilo C_{1-6} , Ocicloalquilo C_{3-7} . Preferentemente R^2 es hidrógeno o alquilo C_{1-6} , opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de halógeno, OH, Oalquilo C_{1-6} , Ocicloalquilo C_{3-7} . Más preferentemente, R^2 es hidrógeno o metilo, especialmente hidrógeno.

20 R^3 se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, hidroxilo, metoxi o $-CN$. Preferentemente R^3 es hidrógeno o halógeno, más preferentemente hidrógeno. Los compuestos según la fórmula (1) contienen tres grupos R^3 que pueden ser iguales o diferentes. Más preferentemente todos son hidrógeno.

R^4 se selecciona del grupo que consiste de hidrógeno o alquilo C_{1-6} , tal como metil, etil, n- o i-propilo, n- o i-butilo, n- o i-pentilo, n- o i-hexilo. Preferentemente R^4 es hidrógeno o metilo, más preferentemente hidrógeno.

25 R^5 se selecciona del grupo que consiste en alquilo C_{8-15} , alqueno C_{8-15} , alquino C_{8-15} , (aril C_{6-10}) -alquilo C_{6-10} , (aril C_{6-10}) -alqueno C_{6-10} , y (aril C_{6-10}) -alquino C_{6-10} . En todos estos grupos que contienen arilo, el arilo puede estar sustituido con uno o más de los sustituyentes como se menciona después en la presente descripción. Preferentemente R^5 se selecciona de alquilo C_{8-15} , alqueno C_{8-15} , (aril C_{6-10}) -alquilo C_{6-10} , y (aril C_{6-10}) -alqueno C_{6-10} . Más preferentemente, R^5 se selecciona de alquilo C_{8-15} , alqueno C_{8-15} (en donde el alqueno contiene 1, 2, o 3, preferentemente 2 dobles enlaces), (aril C_{6-10}) -alquilo C_{6-10} , y (aril C_{6-10}) -alqueno C_{6-10} (en donde el alqueno contiene 1 o 2, preferentemente 2 dobles enlaces). Mas preferentemente, R^5 se selecciona de alquilo C_{8-12} , alqueno C_{8-12} que contiene un resto (2E,4E)-dieno como la insaturación, (aril C_{6-10}) -alquilo C_{6-8} , y (aril C_{6-10}) -alqueno C_{6-8} que contiene un resto (2E,4E)-dieno como la insaturación en el grupo alqueno del mismo.

35 R^6 se selecciona del grupo que consiste en alquilo C_{9-16} , alqueno C_{9-16} , alquino C_{9-16} , (aril C_{6-10}) -alquilo C_{7-11} , (aril C_{6-10}) -alqueno C_{7-11} , y (aril C_{6-10}) -alquino C_{7-11} . En todos estos grupos que contienen arilo, el arilo puede estar sustituido con uno o más de los sustituyentes como se menciona después en la presente descripción. Preferentemente R^6 se selecciona de alquilo C_{9-16} , alqueno C_{9-16} , (aril C_{6-10}) -alquilo C_{7-11} , y (aril C_{6-10}) -alqueno C_{7-11} . Más preferentemente, R^6 se selecciona de alquilo C_{9-16} , alqueno C_{9-16} (en donde el alqueno contiene 1, 2, o 3, preferentemente 2 dobles enlaces), (aril C_{6-10}) -alquilo C_{7-11} , y (aril C_{6-10}) -alqueno C_{7-11} (en donde el alqueno contiene 1 o 2, preferentemente 2 dobles enlaces). Mas preferentemente, R^6 se selecciona de alquilo C_{9-13} , alqueno C_{9-13} que contiene un resto (2E,4E)-dieno como la insaturación, (aril C_{6-10}) -alquilo C_{7-9} , y (aril C_{6-10}) -alqueno C_{7-9} que contiene un resto (2E,4E)-dieno como la insaturación en el grupo alqueno del mismo.

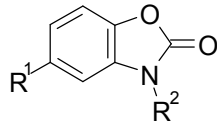
45 Específicamente, en el caso de que R^1 sea $-(CH_2)_nN(R^4)C(O)R^5$ con $n = 0$, R^5 no debe ser una cadena lineal de C_{11} con un resto (2E,4E)-dieno.

50 De manera similar, en el caso de que R^1 sea $-C(O)NR^4R^6$ como se define en el presente documento, R^6 no debe contener un resto (2E,4E)-dieno, o R^6 no debe contener un resto lineal dodeca-(2E,4E)-dieno, aril-hexa-(2E,4E)-dieno, aril-hepta-(2E,4E)-dieno, y/o aril-octa-(2E,4E)-dieno.

Todas las combinaciones posibles de las definiciones de R^1 a R^6 en la fórmula (1) incluidas en las listas anteriores deben ser comprendidas como estando directamente e inequívocamente descritas según la presente invención.

55 En general, los sustituyentes de las cadenas de carbono y los anillos de acuerdo con la invención son halógenos, preferentemente F, Cl, Br y I, alquilo C_{1-10} , alcoxi de C_{1-10} , arilo C_{6-20} , hidroxilo, -SH, $-SO_3H$, grupos amina, $-COOH$, $COOR'$, en donde R' es un grupo alquilo C_{1-10} o un metal alcalino, $CONHR''$, y $CON(R'')_2$, en donde R'' es un alquilo C_{1-10} . En general, los grupos alquilo y alcoxi especialmente preferidos utilizados como sustituyentes de acuerdo con la presente invención como se describe en la presente son grupos alquilo C_{1-6} y alcoxi de C_{1-6} , más preferentemente 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. Asimismo, los grupos arilo especialmente preferidos son los grupos arilo C_{6-10} , más preferentemente fenilo. Los sustituyentes adecuados también se seleccionan de alqueno, alquino, cicloalquilo, heteroarilo, heterociclilo como se define en la presente.

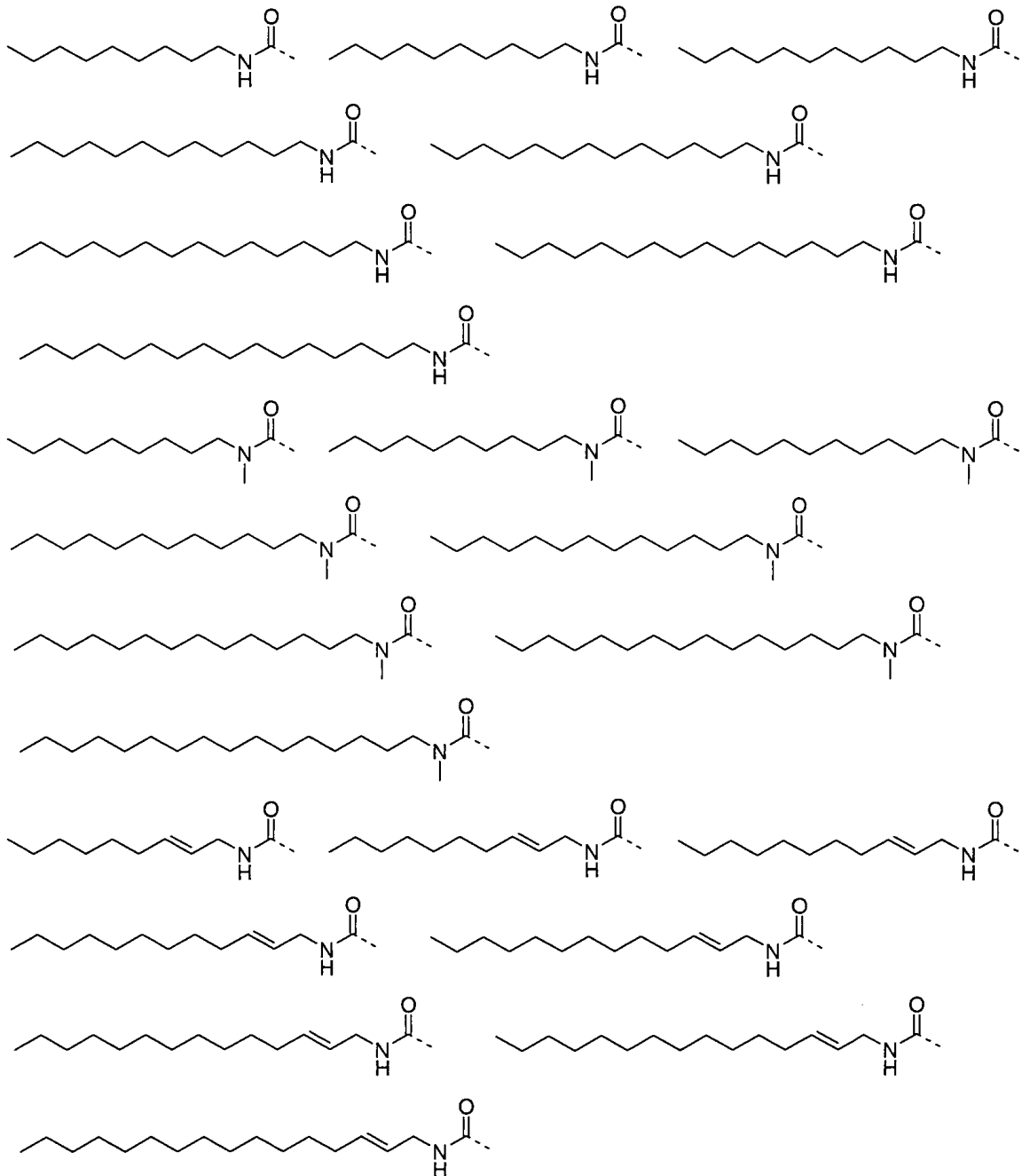
65 En realizaciones especialmente preferidas de la presente invención los compuestos son según la siguiente fórmula (2):

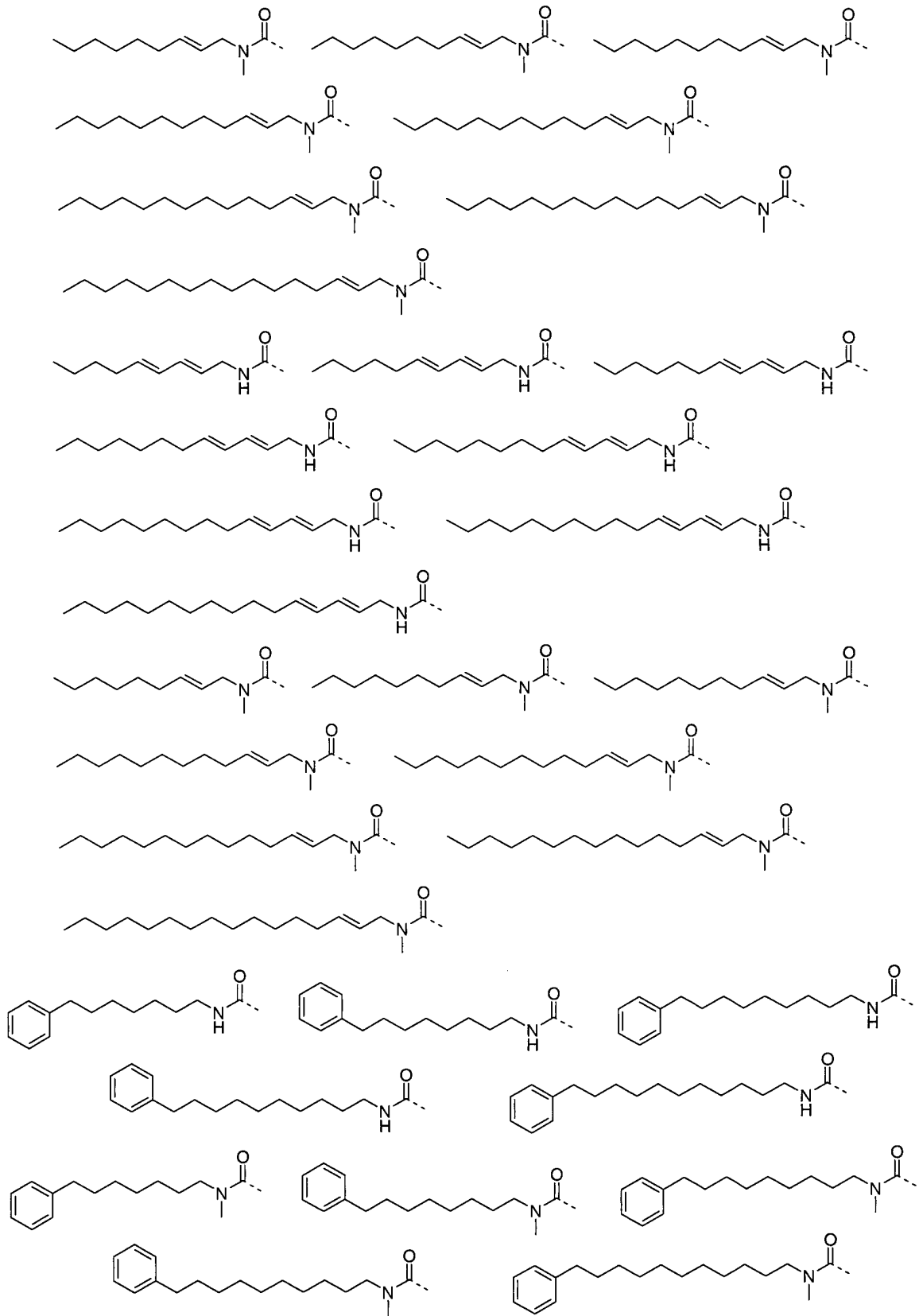


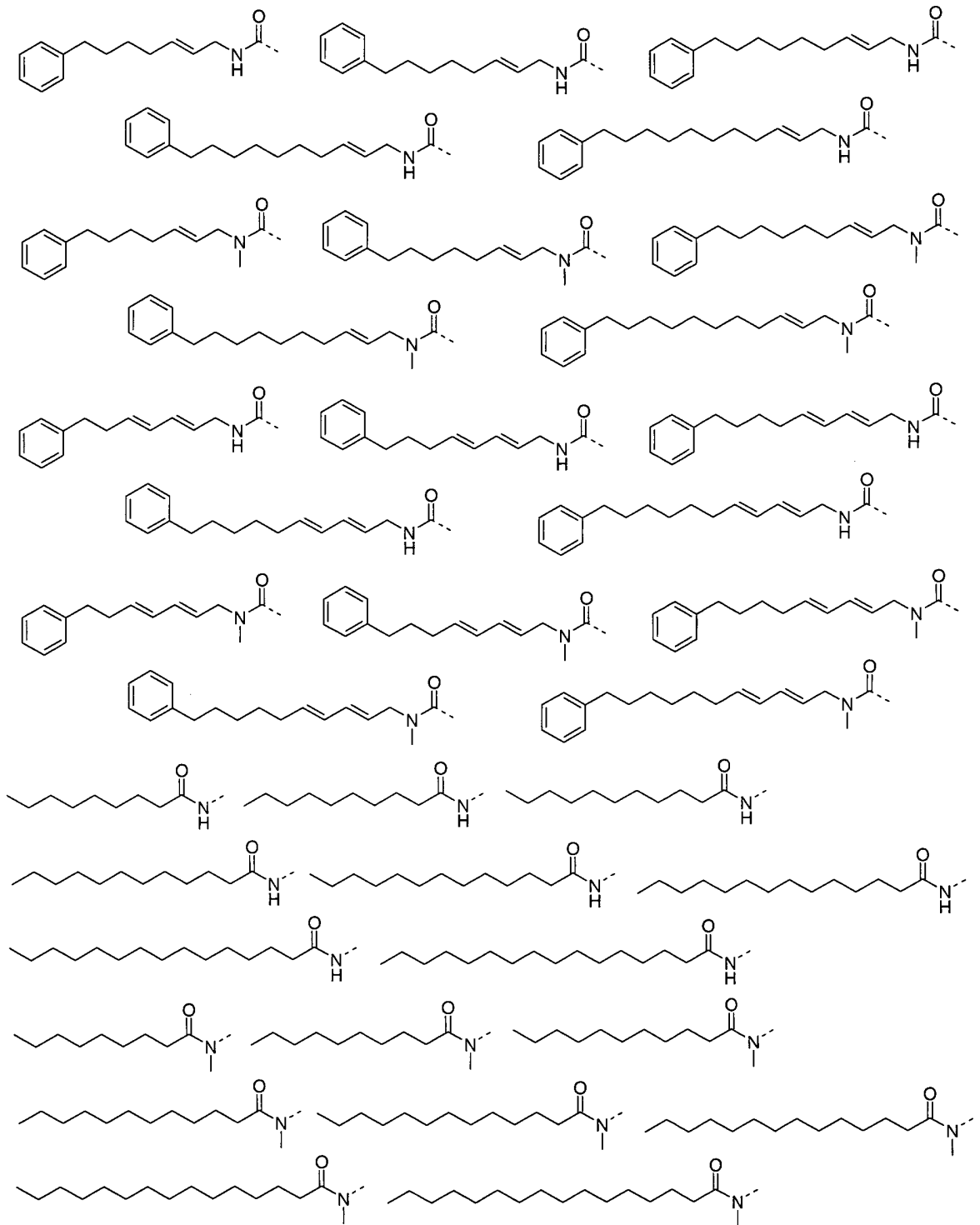
fórmula (2).

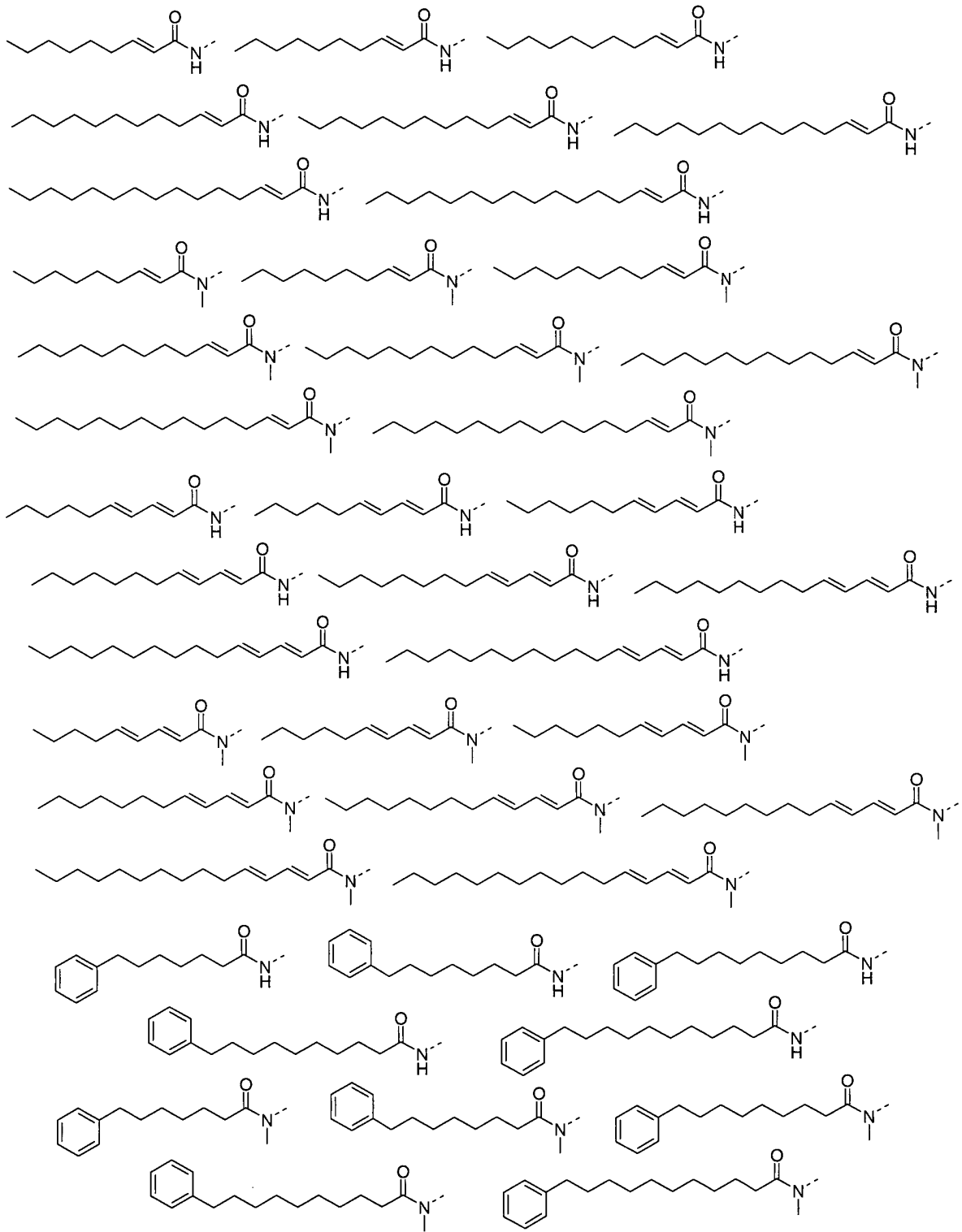
En la fórmula (2) R^2 es preferentemente hidrógeno o metilo, más preferentemente hidrógeno. Además, R^1 es como se definió antes.

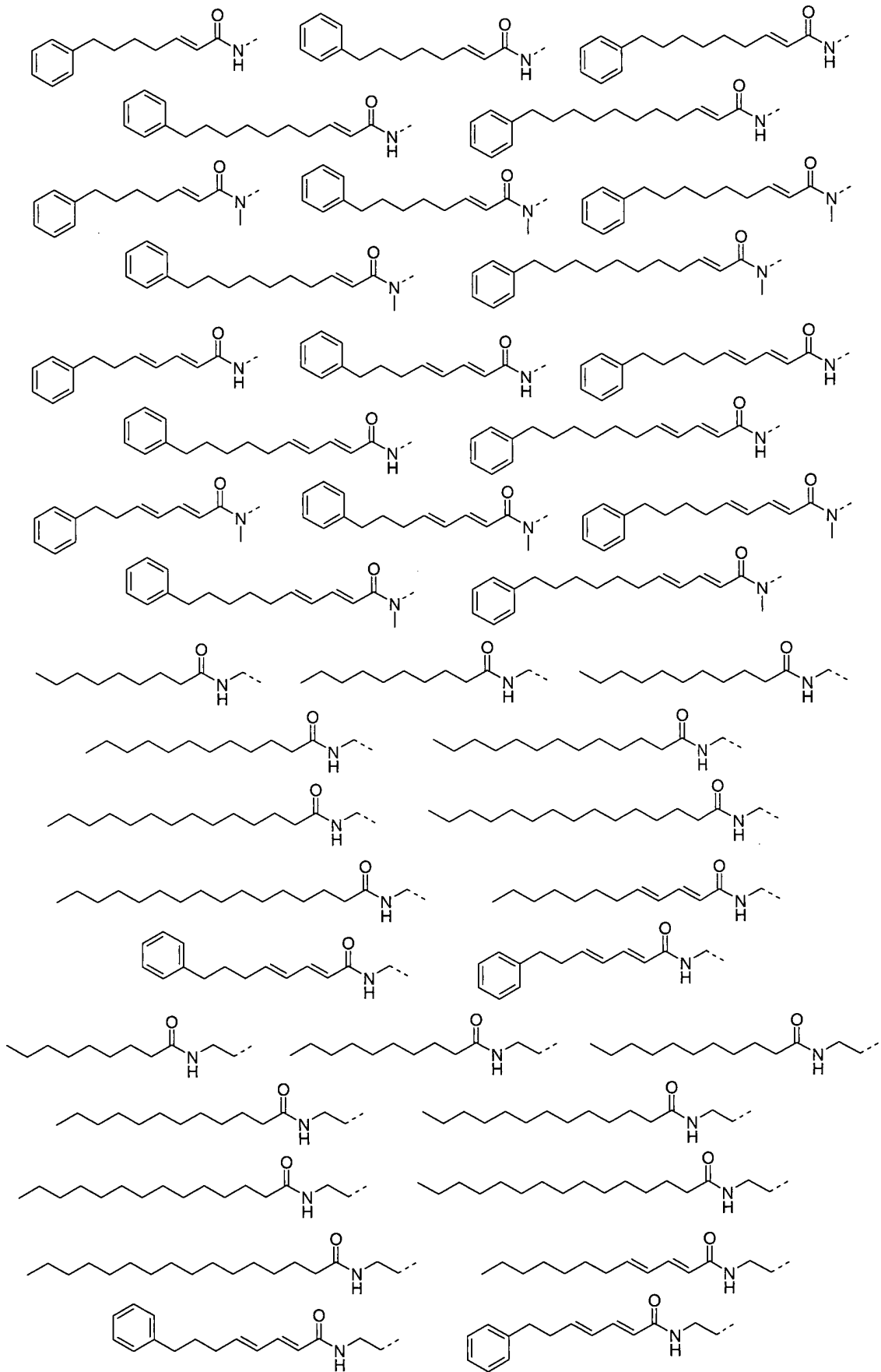
- 5 Según la presente invención, en los compuestos de las fórmulas (1) y/o (2), R^1 también puede seleccionarse del grupo que consiste en los radicales siguientes (que pueden estar sustituidos con grupos de sustituyentes como se define en el presente documento):











Los compuestos de la fórmula estructural (1) son efectivos como moduladores del sistema endocannabinoide y son especialmente efectivos como inhibidores de AEAT (transporte de AEA) o FAAH. Son útiles para el tratamiento y/o la prevención de trastornos que responden a la inhibición de AEAT o FAAH, tal como inflamación, irritación, comezón, prurito, dolor, edema y/o afecciones pro-alérgicas y alérgicas y otras enfermedades en particular con la participación de AEAT o FAAH.

Isómeros ópticos – Diastereómeros – Isómeros Geométricos – Tautómeros

Los compuestos de fórmulas estructurales (1) y/o (2) contienen uno o más centros asimétricos y pueden aparecer como mezclas racémicas y racemato, enantiómeros únicos, mezclas diastereoméricas y diastereómeros individuales. La presente invención pretende comprender todas de dichas formas isoméricas de los compuestos de las fórmulas estructurales (1) y/o (2).

Los compuestos de las fórmulas estructurales (1) y/o (2) pueden ser separados en sus diastereómeros individuales, por ejemplo, por cristalización fraccionaria de un disolvente adecuado, por ejemplo metanol o acetato de etilo o una mezcla del mismo, o a través de cromatografía quiral utilizando una fase estacionaria ópticamente activa. Su estereoquímica absoluta puede determinarse por cristalografía de rayos X de productos cristalinos o intermedios cristalinos que son derivatizados, si es necesario, con un reactivo que contiene un centro asimétrico de configuración absoluta conocida.

Alternativamente, cualquier estereoisómero de un compuesto de las fórmulas generales (1) y/o (2) puede ser obtenido por síntesis estereoespecífica utilizando materiales o reactivos de partida de configuración absoluta conocida.

Sales

Los compuestos según la invención pueden estar presentes en forma de sales farmacéuticas aceptables. El término "sales farmacéuticas aceptables" se refiere a las sales preparadas 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, de amonio, de calcio, de cobre, férricas, ferrosas, de litio, de magnesio, mangánicas, manganosas, de potasio, de sodio, de cinc y similares. Especialmente preferidas son las sales de amonio, de calcio, de litio, de magnesio, de potasio y de sodio. Las sales derivadas de bases no tóxicas, orgánicas y farmacéuticamente aceptables incluyen sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas incluyendo aminas sustituidas naturales, aminas cíclicas y resinas básicas de intercambio iónico, tal como arginina, betaina, 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, procaina, purinas, teobromina, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina, trometamina y similares.

Cuando el compuesto de la presente invención es básico, las sales pueden ser preparadas de ácidos no tóxicos farmacéuticamente aceptables, incluyendo ácidos inorgánicos y orgánicos. Tales ácidos incluyen ácido acético, bencensulfónico, benzoico, alcanforsulfónico, cítrico, etanosulfónico, fórmico, fumárico, glucónico, glutámico, bromhídrico, clorhídrico, isetiónico, láctico, málico, málico, mandélico, metanosulfónico, malónico, místico, nítrico, parrónico, pantoténico, fosfórico, propiónico, succínico, sulfúrico, tartárico, P-toluensulfónico, ácido trifluoroacético y similares. Especialmente preferidos son los ácidos cítrico, fumárico, bromhídrico, clorhídrico, maléico, fosfórico, sulfúrico y tartárico.

Administración, Intervalos de Dosis y Formulación

Los compuestos de la invención se incorporan en preparaciones farmacéuticas o cosméticas al mezclarlos con un portador o excipiente farmacéuticamente o cosméticamente aceptable. Los portadores adecuados son conocidos por el experto. Preferentemente la composición es una composición dermatológica adecuada para ser aplicada tópicamente en la piel o mucosa de un mamífero. La forma de la composición no se limita especialmente, sin embargo, las formas preferidas son emulsiones, suspensiones y soluciones. En ciertas realizaciones, las composiciones están en forma de lociones, cremas, geles, soluciones, rocíos, limpiadores, polvos, ungüentos, ceras, lápices de labios, jabones, champús, soluciones hidroalcohólicas, suspensiones, espumas, exfoliantes, almohadillas saturadas, agentes acondicionadores de la piel o el cabello.

Las composiciones según la invención pueden ser aplicadas, sin embargo, en cualquier otra manera conocida a la persona experta tal como oral o parenteral. Ejemplos no limitativos son sublinguales, vaginales, rectales, intravenosos, nasales, intramusculares, inhalantes, ocular y percutáneo. Los portadores y excipientes adecuados son conocidos comúnmente por el experto.

Las composiciones de acuerdo con la presente invención pueden contener los compuestos de 1,3-benzoxazol-2(3H)-ona en cantidades de 0,001 a 40 % en peso de la composición, preferentemente 0,01 a 5 % en peso, más preferentemente 0,1 a 2 % en peso y más preferentemente 0,5 a 1,5 % en peso.

Las composiciones de acuerdo con la presente invención pueden contener auxiliares cosmética y farmacéutica/dermatológicamente aceptables empleados generalmente en las preparaciones cosméticas y farmacéuticas y conocidos por los expertos. Estos incluyen, por ejemplo, conservantes, bactericidas, perfumes, espesantes, emulsionantes, surfactantes, agentes reblandecedores, agentes humectantes, aceites, grasas, ceras, disolventes orgánicos, agua, alcoholes, polioles, polímeros, estabilizadores de espuma, agentes anti-espumantes, mejoradores de penetración u otros componentes convencionales de una preparación farmacéutica o cosmética.

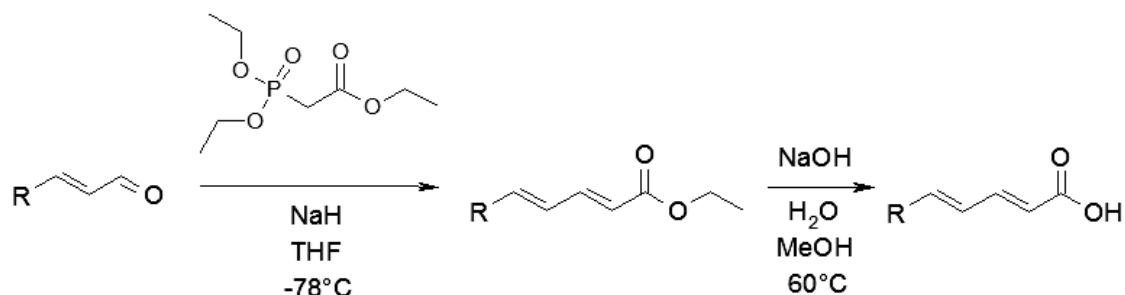
Preparación de los Compuestos de la Invención

Los compuestos de las fórmulas (1) y/o (2), al existir como una mezcla diastereomérica, pueden ser separados en pares diastereoméricos de enantiómeros por cristalización fraccionada de un disolvente adecuado tal como metanol, acetato de etilo o una mezcla de los mismos. El par de enantiómeros así obtenido puede ser separado en estereoisómeros individuales por medios convencionales utilizando un ácido ópticamente activo como un agente de resolución. Alternativamente, cualquier enantiómero de un compuesto de las fórmulas (1) y/o (2) puede ser obtenido por síntesis estereoespecífica utilizando materiales de partida o reactivos ópticamente puros de configuración conocida.

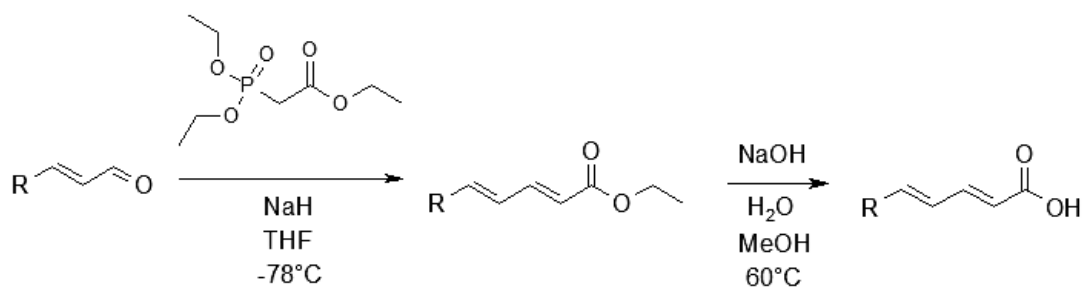
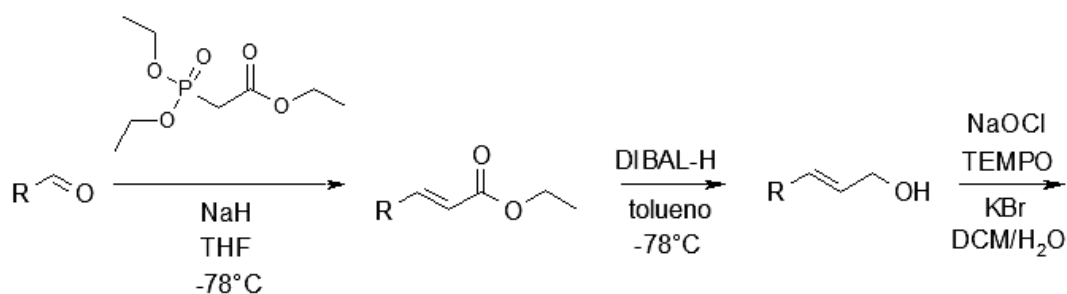
Los compuestos de las fórmulas (1) y/o (2) de la presente invención pueden prepararse según los procedimientos de los esquemas y ejemplos siguientes, utilizando materiales apropiados y son ejemplificados además por los ejemplos específicos siguientes. Además, utilizando los procedimientos descritos en el presente documento, en conjunción con un conocimiento ordinario de la técnica, pueden prepararse fácilmente compuestos adicionales de la presente invención reivindicados en la presente. Sin embargo, los compuestos ilustrados en los ejemplos no serán considerados como formando el único género que se considera como la invención. Los ejemplos ilustran además detalles para la preparación de los compuestos de la presente invención. Los expertos en la materia entenderán perfectamente que variaciones conocidas de las condiciones y procedimientos de los siguientes procedimientos de preparación pueden ser utilizadas para preparar estos compuestos. Los compuestos que contienen un grupo básico o ácido pueden ser convertidos además en la forma de sus sales farmacéuticas aceptables, tal como se describió anteriormente. Todas las temperaturas son en grados Celsius.

En los esquemas, preparaciones y ejemplos siguientes, diversos símbolos y abreviaturas de los reactivos tienen los siguientes significados:

AcOH	ácido acético
Boc	terc-butoxicarbonilo
Bu	butilo
CDI	1,1'-carbonildiimidazol
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno
DCM	diclorometano
DIBAL-H	hidruro de diisobutilaluminio
DIEA	etil-diisopropilamina
DMAP	4-dimetilaminopiridina
DMF	N,N-dimetilformamida
DMSO	dimetil sulfóxido
DPPA	difenil fosforil azida
EDCI	N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida
Et	etilo
Et ₂ O	dietil éter
EtOH	etanol
h	hora(s)
HATU	O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio hexafluorofosfato
HOAt	1-hidroxi-7-azabenzotriazol
m/z	proporción de masa a carga
Me	metilo
min	minuto(s)
MeOH	metanol
mp	punto de fusión
MW	peso molecular
Ph	fenilo
TA	temperatura ambiente
TEA	triethylamina
TEMPO	2,2,6,6-tetrametilpiperidina 1-oxilo
THF	tetrahidrofurano
TLC	cromatografía de capa fina
t _R (min)	tiempo de retención de HPLC

Esquema de reacción 1**Síntesis de (2E,4E)-2,4-dienoatos de etilo y los ácidos correspondientes usando la reacción de Wittig-Horner**R = alquilo C₄-C₁₁, alquil arilo C₂-C₆

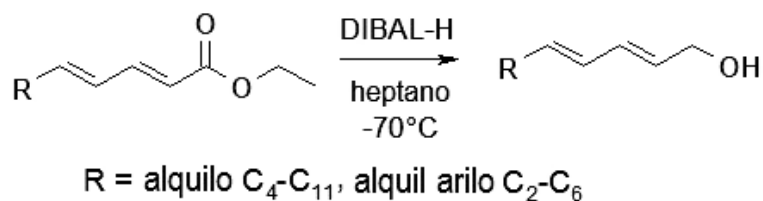
5 El material de partida para la síntesis de los compuestos de la presente invención, (2E,4E)-2,4-dienoatos de etilo opcionalmente sustituidos, puede obtenerse haciendo reaccionar un (2E)-2-enal opcionalmente sustituido con un acetato de trialquilfosfeno en presencia de una base tal como hidruro de sodio o butil litio en un disolvente inerte como tetrahidrofurano a una temperatura apropiada. La posterior saponificación con una base tal como hidróxido de sodio en un disolvente como una mezcla de agua y metanol a una temperatura adecuada lleva al correspondiente ácido (2E,4E)-2,4-dienoico.

Esquema de reacción 2**Síntesis alternativa de ácidos (2E,4E)-2,4-dienoicos**R = alquilo C₄-C₁₁, alquil arilo C₂-C₆

15 Como se muestra en el Esquema de Reacción 2, el material de partida para la síntesis de compuestos de la presente invención, (2E,4E)-2,4-dienoatos de etilo y ácidos (2E,4E)-2,4-dienoicos opcionalmente sustituidos también pueden prepararse comenzando de aldehídos saturados opcionalmente sustituidos. En este caso los dos dobles enlaces con estereoquímica *trans* son introducidos aplicando dos reacciones de Wittig-Horner. α,β -éster insaturado es obtenido por reacción de un aldehído con acetato de trialquilfosfeno en un disolvente inerte como tetrahidrofurano en presencia de una base tal como hidruro de sodio o butil litio a baja temperatura. La reducción con DIBAL-H en un disolvente adecuado como tolueno a -78 °C proporciona el correspondiente alcohol alílico que posteriormente se oxida con hipoclorito de sodio y TEMPO en presencia de bromuro de potasio en un disolvente adecuado tal como una mezcla de agua y diclorometano α,β -aldehído insaturado. Alternativamente, el alcohol puede ser oxidado aplicando una oxidación de Swern utilizando cloruro de oxalilo y DMSO en un disolvente apropiado como DCM en presencia de una base tal como trietilamina a -78 °C. El aldehído se somete a una segunda reacción de Wittig-

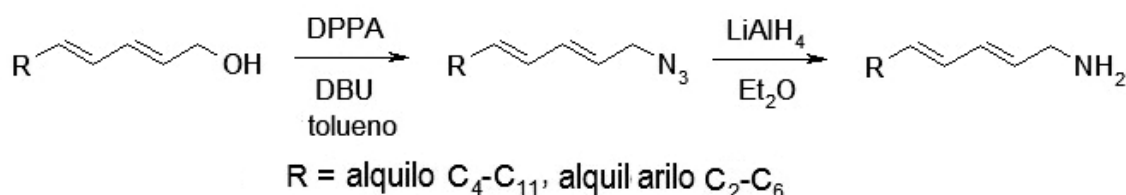
Horner aplicando las condiciones descritas antes para producir el (2E,4E)-2,4-dienoato de etilo. Por último, el ácido (2E,4E)-2,4-dienoico es obtenido hidrolizando el éster en presencia de una base tal como un hidróxido de sodio acuoso en metanol a temperatura elevada.

5 **Esquema de reacción 3**
Reducción de ésteres del ácido (2E,4E)-2,4-dienoico



10 El éster del ácido (2E,4E)-2,4-dienoico opcionalmente sustituido puede reducirse al correspondiente alcohol por reacción con un agente reductor tal como DIBAL-H en un disolvente inerte como heptano a una temperatura adecuada, como se representa en el Esquema de Reacción 3.

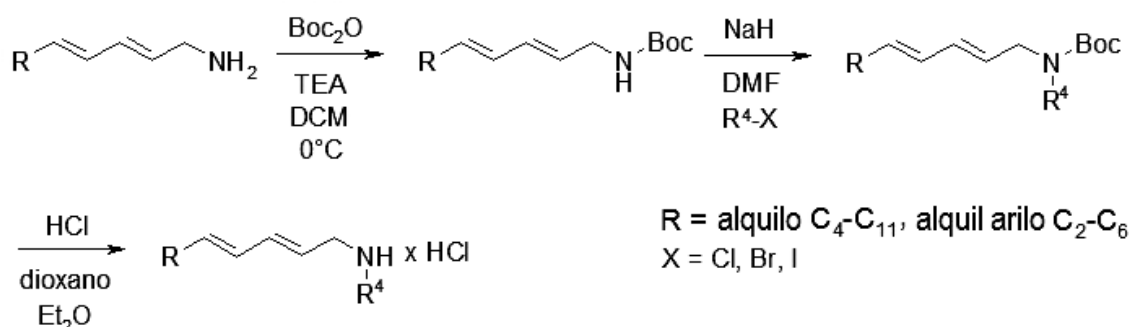
15 **Esquema de reacción 4**
Síntesis de (2E,4E)-2,4-dien-1-aminas



20 El Esquema de la reacción 4 muestra la preparación de (2E,4E)-2,4-dien-1-aminas. El alcohol (2E,4E)-2,4-dien-1-ílico opcionalmente sustituido puede hacerse reaccionar con un reactivo tal como difenil fosforil azida en presencia de una base apropiada como 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno en un disolvente tal como tolueno para producir la correspondiente azida. La reducción posterior con un agente reductor como hidruro de litio y aluminio en un disolvente inerte tal como dietil éter a una temperatura apropiada proporciona el compuesto objetivo.

25 Alternativamente, la azida puede ser reducida a la correspondiente amina primaria en una reacción de Staudinger por reacción con trifenilfosfina en un disolvente adecuado tal como una mezcla de agua y THF.

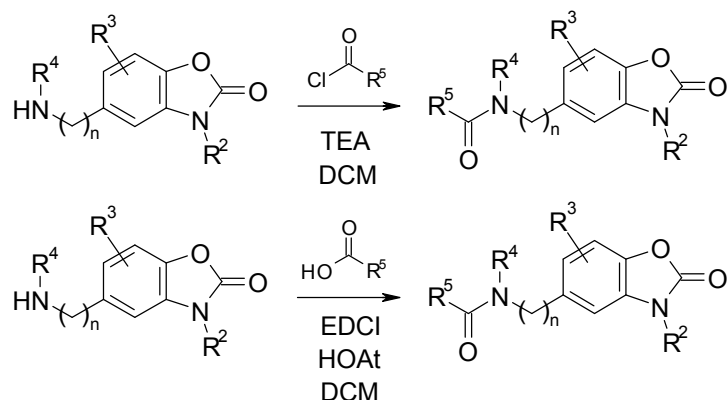
30 **Esquema de reacción 5**
Síntesis de (2E,4E)-N-alquil-2,4-dien-1-aminas



35 La (2E,4E)-2,4-dien-1-ilamina opcionalmente sustituida puede convertirse en la correspondiente amina N-alquilada como se representa en el Esquema de Reacción 5. La reacción con bicarbonato de terc-butilo en presencia de una base como trietilamina en un disolvente adecuado como DCM va seguida de una etapa de alquilación con un halogenuro de alquilo como yoduro de metilo en un disolvente como DMF en presencia de una base tal como hidruro de sodio. La amina alquilada puede desprotegerse utilizando un reactivo como HCl en dioxano en un disolvente apropiado como dietil éter. El producto puede aislarse como sal de clorhidrato o la base libre puede liberarse.

40

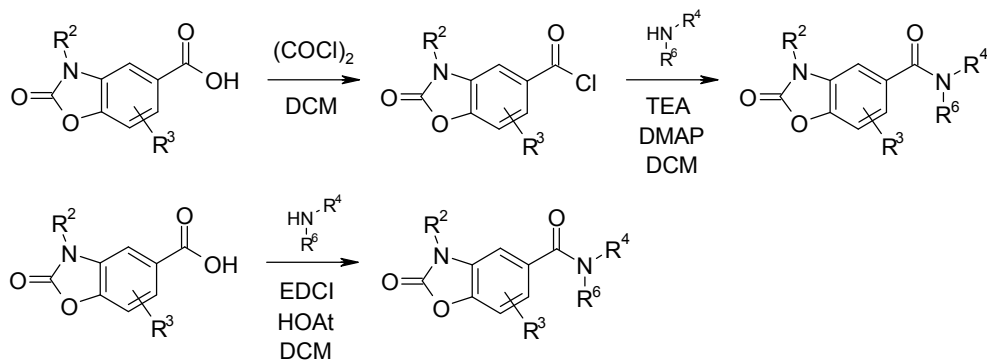
Esquema de reacción 6
Síntesis de amidas



5 Pueden usarse ácidos clorhídricos de fuentes comerciales o ácido carboxílico opcionalmente sustituido puede hacerse reaccionar con cloruro de oxalilo en un disolvente inerte tal como DCM a una temperatura apropiada para proporcionar el correspondiente cloruro ácido R^5COCl . El cloruro ácido opcionalmente sustituido puede hacerse reaccionar con 5-(omega-aminoalquil)-1,3-benzoxazol-2(3H)-ona opcionalmente sustituida en presencia de una base tal como trietilamina en un disolvente inerte como diclorometano para dar acceso a la correspondiente amida.

10 Alternativamente, la síntesis también puede lograrse haciendo reaccionar el correspondiente ácido R^5COOH con 5-(omega-aminoalquil)-1,3-benzoxazol-2(3H)-ona opcionalmente sustituida en un disolvente como DCM o DMF en presencia de un reactivo tal como HOAt y EDCI.

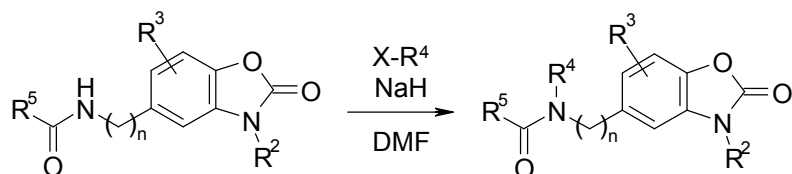
15 **Esquema de reacción 7**
Síntesis de 2-oxo-2,3-dihidro-1,3-benzoxazol-5-carboxamidas



20 El ácido 2-oxo-2,3-dihidro-1,3-benzoxazol-5-carboxílico opcionalmente sustituido puede convertirse en el correspondiente cloruro ácido por reacción con un reactivo tal como cloruro de oxalilo o cloruro de tionilo en un disolvente adecuado como DCM. La reacción con una amina HNR^4R^6 en un disolvente inerte como DCM produce el producto deseado. La reacción puede llevarse a cabo en presencia de o sin una base tal como DMAP.

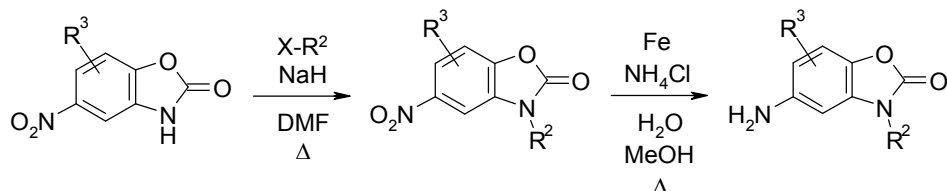
25 Alternativamente, la síntesis de las amidas del ácido 2-oxo-2,3-dihidro-1,3-benzoxazol-5-carboxílico opcionalmente sustituidas también puede lograrse haciendo reaccionar el correspondiente ácido con una amina HNR^4R^6 en un disolvente como DCM o DMF en presencia de un reactivo tal como HOAt y EDCI.

30 **Esquema de reacción 8**
N-alkilación de amida



Los sustituyentes R^4 en el átomo de nitrógeno de la amida pueden introducirse como se muestra en el esquema de Reacción 8. La amida se desprotona con una base adecuada tal como hidruro de sodio en un disolvente adecuado como DMF y posteriormente se hace reaccionar con un reactivo $X-R^4$ en el cual X representa un grupo saliente tal como un halogenuro.

5

Esquema de reacción 9**Síntesis de 5-amino-1,3-benzoxazol-2(3H)-onas sustituidas**

10

Las 5-amino-1,3-benzoxazol-2(3H)-onas sustituidas pueden obtenerse como se representa en el esquema de Reacción 9. Opcionalmente, las 5-nitro-1,3-benzoxazol-2(3H)-onas R^3 -sustituidas se desprotonan con una base adecuada tal como hidruro de sodio en un disolvente adecuado como DMF a temperatura elevada y posteriormente se hacen reaccionar con un reactivo $X-R^2$ en el cual X representa un grupo saliente tal como un halogenuro. El grupo nitro puede por ejemplo, reducirse aplicando reactivos como hierro y cloruro de amonio en una mezcla de agua y metanol a temperatura elevada para producir los compuestos objetivo.

15

LC-MS Analítico**20 Resumen de las condiciones analíticas**

Agilent 1100 con ELSD (PL-ELS 2100) y detector de serie de diodos con detección de UV entre 220 y 320 nm y Detector Selectivo de Masa (MSD) en ESI+ y ESI- modo (intervalo de masa: $m/z = 100-800$),
 Columna: Waters Xbridge C18, 3,5 μm , 2,1 mm x 50 mm;
 Caudal 0,8 ml/min; temperatura de columna: 30 °C;
 Fase Móvil A: acetonitrilo (HCOOH al 0,1 %)
 Fase Móvil B: agua (HCOOH al 0,1 %)

25

o

30

Agilent 1200 con detector de serie de diodos con detección de UV entre 220 y 320 nm y Detector Selectivo de Masa (MSD) en ESI+ y ESI- modo (intervalo de masa: $m/z = 100-800$),
 Columna: Waters Xbridge C18, 3,5 μm , 2,1 mm x 50 mm;
 Caudal 0,8 ml/min; temperatura de columna: 30 °C;
 Fase Móvil A: acetonitrilo (HCOOH al 0,1 %)
 Fase Móvil B: agua (HCOOH al 0,1 %)

35

Gradiente A

40 gradiente lineal de 2 % a 98 % de acetonitrilo en agua (HCOOH al 0,1 %)
 0,0 min 2 % A
 3,5 min 98 % A
 6,0 min 98 % A

45

Agilent 1100 con ELSD (PL-ELS 2100) y detector de serie de diodos (Agilent G1315B) con detección de UV entre 220 y 320 nm y Detector Selectivo de Masa (MSD, Agilent LC/MSD G6130B) en ESI+ y ESI- modo (intervalo de masa: $m/z = 100-800$),
 Columna: Waters Xbridge C18, 3,5 μm , 2,1 mm x 50 mm;
 Caudal 0,8 ml/min; temperatura de columna: 30 °C;
 Fase móvil A: 95 % acetonitrilo + bicarbonato de amonio en agua al 5 % 10 mM
 Fase móvil B: bicarbonato de amonio en agua 10 mM (pH = 9.5)

50

Gradiente B

55 gradiente lineal de 2 % a 98 % de acetonitrilo al 95 % + bicarbonato de amonio en agua al 5 % 10 mM
 0,0 min 2 % A
 3,5 min 98 % A
 6,0 min 98 % A

ES 2 585 264 T3

Columna: Waters Xselect C18, 3,5 μm , 2,1 mm x 50 mm;
 Caudal 0,8 ml/min; temperatura de columna: 25 $^{\circ}\text{C}$;
 Fase móvil A: 95 % acetonitrilo + bicarbonato de amonio en agua al 5 % 10 mM
 Fase móvil B: bicarbonato de amonio en agua 10 mM (pH = 9.5)

5

Gradiente C

Agilent 1100 con ELSD (PL-ELS 2100) y detector de serie de diodos con detección de UV entre 220 y 320 nm y Detector Selectivo de Masa (MSD) en ESI+ y ESI- modo (intervalo de masa: m/z = 100-800),

10

Columna: Waters Xselect C18, 3,5 μm , 2,1 mm x 50 mm;
 Caudal 0,8 ml/min; temperatura de columna: 35 $^{\circ}\text{C}$;
 Fase Móvil A: acetonitrilo (HCOOH al 0,1 %)
 Fase Móvil B: agua (HCOOH al 0,1 %)

15 gradiente lineal de 2 % a 98 % acetonitrilo en agua (HCOOH al 0,1 %)
 0,0 min 2 % A
 3,5 min 98 % A
 8,0 min 98 % A

20 Gradiente D

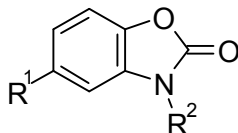
Agilent 1100 con ELSD (PL-ELS 2100) y detector de serie de diodos con detección de UV entre 220 y 320 nm y Detector Selectivo de Masa (MSD) en ESI+ y ESI- modo (intervalo de masa: m/z = 100-800),

25 Caudal 0,8 ml/min; temperatura de columna: 35 $^{\circ}\text{C}$;
 Fase móvil A: 95 % acetonitrilo + bicarbonato de amonio en agua al 5 % 10 mM
 Fase móvil B: bicarbonato de amonio en agua 10 mM (pH = 9.5)
 gradiente lineal de 2 % a 98 % acetonitrilo en agua (HCOOH al 0,1 %)

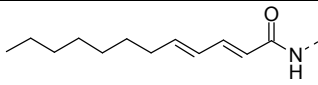
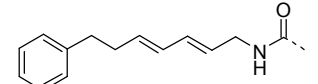
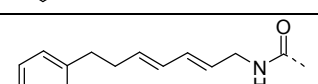
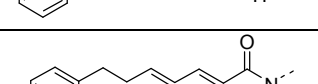
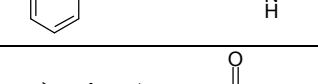
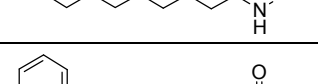
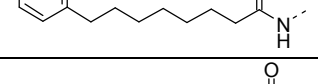
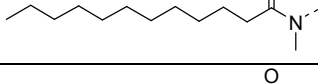
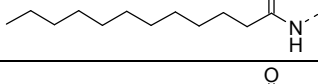
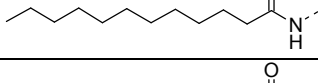
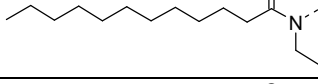
30 0,0 min 2 % A
 3,5 min 98 % A
 8,0 min 98 % A

Lo siguiente describe ejemplos detallados de la invención que se han preparado a través de los esquemas de reacción 1 a 9.

35 Tabla 1

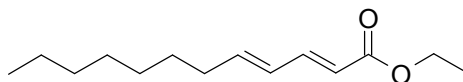


n.º	R ²	R ¹	HPLC		MS	
			t _R (min)	método	PM (calc.) base libre	[M+H ⁺] (encontrado)
1	H		4,25	B	332,45	333
2	Me		4,50	B	346,47	347
3	H		4,25	A	346,47	347
4	H		4,08	A	342,44	343
5	Me		4,41	A	360,50	361
6	Me		4,30	B	356,47	357

n.º	R ²	R ¹	HPLC		MS	
			t _R (min)	método	PM (calc.) base libre	[M+H] ⁺ (encontrado)
7	Me		4,25	B	342,44	343
8	H		3,56	A	348,41	349
9	Me		3,69	A	362,43	363
10	Me		3,79	B	348,41	349
11	Me		3,75	A	304,39	305
12	Me		3,87	A	366,46	367
13	Me		4,32	C	360,50	361
14	-(CH ₂) ₂ OH		4,06	C	376,50	377
15	Et		4,64	D	360,50	361
16	Me		4,32	C	374,53	375
17	Bu		4,71	C	388,55	389

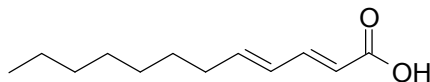
Los siguientes ejemplos se proporcionan para ilustrar la invención y no son limitativos del alcance de la invención de ninguna manera.

5 **Intermedios comunes**
(2E,4E)-dodeca-2,4-dienoato de etilo



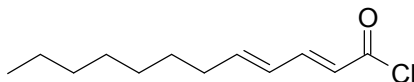
- 10 Se suspendió hidruro de sodio (60 % en peso, 3,11 g) en tetrahidrofurano seco (200 ml) y se enfrió a 0 °C. Se añadió gota a gota O,O-Dietil etoxicarbonilmetil fosfonato (15,43 ml). La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 30 min y se enfrió a -78 °C después de lo cual se añadió gota a gota (E)-dec-2-enal (11,90 ml). La agitación se continuó a esta temperatura durante 2 h, después de lo cual la mezcla se calentó a 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 salmuera, se secó sobre sulfato de sodio, y el disolvente se evaporó. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna.
- 15

Ácido (2E,4E)-dodeca-2,4-dienoico



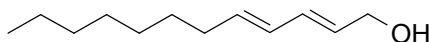
Se disolvió (*2E,4E*)-dodeca-2,4-dienoato de etilo (11,84 g) en metanol (130 ml) y se añadió solución acuosa 2 M de hidróxido de sodio (35 ml). La mezcla de reacción se calentó a 60 °C hasta que se observó la conversión completa. Después de enfriarse a temperatura ambiente la mezcla se acidificó con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

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



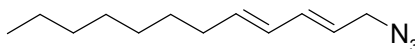
Se disolvió ácido (*2E,4E*)-dodeca-2,4-dienoico (2,5 g) en diclorometano (25 ml). Se añadió cloruro de oxalilo (2,23 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. El disolvente y el exceso de cloruro de oxalilo se eliminaron, y el residuo se depuró varias veces con DCM. El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

(*2E,4E*)-Dodeca-2,4-dien-1-ol



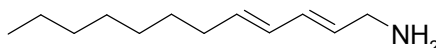
En atmósfera de nitrógeno, el (*2E,4E*)-etil dodeca-2,4-dienoato (6,1 g) se disolvió en n-heptano (120 ml) y se enfrió a -70 °C. Se añadió gota a gota DIBAL-H en hexanos (82 ml) y la mezcla se agitó a -70 °C durante 45 min. Se añadieron salmuera (60 ml) y dietil éter (100 ml) y la mezcla se agitó durante 45 min mientras se calentaba a TA. La capa orgánica se separó y se lavó con HCl 1 N, se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró. Se aisló un líquido incoloro que solidificó con un ligero enfriamiento.

(*2E,4E*)-1-Azidododeca-2,4-dieno



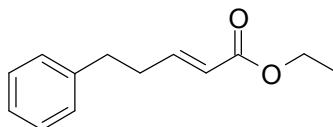
Se disolvió (*2E,4E*)-Dodeca-2,4-dien-1-ol (4,95 g) en tolueno seco (110 ml) y se añadió difenilfosfinil azida (7,92 g). Se añadió gota a gota DBU (4,91 ml). La mezcla se volvió opaca tras desprendimiento de calor. El disolvente se evaporó y se añadió dietil éter al residuo. La mezcla de reacción se lavó con HCl 1 M, NaOH 1 M y salmuera y la capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró para dar un líquido amarillo claro. El producto en bruto se filtró sobre gel de sílice.

(*2E,4E*)-Dodeca-2,4-dien-1-amina

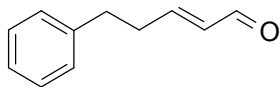


En atmósfera de nitrógeno, LiAlH₄ 1 M en dietil éter (2,89 ml) se diluyó con dietil éter seco (30 ml) y se enfrió en un baño de hielo. Se añadió lentamente una solución de (*2E,4E*)-1-azidododeca-2,4-dieno (1 g) en dietil éter seco (10 ml). La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h, el baño de hielo se retiró y se continuó la agitación durante 1 h mientras se calentaba a temperatura ambiente. Se añadió agua con cuidado hasta que cesó el desprendimiento de gas y la mezcla de reacción se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró para dar un líquido amarillo.

(*2E*)-5-fenilpent-2-enoato de etilo



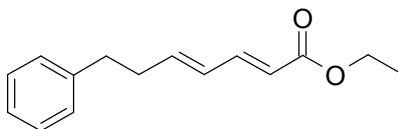
Se suspendió hidruro de sodio (60 % en peso, 181 mg) en tetrahidrofurano seco (5 ml) y se enfrió a 0 °C. Se añadió gota a gota trietil fosfonoacetato (896 µl). La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 30 min. Después de enfriar a -78 °C se añadió gota a gota 3-fenilpropionaldehído (500 µl). La mezcla de reacción se agitó a esta temperatura durante 1 h. Se dejó calentar la mezcla de reacción a temperatura ambiente, se hidrolizó con agua/THF, se vertió en agua y la capa acuosa se extrajo dos veces con EtOAc. La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, y se concentró. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna instantánea.

(2E)-5-fenilpent-2-enal

5 Una solución de (*E*)-etil 5-fenilpent-2-enoato (732 mg) en tolueno seco (5 ml) se enfrió a -78 °C. Se añadió gota a gota DIBAL-H (1 M en hexanos, 7,17 ml) y la mezcla se agitó durante 3 h. Se añadió una segunda porción de DIBAL-H (1 M en hexanos, 0,717 ml) y la agitación continuó durante otras 3 h. La mezcla se dejó calentar a RT y se hidrolizó con HCl acuoso 1 M (5 ml). Se añadió HCl acuoso 3 adicional hasta un pH=1 y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (3x). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, y se concentró. El

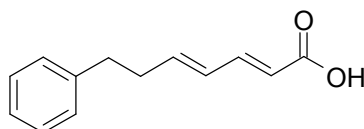
10 producto en bruto se disolvió en diclorometano (5 ml) y se añadieron TEMPO (28,0 mg), bromuro de potasio (42,6 mg) y agua (5 ml). Se añadió gota a gota solución acuosa de hipoclorito de sodio (13 %, 1,642 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 h. Después de la separación de fase la capa acuosa se extrajo con CH₂Cl₂. La capa orgánica combinada se lavó con HCl 1 M, agua y salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró. El

15 producto en bruto se purificó por cromatografía instantánea en columna para producir un aceite ligeramente anaranjado.

(2E,4E)-7-fenilhepta-2,4-dienoato de etilo

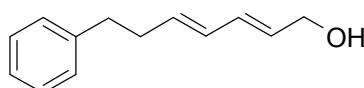
20 Se suspendió hidruro de sodio (60 % en peso, 74,0 mg) en tetrahidrofurano (5 ml) y se enfrió a 0 °C. Se añadió gota a gota trietil fosfonoacetato (0,367 ml). La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 30 min y posteriormente se enfrió a -78 °C después de lo cual se añadió gota a gota (*E*)-5-fenilpent-2-enal (247 mg). La mezcla de reacción se agitó a esta temperatura durante 1 h. Se retiró el baño de enfriamiento y la mezcla de reacción se agitó durante una

25 hora adicional. La mezcla de reacción se hidrolizó con agua/THF, se vertió en agua y la capa acuosa se extrajo dos veces con EtOAc. La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, y se concentró. El producto en bruto se usó tal cual en la siguiente etapa.

Ácido (2E,4E)-7-fenilhepta-2,4-dienoico

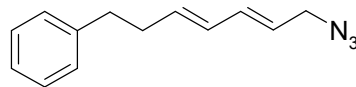
30 Se disolvió (*2E,4E*)-etil 7-fenilhepta-2,4-dienoato (355 mg) en metanol (5 ml). Se añadió hidróxido de sodio acuoso 2 M (1,002 ml) y la suspensión resultante se calentó a 60 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 2 h. Después de enfriar a temperatura ambiente la mezcla se acidificó con HCl acuoso 1 M y se extrajo tres veces con EtOAc. La

35 capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró para producir un sólido blanco mate. El residuo se trató con NaOH acuoso 1 M (10 ml) y se extrajo con Et₂O. La capa acuosa se acidificó con HCl acuoso 2 M y se extrajo dos veces con EtOAc. La capa combinada de EtOAc se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró.

(2E,4E)-7-fenilhepta-2,4-dien-1-ol

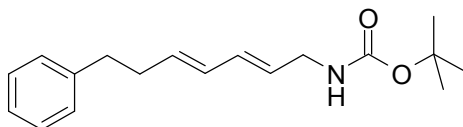
45 Una solución de (*2E,4E*)-7-fenilhepta-2,4-dienoato de etilo (7,32 g) en tolueno seco (75 ml) se enfrió a -78 °C. Se añadió DIBAL-H (1M en hexanos, 65,2 ml) gota a gota y la mezcla se agitó durante 3 h. Se dejó calentar la mezcla a temperatura ambiente y se hidrolizó con HCl acuoso 1 M con enfriamiento en un baño de hielo/agua. Se añadió más HCl acuoso 3 M hasta pH=1. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo tres veces con EtOAc. La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, y se concentró. El producto en bruto se purificó

50 por cromatografía en columna para producir un aceite incoloro.

[(3E,5E)-7-azidohepta-3,5-dien-1-il]benceno

5 Se disolvió (2E,4E)-7-fenilhepta-2,4-dien-1-ol (6,8 g) en tolueno seco (130 ml) y se enfrió en un baño de hielo-sal. Se añadió fosforazidato de difenilo (7,83 ml), seguido de adición gota a gota de DBU (6,53 ml) en tolueno seco (15 ml). La mezcla se agitó durante 15 h mientras se calentaba a temperatura ambiente. Los disolventes se evaporaron y el residuo se dividió entre dietil éter y NaOH 1 N. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró. La purificación por cromatografía en columna produjo un líquido incoloro.

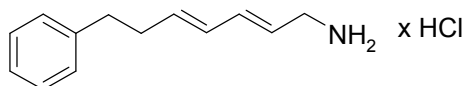
10

[(2E,4E)-7-fenilhepta-2,4-dien-1-il]carbamato de terc-butilo

15 En una atmósfera de nitrógeno, LiAlH₄ (4N en dietil éter, 4,50 ml) y dietil éter seco (200 ml) se enfriaron a 0 °C. Una solución de [(3E,5E)-7-azidohepta-3,5-dien-1-il]benceno (6,4 g) en dietil éter seco (70 ml) se añadió gota a gota y la mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h, luego a temperatura ambiente durante 1 h. Se añadió agua gota a gota hasta que cesó el desprendimiento de gas. La mezcla se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró para dar la amina intermedia como un líquido amarillo. La amina intermedia (5,6 g) se disolvió en diclorometano (150 ml) y se enfrió a 0 °C. Se añadió trietilamina (4,60 ml), seguido de Boc₂O (6,97 ml). El baño de enfriamiento se retiró y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 h. Se añadió agua (200 ml) y se separó la capa orgánica. La capa acuosa se extrajo con diclorometano (200 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna para producir un líquido incoloro.

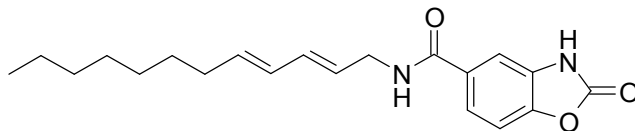
20

25

(2E,4E)-7-fenilhepta-2,4-dien-1-amina

30 Se disolvió (2E,4E)-7-fenilhepta-2,4-dienilcarbamato de terc-butilo (800 mg) en ácido clorhídrico en dioxano (4,0 M, 8,35 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. El disolvente se evaporó y co-evaporó dos veces con Et₂O, se añadió Et₂O, los sólidos se filtraron bajo una corriente de nitrógeno para producir el producto como un sólido blanco mate.

35 **Síntesis del Ejemplo 4**
Ejemplo 4



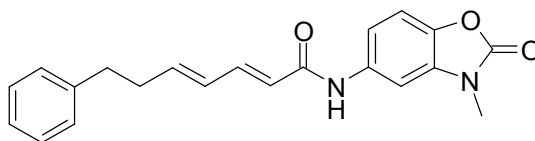
40 A una solución enfriada (0 °C) de ácido 2-oxo-2,3-dihidrobenzo[d]oxazol-5-carboxílico (150 mg) y (2E,4E)-dodeca-2,4-dien-1-amina (138 mg) en diclorometano (3 ml) y N,N-dimetilformamida seca (2 ml) se añadió EDCI.HCl (161 mg) seguido de 1-hidroxi-7-azabenzotriazol (10,36 mg) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El material en bruto se disolvió en EtOAc y se eluyó sobre una almohadilla de gel de sílice usando EtOAc seguido por evaporación bajo presión reducida para producir un sólido amarillo en bruto. Al sólido en bruto se añadió H₂O y EtOAc, la mezcla se calentó mientras se agitaba vigorosamente hasta que ocurrió una disolución completa. Después de la separación de las capas mientras estaba caliente, la capa orgánica de EtOAc se filtró usando un separador de fases y se evaporó a sequedad a presión reducida. Una purificación adicional por cromatografía en columna de fase inversa dio el producto como un sólido blanco.

45

50

Síntesis del Ejemplo 10

Ejemplo 10



5 A una suspensión de 5-amino-3-metil-1,3-benzoxazol-2(3H)-ona (125 mg) y ácido (2E,4E)-7-fenilhepta-2,4-dienoico (140 mg) en diclorometano (3 ml) y N,N-dimetilformamida seca (2 ml) se añadió EDCI.HCl (146 mg) seguido de 1-hidroxi-7-azabenzotriazol (9,42 mg) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se concentró y purificó por cromatografía en columna instantánea (10-70 % EtOAc en heptano) para producir el producto como un sólido blanco.

10 Los Ejemplos 1 a 3, 5 a 9 y 11 a 17 como se indican en la Tabla 1 anterior se han preparado en una manera análoga a la de los Ejemplos 4 y 10 usando los respectivos compuestos de partida.

Ensayos biológicos

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

20 Para el receptor CB₁, los experimentos de unión se realizaron en presencia de 0,5 nM del radioligando [³H]CP55,940 (168 Ci/mmoles) (Perkin Elmer, Waltham, MA, EUA) a 30 °C en frascos de vidrio siliconizado junto con 8,0 µg de membrana que sobre-expresa recombinantemente el CB₁ (No. RBHCB1M, Perkin Elmer, Waltham, MA, EUA), que se resuspendió en 0,5 ml (volumen final) de tampón de ensayo (TRIS-HCl 50 mM, EDTA 2,5 mM, MgCl₂ 5 mM, 0,5 mg/ml de BSA libre de ácido graso, pH 7,4). Los compuestos de prueba estuvieron presentes en concentraciones variables y la unión no específica del radioligando se determinó en presencia de WIN55,212-2 10 µM (Tocris Cookson Ltd., Bristol, RU). Después de 2 h de incubación, la suspensión se filtró rápidamente a través de 0,1 µm de polietilenoimina remojada previamente UniFilter®-96 GF/B (Perkin Elmer, Boston MA, EUA) lavada doce veces con 167 µl de tampón de ensayo enfriado con hielo. La radioactividad en las placas secadas y selladas se midió en un contador de centelleo líquido Perkin Elmer 1450 Microbeta TRILUX en un cóctel de centelleo de 40 µl MicroScint 20 (Perkin Elmer, Waltham, MA, EUA). 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 se linealizaron gráficamente proyectando gráficos de Hill, que permitieron el cálculo de los valores de IC₅₀. Derivado de la constante de disociación (K_D) de [³H]CP55,940 y el desplazamiento dependiente de la concentración (el valor de IC₅₀), las constantes de inhibición (K_i) de los compuestos competidores se calcularon usando la ecuación de Cheng-Prusoff [K_i = IC₅₀/(1 + L/K_D)].

35 Para los estudios de unión del receptor de CB₂ se resuspendieron 3,8 µg de membrana que sobre-expresa recombinantemente CB₂ (No. RBXCB2M, Perkin Elmer, Waltham, MA, EUA) en 0,5 ml de tampón de ensayo (véase lo anterior) junto con 0,5 nM del radioligando [³H]CP55,940. El ensayo de unión del CB₂ se realizó en la misma manera como para CB₁.

40 B. Mediciones de la concentración micelar crítica (CMC)

La micelización seca se realizó 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):494-503. Los compuestos (de soluciones de reserva 2 mM) se mezclaron a concentraciones incrementales con 0,1 nM de fluoresceína (ácido libre, 99 %, Fluka, Suiza) a temperatura ambiente en agua destilado Nanopure. Los experimentos se realizaron en placas de microtitulación de 96 pocillos (excitación a 485 nm, emisión a 535 nm). Ya 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 concentración donde se detectó el primer aumento estadísticamente significativo en la fluorescencia. A una resolución apropiada del intervalo de concentración este aumento no fue gradual sino súbito.

50 C. Captación celular de [³H]-AEA

55 Se cultivaron células de linfoma humano U937 en medio RPMI 1640 (Invitrogen, Basel, Suiza) suplementado con 10 % de suero bovino fetal, 1 g/ml de fungizona (amfotericina B), 100 unidades/ml de penicilina, 100 g/ml estreptomycin y 2 mM L-glutamina (todas de Invitrogen) y se seleccionaron para el ensayo de captación celular de AEA. Se recolectaron 2,5 x 10⁶ células y se suspendieron en 250 µl de medio RPMI 1640 (Invitrogen, Basel, Suiza) a 37 °C usando frascos de vidrio silanizado. Las células se pre-incubaron 15 min a 37 °C en presencia de compuestos de prueba en un intervalo de concentración de 10⁻¹¹ - 10⁻⁵ M o en presencia de la misma cantidad (5 µl) de control de vehículo (DMSO). Luego se añadió una mezcla de 0,5 nM [³H]-AEA (60 Ci/mmoles) (American Radiolabeled

Chemicals, Inc., San Louis, MO, EUA) y 99,5 nM de AEA no radiactivo (Tocris Cookson Ltd., Bristol, RU) que dio como resultado una concentración final de 100 nM AEA y las muestras se incubaron a 37 °C durante otros 15 minutos. La reacción se detuvo por filtración rápida sobre UniFilter®-96 GF/C (Perkin Elmer, Boston MA, EUA) pre-remojado con PBS 0,25 % BSA (p/v). Las células se lavaron tres veces con tampón de PBS enfriado en hielo que contenía BSA al 1 % libre de ácido graso (NaCl 137 mM, KCl 2,7 mM, Na₂HPO₄ 10 mM, KH₂PO₄ 1,76 mM, BSA al 1 % libre de ácido graso, pH 7,4), se secaron y se añadieron 40 µl de cóctel de centelleo de MicroScint 20 (Perkin Elmer, Waltham, MA, EUA). Se midió la radiactividad usando un contador de centelleo líquido Perkin Elmer 1450 Microbeta TRILUX. Los resultados se expresaron como % de captación de AEA contra las células tratadas con disolvente y se calcularon los valores de EC₅₀ e IC₅₀ de las curvas sigmoideas, que se generaron usando el GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA).

Tabla 2: Inhibición del transporte de araquidonoiletanolamida (AEAT) (Determinación como se describe en los ensayos biológicos C)

Ejemplo	Captación de AEAT a 250 nM % de control	Captación de AEAT a 1 µM % de control	AEAT EC ₅₀ (nM)
2			4.0
3			35
4			146
5			30
6			272
7			10
8			64
9			17
10			112
11	36		
12	19	6	
13			89
15			755
17			898

D. Inhibición de ácido graso amida hidrolasa (FAAH)

La actividad de FAAH se evaluó usando cerebro de cerdo u homogenado U937 de acuerdo con el método descrito por Omeir et. al. Arachidonoyl ethanolamide-[1,2-¹⁴C] as a substrate for anandamide amidase. Life sciences 56, 1999-2005 (1995) y adaptado por Fowler et al. Selective inhibition of anandamide cellular uptake versus enzymatic hydrolysis—a difficult issue to handle. European journal of pharmacology 492, 1-11 (2004).

Brevemente, 10 µl de vehículo o control positivo URB597 (Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, EUA) dando como resultado una concentración final de 100 nM o del inhibidor a concentraciones adecuadas se pre-incubaron a 37 °C durante 15 min a 450 rpm con 490 µl de cerebro de cerdo diluido (200 µg por muestra) u homogenado U937 (0,63 mg de proteína por muestra corr. 10⁶ U937 células) en tampón de actividad de FAAH (10 mM Tris-HCl y EDTA 1 mM, pH 8,0, BSA al 0,1 % p/v libre de ácido graso (Sigma, San Louis, MO, EUA)). Una mezcla de 0,5 nM [³H]AEA (60 Ci/mmoles) y 99,5 nM de AEA no radioactivo lo que da como resultado una concentración total de 100 nM AEA se añadió y se incubó durante 15 min. Sucesivamente, 1 ml de una mezcla 1:1 (v/v) de metanol:clorofórm se añadió a cada muestra y, después de un vórtice vigoroso, las fases acuosa y orgánica se separaron por centrifugación a 10.000 rpm durante 10 min a 4 °C. La radiactividad asociada a la [³H]-etanolamina (producida por degradación catalizada por FAAH de [³H]-AEA) se midió con la adición de 3 ml de líquido de centelleo Ultima Gold (Perkin Elmer, Waltham, MA, EUA) a la fase acuosa (superior), usando un Analizador de Centelleo líquido PACKARD TRI-CARB 2100TR. Los resultados se expresaron como % de actividad de FAAH contra homogenado tratado con vehículo. Los datos recogidos se normalizaron por sustracción de una señal no específica a una inhibición total de FAAH por URB597. Los valores únicos de la inhibición de FAAH o los valores de IC₅₀ de las curvas sigmoideas generadas se calcularon usando GraphPad Prism 5.0 (Software GraphPad, San Diego, CA, EUA).

E. Inhibición de monoacilglicerol lipasa (MAGL)

La actividad de MAGL se evaluó usando el Kit de Ensayo de Examen de Inhibidor de Monoacilglicerol Lipasa (Cayman Chemicals, MI, EUA) y el procedimiento experimental se realizó de acuerdo con el protocolo del kit. Brevemente, 10 µl de compuestos de prueba a diferentes concentraciones (intervalo 0,1-20 µM) se añadieron a 150 µl de tampón de ensayo, 10 µl de MAGL recombinante humano y 10 µl de araquidonoil-1-tio-glicerol (150 µM en el ensayo). La placa se incubó a temperatura ambiente durante 5 min, después de lo cual 10 µl de DTNB (ácido 5,

5' ditiobis-(2-nitrobenzoico), reactivo de Ellman) se añadió a cada pocillo. La placa se agitó durante 10 segundos y la absorbancia se midió a 415 nm usando un espectrofluorímetro Genius Pro (Tecan, Grodig, Austria). La actividad enzimática inicial al 100 % se calculó usando disolvente en lugar de los compuestos de prueba, mientras que el fondo se midió sin la enzima recombinante humana. La plantilla se restó de cada valor y los resultados se expresaron como % de la actividad enzimática.

F. Modelo *in vivo* para prurito asociado con el modelo de oxazolona de una reacción de ultrasensibilidad del tipo retardado

La actividad del rascado en ratones se mide después de la aplicación tópica del compuesto de prueba. Se midió el grosor de la oreja y se determinaron los parámetros de histología (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).

Ejemplos de composición farmacéutica

Composición del Ejemplo 9:

Crema	
Compuesto del Ejemplo 9	1,00
Alcohol cetosteárico	7,00
Macrogol-6-cetosteárico éter	1,50
Macrogol-25-cetosteárico 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

Composición del Ejemplo 7:

Gel	
Compuesto del Ejemplo 7	0,50
Etanol	15,00
Polioxil 40 Aceite de ricino hidrogenado	1,00
Butilhidroxitolueno	0,04
Edetato disódico	0,05
Carbómero	0,50
Trietanolamina	0,70
Agua	82,21

Aplicabilidad industrial - Utilidad

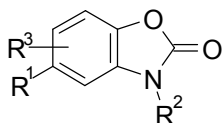
Los resultados antes mencionados muestran claramente los efectos técnicos mejorados proporcionados por los compuestos 1,3-benzoxazol-2(3H)-ona de la presente invención. Se ha encontrado, sorprendentemente, por los presentes inventores que estos compuestos son adecuados como ingredientes activos en las composiciones cosméticas y farmacéuticas, preferentemente los agentes dermatológicos. Además, los compuestos han mostrado ser efectivos para tratar y/o prevenir diversas enfermedades y afecciones incluyendo, pero no limitada a inflamación, irritación, comezón, prurito, dolor, edema, y/o afecciones pro-alérgicas o alérgicas, en particular cuando son aplicadas tópicamente a la piel o la mucosa en forma de producto farmacéutico o composiciones cosméticas que contienen un portador adecuado, preferentemente un portador apolar. En particular, la inflamación inducida por las señales de estrés celular puede atenuarse efectivamente por estos compuestos. Además, los compuestos de la invención son efectivos en el tratamiento/prevenición de afecciones de crecimiento del cabello (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 soriasis), crecimiento excesivo del cabello (por ejemplo hirsutismo), diferentes formas de dermatitis, afecciones de la piel seca y/o esclerosis sistémica (por ejemplo

5 escleroderma). Los compuestos de las fórmulas (1) y/o (2) son moduladores del sistema endocannabinoide y, como tales, son útiles en el tratamiento, control o prevención de las enfermedades, trastornos o afecciones antes mencionadas, que responden a uno o más constituyentes del sistema endocannabinoide incluyendo, pero no limitado a 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 sumamente activos, incluso si la cantidad de compuesto activo se reduce en comparación con los compuestos de la técnica anterior, y muestra menos efectos secundarios indeseables.

10 Aunque la invención se ha descrito e ilustrado con respecto a ciertas realizaciones preferidas de la misma, los expertos en la materia apreciarán que pueden hacerse diversos cambios, modificaciones y sustituciones, por ejemplo, las dosis efectivas, diferentes de las dosis preferidas como se ha expuesto antes, pueden ser aplicables como resultado de las respuestas farmacológicas específicas observadas y pueden variar dependiendo del compuesto activo particular seleccionado, así como del tipo de formulación y del modo de administración empleado, y tales variaciones o diferencias esperadas en los resultados se contemplan de acuerdo con los objetivos y las prácticas de la presente invención. Por lo tanto, se pretende que la invención esté limitada solo por el alcance de las siguientes reivindicaciones y que tales reivindicaciones sean interpretadas tan ampliamente como sea razonable.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (1)



fórmula (1)

5 y los enantiómeros, diastereómeros, tautómeros, solvatos y sales farmacéuticamente aceptables del mismo,

en donde

R¹ se selecciona del grupo que consiste en

10 $-(CH_2)_nN(R^4)C(O)R^5$ y
 $-C(O)NR^4R^6$;

R² se selecciona del grupo que consiste en

15 hidrógeno,
 -alquilo C₁₋₆, opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de halógeno, OH,
 Oalquilo C₁₋₆, Ocicloalquilo C₃₋₇,
 -cicloalquilo C₃₋₇, opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de halógeno, OH,
 Oalquilo C₁₋₆, Ocicloalquilo C₃₋₇,
 20 -(cicloalquilo C₃₋₇)-alquilo C₁₋₆, opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de
 halógeno, OH, Oalquilo C₁₋₆, Ocicloalquilo C₃₋₇;

R³ es hidrógeno, halógeno, hidroxilo, metoxi o -CN;

R⁴ es hidrógeno o alquilo C₁₋₆;

25 R⁵ se selecciona de alquilo C₈₋₁₅, alquenilo C₈₋₁₅, alquinilo C₈₋₁₅, (aril C₆₋₁₀)-alquilo C₆₋₁₀, (aril C₆₋₁₀)-alquenilo C₆₋₁₀ y
 (aril C₆₋₁₀)-alquinilo C₆₋₁₀, en donde el arilo está opcionalmente sustituido;

30 R⁶ se selecciona de alquilo C₉₋₁₆, alquenilo C₉₋₁₆, alquinilo C₉₋₁₆, (aril C₆₋₁₀)-alquilo C₇₋₁₁, (aril C₆₋₁₀)-alquenilo C₇₋₁₁ y
 (aril C₆₋₁₀)-alquinilo C₇₋₁₁, en donde el arilo está opcionalmente sustituido;

n es 0, 1, o 2.

2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde en la fórmula (1)

35 R¹ es $-(CH_2)_nN(R^4)C(O)R^5$, en donde n es 0 o 1, preferentemente 0;

R² es hidrógeno o alquilo C₁₋₆, opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de halógeno,
 OH, Oalquilo C₁₋₆, Ocicloalquilo C₃₋₇;

R³ es hidrógeno o halógeno, preferentemente hidrógeno;

R⁴ es hidrógeno; y

40 R⁵ se selecciona de alquilo C₈₋₁₅, alquenilo C₈₋₁₅, (aril C₆₋₁₀)-alquilo C₆₋₁₀ y (aril C₆₋₁₀)-alquenilo C₆₋₁₀, en donde el arilo
 está opcionalmente sustituido.

3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde en la fórmula (1)

45 R¹ es $-C(O)NR^4R^6$;

R² es hidrógeno o alquilo C₁₋₆, opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de halógeno,
 OH, Oalquilo C₁₋₆, Ocicloalquilo C₃₋₇;

R³ es hidrógeno o halógeno, preferentemente hidrógeno;

R⁴ es hidrógeno; y

50 R⁶ se selecciona de alquilo C₉₋₁₆, alquenilo C₉₋₁₆, (aril C₆₋₁₀)-alquilo C₇₋₁₁ y (aril C₆₋₁₀)-alquenilo C₇₋₁₁, en donde el arilo
 está opcionalmente sustituido.

4. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 y/o la reivindicación 2, en donde

R¹ es $-(CH_2)_nN(R^4)C(O)R^5$, en donde n es 0;

R² es hidrógeno o metilo;

55 R³ es hidrógeno;

R⁴ es hidrógeno; y

R⁵ se selecciona de alquilo C₈₋₁₅, alquenilo C₈₋₁₅ que tiene 1, 2, o 3 dobles enlaces, (aril C₆₋₁₀)-alquilo C₆₋₁₀ y
 (aril C₆₋₁₀)-alquenilo C₆₋₁₀ que tiene 1 o 2 dobles enlaces.

60

5. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 y/o la reivindicación 3, en donde en la fórmula (1)
R¹ es -C(O)NR⁴R⁶;
R² es hidrógeno o metilo;
R³ es hidrógeno;
5 R⁴ es hidrógeno; y
R⁶ se selecciona de alquilo C₉₋₁₆, alquenilo C₉₋₁₆ que tiene 1, 2, o 3 dobles enlaces, (aril C₆₋₁₀)-alquilo C₇₋₁₁ y (aril C₆₋₁₀)-alquenilo C₇₋₁₁ que tiene 1 o 2 dobles enlaces.
- 10 6. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2 y/o 4, en donde
R¹ es -(CH₂)_nN(R⁴)C(O)R⁵, en donde n es 0;
R² es hidrógeno o metilo;
R³ es hidrógeno;
R⁴ es hidrógeno; y
15 R⁵ se selecciona de alquilo C₈₋₁₂, alquenilo C₈₋₁₂ que tiene 2 dobles enlaces, (aril C₆₋₁₀)-alquilo C₆₋₈ y (aril C₆₋₁₀)-alquenilo C₆₋₈ que tiene 2 dobles enlaces.
- 20 7. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 6, en donde
R⁵ se selecciona de alquilo C₈₋₁₂, alquenilo C₈₋₁₂ que contiene un resto (2E,4E)-dieno, (aril C₆₋₁₀)-alquilo C₆₋₈ y (aril C₆₋₁₀)-alquenilo C₆₋₈ que contiene un resto (2E,4E)-dieno.
- 25 8. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1, 3 y/o 5, en donde en la fórmula (1)
R¹ es -C(O)NR⁴R⁶;
R² es hidrógeno o metilo;
R³ es hidrógeno;
R⁴ es hidrógeno; y
30 R⁶ se selecciona de alquilo C₉₋₁₃, alquenilo C₉₋₁₃ que tiene 2 dobles enlaces, (aril C₆₋₁₀)-alquilo C₇₋₉, y (aril C₆₋₁₀)-alquenilo C₇₋₉ que tiene 2 dobles enlaces.
- 35 9. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 8, en donde
R⁶ se selecciona de alquilo C₉₋₁₃, alquenilo C₉₋₁₃ que contiene un resto (2E,4E)-dieno, (aril C₆₋₁₀)-alquilo C₇₋₉ y (aril C₆₋₁₀)-alquenilo C₇₋₉ que contiene un resto (2E,4E)-dieno.
- 40 10. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, para su uso como un medicamento, preferentemente como un agente dermatológico.
- 45 11. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, para su uso en el tratamiento y/o prevención de inflamación, irritación, comezón, prurito, dolor, edema y/o afecciones pro-alérgicas o alérgicas, preferentemente 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 del cabello, dermatitis, afecciones de piel seca y/o esclerosis sistémica.
- 50 12. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, que se aplica tópicamente en la piel o la mucosa de un mamífero.
13. Uso no terapéutico del compuesto como se ha definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1-9 como un cosmético, preferentemente para el tratamiento cosmético de la piel y/o la mucosa de un mamífero.
14. Composición que comprende el compuesto como se ha definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1-12 y un portador farmacéutica y/o cosméticamente aceptable, preferentemente un portador apolar, en donde la composición preferentemente es un linimento, crema para la piel, gel o loción.