

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 643 438**

51 Int. Cl.:

C07D 309/40 (2006.01) **A61P 17/00** (2006.01)

C07C 69/618 (2006.01)

C07C 323/20 (2006.01)

C07C 235/34 (2006.01)

C07C 235/38 (2006.01)

C07D 209/16 (2006.01)

C07D 211/06 (2006.01)

C07D 295/192 (2006.01)

A61Q 19/08 (2006.01)

A61K 31/216 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.01.2014 PCT/FR2014/050017**

87 Fecha y número de publicación internacional: **17.07.2014 WO14108629**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.01.2014 E 14703109 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.08.2017 EP 2943478**

54 Título: **Nuevos derivados del ácido sinapínico**

30 Prioridad:

08.01.2013 FR 1350125

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

22.11.2017

73 Titular/es:

**PHARMASYNTHÈSE (100.0%)
57 rue de Gravetel
76320 Saint-Pierre-Les-Elbeuf, FR**

72 Inventor/es:

**LE ROY, PIERRE-YVES y
LE GUEN, YVES**

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

Observaciones :

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

ES 2 643 438 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

Nuevos derivados del ácido sinapínico.

- 5 La presente invención tiene por objeto nuevos derivados del ácido sinapínico y la utilización de estos derivados para aplicaciones cosméticas o farmacéuticas.

Antioxidantes

- 10 La oxidación forma parte de una reacción de oxidorreducción que transfiere unos electrones de una sustancia hacia un agente oxidante. Esta reacción puede producir unos radicales libres que provocan unas reacciones en cadena. Aunque las reacciones de oxidación son necesarias para la vida, también pueden ser destructivas.

- 15 El estrés oxidativo se ha cuestionado en la patogénesis de numerosas enfermedades humanas. Así, el estrés oxidativo puede dañar, incluso matar las células y puede ser una causa parcial del desarrollo de varias enfermedades degenerativas crónicas que incluyen el cáncer, la disfunción cardíaca y la degeneración neuronal. Se conoce también que unas moléculas oxidantes pueden dañar unas moléculas biológicas tales como las proteínas, los lípidos o el ADN. Aunque el cuerpo humano ha desarrollado unas herramientas de lucha contra los radicales libres, el proceso de eliminación no es eficaz al 100%.

- 20 En la actualidad se acepta ampliamente que el estrés oxidativo está implicado en el proceso de envejecimiento de las células de la piel (Ames, B. N., Shigenaga, M. K. y Hagen, T. M. (1993), «Oxidants, Antioxidants, and the Degenerative Diseases of Aging», Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90, 7915-7922). Los antioxidantes son, por lo tanto, susceptibles de retrasar el envejecimiento cutáneo.

- 25 Los antioxidantes son capaces de detener estas reacciones en cadena reduciéndose con los radicales libres, aniquilando así su acción. Así, las plantas y los animales utilizan y producen numerosos antioxidantes, es decir unas moléculas susceptibles de disminuir o impedir la oxidación de otras sustancias químicas.

- 30 En el marco del tratamiento cosmético del envejecimiento cutáneo, es útil por lo tanto identificar unos compuestos que tengan una actividad antioxidante.

Elastina

- 35 La elastina es una proteína de la familia de las proteínas fibrosas de tipo estructural. La elastina es sintetizada y segregada en el espacio extracelular por los fibroblastos, en primer lugar en proelastina, y después en tropoelastina.

- 40 La elastina es el componente principal de las fibras elásticas.

- La elastina se encuentra en la dermis de la piel, actuando ésta como soporte. El buen funcionamiento de la piel, en particular, está estrechamente relacionado con las características de la elastina, que puede estirarse hasta el 150% de su longitud en reposo antes de romperse.

- 45 Así, permite que los tejidos se estiren y vuelvan a encontrar su estado inicial después del estiramiento, lo cual les da flexibilidad.

- 50 Por otro lado, la producción total de elastina se detiene alrededor de la pubertad, después de lo cual, la cantidad de elastina disponible disminuirá con el tiempo, lo cual conllevará, por ejemplo, durante el envejecimiento, una pérdida de elasticidad y de tonicidad de la dermis que ya no puede oponerse a los efectos de contracción de los músculos sub-yacentes, dando lugar a la aparición de arrugas.

- 55 En el marco del tratamiento cosmético del envejecimiento cutáneo, es útil por lo tanto identificar unos compuestos capaces de inducir un aumento significativo de la neosíntesis de elastina.

Colágeno

- 60 El colágeno es una familia de proteínas, generalmente presente en forma fibrilar. Está presente en la matriz extra-celular de los organismos. Estas proteínas tienen como función conferir a los tejidos una resistencia mecánica al estiramiento.

- 65 Contrariamente a la elastina presente también en los tejidos conjuntivos, el colágeno es inextensible y resiste bien a la tracción. Existen diferentes tipos de colágeno según el órgano considerado. Por ejemplo, el colágeno de tipo I (que representa el 90% del colágeno de un vertebrado) constituye la trama del hueso (comparable a los almacenes de hormigón armado), y más generalmente de los tejidos conjuntivos banales. Se encuentra en los huesos, la piel, los tendones, la córnea y los órganos internos.

La producción de colágeno en la piel empieza a disminuir a partir de los 25 años, pero esta ralentización se acelera en la cuarentena, con una pérdida colagénica que podría girar a alrededor del 1% por año.

5 Consecuencias de la ralentización de la producción de colágeno y de sus alteraciones, la piel retiene menos agua, se vuelve menos flexible, se reduce y se arruga.

En el marco del tratamiento cosmético del envejecimiento cutáneo, es útil por lo tanto identificar unos compuestos que favorezcan la neosíntesis de colágeno de tipo I (pro-colágeno I).

10

Progerina

El envejecimiento cutáneo puede ser atribuido también a ciertas enfermedades bien conocidas, incluyendo la progeria o síndrome de Hutchinson-Gilford. Los síntomas de esta enfermedad se caracterizan por un envejecimiento acelerado que conduce a la muerte del paciente.

15

En esta patología, la lamina-A, una proteína que participa en la formación de la lamina nuclear e implicada en la estabilidad del núcleo de la estructura de la cromatina y de la expresión de los genes, está presente en una forma truncada denominada progerina.

20

Por otro lado, se ha demostrado recientemente (C. Verdy, J.-E. Branka y N. Mekideche, «Quantitative assessment of lactate and progerine production in normal human cutaneous cells during normal ageing: effect of an alaria esculenta extract», Int. J. Cosmetic Science, 2011, 1-5) que unos extractos de alga *Aleria esculenta*, que inducen una disminución significativa de la neo-síntesis de progerina, mostraban asimismo un efecto notable sobre una actividad anti-edad de la piel.

25

En el marco del tratamiento cosmético del envejecimiento cutáneo o del tratamiento terapéutico del envejecimiento cutáneo, en particular de la enfermedad de Hutchinson-Gilford, es útil por lo tanto identificar unos compuestos que permitan disminuir la neosíntesis de progerina.

30

Glicerol

El tejido adiposo (masa grasa) es un tejido conjuntivo especial cuya constitución se parece a la de un tejido conjuntivo, con una sustancia fundamental, unas fibras y sus células. Es de hecho un tejido conjuntivo que contiene unas células grasas que almacenan los lípidos, denominadas "adipocitos".

35

Estas reservas de lípidos están constituidas por triglicéridos. Estos triglicéridos se sintetizan en el interior del adipocito, pero la endocitosis, es decir la difusión de estos triglicéridos a través de la membrana citoplasmática, no está facilitada. El adipocito segregará por lo tanto en la sangre una lipasa para escindir los triglicéridos en ácido graso y glicerol, que son fácilmente asimilables por el adipocito. El mecanismo inverso se efectúa en la excreción de las reservas lipídicas por medio de una enzima, la lecitina.

40

En el marco de un tratamiento cosmético adelgazante, es útil por lo tanto identificar unos compuestos que permitan disminuir la tasa de glicerol en los tejidos adiposos.

45

Melano-moduladores

La epidermis, el cabello y el pelo se colorean mediante unos pigmentos, las melaninas, producidas por unas células especializadas de gran tamaño: los melanocitos. Están situados en la capa más profunda de la epidermis. Estos pigmentos melánicos sirven para proteger la epidermis y las capas profundas de la piel de las agresiones externas, en particular de los rayos ultravioletas. Las melaninas desempeñan así un papel fotoprotector importante. La biosíntesis de melanina se efectúa según una serie compleja de reacciones enzimáticas denominada melanogénesis.

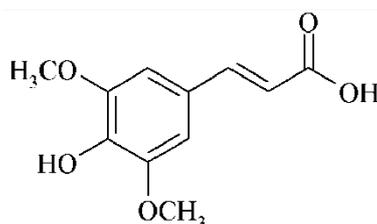
50

En el marco de un tratamiento cosmético de blanqueamiento de la piel o de aclaramiento de la piel, es útil por lo tanto identificar unos compuestos que permitan regular (disminuir) la síntesis de melanina.

55

El ácido sinapínico, también denominado ácido sinápico o ácido 3,5-dimetoxi-4-hidroxicinámico, es un ácido fenólico de fórmula química:

60



El ácido sinapínico se encuentra en una amplia variedad de plantas, en particular en las plantas oleaginosas, en particular en las semillas de colza.

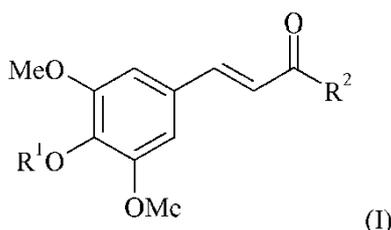
La utilización del ácido sinapínico y de sus derivados cercanos en el campo cosmético es conocida en la técnica anterior. Así, la solicitud de patente EP-A-1 437 117 describe la utilización del ácido sinapínico y de sus derivados cercanos para la preparación de composiciones cosméticas susceptibles de ser utilizadas en el marco del tratamiento anti-edad o anti-arrugas.

La solicitud de patente EP-A-1 967 175 describe por su parte la utilización de derivados del ácido sinapínico como agente blanqueante de la piel. También se sugiere una actividad anti-edad. No obstante, no se proporciona ningún resultado experimental que permita confirmar una actividad de este tipo.

Sin embargo, ninguna de estas solicitudes de patente describe los compuestos según la presente invención.

Ahora bien, se han encontrado ahora nuevos derivados del ácido sinapínico que, de manera totalmente sorprendente, son eficaces en el marco del tratamiento cosmético del envejecimiento cutáneo; en el marco del tratamiento terapéutico del envejecimiento cutáneo, en particular en el marco del tratamiento de la enfermedad de Hutchinson-Gilford; y/o en el marco de un tratamiento cosmético adelgazante.

La presente invención tiene por lo tanto por objeto un compuesto de fórmula general (I)



en la que:

- R¹ se selecciona como siendo un grupo alquilo de C₂-C₆ o un grupo -(C=O)-R³;
- R² se selecciona como siendo un grupo -O-R⁴ o -(N)R⁵R⁶;
- R³ se selecciona como siendo un grupo alquilo de C₁-C₆;
- R⁴ se selecciona como siendo un grupo alquilo de C₁₂-C₁₆, alquenoilo de C₁₂-C₁₆, alquinoilo de C₁₂-C₁₆, fenilo, 4-piranona, alquil C₁-C₁₆-fenilo, alquenoil C₂-C₁₆-fenilo, alquinoil C₂-C₁₆-fenilo, cicloalquilo de C₃-C₆, alquil C₁-C₁₆-cicloalquilo de C₃-C₆, alquenoil C₂-C₁₆-cicloalquilo de C₃-C₆ y alquinoil C₂-C₁₆-cicloalquilo de C₃-C₆; estando cada uno de estos grupos eventualmente sustituido por uno o varios sustituyentes seleccionados independientemente los unos de los otros como siendo un grupo hidroxilo, amino, alquilo de C₁-C₆, hidroxialquilo de C₁-C₆, alcoxi de C₁-C₆, alquil C₁-C₆-tio, alquil C₁-C₆-carboniloxi, fenilo, alcoxi C₁-C₆-fenilo, o alquenoil C₂-C₆-fenilo eventualmente sustituido por uno o varios sustituyentes seleccionados independientemente los unos de los otros como siendo un grupo alquilo de C₁-C₆, hidroxialquilo de C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, tioalquilo de C₁-C₆ o alquil C₁-C₆-carboniloxi;
- R⁵ y R⁶ se seleccionan independientemente el uno del otro como siendo un átomo de hidrógeno o un grupo seleccionado de entre alquilo de C₁-C₁₆, alquenoilo de C₂-C₁₆, alquinoilo de C₂-C₁₆, fenilo, alquil C₁-C₁₆-fenilo, alquenoil C₂-C₁₆-fenilo, alquinoil C₂-C₁₆-fenilo, alcoxi C₁-C₁₆-indol, cicloalquilo de C₃-C₆, alquil C₁-C₁₆-cicloalquilo de C₃-C₆, alquenoil C₂-C₁₆-cicloalquilo de C₃-C₆ y alquinoil C₂-C₁₆-cicloalquilo de C₃-C₆; estando cada uno de estos grupos eventualmente sustituido por uno o varios sustituyentes seleccionados independientemente los unos de los otros como siendo un grupo hidroxilo, amino, alquilo de C₁-C₆, hidroxialquilo de C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, tioalquilo de C₁-C₆, alquil C₁-C₆-carboniloxi, fenilo, alcoxi C₁-C₆-fenilo, o alquenoil C₂-C₆-fenilo eventualmente sustituido por uno o varios sustituyentes seleccionados

independientemente los unos de los otros como siendo un grupo alquilo de C₁-C₆, hidroxialquilo de C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, tioalquilo de C₁-C₆ o alquil C₁-C₆-carboniloxi;

- 5 - o R⁵ y R⁶ forman, con el átomo de nitrógeno al que están unidos, un heterociclo seleccionado de entre la piperidina, la morfolina, la hexametiliminina o la pirrolidina, eventualmente sustituido por uno o varios alquilo de C₁-C₆;

con la excepción de los compuestos siguientes:

- 10 - 4-acetoxi-3,5-dimetoxi-N-morfolino-cinamamida;
 - 4-acetoxi-3,5-dimetoxi-N-(2-metilmorfolino)-cinamamida; y
 - 4-acetoxi-3,5-dimetoxi-N-(3,4,5-trimetoxifenil)-cinamamida.

15 Los compuestos según la presente invención no se han descrito nunca anteriormente. Estos compuestos presentan una actividad antioxidante, son capaces de inducir un aumento significativo de la neosíntesis de la elastina y/o favorecen la neosíntesis del colágeno de tipo I (pro-colágeno I), permitiendo así su utilización en el marco del tratamiento cosmético del envejecimiento cutáneo.

20 Estos compuestos permiten también disminuir significativamente la neosíntesis de progerina y pueden, por lo tanto, ser utilizados en el marco del tratamiento terapéutico del envejecimiento cutáneo, en particular en el marco del tratamiento de la enfermedad de Hutchinson-Gilford, o en el tratamiento cosmético del envejecimiento cutáneo.

25 Los compuestos de la invención permiten disminuir la tasa de glicerol en los tejidos adiposos, y son, por lo tanto, útiles en el marco de un tratamiento cosmético adelgazante.

Finalmente, los compuestos de la invención permiten regular (disminuir) la síntesis de melanina y pueden, por lo tanto, ser utilizados en el marco de un tratamiento cosmético de blanqueamiento de la piel.

30 En el marco de la presente invención:

- se entiende por "alquilo de C_x-C_y", una cadena hidrocarbonada saturada, lineal o ramificada, y que comprende de x a y átomos de carbono;
- 35 - se entiende por "alqueno de C_x-C_y" una cadena hidrocarbonada insaturada, lineal o ramificada, que contiene por lo menos un doble enlace, y que comprende de x a y átomos de carbono;
- se entiende por "alquino de C_x-C_y" una cadena hidrocarbonada insaturada, lineal o ramificada, que contiene por lo menos un triple enlace, y que comprende de x a y átomos de carbono;
- 40 - se entiende por "alcoxi de C_x-C_y" un grupo -O-(alquilo C_x-C_y);
- se entiende por "cicloalquilo de C_x-C_y" un grupo hidrocarbonado saturado que puede ser mono- o policíclico y que comprende de x a y átomos de carbono;
- 45 - los términos "alquilo", "alqueno", "alquino", "cicloalquilo" tales como se han definido anteriormente, conservan la misma definición cuando integran el nombre de un grupo tal como, por ejemplo, alquiltio, hidroxialquilo, alquilfenilo, alquilcarboniloxi, etc.;
- 50 - se entiende por "heterociclo" cualquier ciclo de 5 o 6 átomos, del cual por lo menos uno es un átomo de nitrógeno, de azufre o de oxígeno;
- se entiende por "tratamiento del envejecimiento cutáneo" cualquier tratamiento cosmético o terapéutico que comprende la aplicación tópica de uno o varios principios activos para hacer menos visibles y/o
- 55 - disminuir las señales exteriores del envejecimiento cutáneo, tales como las arrugas;
- se entiende por "tratamiento cosmético adelgazante" cualquier tratamiento cosmético que comprende la aplicación tópica de uno o varios principios activos para obtener una reducción del volumen del tejido adiposo hipodérmico y/o una reducción de las estrías o del aspecto "piel de naranja" del tejido cutáneo;
- 60 - se entiende por "tratamiento cosmético de blanqueamiento de la piel" cualquier tratamiento cosmético que comprende la aplicación tópica de uno o varios principios activos para obtener una reducción de síntesis de melanina, en particular el tratamiento cosmético de las efélides (pecas), del cloasma (manchas marrones de la cara), y de las pigmentaciones debidas a la senescencia.

65 Preferentemente, la presente invención tiene por objeto un compuesto de fórmula general (I) tal como se ha

definido anteriormente, en el que las características siguientes se seleccionan solas o en combinación:

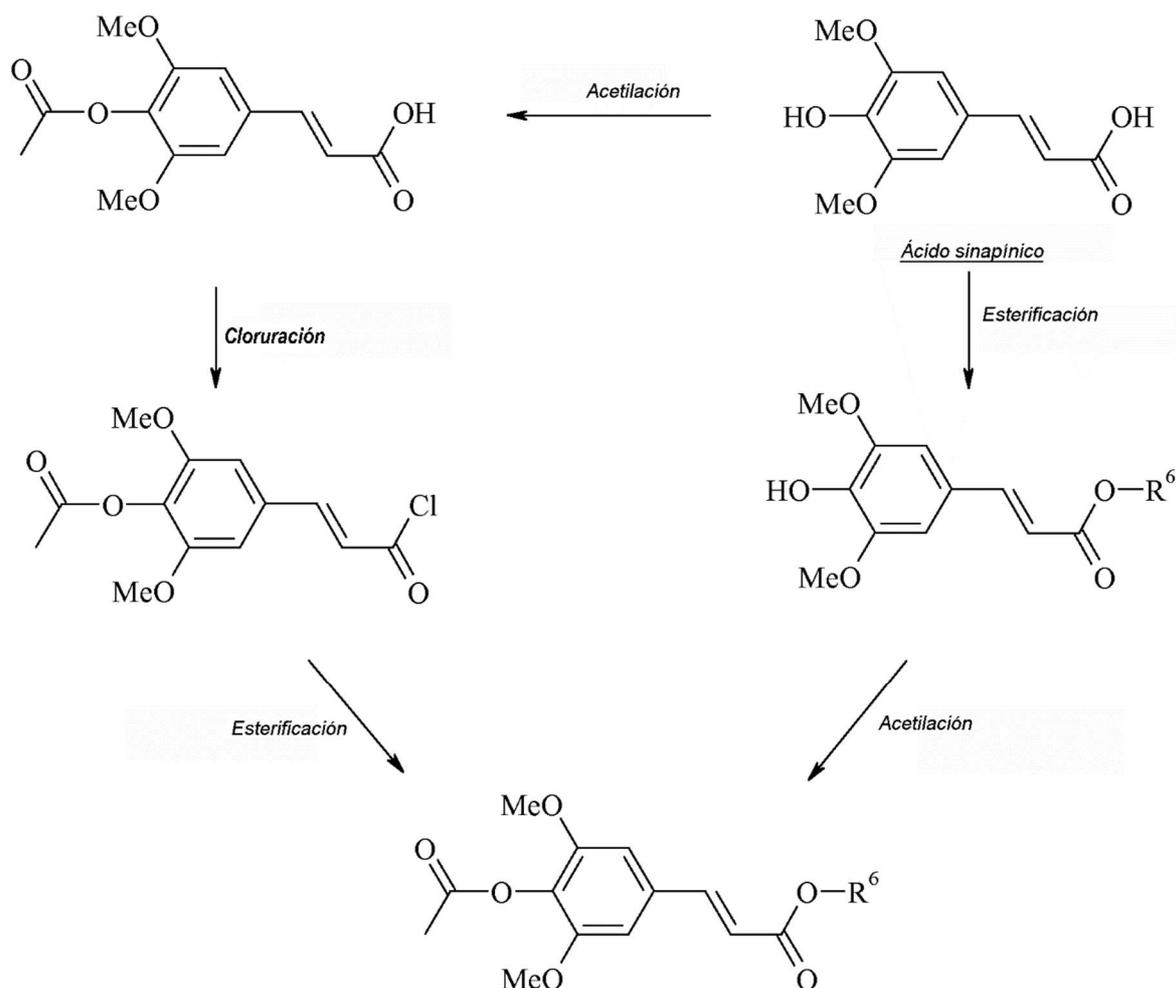
- R¹ se selecciona como siendo un grupo $-(C=O)-R^3$;
- 5 - R³ se selecciona como siendo un grupo metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo o hexilo. Más preferentemente, R³ se selecciona como siendo un grupo metilo;
- R⁴ se selecciona como siendo un grupo alquilo de C₁₂-C₁₆, fenilo, 4-piranona, alquil C₁-C₁₆-fenilo, alquenil C₂-C₁₆-fenilo y cicloalquilo de C₃-C₆, estando cada uno de estos grupos eventualmente sustituido por uno o varios sustituyentes seleccionados independientemente los unos de los otros como siendo un grupo hidroxilo, amino, alquilo de C₁-C₆, hidroxialquilo de C₁-C₆, alcoxi de C₁-C₆ alquil C₁-C₆-tio, alquil C₁-C₆-carboniloxi, piperidina, morfolina, fenilo, alcoxi C₁-C₆-fenilo, o alquenil C₂-C₆-fenilo eventualmente sustituido por uno o varios alquil C₁-C₆-carboniloxi. Más preferentemente, R⁴ se selecciona como siendo un grupo alquilo de C₁₂-C₁₆; 4-piranona eventualmente sustituida por uno o varios sustituyentes seleccionados independientemente los unos de los otros como siendo un grupo hidroxialquilo de C₁-C₆; fenilo eventualmente sustituido por uno o varios sustituyentes seleccionados independientemente los unos de los otros como siendo alquilo de C₁-C₆ o hidroxialquilo de C₁-C₆; alquil C₁-C₁₆-fenilo eventualmente sustituido por uno o varios sustituyentes seleccionados independientemente los unos de los otros como siendo alcoxi C₁-C₆-alquil C₁-C₆-tio, alquil C₁-C₆-carboniloxi, alcoxi C₁-C₆-fenilo o alquenil C₂-C₆-fenilo, a su vez eventualmente sustituido por uno o varios alquil C₁-C₆-carboniloxi; alquenil C₂-C₁₆-fenilo; y cicloalquilo de C₃-C₆. De manera muy preferida, R⁴ se selecciona como siendo la 4-piranona, el 3,4,5-trimetoxibenzilo o un alquilo de C₁₆;
- R⁵ y R⁶ se seleccionan independientemente el uno del otro como siendo un átomo de hidrógeno o un grupo seleccionado de entre alquilo de C₁-C₁₆, alquenilo de C₂-C₁₆, fenilo, piperidina, morfolina, alquil C₁-C₁₆-fenilo, alcoxi C₁-C₁₆-indol y cicloalquilo de C₃-C₆, estando cada uno de estos grupos eventualmente sustituido por uno o varios sustituyentes seleccionados independientemente los unos de los otros como siendo un grupo hidroxilo, amino, alquilo de C₁-C₆, hidroxialquilo de C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, tioalquilo de C₁-C₆, alquil C₁-C₆-carboniloxi, fenilo, alcoxi C₁-C₆-fenilo, o alquenil C₂-C₆-fenilo eventualmente sustituido por uno o varios sustituyentes seleccionados independientemente los unos de los otros como siendo un grupo alquilo de C₁-C₆, hidroxialquilo de C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, tioalquilo de C₁-C₆ o alquil C₁-C₆-carboniloxi. Más preferentemente, R⁵ y R⁶ se seleccionan independientemente el uno del otro como siendo un átomo de hidrógeno o un grupo seleccionado de entre alquilo de C₁-C₁₆; alquenilo de C₂-C₁₆; fenilo; piperidina; morfolina eventualmente sustituida por uno o varios sustituyentes seleccionados independientemente los unos de los otros como siendo un grupo hidroxilo o alquilo de C₁-C₆; alquil C₁-C₁₆-fenilo eventualmente sustituido por uno o varios sustituyentes seleccionados independientemente los unos de los otros como siendo un grupo hidroxilo o alcoxi de C₁-C₆; alcoxi C₁-C₁₆-indol; y cicloalquilo de C₃-C₆. De manera muy preferida, R⁵ es un átomo de hidrógeno y R⁶ se selecciona como siendo un alquilo de C₁₆ o el 4-hidroxifeniletilo; y/o
- R⁵ y R⁶ forman, con el átomo de nitrógeno al que están unidos, un heterociclo seleccionado de entre la piperidina, la morfolina, la hexametiliminina o la pirrolidina, eventualmente sustituido por uno o varios alquilo de C₁-C₆.

45 Los compuestos de fórmula (I) se pueden preparar mediante cualquier procedimiento conocido y utilizado clásicamente por el experto en la materia, en particular por analogía con los procedimientos descritos en Chemische Berichte, 1952, 12, 1181.

50 A título de ejemplo, algunos compuestos de fórmula (I) según la presente invención, para los cuales R₄ es un grupo -O-R₆ se pueden preparar:

- o bien por condensación del cloruro del ácido 4-acetoxi sinapínico (obtenido por ejemplo según Monatsch, Chem 41, 271 (1920)) con un grupo R₆ tal como se ha definido anteriormente, en presencia de una amina terciaria, tal como la trietilamina, la piridina o la diisopropiletilamina, a una temperatura que varía de 20°C a 155°C, y preferentemente a 25°C;
- o bien por esterificación del ácido sinapínico dentro del tolueno en reflujo con el ácido sulfúrico o el ácido metanosulfónico como catalizador, y después acetilación del éster a temperatura ambiente en la piridina con el anhídrido acético;

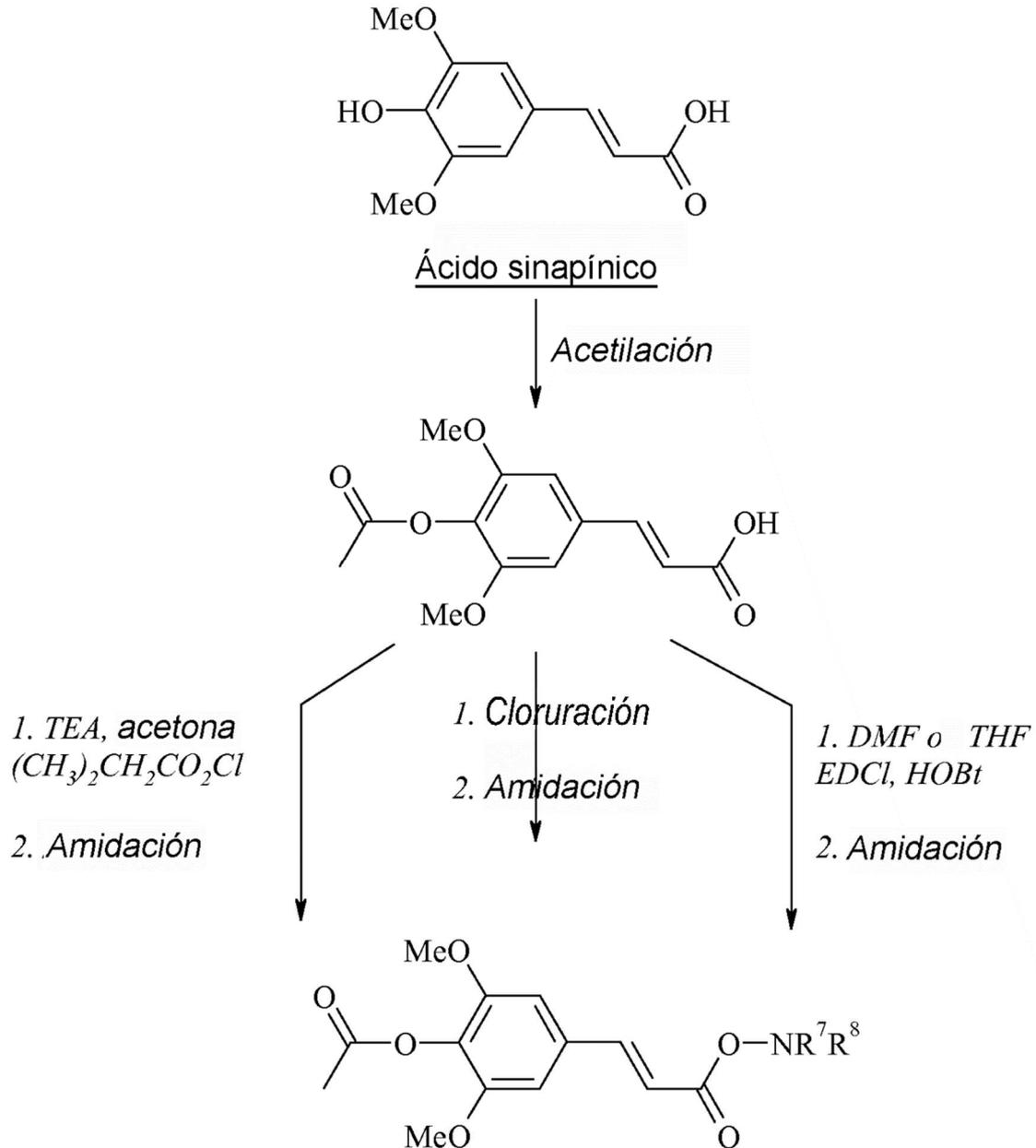
60 según los esquemas de reacción siguientes



Asimismo, algunos compuestos de fórmula (I) según la presente invención, para los cuales R^4 es un grupo $-(N)R^7R^8$ se pueden preparar:

- 5
- o bien por condensación del cloruro del ácido 4-acetoxy sinapínico (obtenido, por ejemplo, según Späth, Monatsh, chem 41, 271 (1920)) con un grupo $-(N)R^7R^8$ tal como se ha definido anteriormente, efectuándose la reacción en un disolvente clorado, tal como el cloruro de metileno, el cloroformo o de disolventes aromáticos tales como el tolueno o el diclorobenceno, en presencia de una amina terciaria o de un amplio exceso de la amina de reacción, a una temperatura que varía de 20°C a 155°C, y preferentemente a 25°C;
 - 10
 - o bien por reacción en la dimetilformamida (DMF) o el tetrahidrofurano (THF) del acetato del ácido sinapínico sobre una amina en presencia de EDCl y de HOBt y de una amina terciaria;
 - 15
 - o bien por un método denominado con anhídrido mixto, es decir, por reacción del acetato del ácido sinapínico en la acetona (u otros disolventes neutros) con una amina terciaria tal como la trietilamina y un cloroformiato de alquilo, tales como el cloroformiato de etilo, o el cloroformiato de isobutilo, seguido de la reacción de una amina primaria o secundaria;
 - 20

según los esquemas de reacción siguientes.



Los compuestos de fórmula (I) según la presente invención pueden por lo tanto ser utilizados en cosmética para el tratamiento del envejecimiento cutáneo, para un tratamiento adelgazante y/o para el blanqueamiento de la piel.

5

La presente invención tiene por lo tanto también como objeto la utilización cosmética de uno o varios compuestos de fórmula (I) tales como se ha definido anteriormente, como agente anti-edad, como agente adelgazante y/o como agente de blanqueamiento de la piel.

10

La presente invención tiene asimismo por objeto una composición cosmética que comprende (a título de principio activo) uno o varios compuestos de fórmula (I) tales como se han definido anteriormente, así como su utilización para el tratamiento cosmético del envejecimiento cutáneo, para un tratamiento cosmético adelgazante y/o para un tratamiento cosmético de blanqueamiento de la piel.

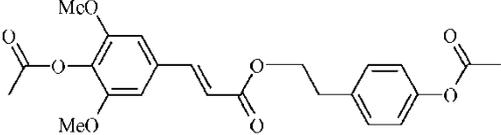
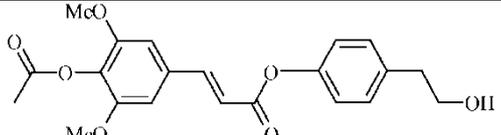
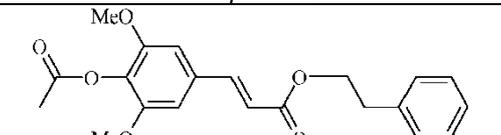
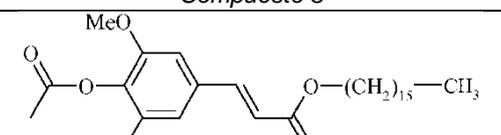
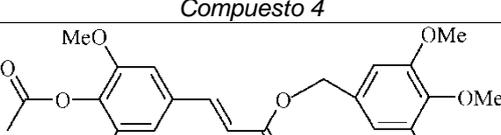
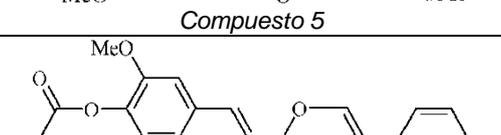
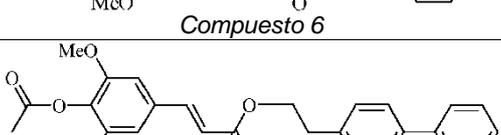
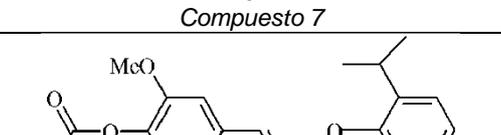
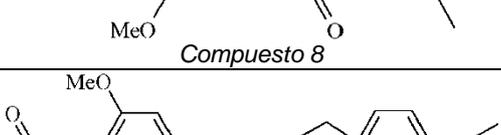
15

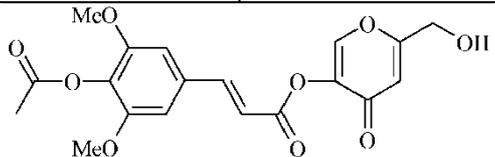
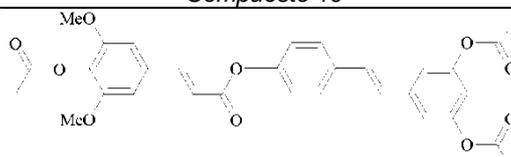
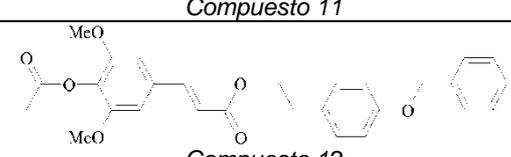
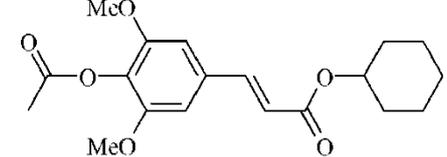
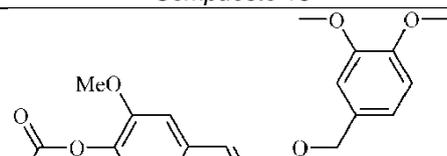
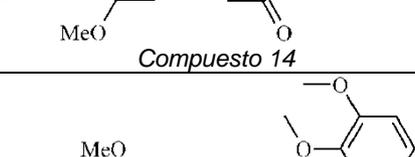
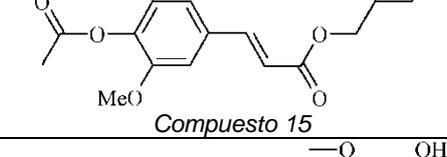
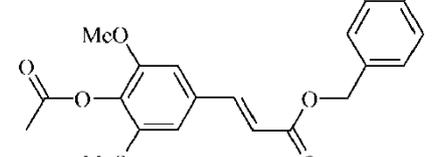
Los compuestos de fórmula (I) según la presente invención se pueden utilizar también en el marco del tratamiento terapéutico del envejecimiento cutáneo, en particular en el marco del tratamiento de la enfermedad de Hutchinson-Gilford.

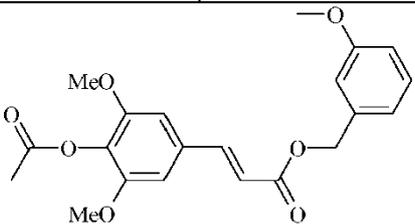
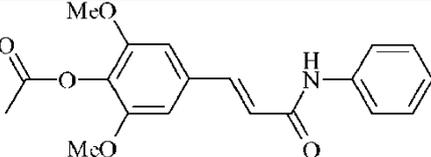
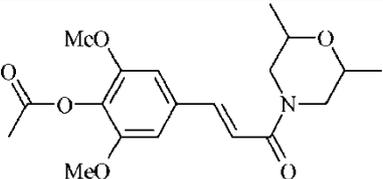
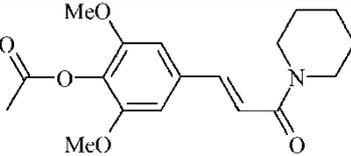
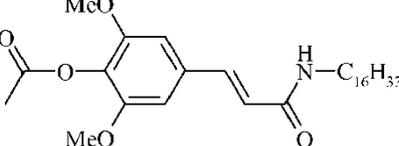
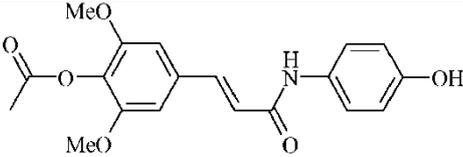
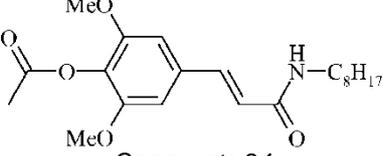
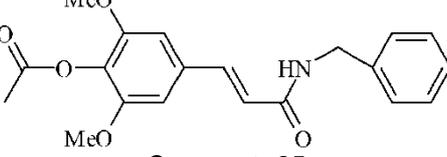
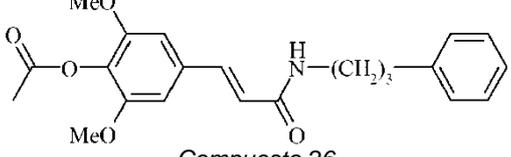
La presente invención tiene por lo tanto también por objeto una composición farmacéutica que comprende (a

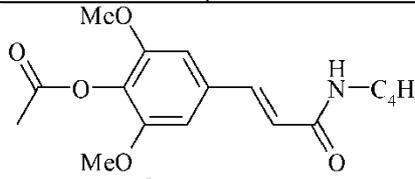
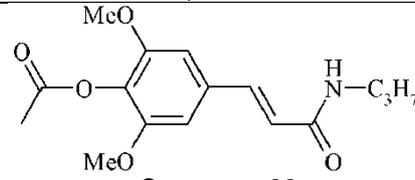
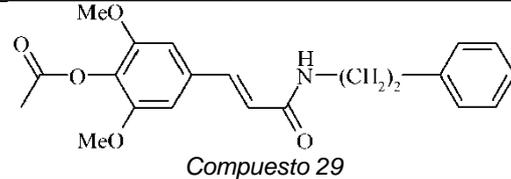
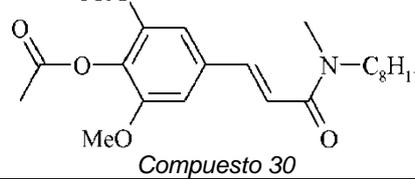
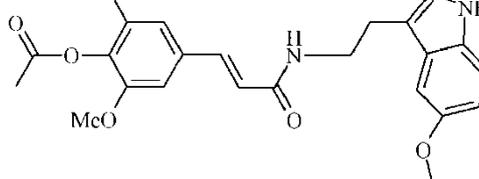
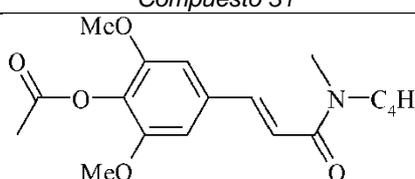
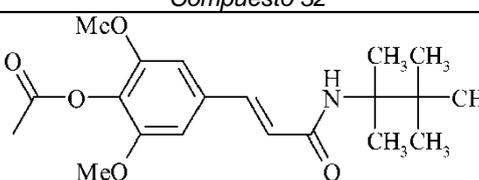
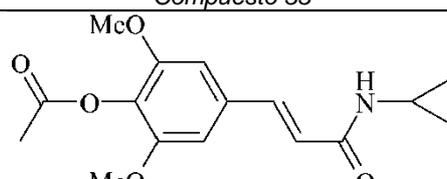
- título de principio activo) uno o varios compuestos de fórmula (I) tales como se han definido anteriormente. Preferentemente, la presente invención tiene por objeto una composición farmacéutica que comprende, a título de principio activo, uno o varios compuestos de fórmula (I) tales como se han definido anteriormente, para el tratamiento del envejecimiento cutáneo. De manera muy preferida, la presente invención tiene por objeto una
- 5 composición farmacéutica que comprende (a título de principio activo) uno o varios compuestos de fórmula (I) tales como se han definido anteriormente, para su utilización en el marco del tratamiento de la enfermedad de Hutchinson-Gilford.
- Las composiciones cosméticas o farmacéuticas según la presente invención se pueden formular en cualquier
- 10 forma galénica apropiada para su administración. Las composiciones según la presente invención se pueden formular así en forma de crema, gel, loción, leche, emulsión aceite en agua o agua en aceite, solución, ungüento, pulverizador, aceite corporal, loción para después del afeitado, jabón, barra protectora de labios, barra y lápiz para maquillaje.
- 15 Las composiciones cosméticas o farmacéuticas según la presente invención contienen uno o varios compuestos de fórmula (I) según la presente invención en unos contenidos que van del 0,005% al 75% en peso total de la composición, preferentemente del 0,01% al 25% en peso total de la composición, más preferentemente del 0,05% al 5% en peso total de la composición.
- 20 Para la preparación de estas composiciones cosméticas o farmacéuticas, uno o varios compuestos de fórmula (I) según la presente invención o una o varias de sus sales farmacéuticamente aceptables se mezclan con los excipientes utilizados clásicamente en el campo cosmético.
- Las composiciones cosméticas o farmacéuticas según la presente invención pueden adoptar la forma de una
- 25 crema en la que uno o varios compuestos de fórmula (I) según la presente invención, o una o varias de sus sales farmacéuticamente aceptables están asociados a los excipientes utilizados habitualmente en cosmetología.
- Las composiciones cosméticas o farmacéuticas según la presente invención pueden adoptar la forma de geles
- 30 en los excipientes apropiados tales como los ésteres de celulosa u otros agentes gelificantes, tales como el carbopol, el sepinov (poliacrilato), la goma guar, etc.
- Las composiciones cosméticas o farmacéuticas según la presente invención pueden también adoptar la forma de
- 35 una loción o de una solución en las que uno o varios compuestos de fórmula (I) según la presente invención, o una o varias de sus sales farmacéuticamente aceptables están en forma encapsulada.
- Las microesferas según la invención pueden estar, por ejemplo, constituidas por cuerpos grasos, por agar y por
- 40 agua. Uno o varios compuestos de fórmula (I) según la presente invención, o una o varias de sus sales farmacéuticamente aceptables, pueden ser incorporadas en unos vectores de tipo liposomas, glicoesferas, ciclodextrinas, en quilomicrones, macro-, micro-, nano-partículas, así como macro-, micro- y nanocápsulas, y también ser absorbidas en polímeros orgánicos en polvo, los talcos, bentonitas y otros soportes minerales.
- Estas emulsiones tienen una buena estabilidad y se pueden conservar durante el tiempo necesario para la
- 45 utilización a unas temperaturas comprendidas entre 0 y 50°C sin que haya sedimentación de los constituyentes o separación de fases.
- Las composiciones cosméticas o farmacéuticas según la presente invención pueden también contener unos
- 50 aditivos o unos adyuvantes habituales en cosmetología, como por ejemplo unos agentes antimicrobianos o unos perfumes, pero también unos lípidos de extracción o de síntesis, unos polímeros gelificantes y viscosificantes, unos tensioactivos, y unos emulsionantes, unos principios activos hidro- o liposolubles, unos extractos de plantas, unos extractos tisulares, unos extractos marinos, o unos activos de síntesis.
- Las composiciones cosméticas o farmacéuticas según la presente invención pueden también comprender otros
- 55 principios activos complementarios seleccionados por su acción. Cuando las composiciones según la presente invención contienen unos principios activos complementarios, éstos están generalmente presentes en la composición a una concentración suficientemente elevada para que puedan ejercer su actividad.
- Las composiciones cosméticas o farmacéuticas según la presente invención se utilizan preferentemente a diario
- 60 y son aplicadas una o varias veces al día.
- La presente invención se ilustra de manera no limitativa mediante los ejemplos siguientes.

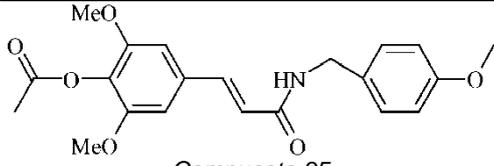
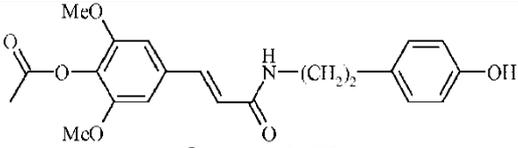
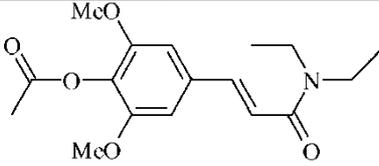
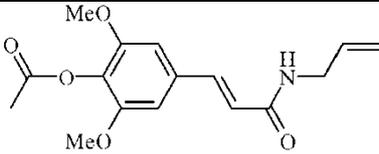
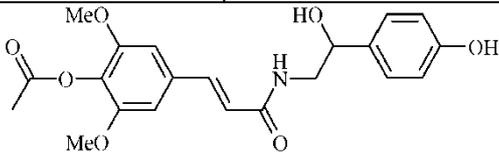
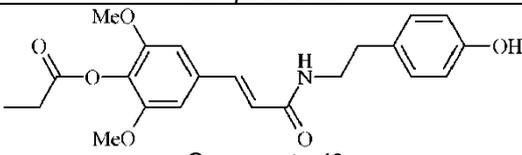
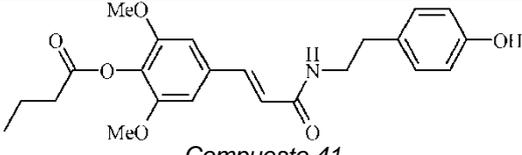
Ejemplo 1: Compuestos según la invención

Compuesto	P.f. (°C)	GC masa	LCHP masa
 <p><i>Compuesto 1</i></p>	132		428
 <p><i>Compuesto 2</i></p>	145		386
 <p><i>Compuesto 3</i></p>	101		370
 <p><i>Compuesto 4</i></p>	82		
 <p><i>Compuesto 5</i></p>	158	446	
 <p><i>Compuesto 6</i></p>	134		368
 <p><i>Compuesto 7</i></p>	132	446	
 <p><i>Compuesto 8</i></p>	143		398
 <p><i>Compuesto 9</i></p>	142		402

Compuesto	P.f. (°C)	GC masa	LHP masa
 <p><i>Compuesto 10</i></p>	183		390
 <p><i>Compuesto 11</i></p>	208		560
 <p><i>Compuesto 12</i></p>	112		
 <p><i>Compuesto 13</i></p>	137		
 <p><i>Compuesto 14</i></p>	118		416
 <p><i>Compuesto 15</i></p>	143		416
 <p><i>Compuesto 16</i></p>	191		402
 <p><i>Compuesto 17</i></p>	121		386

Compuesto	P.f. (°C)	GC masa	LHP masa
 <p>Compuesto 18</p>	99		386
 <p>Compuesto 19</p>	100		341
 <p>Compuesto 20</p>	183		363
 <p>Compuesto 21</p>	148		333
 <p>Compuesto 22</p>	128		
 <p>Compuesto 23</p>	140		357
 <p>Compuesto 24</p>	125		377
 <p>Compuesto 25</p>	130		355
 <p>Compuesto 26</p>	132		383

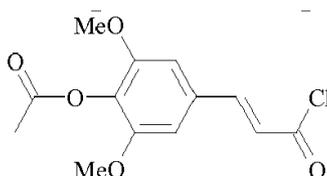
Compuesto	P.f. (°C)	GC masa	LCHP masa
 <p>Compuesto 27</p>	161		321
 <p>Compuesto 28</p>	143		307
 <p>Compuesto 29</p>	137		369
 <p>Compuesto 30</p>	aceite		391
 <p>Compuesto 31</p>	148		438
 <p>Compuesto 32</p>	aceite		335
 <p>Compuesto 33</p>	150		377
 <p>Compuesto 34</p>	204		305

Compuesto	P.f. (°C)	GC masa	LCHP masa
 <p>Compuesto 35</p>	146		385
 <p>Compuesto 36</p>	99		385
 <p>Compuesto 37</p>	135		321
 <p>Compuesto 38</p>	154		305
 <p>Compuesto 39</p>	204		
 <p>Compuesto 40</p>			399
 <p>Compuesto 41</p>			413

Ejemplo 2: Preparación del 4-acetoxi-3,5-dimetoxi cinamato de 2-(4-acetoxifenil)-etilo (compuesto 1)

Ejemplo 2.1 - Preparación del cloruro de ácido del acetato del ácido sinapínico

5



10

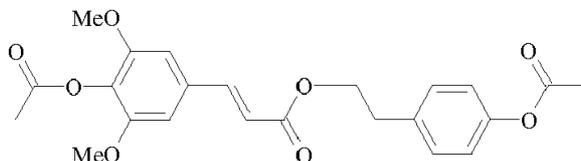
Se ponen en suspensión 7 g del acetato de ácido sinapínico en 60 ml de cloroformo. Se añaden después 0,5 g de dimetilformamida (DMF) y después se vierten 9,4 g de cloruro de tionilo. Se agita la mezcla de 5 a 20 h a 20°C, y después se calienta a reflujo durante 3 h p or lo menos hasta 8 horas como máximo.

El cloroformo y el exceso de cloruro de tionilo se destilan al vacío a 50-60°C.

El cloruro del acetato del ácido sinapínico (p.f.: 140-144°C) se obtiene en forma de un producto cristalizado,

amarillo.

Ejemplo 2.2 - Preparación del 4-acetoxi-3,5-dimetoxi cinamato de 2-(4-acetoxifenil)-etilo (compuesto 1)



5

10

Se ponen en solución 7,5 g del cloruro del acetato de ácido sinapínico obtenido anteriormente en 60 ml de cloroformo o de cloruro de metileno o de tolueno. Se añaden 6 g de trietilamina (u otra amina terciaria), y después 7,2 g (1 mol eq.) de acetato de 2-(4-hidroxifenil)etilo (obtenido según Tetrahedron, 56, (2000), 5169-5175).

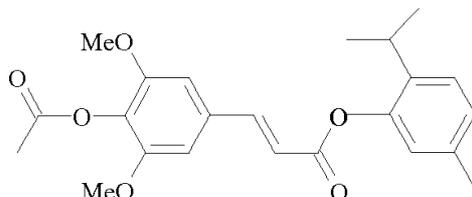
15

Se agita la mezcla a 20°C durante 10h. Se sigue la evolución de la reacción por CCM (cloroformo/metanol 9/1, revelación UV). La solución se lava tres veces con 100 g de agua, y después se concentra al vacío en seco. Los cristales obtenidos se recrystalizan tres veces en 60 ml de etanol absoluto.

Después de la filtración y del secado, se aíslan 2,4 g (un 43% de rendimiento) de 4-acetoxi-3,5-dimetoxi cinamato de 2-(4-acetoxifenil)-etilo (compuesto 1) en forma de un polvo blanco roto (p.f.: 132°C/GC/masa = 98%).

20

Ejemplo 3: Preparación del 4-acetoxi-3,5-dimetoxi cinamato del 2-isopropil-5-metilfenilo (compuesto 8)



25

Se ponen en solución 7,5 g de cloruro del acetato de ácido sinapínico obtenido según el ejemplo 2.1 en 60 ml de cloroformo. Se añaden 8 g de piridina y 4 g de timol.

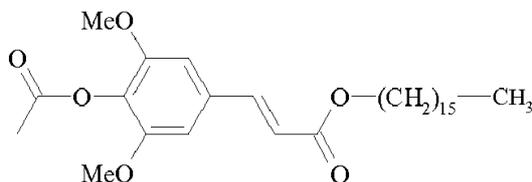
30

Se agita la mezcla a 20°C durante 10h como mínimo. Se sigue la evolución de la reacción por CCM (cloroformo/metanol 9/1, revelación UV). La mezcla se lava tres veces con 100 g de agua. La fase orgánica se concentra al vacío en seco. El residuo obtenido se recrystaliza en el etanol absoluto.

Después de la filtración y del secado, se obtienen 4,8 g (un 46% de rendimiento) de 4-acetoxi-3,5-dimetoxi cinamato del 2-isopropil-5-metil fenilo en forma de un polvo de color crema (p.f. 143°C/GC/masa = 98,5%)

35

Ejemplo 4: Preparación del 4-acetoxi-3,5-dimetoxi cinamato de n-hexadecilo (compuesto 4)



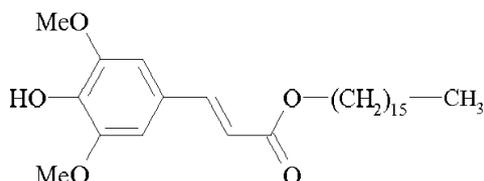
40

Se ponen en solución 7,5 g de cloruro del acetato de ácido sinapínico obtenido según el ejemplo 2.1 en 60 ml de diclorometano. Se añaden 8 g de dietilisopropilamina y 7 g de n-hexadecanol.

Se agita la mezcla a 20°C durante 20h aproximadamente. La evolución de la reacción se sigue por CCM (cloroformo/metanol 9/1, revelación UV). La mezcla se lava tres veces con 100 g de agua. La fase orgánica se concentra al vacío en seco. El residuo obtenido se recrystaliza en isopropanol.

45

Después de la filtración y del secado (a 60°C), se obtienen 6,0 g (un 44% de rendimiento) de 4-acetoxi-3,5-dimetoxi cinamato de n-hexadecilo en forma de un polvo blanco crema (p.f.: 82°C/Análisis centesimales +/- 0,3% conforme/RMN conforme).

Ejemplo 5: Preparación del 4-acetoxi-3,5-dimetoxi cinamato de n-hexadecilo (compuesto 4)*Ejemplo 4.1 - Preparación del 3,5-dimetoxi cinamato de n-hexadecilo*

5

En un reactor equipado de un Dean Stark, se ponen en suspensión 11,2 g de ácido sinapínico (I) en 100 ml de tolueno. Se añaden 20 g de n-hexadecanol y 1 g de ácido sulfúrico. El conjunto se lleva a reflujo durante 5h, se extrae el agua.

10

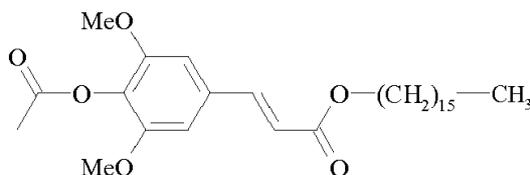
El medio se enfría hasta aproximadamente 50°C y se concentra al vacío. Se añaden al residuo 120 ml de acetato de etilo.

15

La solución obtenida se lava dos veces con 100 g de agua, y después se concentra el disolvente al vacío a 50°C. Se añaden 120 ml de heptano al residuo y el conjunto se calienta a reflujo (solubilización) y después se enfría hasta aproximadamente 20°C.

20

Los cristales beige se escurren y se secan a 60°C. Se aíslan 20 g (rendimiento del 89%) de 3,5-dimetoxi cinamato de n-hexadecilo (p.f.: 62°C/FTIR: conforme/LCHP: 98,8%/RMN conforme).

Ejemplo 4.2 - Preparación del: 4-acetoxi-3,5-dimetoxi cinamato de n-hexadecilo (compuesto 4)

25

Se disuelven 20 g de 3,5-dimetoxi cinamato de n-hexadecilo obtenido anteriormente en 100 g de piridina y se añaden 28 g de anhídrido acético. La evolución de la reacción se sigue por CCM en la mezcla cloroformo/metanol (9/1).

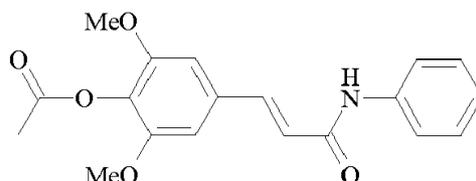
30

Después de aproximadamente 20 horas a 20°C, la solución se concentra al vacío a 55°C. Se añaden 100 ml de cloruro de metileno al residuo y se lava la solución obtenida 2 veces con 100 g de agua.

La fase orgánica se concentra al vacío. Se añaden 110 ml de isopropanol al residuo y se calienta el conjunto a reflujo (solubilización) y después se enfría hasta aproximadamente 20°C.

35

Los cristales formados se escurren y se secan a 60°C. Se aíslan 12,8 g (rendimiento del 57,3%) de 4-acetoxi-3,5-dimetoxi cinamato de n-hexadecilo en forma de polvo blanco (p.f.: 82°C/FTIR: conforme/RMN conforme).

Ejemplo 6: Preparación del 4-acetoxi-3,5-dimetoxi-N(fenil)-cinamamida (compuesto 19)

40

Se ponen en solución 5 g del acetato del ácido sinapínico en 30 ml de dimetilformamida (DMF).

45

Se añaden 4 g de EDCI.HCl y después 2,8 g de HOBt.H₂O. Se agita el medio a 20-25°C durante una hora.

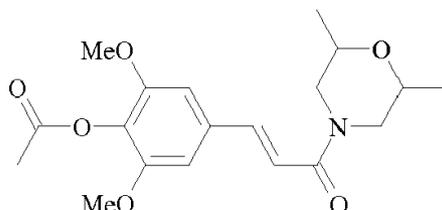
Se añaden 10 g de trietilamina y después 2 g de anilina sucesivamente al medio. Se agita la mezcla a 20°C durante 20h. Se añaden 100 g de agua y 100 ml de cloroformo, se agita el medio durante 30 minutos y después se deja decantar.

La fase orgánica inferior se retira y después se lava dos veces con 70 ml de agua y se concentra al vacío en seco. El residuo oleoso se recoge en 50 ml de heptano. El precipitado formado se filtra y se seca en horno ventilado a 60°C.

- 5 Se aíslan 3,2 g (rendimiento del 50%) de 4-acetoxi-3,5-dimetoxi-N-(fenil)-cinamamida en forma de un polvo blanco roto (p.f.: 100°C/LCHP masa: 341/FTIR: confo rme).

Ejemplo 7: Preparación de 4-acetoxi-3,5-dimetoxi-N-(cis-2,6-dimetilmorfolino)-cinamamida (compuesto 20)

10



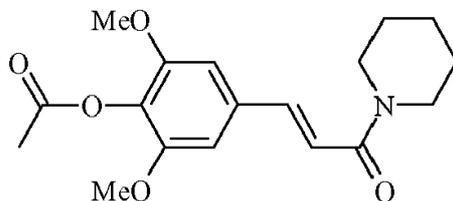
- 15 Se ponen en solución 7,5 g del acetato de ácido sinapínico obtenido según el ejemplo 2.1 en 60 ml de cloroformo y después la mezcla se enfría a -10°C, se añaden 6 g de trietilamina y después 3 g de cis-2,6-dimetilmorfolina gota a gota a una temperatura inferior a 0°C.

20 Se agita el conjunto a 20°C durante 20h. El medio de reacción se lava 3 veces con 100 g de agua. La fase orgánica inferior se concentra al vacío en seco. El residuo se recrystaliza en el acetato de isopropilo. El precipitado formado se filtra y se seca en horno ventilado a 60°C.

- 25 Se aíslan 5,2 g (rendimiento del 54%) de 4-acetoxi-3,5-dimetoxi-N-(cis-2,6-dimetilmorfolino)-cinamamida en forma de un polvo de color crema (p.f.: 183°C/LCHP masa: 363/FTIR: conforme).

Ejemplo 8: Preparación de 4-acetoxi-3,5-dimetoxi-N-(piperidino)-cinamamida (compuesto 21)

25



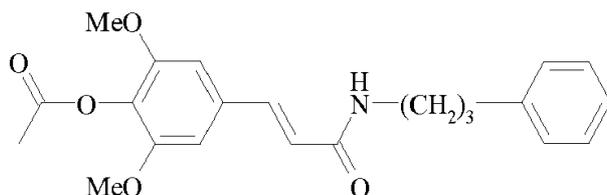
- 30 Se ponen en suspensión 5 g del acetato del ácido sinapínico en 50 ml de acetona. Se añade 1,9 g de trietilamina. Se obtiene entonces una solución.

35 Se enfría el conjunto a aproximadamente -10°C y se añaden 2,6 g de cloroformiato de isobutilo gota a gota a una temperatura inferior a -5°C. Se agita el conjunto durante una hora entre -5 y -10°C, y después se añaden 1,7 g de piperidina, no superando la temperatura los 5°C. Se agita el medio a 20°C durante 20h. Se añaden entonces 200 g de agua y el precipitado formado se filtra y después se seca en horno ventilado a 60°C.

- 40 El sólido obtenido se recrystaliza en un mínimo de metanol. Después de la filtración y del secado, se aíslan 3,5 g (rendimiento del 55,5%) de 4-acetoxi-3,5-dimetoxi-N-(piperidino)-cinamamida en forma de un polvo blanco (p.f.: 148°C/LCHP masa: 333/FTIR: conforme).

Ejemplo 9: Preparación de 4-acetoxi-3,5-dimetoxi-N-(3-fenilpropil)-cinamamida (compuesto 26)

40



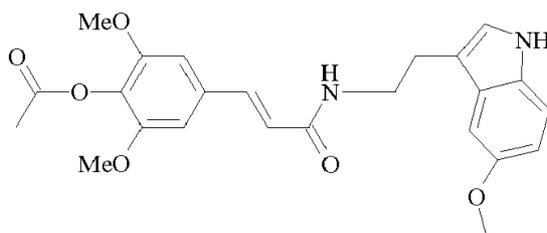
- 45 Se ponen en suspensión 5 g del acetato del ácido sinapínico en 50 ml de acetona. Se añade 1,9 g de trietilamina.

Se enfría el conjunto hasta aproximadamente -10°C y se añaden 2,4 g de cloroformiato de etilo gota a gota a una temperatura inferior a -5°C.

Se agita el conjunto durante una hora entre -5 y -10°C y después se añaden 2,55 g de fenil-3-propilamina-1, no superando la temperatura los 0°C. Se agita el medio a 20°C durante 12h.

- 5 Se añaden entonces 50 g de agua y el precipitado formado se filtra y después se recristaliza en un mínimo de etanol a 96°. Después de la filtración y del secado, se aíslan 4,6 g (rendimiento 62%) de 4-acetoxi-3,5-dimetoxi-N-(3-fenilpropil)-cinamamida en forma de un polvo blanco (p.f.: 132°C/LCHP masa: 383/FTIR: conforme).

10 **Ejemplo 10: Preparación de 4-acetoxi-3,5-dimetoxi-N-(5-metoxitriptamil)-cinamamida (compuesto 31)**



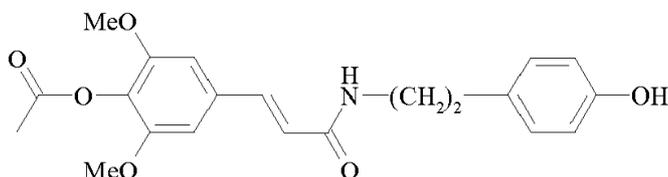
15 Se ponen en suspensión 5 g del acetato del ácido sinapínico en 100 ml de acetona. Se añade 1,7 g de trietilamina.

Se enfría el conjunto hasta aproximadamente -10°C y se añaden 2,9 g de cloroformiato de isobutilo gota a gota a una temperatura inferior a -5°C.

20 Se agita el conjunto durante una hora entre -5 y -10°C y se añaden a continuación 3,6 g de 5-metoxitriptamina, no superando la temperatura los 0°C. El medio se agita a 25°C durante 48h. Se añaden 300 g de agua.

Después de dos horas de agitación, el precipitado formado se filtra y después se recristaliza en el isopropanol. Después de la filtración y del secado, se aíslan 4,2 g (rendimiento del 51%) en forma de un polvo de color crema (p.f.: 148°C/LCHP masa: 438/LCHP: 98% s/s %/FTIR: conforme).

25 **Ejemplo 11: Preparación de 4-acetoxi-3,5-dimetoxi-N-(4'-hidroxifeniletíl)-cinamamida (compuesto 36)**



30 Se ponen en suspensión 5 g del acetato del ácido sinapínico en 80 ml de acetona. Se añaden 2 g de diisopropiletilamina.

El conjunto se enfría hasta aproximadamente -10°C y se añaden 2,9 g de cloroformiato de isobutilo gota a gota a una temperatura inferior a -5°C. Se agita el conjunto durante una hora entre -5 y -10°C.

35 Se añaden a continuación 2 g de diisopropiletilamina y 3,3 g de clorhidrato de tiramina. Se agita el medio a 20°C durante 24h. Se añaden 300 g de agua.

40 Después de dos horas de agitación, el precipitado formado se filtra y después se recristaliza en el etanol a 96°. Después de la filtración y del secado, se aíslan 6,1 g (rendimiento del 84%) de 4-acetoxi-3,5-dimetoxi-N-(4'-hidroxifeniletíl)-cinamamida en forma de un polvo ligeramente coloreado (p.f.: 99°C/LCHP masa: 385/LCHP: 98,1% s/s % FTIR: conforme).

45 **Ejemplo 12 - Actividad antioxidante**

Se ha utilizado el método ORAC (Oxigen Radical Absorbance Capacity) descrito en Cao, G., Alessio, H. M., Cutler, R. G. Free radical Biology & Medicine 1993, 14: 303-311 «Oxigen-Radical Absorbance Capacity assay for antioxydants» y Benderitter, M., Vincent-Genid, L., Pouget, J. P., Voisin, P. Radiation Research 2003; 159 (4): 471-483 «The cell membrane as a biosensor of oxydative stress induced by radiation exposure: multiparameter investigation» para medir la capacidad antioxidante de los compuestos de la invención.

Por convención, la actividad antioxidante ORAC de cualquier molécula se mide con respecto a una referencia reconocida que es un análogo de la vitamina E, el trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico),

correspondiendo la capacidad antioxidante de 1 μM (micromol) de trolox por definición a 1 unidad ORAC.

Los valores ORAC se anotan habitualmente en $\mu\text{mol TE/g}$ (en micro mol de trolox Equivalente por gramo de producto a ensayar).

5 El trolox posee, teniendo en cuenta estas definiciones, un índice ORAC de aproximadamente 3995 unidades.

Se han medido los valores ORAC de los compuestos 26 y 34 (media de 3 mediciones).

10 Los resultados se detallan en la Tabla 1 siguiente.

Tabla 1

Compuesto	Actividad antioxidante ORAC ($\mu\text{mol TE/g}$)
Trolox	3995
Compuesto 31	4874 \pm 216
Compuesto 39	20968 \pm 992

15 Así, se observa que el compuesto 26 posee una actividad antioxidante ligeramente superior a la del trolox, mientras que el compuesto 34 posee una actividad antioxidante 5 veces más elevada que la del trolox.

Ejemplo 13 - Efectos adelgazantes

20 Se ha evaluado la actividad de los compuestos de la invención sobre los adipocitos. Para ello, se han realizado unos ensayos sobre unos explantes de tejidos adiposos mantenidos en supervivencia según el protocolo experimental siguiente.

25 Los productos a ensayar se introducen en el medio de cultivo. Después de 9 días de tratamiento, la actividad se evalúa mediante una dosificación del glicerol liberado en el medio de cultivo.

30 Con el fin de poder comparar la actividad potencial de las moléculas, se utiliza como activo de referencia la cafeína (Sigma ref. C-0750 lote 127F0396), conocida por su actividad sobre los adipocitos (Studlar M. Z Ernährungswiss. Junio de 1973; 12(2):109-20, "The effect of caffeine on the metabolism of lipids and carbohydrates").

35 Los explantes se preparan a partir de una plastia abdominal (P921-AB-40) de un donante femenino de 40 años. Se han preparado 54 explantes de tejidos y se han puesto en supervivencia en medio suplementado con antibióticos penicilina/estreptomina (Gibco ref. 15140 lote 918578) a 37°C y al 5% de CO₂.

40 El tratamiento se ha realizado sobre 3 explantes mediante incorporación de 100 μl de producto (él mismo al 2% de concentración en el disolvente adecuado, DMSO) en 2 ml de medio de cultivo en los días D0, D2, D3, D5 y D7. La cafeína se ha diluido a la concentración deseada en el medio de cultivo para estos mismos días. Los explantes de control no han recibido ningún tratamiento.

45 El D0, los 3 explantes se han extraído y congelado a -80°C. El D9, los explantes restantes se han extraído y conservado en las mismas condiciones. La extracción de los lípidos del medio de cultivo se ha realizado según un modo de realización probado. El análisis del glicerol del medio de cultivo se ha realizado con la ayuda del kit de dosificación del glicerol (Megazyme, K-GROL) en microplacas de 96 pocillos y la lectura se ha realizado a 340 nm con un lector de microplacas Tecam Infinite M200 asociado al programa Magellan.

Los resultados obtenidos se detallan en la Tabla 2 siguiente.

Tabla 2

Glicerol (mg/ml)	Media	Desviación estándar	% con respecto a la cafeína
Medio de cultivo	0,022	0,005	4%
Cafeína (referencia)	0,096	0,022	100%
Compuesto 5	0,083	0,037	82%
Compuesto 22	0,114	0,047	124%

55 Los compuestos 5 y 22 poseen, por lo tanto, una actividad adelgazante mejorada comparada con la de la cafeína, reconocida como la referencia en la materia. En particular, la molécula 22 muestra una acción adelgazante un 24% superior a la de la cafeína.

Ejemplo 14: Efecto sobre la producción de progerina en unos cultivos monocapas de fibroblastos dérmicos humanos normales procedentes de un sujeto maduro

5 Con el fin de estudiar la influencia de los compuestos de la invención sobre la concentración de progerina en las células, se ha utilizado el método de dosificación descrito por C. Verdy, J.-E. Branka y N. Mekideche en «Quantitative assessment of lactate and progerine production in normal human cutaneous cells during normal ageing: effect of an alaria esculenta extract», Int. J. Cosmetic Science, 2011, 1-5.

10 El sistema de ensayo consiste en unas monocapas de fibroblastos dérmicos humanos normales adultos obtenidos cultivando unas células procedentes de una plastia abdominal realizada en una mujer de 54 años de edad.

La insulina a 10 nM se ha utilizado como producto de referencia en este estudio.

15 Las células se incubaron durante 96 horas en ausencia (control) o en presencia del producto de referencia o de concentraciones crecientes del activo en el ensayo (0,01 µg/ml; 0,1 µg/ml; 1 µg/ml).

20 El compuesto a ensayar se solubiliza en 1 mg/ml en DMSO, y después se diluye en el medio de incubación de las células, con una concentración constante del 0,1% (v/v) en DMSO.

25 Al final del periodo de incubación, por un lado, la progerina se ha cuantificado en los lisados celulares (obtenidos por acción de los ultrasonidos) con la ayuda de una dosificación ELISA, sensible y específica y, por otro lado, las proteínas contenidas en los lisados celulares se han cuantificado mediante un método de espectrocolorimetría (método de Bradford - Bradford M. (1976) Anal. Biochem., 72, 248-254).

30 La significatividad estadística de las diferencias observadas entre las condiciones "control" y "producto de referencia" se ha evaluado mediante un ensayo de Student (Student *t* test). La significatividad estadística de las diferencias observadas entre las condiciones "control" y los "productos en ensayo" se ha evaluado mediante un análisis de la varianza de un factor (One Way ANOVA) seguido de un ensayo de Holm-Sidak (*: $p < 0,05$).

Los resultados obtenidos se detallan en las Tablas 3 y 4 siguientes.

Tabla 3

	Compuesto 2			Compuesto 5			Compuesto 10		
	(ng/ml)			(ng/ml)			(ng/ml)		
	10	100	500	10	100	500	50	500	5000
Progerina (ng/mg de proteína)	233,7	170,6	300,1	284,0	206,0	916,2	274,9	301,7	261,2
	353,5	196,3	328,4	243,7	364,1	1021,7	225,1	296,1	245,9
	273,6	402,4	250,5	391,4	398,6	657,0	292,3	271,0	366,9
Media	286,9*	256,4*	293*	306,4*	322,9*	865,0	264,1*	289,6*	291,4*
S.D.	61,0	127,0	39,4	76,3	102,7	187,7	34,9	16,3	65,9
% DMSO	25,8	23,1	26,4	27,6	29,1	77,9	23,8	26,1	26,2
Diferencia (%)	-74,2	-76,9	-73,6	-72,4	-70,9	-22,1	-76,2	-73,9	-73,8

(*) Media significativamente indiferente de la del grupo DMSO ($p < 0,05$)

35

Tabla 4

	Compuesto 22			Compuesto 36		
	(ng/ml)			(ng/ml)		
	10	100	500	50	500	5000
Progerina (ng/mg de proteína)	880,7	711,0	967,8	1552,2	249,8	215,8
	801,5	548,8	727,4	690,1	288,8	200,8
	830,7	500,9	562,4	555,6	252,1	207,9
Media	837,7	586,9*	752,5	932,6	263,6*	208,2*
S.D.	40,1	110,1	203,9	540,8	21,8	7,5
% DMSO	75,4	52,9	67,8	84,0	23,7	18,8
Diferencia (%)	-24,6	-47,1	-32,2	-16,0	-76,3	-81,2

(*) Media significativamente indiferente de la del grupo DMSO ($p < 0,05$)

40 En las condiciones experimentales consideradas, los compuestos 2, 5, 10, 22 y 36 disminuyen significativamente la neosíntesis de progerina y compensan así el desequilibrio en la producción de progerina observada durante el envejecimiento.

Ejemplo 15: Efecto sobre la producción de pro-colágeno de tipo I en unos cultivos monocapas de fibroblastos dérmicos humanos normales procedentes de un sujeto maduro

5 El sistema de ensayo consiste en unas monocapas de fibroblastos dérmicos humanos normales adultos obtenidos cultivando unas células procedentes de una plastia abdominal realizada en una mujer de 54 años de edad.

El activador de referencia utilizado es el Transforming Growth Factor β (TGF- β) a 1 ng/ml.

10 Las células se han incubado durante 48 horas en ausencia (control) o en presencia del producto de referencia o de concentraciones crecientes del activo en el ensayo (10 ng/ml; 100 ng/ml; 500 ng/ml o 1000 ng/ml).

15 El compuesto a ensayar se solubiliza en 1 mg/ml en DMSO, y después se diluye en el medio de incubación de las células, con una concentración constante del 0,1% (v/v) en DMSO.

Al final del periodo de incubación, el pro-colágeno de tipo I contenido en los medios de incubación de los fibroblastos se ha cuantificado con la ayuda de un kit E.I.A. sensible y específico.

20 Al final del periodo de incubación, las proteínas contenidas en los lisados celulares se han cuantificado mediante un método de espectrocolorimetría (método de Bradford - Bradford M. (1976) Anal. Biochem., 72, 248-254).

25 La significatividad estadística de las diferencias observadas entre las condiciones "control" y "producto de referencia" se ha evaluado mediante un ensayo de Student (Student *t* test). La significatividad estadística de las diferencias observadas entre las condiciones "control" y los "productos en el ensayo" se ha evaluado mediante un análisis de la varianza de un factor (One Way ANOVA) seguido de un ensayo de Holm-Sidak (*: $p < 0,05$).

Los resultados se dan en forma de μg de pro-colágeno de tipo I por mg de proteína (media +/- la desviación estándar, S.D.) y se detallan en la Tabla 5 siguiente.

30 *Tabla 5*

	Compuesto 5			Compuesto 10			Compuesto 36		
	(ng/ml)			(ng/ml)			(ng/ml)		
	10	100	500	10	100	500	50	500	5000
Procolágeno ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de proteína)	45,3	53,0	66,1	45,6	74,0	90,6	68,1	59,2	73,8
	37,0	52,3	62,3	48,7	75,9	95,4	57,8	65,1	64,8
	36,8	46,3	71,4	70,3	86,4	89,8	65,3	67,2	64,4
Media	39,7*	50,5	66,6*	54,9	78,8*	91,9*	63,7*	63,9*	67,7*
S.D.	4,8	3,7	4,5	13,4	6,7	3,1	5,3	4,1	5,3
% DMSO	75,7	96,3	126,9	104,6	150,2	175,3	121,5	121,8	129,0
Diferencia (%)	-24,3	-3,7	26,9	4,6	50,2	75,3	21,5	21,8	29,0

(*) Media significativamente indiferente de la del grupo DMSO ($p < 0,05$)

35 Los compuestos dados en ejemplo inducen un aumento significativo de la neosíntesis de pro-colágeno de tipo I, confiriéndoles una actividad reestructurante de la matriz extracelular, y por lo tanto un efecto anti-edad de la piel.

Ejemplo 16: Efecto sobre la neosíntesis de la elastina en unos cultivos monocapas de fibroblastos dérmicos humanos normales procedentes de un sujeto maduro

40 El sistema de ensayo consiste en unas monocapas de fibroblastos dérmicos humanos normales adultos obtenidos cultivando unas células procedentes de una plastia abdominal realizada en una mujer de 54 años de edad.

El activador de referencia utilizado es el ácido ascórbico a 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

45 Las células se incubaron durante 96 horas en ausencia (control) o en presencia del producto de referencia o de concentraciones crecientes del activo en el ensayo (10 ng/ml; 100 ng/ml; 500 ng/ml).

50 El compuesto a ensayar se solubiliza en 1 mg/ml en DMSO, y después se diluye en el medio de incubación de las células, con una concentración constante del 0,1% (v/v) en DMSO.

Al final del periodo de incubación, la elastina contenida en el medio de incubación de los explantes se ha cuantificado mediante un método espectrocolorimétrico.

Al final del periodo de incubación, las proteínas contenidas en el lisado celular se han cuantificado mediante un

método de espectrocolorimetría (método de de Bradford - Bradford M. (1976) Anal. Biochem., 72, 248-254).

Los resultados se dan en forma de µg de elastina por mg de proteína (media +/- desviación estándar, S.D.).

- 5 A una concentración de 10 ng/ml, los compuestos 22 y 36 daban respectivamente un aumento de la neosíntesis de la elastina de +16,7% y de +63,7%.

Ejemplo 17: Efecto sobre la síntesis de la melanina

- 10 Estos experimentos han permitido demostrar la capacidad de los compuestos de la invención para modular la producción de melanina de melanocitos humanos normales cultivados en monocapas fibroblásticas de DKK.

Sistema de ensayo

- 15 Se han obtenido unas monocapas de fibroblastos dérmicos humanos normales cultivando unas células procedentes de una plastia abdominal realizada en una mujer de 54 años. Para la realización de los ensayos, estas células se han cultivado hasta la obtención de monocapas confluentes.

- 20 Unas monocapas de melanocitos humanos normales se han obtenido cultivando unas células procedentes de una plastia abdominal realizada en una mujer de 41 años. Para la realización de los ensayos, estos cultivos se han cultivado hasta la obtención de monocapas no confluentes.

Incubación de los productos

- 25 Los fibroblastos se han incubado durante 48 horas a 37°C, bajo atmósfera húmeda y al 5% de CO₂, en ausencia (medio de cultivo solo) o en presencia de concentraciones crecientes (10; 50 ng/ml) del compuesto 5.

- 30 Después, se han incubado los melanocitos durante 72 horas a 37°C, bajo atmósfera húmeda y al 5% de CO₂, en ausencia (medio de cultivo solo), o en presencia de ácido kójico a 250 µM o de los medios fibroblásticos acondicionados (véase anteriormente) diluidos al 1/10 en el medio de cultivo de los melanocitos.

Preparación del activo compuesto 5:

- 35 El activo se ha solubilizado en DMSO (sulfóxido de dimetilo).

Las diluciones se han realizado a continuación en el medio de incubación de las células con una concentración constante del 0,01% (v/v) de DMSO.

Evaluación de los efectos

- 40 Dosificación de la melanina

Al final del periodo de incubación, se ha cuantificado el contenido intracelular en melanina en los lisados melanocitarios mediante una medición espectrofotométrica a 405 nm.

- 45 Dosificación de las proteínas

Al final del periodo de incubación, se han cuantificado las proteínas contenidas en los lisados celulares mediante un método espectrocolorimétrico (método de Bradford).

- 50 *Resultados y estadísticas*

Los resultados se dan en forma de µg de melanina intracelular por mg de proteínas totales del tapiz celular (medias +/- desviación estándar, S.D.).

- 55 La significatividad estadística de las diferencias observadas entre la condición "control" y "producto en el ensayo" se ha evaluado mediante un análisis de la varianza de un factor (One Way ANOVA) seguido de un ensayo de Holm-Sidak (*: p<0,05).

- 60 Los resultados obtenidos se detallan en las tablas 6 y 7 siguientes,

Tabla 6

	Control	Ácido kójico 250 µM	DMSO 0,1 %
Melanina/Proteínas (µg/mg)	16,7	14,3	15,8
	15,2	13,4	17,0

ES 2 643 438 T3

	Control	Ácido kójico 250 µM	DMSO 0,1 %
	16,5	14,1	18,1
Media	16,1	14,0	17,0
S.D.	0,8	0,5	1,1
% de control	100,0	86,6*	105,1

(*) Media significativamente indiferente de la del DMSO 0,1% (p<0,05)

Tabla 7

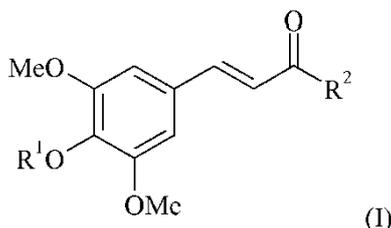
	Compuesto 5			DMSO 0,01%
	10 ng/ml	50 ng/ml	100 ng/ml	
Melanina/Proteínas (µg/mg)	14,2	14,3	15,8	16,1
	11,7	14,7	16,7	17,3
	13,7	14,7	16,0	18,4
Media	14,3*	14,4*	16,2	17,3
S.D.	1,3	0,2	0,5	1,1
% DMSO	83,0	83,6	93,7	100,0
Diferencia (%)	-17,0	-16,4	-6,3	

(*) Media significativamente indiferente de la del DMSO 0,1% (p<0,05)

- 5 Estos resultados demuestran que el compuesto 5 disminuye la síntesis de melanina en los melanocitos de manera significativa, lo cual le confiere una actividad blanqueante.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula general (I)



en la que:

- R¹ se selecciona como siendo un grupo alquilo de C₂-C₆ o un grupo -(C=O)-R³;
- R² se selecciona como siendo un grupo -O-R⁴ o -(N)R⁵R⁶;
- R³ se selecciona como siendo un grupo alquilo de C₁-C₆;
- R⁴ se selecciona como siendo un grupo alquilo de C₁₂-C₁₆, alqueno de C₁₂-C₁₆, alquino de C₁₂-C₁₆, fenilo, 4-piranona, alquil C₁-C₁₆-fenilo, alqueno C₂-C₁₆-fenilo, alquino C₂-C₁₆-fenilo, cicloalquilo de C₃-C₆, alquil C₁-C₁₆-cicloalquilo de C₃-C₆, alqueno C₂-C₁₆-cicloalquilo de C₃-C₆ y alquino C₂-C₁₆-cicloalquilo de C₃-C₆; estando cada uno de estos grupos eventualmente sustituido por uno o varios sustituyentes seleccionados independientemente los unos de los otros como siendo un grupo hidroxilo, amino, alquilo de C₁-C₆, hidroxialquilo de C₁-C₆, alcoxi de C₁-C₆, alquil C₁-C₆-tio, alquil C₁-C₆-carboniloxi, fenilo, alcoxi C₁-C₆-fenilo, o alqueno C₂-C₆-fenilo eventualmente sustituido por uno o varios sustituyentes seleccionados independientemente los unos de los otros como siendo un grupo alquilo de C₁-C₆, hidroxialquilo de C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, tioalquilo de C₁-C₆ o alquil C₁-C₆-carboniloxi;
- R⁵ y R⁶ se seleccionan independientemente el uno del otro como siendo un átomo de hidrógeno o un grupo seleccionado de entre alquilo de C₁-C₁₆, alqueno de C₂-C₁₆, alquino de C₂-C₁₆, fenilo, alquil C₁-C₁₆-fenilo, alqueno C₂-C₁₆-fenilo, alquino C₂-C₁₆-fenilo, alcoxi C₁-C₁₆-indol, cicloalquilo de C₃-C₆, alquil C₁-C₁₆-cicloalquilo de C₃-C₆, alqueno C₂-C₁₆-cicloalquilo de C₃-C₆ y alquino C₂-C₁₆-cicloalquilo de C₃-C₆; estando cada uno de estos grupos eventualmente sustituido por uno o varios sustituyentes seleccionados independientemente los unos de los otros como siendo un grupo hidroxilo, amino, alquilo de C₁-C₆, hidroxialquilo de C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, tioalquilo de C₁-C₆, alquil C₁-C₆-carboniloxi, fenilo, alcoxi C₁-C₆-fenilo, o alqueno C₂-C₆-fenilo eventualmente sustituido por uno o varios sustituyentes seleccionados independientemente los unos de los otros como siendo un grupo alquilo de C₁-C₆, hidroxialquilo de C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, tioalquilo de C₁-C₆ o alquil C₁-C₆-carboniloxi;
- o R⁵ y R⁶ forman, con el átomo de nitrógeno al que están unidos, un heterociclo seleccionado de entre la piperidina, la morfolina, la hexametilenoimina o la pirrolidina, eventualmente sustituido por uno o varios alquilo de C₁-C₆;

con la excepción de los compuestos siguientes:

- 4-acetoxi-3,5-dimetoxi-N-morfolino-cinamamida;
- 4-acetoxi-3,5-dimetoxi-N-(2-metilmorfolino)-cinamamida; y
- 4-acetoxi-3,5-dimetoxi-N-(3,4,5-trimetoxifenil)-cinamamida.

2. Compuesto según la reivindicación 1, caracterizado por que R¹ se selecciona como siendo un grupo -(C=O)-R⁵.

3. Compuesto según la reivindicación 1 o 2, caracterizado por que R³ se selecciona como siendo un grupo metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo o hexilo.

4. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado por que R⁴ se selecciona como siendo un grupo alquilo de C₁₂-C₁₆, fenilo, 4-piranona, alquil C₁-C₁₆-fenilo, alqueno C₂-C₁₆-fenilo y cicloalquilo de C₃-C₆, estando cada uno de estos grupos eventualmente sustituido por uno o varios sustituyentes seleccionados independientemente los unos de los otros como siendo un grupo hidroxilo, amino, alquilo de C₁-C₆, hidroxialquilo de C₁-C₆, alcoxi de C₁-C₆, alquil C₁-C₆-tio, alquil C₁-C₆-carboniloxi, piperidina, morfolina, fenilo, alcoxi C₁-C₆-fenilo, o alqueno C₂-C₆-fenilo eventualmente sustituido por uno o varios alquil C₁-C₆-carboniloxi.

5. Compuesto según la reivindicación 4, caracterizado por que R⁴ se selecciona como siendo un grupo alquilo de

- 5 C₁₂-C₁₆; 4-piranona eventualmente sustituido por uno o varios sustituyentes seleccionados independientemente los unos de los otros como siendo un grupo hidroxialquilo de C₁-C₆; fenilo eventualmente sustituido por uno o varios sustituyentes seleccionados independientemente los unos de los otros como siendo alquilo de C₁-C₆ o hidroxialquilo de C₁-C₆; alquil C₁-C₁₆-fenilo eventualmente sustituido por uno o varios sustituyentes seleccionados independientemente los unos de los otros como siendo alcoxi de C₁-C₆ alquil C₁-C₆-tio, alquil C₁-C₆-carboniloxi, alcoxi C₁-C₆-fenilo o alquenil C₂-C₆-fenilo eventualmente sustituido a su vez por uno o varios alquil C₁-C₆-carboniloxi; alquenil C₂-C₁₆-fenilo; y cicloalquilo de C₃-C₆.
- 10 6. Compuesto según la reivindicación 5, caracterizado por que R⁴ se selecciona como siendo la 4-piranona, el 3,4,5-trimetoxibencilo o un alquilo de C₁₆.
- 15 7. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado por que R⁵ y R⁶ se seleccionan independientemente el uno del otro como siendo un átomo de hidrógeno o un grupo seleccionado de entre alquilo de C₁-C₁₆, alquenilo de C₂-C₁₆, fenilo, piperidina, morfolina, alquil C₁-C₁₆-fenilo, alcoxi C₁-C₁₆-indol y cicloalquilo de C₃-C₆, estando cada uno de estos grupos eventualmente sustituido por uno o varios sustituyentes seleccionados independientemente los unos de los otros como siendo un grupo hidroxilo, amino, alquilo de C₁-C₆, hidroxialquilo de C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, tioalquilo de C₁-C₆, alquil C₁-C₆-carboniloxi, fenilo, alcoxi C₁-C₆-fenilo, o alquenil C₂-C₆-fenilo eventualmente sustituido por uno o varios sustituyentes seleccionados independientemente los unos de los otros como siendo un grupo alquilo de C₁-C₆, hidroxialquilo de C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, tioalquilo de C₁-C₆ o alquil C₁-C₆-carboniloxi.
- 20 8. Compuesto según la reivindicación 7, caracterizado por que R⁵ y R⁶ se seleccionan independientemente el uno del otro como siendo un átomo de hidrógeno o un grupo seleccionado de entre alquilo de C₁-C₁₆; alquenilo de C₂-C₁₆; fenilo; piperidina; morfolina eventualmente sustituida por uno o varios sustituyentes seleccionados independientemente los unos de los otros como siendo un grupo hidroxilo o alquilo de C₁-C₆; alquil C₁-C₁₆-fenilo eventualmente sustituido por uno o varios sustituyentes seleccionados independientemente los unos de los otros como siendo un grupo hidroxilo o alcoxi de C₁-C₆; alcoxi C₁-C₁₆-indol; y cicloalquilo de C₃-C₆.
- 25 9. Compuesto según la reivindicación 8, caracterizado por que R⁵ es un átomo de hidrógeno y R⁶ se selecciona como siendo un grupo alquilo de C₁₆ o el 4-hidroxifeniletilo.
- 30 10. Composición cosmética que comprende un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9.
- 35 11. Composición según la reivindicación 10 para el tratamiento cosmético del envejecimiento cutáneo, para un tratamiento cosmético adelgazante y/o para un tratamiento cosmético de blanqueamiento de la piel.
- 40 12. Composición farmacéutica que comprende un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9.
13. Composición según la reivindicación 12, para su utilización en el marco del tratamiento de la enfermedad de Hutchinson-Gilford.