

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 665 519**

51 Int. Cl.:

C07C 43/215	(2006.01)	A61K 31/125	(2006.01)
C07C 43/23	(2006.01)	A61P 25/04	(2006.01)
C07C 62/34	(2006.01)	A61P 25/28	(2006.01)
C07C 69/757	(2006.01)	A61P 25/00	(2006.01)
C07C 49/753	(2006.01)	A61P 19/00	(2006.01)
C07D 311/80	(2006.01)		
A61K 31/352	(2006.01)		
A61K 31/192	(2006.01)		
A61K 31/216	(2006.01)		
A61K 31/09	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.11.2010 PCT/IL2010/000970**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **26.05.2011 WO11061744**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.11.2010 E 10795060 (2)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.01.2018 EP 2501669**

54 Título: **Canfenos arilados, procedimientos para su preparación y usos de los mismos**

30 Prioridad:

19.11.2009 US 262677 P

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

26.04.2018

73 Titular/es:

**YISSUM RESEARCH DEVELOPMENT COMPANY
OF THE HEBREW UNIVERSITY OF JERUSALEM,
LTD. (100.0%)
Hi-Tech Park Edmond J. Safra Campus Givat
Ram P.O.B 39135
91390 Jerusalem, IL**

72 Inventor/es:

**MECHOULAM, RAPHAEL;
MAGID, LITAL;
SHOHAMI, ESTHER y
BAB, ITAI**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 665 519 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

Canfenos arilados, procedimientos para su preparación y usos de los mismos

Campo de la invención

La presente invención se refiere a canfenos arilados, a procedimientos para su preparación y a usos de los mismos para la fabricación de medicamentos para el tratamiento de enfermedades, trastornos o afecciones asociadas a la estimulación de receptores de CB2 o que se benefician de la misma.

Antecedentes de la invención

Las siguientes publicaciones son relevantes para describir el estado de la materia en el campo de la invención:

1. Arévalo-Martín A, García-Ovejero D, Gómez O, Rubio-Araiz A, Navarro-Galve B, Guaza C, Molina-Holgado E, Molina-Holgado F. CB2 cannabinoid receptors as an emerging target for demyelinating diseases: from neuroimmune interactions to cell replacement strategies. *Br J Pharmacol.* 153, 216-25 (2008).
2. Avraham Y, Israeli E, Gabbay E, Okun A, Zolotarev O, Silberman I, Ganzburg V, Dagon Y, Magen I, Vorobia L, Pappo O, Mechoulam R, Ilan Y, Berry EM. Endocannabinoids affect neurological and cognitive function in thioacetamide - induced hepatic encephalopathy. *Neurobiol. Disease*, 21, 237-245 (2006).
3. Ashton JC, Glass M. The cannabinoid CB2 receptor as a target for inflammation-dependent neurodegeneration. *Current Neuropharmacol.* 5, 73-80 (2007).
4. Ashton JC, Rahman RM, Nair SM, Sutherland BA, Glass M, Appleton I. Cerebral hypoxia-ischemia and middle cerebral artery occlusion induce expression of the cannabinoid CB2 receptor in the brain. *Neurosci Lett.* 412, 114-7 (2007).
5. Bartlett, PD, Knox, LH. *Org. Synth. Coll. Vol. 5*, 689 (1973).
6. Benito C, Tolón RM, Pazos MR, Núñez E, Castillo AI, Romero J. Cannabinoid CB2 receptors in human brain inflammation. *Brit. J. Pharmacol.* 153, 277-285 (2008).
7. Bilisland LG, Dick JR, Pryce G, Petrosino S, Di Marzo V, Baker D, Greensmith L. Increasing cannabinoid levels by pharmacological and genetic manipulation delay disease progression in SOD1 mice. *FASEB J.* 20, 1003-5 (2006).
8. Centonze D, Rossi S, Finazzi-Agrò A, Bernardi G, Maccarrone M. The (endo)cannabinoid system in multiple sclerosis and amyotrophic lateral sclerosis. *Int Rev Neurobiol.* 82, 171-86 (2007).
9. Chen Y, Constantini S, Trembovier V, Weinstock M and Shohami E. An experimental model of closed head injury in mice: pathophysiology, histopathology, and cognitive deficits. *J. Neurotrauma* 13, 557-568 (1996).
10. Dagon Y, Avraham Y, Ilan Y, Mechoulam R, Berry EM. Cannabinoids ameliorate cerebral dysfunction following liver failure via AMP-activated protein kinase. *FASEB J.* 21, 2431-2441 (2007).
11. Docagne F, Mestre L, Loria F, Hernangómez M, Correa F, Guaza C. Therapeutic potential of CB2 targeting in multiple sclerosis. *Expert Opin Ther Targets.* 12, 185-95 (2008).
12. Dominianni SJ, Ryan, CW, DeArmitt CW. Synthesis of 5-(tert-alkyl)resorcinols. *J. Org. Chem.* 42, 344-346 (1977).
13. Fernandez-Ruiz J, Gonzalez S, Romero J, Ramos JA. Cannabinoids in neurodegeneration and neuroprotection. In R. Mechoulam (Ed.) "Cannabinoids as Therapeutics". Birkhauser, Basel, 2005, pp 79-109.
14. Fernandez-Ruiz J, Pazos MR, Garcia-Arencibia M, Sagredo O, Ramos JA. Role of CB2 receptors in neuroprotective effects of cannabinoids, *Mol Cell. Endocrin.* 286 (Suppl 1), S91-S96 (2008).
15. Hanus L, Breuer A, Tchilibon S, Shiloah S, Goldenberg DM, Horowitz M, Pertwee RG, Ross RA, Mechoulam R, Fride E. HU -308: A specific agonist for CB2, a peripheral cannabinoid receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. (US)*, 96, 14228-14233 (1999).
16. Hanus LO, Tchilibon S, Ponde DE, Breuer A, Fride E, Mechoulam R. Enantiomeric cannabidiol derivatives: Synthesis and binding to cannabinoid receptors. *Org. Biomol. Chem.* 3, 1116-1123 (2005).
17. Hertzog DL. Recent advances in the cannabinoids. *Expert Opin. Ther. Patents*, 14, 1435-1452 (2004).
18. Klegeris A, Bissonnette CJ, McGeer PL. Reduction of human monocytic cell neurotoxicity and cytokine secretion by ligands of the cannabinoid-type CB2 receptor *Br J Pharmacol.* 139, 775-86 (2003).
19. Kogan NM, Mechoulam R. The chemistry of endocannabinoids. *J. Endocrinol. Investig.* 29 (Suppl. 3) 3-14 (2006).
20. Kogan, NM, Mechoulam, R. Cannabinoids in health and disease. *Dialogues Clin. Neurosci.* 9, 413-430 (2007).
21. Lotersztajn S, Teixeira-Clerc F, Julien B, Deveaux V, Ichigotani Y, Manin S, Tran-Van-Nhieu J, Karsak M, Zimmer A, Mallat A. CB2 receptors as new therapeutic targets for liver diseases. *Brit. J. Pharmacol.*, 153, 286-289 (2008).
22. McMurry JE, Scott WJ. A method for the regiospecific synthesis of enol triflates by enolate trapping. *Tetrahedron Lett.* 24, 979-982 (1983).
23. Mechoulam R, Braun P, Gaoni Y. Syntheses of Δ^1 -THC and related cannabinoids. *J. Am. Chem. Soc.*, 94, 6159-6165 (1972).
24. Mechoulam R, Sumariwalla PF, Feldmann M, Galilly R. Cannabinoids in models of chronic inflammatory conditions. *Phytochem. Revs* 4, 11-18 (2005).
25. Ofek O, Karsak, M, Leclerc N, Fogel M, Frenkel B, Wright K, Tam J, Attar-Namdar M, Kram V, Shohami E, Mechoulam R, Zimmer A, Bab I. Peripheral CB2 cannabinoid receptor regulates bone mass. *Proc. Natl. Acad.*

Sci., Proc. Natl. Acad. Sci. (US) 103, 696-701 (2006).

26. Pacher P, Haskó G. Endocannabinoids and cannabinoid receptors in ischaemia-reperfusion injury and preconditioning. *Br J Pharmacol.* 153:252-62 (2008).

27. Palazuelos J, Aquado T, Egia A, Mechoulam R, Guzman M, Galve-Roperh I. Non-psychoactive CB2 cannabinoid agonists stimulate neural progenitor proliferation. *FASEB J.* 580, 4337-4345 (2006).

28. Palazuelos J, Davoust N, Julien B, Hatterer E, Aguado T, Mechoulam R, Benito C, Romero J, Silva A, Guzman M, Nataf S, Galve-Roperh I. The CB2 cannabinoid receptor controls myeloid progenitor trafficking. Involvement in the pathogenesis of an animal model of multiple sclerosis. *J Biol Chem.* 283, 13320-13329 (2008).

29. Steffens S, Mach F. Cannabinoid receptors in atherosclerosis. *Curr. Opin Lipidology,* 17, 519-526, 2006.

30. Steffens S, Veillard NR, Arnaud C, Pelli G, Burger F, Staub C, Karsak M, Zimmer A, Frossard JL, Mach F. Low dose oral cannabinoid therapy reduces progression of atherosclerosis in mice. *Nature* 434, 782-786 (2005).

31. Thoren S. 4 Isomeric alpha-hydroxybornanones. *Acta Chemica Scandinavica.* 24, 93-98 (1970).

32. van Sickle MD, Duncan M, Kingsley PJ, Mouihate A, Urbani P, Mackie K, Stella N, Makriyannis A, Piomelli D, Davison JS, Marnett LJ, Di Marzo V, Pittman QJ, Patel KD, Sharkey KA. Identification and functional characterization of brain stem cannabinoid CB2 receptors. *Science,* 310, 329-332 (2005).

33. Yamamoto W, Mikami T, Iwamura H. Involvement of central cannabinoid CB2 receptor in reducing mechanical allodynia in a mouse model of neuropathic pain. *Eur. J. Pharmacol.* 583, 56-61 (2008).

34. Zhang M, Martin BR, Adler MW, Razdan RK, Ganea D, Tuma RF. Modulation of the balance between cannabinoid CB1 and CB2 receptor activation during cerebral ischemic/reperfusion injury. *Neurosci.* 152, 753-760 (2008).

35. Pertwee RG, Gibson TM, Stevenson LA, Ross RA, Banner WK, Saha B, Razdan RK and Martin BR. O-1057, a potent water-soluble cannabinoid receptor agonist with antinociceptive properties. *Br J Pharmacol.* 129, 1577-1584 (2000).

36. Shohami E, Gallily R, Mechoulam R, Bass R and Ben-Hur T. Cytokine production in the brain following closed head injury: dexanabinol_ HU-211/ is a novel TNF-a inhibitor and an effective neuroprotectant. *J. Neuroimmunol.* 72, 169-177 (1997).

37. Ross RA, Brockie HC, Stevenson LA, Murphy VL, Templeton F, Makriyannis A and Pertwee RG. Agonist-inverse agonist characterization at CB1 and CB2 cannabinoid receptors of L759633, L759656 and AM630. *Br J Pharmacol.* 126, 665-672 (1999).

38. Beni-Adani L, Gozes I, Cohen Y, Assaf Y, Steingart RA, Brennehan DE, Eizenberg O, Trembolter V and Shohami E. A peptide derived from activity-dependent neuroprotective protein (ADNP) ameliorates injury response in closed head injury in mice. *J Pharmacol Exp Ther.* 296, 57-63 (2001).

Hasta el momento se han caracterizado satisfactoriamente dos receptores cannabinoides, el receptor CB1, presente principalmente en el sistema nervioso central (SNC) (y en menor medida en la periferia), y el receptor CB2, considerado principalmente un receptor periférico. La estimulación natural del receptor CB1, producida por los cannabinoides endógenos, cuándo y dónde sea necesaria, es esencial para muchos de nuestros sistemas fisiológicos. Sin embargo, la administración exógena de agonistas de CB1 (como el componente de la marihuana, el THC) puede producir efectos secundarios indeseables. Por lo tanto, los agonistas de CB1, que actúan sobre el sistema nervioso central, tienen un valor terapéutico limitado (para una revisión reciente, véase, Kogan y Mechoulam, 2007).

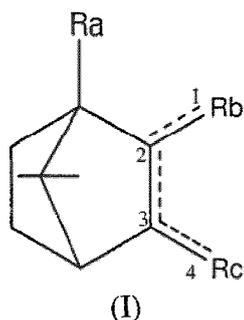
El receptor CB2 está presente a niveles bajos en el SNC, principalmente en las células gliales. Sin embargo, se ha demostrado que numerosas afecciones neurológicas inducen la expresión de este receptor en el cerebro. Algunos de estas afecciones son hipoxia-isquemia cerebral, oclusión de la arterial cerebral, enfermedad de Alzheimer y enfermedad de Huntington. También se demostró que la estimulación del receptor CB2 no está acompañada de efectos secundarios no deseables en el SNC u otros efectos, tales como efectos psicoactivos y/o perjudiciales significativos, generalmente asociados con la estimulación del receptor CB1 (Ashton y Glass, 2007).

Por tanto, existe la necesidad de estimulantes selectivos del receptor CB2 que puedan utilizarse para tratar enfermedades, trastornos o afecciones asociadas a la estimulación de los receptores CB2 o que se benefician de ella.

Sumario de la invención

Un compuesto que alcanza la necesidad se define en las reivindicaciones 1 y 18. Las demás reivindicaciones definen variantes preferentes del compuesto, procedimientos para producir el compuesto reivindicado, composiciones farmacéuticas que comprenden el compuesto y usos del compuesto.

La presente invención proporciona un compuesto de fórmula general (I):



en la que

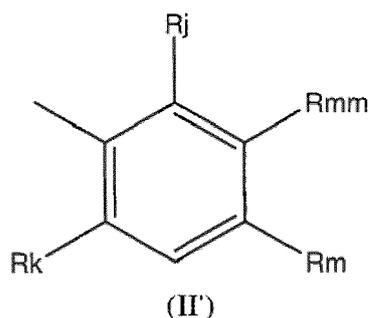
1-----2, 2-----3, 3-----4 son, cada uno independientemente, un enlace simple o doble;

5 R_a se selecciona entre un alquilo C_1-C_5 lineal o ramificado, alquenido C_2-C_5 lineal o ramificado, alquinilo C_2-C_5 lineal o ramificado y $-C(=O)R_d$, cada uno opcionalmente sustituido con al menos un grupo seleccionado entre -OH, -COOH, $-NH_2$, C_1-C_5 amina, halógeno, fenilo, heteroarilo; en la que

R_d se selecciona entre el grupo que consiste en -H, -OH, alquilo C_1-C_5 lineal o ramificado, alquenido C_2-C_5 lineal o ramificado, alquinilo C_2-C_5 lineal o ramificado, alcoxi C_1-C_5 lineal o ramificado, $-NR_eR_f$;

R_e y R_f se selecciona cada uno independientemente entre H y alquilo C_1-C_5 lineal o ramificado; y

10 R_b y R_c se seleccionan cada uno independientemente entre -H, -OH, =O, $=CR_gR_h$, $=NR_i$, =S, y un grupo de fórmula (II'):



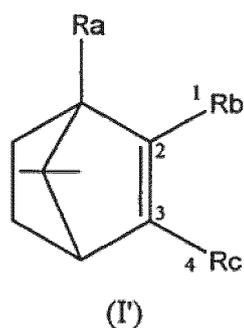
15 en la que R_j , R_k y R_{mm} se seleccionan cada uno independientemente entre H y $-OR_n$, en la que R_n se selecciona entre H, $-COOR_t$, un alquilo C_1-C_5 lineal o ramificado opcionalmente sustituido con al menos un grupo seleccionado entre -COOH, $-NH_2$, a condición de que al menos uno de R_j y R_k sea diferente de H; R_m se selecciona entre un alquilo C_3-C_{12} lineal o ramificado opcionalmente sustituido, un alcoxi C_5-C_9 lineal o ramificado opcionalmente sustituido, un éter C_1-C_7 ; y R_t se selecciona entre H, y alquilo C_1-C_5 ; y en la que

R_g , R_h , y R_i se selecciona cada uno independientemente entre H, alquilo C_1-C_5 lineal o ramificado, alcoxi C_1-C_5 lineal o ramificado y $-NH_2$; y

20 en la que al menos uno de R_b y R_c es un grupo de fórmula (II').

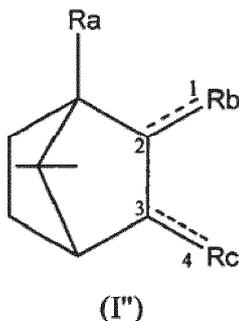
En algunas realizaciones de la invención al menos uno de 1-----2, 2-----3, 3-----4 es un doble enlace.

En una realización de la presente invención, 2-----3 3 del compuesto de fórmula (I) es un doble enlace. Por consiguiente, el compuesto de fórmula (I) es un compuesto de fórmula (I'):



en la que los sustituyentes R_a , R_b y R_c son como se han definido anteriormente en el presente documento.

En otra realización de la presente invención, $\overline{2-3}$ de un compuesto de fórmula (I) es un enlace sencillo. Por consiguiente, el compuesto de fórmula (I) es un compuesto de fórmula (I''):



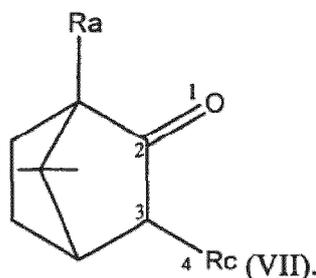
5 en la que los sustituyentes R_a , R_b y R_c son como se han definido anteriormente en el presente documento.

En una realización, $\overline{1-2}$ es un doble enlace. De acuerdo con esta realización, $\overline{2-3}$ es un enlace sencillo and $\overline{3-4}$ pueden ser un enlace sencillo o un doble enlace.

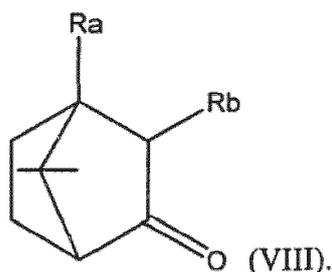
En otra realización, $\overline{3-4}$ es un doble enlace. De acuerdo con esta realización, $\overline{2-3}$ es un enlace sencillo y $\overline{1-2}$ pueden ser un enlace sencillo o doble.

10 En una realización adicional, $\overline{1-2}$ es un enlace sencillo and $\overline{3-4}$ es un enlace sencillo.

En una realización adicional, dicho R_b es =O, por tanto un compuesto de la invención puede ser un compuesto de fórmula (VII), en la que R_c es dicho anillo arilo C_5-C_{15} sustituido:



15 En aún una realización adicional, R_c es =O, por tanto, un compuesto de la invención puede ser un compuesto de fórmula (VIII), en la que R_b es dicho grupo de fórmula (II')

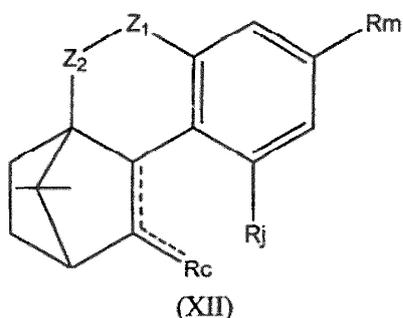


En una realización, un compuesto de la invención se selecciona entre la lista siguiente:

- metil-2-(2,6-ditnetoxi-4-(2-metiloctan-2-il)fenil)-7,7-dimetilbiciclo[2.2.1]hept-2-eno-1-carboxilato;
- metil-2-(2,6-dimetoxi-4-pentilfenil)-7,7-dimetilbiciclo[2.2.1]hept-2-eno-1-carboxilato;
- 20 - 2-(2,6-dimetoxi-4-(2-metiloctan-2-il)fenil)-1,7,7-trimetilbiciclo[2.2.1]hept-2-eno;
- (2-(2,6-dimetoxi-4-(2-metiloctan-2-il)fenil)-7,7-dimetilbiciclo[2.2.1]hept-2-en-1-il)metanol,
- (2-(2,6-dimetoxi-4-pentilfenil)-7,7-dimetilbiciclo[2.2.1]hept-2-en-1-il)metanol;
- ácido 2-(2,6-dimetoxi-4-(2-metilactan-2-il)fenil)-7,7-dimetilbiciclo[2.2.1]hept-2-eno-1-carboxílico;
- ácido 2-(2,6-dimetoxi-4-pentilfenil)-7,7-dimetilbiciclo[2.2.1]hept-2-eno-1-carboxílico;
- 25 - 3-(2,6-dimetoxi-4-(2-metiloctan-2-il)fenil)-1,7,7-trimetilbiciclo[2.2.1]hept-2-eno;
- 3-(2,6-dimetoxi-4-pentilfenil)-1,7,7-trimetilbiciclo[2.2.1]heptan-2-ona;

- 3-(2,6-dimetoxi-4-(2-metiloctan-2-il)fenil)-1,7,7-trimetilbiciclo[2.2.1]heptan-2-ona;
- 3-(2,6-dimetoxi-4-pentilfenil)-1,7,7-trimetilbiciclo[2.2.1]heptan-2-ol;
- 3-(2,6-dimetoxi-4-(2-metiloctan-2-il)fenil)-1,7,7-trimetilbiciclo[2.2.1]heptan-2-ol
- (3-(2,6-dimetoxi-4-(2-metiloctan-2-il)fenil)-7,7-dimetilbiciclo[2.2.1]hept-2-en-1-il)metanol;
- 5 - ácido 3-(2,6-dimetoxi-4-(2-metilactan-2-il)fenil)-7,7-dimetilbiciclo[2.2.1]hept-2-eno-1-carboxílico;
- metil-3-(2,6-dimetoxi-4-(2-metiloctan-2-il)fenil)-7,7-dimetilbiciclo[2.2.1]hept-2-eno-1-carboxilato;
- (3-(2,6-dimetoxi-4-pentilfenil)-7,7-dimetilbiciclo[2.2.1]hept-2-en-1-il)metanol;
- ácido 3-(2,6-dimetoxi-4-pentilfenil)-7,7-dimetilbiciclo[2.2.1]hept-2-eno-1-carboxílico;
- 5-(2-metiloctan-2-il)-2-(4,7,7-trimetilbiciclo[2.2.1]hept-2-en-2-il)benceno-1,3-diol;
- 10 - 2-(4-(hidroximetil)-7,7-dimetilbiciclo[2.2.1]hept-2-en-2-il)-5-(2-metiloctan-2-il)benceno-1,3-diol;
- ácido 3-(2,6-dihidroxi-4-(2-metiloctan-2-il)fenil)-7,7-dimetilbiciclo[2.2.1]hept-2-eno-1-carboxílico;
- 2-(4(hidroximetil)-7,7-dimetilbiciclo[2.2.1]heptan-2-il)-5-(2-metiloctan-2-il)benceno-1,3-diol;
- 5-(2-metiloctan-2-il)-2-(4,7,7-trimetilbiciclo[2.2.1]heptan-2-il)benceno-1,3-diol; y
- ácido 3-(2,6-dihidroxi-4-(2-metiloctan-2-il)fenil)-7,7-dimetilbiciclo[2.2.1]heptano-1-carboxílico.

15 En algunas realizaciones, un compuesto de la invención tiene la fórmula general (XII):



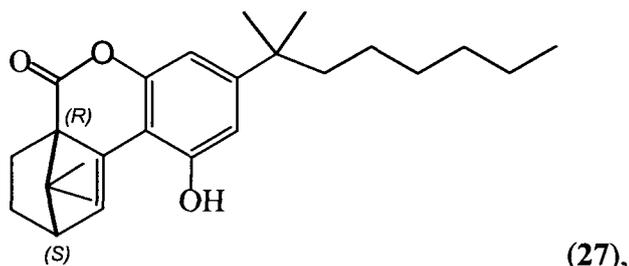
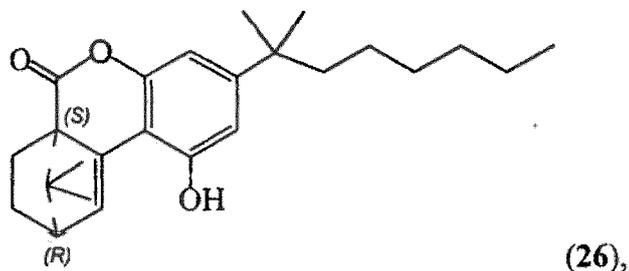
en la que ----- es un enlace sencillo o un doble enlace;

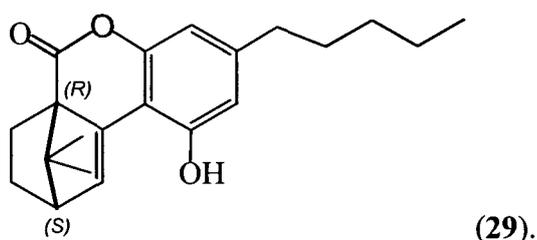
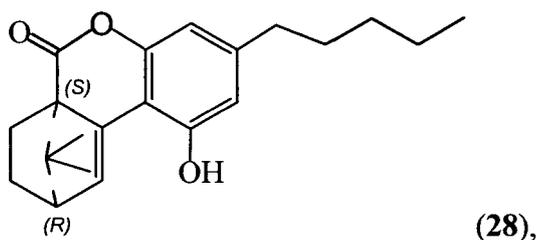
20 R_c se selecciona entre -H, -OH, =O, =CR_gR_h, =NR_i, =S, un grupo arilo que tiene hasta 15 átomos de carbono sustituidos por al menos un grupo seleccionado entre un alquilo C₁-C₁₂ lineal o ramificado, alquenilo C₂-C₁₂, alquinilo C₂-C₁₂, alcoxi C₁-C₁₂, amina, ácido C₁-C₁₂ alcoxicarboxílico, -OC(=O)R_p y -C(=O)R_q; en el que R_g, R_h, R_i, R_p y R_q se seleccionan cada uno independientemente entre H, alquilo C₁-C₅ lineal o ramificado, alcoxi C₁-C₅ lineal o ramificado y -NH₂;

25 R_j se selecciona entre H y -OR_n en el que R_n se selecciona entre H, -COOR_t, un alquilo C₁-C₅ lineal o ramificado opcionalmente sustituido con al menos un grupo seleccionado entre -COOH, -NH₂; y R_t se selecciona entre H, alquilo C₁-C₅ y -NH₂;

R_m se selecciona entre un alquilo C₆-C₁₂ lineal o ramificado, un alcoxi C₅-C₉ lineal o ramificado, un éter C₁-C₇ lineal o ramificado; cada uno opcionalmente sustituido con al menos un grupo seleccionado entre -COOH, -NH₂; Z_1 y Z_2 se seleccionan cada uno independientemente entre -O-, alquilenilo C₁-C₅ lineal o ramificado, -S-, -C(=O)- y -C(-S)-.

30 En otras realizaciones, un compuesto de la invención se puede seleccionar entre el grupo que consiste en:





5 Tal como se usa en el presente documento, el término "*alquilo*" se refiere a una cadena de hidrocarburo de cadena lineal o ramificada que tiene de uno a cinco átomos de carbono o de uno a siete átomos de carbono o de cinco a nueve átomos de carbono o de seis a doce átomos de carbono. Ejemplos de "*alquilo*" tal como se usa en el presente documento incluyen, pero sin limitación, metilo, etilo, propilo, n-butilo, n-pentilo, isobutilo e isopropilo, terc-butilo, y similares.

10 Tal como se usa en el presente documento, el término "*alqueni*lo" representa un grupo hidrocarburo de cadena lineal o ramificada que tiene de 2 a 5 o de 2 a 12 átomos de carbono y al menos un doble enlace. Los ejemplos de tales grupos incluyen, pero sin limitación, etenilo, 1-propenilo, 2-propenilo, isopropenilo, 1,3-butadienilo, 1-butenilo, 2-butenilo, 1-pentenilo, 2-pentenilo, 1-hexenilo, 2-hexenilo y similares.

15 Tal como se usa en el presente documento, el término "*alquini*lo" representa un grupo hidrocarburo de cadena lineal o ramificada que tiene de 2 a 5 o de 2 a 12 átomos de carbono y al menos un triple enlace. Los ejemplos de tales grupos incluyen, pero sin limitación, etinilo, 1-propinilo, 2-propinilo, 1-butinilo, 2-butinilo, 1-pentinilo, 2-pentinilo, 1-hexinilo, 2-hexinilo y similares.

20 Tal como se usa en el presente documento, el término "*arilo*" se refiere a grupos monocíclicos o multicíclicos aromáticos que contienen de 5 a 15 átomos de carbono. Los grupos arilo incluyen, pero sin limitación, grupos tales como fluorenilo sustituido o no sustituido, fenilo sustituido o no sustituido y naftilo sustituido o no sustituido. Cuando se hace referencia a dicho arilo sustituido, dicha sustitución puede estar en cualquier posición en el anillo, distinto del punto de unión al otro sistema de anillo de un compuesto de la invención. Por lo tanto, puede sustituirse cualquier átomo de hidrógeno en el anillo arilo con un sustituyente definido por la invención. En las realizaciones en las que el arilo es un anillo fenilo, dicha sustitución puede realizarse en la posición *meta*- y/u *orto*- y/o *para* respecto del punto de unión.

25 Tal como se usa en el presente documento, el término "*heteroarilo*" se refiere a un sistema de anillo aromático monocíclico o multicíclico, en determinadas realizaciones, de aproximadamente 5 a aproximadamente 15 miembros, cuando uno o más, en una realización de 1 a 3, de los átomos en el sistema de anillo es un heteroátomo, es decir, un elemento distinto de carbono, incluyendo, pero sin limitación, nitrógeno, oxígeno o azufre. El grupo heteroarilo puede estar opcionalmente condensado a un anillo de benceno. Los grupos heteroarilo incluyen, pero sin limitación, furilo, imidazolilo, pirimidinilo, tetrazolilo, tienilo, piridilo, pirrolilo, tiazolilo, isotiazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, triazolilo, quinolinilo e isoquinolinilo,

30

Tal como se usa en el presente documento, el término "*ácido alcoxicarboxílico C₁-C₁₂*" se refiere a un radical -O-(alquileo C₁-C₁₂)-COOH.

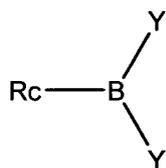
35 Tal como se usa en el presente documento, el término "*alquileo*" se refiere a un grupo hidrocarburo lineal o ramificado divalente y saturado que tiene de uno a cinco átomos de carbono. Los ejemplos no limitantes de grupos alquileo C₁₋₅ incluyen, metileno, etileno, 1,2-propileno, 1,3-propileno, butileno, isobutilideno, pentileno, hexileno y similares.

Tal como se usa en el presente documento, con el término "*éster*" se pretende incluir un grupo -COOR en el que R es un alquilo como se ha definido anteriormente en el presente documento.

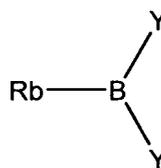
40 Como se usa en el presente documento, el término "*éter*" se refiere a un grupo -R'OR, en el que R' es un grupo alquileo C₁-C₇ lineal o ramificado y R es un grupo alquilo C₁-C₇ lineal o ramificado.

Tal como se usa en el presente documento, el término "*alcoxi*" se refiere a un grupo RO-, en el que R es alquilo como se ha definido anteriormente.

respectivamente:



(XI')



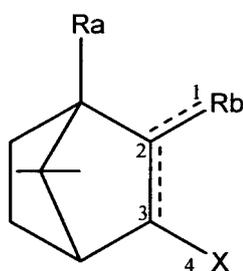
(XI)

en la que cada uno de Y se selecciona entre OH, alcoxi C₁-C₅ o ambos pueden formar un anillo dialcoxi cíclico junto con el átomo de boro al que están unidos, en presencia de un catalizador; obteniendo de este modo un compuesto de fórmula (I).

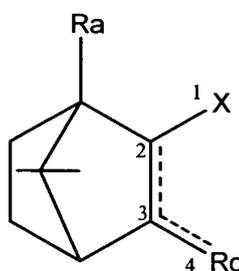
5

En otro aspecto, la invención proporciona un procedimiento para la preparación de un compuesto de fórmula general (I), como se ha definido anteriormente en el presente documento, comprendiendo dicho procedimiento:

(a) proporcionar un compuesto que tiene la fórmula general (X) o (X')



(X)



(X')

10 en la que R_a, R_b y R_c tienen los mismos significados tal como se ha definido anteriormente en el presente documento; X es un haluro, pseudohaluro, grupo saliente funcional (tal como, por ejemplo, -OTf y grupos funcionales similares que se pueden retirar fácilmente tras la reacción de acoplamiento); y 1-----2, 2-----3, 3-----4 son cada uno independientemente un enlace simple o un enlace doble;

15 (b) acoplar un compuesto (X) o (X') con R_c-H o R_b-H respectivamente; obteniendo de este modo un compuesto de fórmula (I). En algunas realizaciones, dicho procedimiento de acoplamiento es un proceso de intercambio halógeno-metal, tal como se detalla en el presente documento a continuación.

Dichos procesos incluyen, por ejemplo, las siguientes reacciones de *acoplamiento cruzado* de Suzuki:

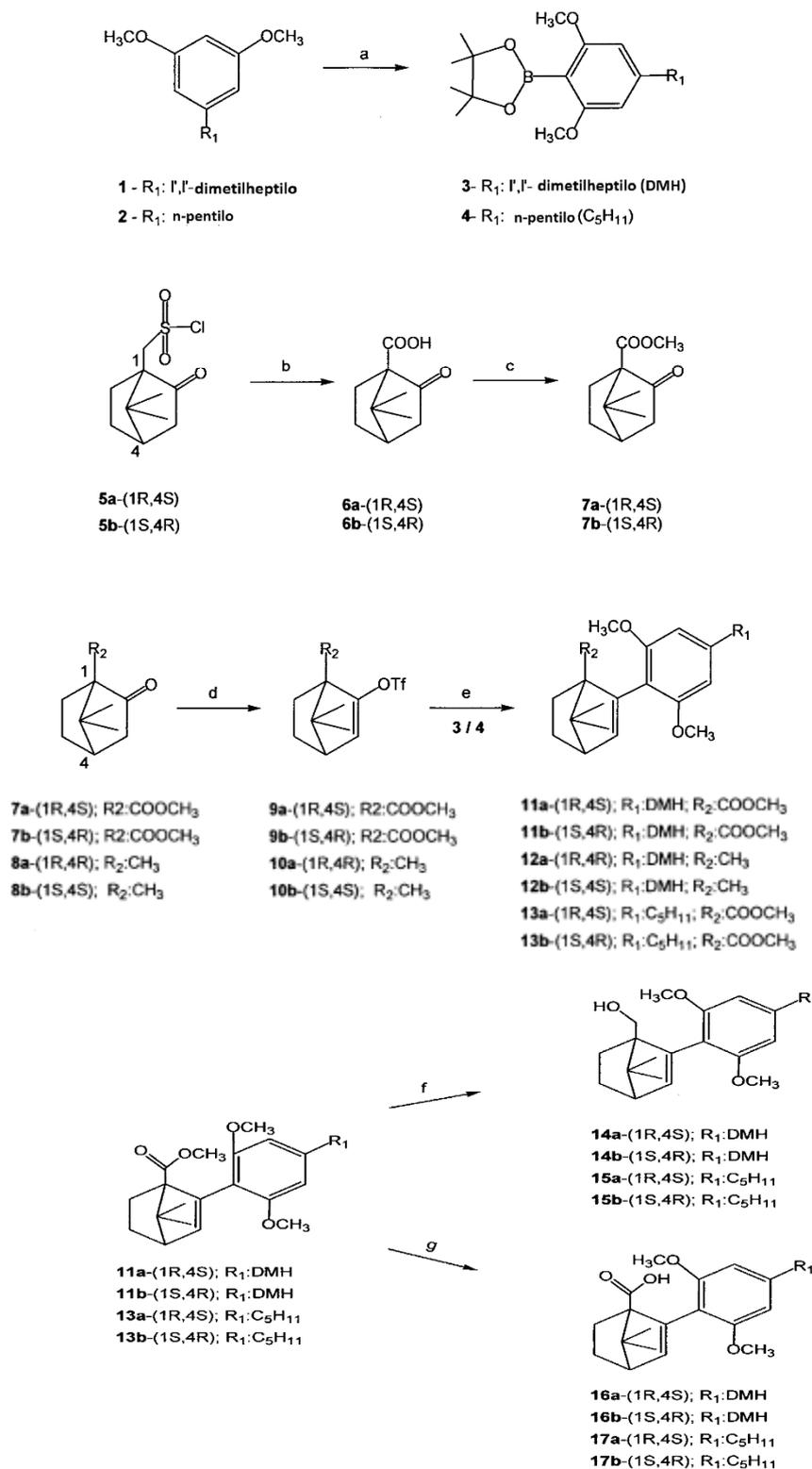
1. Metilación de (±) ácido cetopínico con yoduro de metilo y carbonato de potasio en dimetilformamida, obteniendo de este modo (±) cetopinato de metilo;
- 20 2. Enolización de (±) alcanfor / (±) epialcanfor / (±) metilcetobitato de metilo por diisopropilamida de litio y la adición de feniltrifimida en tetrahidrofurano, para proporcionar el (±) triflato de vinilo correspondiente;
3. Litiación de 2,6-dimetil-éter-4-alkilresorcinol por n-butil-litio y formación de éster arilborónico usando pinacolborato de isopropilo en tetrahidrofurano;
- 25 4. Reacción de acoplamiento cruzado entre éster arilborónico y triflato de (±) vinilo catalizado por tetrakis-paladio trifenilfosfina en presencia de fluoruro de terc-butilamonio en tetrahidrofurano para obtener el borne arilado (±) correspondiente;
5. Reducción de (±) cetopinato de metilo arilado por hidruro de litio y aluminio en tetrahidrofurano, para proporcionar el alcohol correspondiente;
- 30 6. Hidrólisis de (±) cetopinato de metilo arilado por hidróxido de litio en metanol / agua para obtener el ácido correspondiente.

Otro proceso alternativo para la fabricación de compuestos de la invención incluye el procedimiento de *intercambio halógeno-metal* de la siguiente manera:

- 35 1. La litiación mediante n-butil-litio y la metalación con yoduro de cobre de 2,6-dimetil-éter-4-alkil-resorcinol estimularon la reacción de acoplamiento con (+) 3-bromoalcanfor en éter dietílico y dimetilsulfóxido para obtener el alcanfor arilado correspondiente
2. Reducción de carbonilo alcanfórico por hidruro de litio y aluminio en tetrahidrofurano, para proporcionar el alcohol correspondiente.

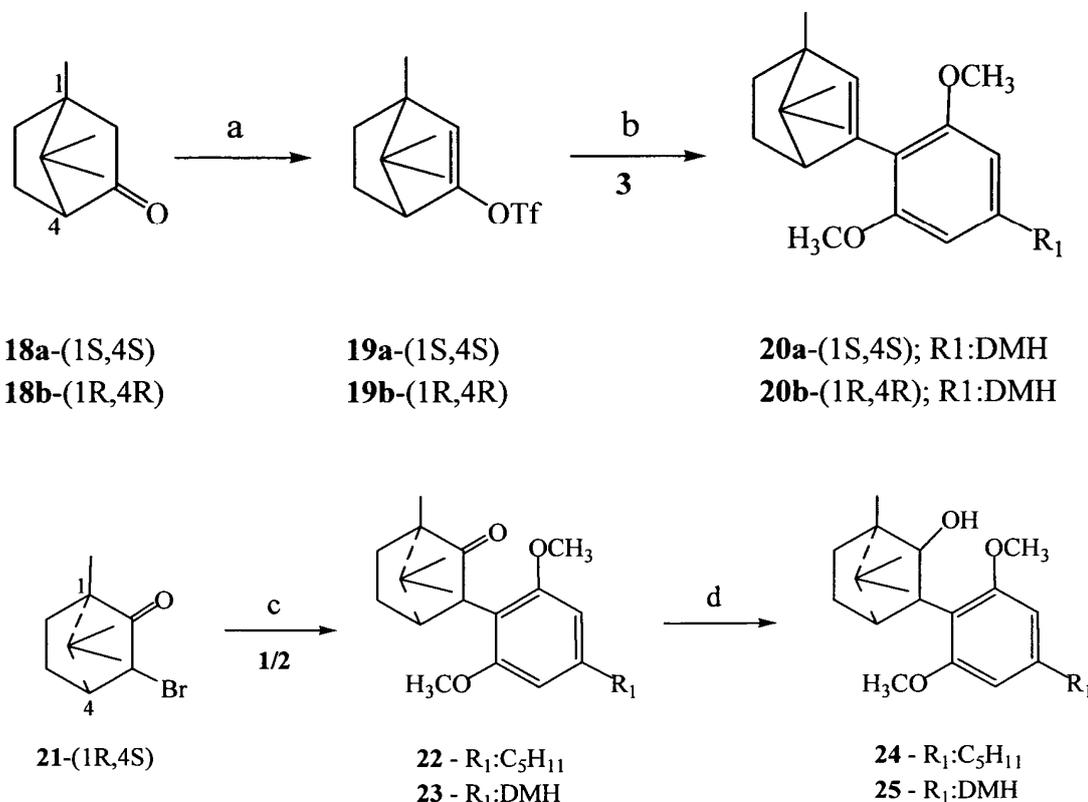
Ejemplos de procedimientos sintéticos para la fabricación de compuestos de la invención se describen en los Esquemas 1 y 2.

Esquema 1a. Reacción de acoplamiento cruzado en la posición C2 del resto alcanforico



* Reactivos y condiciones: (a) n-BuLi, THF, 0°C, PINBOP, -78°C. (b) Na₂CO₃, H₂O, KMnO₄, reflujo. (c) K₂CO₃, DMF, MeI, r.t. (d) LDA, THF, -78°C, feniltriflimida, o s c a t. a. (e) Pd(PPh₃)₄, t-BuNF, THF, reflujo (f) LiAlH₄, THF, 0° to r.t. (g) LiOH, MeOH/H₂O 3:1, 200°C.

Esquema 2^a. Reacción de acoplamiento cruzado en la posición **C3** del resto alcanfórico



^a **Reacciones y condiciones:** (a) LDA, THF, -78°C, **feniltriflimida**, 0°C a t.a. (b) Pd(PPh₃)₄, t-BuNF, THF, **reflujo**, (c) n-BuLi, éter dietílico, 0°C a t.a. CuI, éter dietílico/DMSO. (d) LiAlH₄, éter dietílico, 0°C a **reflujo**.

En una realización adicional, un compuesto de la invención puede estimular un receptor CB.

- 5 Se entiende que el término "*receptor CB*" abarca un receptor cannabinoide acoplado a proteína G, definido por su capacidad para unirse a los cannabinoides y/o endocannabinoides. En una realización, dicho receptor es un receptor CB2 (receptor cannabinoide de tipo 2). En otra realización, dicha estimulación de un receptor CB2 está asociada con el tratamiento de una enfermedad, trastorno o afección.

10 Cuando se hace referencia a "estimulación" de una composición de la invención a un receptor CB, se pretende que incluya cualquier grado de excitación de un receptor CB para permitir la activación de dicho receptor, tal como, por ejemplo, un efecto agonista de un compuesto de la invención en dicho receptor CB. Se observa que, para que se pueda lograr dicha estimulación, debe establecerse una asociación entre un compuesto de la invención y dicho receptor debe establecerse. Un compuesto de la presente invención puede asociarse con dicho receptor a través de cualquier tipo de interacción, tal como, por ejemplo, enlace covalente, uniones electrostáticas (tal como, por ejemplo, puentes de hidrógeno, interacciones π o σ, fuerzas de dispersión de London, fuerzas de Van-Der-Waals, etc.), enlaces iónicos, enlaces metálicos, etc.

Se ha demostrado que la estimulación del receptor CB2 tiene un valor médico considerable (Ashton y Glass, 2007). Algunos efectos relevantes para nuestra patente se enumeran a continuación:

- 20 1. La estimulación selectiva del receptor CB2 provoca efectos antiinflamatorios potentes en varios modelos de animales (Ashton y Glass, 2007; Benito y col., 2008); disminuye el dolor neuropático (Yamamoto y col., 2008); inhibe la secreción de citocinas proinflamatorias (Klegeris y col., 2003).
2. Los agonistas del receptor CB2 estimulan la función de los osteoblastos e inhiben los osteoclastos, lo que conduce a una mayor formación de hueso. Estos efectos son de gran relevancia para la osteoporosis (Ofek y col., 2005).
- 25 3. La estimulación del receptor CB2 retarda la progresión de la aterosclerosis en un modelo animal (Steffens y col., 2005; Steffens y Mach, 2006). Debido a que la hipoxia-isquemia cerebral y la oclusión de la arteria cerebral media inducen la expresión del receptor CB2, dichos agonistas pueden disminuir los efectos de estas afecciones

(Ashton y col., 2006).

4. Se ha demostrado que la estimulación selectiva del receptor CB2 reduce la encefalopatía hepática (una complicación neuropsiquiátrica que se produce en la insuficiencia hepática tanto aguda como crónica) y que muestra efectos antifibrinogénicos (Avraham y col., 2006; Dagon y col., 2007; Lotersztajn y col., 2008).

5. La estimulación del receptor CB2 tiene el potencial de bloquear la progresión de la enfermedad de Alzheimer (Benito y col., 2008), la enfermedad de Huntington (Fernandez-Ruiz y col., 2005), la esclerosis lateral amiotrófica (Bilsland y col., 2006; Centonze y col., 2007), la esclerosis múltiple (Docagne y col., 2008) y trastornos de la mielina (Arevalo-Martin y col., 2008). Para una revisión general, véase Fernandez-Ruiz y col., (2008).

6. La activación del receptor cannabinoide CB2 disminuye el infarto cerebral en un modelo en ratón de isquemia focal/reperfusión y un antagonista de CB1 junto con un agonista de CB2 mejoraron el flujo sanguíneo cerebral (Zhang y col., 2008).

7. La estimulación del receptor CB2 ayuda al establecimiento del precondicionamiento isquémico (una forma endógena potente de protección de los tejidos contra la isquemia-reperfusión en varios órganos) (Pacher y Hasko, 2008).

8. La estimulación del receptor CB2 causa la inhibición de la emesis (van Sickle y col., 2005).

9. Los agonistas cannabinoide CB2 estimulan la proliferación de progenitores neurales (Palazuelos y col., 2006, 2008). Este efecto puede estar asociado con la mejora del daño neuronal.

En el contexto de la presente invención, se entiende que el término "tratamiento" abarca el control y el cuidado de un paciente con el fin de combatir una enfermedad, trastorno o afección. Se entiende que el término incluye el retraso de la progresión de una enfermedad, trastorno o afección, la mejora o alivio de síntomas y complicaciones y/o la cura o eliminación de la enfermedad, trastorno o afección. El paciente que se va a tratar es, preferentemente, un mamífero, en particular un ser humano. Este término se refiere a la administración de una cantidad terapéutica de un compuesto de la invención que resulte eficaz para: el alivio de los síntomas no deseados asociados a una enfermedad, trastorno o afección patológica; eficaz para la prevención la manifestación de dichos síntomas antes de que ocurran; eficaz para la ralentización de la evolución de una enfermedad o trastorno; eficaz para la ralentización del deterioro producido por una enfermedad, trastorno o afección; eficaz para prolongar el inicio del período de remisión; eficaz para ralentizar el daño irreversible causado en una etapa progresiva crónica de un trastorno; eficaz para retrasar el inicio de dicha fase progresiva; eficaz para atenuar la gravedad o curar la enfermedad o trastorno; eficaz para mejorar las tasas de supervivencia de personas infectadas con la enfermedad o eficaz para prevenir la aparición de la enfermedad (por ejemplo, en una persona generalmente predispuesta a contraer la enfermedad) o una combinación de dos o más de los anteriores.

Por lo tanto, en una realización de la presente invención, dicha enfermedad, trastorno o afección se selecciona entre inflamación, dolor, alergias, enfermedades neurológicas y neurodegenerativas, hepatopatías, lesión cerebral, cáncer, vascularización retiniana, endometritis, trastornos relacionados con el apetito, síndrome metabólico, diabetes, aterosclerosis; trastornos relacionados con efectos antifibrinogénicos, enfermedad inflamatoria del intestino, artritis y emesis, o cualquier combinación de las mismas.

En una realización adicional, dicha enfermedad, trastorno o afección es una lesión cerebral. En otra realización dicha lesión cerebral es un traumatismo cerebral seleccionado entre lesión craneal cerrada, lesión craneal penetrante, lesión por explosión, lesión cerebral por isquemia-reperfusión, lesión cerebral posquirúrgica, hemorragia cerebral.

En otra realización, dicho compuesto de la invención puede reducir el daño secundario producido por un traumatismo cerebral.

Se entiende que la expresión "lesión cerebral", "*traumatismo cerebral*" o "*lesión cerebral traumática*", tal como se usa en el presente documento de forma intercambiable, abarca cualquier lesión traumática en el cerebro, que puede estar provocada por una fuerza externa de impacto (tal como un impacto de aceleración o desaceleración rápida, ondas expansivas o penetración por un proyectil) o por cualquier enfermedad o trastorno (tal como, por ejemplo, isquemia, apoplejía, infección o aneurisma).

El traumatismo cerebral puede clasificarse según su gravedad, mecanismo (lesión cerebral cerrada o penetrante) u otras características (por ejemplo, que se producen en un punto anatómico específico en un área extensa del cerebro). Las lesiones en la cabeza también se pueden clasificar en categorías leve, moderada y grave, y se pueden diagnosticar utilizando diferentes escalas internacionales que miden, por ejemplo, el nivel de conciencia del sujeto lesionado.

Además de los daños causados en el momento de la lesión, el traumatismo cerebral produce una lesión secundaria (daños secundarios causados por el traumatismo cerebral), lo que se manifiesta en varios acontecimientos que se producen en minutos y/o días después de la lesión. Estos procesos, que incluyen alteraciones del flujo sanguíneo cerebral y la presión dentro del cráneo, contribuyen significativamente a agravar los daños causados por la lesión inicial. Como resultado, la función cerebral puede verse afectada temporal o permanentemente y el daño estructural puede o no ser detectable.

El deterioro de la función cerebral y de las funciones neurológicas del cerebro puede atribuirse no solo a la lesión cerebral principal (los daños que se producen en el momento del traumatismo cuando los tejidos y vasos sanguíneos

se estiran, comprimen y rompen) sino también a la lesión secundaria, expresada por un conjunto complejo de procesos celulares y cascadas bioquímicas que tienen lugar en un plazo de minutos a días después del traumatismo. Estos procesos secundarios pueden empeorar drásticamente el daño causado por la lesión primaria y representan el mayor número de trastornos permanentes y también muertes. Los acontecimientos secundarios incluyen, aunque sin limitaciones, daños en la barrera hematoencefálica, liberación de factores que causan inflamación, sobrecarga de radicales libres, liberación excesiva del neurotransmisor glutamato (excitotoxicidad), entrada de iones de calcio y sodio en las neuronas y mal funcionamiento de la mitocondria. Los axones dañados en la materia blanca del cerebro pueden separarse de sus cuerpos celulares como resultado de una lesión secundaria, lo que puede matar esas neuronas. Otros factores de la lesión secundaria son los cambios en el flujo sanguíneo al cerebro; isquemia (flujo sanguíneo insuficiente); hipoxia cerebral (insuficiente oxígeno en el cerebro); edema cerebral (inflamación del cerebro); y aumento de la presión intracraneal (presión dentro del cráneo). La presión intracraneal puede aumentar debido a la inflamación o al efecto de masa producido por una lesión, tal como una hemorragia. Como resultado, la presión de perfusión cerebral (la presión del flujo sanguíneo en el cerebro) se reduce; se produce isquemia. Cuando la presión dentro del cráneo es demasiado alta, puede causar la muerte cerebral o hernia, en la que las estructuras del cráneo presionan partes del cerebro.

En otra realización, un compuesto de la invención se utiliza para su uso como medicamento.

En una realización adicional, un compuesto de la invención se usa en el tratamiento de una enfermedad, trastorno o afección se selecciona entre inflamación, dolor, alergias, enfermedades neurológicas y neurodegenerativas, hepatopatías, lesión cerebral, cáncer, vascularización retiniana, endometritis, trastornos relacionados con el apetito, síndrome metabólico, diabetes, aterosclerosis; trastornos relacionados con efectos antifibrinogénicos, enfermedad inflamatoria del intestino, artritis y emesis, o cualquier combinación de las mismas. En una realización, un compuesto de la invención se usa en el tratamiento de la lesión cerebral. En otra realización, dicha lesión cerebral se selecciona entre lesión craneal cerrada, lesión craneal penetrante, lesión por explosión, lesión cerebral por isquemia-reperusión, lesión cerebral posquirúrgica, hemorragia cerebral. En otra realización, un compuesto de la invención se utiliza para su uso para disminuir el daño secundario producido por traumatismo craneal.

En otro de sus aspectos, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención.

En una realización, dicha composición farmacéutica de la invención se utiliza para el tratamiento de una enfermedad, trastorno o afección se selecciona entre inflamación, dolor, alergias, enfermedades neurológicas y neurodegenerativas, hepatopatías, lesión cerebral, cáncer, vascularización retiniana, endometritis, trastornos relacionados con el apetito, síndrome metabólico, diabetes, aterosclerosis; trastornos relacionados con efectos antifibrinogénicos, enfermedad inflamatoria del intestino, artritis y emesis, o cualquier combinación de las mismas. En otra realización, dicha enfermedad, trastorno o afección es una lesión cerebral. En una realización adicional, dicha lesión cerebral se selecciona entre lesión craneal cerrada, lesión craneal penetrante, lesión por explosión, lesión cerebral por isquemia-reperusión, lesión cerebral posquirúrgica, hemorragia cerebral. En otra realización, se usa una composición farmacéutica de la invención se usa para disminuir el daño secundario producido por un traumatismo cerebral.

En otro aspecto adicional de la invención, se proporciona un uso de un compuesto de la invención, para la fabricación de una composición farmacéutica.

En algunas realizaciones, dicha composición farmacéutica se utiliza para la estimulación del crecimiento óseo, la masa ósea, la reparación ósea o la prevención de pérdida de hueso.

En otro aspecto, la invención proporciona un uso de un compuesto de la invención, para la fabricación de un medicamento (o composición farmacéutica) capaz de estimular un receptor CB. En una realización, el receptor es un receptor CB2.

En un aspecto adicional, la invención proporciona un uso de un compuesto de la invención, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una lesión cerebral.

En otro aspecto, la invención proporciona un uso de un compuesto de la invención, para la fabricación de un medicamento para disminuir el daño secundario producido por un traumatismo cerebral.

En otro de sus aspectos, la invención proporciona un uso de un compuesto de la invención, para la preparación de una composición farmacéutica para la estimulación del crecimiento óseo, la masa ósea, la reparación ósea o la prevención de pérdida de hueso.

En un aspecto adicional de la invención se proporciona un compuesto de la invención, para su uso en la estimulación del crecimiento óseo, la masa ósea, la reparación ósea o la prevención de pérdida de hueso.

En otro de sus aspectos, la invención proporciona un procedimiento de estimulación de crecimiento óseo, la masa ósea, la reparación ósea o la prevención de pérdida de hueso, comprendiendo dicho procedimiento la administración a un sujeto que lo necesite de una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto de la invención.

- En algunas realizaciones, dicha estimulación del crecimiento óseo, la masa ósea, la reparación ósea o la prevención de pérdida de hueso se asocia con el tratamiento de al menos una enfermedad o trastorno seleccionado entre osteopenia, osteoporosis, fractura o deficiencia ósea, hiperparatiroidismo primario o secundario, osteoartritis, enfermedad o deficiencia periodontal, enfermedad osteolítica de pérdida ósea, postoperatorio de cirugía plástica, 5 postoperatorio de cirugía ortopédica, postoperatorio de cirugía oral, postoperatorio de implante ortopédico y postoperatorio de implante dental, cáncer óseo primario y metastásico, osteomielitis o cualquier combinación de los mismos.
- En otras realizaciones, dicha al menos una enfermedad o trastorno se selecciona entre osteopenia y osteoporosis.
- La expresión "*estimulación del crecimiento óseo, la masa ósea, la reparación ósea*" se utiliza para abarcar cualquier estimulación cuantitativa y/o cualitativa de crecimiento del tejido óseo, cualquier estimulación cuantitativa y/o 10 cualitativa de la masa del tejido óseo y cualquier estimulación cuantitativa y/o cualitativa de reparación del tejido óseo (por ejemplo, en caso de que cualquier parte del tejido óseo sufriera algún daño o fractura tras un impacto o como consecuencia de una enfermedad, afección o cualquier efecto secundario de un tratamiento externo) en vertebrados en cualquier estadio de desarrollo (desde el estadio embrionario hasta la vejez). En algunas 15 realizaciones, la composición farmacéutica es para aumentar la masa ósea en un sujeto que lo necesite. En otras realizaciones, la composición farmacéutica es para estimular la reparación ósea.
- La expresión "prevención de la pérdida ósea " pretende abarcar cualquier prevención cuantitativa y / o cualitativa de la pérdida de tejido óseo en vertebrados en cualquier etapa de desarrollo (desde la etapa de desarrollo embrionario hasta la vejez.
- Los ejemplos no limitantes de afecciones médicas que se benefician de la estimulación del crecimiento óseo, aumento de masa ósea, prevención y recuperación de pérdida ósea y la reparación ósea son osteopenia, osteoporosis, fractura o deficiencia ósea, hiperparatiroidismo primario o secundario, osteoartritis, enfermedad o deficiencia periodontal, enfermedad osteolítica de pérdida ósea, postoperatorio de cirugía plástica, postoperatorio de 20 cirugía ortopédica, postoperatorio de cirugía oral, postoperatorio de implante ortopédico y postoperatorio de implante dental, cáncer óseo primario y metastásico, osteomielitis o cualquier combinación de los mismos. En algunas realizaciones, una afección médica que se beneficia de la estimulación del crecimiento óseo es la osteopenia o la osteoporosis.
- Cuando se hace referencia a composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la presente invención, debe entenderse que abarca mezclas de compuestos de la invención, con auxiliares farmacéuticamente aceptables 30 y, opcionalmente, otros agentes terapéuticos. Los auxiliares deben ser "*acceptables*" en el sentido de ser compatibles con los otros ingredientes de la composición y no perjudiciales para los destinatarios de la misma.
- Las composiciones farmacéuticas incluyen las adecuadas para administración oral, rectal, nasal, tópica (incluyendo transdérmica, bucal y sublingual), vaginal o parenteral (incluyendo administración subcutánea, intramuscular, intravenosa e intradérmica) o administración a través de un implante. Las composiciones pueden prepararse por 35 cualquier procedimiento conocido en la materia de la farmacia. Dichos procedimientos comprenden la etapa de asociar los compuestos utilizados en la invención o combinación de los mismos con cualquier agente auxiliar.
- El agente o agentes auxiliares, también denominados ingrediente o ingredientes accesorios, incluyen los convencionales en la materia, tales como vehículos, cargas, aglutinantes, diluyentes, disgregantes, lubricantes, colorantes, agentes aromatizantes, antioxidantes y agentes humectantes.
- Las composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración oral se pueden presentar como unidades de dosificación pequeñas, tales como píldoras, comprimidos, grageas o cápsulas, o también como polvo o gránulos, o como solución o suspensión. El principio activo también se puede presentar como un bolo o pasta. Las composiciones pueden procesarse adicionalmente en un supositorio o enema para administración rectal.
- La invención incluye además una composición farmacéutica, según se ha descrito anteriormente, en combinación 45 con material de embalaje, incluidas las instrucciones de uso de la composición de acuerdo con el uso descrito anteriormente en el presente documento.
- Para administración parenteral, las composiciones adecuadas incluyen inyecciones estériles acuosas y no acuosas. Las composiciones pueden presentarse en envases monodosis o multidosis, por ejemplo, viales sellados y ampollas, y pueden almacenarse en condiciones de secado por congelación (liofilizadas) que solo requieren la adición de un 50 vehículo líquido estéril, por ejemplo, agua, antes de usar.
- Para administración transdérmica, se pueden contemplar, por ejemplo, geles, parches o aerosoles. Las composiciones o formulaciones adecuadas para administración pulmonar, por ejemplo mediante inhalación nasal, incluyen polvos finos o neblinas que pueden generarse por medio de aerosoles, nebulizadores o insufladores presurizados a dosis medidas.
- La dosis y régimen de administración exactos de la composición dependerán necesariamente del efecto terapéutico o nutricional que quiera lograrse y pueden variar según la fórmula en particular, la vía de administración y la edad y 55

el estado de la persona en particular a quien se le administrará la composición.

Un procedimiento para estimular un receptor CB en un sujeto que lo necesite comprende administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención. En una realización, dicho receptor CB es un receptor CB2.

- 5 Un procedimiento para tratar una enfermedad, trastorno o afección seleccionado de inflamación, dolor, alergias, enfermedades neurológicas y neurodegenerativas, hepatopatías, lesión cerebral, cáncer, vascularización retiniana, endometritis, trastornos relacionados con el apetito, síndrome metabólico, diabetes, aterosclerosis; trastornos relacionados con efectos antifibrinogénicos, enfermedad inflamatoria del intestino, artritis y emesis, o cualquier combinación de los mismos, comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de un compuesto de la invención.

10 Un procedimiento para tratar una lesión cerebral en un sujeto que lo necesita, comprende la administración a dicho sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto de la invención. En otra realización, dicha lesión cerebral se selecciona entre lesión craneal cerrada, lesión craneal penetrante, lesión por explosión, lesión cerebral por isquemia-reperfusión, lesión cerebral posquirúrgica, hemorragia cerebral.

- 15 En un aspecto adicional, la invención proporciona un procedimiento para disminuir los daños secundarios causados por un traumatismo cerebral en un sujeto que lo necesita, comprendiendo dicho procedimiento la administración a dicho sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto de la invención.

- 20 En un aspecto adicional, la invención proporciona un procedimiento para afectar a la formación de AMPc en un sujeto que lo necesite, comprendiendo dicho procedimiento la administración a dicho sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto de la invención.

Cuando se hace referencia a la influencia de un compuesto de la invención sobre "afectar a la formación de AMPc" debe entenderse que abarca la estimulación o la inhibición de la acumulación de AMPc inducida por forskolina.

Breve descripción de los dibujos

- 25 A fin de entender la invención y descubrir cómo puede llevarse a cabo en la práctica, a continuación se describirán realizaciones, a modo de ejemplo no limitante únicamente, haciendo referencia a los dibujos adjuntos, en los que:

Las **Figuras 1A-1G** muestran los gráficos de unión de GTPyS para el receptor CB2 humano de los compuestos de la invención: HU-308 (Fig. 1A), HU-909 (Fig. 1B), HU-910 (Fig. 1C), HU-911 (Fig. 1D), HU-913 (Fig. 1E), HU-926 (Fig. 1F) y HU-928 (Fig. 1G). Los datos se muestran como la unión de [³⁵S]GTPyS normalizada según la unión máxima de HU-308 en las mismas condiciones experimentales.

- 30 La **Figura 2** muestra el grado de recuperación (medido como ΔNSS (puntuación de la gravedad neurológica)= NSS (1 h)-NSS(t)) en un periodo de entre 24 horas y 21 días después de un traumatismo craneal cerrado (TCC) para grupos que reciben diferentes dosis de HU-910 (14b), (c1= 0,1 mg/kg, c2= 1 mg/kg, c3= 10 mg/kg, inyectado i.p. 1 h después del TCC). El grupo de control (veh) recibió únicamente vehículo (etanol:cremofor:solución salina en una proporción de 1:1:18).

- 35 La **Figura 3** muestra el grado de recuperación (medido como ΔNSS (puntuación de la gravedad neurológica)= NSS (1 h)-NSS(t)) en un periodo de entre 24 horas y 14 días después de un traumatismo craneal cerrado (TCC) para grupos que reciben: 10 mg/kg de HU-910 (14b) (inyectado i.p. 1 h después del TCC), 1 mg/kg del antagonista de SR144528 CB2 solo, 1 mg/kg del antagonista de SR144528 CB2 y 10 mg/kg de HU-910 después de 10 minutos. El grupo de control (veh) recibió únicamente vehículo (etanol:cremofor:solución salina en una proporción de 1:1:18).

La **Figura 4** representa la recuperación de los cuatro grupos (medido como ΔNSS (puntuación de la gravedad neurológica) =NSS(1 h)-NSS(t)), durante un periodo de 1 hora a 28 días después del TCC.

La **Figura 5** representa la puntuación de la gravedad neurológica (ΔNSS)=NSS (1 h)-NSS(t)) que se siguió durante 24 horas y 21 días después de un TCC.

- 45 La **Figura 6** representa el grado de recuperación de los cuatro grupos (medidos como ΔNSS= NSS(1 h)-NSS(t)) durante un periodo de 24 horas a 28 días después de un TCC).

La **Figura 7** representa la puntuación de la gravedad neurológica (NSS) seguida 1 h a 14 días después de TCC.

Las **Figuras 8A-8D** representan la producción de TNF-α después del TCC en la corteza izquierda (Figura 8A), el hipocampo izquierdo (Figura 8B), la corteza derecha (Figura 8C) y el hipocampo derecho (Figura 8D).

Descripción detallada de realizaciones

Los siguientes ejemplos son representativos de las técnicas empleadas por los inventores para llevar a cabo aspectos de la presente invención. Debe entenderse que mientras estas técnicas ilustran las realizaciones preferentes para la práctica de la invención, los expertos en la técnica, a la luz de la presente divulgación, reconocerán que pueden realizarse numerosas modificaciones sin apartarse del espíritu y ámbito previsto de la invención.

Ejemplo 1: Preparaciones sintéticas

MATERIALES Y procedimientos

Todos los reactivos se adquirieron en Sigma-Aldrich (Israel) y Acros (Israel) y se utilizaron sin purificación adicional. El (\pm)-alcanfor y el (+)-3-bromoalcanfor se adquirieron en Sigma-Aldrich (Israel). El cloruro de (\pm)-alcanfor-10-sulfonilo y la (\pm)-alcanforquinona se adquirieron en Acros (Israel).

- 5 Todos los disolventes se adquirieron en Bio-Lab (Israel).

Todas las reacciones anhidras se llevaron a cabo en una atmósfera de nitrógeno en cristalería secada a la llama utilizando los disolventes anhidros.

La malla de gel de sílice de 60Å 0,063-0,2 se adquirió en BioLab (Israel) y se utilizó para la cromatografía en columna.

- 10 La cromatografía preparativa en capa fina (TLC) se realizó en placas de gel de sílice PLC 60 A F₂₅₄, 2 mm se adquirieron en Merck (Alemania).

La pureza de los compuestos intermedios y finales se determinó mediante TLC analítica en gel de sílice prerrecubierto de aluminio 60, F₂₅₄, 200 μ m, adquirido en Merck (Alemania) y los cromatogramas se visualizaron bajo luz ultravioleta y por tinción de ácido fosfomolibdico.

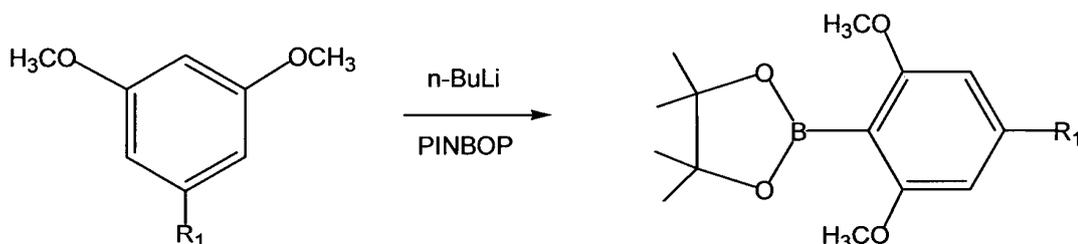
- 15 Los puntos de fusión se determinaron en un aparato de punto de fusión electrotrémico capilar y no se corrigieron.

Los espectros de RMN ¹H se registraron en un espectrómetro Varian Unity Inova 300 MHz y se procesaron con el software MestReC. Todos los espectros de RMN se registraron usando CDCl₃ como disolvente a menos que se indique lo contrario y los desplazamientos químicos se informan en ppm con respecto al tetrametilsilano como patrón interno. Las multiplicidades se indican como s (singlete), d (doblete), dd (doblete de dobletes), ddd (doblete de doblete de dobletes), dddd (doblete de doblete de doblete de dobletes), t (triplete), m (multiplete) y las constantes de acoplamiento (*J*) se indican en hertzios (Hz).

- 20 Los espectros de masas se registraron en un sistema Hewlett-Packard G2000 GC/MS con cromatógrafo de gases HP-5971 con un detector de ionización de electrones.

- 25 Se llevaron a cabo análisis elementales en el Analizador Perkin-Elmer 2400 serie II del Laboratorio de Microanálisis del Departamento de Química, Universidad Hebrea de Jerusalén.

PREPARACIONES SINTÉTICAS DE LOS COMPUESTOS (3) Y (4):



1 - R₁: 1',1'- dimetilheptilo

2 - R₁: n-pentilo

3- R₁: 1',1'- dimetilheptilo (DMH)

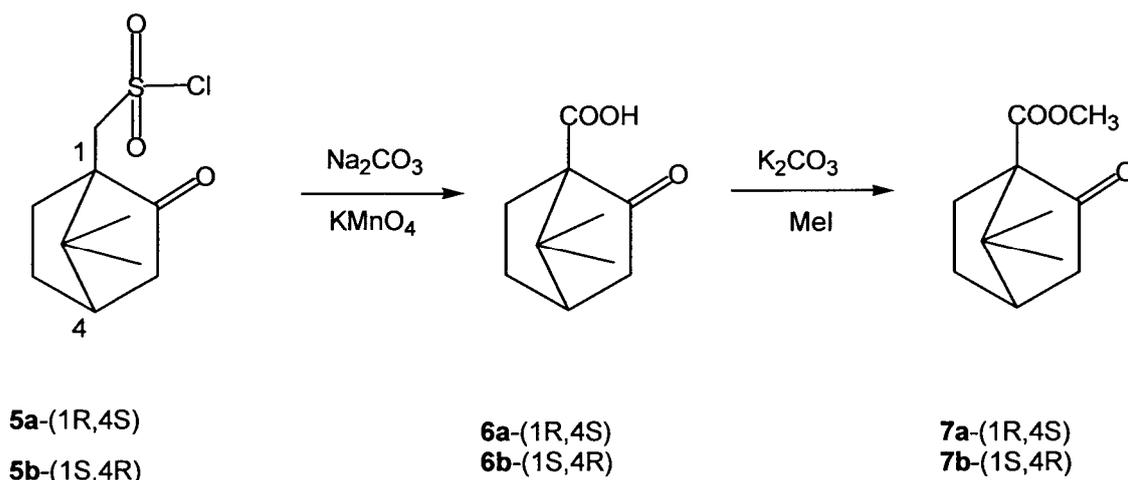
4- R₁: n-pentilo (C₅H₁₁)

- 30 **2-(2,6-dimetoxi-4-(2-metilheptan-2-il)fenil)-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano. (3).** A una solución de 0,132 g de éter dimetilico de 4-alkilresorcinol **1** (0,5 mmol) en 4 ml de THF se añadieron 0,34 ml de n-BuLi (0,55 mmol, solución 1,6 M en hexano) a 0 °C. Después de agitar adicionalmente durante 1 hora a 0 °C, la mezcla de reacción se enfrió a -78 °C y se añadió una solución de PINBOP 0,15 ml (0,75 mmol) de una vez. La mezcla de reacción se dejó calentar hasta la temperatura ambiente y se continuó agitando durante una noche. La reacción se procesó con NH₄Cl acuoso, se extrajo con 3 porciones de éter dietílico que se lavó con salmuera y agua. La fase orgánica se secó sobre MgSO₄ y se concentró al vacío. El producto se obtuvo como una mezcla no separable de boronato de pinacolarilo éter dimetilico de **3** y 4-alkilresorcinol **1** (en una relación de 4:3 de acuerdo con el análisis GC-MS) 0,19 g y se usó como tal en la reacción de acoplamiento de Suzuki. La RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ ppm 6,41 (s, 2H), 3,76 (s, 6H), 1,51-1,58 (m, 2H), 1,37 (s, 6H), 1,25 (s, 6H), 1,24 (s, 6H), 1,13-1,21 (m, 8H), 0,84 (t, *J* = 6,87 Hz, 3H). Masa exacta calculada para C₂₇H₃₄O₃ m/e 390,29; observado 390,80.

- 35 **2-(2,6-dimetoxi-4-pentilfenil)-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano (4).** El compuesto del título se preparó

mediante el procedimiento general descrito para el compuesto 3, usando 0,104 g de éter dimetílico de 4-
alquilresorcinol **2** (0,5 mmol) en 4 ml de THF, 0,34 ml de *n*-BuLi (0,55 mmol, solución 1,6 M en hexano) y 0,15 ml de
PINBOP (0,75 mmol). El producto se obtuvo como una mezcla no separable de 0,165 g de boronato de pinacol arilo
4 y 4-*alquilresorcinol* éter dimetílico **2** (en una relación de 4:3 de acuerdo con el análisis GC-MS) y se usó como tal
5 en la reacción de acoplamiento de Suzuki. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ ppm 6,28 (s, 2H), 3,76 (s, 6H), 2,55 (t, *J*
=7,53 Hz, 2H), 1,55-1,63 (m, 2H), 1,27 (s, 6H), 1,26 (s, 6H), 1,24 (m, 4H), 0,87 (m, 3H). Masa exacta calculada para
C₂₇H₃₄O₃ m / e 334,23; observado 334,62.

PREPARACIONES SINTÉTICAS DEL COMPUESTO (7):



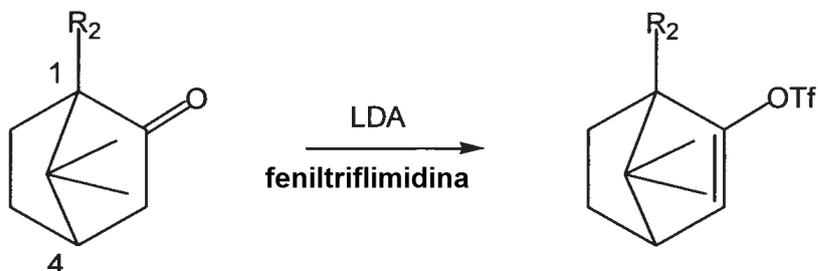
10 (1R,4S)-metil-7,7-dimetil-2-oxobiciclo[2.2.1]heptano-1-carboxilato (7a)

A una mezcla de 0,182 g de ácido cetopínico **6a** (1 mmol) y 1,1 g de K₂CO₃ (8 mmol) agitado en 10 ml de DMF se
añadieron 0,125 ml de MeI (0,284 g, 2 mmol). La mezcla de reacción se dejó en agitación durante 18 horas a
temperatura ambiente. La mezcla de reacción se disolvió en 80 ml de agua y se extrajo con 3 porciones de 30 ml de
éter dietílico. La fase orgánica se lavó con solución de NaHCO₃ saturado, se secó y se concentró al vacío, para dar
15 0,184 g de un aceite amarillo (94 %). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ ppm 3,75 (s, 3H), 2,53 (ddd, *J* = 18,29, 3,7 Hz,
1H), 2,36 (ddd, *J* = 14,99, 11,82, 3,99 Hz, 1H), 2,10 (t, *J* = 4,4 Hz, 1H), 2,02 (m, 1H), 1,92-1,98 (d, *J* = 18,40 Hz, 1H),
1,79 (ddd, *J* = 14,16, 9,35, 4,95 Hz, 1H), 1,41 (ddd, *J* = 12,65, 9,49, 4,26 Hz, 1H), 1,15 (s, 3H), 1,07 (s, 3H). Masa
exacta calculada para C₁₁H₁₆O₃ m / e 196,11; observado 196,22.

(1S,4R)-metil-7,7-dimetil-2-oxobiciclo[2.2.1]heptano-1-carboxilato (7b)

20 El compuesto del título se preparó a partir de **6b** mediante el procedimiento general descrito para el compuesto **7a**.
Aceite amarillo (96 %). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ ppm 3,75 (s, 3H), 2,53 (ddd, *J* = 18,29, 3,7 Hz, 1H), 2,36 (ddd, *J*
= 14,99, 11,82, 3,99 Hz, 1H), 2,10 (t, *J* = 4,4 Hz, 1H), 2,02 (m, 1H), 1,92-1,98 (d, *J* = 18,40 Hz, 1H), 1,79 (ddd, *J* =
14,16, 9,35, 4,95 Hz, 1H), 1,41 (ddd, *J* = 12,65, 9,49, 4,26 Hz, 1H), 1,15 (s, 3H), 1,07 (s, 3H). Masa exacta calculada
para C₁₁H₁₆O₃ m / e 196,11; observado 196,22.

25 PREPARACIONES SINTÉTICAS DE LOS COMPUESTOS (9) Y (10):

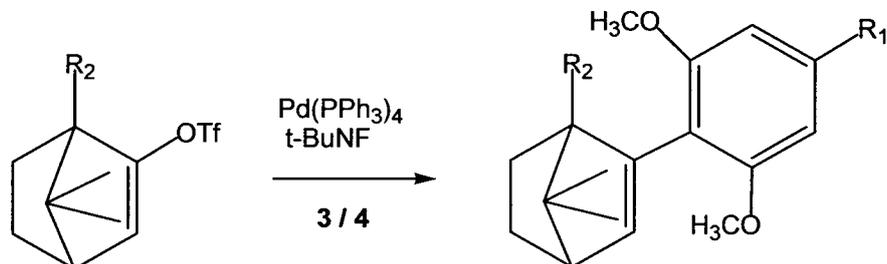


7a-(1R,4S); R₂:COOCH₃**7b**-(1S,4R); R₂:COOCH₃**8a**-(1R,4R); R₂:CH₃**8b**-(1S,4S); R₂:CH₃**9a**-(1R,4S); R₂:COOCH₃**9b**-(1S,4R); R₂:COOCH₃**10a**-(1R,4R); R₂:CH₃**10b**-(1S,4S); R₂:CH₃**(1R,4S)-metil-7,7-dimetil-2-(trifluorometilsulfoniloxi)biciclo[2.2.1]hept-2-eno-1-carboxilato (9a)**

Una solución preenfriada (0 °C) de 0,06 g de éster metílico **7a** (0,3 mmol) en 1,5 ml de THF se añadió a una solución de 0,17 ml de LDA (0,34 mmol, solución 2M) en 2 ml de THF at -78 °C y la solución resultante se dejó en agitación durante 2 horas. Se añadió una solución de 0,115 g de feniltriflimida (0,32 mmol) en 2 ml de THF y la reacción se agitó a 0 °C durante 3 horas y se dejó en agitación durante 15 horas adicionales a temperatura ambiente. Después de la retirada del disolvente en el evaporador rotatorio, el aceite amarillo resultante se purificó mediante cromatografía sobre gel de sílice (éter de petróleo / éter) para dar 0,07 g (71%) de un aceite de color parduzco. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 5,81 (dd, J=3,74, 1H), 3,77 (s, 3H), 2,51 (t, J = 3,67 Hz, 1H), 2,39 (ddd, J = 3,71, 8,76, 12,47 Hz, 1H), 2,03-2,13 (m, 1H), 1,65 (ddd, J = 3,68, 9,18, 12,65 Hz, 1H), 1,24 (ddd, J = 3,72, 9,18, 12,64 Hz, 1H), 1,11 (s, 3H), 0,97 (s, 3H). Masa exacta calculada para C₁₂H₁₅F₃O₅ m / e 328,06; observado 328,44.

(1S,4R)-metil-7,7-dimetil-2-(trifluorometilsulfoniloxi)biciclo[2.2.1]hept-2-eno-1-carboxilato (9b)

El compuesto del título se preparó a partir de **7b** mediante el procedimiento general descrito para el compuesto **9a**. Aceite parduzco (68 %). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 5,81 (dd, J=3,74, 1H), 3,77 (s, 3H), 2,51 (dd, J = 3,67, 3,67 Hz, 1H), 2,39 (ddd, J = 3,71, 8,76, 12,47 Hz, 1H), 2,03-2,13 (m, 1H), 1,65 (ddd, J = 3,68, 9,18, 12,65 Hz, 1H), 1,24 (ddd, J = 3,72, 9,18, 12,64 Hz, 1H), 1,11 (s, 3H), 0,97 (s, 3H). Masa exacta calculada para C₁₂H₁₅F₃O₅ m / e 328,06; observado 328,44.

PREPARACIONES SINTÉTICAS DE LOS COMPUESTOS (11), (12) Y (13):**9a**-(1R,4S); R₂:COOCH₃**9b**-(1S,4R); R₂:COOCH₃**10a**-(1R,4R); R₂:CH₃**10b**-(1S,4S); R₂:CH₃**11a**-(1R,4S); R₁:DMH; R₂:COOCH₃**11b**-(1S,4R); R₁:DMH; R₂:COOCH₃**12a**-(1R,4R); R₁:DMH; R₂:CH₃**12b**-(1S,4S); R₁:DMH; R₂:CH₃**13a**-(1R,4S); R₁:C₅H₁₁; R₂:COOCH₃**13b**-(1S,4R); R₁:C₅H₁₁; R₂:COOCH₃

(1R,4S)-metil-2-(2,6-dimetoxi-4-(2-metiloctan-2-il)fenil)-7,7-dimetilbiciclo[2.2.1]hept-2-eno-1-carboxilato (11a)
Un arilboronato de pinacol **3** (mezclado con éter dimetílico de 4-alkilresorcinol **1**) 0,474 g, 0,328 g de enoltriflato **9a** (1,00 mmol), 0,07 g de Pd(PPh₃)₄ (0,006 mmol) y 1,5 ml de t-BuNF (1,5 mmol, solución 1M en THF) en 15 ml de THF se calentaron a reflujo durante 15 horas. La mezcla de reacción se filtró a través de celite y el filtrado se concentró al vacío. La purificación adicional mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (éter de petróleo/ éter) proporcionó un producto deseado en forma de un aceite de color amarillo claro 0,288 g (65 %). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ ppm 6,45 (s, 2H), 6,28 (d, J = 3,42 Hz, 1H), 3,72 (s, 6H), 3,45 (s, 3H), 2,43 (m, 2H), 1,80-2,03 (m, 1H), 1,53-1,58 (m, 2H), 1,26 (s, 6H), 1,13-1,22 (m, 7H), 1,11 (s, 3H), 0,98-1,08 (m, 3H), 0,97 (s, 3H), 0,84 (t, J = 6,79 Hz, 3H). Masa exacta calculada para C₂₈H₄₂O₄ m / e 442,31; observado 442,92. Anál. calc. para C₂₈H₄₂O₄: C, 75,98; H, 9,56. Observado: C, 76,14; H, 9,65.

(1S,4R)-metil-2-(2,6-dimetoxi-4-(2-metiloctan-2-il)fenil)-7,7-dimetilbicyclo[2.2.1]hept-2-eno-1-carboxilato (11b, HU-912) El compuesto del título se preparó a partir de **9b** mediante el procedimiento general descrito para el compuesto **11a**. Aceite amarillento (69 %). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ ppm 6,45 (s, 2H), 6,28 (d, *J* = 3,42 Hz, 1H), 3,72 (s, 6H), 3,45 (s, 3H), 2,43 (m, 2H), 1,80-2,03 (m, 1H), 1,53-1,58 (m, 2H), 1,26 (s, 6H), 1,13-1,22 (m, 7H), 1,11 (s, 3H), 0,98-1,08 (m, 3H), 0,97 (s, 3H), 0,84 (t, *J* = 6,79 Hz, 3H). Masa exacta calculada para C₂₈H₄₂O₄ m / e 442,31; observado 442,91. Anál. calc. para C₂₈H₄₂O₄: C, 75,98; H, 9,56. Observado: C, 75,58; H, 9,70.

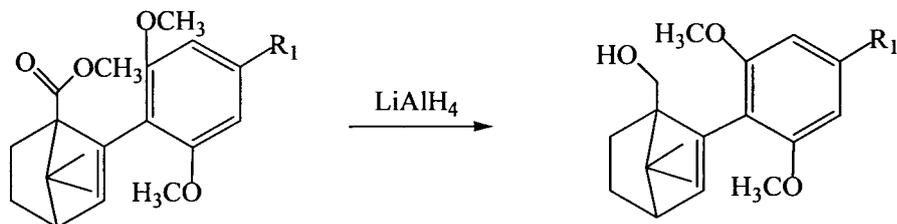
(1R,4S)-metil-2-(2,6-dimetoxi-4-pentilfenil)-7,7-dimetilbicyclo[2.2.1]hept-2-eno-1-carboxilato (13a, HU-971) El compuesto del título se preparó mediante el procedimiento general descrito para el compuesto **11a** (HU-911), usando 0,244 g de arilboronato de pinacol **4** (mezclado con **2**), 0,2 g de enoltriflato **9a** (0,61 mmol), 0,042 g de Pd(PPh₃)₄ (0,037 mmol) y 0,91 ml de t-BuNF (0,91 mmol, solución 1M en THF) para dar 170 mg de un aceite incoloro (72 %). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ ppm 6,33 (s, 2H), 6,26 (d, *J* = 3,42 Hz, 1H), 3,71 (s, 6H), 3,47 (s, 3H), 2,55 (t, *J* = 7,70 Hz, 2H), 2,38-2,46 (m, 2H), 1,81-2,03 (m, 2H), 1,56-1,66 (m, 2H), 1,30-1,35 (m, 4H), 1,12 (s, 3H, syn), 1,07-1,16 (m, 1H), 0,97 (s, 3H, anti), 0,90 (t, *J* = 6,84 Hz, 3H). Masa exacta calculada para C₂₄H₃₄O₄ por el procedimiento general descrito para el comp. o₄O₄: C, 74,58; H, 8,87. Observado: C, 74,61; H, 9,04.

(1S,4R)-metil-2-(2,6-dimetoxi-4-pentilfenil)-7,7-dimetilbicyclo[2.2.1]hept-2-eno-1-carboxilato (13b, HU-972). El compuesto del título se preparó a partir de **9b** mediante el procedimiento general descrito para el compuesto **13a** (HU-971). Aceite incoloro (69 %). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ ppm 6,33 (s, 2H), 6,26 (d, *J* = 3,42 Hz, 1H), 3,71 (s, 6H), 3,47 (s, 3H), 2,55 (t, *J* = 7,70 Hz, 2H), 2,38-2,46 (m, 2H), 1,81-2,03 (m, 2H), 1,56-1,66 (m, 2H), 1,30-1,35 (m, 4H), 1,12 (s, 3H, syn), 1,07-1,16 (m, 1H), 0,97 (s, 3H, anti), 0,90 (t, *J* = 6,84 Hz, 3H). Masa exacta calculada para C₂₄H₃₄O₄ m / e 386,25; observado 386,67. Anál. calc. para C₂₄H₃₄O₄: C, 74,58; H, 8,87. Observado: C, 74,31; H, 8,90.

(1R,4R)-2-(2,6-dimetoxi-4-(2-metiloctan-2-il)fenil)-1,7,7-trimetilbicyclo[2.2.1]hept-2-eno (12a, HU-907). El compuesto del título se preparó mediante el procedimiento general descrito para el compuesto **11a**, usando 0,755 g de arilboronato de pinacol **3** (mezclado con **1**), 0,5 g de alcanforenoltriflato **10a** (1,76 mmol), 0,122 g de Pd(PPh₃)₄ (0,011 mmol) y 2,64 ml de t-BuNF (2,64 mmol, solución 1M en THF) para dar 0,525 g de aceite amarillento (75 %), que solidificó tras reposo a -20 °C para dar un sólido de color blanco. p.f. 34-36 °C; RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ ppm 6,50 (s, 2H), 5,87 (d, *J* = 3,27 Hz, 1H), 3,74 (s, 6H), 2,37 (t, *J* = 3,46, 1H), 1,88 (m, 1H), 1,65 (m, 1H), 1,61 (m, 2H), 1,55 (m, 1H), 1,30 (s, 6H), 1,15 (m, 1H), 1,19-1,26 (m, 6H), 1,07-1,18 (m, 2H), 1,05 (s, 3H), 0,86 (t, *J* = 6,71 Hz, 3H), 0,83 (s, 3H), 0,82 (s, 3H). Masa exacta calculada para C₂₇H₄₂O₂ m / e 398,32; observado 398,79. Anál. calc. para C₂₇H₄₂O₂: C, 81,35; H, 10,62. Observado: C, 81,08; H, 10,69.

(1S,4S)-2-(2,6-dimetoxi-4-(2-metiloctan-2-il)fenil)-1,7,7-trimetilbicyclo[2.2.1]hept-2-eno (12b, HU-908). El compuesto del título se preparó a partir de **10b** mediante el procedimiento general descrito para el compuesto **12a** (HU-907). Sólido blanco (81 %). p.f. 35-37 °C; RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ ppm 6,50 (s, 2H), 5,87 (d, *J* = 3,27 Hz, 1H), 3,74 (s, 6H), 2,37 (t, *J* = 3,46, 1H), 1,88 (m, 1H), 1,65 (m, 1H), 1,61 (m, 2H), 1,55 (m, 1H), 1,30 (s, 6H), 1,15 (m, 1H), 1,19-1,26 (m, 6H), 1,07-1,18 (m, 2H), 1,05 (s, 3H), 0,86 (t, *J* = 6,71 Hz, 3H), 0,83 (s, 3H), 0,82 (s, 3H). Masa exacta calculada para C₂₇H₄₂O₂ m / e 398,32; observado 398,79. Anál. calc. para C₂₇H₄₂O₂: C, 81,35; H, 10,62. Observado: C, 81,47; H, 10,85.

PREPARACIONES SINTÉTICAS DE LOS COMPUESTOS (14) Y (15):



11a-(1R,4S); R₁:DMH

11b-(1S,4R); R₁:DMH

13a-(1R,4S); R₁:C₅H₁₁

13b-(1S,4R); R₁:C₅H₁₁

14a-(1R,4S); R₁:DMH

14b-(1S,4R); R₁:DMH

15a-(1R,4S); R₁:C₅H₁₁

15b-(1S,4R); R₁:C₅H₁₁

(1R,4S)-2-(2,6-dimetoxi-4-(2-metiloctan-2-il)fenil)-7,7-dimetilbicyclo[2.2.1]hept-2-en-1-il)metanol (14a, HU-909). La solución de 0,790 g de éster metílico **11a** (1,79 mmol) en THF 20 ml se enfrió a 0 °C. Después de la adición de 3,58 ml de LiAlH₄ (3,58 mmol, solución 1M en éter dietílico), la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 18 horas. La reacción se procesó con una pequeña cantidad de solución saturada y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con salmuera y agua, se secó y se concentró al vacío. El producto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (éter de petróleo/éter) para dar 0,460 g de aceite (62 %), que solidificó tras reposo a -20 °C para dar un sólido amarillo. p.f. 49-51 °C; RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ ppm 6,52

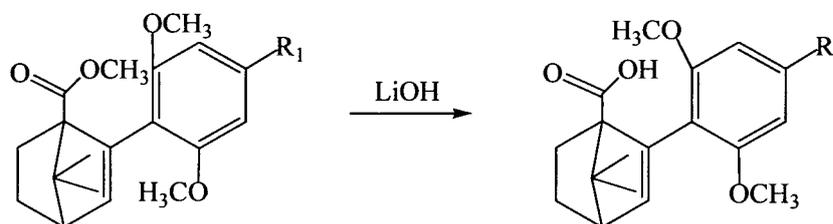
(s, 2H), 5,90 (d, $J = 3,24$ Hz, 1H), 3,75 (s, 6H), 3,65 (m, 2H), 2,35 (t, $J = 3,39$, 1H), 2,25 (dd, $J = 7,29$, $J = 5,01$, 1H), 1,93 (m, 1H), 1,53-1,59 (m, 5H), 1,27 (s, 6H), 1,21 (s, 3H), 1,0-1,19 (m, 7H), 0,94 (s, 3H), 0,85 (t, $J = 6,71$ Hz, 3H). Masa exacta calculada para $C_{27}H_{42}O_3$ m/e 414,31; observado 414,87. Anál. calc. para $C_{27}H_{42}O_3$: C, 78,21; H, 10,21. Observado: C, 78,31; H, 10,31.

5 **(1S,4R)-(2-(2,6-dimetoxi-4-(2-metiloctan-2-il)fenil)-7,7-dimetilbicyclo[2.2.1]hept-2-en-1-il)metanol (14b, HU-910).** El compuesto del título se preparó a partir de **11b (HU-912)** mediante el procedimiento general descrito para el compuesto **14a (HU-909)**. Sólido blanco (64%). p.f. 48-50 °C; RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ ppm 6,52 (s, 2H), 5,90 (d, $J = 3,24$ Hz, 1H), 3,75 (s, 6H), 3,65 (m, 2H), 2,35 (t, $J = 3,39$, 1H), 2,25 (dd, $J = 7,29$, $J = 5,01$, 1 H), 1,93 (m, 1H), 1,53-1,59 (m, 5H), 1,27 (s, 6H), 1,21 (s, 3H), 1,0-1,19 (m, 7H), 0,94 (s, 3H), 0,85 (t, $J = 6,71$ Hz, 3H). Masa exacta calculada para $C_{27}H_{42}O_3$ m/e 414,31; observado 414,86. Anál. calc. para $C_{27}H_{42}O_3$: C, 78,21; H, 10,21. Observado: C, 78,08; H, 10,32.

15 **(1R,4S)-(2-(2,6-dimetoxi-4-pentilfenil)-7,7-dimetilbicyclo[2.2.1]hept-2-en-1-il)metanol (15a, HU-969).** El compuesto del título se preparó mediante el procedimiento general descrito para el compuesto **14a (HU-909)**, usando 0,1 g de éster metílico **13a (HU-971)** (0,259 mmol) en 3 ml de THF seco y 0,51 ml de $LiAlH_4$ (0,518 mmol, solución 1M en éter dietílico). El producto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (éter de petróleo/éter) para dar 0,086 g de aceite (93 %), que solidificó tras reposo a -20 °C para dar un sólido de color blanco. p.f. 28-29 °C; RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ ppm 6,40 (s, 2H), 5,88 (d, $J = 3,24$ Hz, 1H), 3,74 (s, 6H), 3,65 (d, $J = 2,51$ Hz, 2H), 2,58 (t, $J = 7,70$ Hz, 2H), 2,35 (t, $J = 3,41$ Hz, 1H), 1,89-1,98 (m, 1H), 1,54-1,66 (m, 4H), 1,32-1,38 (m, 4H), 1,23 (s, 3H), 1,11-1,19 (m, 1H), 0,94 (s, 3H), 0,92 (t, $J = 6,84$ Hz, 3H). Masa exacta calculada para $C_{23}H_{34}O_3$ m/e 358,25; observado 358,67. Anál. calc. para $C_{23}H_{34}O_3$: C, 77,05; H, 9,56. Observado: C, 77,06; H, 9,72.

20 **(1S,4R)-(2-(2,6-dimetoxi-4-pentilfenil)-7,7-dimetilbicyclo[2.2.1]hept-2-en-1-il)metanol (15b, HU-970).** El compuesto del título se preparó a partir de **10b** mediante el procedimiento general descrito para el compuesto **13b (HU-972)**. Aceite (83 %), que solidificó tras reposo a -20 °C. p.f. 26-27 °C; RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ ppm 6,40 (s, 2H), 5,88 (d, $J = 3,24$ Hz, 1H), 3,74 (s, 6H), 3,65 (d, $J = 2,51$ Hz, 2H), 2,58 (t, $J = 7,70$ Hz, 2H), 2,35 (t, $J = 3,41$ Hz, 1H), 1,89-1,98 (m, 1H), 1,54-1,66 (m, 4H), 1,32-1,38 (m, 4H), 1,23 (s, 3H), 1,11-1,19 (m, 1H), 0,94 (s, 3H), 0,92 (t, $J = 6,84$ Hz, 3H). Masa exacta calculada para $C_{23}H_{34}O_3$ m/e 358,25; observado 358,71. Anál. calc. para $C_{23}H_{34}O_3$: C, 77,05; H, 9,56. Observado: C, 76,25; H, 9,55.

PREPARACIONES SINTÉTICAS DE LOS COMPUESTOS (16) Y (17):



11a-(1R,4S); R₁:DMH

11b-(1S,4R); R₁:DMH

13a-(1R,4S); R₁:C₅H₁₁

13b-(1S,4R); R₁:C₅H₁₁

16a-(1R,4S); R₁:DMH

16b-(1S,4R); R₁:DMH

17a-(1R,4S); R₁:C₅H₁₁

17b-(1S,4R); R₁:C₅H₁₁

30 **Ácido (1R,4S)-2-(2,6-dimetoxi-4-(2-metiloctan-2-il)fenil)-7,7-dimetilbicyclo[2.2.1]hept-2-eno-1-carboxílico (16a, HU-913).** Se calentaron 0,103 g (0,233 mmol) de éster metílico **11a (HU-911)** y 0,111 g de $LiOH$ (4,66 mmol) en 2 ml de $MeOH/H_2O$ a 3:1 a 200 °C durante 48 horas en un vial de rosca en atmósfera de aire. Se añadió agua a la mezcla de reacción y se extrajo varias veces con éter. Las fases orgánicas se recogieron, se secaron y se concentraron al vacío. El producto se purificó por TLC preparativa (hexano/acetato de etilo) para dar 0,026 g de un sólido amarillo (26 %). p.f. 101-102 °C; RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ ppm 6,46 (s, 2H), 6,32 (d, $J = 3,40$ Hz, 1H), 3,71 (s, 6H), 2,46 (t, $J = 3,44$ Hz, 1H), 2,38-2,44 (m, 1H), 1,80-2,03 (m, 1H), 1,53-1,58 (m, 2H), 1,26 (s, 6H), 1,16-1,24 (m, 7H), 1,14 (s, 3H), 1,03-1,12 (m, 3H), 1,00 (s, 3H), 0,85 (t, $J = 6,74$ Hz, 3H). Masa exacta calculada para $C_{28}H_{42}O_4$ m/e 428,29; observado 428,98. Anál. calc. para $C_{28}H_{42}O_4$: C, 75,66; H, 9,41. Observado: C, 75,50; H, 9,48.

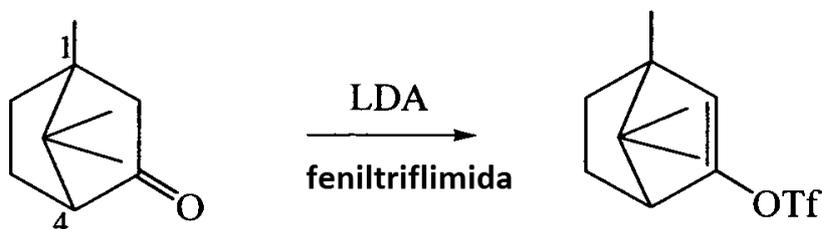
35 **Ácido (1S,4R)-2-(2,6-dimetoxi-4-(2-metiloctan-2-il)fenil)-7,7-dimetilbicyclo[2.2.1]hept-2-eno-1-carboxílico (16b, HU-914).** El compuesto del título se preparó a partir de **11b (HU-912)** mediante el procedimiento general descrito para el compuesto **16a (HU-913)**. Sólido amarillo (25 %). p.f. 100-101 °C; RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ ppm 6,46 (s, 2H), 6,32 (d, $J = 3,40$ Hz, 1H), 3,71 (s, 6H), 2,46 (t, $J = 3,44$ Hz, 1H), 2,38-2,44 (m, 1H), 1,80-2,03 (m, 1H), 1,53-1,58 (m, 2H), 1,26 (s, 6H), 1,16-1,24 (m, 7H), 1,14 (s, 3H), 1,03-1,12 (m, 3H), 1,00 (s, 3H), 0,85 (t, $J = 6,74$ Hz, 3H). Masa exacta calculada para $C_{28}H_{42}O_4$ m/e 428,29; observado 428,98. Anál. calc. para $C_{28}H_{42}O_4$: C, 75,66; H, 9,41. Observado: C, 74,81; H, 9,40.

45 **Ácido (1R,4S)-2-(2,6-dimetoxi-4-pentilfenil)-7,7-dimetilbicyclo[2.2.1]hept-2-eno-1-carboxílico (17a, HU-973).** El

compuesto del título se preparó mediante el procedimiento general descrito para el compuesto **16a (HU-913)**, usando 0,075 g (0,194 mmol) de éster metílico **13a (HU-971)** y 0,093 g de LiOH (3,89 mmol) en 1,5 ml de MeOH/H₂O a 3:1. El producto se purificó por TLC preparativa (hexano/acetato de etilo) para dar 0,010 g de un sólido amarillento (14 %). p.f. 85-87 °C; RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ ppm 6,33 (s, 2H), 6,28 (d, *J* = 3,39 Hz, 1H), 3,69 (s, 6H), 2,55 (t, *J* = 7,80 Hz, 2H), 2,45 (t, *J* = 3,48 Hz, 1H), 2,36-2,44 (m, 1H), 1,82-2,03 (m, 2H), 1,55-1,65 (m, 2H), 1,30-1,35 (m, 4H), 1,14 (s, 3H), 1,06-1,12 (m, 1H), 1,00 (s, 3H), 0,90 (t, *J* = 6,84 Hz, 3H). Masa exacta calculada para C₂₃H₃₂O₄ m/e 372,23; observado 372,92. Anál. calc. para C₂₃H₃₂O₄: C, 74,16; H, 8,66. Observado: C, 73,91; H, 8,80.

Ácido (1S,4R)-2-(2,6-dimetoxi-4-pentilfenil)-7,7-dimetilbicyclo[2.2.1]hept-2-eno-1-carboxílico (17b, HU-974). El compuesto del título se preparó a partir de **13b (HU-972)** mediante el procedimiento general descrito para el compuesto **17a (HU-973)**. Sólido amarillento (21 %). p.f. 84-86 °C; RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ ppm 6,33 (s, 2H), 6,28 (d, *J* = 3,39 Hz, 1H), 3,69 (s, 6H), 2,55 (t, *J* = 7,80 Hz, 2H), 2,45 (t, *J* = 3,48 Hz, 1H), 2,36-2,44 (m, 1H), 1,82-2,03 (m, 2H), 1,55-1,65 (m, 2H), 1,30-1,35 (m, 4H), 1,14 (s, 3H), 1,06-1,12 (m, 1H), 1,00 (s, 3H), 0,90 (t, *J* = 6,84 Hz, 3H). Masa exacta calculada para C₂₃H₃₂O₄ m/e 372,23; observado 372,92. Anál. calc. para C₂₃H₃₂O₄: C, 74,16; H, 8,66. Observado: C, 73,60; H, 8,70.

PREPARACIONES SINTÉTICAS DEL COMPUESTO (19):



18a-(1S,4S)

18b-(1R,4R)

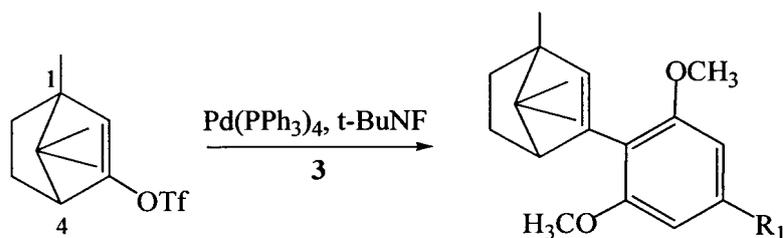
19a-(1S,4S)

19b-(1R,4R)

(1S,4S)-4,7,7-trimetilbicyclo[2.2.1]hept-2-en-2-il trifluorometanosulfonato (19a). El compuesto del título se preparó mediante el procedimiento general descrito para el compuesto **9a**, usando 0,375 g de cetona **18a** (2,35 mmol), 1,29 ml de LDA (2,58 mmol, solución 2M) y 0,943 g de feniltriflimida (2,64 mmol). El producto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (éter de petróleo/éter) para dar 0,514 g de un aceite (77 %). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ ppm 5,37 (d, *J* = 1,04 Hz, 1H), 2,45 (d, *J* = 3,48 Hz, 1H), 1,93 (dddd, *J* = 3,43, 3,43, 7,85, 11,61 Hz, 1H), 1,70 (ddd, *J* = 3,12, 8,52, 11,84 Hz, 1H), 1,19-1,38 (m, 2H), 1,08 (s, 3H), 0,97 (s, 3H), 0,78 (s, 3H). Masa exacta calculada para C₁₁H₁₅F₃O₃S, 284,07, observado, 284,77.

(1R,4R)-4,7,7-trimetilbicyclo[2.2.1]hept-2-en-2-il trifluorometanosulfonato (19b). El compuesto del título se preparó a partir de **18b** mediante el procedimiento general descrito para el compuesto **19a**. Aceite parduzco (73%). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ ppm 5,37 (d, *J* = 1,04 Hz, 1H), 2,45 (d, *J* = 3,48 Hz, 1H), 1,93 (dddd, *J* = 3,43, 3,43, 7,85, 11,61 Hz, 1H), 1,70 (ddd, *J* = 3,12, 8,52, 11,84 Hz, 1H), 1,19-1,38 (m, 2H), 1,08 (s, 3H), 0,97 (s, 3H), 0,78 (s, 3H). Masa exacta calculada para C₁₁H₁₅F₃O₃S, 284,07, observado, 284,77.

PREPARACIONES SINTÉTICAS DEL COMPUESTO (20):



19a-(1S,4S)

19b-(1R,4R)

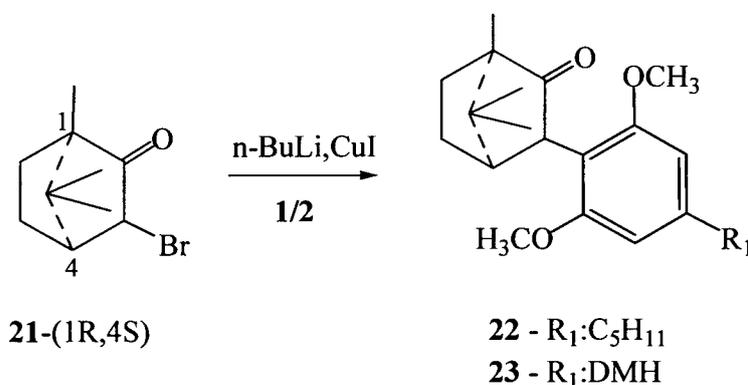
20a-(1S,4S); R1:DMH

20b-(1R,4R); R1:DMH

(1S,4S)-3-(2,6-dimetoxi-4-(2-metiloctan-2-il)fenil)-1,7,7-trimetilbicyclo[2.2.1]hept-2-eno (20a, HU-917). El compuesto del título se preparó mediante el procedimiento general descrito para el compuesto **11a (HU-911)**, usando 0,755 g de arilboronato de pinacol **3** (mezclado con éter dimetílico de 4-alkilresorcinol **1**), 0,17 g de enoltriflato **19a** (0,598 mmol), 0,041 g de Pd(PPh₃)₄ (0,036 mmol) y 0,9 ml de t-BuNF (0,9 mmol, solución 1M en THF). El producto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (éter de petróleo/éter) para dar 0,185 g de aceite (78%), que solidificó tras reposo a -20 °C. p.f. 33-34 °C; RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ ppm 6,50 (s, 2H), 5,79 (d, J = 3,00 Hz, 1H), 3,76 (s, 6H), 2,60 (d, J = 3,51, 1H), 1,81 (m, 1H), 1,64 (m, 1H), 1,60 (m, 1H), 1,55 (m, 2H), 1,31 (m, 1H), 1,28 (s, 6H), 1,17-1,25 (m, 8H), 1,08 (s, 3H), 0,99 (s, 3H), 0,86 (t, J = 6,69 Hz, 3H), 0,81 (s, 3H). Masa exacta calculada para C₂₇H₄₂O₂ m / e 398,32; observado 398,82. Anál. calc. para C₂₇H₄₂O₂: C, 81,35; H, 10,62. Observado: C, 81,50; H, 10,71.

(1R,4R)-3-(2,6-dimetoxi-4-(2-metiloctan-2-il)fenil)-1,7,7-trimetilbicyclo[2.2.1]hept-2-eno (20b, HU-918). El compuesto del título se preparó a partir de **19b** mediante el procedimiento general descrito para el compuesto **20a (HU-917)**. Sólido amarillento (77%). p.f. 32-33°C; RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ ppm 6,50 (s, 2H), 5,79 (d, J = 3,00 Hz, 1H), 3,76 (s, 6H), 2,60 (d, J = 3,51, 1H), 1,81 (m, 1H), 1,64 (m, 1H), 1,60 (m, 1H), 1,55 (m, 2H), 1,31 (m, 1H), 1,28 (s, 6H), 1,17-1,25 (m, 8H), 1,08 (s, 3H), 0,99 (s, 3H), 0,86 (t, J = 6,69 Hz, 3H), 0,81 (s, 3H). Masa exacta calculada para C₂₇H₄₂O₂ m / e 398,32; observado 398,84. Anál. calc. para C₂₇H₄₂O₂: C, 81,35; H, 10,62. Observado: C, 81,56; H, 10,85.

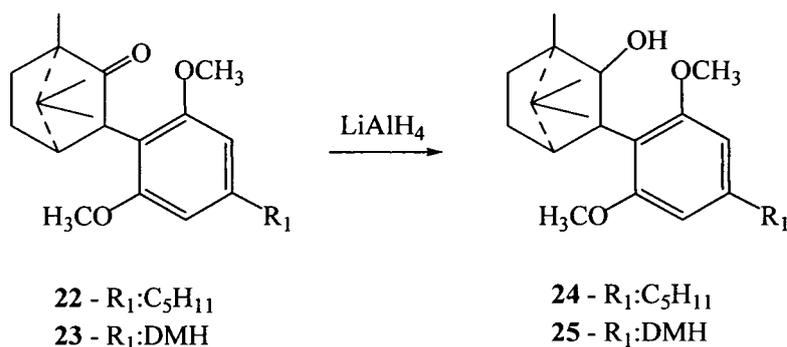
PREPARACIONES SINTÉTICAS DE COMPUESTOS (22, HU-936) Y (23, HU-926):



(1R,4R)-3-(2,6-dimetoxi-4-pentilfenil)-1,7,7-trimetilbicyclo[2.2.1]heptan-2-ona (22, HU-936). Se añadieron 0,6 ml de n-BuLi (0,96 mmol, 1,6 M en hexanos) a una solución preenfriada (0 °C) de 0,2 g de **2** (0,96 mmol) en 3 ml de éter dietílico. La solución resultante se dejó en agitación durante 2,5 horas a temperatura ambiente. Después, la solución se enfrió de nuevo a 0 °C y se transfirió gota a gota mediante una cánula a una suspensión de 0,092 g de CuI (0,48 mmol) en 2 ml de éter dietílico a 0 °C. La solución resultante se dejó en agitación durante 30 minutos y se añadieron 5 ml de DMSO anhidro. Después, la solución de 0,086 g de 3-bromocanfor **21** (0,37 mmol) en 1 ml de éter dietílico y 1 ml de DMSO a 0 °C se añadió gota a gota a través de una pared. Después, la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 15 horas. La reacción se interrumpió mediante la adición de 5 ml de NH₄Cl acuoso saturado. La fase acuosa se extrajo tres veces con éter dietílico. Las capas orgánicas combinadas se lavaron tres veces con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ y el disolvente se retiró al vacío. La purificación adicional por cromatografía en columna sobre gel de sílice (éter de petróleo/éter) proporcionó cristales blancos de 0,093 g (70 %) de **22 (HU-936)**. p.f. 62 °C; RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ ppm 6,37 (s, 2H), 3,89 (d, J = 4,23 Hz, 1H), 3,72 (s, 6H), 2,55 (t, J = 7,87 Hz, 2H), 2,19 (t, J = 4,11 Hz, 1H), 1,71-1,76 (m, 2H), 1,63 (m, 1H), 1,59 (m, 2H), 1,37 (m, 1H), 1,33-1,36 (m, 4H), 1,02 (s, 3H), 1,002 (s, 3H), 0,97 (s, 3H), 0,91 (t, J = 6,93 Hz, 3H). Masa exacta calculada para C₂₃H₃₄O₃ m / e 358,25; observado 358,67. Anál. calc. para C₂₃H₃₄O₃: C, 77,05; H, 9,56. Observado: C, 77,20; H, 9,63.

(1R,4R)-3-(2,6-dimetoxi-4-(2-metiloctan-2-il)fenil)-1,7,7-trimetilbicyclo[2.2.1]heptan-2-ona (23, HU-926). El compuesto del título se preparó mediante el procedimiento general descrito para el compuesto **22 (HU-936)**, usando 0,23 g de **1** (0,87 mmol), 0,54 ml de n-BuLi (0,87 mmol, 1,6 M en hexanos), 0,083 g de CuI (0,44 mmol), 0,069 g de 3-bromoalcanfor **21** (0,3 mmol). La purificación adicional por cromatografía en columna sobre gel de sílice (éter de petróleo/éter) proporcionó cristales blancos de 0,081 g de **23 (HU-926)** (65 %). p.f. 64-65 °C; RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ ppm 6,49 (s, 2H), 3,89 (d, J = 4,23 Hz, 1H), 3,72 (s, 6H), 2,19 (t, J = 4,11 Hz, 1H), 1,71-1,76 (m, 1H), 1,53-1,68 (m, 4H), 1,30-1,42 (m, 1H), 1,26 (s, 6H), 1,15-1,24 (m, 8H), 1,01 (s, 3H), 1,00 (s, 3H), 0,97 (s, 3H), 0,85 (t, J = 6,73 Hz, 3H). Masa exacta calculada para C₂₇H₄₂O₃ m / e 414,31; observado 414,84. Anál. calc. para C₂₇H₄₂O₃: C, 78,21; H, 10,21. Observado: C, 78,39; H, 10,27.

PREPARACIONES SINTÉTICAS DE COMPUESTOS (24, HU-938) Y (25, HU-928):



(1R,4R)-3-(2,6-dimetoxi-4-pentilfenil)-1,7,7-trimetilbiciclo[2.2.1]heptan-2-ol (24, HU-938). Se añadió 0,085 g de cetona **22 (HU-936)** (0,23 mmol) en 1 ml de éter dietílico a una solución preenfriada (0 °C) de 0,14 ml de LiAlH₄ (0,14 mmol, solución 1M en éter dietílico) en 2 ml de éter dietílico. Después de agitar a reflujo durante 1 hora, la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y se inactivó mediante la adición de EtOAc.

Se añadió agua a la mezcla de reacción y se extrajo con 3 porciones de éter dietílico, seguido de lavado con HCl acuoso al 10 %. La fase orgánica se secó y se concentró al vacío. La purificación adicional por cromatografía en columna sobre gel de sílice (éter/éter de petróleo) proporcionó cristales blancos de **24 (HU-938)** 0,078 g (92 %). p.f. 58-60 °C; RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ ppm 6,44 (s, 2H), 4,52 (d, J = 6,96 Hz, J = 1,87 Hz, 1H), 4,14-4,17 (m, 2H), 3,82 (s, 6H), 2,56 (t, J = 7,70 Hz, 2H), 2,19 (t, J = 4,11 Hz, 1H), 1,77-1,89 (m, 2H), 1,63 (m, 1H), 1,46-1,70 (m, 3H), 1,23-1,41 (m, 4H), 1,06 (s, 3H), 0,94 (s, 3H), 0,92 (s, 3H), 0,90 (t, J = 6,93 Hz, 3H). Masa exacta calculada para C₂₃H₃₆O₃ m / e 360,27; observado 360,65. Anál. calc. para C₂₃H₃₆O₃: C, 76,62; H, 10,06. Observado: C, 76,46; H, 10,11.

(1R,4R)-3-(2,6-dimetoxi-4-(2-metiloctan-2-il)fenil)-1,7,7-trimetilbiciclo[2.2.1]heptan-2-ol (25, HU-928). El compuesto del título se preparó mediante el procedimiento general descrito para el compuesto **24 (HU-938)**, usando 0,238 g de cetona **23 (HU-926)** (0,57 mmol), 0,345 ml de LiAlH₄ (0,34 mmol). La purificación adicional por cromatografía en columna sobre gel de sílice (éter/éter de petróleo) proporcionó cristales blancos de **25 (HU-928)** 0,208 g (88 %). p.f. 96-98 °C; RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ ppm 6,55 (s, 2H), 4,58 (dd, J = 8,88 Hz, 1H), 4,14-4,17 (m, 2H), 3,82 (s, 6H), 1,78-1,88 (m, 2H), 1,48-1,61 (m, 5H), 1,29-1,33 (m, 1H), 1,27 (s, 6H), 1,16-1,25 (m, 7H), 1,06 (s, 3H), 0,94 (s, 3H), 0,92 (s, 3H), 0,85 (t, J = 6,74 Hz, 3H). Masa exacta calculada para C₂₇H₄₄O₃ m / e 416,33; observado 416,90. Anál. calc. para C₂₇H₄₄O₃: C, 77,83; H, 10,64. Observado: C, 78,10; H, 10,82.

Ejemplo 2: Unión *in vitro* a receptores cannabinoides Generación y mantenimiento de la línea celular

Los clones de ADNc para receptores CB1 y CB2 humanos marcados con HA se obtuvieron del Centro de Recursos de ADNc de Missouri S & T (www.cdna.org) en el vector de clonación pcDNA3.1+. El vector que contiene el receptor CB2 humano se transfectó directamente en células CHO-K1 obtenidas de la ATCC. La secuencia del receptor CB1 humano marcado con HA se subclonó en el vector pef4-V5-HisA con las enzimas de restricción KpnI y PmeI y posteriormente se transfectó en células CHO-K1. Las células se aislaron clonalmente mediante dilución límite y se cribaron mediante inmunocitoquímica para detectar la expresión del marcador de HA. Los clones que expresan el marcador HA se sometieron después al cribado mediante RT-PCR para confirmar la expresión de los transcritos de ARNm del receptor hCB1 y hCB2 (datos no mostrados).

Las células se mantuvieron en medio DMEM / F12 suplementado con suero bovino fetal al 10 % (FBS), 100 unidades/ml de penicilina y 100 µg/ml de estreptomina y L-glutamina 2 mM. Las líneas celulares transfectadas se mantuvieron con 150 µg/ml adicionales de zeocina para las células transfectadas con pEF HA - CB1 y 500 µg/ml de G - 418 para células transfectadas con pcDNA HA - CB2 (todos los reactivos obtenidos de Invitrogen).

PREPARACION DE MEMBRANAS

Las células se cultivaron hasta la confluencia y se recogieron en solución salina tamponada con fosfato enfrida con hielo con EDTA 5 mM. Se centrifugaron las células a 200 x g durante 10 minutos y se congelaron a -80 °C hasta que fueron necesarias. Los sedimentos celulares se descongelaron con sacarosa 0,32 M fría y se homogeneizaron con un homogeneizador de vidrio. El homogeneizado se centrifugó a 1000 x g durante 10 minutos a 4 °C y el sobrenadante se centrifugó en una ultracentrífuga Sorvall durante 30 minutos a 100.000 x g. A continuación, se lavó el sedimento en agua helada y se centrifugó dos veces más. El sedimento final se resuspendió en Tris 50 mM a pH 7,5, EDTA 0,5 mM. La concentración de proteína se determinó usando el kit de ensayo de proteína Dc (BioRad, Hercules, CA, EE.UU.).

ENSAYO DE UNIÓN COMPETITIVA DE LA MEMBRANA

Previamente se determinó que la K_d de CP 55,940 en las membranas que expresan los receptores CB1 y CB2 aislados se determinó previamente era de 2,3 nM y 1,5 nM, respectivamente (véase Pertwee, R.G. Current Medicinal

Chemistry 6 635-664 (1999)). Los ensayos de unión competitiva a 2,5 nM [³H]-CP 55,940 (PerkinElmer) se llevaron a cabo para determinar los valores de K_i para los compuestos analizados. Se incubaron membranas (5-10 µg) con radioligando y un intervalo de concentraciones de compuestos de prueba en tampón de unión (Tris 50 mM, pH 7,4, MgCl₂ 5 mM, EDTA 1 mM) con seroalbúmina bovina (BSA) al 0,5 % (p / v) (ICP Bio, Nueva Zelanda), a 30 °C durante 60 minutos. Se prepararon soluciones madre de supuestos ligandos cannabinoides en dimetilsulfóxido a una concentración de 10 mM. Se usaron seis concentraciones finales diferentes de compuestos que variaban de 50 µM a 0,1 nM. La unión no específica se determinó en presencia de CP 55,940 no radiactivo 1 µM (Tocris Cookson). Los ensayos se terminaron mediante la adición de 2 ml de tampón de unión helada y filtración a través de filtros GF / C (Whatman) previamente empapados en tampón de unión en frío, seguido de dos lavados en el mismo tampón.

La radioactividad se determinó mediante incubación de filtros con fluido de centelleo Irgasafe (PerkinElmer) y recuento de centelleo en un Wallac Trilux usando el software Microbeta Trilux. Los datos se analizaron utilizando el programa Prism 4.02 (GraphPad Software, San Deigo, CA, EE.UU.).

ENSAYOS de AMPc

Las células se sembraron a una densidad de 10.000 células por pocillo en placas de cultivo de 96 pocillos tratadas con poli-L-lisina (BD Biosciences). Al día siguiente, los pocillos se incubaron con 40 µl de DMEM / F12 que contenía BSA al 0,5 % (p / v) y 3-isobutil-1-metilxantina 0,5 mM (Sigma-Aldrich) durante 30 minutos antes de la estimulación de 15 minutos con forskolina 50 µM (Tocris Cookson) y concentraciones variables de los compuestos indicados a 37 °C, 5 % de CO₂. Los ensayos se detuvieron mediante la retirada de los medios y la adición de etanol al 100 % enfriado en hielo. A continuación, las placas se congelaron durante un mínimo de dos horas antes de la evaporación completa de etanol. El contenido de los pocillos se reconstituyó después en 50 µl de tampón de ensayo de AMPc (HEPES 20 mM, pH 7,5 y EDTA 5 mM). La mitad de la muestra reconstituida se transfirió a placas de 96 pocillos de fondo redondo (Greiner Bio-One GmbH) con 50 µl de PKA al 0,01 % p / v (proteína cinasa dependiente de AMPc (Sigma-Aldrich) en citrato de Na 1 mM a pH 6,5 con ditiotreitól 2 mM) y 25 µl de [³H]-AMPc (a 22 nM en tampón de ensayo de AMPc) (GE Healthcare, Life Sciences). Esto se dejó equilibrar durante 3-18 horas. Después de esto, se añadió a las muestras una suspensión espesa de carbón (5 % (p / v) activado y 0,2 % (p / v) de BSA en tampón de ensayo de AMPc) y las placas se centrifugaron a 3000 x g, a 4 °C durante 5 minutos. A continuación, se determinaron los recuentos radioactivos dentro del sobrenadante, como se ha descrito para los ensayos de unión competitiva.

ENSAYO DE UNIÓN DE [³⁵S]GTPγS A MEMBRANA

Las membranas de CHO-K1 que expresan CB2 humano (5 µg por mezcla de incubación) se diluyeron en Tris-HCl 50 mM (pH 7,5) y EDTA 0,5 mM y se añadieron a los compuestos HU en un cóctel de incubación previamente mezclado. Las concentraciones finales de la incubación fueron Tris-HCl 55 mM (pH 7,4), EDTA 1 mM, NaCl 100 mM, MgCl₂ 5 mM, BSA al 0,5 %, GDP 50 µM, [³⁵S]GTPγS 0,2 nM (PerkinElmer) con diversas concentraciones de compuestos HU y 5 µg de membrana. Las incubaciones se continuaron durante 60 minutos a 30 °C en un baño de agua con agitación. Los ensayos se terminaron con la adición de 2 ml de un tampón de lavado helado (Tris-HCl 50 mM, pH 7,5 y MgCl₂ 5 mM) y filtrando a través de filtros de GF/C previamente empapados (Whatman), seguido por dos lavados más. Se determinó la radioactividad de la manera descrita para completar ensayos de unión competitiva.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se analizaron utilizando el programa Prism 4.02 (GraphPad Software, San Deigo, CA, EE.UU.). Los valores de CI₅₀ y CE₅₀, determinados a partir de las curvas sigmoideas, se generaron a partir de las concentraciones de fármaco representadas a escala logarítmica. Mientras que el error estándar de la media (SEM) o la desviación estándar de estos valores pueden calcularse mientras están en forma log, la conversión en valores molares (lineales) se vuelve desigual y el error no puede expresarse como "más o menos" los valores calculados. Es posible presentar los datos como un promedio, más o menos el error estándar de la media en forma logarítmica, sin embargo, no se pueden interpretar fácilmente ni comparar con otros valores. Por lo tanto, se eligió calcular el intervalo de confianza del 95 % para el valor medio en forma logarítmica y después se convirtió el límite inferior, la media y el límite superior en la escala molar (lineal). Aunque el intervalo representado en este formato de datos a menudo abarca una amplia gama de concentraciones, es un procedimiento mucho más fácil de usar para presentar datos, los datos generados en este capítulo son comparables con otros resultados similares publicados en fuentes de confianza (Pertwee y col., 2000). Se realizaron pruebas t de dos colas para el análisis estadístico entre pares de compuestos enantioméricos para los valores de K_i de CB2. El valor de Pearson, un índice de linealidad, se determinó para K_i y los resultados de CI₅₀ o CE₅₀ obtenidos para los receptores CB2 en experimentos de unión, AMPc o GTPγS, respectivamente. Para determinar si los valores de E_{max} eran significativamente diferentes de HU-308, se realizó un ANOVA de una vía con una prueba a posteriori de Bonferroni de los pares seleccionados.

RESULTADOS

EFICACIA Y AFINIDAD DE UNIÓN A LOS RECEPTORES CB1 Y CB2.

Todos los datos se analizaron usando Prism 4.02. Para los datos de unión, se determinó la K_i a partir de los valores

de CI_{50} derivados de los datos de unión competitiva equipados con un análisis de regresión no lineal de competencia de un sitio mediante Prism 4.02 utilizando los valores K_d indicados anteriormente.

Los valores pCI_{50} se determinaron a partir de ensayos de AMPc ajustando una curva sigmoidea de respuesta a la concentración usando Prism 4.02.

- 5 Los resultados que se muestran en las Tablas 1 y 2 se generaron haciendo un promedio de dos valores de pCI_{50} determinados de forma independiente. Los datos que se muestran son la CI_{50} (intervalo de confianza del 95 %). Los valores de E_{max} se calcularon como un porcentaje de la respuesta máxima detectada en los ensayos AMPc paralelos con HU-210 ((1,1-Dimetilheptil-11-hidroxi-tetrahidrocannabinol o (6aR)-trans-3-(1,1-Dimetilheptil)-6a,7,10,10a-tetrahydro-1-hidroxi-6,6-dimetil-6H-dibenzo[b,d]piran-9-metanol) o HU-308 ([[(1R,2R,5R)-2-[2,6-dimetoxi-4-(2-metiloctan-2-il)fenil]-7,7-dimetil-4-biciclo[3.1.1]hept-3-enil] metanol) para las células que expresan CB1 y CB2, respectivamente. Los datos se presentan como la media \pm SEM.
- 10

Tabla 1: Eficacia y afinidad de los compuestos de la invención para los receptores CB1 y CB2 humanos

Compuesto	Número HU	Ensayo de unión competitiva				Ensayo de AMPc				
		Receptor CB2		Receptor CB1		Receptor CB2		Receptor CB1		
	K _i (nM)	Intervalo de confianza del 95 %	K _i (µM)	Intervalo de confianza del 95 %	Cl ₅₀ (nM)	Intervalo de confianza del 95 %	E _{max}	Cl ₅₀ (µM)	Intervalo de confianza del 95 %	E _{max}
12a	2514	(829, 7630)	NB	-	NB	-	-	NB	-	-
12b	NB	-	NB	-	NB	-	-	NB	-	-
14a	56,8	(24,4, 132)	11,7	(4,90,27,9)	425	(233,774)	95±6 %	NB	-	-
14b	6	(5,25,6)	1,37	(0,53, 3,56)	162	(87,9,300)	105±12 %	NB	-	-
11a	84,6§	(34,9, 204)	NB	-	385	(200,751)	86±9 %	NB	-	-
11b	77,1 §	(30,0, 199)	>10 µM	-	239	(159,358)	107±4%	3,37	(2,79,4,06)	112±8 %
16a	81,5	(69,6, 95,6)	NB	-	330	(195,557)	101±11 %	NB	-	-
16b	1500	(870, 2570)	NB	-	2290	(1710,3050)	82 ±7 %	NB	-	-
20a	NB	-	NB	-	NB	-	-	NB	-	-
20b	NB	-	NB	-	NB	-	-	NB	-	-
23	106	(55,3,204)	NB	-	321	(203,511)	100±13%	NB	-	-
25	230	(36,7, 1450)	NB	-	925	(550, 1560)	101±11 %	NB	-	-
22	1720	(827,3560)	NB	-	NB	-	-	NB	-	-
24	7910	(4610,13600)	NB	-	NB	-	-	NB	-	-
15a	6460	(4800,7890)	NB	-	NB	-	-	NB	-	-
15b	1270	(634,2530)	NB	-	1150	(664, 1980)	38 ±2 %*	NB	-	-
13a	704	(314,1580)	NB	-	1530	(810,2900)	31 ±4%*	NB	-	-
13b	168	(115,247)	NB	-	313	(220, 446)	48±5 %*	NB	-	-
17a	1150	(596, 2210)	NB	-	2090	(1340,3260)	40±6%*	NB	-	-
17b	>10 µM	-	NB	-	NB	-	-	NB	-	-
			NB	-	117	(89,5, 153)	100±0%	NB	-	-
			0,00294	-						

Los ensayos de unión competitiva se realizaron con membranas celulares CHO-CB1 o CHO-CB2 y ensayos de AMPc en células completas que expresan el receptor indicado. Los datos de unión (K_i) y de potencia (CE50) se presentan como la media con intervalos de confianza del 95 % entre paréntesis. Los datos de eficacia derivados del AMPc (E_{max}) se presentan como la media ± SEM. Todos los datos se calcularon a partir de por lo menos tres repeticiones independientes. * P<0,01 en comparación con E_{max} de HU-308. § Par de enantiómeros sin significación estadística. NB = No se detectó unión o actividad a concentraciones de hasta 50 µM. > 10 µM = Desplazamiento del ligando radiactivo detectado a altas concentraciones del ligando competidor pero no se obtuvieron curvas de desplazamiento completas.

EFICACIA DE LA UNIÓN A RECEPTORES CB2.

Este ensayo se realizó para compuestos seleccionados de alta potencia. Los valores de CE₅₀ se determinaron a partir de ensayos de [³⁵S]GTPyS ajustando una curva sigmoidea de respuesta a la concentración (Tabla 2 y Figura 1A-1G). Los valores de E_{max} se calcularon como un porcentaje de la respuesta máxima detectada en ensayos de [³⁵S]GTPyS paralelos con HU-308. Como los valores de E_{max} se determinan en una escala lineal (no un log del %), estos se muestran como la media ± SEM. Se generó un valor de Pearson de 0,9268, que indica una buena correlación entre los datos, representando los valores de K_i de compuestos contra sus CE₅₀determinadas por el ensayo GTPyS.

Tabla 2: Eficacia de los compuestos de la invención para el receptor CB2 humano

Compuesto	Número HU	CE50 (nM)	E _{max}
14a	HU-909	135,5 (45,4, 404)	76±7 %*
14b	HU-910	26,4 (10,7, 65,5)	121 ± 7 %
11a	HU-911	126,2 (50,7, 315)	94±4%
16a	HU-913	343,6 (151,785)	98±3%
23	HU-926	184,9 (72,1,474)	51 ±6 %**
25	HU-928	576,8 (291,1140)	95±5%
	HU-308	18,3 (11,6, 28,8)	100±0%

Los datos se muestran como los valores medios de la CE50 con los valores del intervalo de confianza del 95 % entre paréntesis. Los valores medios de E_{max} (± SEM) se han normalizado a la respuesta E_{max} de HU-308. n = 5
* P <0,05, **P<0,001.

Las Figuras 1A-1G muestran los gráficos de unión de GTPyS para el receptor CB2 humano de los compuestos de la invención: HU-308 (Fig. 1A), HU-909 (Fig. 1B), HU-910 (Fig. 1C), HU-911 (Fig. 1D), HU-913 (Fig. 1E), HU-926 (Fig. 1F) y HU-928 (Fig. 1G). Los datos se muestran como la unión de [³⁵S]GTPyS normalizada según la unión máxima de HU-308 en las mismas condiciones experimentales.

Ejemplo 3: Efecto *in vivo* de HU-910 en lesiones craneales cerradas**15 MODELO DE LESIÓN CRANEAL CERRADA Y EVALUACIÓN NEUROCONDUCTUAL**

El estudio se realizó de acuerdo con las directrices del Comité Institucional para el Cuidado de Animales de la Universidad Hebrea. Se utilizaron ratones macho Sabra con un peso de 35 a 50 g en todos los experimentos. Los animales se mantuvieron en condiciones de luz controlada con un ciclo de luz y oscuridad de 12 h/12 h. Se indujo un traumatismo craneal cerrado (TCC) experimental utilizando un dispositivo modificado para la caída de un peso desarrollado en nuestro laboratorio como se ha descrito anteriormente (Chen y col., 1996). Una hora después del TCC, se evaluó el estado funcional de los ratones de acuerdo con un conjunto de 10 tareas de neurocomportamiento, es decir, la puntuación de la gravedad neurológica (NSS). Esta valoración se basa en la capacidad que tienen los ratones de realizar 10 tareas diferentes (Beni-Adani y col., 2001) que evalúan su capacidad motora, el equilibrio y el estado de alerta. Se da un punto por cada tarea que no pueden realizar. La gravedad de la lesión está indicada por la NSS inicial, que se evalúa 1 h después del TCC y también es un pronosticador fiable del resultado posterior. Una puntuación de 10 refleja el deterioro neurológico máximo y una disminución de NSS durante el período de recuperación indica una recuperación parcial de la función.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se analizaron utilizando el programa Prism 4.02 (GraphPad Software, San Deigo, CA, EE.UU.). Los datos se expresan como media ± SEM y la significación estadística se evaluó con un análisis de la varianza de una vía (ANOVA), seguido de un análisis post hoc de Dunnett para los niveles de TNF-α. Los valores NSS no paramétricos se compararon entre los dos grupos en cada punto de tiempo. Estos datos se analizaron para detectar diferencias entre los grupos en momentos individuales (y no en el tiempo dentro del mismo grupo). Por tanto, las pruebas de Mann-Whitney se utilizaron para las comparaciones.

35 EXPERIMENTO 1 *IN VIVO*:

En este estudio, cuatro grupos de ratones fueron sometidos a TCC (n = 10 / grupo y control n = 9), después de lo cual se administraron los siguientes agentes:

- *Grupo 1 (Control)*: Vehículo solo (etanol:cremofor:solución salina a 1:1:18), 1 hora después del TCC.
- *Grupo 2*: HU-910, 0,1 mg/kg, disuelto en vehículo (etanol:cremofor:solución salina a 1:1:18), i.p. 1 hora después del TCC.
- *Grupo 3*: HU-910, 1,0 mg/k disuelto en vehículo (etanol:cremofor:solución salina a 1:1:18), i.p. 1 hora después del TCC.
- *Grupo 4*: HU-910, 10,0 mg/kg, disuelto en vehículo (etanol:cremofor:solución salina a 1:1:18), i.p. 1 hora después del TCC.

La puntuación de la gravedad neurológica (NSS) se siguió durante 21 días y el grado de recuperación (medido como $\Delta\text{NSS} = \text{NSS} (1\text{h}) - \text{NSS} (t)$) se calculó y presentó en la figura 2. Se observa que la dosis más eficaz de HU-910 fue de 10 mg / kg. A los 5 y 7 días después de la lesión, los ratones tratados mostraron una recuperación significativamente mayor que los controles (tratados con vehículo) o los grupos tratados con las dosis más bajas (HU-910 a 0,1 y 1 mg / kg).

EXPERIMENTO 2 *IN VIVO*:

En este estudio, cuatro grupos de ratones fueron sometidos a TCC (n = 9 / grupo), después de lo cual se administraron los siguientes agentes:

- *Grupo 1 (Control)*: Vehículo solo (etanol:cremofor:solución salina a 1:1:18), 1 hora después del TCC.
- *Grupo 2*: HU-910, 10 mg/kg, disuelto en vehículo (etanol:cremofor:solución salina a 1:1:18), i.p. 1 hora después del TCC.
- *Grupo 3*: Antagonista específico de CB2 SR144528, (N[(1S)-endo-1,3,3-trimetilbicyclo [2.2.1]heptan-2-il]-5-(4-cloro-3-metilfenil)-1-(4-metilbencil)pirazol-3-carboxamida), (véase M. Rinaldi-Carmona, y col., *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 284 (1998) 644-650), 1 mg/kg, i.p. 1 hora después del TCC.
- *Grupo 4*: Antagonista específico de CB2 (SR144528, (N[(1S)-endo-1,3,3-trimetilbicyclo [2.2.1]heptan-2-il]-5-(4-cloro-3-metilfenil)-1-(4-metilbencil)pirazol-3-carboxamida), 1 mg/kg, i.p. 1 h después del TCC y HU-910 10 mg/kg administrados 10 min después de la administración del antagonista.

Se observa que los grupos 3 y 4 se administraron para verificar que HU-910 realmente actúa a través del receptor CB2.

La Figura 3 representa el grado de recuperación de los cuatro grupos (medido como $\Delta\text{NSS} = \text{NSS}(1\text{h}) - \text{NSS}(t)$), durante un periodo de 24 horas a 14 días después del TCC), en la cual se puede apreciar que en presencia del antagonista únicamente (Grupo 3), la recuperación se redujo considerablemente con respecto al grupo de control (Grupo 1), al que se administró únicamente el vehículo. Además, el efecto beneficioso de **HU-910** se redujo en un grado similar en presencia del antagonista (Grupo 4). Estos hallazgos sugieren que **HU-910** ejerce su efecto a través del receptor CB2. Por lo tanto, también se estipula que los ligandos endógenos, 2-AG y anandamida que ejercen su efecto neuroprotector estimulando los receptores CB2, proporcionan protección en el período posterior al TCC, de modo que cuando el receptor CB2 está bloqueado (por ejemplo, con el antagonista), su efecto también se elimina, lo que produce un retraso en la recuperación.

EXPERIMENT 3 *IN VIVO*:

En este estudio, se indujo un TCC a cuatro grupos de ratones (n=7-8/grupo), después de lo cual se administraron los siguientes agentes:

- *Grupo 1 (Control)*: Vehículo solo (dimetilsulfóxido (DMSO): Tween 80: Solución salina en una proporción de 1:1:18), i.p. 1 hora después del TCC.
- *Grupo 2*: HU-910, 10 mg/kg, disuelto en vehículo, i.p. 1 hora después del TCC.
- *Grupo 3*: antagonista/agonista inverso específico de CB2 AM630 (6-yodo-2-metil-1-[2-(4-morfolinil)etil]-1H-indol-3-il] (4-metoxifenil)metanona) (Ross y col., 1999), disuelto en vehículo, 1 mg/kg, i.p. 1 hora después del TCC y HU-910, disuelto en vehículo, 10 mg/kg administrados 10 minutos después de la administración del antagonista/agonista inverso.
- *Grupo 4*: antagonista/agonista inverso específico de CB2 AM630 (6-yodo-2-metil-1-[2-(4-morfolinil)etil]-1H-indol-3-il] (4-metoxifenil)metanona), disuelto en vehículo, 1 mg/kg, i.p. 1 hora después del TCC

Se observa que los grupos 3 y 4 se administraron para verificar que HU-910 realmente actúa a través del receptor CB2.

La Figura 4 representa el grado de recuperación de los cuatro grupos (medido como ANSS, durante un periodo de 1 hora a 28 días después del TCC, de lo cual se puede apreciar que el efecto beneficioso de HU-910 Grupo 2) se había reducido en un grado similar en presencia del antagonista/agonista inverso (Grupo 3). Estos hallazgos sugieren que HU-910 ejerce su efecto por medio del receptor CB2.

EFECTO *IN VIVO* DE HU-914 SOBRE LA LESIÓN CRANEAL CERRADA

EXPERIMENTO 4 *IN VIVO*:

En este estudio, cuatro grupos de ratones fueron sometidos a TCC (n = 10 / grupo), después de lo cual se administraron los siguientes agentes:

- *Grupo 1 (Control)*: Vehículo solo (etanol:cremofor:solución salina a 1:1:18), 1 hora después del TCC.
- *Grupo 2*: HU-914, 5 mg/kg, disuelto en vehículo (etanol:cremofor:solución salina a 1:1:18), i.p. 1 hora después del TCC.
- *Grupo 3*: HU-914, 10 mg/kg, disuelto en vehículo (etanol:cremofor:solución salina a 1:1:18), i.p. 1 hora después

del TCC.

- *Grupo 4:* HU-914, 20 mg/kg, disuelto en vehículo (etanol:cremofor:solución salina a 1:1:18), i.p. 1 hora después del TCC.

5 Se siguió la puntuación de gravedad neurológica (Δ NSS) durante 21 días y se presentó en la figura 5. La dosis más eficaz de **HU-914** fue de 5 mg / kg. A partir de los 3 días posteriores al traumatismo, los ratones tratados con 5mg/kg de **HU-914** presentaron una recuperación significativamente mayor que la de los controles (tratados con el vehículo) o los grupos tratados con dosis mayores (10 mg/kg y 20 mg/kg de **HU-914**).

EXPERIMENTO 5 IN VIVO:

10 En este estudio, se indujo un TCC a tres grupos de ratones (n=10/grupo), después de lo cual se administraron los siguientes agentes:

- *Grupo 1 (Control):* Vehículo solo (etanol:cremofor:solución salina a 1:1:18), 1 hora después del TCC.
- *Grupo 2:* HU-914, 5 mg/kg, disuelto en vehículo (etanol:cremofor:solución salina a 1:1:18), i.p. 1 hora después del TCC.
- 15 ■ *Grupo 3:* Antagonista específico/agonista inverso de CB2 (SR144528, (N-[(1S)-endo-1,3,3-trimetilbicyclo [2.2.1]heptan-2-il]-5- (4-cloro-3-metilfenil)-1- (4-metilbencil)pirazol-3 carboxamida), 1 mg/kg, i.p. 1 hora después del TCC y 5mg/kg de HU-914 administrados 10 minutos después de la administración del antagonista/agonista inverso.

20 La Figura 6 representa el grado de recuperación de los cuatro grupos (medidos como Δ NSS= NSS(1 h)-NSS(t), durante un periodo de 24 horas a 28 días después de un TCC), en la cual se puede apreciar que en presencia del antagonista/agonista inverso (Grupo 3), la recuperación lograda con HU-914 (Grupo 2) se había anulado y reducido a un grado similar al del grupo de control (Grupo 1), al que se administró únicamente el vehículo. Estos hallazgos sugieren que, al menos parcialmente, **HU-914** ejerce su efecto a través del receptor CB2.

EXPERIMENTO 6 IN VIVO:

25 En este estudio, se indujo un TCC a cuatro grupos de ratones C57B1 macho (n=7-10/grupo), después de lo cual se administraron los siguientes agentes:

- *Grupo 1 (Control):* Vehículo solo (etanol:cremofor:solución salina a una proporción de 1:1:18), i.p. 1 hora después del TCC.
- *Grupo 2:* HU-914, 2,5 mg/kg, disuelto en vehículo (etanol:cremofor:solución salina a 1:1:18), i.p. 1 hora después del TCC.
- 30 ■ *Grupo 3:* HU-914, 5 mg/kg, disuelto en vehículo (etanol:cremofor:solución salina a 1:1:18), i.p. 1 hora después del TCC.
- *Grupo 4:* HU-914, 10 mg/kg, disuelto en vehículo (etanol:cremofor:solución salina a 1:1:18), i.p. 1 hora después del TCC.

35 Se siguió la puntuación de gravedad neurológica (NSS) durante 14 días y se presentó en la figura 7. Cabe destacar que las dosis más eficaces de HU-914 en una estirpe concreta de ratones fueron 2,5 mg/kg y 5 mg/kg. A los 14 días desde la lesión, los ratones tratados con **HU-914** (2,5 mg/kg y 5 mg/kg) presentaron una recuperación significativamente mayor que la de los controles (tratados con vehículo) o los grupos tratados con dosis mayores (**HU-914** a 10 mg/kg). De forma similar a los ratones Sabra., este estudio representa un efecto de respuesta a la dosis de **HU-914** en ratones C57B1, en la que las dosis menores (HU-914 a 2,5 y 5 mg/kg) fueron más eficaces que una dosis mayor (HU-914 a 10 mg/kg) o el vehículo.

EL EFECTO DE HU-914 SOBRE LA PRODUCCIÓN DE TNF- α TRAS UN TCC.

La actividad del TNF- α se puede inducir mediante lesiones cerebrales traumáticas e isquémicas a partir de 1-2 horas y alcanzando su punto máximo 4 horas después del TCC. (Shohami y col., 1997). El siguiente paso fue investigar el efecto de HU-914 sobre la producción de TNF- α después del TCC.

45 Se indujo un TCC a tres grupos de ratones (n=5-6):

- *Grupo 1 (Control):* Los controles simulados recibieron anestesia e incisión en la piel solamente.
- *Grupo 2:* Vehículo solo (etanol:cremofor:solución salina a una proporción de 1:1:18), i.p. 1 hora después del TCC.
- 50 ■ *Grupo 3:* HU-914, 5 mg/kg, disuelto en vehículo (etanol:cremofor:solución salina a 1:1:18), i.p. 1 hora después del TCC.

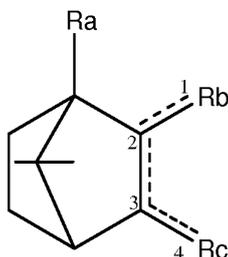
Se sacrificó a los animales 4 horas después del TCC mediante decapitación. Rápidamente se extrajeron los cerebros y se disecaron en segmentos corticales y del hipocampo, ipsolaterales y contralaterales, que se congelaron en nitrógeno líquido y se mantuvieron a -78. Los tejidos del cerebro se homogenizaron en tampón de lisis helado (Tris-HCl 50 mM, EDTA 1 mM, EGTA 1 mM, Na₃VO₄ 0,5 mM, 0,1% de 2-mercaptoetanol, 1 % de Triton X-100, NaF 50 mM, pirofosfato de sodio 5 mM, β -gliceropirofosfato de sodio 10 mM, fluoruro de fenilmetanosulfonilo 0,1 mM y

55

- 5 mezcla de inhibidores de la proteasa (Roche Diagnostics, Indianapolis, IN). Después de aplicar ultrasonidos en hielo durante 45 segundos y de centrifugar a 12.000 rpm durante 20 minutos, se determinaron las concentraciones de proteínas en los sobrenadantes usando el procedimiento de Bradford Bio-Rad Laboratories, Munich, Alemania). Se analizaron los sobrenadantes mediante un ensayo de inmunoabsorción enzimática (ELISA) para determinar la producción de TNF- α , con un kit específico de citocinas de R&D Systems (Minneapolis, MN). HU-914 inhibió la producción de TNF- α en el hipocampo del hemisferio izquierdo dañado, pero no afectó al nivel de la citocina en la corteza izquierda. No se detectó aumento de TNF- α en la corteza derecha ni en el hipocampo (**Figura 8**).

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula general (I):



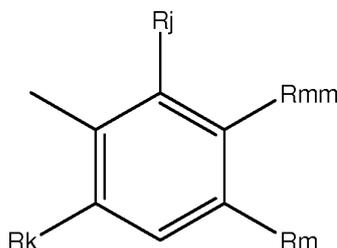
(I)

en la que

5 1-----2, 2-----3, 3-----4 son cada uno independientemente un enlace simple o doble;
 Ra se selecciona entre un alquilo C₁-C₅ lineal o ramificado, alquenido C₂-C₅ lineal o ramificado, alquínido C₂-C₅ lineal o ramificado y -C(=O)R_d, cada uno opcionalmente sustituido con al menos un grupo seleccionado entre -OH, -COOH, -NH₂, C₁-C₅ amina, halógeno, fenilo, heteroarilo; en la que

10 R_d se selecciona entre el grupo que consiste en -H, -OH, alquilo C₁-C₅ lineal o ramificado, alquenido C₂-C₅ lineal o ramificado, alquínido C₂-C₅ lineal o ramificado, alcoxi C₁-C₅ lineal o ramificado, -NR_eR_f;
 R_e y R_f se selecciona cada uno independientemente entre H y alquilo C₁-C₅ lineal o ramificado; y

R_b y R_c se seleccionan cada uno independientemente entre -H, -OH, =O, =CR_gR_n, =NR_i, =S, y un grupo de fórmula (II'):



(II')

15 en la que R_j, R_k y R_{mm} se seleccionan cada uno independientemente entre H y -OR_n, en la que R_n se selecciona entre H, -COOR_t, un alquilo C₁-C₅ lineal o ramificado opcionalmente sustituido con al menos un grupo seleccionado entre -COOH, -NH₂, a condición de que al menos uno de R_j y R_k sea diferente de H; R_m se selecciona entre un alquilo C₃-C₁₂ lineal o ramificado opcionalmente sustituido, un alcoxi C₅-C₉ lineal o ramificado opcionalmente sustituido, un éter C₁-C₇ lineal o ramificado opcionalmente sustituido; y R_t se selecciona entre H, y alquilo C₁-C₅; y en la que

20 R_g, R_h, y R_j se seleccionan cada uno independientemente entre H, alquilo C₁-C₅ lineal o ramificado, alcoxi C₁-C₅ lineal o ramificado y -NH₂; y en la que al menos uno de R_b y R_c es un grupo de fórmula (II').

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que 2-----3 es un doble enlace.

25 3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que 2-----3 es un enlace sencillo.

4. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 3, en el que 1-----2 es un doble enlace.

5. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 3, en el que 3-----4 es un doble enlace.

6. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 3, en el que 1-----2 es un enlace sencillo y 3-----4 es un enlace sencillo.

30 7. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que R_a se selecciona entre un alquilo C₁-C₅ lineal o ramificado y -C(=O)R_d, cada uno opcionalmente sustituido con al menos un grupo seleccionado entre -OH, -COOH, -NH₂, C₁-C₅ amina, halógeno, fenilo, heteroarilo.

8. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 3, en el que R_b es =O.

9. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 3, en el que R_c es =O.

10. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que se selecciona de la lista siguiente:

- metil-2-(2,6-dimetoxi-4-(2-metiloctan-2-il)fenil)-7,7-dimetilbiciclo[2.2.1]hept-2-eno-1-carboxilato;
- metil-2-(2,6-dimetoxi-4-pentilfenil)-7,7-dimetilbiciclo[2.2.1]hept-2-eno-1-carboxilato;
- 5 - 2-(2,6-dimetoxi-4-(2-metiloctan-2-il)fenil)-1,7,7-trimetilbiciclo[2.2.1]hept-2-eno;
- (2-(2,6-dimetoxi-4-(2-metiloctan-2-il)fenil)-7,7-dimetilbiciclo[2.2.1]hept-2-en-1-il) metanol;
- (2-(2,6-dimetoxi-4-pentilfenil)-7,7-dimetilbiciclo[2.2.1]hept-2-en-1-il)metanol;
- ácido 2-(2,6-dimetoxi-4-(2-metilactan-2-il)fenil)-7,7-dimetilbiciclo[2.2.1]hept-2-eno-1-carboxílico;
- 10 - ácido 2-(2,6-dimetoxi-4-pentilfenil)-7,7-dimetilbiciclo[2.2.1]hept-2-en-1-carboxílico;
- 3-(2,6-dimetoxi-4-(2-metiloctan-2-il)fenil)-1,7,7-trimetilbiciclo[2.2.1]hept-2-eno;
- 3-(2,6-dimetoxi-4-pentilfenil)-1,7,7-trimetilbiciclo[2.2.1]heptan-2-ona;
- 3-(2,6-dimetoxi-4-(2-metiloctan-2-il)fenil)-1,7,7-trimetilbiciclo[2.2.1]heptan-2-ona;
- 3-(2,6-dimetoxi-4-pentilfenil)-1,7,7-trimetilbiciclo[2.2.1]heptan-2-ol;
- 15 - 3-(2,6-dimetoxi-4-(2-metiloctan-2-il)fenil)-1,7,7-trimetilbiciclo[2.2.1]heptan-2-ol;
- (3-(2,6-dimetoxi-4-(2-metiloctan-2-il)fenil)-7,7-dimetilbiciclo[2.2.1]hept-2-en-1-il);
- ácido 3-(2,6-dimetoxi-4-(2-metilactan-2-il)fenil)-7,7-dimetilbiciclo[2.2.1]hept-2-eno-1-carboxílico;
- metil-3-(2,6-dimetoxi-4-(2-metiloctan-2-il)fenil)-7,7-dimetilbiciclo[2.2.1]hept-2-eno-1-carboxilato;
- (3-(2,6-dimetoxi-4-pentilfenil)-7,7-dimetilbiciclo[2.2.1]hept-2-en-1-il)metanol;
- 20 - ácido 3-(2,6-dimetoxi-4-pentilfenil)-7,7-dimetilbiciclo[2.2.1]hept-2-en-1-carboxílico;
- 5-(2-metiloctan-2-il)-2-(4,7,7-trimetilbiciclo[2.2.1]hept-2-en-2-il)benceno-1,3-diol;
- 2-(4-(hidroximetil)-7,7-dimetilbiciclo[2.2.1]hept-2-en-2-il)-5-(2-metiloctan-2-il)benceno-1,3-diol;
- ácido 3-(2,6-dihidroxi-4-(2-metiloctan-2-il)fenil)-7,7-dimetilbiciclo[2.2.1]hept-2-en-1-carboxílico;
- 2-(4-(hidroximetil)-7,7-dimetilbiciclo[2.2.1]heptan-2-il)-5-(2-metiloctan-2-il)benceno-1,3-diol;
- 25 - 5-(2-metiloctan-2-il)-2-(4,7,7-trimetilbiciclo[2.2.1]heptan-2-il)benceno-1,3-diol; y
- ácido 3-(2,6-dihidroxi-4-(2-metiloctan-2-il)fenil)-7,7-dimetilbiciclo[2.2.1]heptano-1-carboxílico.

11. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que es (1S,4R)-(2-(2,6-dimetoxi-4-(2-metiloctan-2-il)fenil)-7,7-dimetilbiciclo[2.2.1]hept-2-en-1-il)metanol.

12. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 para su uso como medicamento.

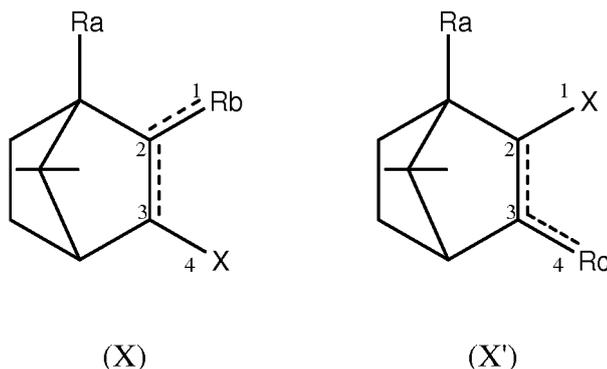
13. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 para su uso en el tratamiento de una enfermedad, trastorno o afección seleccionado de inflamación, dolor, alergias, enfermedades neurológicas y neurodegenerativas, hepatopatías, lesión cerebral, cáncer, vascularización retiniana, endometritis, trastornos relacionados con el apetito, síndrome metabólico, diabetes, aterosclerosis; trastornos relacionados con efectos antifibrinogénicos, enfermedad inflamatoria del intestino, artritis y emesis, o cualquier combinación de las mismas.

14. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11.

15. Uso de un compuesto de las reivindicaciones 1 a 11 para la fabricación de una composición farmacéutica, para el tratamiento de una afección seleccionada entre inflamación, dolor, alergias, enfermedades neurológicas y neurodegenerativas, hepatopatías, lesión cerebral, cáncer, vascularización retiniana, endometritis, trastornos relacionados con el apetito, síndrome metabólico, diabetes, aterosclerosis; trastornos relacionados con efectos antifibrinogénicos, enfermedad inflamatoria del intestino, artritis y emesis, o cualquier combinación de las mismas.

16. Un procedimiento de preparación de un compuesto de fórmula general (I), de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, comprendiendo dicho procedimiento:

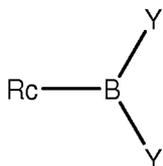
(a) proporcionar un compuesto que tiene la fórmula general (X) o (X'):



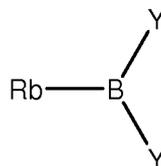
45 en las que R_a, R_b y R_c tienen el mismo significado tal como se ha definido en la reivindicación 1; X es un haluro,

pseudohaluro, un grupo saliente funcional; y $\overset{\text{---}}{1}$ - $\overset{\text{---}}{2}$, $\overset{\text{---}}{2}$ - $\overset{\text{---}}{3}$, $\overset{\text{---}}{3}$ - $\overset{\text{---}}{4}$ son cada uno independientemente un enlace simple o un enlace doble;

(b) hacer reaccionar el compuesto (X) o (X') con un compuesto que posee la fórmula general (XI) o (XI') respectivamente:



(XI')

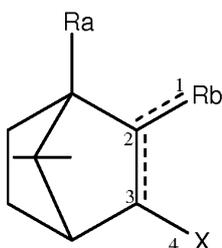


(XI)

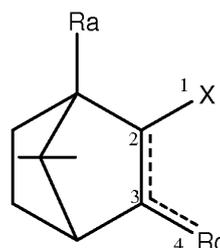
5 en las que cada uno de Y se selecciona entre OH, alcoxi C₁-C₅ o ambos pueden formar un anillo dialcoxi cíclico junto con el átomo de boro al que están unidos, en presencia de un catalizador; obteniendo de este modo un compuesto de fórmula (I).

10 17. Un procedimiento de preparación de un compuesto de fórmula general (I), de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, comprendiendo dicho procedimiento:

(a) proporcionar un compuesto que tiene la fórmula general (X) o (X'):



(X)

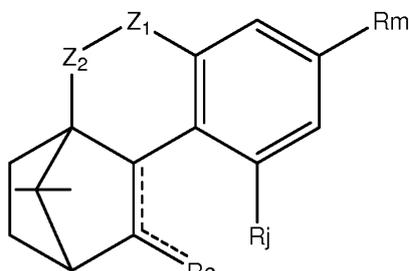


(X')

15 en las que R_a, R_b y R_c tienen el mismo significado tal como se ha definido en la reivindicación 1; X es un haluro, pseudohaluro, un grupo saliente funcional; y $\overset{\text{---}}{1}$ - $\overset{\text{---}}{2}$, $\overset{\text{---}}{2}$ - $\overset{\text{---}}{3}$, $\overset{\text{---}}{3}$ - $\overset{\text{---}}{4}$ son cada uno independientemente un enlace simple o un enlace doble;

(b) acoplar un compuesto (X) o (X') con R_c-H o R_b-H respectivamente; obteniendo de este modo un compuesto de fórmula (I).

18. Un compuesto que tiene la fórmula (XII):



(XII)

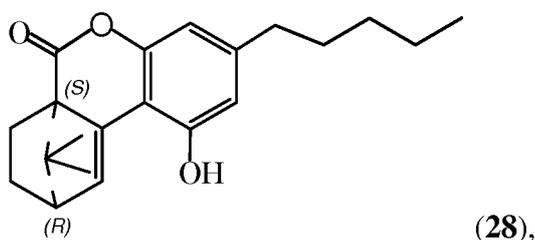
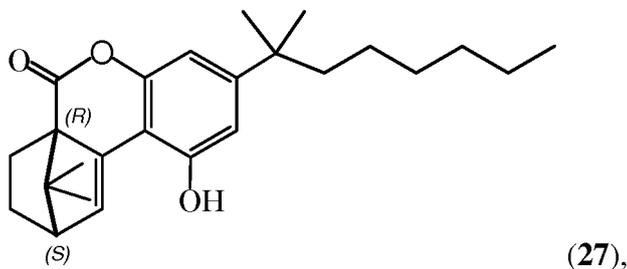
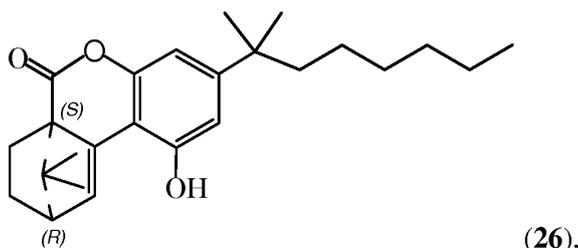
20 en la que $\overset{\text{---}}$ es un enlace sencillo o un enlace doble;
 R_c se selecciona entre -H, -OH, =O, =CR_gR_h, =NR_i, =S, un grupo arilo que tiene hasta 15 átomos de carbono sustituidos por al menos un grupo seleccionado entre un alquilo C₁-C₁₂ lineal o ramificado, alqueno C₂-C₁₂, alquino C₂-C₁₂, alcoxi C₁-C₁₂, amina, ácido alcoxycarboxílico C₁-C₁₂, -OC(=O)R_p y -C(=O)R_q; en la que R_g, R_h, R_i, R_p y R_q se seleccionan cada uno independientemente entre H, alquilo C₁-C₅ lineal o ramificado, alcoxi C₁-C₅ lineal o ramificado y -NH₂;

25 R_j se selecciona entre H y -OR_n en la que R_n se selecciona entre H, -COOR_t, un alquilo C₁-C₅ lineal o ramificado opcionalmente sustituido con al menos un grupo seleccionado entre -COOH, -NH₂; y R_t se selecciona entre H y alquilo C₁-C₅;

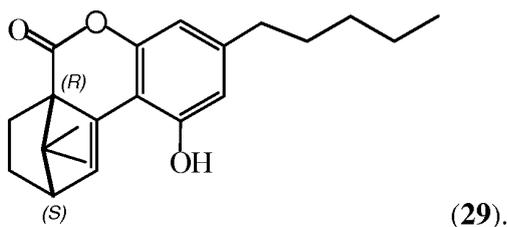
R_m se selecciona entre un alquilo C₆-C₁₂ lineal o ramificado, un alcoxi C₅-C₉ lineal o ramificado, un éter C₁-C₇ lineal o ramificado; cada uno opcionalmente sustituido con al menos un grupo seleccionado entre -COOH, -NH₂; Z₁ y Z₂ se seleccionan cada uno independientemente entre -O-, alquileo C₁-C₅ lineal o ramificado, -S-, -C(=O)- y -C(=S)-.

5 19. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 18, en el que el grupo arilo que tiene hasta 15 átomos de carbono es uno de fenilo, naftilo y fluorenilo.

20. Los compuestos de acuerdo con la reivindicación 18 o 19 que se seleccionan entre el grupo que consiste en:



10



21. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 18 a 20, para su uso como medicamento.

15

22. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 18 a 21, para su uso en el tratamiento de una enfermedad, trastorno o afección seleccionado entre inflamación, dolor, alergias, enfermedades neurológicas y neurodegenerativas, hepatopatías, lesión cerebral, cáncer, vascularización retiniana, endometritis, trastornos relacionados con el apetito, síndrome metabólico, diabetes, aterosclerosis; trastornos relacionados con efectos antifibrinogénicos, enfermedad inflamatoria del intestino, artritis y emesis, o cualquier combinación de las mismas.

23. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 18 a 20.

20

24. Uso de un compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 18 a 20, para la fabricación de una composición farmacéutica para el tratamiento de una afección seleccionada entre inflamación, dolor, alergias, enfermedades neurológicas y neurodegenerativas, hepatopatías, lesión cerebral, cáncer, vascularización retiniana, endometritis, trastornos relacionados con el apetito, síndrome metabólico, diabetes, aterosclerosis; trastornos relacionados con efectos antifibrinogénicos, enfermedad inflamatoria del intestino, artritis y emesis, o cualquier combinación de las mismas.

25

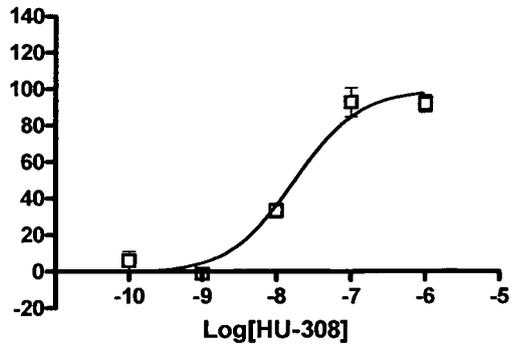


Fig. 1A

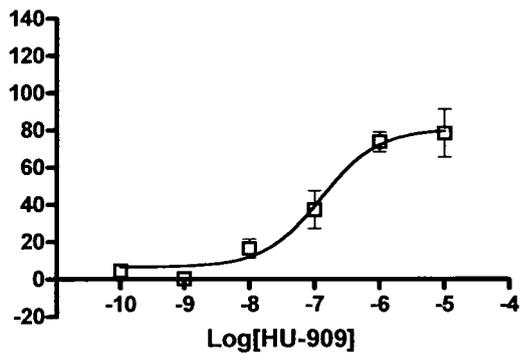


Fig. 1B

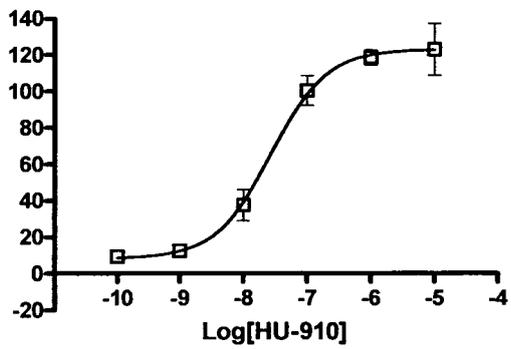


Fig. 1C

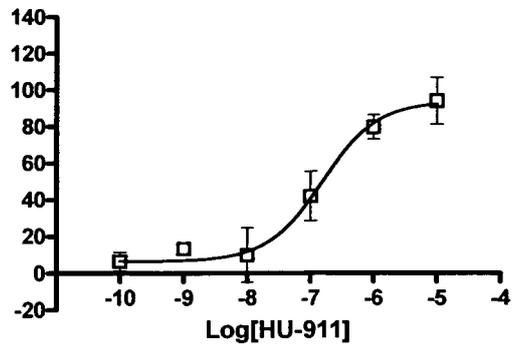


Fig. 1D

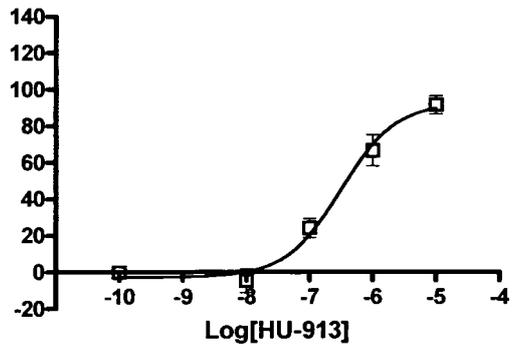


Fig. 1E

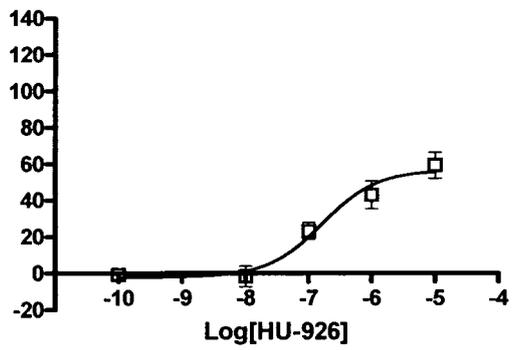


Fig. 1F

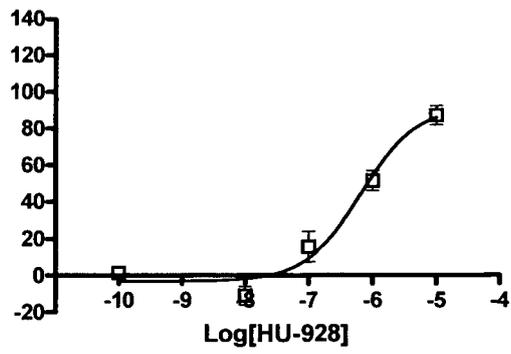


Fig. 1G

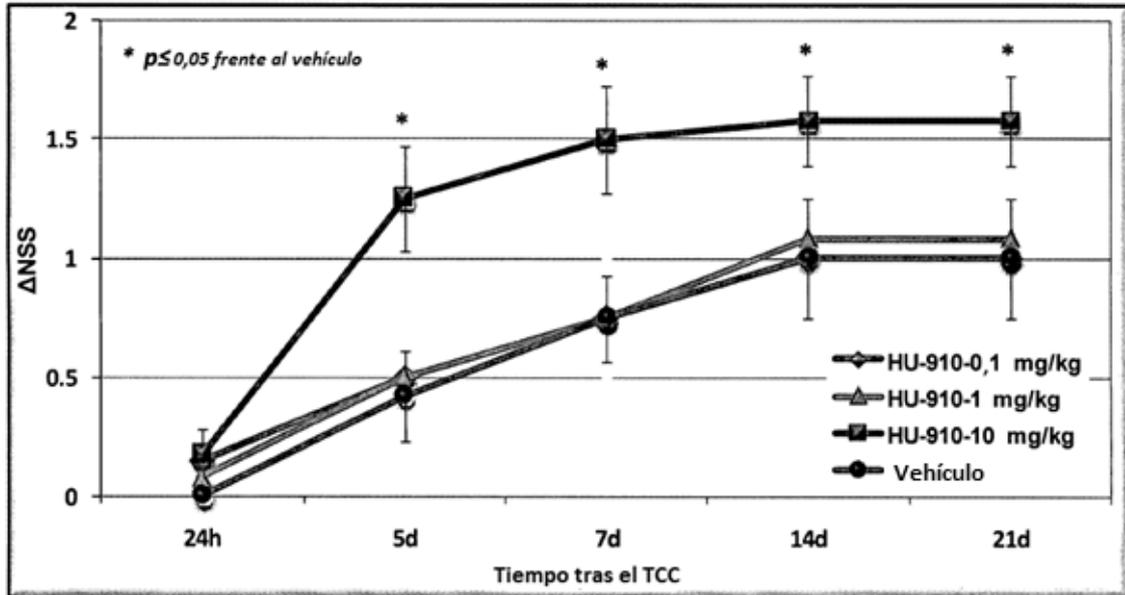


Fig. 2

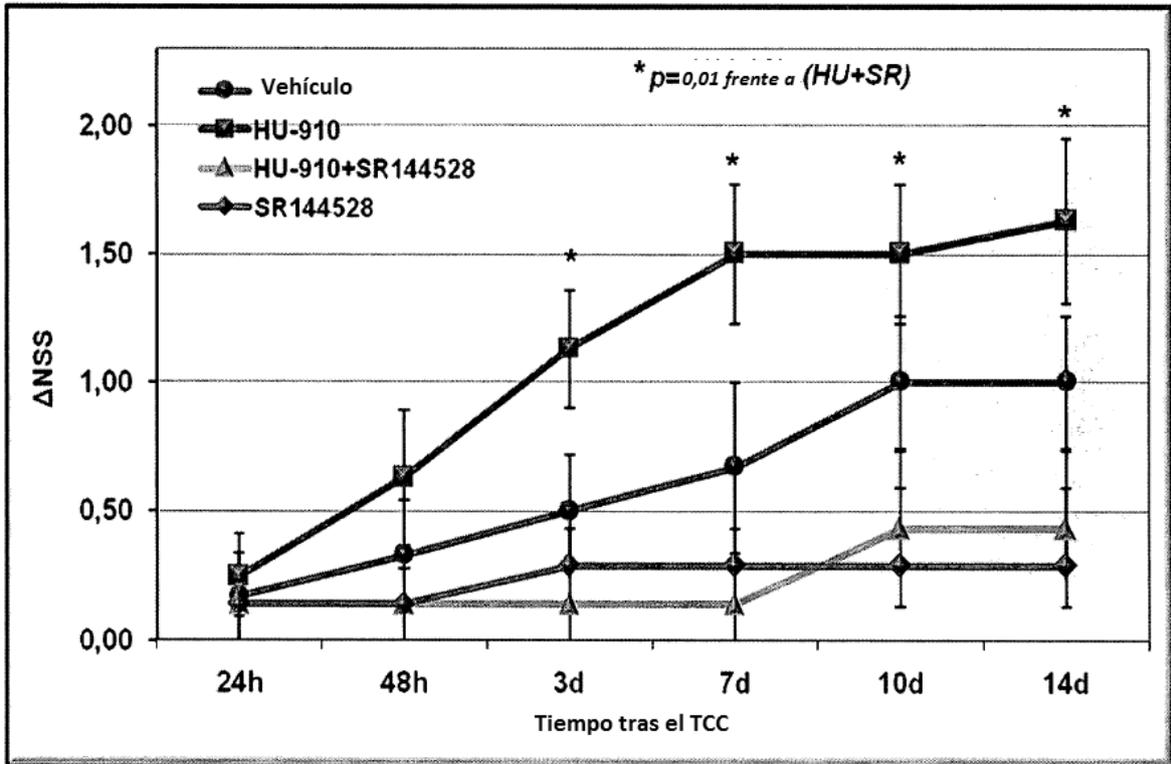


Fig. 3

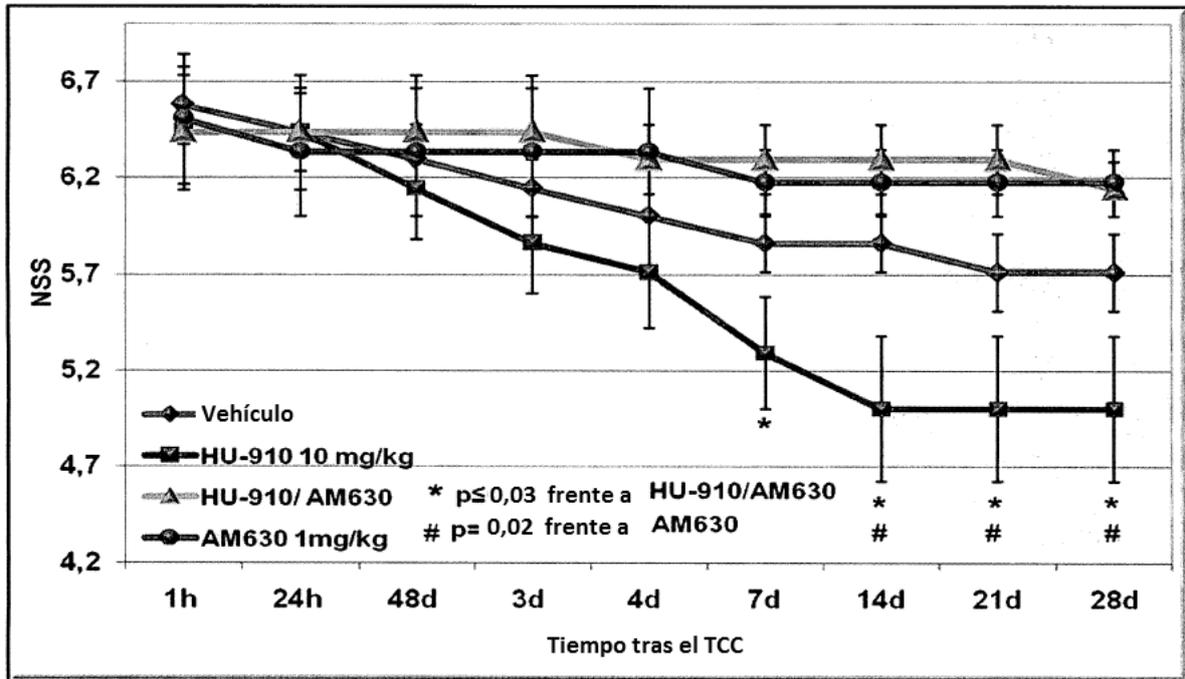


Fig. 4

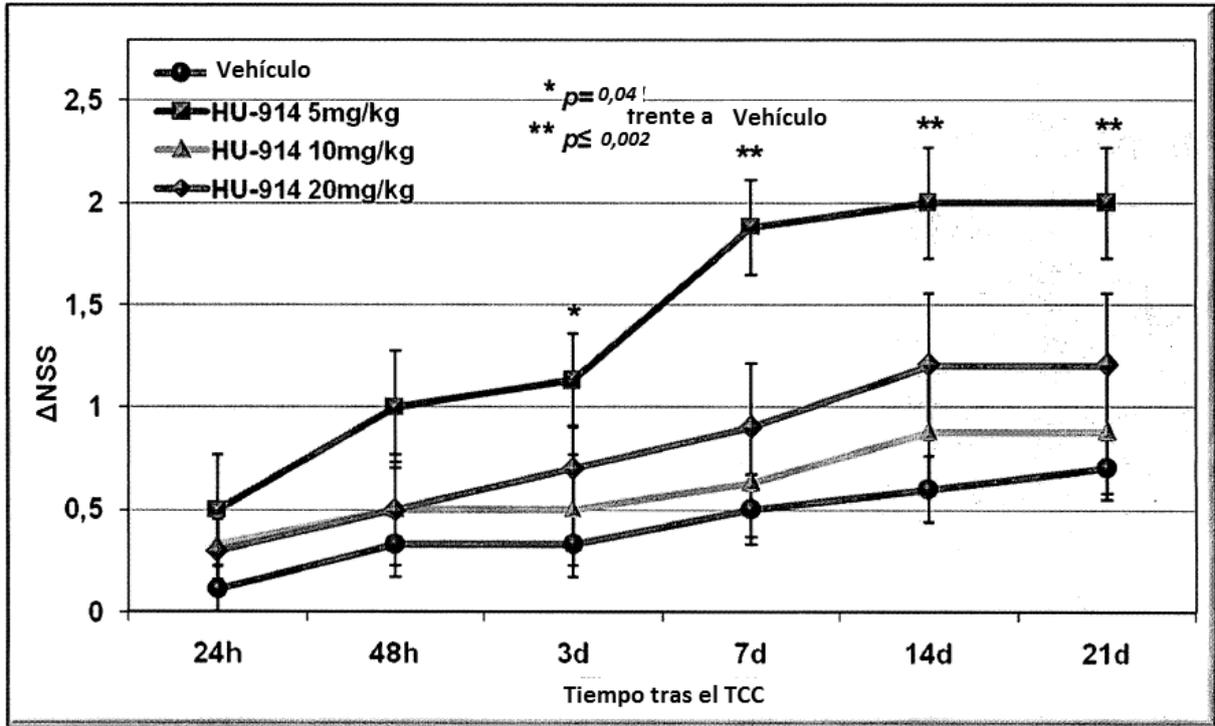


Fig. 5

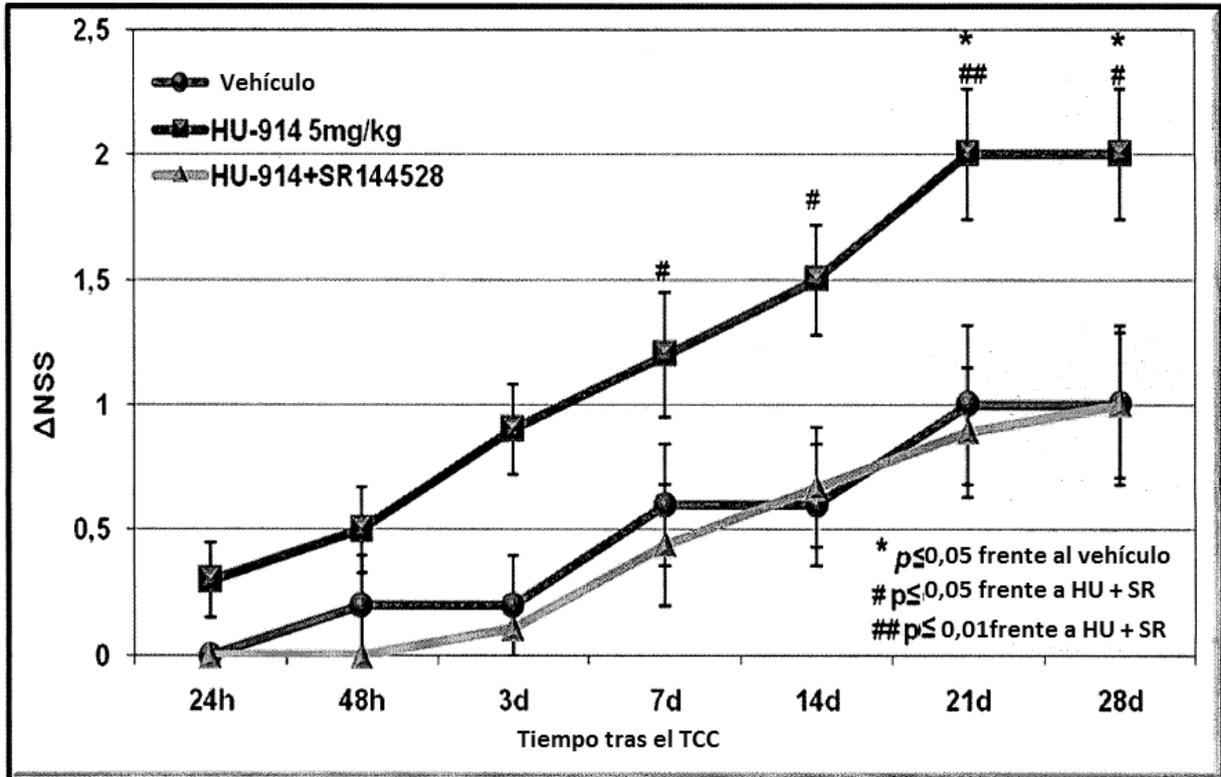


Fig. 6

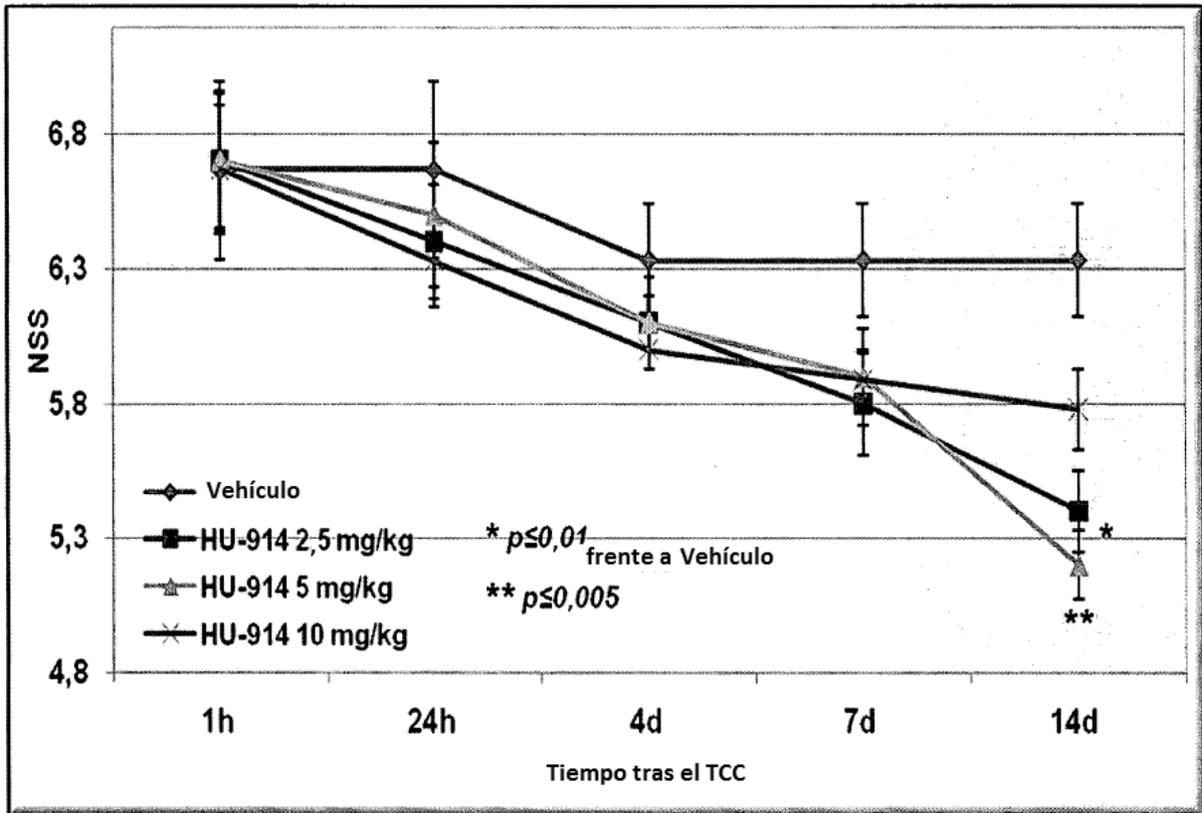


Fig. 7

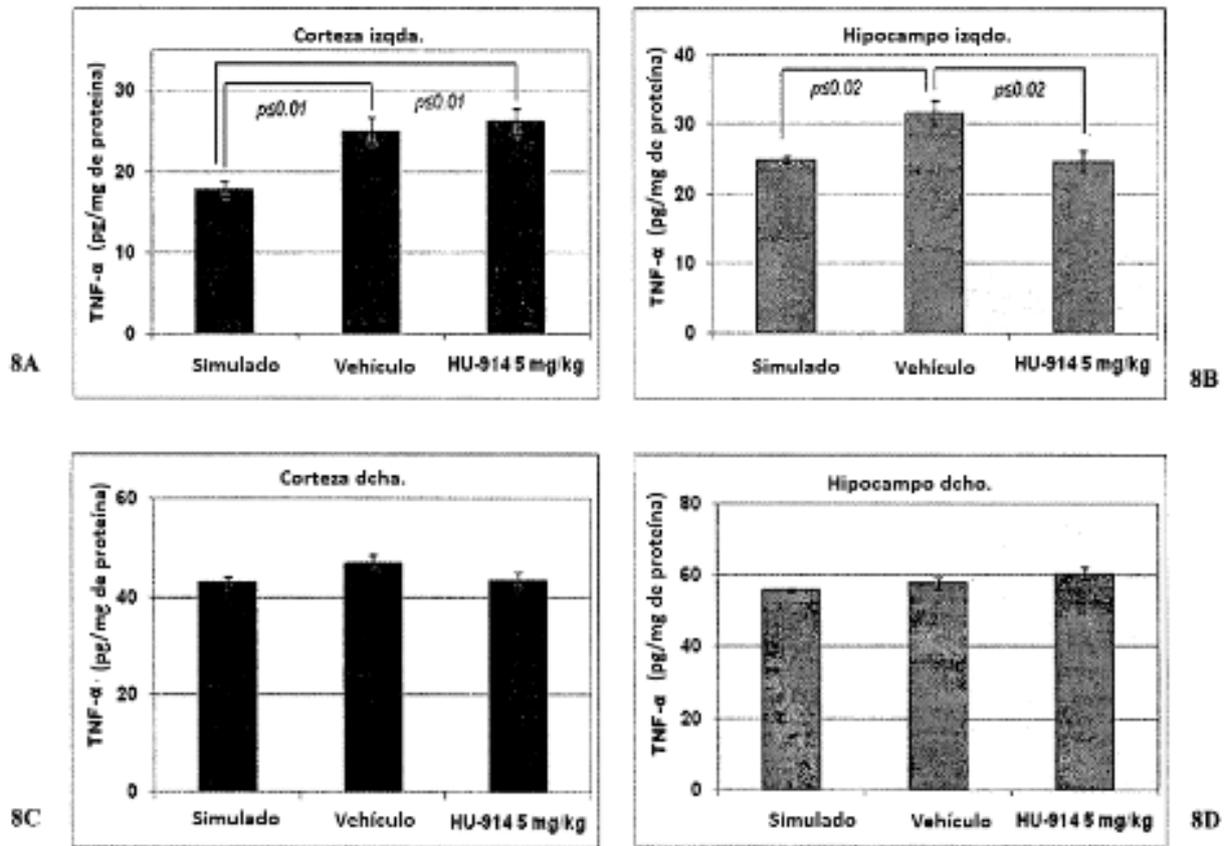


Fig. 8