

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 809 487**

51 Int. Cl.:

C07D 403/04 (2006.01)

C07D 205/085 (2006.01)

A61K 31/397 (2006.01)

A61K 31/4025 (2006.01)

A61P 3/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.09.2016** **PCT/EP2016/072735**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.03.2017** **WO17050990**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.09.2016** **E 16774645 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.04.2020** **EP 3353165**

54 Título: **1,4-di-(4-metiltiofenil)-3-ftaloilazetidín-2-ona y sus derivados**

30 Prioridad:

25.09.2015 FR 1559067

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
04.03.2021

73 Titular/es:

UNIVERSITE DE NANTES (33.3%)

1 quai de Tourville

44000 Nantes, FR;

UNIVERSITÉ DE BOURGOGNE (33.3%) y

INSTITUT NATIONAL DE LA SANTÉ ET DE LA

RECHERCHE MÉDICALE (INSERM) (33.3%)

72 Inventor/es:

ROBERT, JEAN-MICHEL;

TROY-FIORAMONTI, STÉPHANIE;

DEMIZIEUX, LAURENT y

DEGRACE, PASCAL

74 Agente/Representante:

CURELL SUÑOL, S.L.P.

ES 2 809 487 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

1,4-di-(4-metiltiofenil)-3-ftaloilazetidin-2-ona y sus derivados

5 **Introducción**

La presente invención se refiere al compuesto 1,4-di-(4-metiltiofenil)-3-ftaloilazetidin-2-ona y a sus derivados, a su procedimiento de síntesis, así como a sus utilizaciones, en particular a su utilización terapéutica, en particular en el tratamiento de patologías asociadas a una hiperactividad del sistema endocannabinoide, así como a su utilización con fines puramente estéticos, que permite en particular la pérdida de peso.

El sistema endocannabinoide (SEC) es un sistema complejo que comprende los receptores cannabinoides, sus ligandos endógenos (es decir, los endocannabinoides AEA y 2-AG, más conocidos respectivamente con el nombre de anandamida y de 2-araquidonoilglicerol), así como numerosas enzimas metabólicas que catalizan la formación y la degradación de los endocannabinoides. Desde hace tiempo se ha admitido que los endocannabinoides se producen "bajo pedido" a partir de precursores lipídicos membranares, y que sus efectos biológicos son transmitidos más particularmente por dos receptores con siete dominios transmembranares acoplados a las proteínas G, a saber los receptores CB1 y/o CB2.

Estos últimos están presentes en numerosos órganos y tejidos del cuerpo humano: en efecto, además del cerebro y del sistema inmunitario, donde su expresión es predominante, se han identificado los receptores CB1 y CB2, entre otros, en el intestino (Di Carlo *et al.*, 2003), la vejiga (Pertwee, 2001), el tejido adiposo (Cota *et al.*, 2003), el hígado (Osei-Hyiaman *et al.*, 2005), los testículos (Gye *et al.*, 2001), el útero (Das *et al.*, 1995), la retina (Buckley *et al.*, 1998), el endotelio vascular (Liu *et al.*, 2003) y el músculo.

Debido a su amplia localización tisular, estos receptores están implicados en la regulación de numerosas funciones biológicas, pero también en unos procedimientos fisiopatológicos diversos y variados. Una desregulación del sistema endocannabinoide que resulta de una expresión alterada de los receptores endocannabinoides CB1 y/o CB2, de las enzimas que metabolizan los endocannabinoides, y/o que implican las vías de síntesis de los endocannabinoides, se ha podido observar en una miríada de patologías. Entre éstas, la obesidad y los trastornos metabólicos asociados, la diabetes y sus complicaciones, enfermedades hepáticas, renales y cardiovasculares, la osteoporosis, el cáncer y los trastornos de la fertilidad estarían asociados a una hiperactividad del sistema endocannabinoide, mientras que las enfermedades inflamatorias del intestino y las enfermedades mentales y neurodegenerativas estarían asociadas a una subactividad de dicho sistema (Di Marzo, 2008; Izzo *et al.*, 2010; Pacher *et al.*, 2013; Maccarone *et al.*, 2015).

En el caso de la obesidad, se ha establecido claramente que la hiperactivación del sistema endocannabinoide conduce a una estimulación del apetito, y favorece por lo tanto el aumento de peso, alterando al mismo tiempo los parámetros metabólicos tales como la insulinemia, la resistencia a la insulina, la glucemia, la lipidemia, etc. (Ravinet Trillou C. *et al.*, 2003; Di Marzo y Matias, 2005; Despres y Lemieux, 2006).

Por consiguiente, se han desarrollado y descrito ampliamente en la bibliografía científica diversas estrategias terapéuticas que prevén corregir esta desregulación del sistema endocannabinoide, actuando directamente sobre los mediadores de este sistema, a saber los receptores CB1 y/o CB2.

Se ha demostrado así que la activación del sistema endocannabinoide con la ayuda de agonistas del receptor CB1 permite inducir una relajación transitoria del esófago, y tratar así el reflujo gastroesofágico (Beaumont *et al.*, 2009; Lehman *et al.*, 2002), y mejorar también los síntomas asociados a unas patologías intestinales tales como el síndrome del intestino irritable o las úlceras gástricas, actuando en particular sobre la motilidad gastrointestinal y la inflamación (Izzo *et al.*, 2001; Izzo *et al.*, 1999; Massa *et al.*, 2004).

La utilización de compuestos que antagonizan la acción del receptor CB1, tales como el Rimonabant, ha resultado ser eficaz en el tratamiento de la obesidad y del síndrome metabólico, actuando no solamente de manera central sobre la ingesta alimenticia, sino también de manera periférica sobre la hiperinsulinemia, la resistencia a la insulina, la hiperglucemia y la dislipidemia, permitiendo así reducir asimismo los riesgos cardiovasculares asociados (Ravinet Trillou C. *et al.*, 2003; Tam *et al.*, 2010; Tam *et al.*, 2012).

Se han podido observar asimismo unos efectos beneficiosos de una acción antagonista dirigida contra el receptor CB1 en el marco de la diabetes y de sus complicaciones (nefropatías, tubulopatías) (Jourdan *et al.*, 2014), y del desarrollo de la fibrosis, en particular la fibrosis hepática y la fibrosis renal (Teixeira-Clerc *et al.*, 2006).

Los agonistas y antagonistas de los receptores cannabinoides, en particular de los receptores CB1, presentan por lo tanto un interés terapéutico principal en las patologías que implican una desregulación del sistema endocannabinoide.

Sin embargo, se han observado unos efectos secundarios importantes tras la utilización prolongada de estas

moléculas, en particular cuando éstas cruzan la barrera hematoencefálica. Entre estas moléculas, el Rimonabant, destinado inicialmente a tratar la obesidad, ha tenido que ser retirado del mercado en 2008 debido a sus efectos psiquiátricos depresógenos consecutivos a su acción sobre los receptores CB1 centrales. El documento WO2008/039829 describe también unos compuestos útiles para tratar enfermedades cardíacas, la obesidad y la diabetes.

Por lo tanto, existe una necesidad de desarrollar nuevos inhibidores de los receptores CB1, que se difunden poco o nada en el sistema nervioso central, y con el fin de limitar, o incluso destruir completamente, estos efectos psicotrópicos deletéreos.

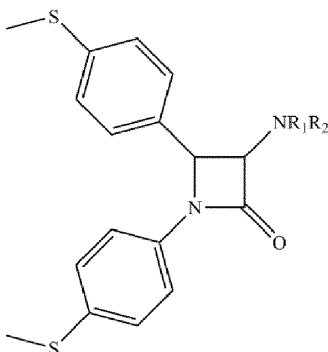
La presente invención propone satisfacer esta necesidad con la ayuda de nuevos compuestos que actúan sobre los receptores CB1 periféricos.

En efecto, los inventores han descubierto de manera sorprendente que el compuesto 1,4-di-(4-metiltiofenil)-3-ftaloilazetidín-2-ona y sus análogos estructurales presentan unas características fisicoquímicas que les confieren un perfil farmacocinético que induce una actividad agonista inversa preferencial a nivel de los receptores CB1 periféricos. Los datos experimentales divulgados a continuación demuestran por otro lado que estas moléculas ejercen unos efectos beneficiosos no solamente sobre el metabolismo de los glúcidos y de los lípidos, sobre la tolerancia a la glucosa, la sensibilidad a la insulina y la masa corporal en el ratón obeso, sino también sobre la motilidad gastrointestinal, y esto sin ninguna toxicidad hepática. Por lo tanto, estos nuevos compuestos abren el camino a nuevas estrategias terapéuticas no solamente para los trastornos metabólicos asociados a la obesidad y a los defectos de motricidad gastrointestinal, sino también para todas las patologías asociadas a una hiperactividad del sistema endocannabinoide que implican preferentemente a los receptores CB1.

Por consiguiente, la presente invención propone un agonista inverso selectivo de los receptores CB1 periféricos de fórmula (I) tal como se define a continuación relativa a la 1,4-di-(4-metiltiofenil)-3-ftaloilazetidín-2-ona y a sus derivados, a su procedimiento de síntesis, y a sus aplicaciones, en particular terapéuticas y no terapéuticas.

Descripción detallada de la invención

La presente descripción divulga un compuesto de fórmula general siguiente:

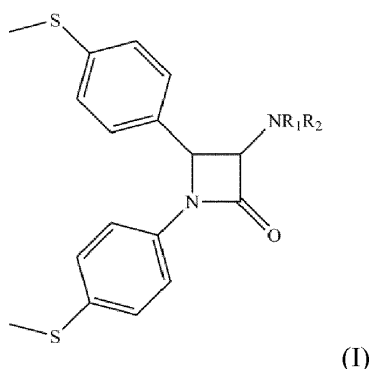


en la que:

- R_1 y R_2 , idénticos o diferentes, representan un átomo de hidrógeno o un grupo COR_3 , SO_2R_4 o $CONR_5R_6$; o forman juntos con el átomo de nitrógeno que los lleva un heterociclo de 5 o 6 eslabones que comprende por lo menos un heteroátomo suplementario, grupo $C=O$, grupo arilo o grupo heteroarilo;
- R_3 , R_4 , R_5 y R_6 representan, independientemente unos de los otros, un átomo de hidrógeno, o un grupo arilo o heteroarilo, estando dicho grupo eventualmente sustituido por uno o varios grupo(s) seleccionado(s) de entre un átomo de halógeno, OR_7 , NR_8R_9 , SR_{10} , $S(O)R_{11}$, SO_2R_{12} , $SO_2NR_{13}R_{14}$, $OCOR_{15}$, $NR_{16}COR_{17}$, $NR_{18}C(O)OR_{19}$, CO_2R_{20} , $CONR_{21}R_{22}$, OCO_2R_{23} , $CONR_{24}R_{25}$, COR_{26} , nitro (NO_2), ciano (CN), oxo ($=O$) y CF_3 ; y
- R_7 a R_{26} representan, independientemente unos de los otros, un átomo de hidrógeno o un grupo (C_1-C_6) alquilo, arilo o aril- (C_1-C_6) alquilo,

o una sal y/o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

La presente invención tiene así por primer objeto un compuesto de fórmula general (I) siguiente:



en la que:

- 5 - R_1 y R_2 , idénticos o diferentes, representan un átomo de hidrógeno o un grupo COR_3 , SO_2R_4 o $CONR_5R_6$; o forman juntos con el átomo de nitrógeno que los lleva un heterociclo de 5 o 6 eslabones que comprende por lo menos un heteroátomo suplementario, grupo $C=O$ o grupo arilo;
- 10 - R_3 , R_4 , R_5 y R_6 representan, independientemente unos de los otros, un átomo de hidrógeno, o un grupo arilo, estando dicho grupo opcionalmente sustituido por uno o varios grupos seleccionados de entre un átomo de halógeno, OR_7 , NR_8R_9 , SR_{10} , $S(O)R_{11}$, SO_2R_{12} , $SO_2NR_{13}R_{14}$, $OCOR_{15}$, $NR_{16}COR_{17}$, $NR_{18}C(O)OR_{19}$, CO_2R_{20} , $CONR_{21}R_{22}$, OCO_2R_{23} , $CONR_{24}R_{25}$, COR_{26} , nitro (NO_2), ciano (CN), oxo ($=O$) y CF_3 ; y
- 15 - R_7 a R_{26} representan, independientemente unos de los otros, un átomo de hidrógeno o un grupo (C_1-C_6) alquilo, arilo o aril- (C_1-C_6) alquilo,

o una sal y/o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 20 Los estereoisómeros de los compuestos de fórmula general (I) forman parte asimismo de la presente invención, en particular el diastereoisómero *trans*, así como sus mezclas.

Por "estereoisómero" se entiende, en el sentido de la presente invención, un isómero geométrico (o isómero de configuración) o un isómero óptico.

- 25 Los isómeros geométricos resultan de la posición diferente de los sustituyentes sobre un doble enlace o sobre un ciclo que puede tener una configuración Z o E, también denominada *cis* o *trans*.

- 30 Los isómeros ópticos resultan en particular de la posición diferente en el espacio de los sustituyentes sobre un átomo de carbono que comprende 4 sustituyentes diferentes. Este átomo de carbono constituye entonces un centro quiral o asimétrico. Los isómeros ópticos comprenden los diastereoisómeros y los enantiómeros. Los isómeros ópticos que son unas imágenes uno del otro en un espejo pero no superponibles se denominan "enantiómeros". Los isómeros ópticos que no son unas imágenes superponibles uno del otro en un espejo se denominan "diastereoisómeros".

- 35 Una mezcla que contiene unas cantidades iguales de dos formas enantioméricas individuales de quiralidad opuesta se denomina "mezcla racémica".

- 40 Los tautómeros de los compuestos de fórmula general (I) forman parte asimismo de la presente invención.

- 40 Por "tautómero" se entiende, en el sentido de la presente invención, un isómero de constitución del compuesto obtenido por prototropía, es decir por migración de un átomo de hidrógeno y cambio de localización de un doble enlace. Los diferentes tautómeros de un compuesto son generalmente interconvertibles y están presentes en equilibrio en solución, en unas proporciones que pueden variar según el disolvente utilizado, la temperatura o
- 45 también el pH.

En la presente invención, se entiende por "farmacéuticamente aceptable" lo que es útil en la preparación de una composición farmacéutica que es generalmente segura, no tóxica y ni es biológica ni indeseable de otro modo y que es aceptable para una utilización veterinaria así como farmacéutica humana.

- 50 Se entiende por "sal farmacéuticamente aceptable" de un compuesto una sal que es farmacéuticamente aceptable, como se define en la presente memoria, y que tiene la actividad farmacológica deseada del compuesto de origen.

Las sales farmacéuticamente aceptables comprenden en particular:

(1) las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables formadas con unos ácidos inorgánicos farmacéuticamente aceptables tales como el ácido clorhídrico, el ácido bromhídrico, el ácido sulfúrico, el ácido nítrico, el ácido fosfórico y similares; o formadas con unos ácidos orgánicos farmacéuticamente aceptables tales como el ácido acético, el ácido bencenosulfónico, el ácido benzoico, el ácido canfosulfónico, el ácido cítrico, el ácido etanosulfónico, el ácido fumárico, el ácido glucoheptónico, el ácido glucónico, el ácido glutámico, el ácido glicólico, el ácido hidroxinaftoico, el ácido 2-hidroxietanosulfónico, el ácido láctico, el ácido maleico, el ácido málico, el ácido mandélico, el ácido metanosulfónico, el ácido mucónico, el ácido 2-naftalensulfónico, el ácido propiónico, el ácido salicílico, el ácido succínico, el ácido dibenzoil-L-tátrico, el ácido tátrico, el ácido p-toluenosulfónico, el ácido trimetilacético, el ácido trifluoroacético y similares, y

(2) las sales de adición de base farmacéuticamente aceptable formadas cuando un protón ácido presente en el compuesto de origen es, o bien reemplazado por un ion metálico, por ejemplo un ion de metal alcalino, un ion de metal alcalinotérreo o un ion de aluminio; o bien coordinado con una base orgánica farmacéuticamente aceptable tal como la dietanolamina, la etanolamina, N-metilglucamina, la trietanolamina, la trometamina y similares; o con una base inorgánica farmacéuticamente aceptable tal como el hidróxido de aluminio, el hidróxido de calcio, el hidróxido de potasio, el carbonato de sodio, el hidróxido de sodio y similares.

Podrá tratarse de una sal de sodio cuando el compuesto comprende una función ácida.

Estas sales pueden ser sintetizadas a partir de los compuestos de la invención que contienen una parte básica o ácida y los ácidos o bases correspondientes según los procedimientos químicos convencionales.

Los solvatos farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la presente invención comprenden los solvatos convencionales tales como los formados en la última etapa de preparación de los compuestos de la invención debido a la presencia de disolventes. A título de ejemplo, se pueden citar los solvatos debidos a la presencia de agua (hidratos) o de etanol.

El término "halógeno" representa un flúor, cloro, bromo o yodo.

Por grupo "(C₁-C₆) alquilo" se entiende, en el sentido de la presente invención, una cadena hidrocarbonada saturada, lineal o ramificada, que comprende 1 a 6, en particular 1 a 4, átomos de carbono. A título de ejemplo, se pueden citar los grupos metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, pentilo o también hexilo.

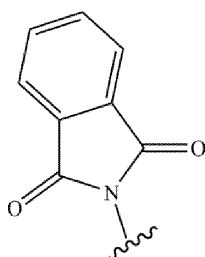
Por "arilo" se entiende, en el sentido de la presente invención, un grupo hidrocarbonado aromático, que comprende preferentemente entre 6 y 10 átomos de carbono, y que comprende uno o varios ciclos juntos, tales como por ejemplo un grupo fenilo o naftilo. Ventajosamente, se trata del fenilo.

Por "aril-(C₁-C₆) alquilo" se entiende, en el sentido de la presente invención, un grupo arilo tal como el definido anteriormente, unido al resto de la molécula por medio de una cadena (C₁-C₆) alquilo tal como la definida anteriormente. A título de ejemplo, se puede citar el grupo bencilo.

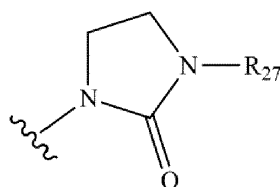
Por "heteroarilo" se entiende, en el sentido de la presente invención, un grupo arilo tal como el definido anteriormente, en el que 1 a 4, en particular 1 o 2, átomos de carbono son reemplazados cada uno, independientemente unos de los otros, por un heteroátomo seleccionado de entre N, O y S.

Según un modo de realización particular de la invención, R₁ y R₂ forman juntos con el átomo de nitrógeno que los lleva un heterociclo de 5 o 6 eslabones que comprende por lo menos uno, preferentemente uno o dos, heteroátomos suplementarios, en particular uno o dos átomos de nitrógeno (N), grupo C=O, grupo arilo, en particular fenilo, o grupo heteroarilo, en particular piridina.

Preferentemente, R₁ y R₂ forman juntos con el átomo de nitrógeno que los lleva un heterociclo de fórmula (II) o (III) siguiente:



(II)



(III)

en el que R_{27} representa un átomo de hidrógeno o un grupo COR_3 o SO_2R_4 , siendo R_3 y R_4 tales como los definidos en la reivindicación 1, en particular R_{27} representa un átomo de hidrógeno.

Según otro modo de realización particular de la invención:

- R_1 y R_2 , idénticos o diferentes, representan un átomo de hidrógeno o un grupo COR_3 , SO_2R_4 o $CONR_5R_6$; y
- R_3 , R_4 , R_5 y R_6 representan, independientemente unos de los otros, un átomo de hidrógeno o un grupo arilo, preferentemente un fenilo, o heteroarilo, tal como una piridina, estando dicho grupo opcionalmente sustituido por uno o varios grupos seleccionados de entre un átomo de halógeno, OR_7 , NR_8R_9 , SR_{10} , $S(O)R_{11}$, SO_2R_{12} , $SO_2NR_{13}R_{14}$, $OCOR_{15}$, $NR_{16}COR_{17}$, $NR_{18}C(O)OR_{19}$, CO_2R_{20} , $CONR_{21}R_{22}$, OCO_2R_{23} , $CONR_{24}R_{25}$, COR_{26} , nitro (NO_2), ciano (CN) y CF_3 , ventajosamente un átomo de halógeno, OR_7 , NR_8R_9 , SR_{10} , $S(O)R_{11}$, SO_2R_{12} , $OCOR_{15}$, CO_2R_{20} , OCO_2R_{23} , COR_{26} , nitro (NO_2), ciano (CN) y CF_3 , ventajosamente un átomo de halógeno, OR_7 , NR_8R_9 , SO_2R_{12} , y CF_3 ; siendo R_7 a R_{26} tales como los definidos anteriormente.

Preferentemente:

- R_1 y R_2 , idénticos o diferentes, representan un átomo de hidrógeno o un grupo COR_3 , SO_2R_4 o $CONR_5R_6$;
- R_3 , R_4 , y R_5 representan, independientemente unos de los otros, un grupo arilo, preferentemente un fenilo, opcionalmente sustituido por un átomo de halógeno, OR_7 , NR_8R_9 , SR_{10} , $S(O)R_{11}$, SO_2R_{12} , $SO_2NR_{13}R_{14}$, $OCOR_{15}$, $NR_{16}COR_{17}$, $NR_{18}C(O)OR_{19}$, CO_2R_{20} , $CONR_{21}R_{22}$, OCO_2R_{23} , $CONR_{24}R_{25}$, COR_{26} , nitro (NO_2), ciano (CN) y CF_3 , ventajosamente un átomo de halógeno, OR_7 , NR_8R_9 , SR_{10} , $S(O)R_{11}$, SO_2R_{12} , $OCOR_{15}$, CO_2R_{20} , OCO_2R_{23} , COR_{26} , nitro (NO_2), ciano (CN) y CF_3 , ventajosamente un átomo de halógeno, OR_7 , NR_8R_9 , SO_2R_{12} , y CF_3 , siendo R_7 a R_{26} tales como los definidos anteriormente; y
- R_6 representa un átomo de hidrógeno.

Preferentemente, R_1 es un átomo de hidrógeno y R_2 representa un grupo COR_3 , SO_2R_4 o $CONR_5R_6$, siendo R_3 , R_4 , R_5 y R_6 tales como los definidos anteriormente.

Según otro modo de realización preferido de la invención, R_1 es un átomo de hidrógeno y R_2 representa un grupo COR_3 , siendo R_3 un arilo, preferentemente un fenilo, opcionalmente sustituido por un grupo seleccionado de entre un átomo de halógeno, OR_7 , NR_8R_9 , SR_{10} , $S(O)R_{11}$, SO_2R_{12} , $SO_2NR_{13}R_{14}$, $OCOR_{15}$, $NR_{16}COR_{17}$, $NR_{18}C(O)OR_{19}$, CO_2R_{20} , $CONR_{21}R_{22}$, OCO_2R_{23} , $CONR_{24}R_{25}$, COR_{26} , nitro (NO_2), ciano (CN) y CF_3 , ventajosamente un átomo de halógeno, OR_7 , NR_8R_9 , SR_{10} , $S(O)R_{11}$, SO_2R_{12} , $OCOR_{15}$, CO_2R_{20} , OCO_2R_{23} , COR_{26} , nitro (NO_2), ciano (CN) y CF_3 , ventajosamente un átomo de halógeno, OR_7 , NR_8R_9 , SO_2R_{12} , y CF_3 , ventajosamente un átomo de halógeno, SO_2CH_3 , y CF_3 , siendo R_7 a R_{26} tales como los definidos anteriormente.

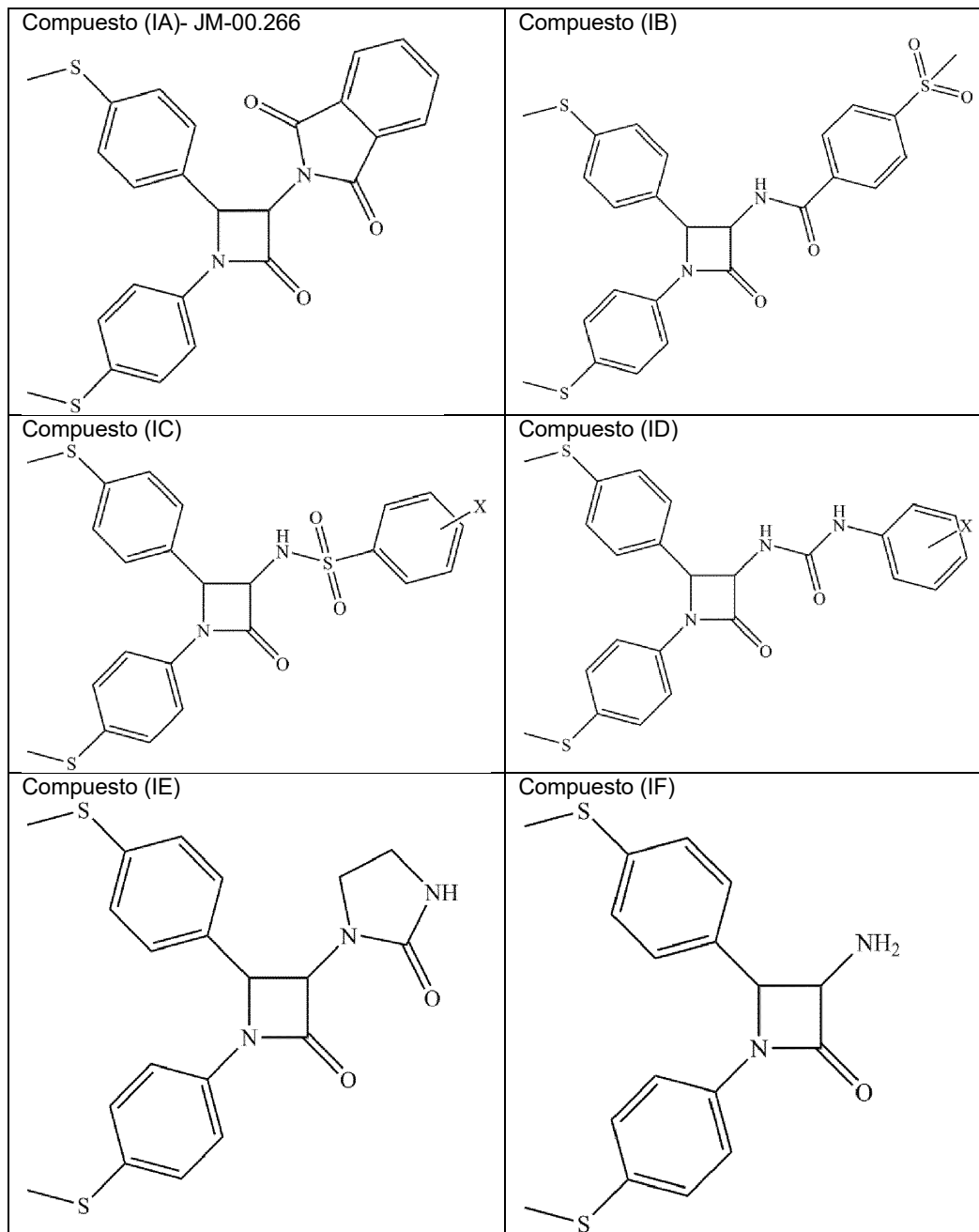
Según otro modo de realización particular de la invención, R_1 es un átomo de hidrógeno y R_2 representa un grupo SO_2R_4 , siendo R_4 un arilo, preferentemente un fenilo, opcionalmente sustituido por un grupo seleccionado de entre un átomo de halógeno, OR_7 , NR_8R_9 , SR_{10} , $S(O)R_{11}$, SO_2R_{12} , $SO_2NR_{13}R_{14}$, $OCOR_{15}$, $NR_{16}COR_{17}$, $NR_{18}C(O)OR_{19}$, CO_2R_{20} , $CONR_{21}R_{22}$, OCO_2R_{23} , $CONR_{24}R_{25}$, COR_{26} , nitro (NO_2), ciano (CN) y CF_3 , ventajosamente un átomo de halógeno, OR_7 , NR_8R_9 , SR_{10} , $S(O)R_{11}$, SO_2R_{12} , $OCOR_{15}$, CO_2R_{20} , OCO_2R_{23} , COR_{26} , nitro (NO_2), ciano (CN) y CF_3 , ventajosamente un átomo de halógeno, OR_7 , NR_8R_9 , SO_2R_{12} , y CF_3 , ventajosamente un átomo de halógeno, SO_2CH_3 , y CF_3 , siendo R_7 a R_{26} tales como los definidos anteriormente.

Según otro modo de realización particular de la invención, R_1 es un átomo de hidrógeno y R_2 representa un grupo $CONR_5R_6$, siendo R_6 un átomo de hidrógeno y siendo R_5 un arilo, preferentemente un fenilo, opcionalmente sustituido por un grupo seleccionado de entre un átomo de halógeno, OR_7 , NR_8R_9 , SR_{10} , $S(O)R_{11}$, SO_2R_{12} , $SO_2NR_{13}R_{14}$, $OCOR_{15}$, $NR_{16}COR_{17}$, $NR_{18}C(O)OR_{19}$, CO_2R_{20} , $CONR_{21}R_{22}$, OCO_2R_{23} , $CONR_{24}R_{25}$, COR_{26} , nitro (NO_2), ciano (CN) y CF_3 , ventajosamente un átomo de halógeno, OR_7 , NR_8R_9 , SR_{10} , $S(O)R_{11}$, SO_2R_{12} , $OCOR_{15}$, CO_2R_{20} , OCO_2R_{23} , COR_{26} , nitro (NO_2), ciano (CN) y CF_3 , ventajosamente un átomo de halógeno, OR_7 , NR_8R_9 , SO_2R_{12} , y CF_3 , ventajosamente un átomo de halógeno, SO_2CH_3 , y CF_3 , siendo R_7 a R_{26} tales como los definidos

anteriormente.

Los compuestos de la presente invención se podrán seleccionar más preferentemente de entre los compuestos IA a IF descritos a continuación, y sus sales y/o solvatos farmacéuticamente aceptables:

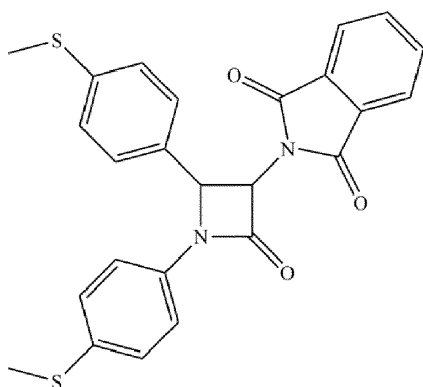
5



en los que X representa un átomo de hidrógeno, un halógeno o CF₃.

Según un modo de realización más particularmente preferido de la invención, el compuesto de fórmula (I) según la invención es el compuesto de fórmula (IA):

10



(IA)

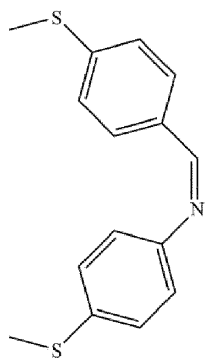
o una sal y/o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 La presente descripción tiene asimismo por objeto unos procedimientos de preparación de los compuestos de fórmula (I) según la invención.

Un procedimiento de preparación de un compuesto de fórmula (I) según la invención comprende las etapas siguientes:

10

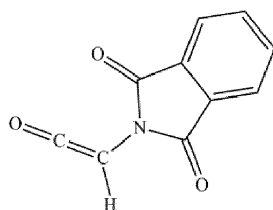
(i) condensación del 4-metiltiobenzaldehído con la 4-metiltioanilina para obtener el compuesto de fórmula (IV) siguiente:



(IV) ;

15

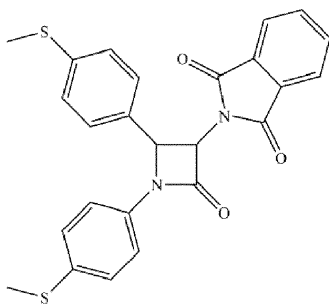
(ii) cicloadición de Staudinger entre el compuesto de fórmula (IV) obtenido y un ceteno de fórmula (V) siguiente:



(V)

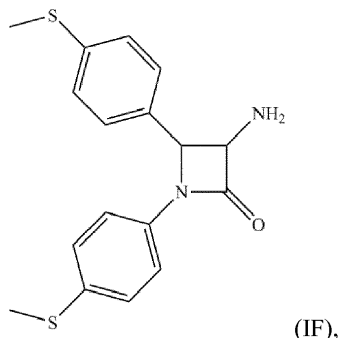
20

para obtener el compuesto de fórmula (IA) siguiente:



(IA) ;

(iii) opcionalmente, desprotección de la función amina ftaloilada del compuesto de fórmula (IA), preferentemente por la acción de la metilhidrazina, para obtener el compuesto de fórmula (IF) siguiente:

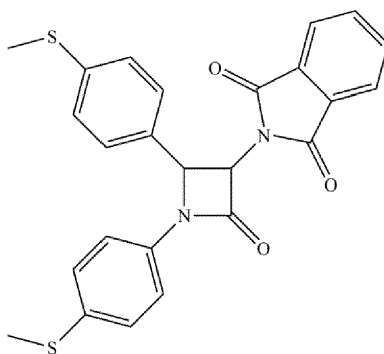


y después, opcionalmente, acoplamiento del compuesto de fórmula (IF) así obtenido con un compuesto de fórmula R_1-X y/o R_2-X' , en la que R_1-X y R_2-X' son unas formas activadas, tales como unos cloruros de acilos, cloruros de sulfonilos e isocianatos de arilos, unos grupos R_1 y R_2 tales como los definidos anteriormente; y

(iv) recuperación del compuesto obtenido en la etapa (ii) o en la etapa (iii).

A título de ejemplo de cloruros de acilos en la etapa (ii), se puede utilizar según un modo particular el cloruro de ftaloilglicínico.

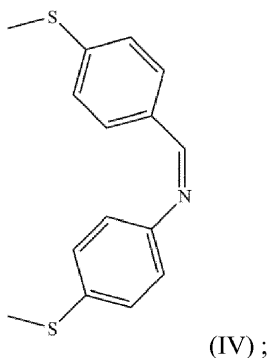
Según un modo de realización preferido, el procedimiento de la invención prevé preparar un compuesto de fórmula (IA):



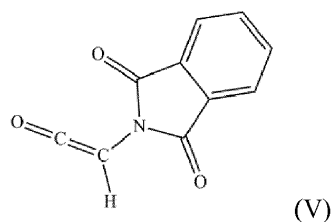
que corresponde a un compuesto de fórmula (I) en la que R_1 y R_2 forman juntos con el átomo de nitrógeno que los lleva un heterociclo de fórmula (II).

Este procedimiento comprende las etapas siguientes:

(i) condensación del 4-metilbenzaldehído con la 4-metiltoanilina para obtener el compuesto de fórmula (IV) siguiente:



- (ii) cicloadición de Staudinger entre el compuesto de fórmula (IV) obtenido en la etapa (i) y un ceteno de fórmula (V) siguiente:



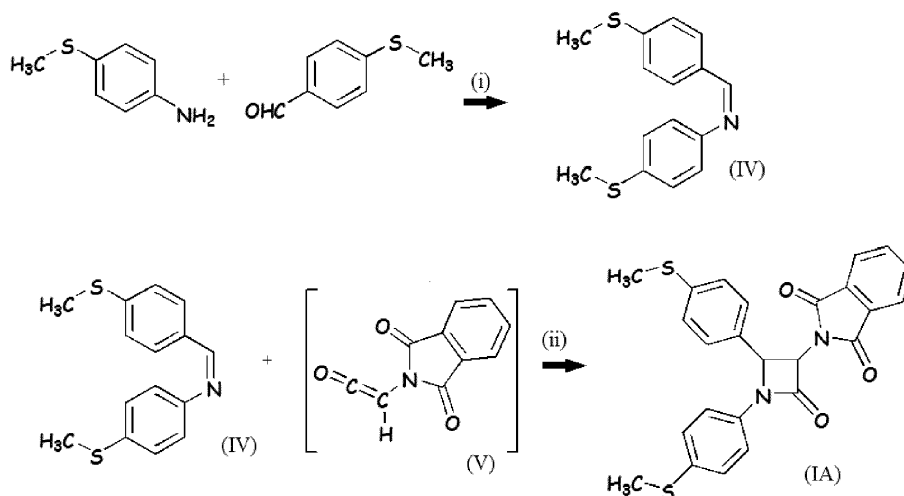
y después recuperación del compuesto de fórmula (IA).

La reacción de condensación (deshidratación intermolecular) se realizará ventajosamente en presencia de un disolvente, tal como el tolueno, y de un agente de fijación del agua producida durante la reacción, tal como el sulfato de sodio anhidro.

La cicloadición de Staudinger, también denominada cicloadición [2+2] ceteno-imina, es una reacción química conocida por el experto en la materia. Esta reacción se puede realizar en dicloroetano (DCE), a temperatura ambiente y bajo atmósfera inerte tal como bajo nitrógeno o bajo argón, preferentemente bajo nitrógeno.

El ceteno (V) podrá ser generado ventajosamente *in situ* por la acción de una base tal como la trietilamina (TEA) sobre el cloruro de ácido de la ftaloilglicina. Este cloruro de ácido podrá ser obtenido mediante unos procedimientos conocidos por el experto en la materia, en particular o bien de manera externa por la acción del cloruro de tionilo sobre la *N*-ftaloilglicina comercial, o bien directamente en el medio de reacción por medio de un agente de acoplamiento, tal como el diclorofosfato de fenilo en presencia de un aceptor de protones tal como la trietilamina.

Dicho procedimiento se ilustra con mayor detalle en el esquema 1 siguiente.

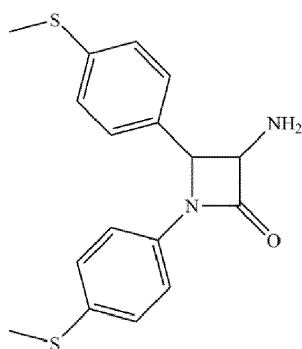


Esquema 1

Este procedimiento permite así obtener el compuesto (IA) que podrá servir como reactivo de partida en el procedimiento de preparación de los otros compuestos de fórmula (I).

La presente invención se refiere asimismo a un procedimiento de preparación de los compuestos de fórmula (I), utilizando como producto de partida el compuesto de fórmula (IA) y comprendiendo las etapas siguientes:

- (i) condensación del 4-metiltiobenzaldehído con la 4-metiltioanilina para obtener el compuesto de fórmula (IV);
- (ii) cicloadición de Staudinger entre el compuesto de fórmula (IV) obtenido en la etapa (i) y un ceteno de fórmula (V);
- (iii) desprotección de la función amina ftaloilada del compuesto de fórmula (IA) obtenido en la etapa (ii), preferentemente por la acción de la metilhidrazina, para obtener el compuesto de fórmula (IF) siguiente:



(IF) ;

y después, opcionalmente, acoplamiento del compuesto de fórmula (IF) así obtenido con un compuesto de fórmula R_1-X y/o R_2-X' , en la que R_1-X y R_2-X' son unas formas activadas, tales como unos cloruros de acilos, cloruros de sulfonilos e isocianatos de arilos, unos grupos R_1 y R_2 tales como los definidos anteriormente; y

(iv) recuperación del compuesto obtenido en la etapa (iii).

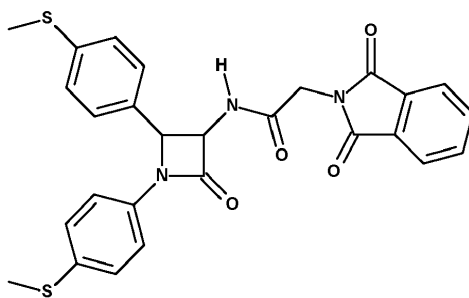
A título de ejemplo de cloruros de acilos en la etapa (ii), se puede utilizar según un modo particular el cloruro de ftaloilglicínico.

Según un modo particular, el procedimiento de preparación de los compuestos de fórmula (I), que utiliza como material de partida el compuesto de fórmula (IA) puede comprender las etapas siguientes:

(i) condensación del 4-metiltiobenzaldehído con la 4-metiltioanilina para obtener el compuesto de fórmula (IV)

(ii) cicloadición de Staudinger entre el compuesto de fórmula (IV) obtenido en la etapa (i) y un ceteno de fórmula (V) obtenido *in situ*, por medio de un agente de acoplamiento, tal como el diclorofosfato de fenilo en presencia de un aceptor de protones tal como la trietilamina;

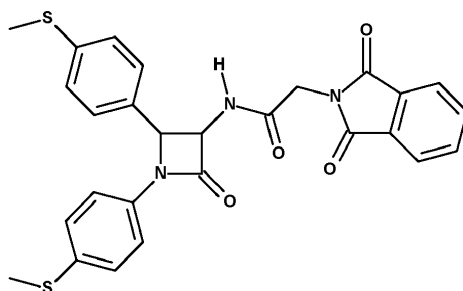
(iii) desprotección de la función amina ftaloilada del compuesto de fórmula (IA) obtenido en la etapa (ii), preferentemente por la acción de la metilhidrazina, para obtener el compuesto de fórmula (IF), y después, opcionalmente, acoplamiento, por medio de un agente de acoplamiento tal como el diclorofosfato de fenilo en presencia de un aceptor de protones tal como la trietilamina, del compuesto de fórmula (IF) así obtenido con una N-ftaloilglicina para obtener un derivado de fórmula



(IG), y

(iv) recuperación del compuesto obtenido en la etapa (ii) o en la etapa (iii).

Otro objeto de la invención se refiere así a un derivado/análogo del compuesto (IA) de fórmula (IG):



(IG),

o a una sal y/o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 La reacción de desprotección de la función amina ftaloilada del compuesto (IA) es una reacción típica, bien conocida por el experto en la materia. Esta desprotección se realizará ventajosamente por la acción del hidrato de hidrazina o de la metilhidrazina, preferentemente de la metilhidrazina, sobre el compuesto (IA), preferentemente en diclorometano. Esta reacción permite obtener el compuesto (IF) que corresponde a un compuesto de fórmula (I) en la que R_1 y R_2 representa cada uno un átomo de hidrógeno.

10 Según un modo de realización particular, el compuesto (IF) es recuperado directamente, sin que tenga lugar la reacción de acoplamiento.

15 Según otro modo de realización particular, el compuesto (IF) se utiliza en la continuación del procedimiento como intermedio de síntesis para preparar los compuestos de fórmula (I) distintos del compuesto (IA).

Por lo tanto, la presente invención tiene asimismo por objeto el compuesto (IF) como intermedio de síntesis de los compuestos de fórmula (I) distintos del compuesto (IA).

20 La reacción de acoplamiento se podrá realizar en unas condiciones experimentales bien conocidas por el experto en la materia, ventajosamente a temperatura ambiente en presencia de un disolvente, tal como el dicloroetano, y de una base, tal como la trietilamina (TEA).

25 Por "forma activada" de un grupo químico, se entiende, en el sentido de la presente invención, dicho grupo químico modificado de manera que se vuelva más activo con respecto a los nucleófilos. Estas formas activadas son bien conocidas por el experto en la materia y pueden ser en particular un cloruro de acilo, un cloruro de sulfonilo o un isocianato de arilo. Como ejemplo de cloruro de acilo, se puede utilizar en particular el cloruro de ftaloilglicinilo.

30 Los procedimientos descritos anteriormente podrán ser completados, llegado el caso, por cualquier manipulación estándar descrita en la bibliografía, conocida por el experto en la materia o ejemplificada también en la parte experimental, en particular mediante unas reacciones de funcionalización, de ciclización y/o de protección/desprotección adicionales.

35 Se podrán realizar una o unas etapas adicionales de salificación y/o de solvatación al final de estos dos procedimientos con el fin de obtener una sal y/o solvato farmacéuticamente aceptable del compuesto de fórmula (I).

40 La etapa de salificación se podrá realizar en unas condiciones bien conocidas por el experto en la materia, en presencia de un ácido o de una base farmacéuticamente aceptable.

Cuando el compuesto de fórmula (I) se encuentra en forma solvatada, esta solvatación tiene lugar generalmente en la última etapa del procedimiento, siendo en este caso el disolvente de la forma solvatada el disolvente del medio de reacción.

45 El compuesto de fórmula (I) obtenido mediante uno de estos dos procedimientos mencionados anteriormente podrá ser separado del medio de reacción mediante unos procedimientos bien conocidos por el experto en la materia, como por ejemplo por extracción, evaporación del disolvente o también por precipitación y filtración.

50 El compuesto de fórmula (I) podrá ser purificado por otro lado si es necesario mediante unas técnicas bien conocidas por el experto en la materia, como por recristalización si el compuesto es cristalino, por destilación, por cromatografía sobre columna sobre gel de sílice o también por cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC).

55 Los inventores han puesto en evidencia la actividad agonista inversa de los compuestos de la invención contra los receptores endocannabinoides CB1 periféricos, y su interés en el tratamiento o prevención de patologías asociadas a una hiperactividad del sistema endocanabinoide.

Otro objeto de la invención se refiere así a la utilización *in vitro* de por lo menos un compuesto de fórmula (I) tal como el definido anteriormente como agonista inverso de los receptores endocannabinoides CB1 periféricos, preferentemente como agonista inverso selectivo de dichos receptores. En otras palabras, la invención se refiere a la utilización de por lo menos un compuesto de fórmula (I) para reducir o inhibir la actividad de los receptores endocannabinoides CB1 periféricos, preferentemente de manera selectiva.

Por "agonista inverso" se entiende en la presente memoria un compuesto que interactúa con el mismo receptor que un agonista natural de este receptor pero produce el efecto farmacológico opuesto, y reduce, o incluso inhibe, la actividad de dicho receptor, en particular su actividad basal. Un agonista inverso es capaz de unirse a un sitio de fijación diferente del agonista natural provocando un cambio de conformación del receptor e impidiendo así la fijación del agonista natural. En el contexto de la presente invención, los agonistas naturales son los endocannabinoides.

Por "agonista inverso selectivo" se entiende en la presente memoria un agonista inverso tal como el definido anteriormente, que se fija preferentemente sobre un tipo único de receptor, sin afectar o afectar mínimamente a otros receptores, en particular a los receptores relacionados. En el contexto de la presente invención, el compuesto de fórmula (I) según la invención es un agonista inverso que actúa selectivamente sobre los receptores endocannabinoides CB1, es decir, que se une preferentemente a dichos receptores, pero que no se fija o se fija muy débilmente a los receptores endocannabinoides CB2.

Por "receptores endocannabinoides CB1" o "receptores CB1" se entiende en la presente memoria los receptores con siete dominios transmembranarios acoplados a proteínas G, en particular acoplados a Gi/o sensible a la toxina pertúsica y a las proteínas Gq y Gs, capaces de interactuar con los cannabinoides endógenos y exógenos y de actuar así principalmente sobre por lo menos una de las tres vías de señalización intracelulares que constituyen el adenilato ciclasa, la vía de las proteínas quinasas activadas por unos agentes mitógenos (MAPK) y algunos canales iónicos. La actividad de los receptores CB1 puede así ser evaluada *in vitro* midiendo por ejemplo las concentraciones en AMPc tras la puesta en contacto de células con un agonista conocido de dichos receptores, tal como la anandamida (AEA), disminuyendo estas concentraciones tras la unión de este endocanabinoide a los receptores; dicha prueba se describe en los ejemplos que se describen a continuación. En el ser humano, el receptor endocanabinoide CB1 está codificado por el gen *Cnr1*, que está localizado en el cromosoma 6 en 6q14-q15 (Hoehe *et al.*, 1991), y se presenta en dos isoformas: CB1, que es la isoforma principal de 472 aminoácidos y fisiológicamente activa, y CB1A, que es una isoforma más corta (411 aminoácidos) y cuya expresión es significativamente más baja que la de CB1 (de 1/10 a 1/100 según el sitio de expresión tisular) (Rinaldi-Carmona *et al.*, 1996). En la actualidad, el receptor CB1 ha sido identificado asimismo en la rata, el ratón, el gato, las aves, los anfibios y los peces, y su secuencia proteica está muy conservada en los vertebrados.

La expresión "receptores endocannabinoides CB1 periféricos" se refiere a los receptores CB1 tales como los definidos anteriormente, que no están localizados en el cerebro, es decir centralmente. Por consiguiente, esta expresión se utiliza en la presente memoria por oposición a los receptores CB1 denominados centrales, e incluye los receptores CB1 expresados, sin limitación, en el tejido adiposo, el hígado, los riñones, el sistema gastrointestinal, la vejiga, el músculo esquelético, los tejidos cardiovasculares, los testículos, el útero, el sistema inmunitario, el páncreas, las células de la retina, las células endoteliales, las glándulas suprarrenales, los pulmones, etc.

La invención tiene asimismo por objeto una composición farmacéutica que comprende como principio activo por lo menos un compuesto de fórmula (I) según la invención, y por lo menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Por "excipiente farmacéuticamente aceptable" se entiende en la presente memoria un compuesto de calidad farmacéutica que mejora el suministro, la estabilidad o la biodisponibilidad de un agente activo, y que puede ser metabolizado y es no tóxico para un sujeto al que se le administra. Unos excipientes preferidos según la invención comprenden cualquiera de los excipientes utilizados habitualmente en los productos farmacéuticos, tales como la celulosa microcristalina, la lactosa, el almidón y el polvo de soja.

Dicho compuesto de fórmula (I) está presente preferentemente en la composición según la invención en una cantidad suficiente para inhibir la actividad de los receptores CB1 periféricos, más particularmente en el marco de un tratamiento profiláctico o terapéutico de una patología asociada a una hiperactividad del sistema endocanabinoide. Las patologías en cuestión se describen más particularmente a continuación.

Preferentemente, la composición de la invención comprende entre el 0,01% y el 10%, preferentemente entre el 0,02% y el 5%, de manera más preferida entre el 0,05% y el 1% en peso de la composición de uno o varios compuestos de fórmula (I) según la invención.

La composición según la invención puede presentarse en cualquier forma galénica aceptable en el contexto de la presente invención. Por ejemplo, la composición puede estar en una forma adaptada para la administración oral, sublingual, subcutánea, intramuscular, intravenosa, tópica, local, intratraqueal, intranasal, transdérmica o rectal. La forma más preferida de la composición farmacéutica es la vía oral y sólida, preferentemente en forma de

cápsulas o de comprimidos.

La composición descrita puede comprender además uno o varios agentes terapéuticos, destinados por ejemplo a prevenir o a tratar una patología asociada a una hiperactividad del sistema endocannabinoide. El experto en la materia puede determinar fácilmente el agente terapéutico susceptible de ser asociado al compuesto de fórmula (I) de la invención, en función de la patología que se debe prevenir o tratar. A título de ilustración, cuando la patología que se debe prevenir o tratar es la diabetes y sus complicaciones, y/o los trastornos metabólicos asociados a la obesidad, dicho agente puede ser seleccionado de entre un hipolipemiante, un hipocolesterolemiante, un antidiabético, y/o un agente antiobesidad. Los hipolipemiantes e hipocolesterolemiantes según la invención incluyen, sin limitación, los fibratos tales como alufibrato, beclobrato, bezafibrato, ciprofibrato, clinofibrato, clofibrato, etofibrato, fenofibrato; las estatinas (inhibidores de HMG-CoA reductasa), tales como atorvastatina, fluvastatina sódica, lovastatina, pravastatina, rosuvastatina, simvastatina, o un compuesto tal como acipimox, nicotinato de aluminio, azacosterol, colestiramina, dextrotiroxina, meglutol, niceritrol, nicoclonato, ácido nicotínico, beta-sitosterina, y tiadenol. Los antidiabéticos según la invención comprenden, sin limitación, las sulfonilureas, las biguanidinas, los inhibidores de alfa-glucosidasa, las tiazolidindionas, las metiglinidas tal como acarbose, acetohexamida, carbutamida, clorpropamida, glibenclamida, glibornurida, gliclazida, glimepirida, glipizida, gliquidona, glisoxepida, glibuzol, glimidina, metahexamida, metformina, miglitol, nateglinida, pioglitazona, repaglinida, rosiglitazona, tolazamida, tolbutamida, y voglibosa.

El agente terapéutico tal como el descrito anteriormente puede ser administrado asimismo en combinación con el compuesto de fórmula (I) según la invención de manera simultánea, separada o espaciada en el tiempo. Cuando el compuesto según la invención y el agente terapéutico son administrados de manera separada o espaciada en el tiempo, estos pueden ser administrados entonces en unas formas farmacéuticamente distintas.

Otro objeto de la invención se refiere así a un compuesto de fórmula (I) según la invención y a un agente terapéutico destinados a prevenir o a tratar una patología asociada a una hiperactividad del sistema endocannabinoide, como preparación combinada para una administración simultánea, separada o espaciada en el tiempo. En otras palabras, la invención se refiere a una utilización combinada del compuesto de fórmula (I) según la invención y de un agente terapéutico tal como el descrito anteriormente para la administración simultánea, separada o espaciada en el tiempo.

La invención tiene asimismo por objeto el compuesto de fórmula (I) o la composición farmacéutica tal como el definido anteriormente, para su utilización como medicamento. En otras palabras, la invención se refiere a la utilización de dicho compuesto de fórmula (I) o de dicha composición farmacéutica como medicamento.

La invención se refiere más particularmente al compuesto de fórmula (I) o la composición farmacéutica tal como el definido anteriormente para su utilización en la prevención o el tratamiento de patologías asociadas a una hiperactividad del sistema endocannabinoide. En otras palabras, la invención se refiere a la utilización de dicho compuesto de fórmula (I) o de dicha composición farmacéutica para la fabricación de un medicamento destinado a prevenir o a tratar unas patologías asociadas a una hiperactividad del sistema endocannabinoide. Más específicamente, la invención se refiere a un procedimiento de prevención o de tratamiento de patologías asociadas a una hiperactividad del sistema endocannabinoide, que comprende una etapa de administración de una cantidad eficaz del compuesto de fórmula (I) o de la composición según la invención en un sujeto que lo necesite.

Tal como se utiliza en la presente memoria, los términos "prevención" (o "prevenir") y "tratamiento" (o "tratar") significan generalmente la obtención de un efecto fisiológico o farmacológico deseado en función del grado de gravedad de los síntomas o de la enfermedad de interés. El efecto puede ser profiláctico en términos de prevención parcial o completa de los síntomas o enfermedad ("prevención"), o terapéutico en términos de curación parcial o completa de los síntomas o enfermedad ("tratamiento"). El término "prevención" incluye la capacidad de evitar o retrasar la aparición o el desarrollo de los síntomas o de una enfermedad antes de su aparición. El término "tratamiento" comprende por su parte la inhibición de los síntomas o de la enfermedad (es decir, la detención de su desarrollo), y el alivio de los síntomas o de la enfermedad (es decir, remisión que conduce a una mejoría). En el contexto de la presente invención, la prevención prevé evitar o retrasar la aparición de una hiperactividad del sistema endocannabinoide, mientras que el tratamiento conduce a detener y/o a hacer remitir dicha hiperactividad. Se entiende que dicho tratamiento o dicha prevención se refiere en este caso preferentemente a los sujetos provistos de un sistema cannabinoide endógeno, a saber, el ser humano y el animal.

La cantidad eficaz de compuesto de fórmula (I) que se debe administrar a un sujeto afectado por una hiperactividad del sistema endocannabinoide puede ser determinada fácilmente por el experto en la materia. Típicamente, una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente activo está comprendida entre aproximadamente 10 mg por día y aproximadamente 1000 mg por día, preferentemente entre 10 mg y 100 mg por día.

Por "hiperactividad del sistema endocannabinoide" se entiende en la presente memoria una desregulación del sistema endocannabinoide que se traduce en el sujeto afectado por una sobreexpresión y/o sobreactividad de los receptores endocannabinoides CB1 y/o CB2, y/o por una sobreexpresión y/o sobreactividad de las enzimas que

metabolizan los endocannabinoides, y/o por una tasa anormalmente elevada de endocannabinoides (por ejemplo, 2AG y/o anandamida) tras una interrupción de su vía de síntesis. En el marco de la presente invención, dicha hiperactividad está mediada preferentemente por los receptores CB1, e implica más particularmente a los receptores CB1 periféricos (en asociación o no con los receptores CB2). Por lo tanto, esta hiperactividad está presente preferentemente en los tejidos en los que se expresan los receptores CB1 periféricos. El experto en la materia es capaz de identificar las patologías asociadas a una hiperactividad del sistema endocannabinoide, mediada preferentemente por los receptores CB1.

Dichas patologías se seleccionan de entre la obesidad y los trastornos metabólicos asociados a la obesidad (Di Marzo *et al.*, 2005; Blüher *et al.*, 2006; Côté *et al.*, 2007; la resistencia a la insulina (Song *et al.*, 2011; Eckardt *et al.*, 2009), preferentemente los trastornos metabólicos asociados a la obesidad; la diabetes, preferentemente de tipo II, y las complicaciones asociadas (Matias *et al.*, 2006; Jensen, 2006); la esteatosis hepática, alcohólica o no alcohólica (Osei-Hyamann *et al.*, 2005; Osei-Hyamann *et al.*, 2008; Jeong *et al.*, 2008); la fibrosis hepática (Teixeira-Clerc *et al.*, 2006); la cirrosis; la fibrosis renal (Lecru *et al.*, 2015); la nefropatía (Jourdan *et al.*, 2012); las cardiomiopatías (Montecucco y Di Marzo, 2012; Rajesh *et al.*, 2012; Slavic *et al.*, 2013; Schaich *et al.*, 2014; Pacher y Kunos, 2013); la gastroparesia (Izzo y Sharkey, 2010); la pérdida de hueso y/o de cartílago relacionada por ejemplo con la osteoporosis o con la periodontitis (Tam *et al.*, 2008); la pérdida de músculo, que es por ejemplo consecuencia de un traumatismo, o de origen natural (relacionada con la vejez) o genética, tal como las distrofias musculares (por ejemplo la miopatía de Duchenne, etc.) (Iannotti *et al.*, 2014); y los trastornos de la fertilidad relacionados por ejemplo con una baja motilidad y/o viabilidad de los espermatozoides o con un defecto de la nidación del ovocito (Amoako *et al.*, 2014).

De manera más preferida, dichas patologías se seleccionan de entre la obesidad y los trastornos metabólicos que están asociados a la obesidad, y la gastroparesia. Más preferentemente, dichas patologías se seleccionan de entre los trastornos metabólicos asociados a la obesidad, y la gastroparesia.

Entre los trastornos metabólicos asociados a la obesidad, se pueden citar, sin limitación, la resistencia a la insulina, la intolerancia a la glucosa, las dislipidemias tales como la hipertrigliceridemia y la hipercolesterolemia, la prediabetes y la esteatosis hepática.

Entre las complicaciones asociadas a la diabetes, se pueden citar, sin limitación, las enfermedades oculares tales como las retinopatías diabéticas, los edemas oculares y el glaucoma, que pueden conducir a la pérdida de la vista; las enfermedades renales tales como la insuficiencia renal, la nefropatía diabética y la glomerulopatía diabética; las angiopatías tales como las micro y macroangiopatías, las coronopatías y arteriopatías periféricas; la esteatosis hepática; las enfermedades cardiovasculares; la disfunción eréctil; la gastroparesia diabética; las enfermedades neurológicas tales como las neuropatías diabéticas, las neuropatías periféricas y las neuropatías cardíacas autónomas.

Preferentemente, el tratamiento de la obesidad y/o de los trastornos metabólicos de la obesidad podrá estar asociado a un agente antiobesidad, a un agente hipolipemiante, a un agente hipocolesterolemiante o incluso a un antidiabético, tales como los descritos anteriormente, y/o a una dieta alimenticia que permita reducir la ingesta de calorías, en particular una dieta alimenticia normocalórica equilibrada, y facilitar así la pérdida de peso concomitantemente con la mejora de la sensibilidad a la insulina, de la tolerancia a la glucosa y de la lipidemia mediada por el compuesto de fórmula (I) según la invención.

Por "dieta alimenticia normocalórica equilibrada", se designa en la presente memoria una dieta alimenticia cuya composición respeta las proporciones de glúcidos/lípidos/proteínas recomendadas por la ANSES (respectivamente 50-55%/35-40%/10-30%). El experto en la materia sabrá adaptar así la dieta alimenticia normocalórica equilibrada que se debe utilizar para el sujeto a tratar en función de su género, peso, tamaño, edad y/o estado de salud.

Así, según un modo de realización preferido de la invención, en particular para prevenir y/o tratar la obesidad y/o los trastornos metabólicos que le están asociados, el sujeto es sometido a una dieta alimenticia normocalórica equilibrada.

De manera más preferida, dicho sujeto es sometido a una dieta alimenticia normocalórica equilibrada, simultáneamente con la administración del compuesto de fórmula (I) o de la composición farmacéutica según la invención.

Según otro modo de realización preferido, la administración del compuesto de fórmula (I) o de la composición farmacéutica según la invención se realiza antes y/o durante la o las comidas del sujeto. Este modo de realización puede estar combinado o no con una dieta alimenticia equilibrada normocalórica tal como la descrita anteriormente. Por "antes de la o las comidas" se entiende en la presente memoria que la administración del compuesto de fórmula (I) o de la composición farmacéutica según la invención se efectúa como máximo 30 minutos antes de la comida, preferentemente como máximo 15 minutos antes de la comida y más preferentemente justo antes de la comida.

Según los datos experimentales presentados a continuación, el experto en la materia comprenderá fácilmente que

el compuesto de fórmula (I) según la invención puede ser utilizado asimismo con fines únicamente estéticos, en particular para favorecer la pérdida de peso.

5 Así, en otro aspecto, la invención se refiere a una utilización no terapéutica del compuesto de fórmula (I) de la invención para favorecer y/o acelerar la pérdida de peso, o para ralentizar y/o atenuar el aumento de peso, en un sujeto.

10 En otras palabras, la invención se refiere a un procedimiento no terapéutico para favorecer y/o acelerar la pérdida de peso, o para ralentizar y/o atenuar el aumento de peso en un sujeto, comprendiendo dicho procedimiento una etapa de administración de una cantidad eficaz del compuesto de la invención a dicho sujeto.

15 La utilización prevista en la presente memoria está exenta de efectos terapéuticos (secundarios), es decir, se trata de una utilización no para la prevención o el tratamiento de una enfermedad o de uno de sus síntomas, sino solamente para mejorar el aspecto estético de una persona. El sujeto sobre el cual se practica el presente procedimiento no terapéutico es así preferentemente un sujeto que no sufre una hiperactividad del sistema endocannabinoide, tal como la obesidad, y/o un sujeto con buena salud (es decir, individuo sano). Según un modo particular, el sujeto puede tener sobrepeso con respecto a su tamaño pero no ser obeso.

20 En el marco de esta utilización, la cantidad eficaz del compuesto de fórmula (I) que se debe administrar al sujeto puede ser determinada fácilmente por el experto en la materia. Típicamente, una cantidad eficaz está comprendida entre 10 mg por día y aproximadamente 1000 mg por día, preferentemente entre 10 mg y 100 mg por día.

25 Según un modo de realización preferido, dicho sujeto es sometido a una dieta alimenticia normocalórica equilibrada.

De manera preferida, dicho sujeto es sometido a dicha dieta alimenticia normocalórica equilibrada, simultáneamente con la administración del compuesto de fórmula (I) según la invención.

30 Según otro modo de realización preferido, la administración del compuesto de fórmula (I) se efectúa antes y/o durante la o las comidas del sujeto. Este modo de realización puede estar combinado o no con una dieta normocalórica equilibrada como la descrita anteriormente.

35 El compuesto de la invención puede ser utilizado asimismo en una composición destinada a favorecer el adelgazamiento.

Así, según otro aspecto, la invención se refiere a una composición no terapéutica, para favorecer y/o acelerar la pérdida de peso, o para ralentizar y/o reducir el aumento de peso, en un sujeto, comprendiendo dicha composición por lo menos un compuesto según la invención y por lo menos un excipiente aceptable.

40 Más precisamente, la invención se refiere a la utilización no terapéutica de dicha composición, para favorecer y/o acelerar la pérdida de peso, o para ralentizar y/o atenuar el aumento de peso, en un sujeto.

45 En otras palabras, la invención se refiere a un procedimiento no terapéutico para favorecer y/o acelerar la pérdida de peso, o para ralentizar y/o reducir el aumento de peso en un sujeto, comprendiendo dicho procedimiento una etapa de administración de una cantidad eficaz de dicha composición a dicho sujeto.

Dicho compuesto de fórmula (I) está presente preferentemente en esta composición en una cantidad suficiente para favorecer y/o acelerar la pérdida de peso, o para ralentizar y/o reducir el aumento de peso.

50 Preferentemente, dicha composición comprende entre 0,01% y 10%, preferentemente entre 0,02% y 5%, de manera más preferida entre 0,05% y 1% en peso de la composición de uno o varios compuestos de fórmula (I) según la invención.

55 Dicha composición puede presentarse en cualquier forma aceptable para una utilización no terapéutica tal como la descrita en la presente memoria. Por ejemplo, dicha composición puede estar en una forma adaptada para la administración oral, sublingual, tópica, local, etc. La forma más preferida de dicha composición está adaptada para la administración oral.

60 La composición no terapéutica según la invención puede estar en forma de un polvo, de una cápsula, de una pastilla, de un comprimido, de una píldora, de una bebida, de una solución, de un concentrado, de un jarabe, de una suspensión, de una ampolla líquida, o de una dispersión, y otras formas similares. Preferentemente, la composición alimenticia según la invención está en forma de comprimidos, polvo, cápsulas, píldoras y/o bebida.

65 Por "excipiente aceptable" se entiende en la presente memoria un compuesto susceptible de mejorar el suministro, la estabilidad o la biodisponibilidad de una composición (en este caso no terapéutica), y que puede ser metabolizada y es no tóxica para un sujeto al que se le administra. Unos excipientes preferidos según la invención

comprenden cualquiera de los excipientes utilizados habitualmente en los productos estéticos, cosméticos o dietéticos, tales como la celulosa microcristalina, la lactosa, el almidón, y el polvo de soja.

5 Según un modo de realización preferido, dicha composición no terapéutica comprende además por lo menos un agente capaz de favorecer y/o acelerar la pérdida de peso, o de ralentizar y/o atenuar el aumento de peso. Dicho agente, que se puede calificar en este caso como agente adelgazante, puede ser un agente antiobesidad, un agente hipolipemiente, un agente hipocolesterolemizante, o incluso un antidiabético, tales como los descritos anteriormente.

10 Otro aspecto de la invención se refiere a la utilización no terapéutica de la composición adelgazante de la invención para favorecer y/o acelerar la pérdida de peso, o para ralentizar y/o atenuar el aumento de peso, en un sujeto.

En otras palabras, la invención se refiere a un procedimiento no terapéutico para favorecer y/o acelerar la pérdida de peso, o para ralentizar y/o atenuar el aumento de peso en un sujeto, comprendiendo dicho procedimiento una
15 etapa de administración una cantidad eficaz de dicha composición a dicho sujeto.

Según un modo de realización preferido, dicho sujeto es sometido a una dieta alimenticia normocalórica equilibrada.

20 Preferentemente, dicho sujeto es sometido a dicha dieta alimenticia normocalórica equilibrada, simultáneamente con la administración de la composición no terapéutica según la invención.

Según otro modo de realización preferido, la administración de la composición no terapéutica se efectúa antes y/o durante la o las comidas del sujeto. Este modo de realización puede estar combinado o no con una dieta
25 normocalórica equilibrada como la descrita anteriormente.

El compuesto de la invención puede ser administrado asimismo en combinación con un agente adelgazante, y/o con una dieta alimenticia adelgazante, de manera simultánea, separada, o espaciada en el tiempo. Dicho agente puede ser un agente antiobesidad, un agente hipolipemiente, un agente hipocolesterolemizante, o incluso un
30 antidiabético, mientras que la dieta alimenticia puede ser una dieta alimenticia hipocalórica y/o hipolipídica.

Cuando el compuesto según la invención y el agente adelgazante son administrados de manera separada o espaciada en el tiempo, éstos pueden ser administrados entonces en unas formas distintas.

35 Así, otro objeto de la presente descripción se refiere a un compuesto de fórmula (I) según la invención y a un agente capaz de favorecer y/o acelerar la pérdida de peso, o de ralentizar y/o atenuar el aumento de peso como el descrito anteriormente, como preparación combinada para la administración simultánea, separada o espaciada en el tiempo. En otras palabras, la presente descripción se refiere a una utilización combinada del compuesto de fórmula (I) según la invención y de un agente capaz de favorecer y/o acelerar la pérdida de peso, o de ralentizar
40 y/o atenuar el aumento de peso tal como el descrito anteriormente para una administración simultánea, separada o espaciada a lo largo del tiempo.

Otro objeto de la invención es un procedimiento no terapéutico para favorecer y/o acelerar la pérdida de peso, o para ralentizar y/o atenuar el aumento de peso en un sujeto, comprendiendo dicho procedimiento la administración
45 de una cantidad eficaz del compuesto de fórmula (I) de la invención a dicho sujeto y la ingesta de una dieta alimenticia normocalórica equilibrada en dicho sujeto, de manera simultánea, separada, o espaciada en el tiempo.

Otro objeto de la descripción es un procedimiento no terapéutico para favorecer y/o acelerar la pérdida de peso, o para ralentizar y/o atenuar el aumento de peso en un sujeto, comprendiendo dicho procedimiento la administración,
50 a dicho sujeto, de una cantidad eficaz del compuesto de fórmula (I) según la invención y de un compuesto adelgazante tal como el descrito anteriormente, y la ingesta de una dieta alimenticia normocalórica equilibrada en dicho sujeto, de manera simultánea, separada, o espaciada en el tiempo.

La invención está ilustrada por los ejemplos no limitativos siguientes.

55 Descripción de las figuras

Figura 1. Expresión de los receptores CB1 en unos explantes de hígado de ratón ob/ob tratados 21 h con las moléculas JM-00.246, JM-02.003, JM-01.1006, JM-00.266 o JM-00.242.

60 Figura 2. Variaciones de AMPc en las células HEK293T/17 transfectadas por unos plásmidos pcDNA3.1-mCB1 (50 ng) y pGlo (100 ng) y sometidas a unas concentraciones crecientes de JM-02.003 (2A), JM-01.1006 (2B) y JM-00.266 (2C) en presencia o no de AEA.

65 Figura 3. Efecto de una inyección i.p. de JM-02.003 (M2) o JM-00.266 (M6) a 10 mg/kg sobre la tolerancia a la glucosa en el ratón salvaje (3A y 3B, respectivamente) o CB1R KO (3C y 3D, respectivamente).

Figura 4. Efecto de una inyección i.p. de vehículo o de JM-00.266 (M6) a 10 mg/kg sobre la concentración en insulina plasmática durante un "OGTT" (4A) y sobre la tolerancia a la insulina ("ITT"; 4B) en el ratón salvaje.

5 Figura 5. Efecto de una inyección i.p. de vehículo, de anandamida (AEA) o de AEA + JM-00.266 (M6) a 10 mg/kg sobre el tránsito gastrointestinal en el ratón salvaje.

10 Figura 6. Efecto de un tratamiento crónico de 30 días con el SR141716 (es decir, Rimonabant), el compuesto JM-00.266 (M6) o el vehículo sobre la ansiedad y la actividad motora de los ratones obesos determinado por la prueba de campo abierto ("open field") 6A: tiempo que pasa en el centro (en segundos); 6B: número de pasadas por el centro; 6C: distancia total recorrida (en cm).

15 Figura 7. Evolución de la ingesta alimenticia (7A) y del peso corporal (7B) durante un tratamiento crónico de 30 días con el compuesto JM-00.266 (M6) en comparación con el SR141716 (Rimonabant) y con el vehículo. (7C) Evolución de la composición corporal (EchoMRI) antes (D0) y al final de los tratamientos (D30).

20 Figura 8. Efecto de un tratamiento crónico con SR141716 (Rimonabant) o JM-00.266 (M6) a 10 mg/kg sobre la glucemia basal (8A) y la tolerancia a la glucosa del ratón obeso ("OGTT" 2 g/kg) (8B: con rimonabant y 8C: con M6).

Figura 9. Efecto de un tratamiento crónico con SR141716 (Rimonabant) (9A) o JM-00.266 (M6) (9B) a 10 mg/kg sobre la tolerancia a la insulina ("ITT") en el ratón obeso.

25 Figura 10. Variación en la masa corporal de ratón obeso sometido a una dieta normolipídica (LF por Low Fat) y tratado durante 43 días con el compuesto JM-00.266 (M6) (M6 + LF), en comparación con el vehículo en condición de dieta normolipídica (VEH + LF) o con el vehículo en condición hiperlipídica (VEH + HF por High Fat).

30 Figura 11. Efecto de un tratamiento de 43 días con el compuesto JM-00.266 (M6) en un ratón obeso sometido a una dieta normolipídica (M6 + LF) en comparación con el vehículo (VEH + LF), sobre la tolerancia a la glucosa.

Figura 12. Variación de la masa corporal de ratón obeso tratado durante 28 días con el compuesto JM-00.266 (M6) administrado por vía oral (10 mg/kg) simultáneamente con la ingesta de alimentos, en comparación con el vehículo.

35 Figura 13. Efecto de un tratamiento de 28 días con el compuesto JM-00.266 (M6) administrado por vía oral simultáneamente con la ingesta de alimentos en un ratón obeso, en comparación con el vehículo, sobre la tolerancia a la glucosa.

40 Figura 14. Expresión de los receptores CB1R, CB2R, de la enzima de síntesis de los endocannabinoides (NAPE), de la enzima de degradación de los endocannabinoides (FAAH), de la Fatty Acid Synthase (FAS) en el hígado de ratones obesos tratados durante 28 días con el compuesto JM-00.266 (M6) administrado por vía oral simultáneamente con la ingesta de alimentos, en comparación con el vehículo (VEH).

45 Figura 15. Expresión de estearoil-CoA desaturasa 1 (SCD-1), de la acil-coenzima A:diacilglicerol aciltransferasa 2 (DGAT2), de la glucosa-6-fosfatasa (G6P), del marcador F4/80 de los macrófagos maduros, y del transportador de glucosa GLUT2, en el hígado de ratones obesos tratados durante 28 días con el compuesto JM-00.266 (M6) administrado por vía oral simultáneamente con la ingesta de alimentos, en comparación con el vehículo (VEH).

50 Figura 16. Expresión de los receptores CB1R, CB2R, de la enzima de síntesis de los endocannabinoides (NAPE), de la enzima de degradación de los endocannabinoides (FAAH), de la Fatty Acid Synthase (FAS), de la glucosa-6-fosfatasa (G6P) en el tejido adiposo subcutáneo de ratones obesos tratados durante 28 días con el compuesto JM-00.266 (M6) administrado por vía oral simultáneamente con la ingesta de alimentos, en comparación con el vehículo (VEH).

Figura 17. Expresión del transportador de glucosa GLUT4, del factor α de necrosis tumoral (TNF- α por Tumor necrosis factor-alpha) y del marcador F4/80 de los macrófagos maduros, en unos explantes de tejido adiposo subcutáneo de ratones obesos tratados durante 28 días con el compuesto JM-00.266 (M6) administrado por vía oral simultáneamente con la ingesta de alimentos, en comparación con el vehículo (VEH).

Figura 18. Expresión de los receptores CB1R, CB2R, de la enzima de síntesis de los endocannabinoides (NAPE), de la enzima de degradación de los endocannabinoides (FAAH), de la Fatty Acid Synthase (FAS) y de la glucosa-6-fosfatasa en unos explantes de tejido adiposo visceral de ratones obesos tratados durante 28 días con el compuesto JM-00.266 (M6) administrado por vía oral simultáneamente con la ingesta de alimentos, en comparación con el vehículo (VEH).

Figura 19. Expresión del transportador de glucosa GLUT4, del factor α de necrosis tumoral (TNF- α por Tumor necrosis factor-alpha), y del marcador F4/80 de los macrófagos maduros, en unos explantes de tejido adiposo visceral de ratones obesos tratados durante 28 días con compuesto JM-00.266 (M6) administrado por vía oral simultáneamente con la ingesta de alimentos, en comparación con el vehículo (VEH).

Ejemplos

I. Síntesis de los compuestos según la invención

1. Materiales

Los puntos de fusión se determinaron por medio de un aparato Electrothermal IA9300, y se indican no corregidos.

Los espectros de ^1H y ^{13}C RMN se realizaron con un espectrómetro Bruker Avance 400 (400 MHz). Los desplazamientos químicos (δ) se expresan en ppm con el tetrametilsilano como control interno. Las representaciones convencionales (s = singlete, d = doblete, t = triplete, q = cuádruplete, sext = sextuplete, m = multiplete y b = ancho) se utilizan para la descripción de los espectros. Las constantes de acoplamiento se expresan en hercios (Hz).

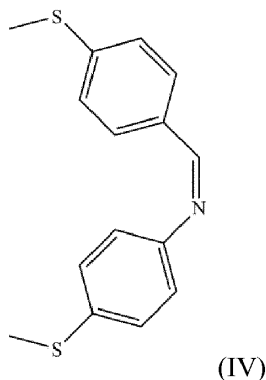
El análisis de espectrometría de masas (MS) se efectuó en un espectrómetro Waters Acquity UPLC System ZQ 2000 single quadrupole.

Los espectros infrarrojos se realizan en un dispositivo Perkin-Elmer Paragon FTIR 1000 PC. Solo se presentan las bandas de absorción características; los valores del número de onda se expresan en cm^{-1} .

El seguimiento de las reacciones se realiza por cromatografía sobre capa fina (CCM) sobre gel de sílice 60F-254 (5735 Merck), y las columnas de purificación cromatográfica sobre gel de sílice 60 (70-230 Mesh, ASTM, Merck).

Todos los reactivos y disolventes utilizados son productos comerciales.

2. Síntesis de la 4-metiltiobencil-4-metiltiobenzaldimina (IV)



En 50 ml de tolueno, disolver 5,57 g (36,6 mM) de 4-metiltiobenzaldehído y 5,0 g (35,92 mM) de 4-metiltioanilina. Añadir 3 g de sulfato de sodio anhidro, y llevar a reflujo del disolvente, bajo agitación, durante 4 horas. Al cabo de este tiempo, el disolvente se elimina en un evaporador rotativo a presión reducida. El sólido recuperado se tritura en 10 ml de éter de isopropilo y la suspensión obtenida se filtra sobre vidrio sinterizado. Recoger así 7,66 g de imina (rendimiento = 78%).

Características químicas:

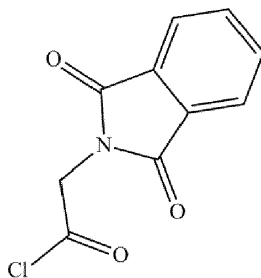
MP°C = 143-144 (óxido de diisopropilo).

^1H -NMR (CDCl_3): δ 2.51, s, 3H, 4 - SCH_3 ; 2.54, s, 3H, 4'- SCH_3 ; 7.18, d, 2H, H^3H^5 , $J = 6.7$ Hz; 7.29, d, 2H, H^2H^6 ; 7.30, d, 2H, H^3H^5 , $J = 8.4$ Hz; 7.80, d, 2H, H^2H^6 ; 8.41, s, 1H, $\text{HC} = \text{N}$.

SM (ESI) m/z (%): 274 $[\text{M} + \text{H}]^+$

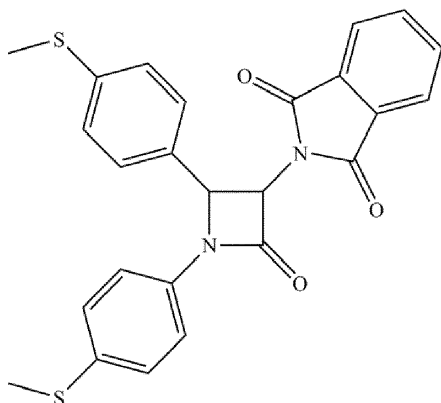
IR (KBr, cm^{-1}): 1552.53 ($\nu \text{ C} = \text{N}$).

3. Síntesis del cloruro de ácido de la ftaloilglicina



5 Disolver 2 g (9,75 mM) de *N*-ftaloilglicina en 20 ml de cloruro de tionilo y llevar a reflujo durante 3 horas. Al cabo de este tiempo, el cloruro de tionilo se evapora a presión reducida en el evaporador rotativo. El producto obtenido se recoge tres veces con 50 ml de tolueno, y se somete cada vez a evaporación a presión reducida. Al cabo de la tercera evaporación, el producto obtenido se mantiene al vacío durante 30 minutos, y después se recoge en 20 ml de dicloroetano seco y se conserva en su estado actual hasta su utilización.

4. Síntesis de la *trans*-1,4-di-(4-metiltiofenil)-3-*N*-ftaloil-azetidin-2-ona (compuesto IA = denominado asimismo a continuación JM-00.266 o M6)



(IA, i.e. JM-00.266)

15 En un matraz de 250 ml, disolver 2,73 g (10,0 mM) de imina (IV) en 50 ml de diclorometano seco. Añadir 5 ml de trietilamina y poner el conjunto bajo agitación. Introducir entonces lentamente una solución de cloruro de ácido de la ftaloilglicina (9,75 mM) manteniendo el medio a una temperatura inferior a 10°C. Una vez terminada la adición, dejar que el medio vuelva a la temperatura ambiente y mantener así controlando la evolución de la reacción por CCM. Al cabo de 3 horas, la reacción ya no evoluciona; verter el medio de reacción en 100 ml de agua y recoger la fase orgánica en el embudo de decantación. Efectuar otro lavado de ésta con una cantidad idéntica de agua, y secarla después sobre sulfato de sodio anhidro, filtrar y evaporar el disolvente hasta sequedad. El residuo obtenido se cromatografía entonces sobre una columna de sílice eluyendo con diclorometano, lo cual permite obtener 2,39 g del compuesto (IA) (R = 53%).

Características químicas:

MP°C = 118-120 (dietiléter)

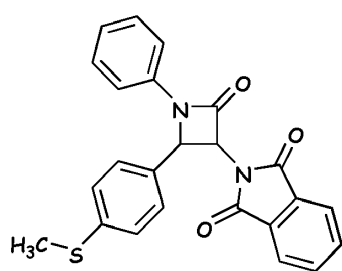
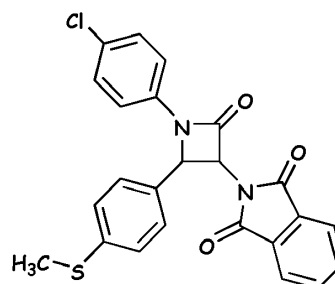
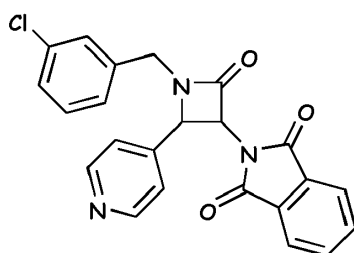
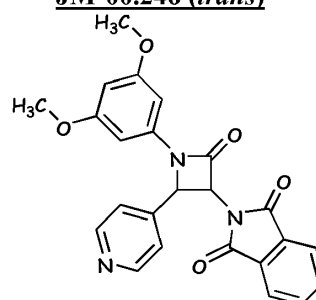
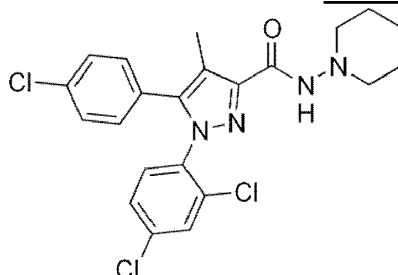
30 ¹H-RMN (CDCl₃): δ 2.44, s, 3H, CH₃; 2.49, s, 3H, CH₃; 5.26, d, 1H, H_a; 5.33, d, 1H, H_b (J_{H_aH_b} = 2.4Hz); 7.18, d, 2 arom.H, (J = 8.4Hz); 7.25-7.30, m, 4 arom.H; 7.78, m, 2H, H4"-H5"; 7.88, m, 2H, H3"-H6".

35 ¹³C-RMN (100.6 MHz, CDCl) 16.45(CH₃); 16.50(CH₃); 60.99(Cb); 62.77(Ca); 118.15(2C); 123.85(C3"-C6"); 126.63(2C); 127.00(2C); 127.91(2C); 131.65(C2"-C7"); 132.10(C1); 134.14(C4-C1'); 134.61(C4"-C5"); 140.11(C4'); 161.75(C1"-C8"); 166.65(Cc).

SM (ESI) m/z (%): 461.6 [M+H]⁺

40 IR (KBr, cm⁻¹): 3064, ν CH_{ar}; 2974, 2922, 2835, ν CH_{alif}; 1759, 1714, ν C=O.

5. Otros compuestos probados

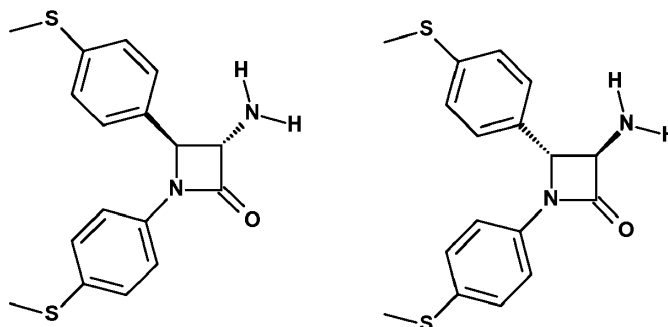
**JM-00.242 (*trans*)****JM-00.246 (*trans*)****JM-01.006 (*cis*)****JM-02.003 (*trans*)****SR141716 (Rimonabant)****6. Vía de síntesis alternativa de la trans-1,4-di-(4-metiltiofenil)-3-N-ftaloil-azetidin-2-ona (compuesto IA = denominado asimismo a continuación JM-00.266 o M6)**

- Se ha desarrollado otra vía de síntesis del compuesto JM-00.266. Consiste en poner en contacto la imina (compuesto IV) con la N-ftaloilglicina y en generar el ceteno *in situ* por medio de un agente de acoplamiento, el diclorofosfato de fenilo en presencia de trietilamina como aceptor de protones. El interés de este procedimiento es prescindir de la utilización de cloruro de tionilo cuya manipulación y eliminación pueden ser delicadas.
- Según un modo de funcionamiento, se ponen en solución 1,38 g de imina (compuesto IV) (5 mM) en 20 ml de diclorometano, bajo agitación; se añaden entonces 3 ml de trietilamina, y después 1,128 g de N-ftaloilglicina. Se introducen entonces gota a gota en la mezcla 1,5 ml (2,11 g o 10 mM) de diclorofosfato de fenilo, y se deja la reacción a temperatura ambiente durante 3 h. Al cabo de este tiempo, el medio de reacción se lava con agua, se recoge la fase orgánica, se seca y se concentra a presión reducida. El residuo obtenido se cromatografía sobre columna de gel de sílice eluyendo mediante diclorometano. Se recogen así 1,51 g de compuesto IA (JM-00.266 *trans*; el isómero *cis* no está presente en el medio de reacción) con un rendimiento del 66%.

7. Desprotección de la función amina a partir de la trans-1,4-di-(4-metiltiofenil)-3-N-ftaloil-azetidin-2-ona (compuesto IA = denominado asimismo a continuación JM-00.266 o M6)

- Por otro lado, se ha realizado la desprotección de la función amina ftaloilada sobre el compuesto JM-00.266. La liberación de la función amina se ha llevado a cabo con éxito por la acción de la metilhidrazina en el cloruro de metileno.
- Según un modo de funcionamiento, a 0,44 g del compuesto IA JM-00.266 (0,955 mM) en solución en 20 ml de diclorometano (DCM) se añaden 0,1 ml (2,18 mM) de metilhidrazina; la mezcla se deja bajo agitación en primer lugar a temperatura ambiente, y después elevándola lentamente hasta el reflujo DCM y controlando la evolución

de la reacción por CCM. Cuando se completa esta última (4 h), el medio de reacción se lava con agua y después se seca y se concentra por evaporación hasta sequedad. El residuo obtenido se cromatografía sobre gel de sílice por medio de una columna corta (diámetro = 30 mm; longitud = 70 mm) y eluyendo con acetato de etilo. Se recogen así 221 mg de la amina deseada (compuesto IF, denominado asimismo a continuación HR-0131 *trans*) con un rendimiento que va del 70 al 81% con un procedimiento de síntesis y de purificación optimizado.



Estructuras de los dos enantiómeros del compuesto HR-0131 *trans*

Características fisicoquímicas del compuesto HR-0131:

Fórmula bruta: $C_{17}H_{18}N_2S_2O$ masa molecular: 330.47; F = 134°C (AcOEt).

IR (KBr, cm^{-1}): 3350-3061 ($\nu_{CH_{ar}}$); 2981-2835 ($\nu_{CH_{alif}}$); 1728 ($\nu_{C=O}$).

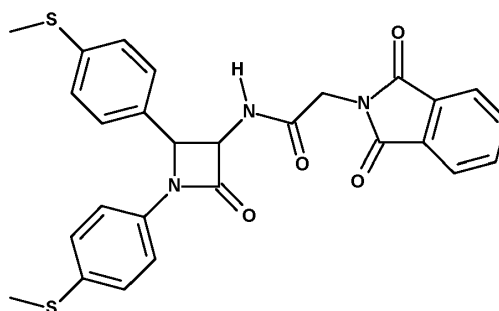
1H -NMR, δ (ppm), DMSO- d_6 : 2.43, s, 3H, SCH_3 (benzal); 2.49, s, 3H, SCH_3 (anil); 3.66, 2H, NH_2 ; 3.92, d, 1H, (NCH_{lact}); 4.73, d, 1H, ($COCH_{lact}$), J = 2,0 Hz; 7.18-7.34, m, 8 Har.

^{13}C -RMN, δ (ppm), DMSO- d_6 : 14.73; 15.54; 65.41; 70.82; 117.75; 124.31; 126.41; 126.91; 127.52; 128.91; 132.41; 132.51; 133.08; 134.30; 135.01; 138.14; 168.80.

SM (ESI) m/z (%): 331 [M + H] $^+$

8. Síntesis de derivados a partir de la amina HR-0131.

A partir de la amina preparada anteriormente, se ha previsto sintetizar un derivado homólogo superior (HR-0133) del compuesto JM-00266. Este derivado resulta de la condensación de ftaloilglicina sobre HR-0131 y representa una estructura en la que se ha introducido una separación entre el ciclo lactámico y el sustituyente ftaloilo.



Estructura del compuesto HR-0133 *trans*

Según un modo de funcionamiento, a una solución de 183 mg (0,55 mM) de HR-0131 en 15 ml de diclorometano, se añaden 144 mg (0,7 mM) de *N*-ftaloilglicina y 1 ml de trietilamina. Se añaden a continuación, gota a gota, 169 mg (0,8 mM) de diclorofosfato de fenilo, y la mezcla se deja bajo agitación durante 3 horas. Al cabo de este tiempo, el disolvente se evapora y el residuo obtenido se cromatografía sobre columna de sílice eluyendo mediante el éter etílico. Se obtienen 61 mg del producto deseado (HR-0133 *trans*) (R = 21%, pudiendo este rendimiento ser mejorado optimizando el procedimiento de síntesis y de purificación).

Características fisicoquímicas del compuesto HR-0133:

Fórmula bruta: $C_{27}H_{23}N_3S_2O_4$; masa molecular: 517.63; F = 190-192°C (iPrOiPr).

IR (KBr, cm^{-1}): 3348 (νCH_{ar}); 2998-2918 ($\nu\text{CH}_{\text{alif}}$); 1728, 1693 ($\nu\text{C} = \text{O}$).

^1H -RMN, δ (ppm), DMSO- d_6 : 2.43, s, 3H, SCH_3 (benzald); 2.49, s, 3H, SCH_3 (anil); 4.37, s, 2H, CH_2 ; 4.72, dd, 1H, (COCH_2lact), $J = 2.4$ Hz, $J = 7.6$ Hz; 5.05, d, 1H, (NCH_2lact), $J = 2.4$ Hz; 7.18, d, 2H, H_2H_6 benzald, $J = 8.8$ Hz; 7.23, d, 2H, H_3H_5 benzald, $J = 8.8$ Hz; 7.29, d, 2H, H_3H_5 anil, $J = 8.4$ Hz; 7.40, d, 2H, H_2H_6 anil, $J = 8.4$ Hz; 7.90-7.98, m, 4H, F_{arH} , 9.20, d, 1H, NH , $J = 7.6$ Hz.

^{13}C -RMN, δ (ppm), DMSO- d_6 : 14.62; 15.39; 40.33; 61.49; 65.08; 117.86(2C); 123.44(2C); 126.34(2C); 127.35(2C); 127.39; 131.88; 133.09(2C); 133.19(2C); 134.40; 134.80(2C); 141.00; 163.98; 166.98; 167.59(2C).

SM (ESI) m/z (%): 518 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

II Actividad biológica de compuestos sintetizados

1. Material y procedimientos

1.1. Estudios *in vitro*

1.1.1. Cultivo de explantes de hígado

El hígado de los ratones ha sido perfundido *in situ*, bajo anestesia con pentobarbital sódico (50 mg/kg), con medio de Hank (pH 7.4) saturado con oxígeno. A continuación, se seccionó el hígado gracias a una cortadora Brendel/Vitron (Tucson, AZ, US) en el mismo medio. Las secciones de hígado (aproximadamente 200 μm) se incubaron a continuación 21 horas en medio William E (WME) oxigenado y suplementado con suero de ternera fetal desactivado (10%) y cóctel de antibióticos/antifúngicos (1%) bajo atmósfera controlada (5% de CO_2), al cual se añade o bien el antagonista que debe ser probado, o bien el vehículo.

1.1.2. Expresión génica

La extracción de los ARN mensajeros (ARNm) totales se realizó con Tri-Reagent (Euromedex, Francia) y la síntesis consecutiva de ADN complementario (ADNc) se realizó a partir de 1 μg de ARNm con el kit Bio-Rad iScripttm Reverse Transcription super mix (Bio-Rad, Francia).

La expresión de los genes se evaluó mediante RT-PCR (Reverse Transcription - Polymerase Chain Reaction) semicuantitativa en tiempo real. Los cebadores utilizados se diseñaron con la ayuda del programa Primer3Plus (<http://www.bioinformatics.nl/cgi-bin/primer3plus/primer3plus.cgi>) y se sintetizaron mediante MWG-Biotech (TATABox Binding Protein: sentido acggcacaggactactcca, antisentido gctgtcttggctcttccaa; CB1R: sentido ccgcaaagatagtcacatg, antisentido aacccacccagttgaac). La semicuantificación de la expresión de los genes se obtuvo teniendo en cuenta la eficacia de cada PCR y tras la estandarización con el gen informador TATA Box Binding protein.

1.1.3. Prueba GloSensor AMPc

Se pusieron en cultivo unas células HEK293T/17 (ATCC) en DMEM al 10% SVF, y después inoculadas a 30000 células/pocillo en unas placas de 96 pocillos. Tras 24 horas, las células se sometieron a una transfección transitoria mediante Eugene HD (Promega) mediante unos plásmidos pcDNA3.1-mCB1 (50 ng) y pGlo (100 ng) con o sin PTX (toxina Pertussis). Para las pruebas de control, se transfectaron las células con unos vectores vacíos pcDNA3 (VV) y pGlo con o sin PTX. A las 48 h (24 h postransfección), se cargaron las células durante 2 h con el GloReagent al 2% en un medio independiente de CO_2 al 10% SVF (80 μl /pocillo).

Las células se trataron a continuación con la adición en $t = 0$, de 10 μl /pocillo de Forskoline (FSK) 1 μM final, con el fin de aumentar la concentración basal de AMPc. La cinética de aparición de la AMPc se controló durante 10 minutos. En $t = 10$, se añadieron las moléculas que deben ser probadas y se midieron las variaciones en AMPc durante 20 minutos. La señal luminosa se midió en RLU y se expresa en % de respuesta con respecto a la señal leída en $t = 10$ min (FSK 1 μM). Las curvas sigmoideas se obtuvieron mediante la medición en $t = 10$ min tras la adición de la molécula que debe ser probada (por lo tanto $t = 20$ min en total) del porcentaje de señal luminosa en función de la concentración en la molécula. La regresión 4PL se ha realizado con la ayuda del programa Sigma Plot y ha permitido obtener una EC_{50} (1 experimento, $n = 3$).

1.2. Estudios *in vivo* a corto plazo: pruebas intensas

1.2.1. Tránsito gastrointestinal

El tránsito a través del estómago y el intestino se midió a través de la administración oral de carbón vegetal en suspensión en goma arábiga utilizado en este caso como marcador no absorbible. Brevemente, tras un ayuno corto, se inyectó intraperitonealmente (i.p.) a los ratones C57BL/6 anandamida (10 mg/kg) en presencia o no de la

molécula de interés JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) (10 mg/kg) antes de la administración oral de carbón. Tras 25 minutos, los animales fueron sacrificados por dislocación cervical para retirar completamente el intestino. Se midió la distancia entre el inicio del píloro y la localización del bolo de carbón.

5 1.2.2. Prueba oral de tolerancia a la glucosa ("OGTT")

Con el fin de evaluar los efectos a corto plazo de las moléculas análogas al Rimonabant, así como su selectividad para los receptores CB1R, unos ratones C57BL/6 salvajes y unos ratones CB1R ^{-/-} se sometieron a una prueba oral de tolerancia a la glucosa ("OGTT" a 2 g/kg) 10 min después de la inyección i.p. de vehículo o de JM-00.003 o JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) (10 mg/kg). La glucemia se midió en los tiempos t = 0, t = 15 min, t = 30 min, t = 45 min, t = 60 min, t = 90 min, y t = 120 min tras la administración oral de glucosa con la ayuda de un lector glucémico Contour[®]TS (Ref. 81574201, Bayer HealthCare) y de tiras reactivas (Ref. 81574274, Bayer HealthCare).

15 1.2.3. Prueba de tolerancia a la insulina ("ITT")

El efecto a corto plazo de la molécula JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) sobre la sensibilidad a la insulina se midió durante una prueba de tolerancia a la insulina. Para ello, se inyectó intraperitonealmente a los ratones C57BL/6 salvajes insulina de acción rápida (0,5 ui/kg; ref. YT60088, Actrapid[®]) 10 minutos después de la inyección i.p. de vehículo o de JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) (10 mg/kg). La glucemia se midió en los tiempos t = 0, t = 15 min, t = 30 min, t = 45 min, t = 60 min, t = 90 min, y t = 120 min tras la inyección i.p. de insulina con la ayuda de un lector glucémico.

1.2.4. Insulina plasmática

25 La dosificación de la insulina plasmática se realizó con la ayuda del kit Insuline de ratón ELISA ALPCOTM (Ref. AKRIN-011T, ALPCO Diagnostics) según las instrucciones del proveedor. Las extracciones de sangre fueron recuperadas en una "OGTT" en t = 0, t = 30, t = 60, t = 120 min tras la administración del bolo oral de glucosa (2 g/kg).

30 1.3. Estudios *in vivo* a largo plazo: administración crónica

1.3.1. Dieta, ingesta de alimentos y composición corporal de los animales

35 Con el fin de determinar los efectos a largo plazo de las moléculas de interés, unos ratones C57BL/6 se volvieron obesos gracias a una dieta rica en azúcar y grasa (High Sucrose High Fat; HSHF: 30% de tocino, 33,5% de glúcidos; ref. E15126-34; ref. E15126-34, SSNIFF, Soest, Alemania) durante 20 semanas. Estos ratones recibieron a continuación diariamente una inyección i.p. de Rimonabant, JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) o de vehículo durante un tiempo de 30 días. Paralelamente, se vigilaron el peso y la ingesta de alimentos cada dos días tras el inicio del tratamiento.

40 El efecto del tratamiento a largo plazo sobre la composición corporal se midió con la ayuda de un escáner EchoMRI[™] que permite el análisis no invasivo de la masa grasa, de la masa magra y de la composición en fluidos corporales por resonancia magnética nuclear (RMN) en el animal vivo sin anestesia.

45 1.3.2. Estudio comportamental: prueba de campo abierto u "open field"

La actividad locomotora de los ratones se midió al final del tratamiento crónico con el Rimonabant o con la molécula JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) mediante un sistema de seguimiento por infrarrojos. Para ello, los animales se colocaron de manera individual en unas cajas de plexiglás de 43 x 43 cm (MED associates) durante 20 min. Se colocaron dos series de 16 haces infrarrojos modulados por impulsos sobre unas paredes opuestas separadas por 2,5 cm para registrar movimientos ambulatorios X-Y con una resolución de 100 ms. El centro se definió como un cuadrado central de 32 x 32 cm. Además de las informaciones sobre la actividad locomotora, esta prueba permite predecir una actividad de tipo ansiolítico en respuesta a la novedad o a un entorno ansiógeno. Las variables medidas en campo abierto son la actividad ambulatoria total (en cm), el número de entradas y el tiempo que pasa por el área central, así como la distancia recorrida por el centro dividida entre la distancia total recorrida.

1.3.3. Dosificaciones plasmáticas

60 El colesterol total, los triglicéridos y los marcadores hepáticos se dosificaron mediante un autómata Analyzer Dimension Vista (Siemens, Saint-Denis, Francia) con la ayuda de los reactivos apropiados.

1.3.4. Prueba oral de tolerancia a la glucosa y prueba de tolerancia a la insulina

65 Con el fin de evaluar los efectos del tratamiento a largo plazo sobre el control glucémico, la tolerancia a la glucosa ("OGTT"), así como la sensibilidad a la insulina ("ITT") fueron evaluados en pre y post tratamiento. Así, para la "OGTT" los ratones fueron cebados con glucosa (2 g/kg), y para la "ITT" Los ratones recibieron una inyección i.p.

de insulina (0.5 ui/kg). En los dos casos, la glucemia se midió en los tiempos $t = 0$, $t = 15$ min, $t = 30$ min, $t = 45$ min, $t = 60$ min, $t = 90$ min, y $t = 120$ min tras la ingestión de glucosa con la ayuda de un lector glucémico Contour®TS (Ref. 81574201, Bayer HealthCare) y de tiras reactivas (Ref. 81574274, Bayer HealthCare).

5 1.4 Estudio *in vivo* a largo plazo: administración del compuesto IA en asociación con una disminución del aporte energético en el ratón obeso

1.4.1 Dieta hiperlipídica, ingesta de alimentos asociada a una dieta normolipídica y masa corporal de los animales

10 Con el fin de determinar los efectos a largo plazo del compuesto de interés JM-00.266 (es decir, el compuesto IA), unos ratones C57BL/6 se volvieron obesos gracias a una dieta hiperlipídica (30% de tocino, 33,5% de glúcidos; ref. E15126-34, SSNIFF, Soest, Alemania) durante 15 semanas. Los ratones se sometieron a continuación a una dieta normolipídica (5% de lípidos; Standard Diet AO4; UAR, Epinay-sur-Orge, Francia) y recibieron diariamente, a mediodía, una dosis oral de JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) o de vehículo durante un tiempo de 43 días.

15 El peso de los animales se midió cada dos días a partir del inicio del tratamiento.

1.4.2 Prueba de tolerancia a la glucosa

20 Con el fin de evaluar los efectos del tratamiento a largo plazo sobre el control glucémico, se evaluó la tolerancia a la glucosa al final del período de tratamiento. Los ratones se sometieron a una inyección intraperitoneal de glucosa (2 g/kg) y después se midió la glucemia en los tiempos $t = 0$, $t = 15$ min, $t = 30$ min, $t = 45$ min, $t = 60$ min, $t = 90$ min, y $t = 120$ min tras la inyección de glucosa con la ayuda de un lector glucémico My Life Pura (Ypsomed, París, Francia).

25 1.5 Estudio *in vivo* a largo plazo: administración del compuesto IA simultánea a la ingesta de alimentos en el ratón obeso mantenido con una dieta hiperlipídica

La elección de este enfoque se justifica por el hecho de que los resultados anteriores muestran que cuando la administración de M6 precede a una carga de glucosa, la tolerancia al azúcar mejora muy claramente.

30 1.5.1 Dieta hiperlipídica, administración del compuesto simultánea a la ingesta de alimentos y masa corporal de los animales

35 Unos ratones C57BL/6 se volvieron obesos gracias a una dieta hiperlipídica (35% de tocino, 25,3% de glúcidos; ref. E15742-34, SSNIFF, Soest, Alemania) durante 15 semanas. Los ratones mantenidos con la misma dieta recibieron a continuación diariamente una dosis oral de JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) o de vehículo incorporado a la alimentación durante un tiempo de 43 días. El peso de los animales se midió cada dos días a partir del inicio del tratamiento.

40 1.5.2 Prueba de tolerancia a la glucosa

Con el fin de evaluar los efectos del tratamiento a largo plazo sobre el control glucémico, se evaluó la tolerancia a la glucosa al final del período de tratamiento. Los ratones se sometieron a una inyección intraperitoneal de glucosa (2 g/kg) y luego se midió la glucemia en los tiempos $t = 0$, $t = 15$ min, $t = 30$ min, $t = 45$ min, $t = 60$ min, $t = 90$ min, y $t = 120$ min tras la inyección de glucosa con la ayuda un lector glucémico My Life Pura (Ypsomed, París, Francia).

1.5.3 Expresión génica

50 La extracción de los ARN mensajeros (ARNm) totales se realizó con Tri-Reagent (Euromedex, Francia) y la síntesis consecutiva de ADN complementario (ADNc) se realizó a partir de 1 µg de ARNm con el kit Bio-Rad iScript™ Reverse Transcription super mix (Bio-Rad, Francia). La expresión de los genes se evaluó mediante RT-PCR (Reverse Transcription - Polymerase Chain Reaction) semicuantitativa en tiempo real. Los cebadores utilizados descritos a continuación se seleccionaron con la ayuda del programa Primer3Plus ([http://www.bioinformatics.nl/cgi-](http://www.bioinformatics.nl/cgi-25 bin/primer3plus/primer3plus.cgi)

55 la expresión de los genes se obtuvo teniendo en cuenta la eficacia de cada PCR y estandarización con el gen informador TATA Box- Binding protein (TPB).

Cebadores utilizados:

Gen	SEC ID nº	5'-cebador sentido-3'	SEC ID nº	5'-cebador antisentido-3'
TPB	1	acggcacaggactactcca	2	gctgtcttggctcttccaa
CB1R	3	ccgcaaagatagtccaatg	4	aacccacccagttgaac
CB2R	5	caaaggaggaggtgcttggt	6	tgagagatcggttatgtg
F4/80	7	tgacaaccagacggcttggt	8	gcaggcgaggaaaagatagtg
FAAH	9	ggacctgtctcccttct	10	cctgtgggtgtcacata
FAS	11	ggctgcagtgaatgaattg	12	ttcgtacctcttggaac

Gen	SEC ID nº	5'-cebador sentido-3 '	SEC ID nº	5'-cebador antisentido-3 '
G6P	13	tggcctggcttattgtacct	14	gtgctaagaggaagacccga
GLUT2	15	ctctcaccaactggccct	16	cagcagataggccaagtagga
GLUT4	17	gatccgctcgggtttccagca	18	tggtccagtcactcgctgccg
DGAT2	19	agccctccaagacatcttctct	20	tgcagctgttttccacct
NAPE-PLD	21	ctcgatatctgcgtggaaca	22	ctgaattctggcgtttctc
SCD1	23	ccggagaccccttagatcga	24	tagcctgtaaaagatttctgcaaacc
TNF-a	25	cggggtgatcggccccaaag	26	tggttgctacgacgtgggct

El impacto del tratamiento sobre la actividad del sistema endocannabinoide se evalúa midiendo la expresión génica 1) de los receptores CB1R y CB2R, 2) de la enzima de síntesis de los endocannabinoides, la N-acil fosfatidiletanolamina fosfolipasa D (NAPE-PLD), y 3) de la enzima de degradación de los endocannabinoides, la Fatty acid amide hydrolase (FAAH).

La Fatty acid synthase (FAS), la estearoil- CoA desaturasa 1 (SCD-1) y la glicerol-fosfato acil-transferasa (GPAT2) son unas enzimas cuyas variaciones de expresión traducen la actividad lipogénica.

La glucosa-6-fosfatasa (G6P) y los transportadores de la glucosa GLUT2 y GLUT4 en el hígado se usan en este caso como marcadores de neoglucogénesis.

F4/80 es un marcador de los macrófagos maduros.

El Tumour necrosis factor-alpha (TNF-a) es una citocina proinflamatoria que interviene en la regulación de numerosos procesos biológicos como las funciones inmunitarias, la diferenciación celular o el metabolismo energético.

2. Resultados

2.1. Experimentos *in vitro* e *in vivo* a corto plazo (inyecciones intensas) sobre los compuestos JM-00.246, JM-02.003, JM-01.1006, JM-00.242 y JM-00.266 (es decir, el compuesto IA)

2.1.1. Efectos de las moléculas candidatas JM-00.246, JM-02.003, JM-01.006, JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) y JM-00.242 sobre la expresión hepática del CB1R en el ratón Ob/Ob

Unos estudios llevados a cabo previamente en laboratorio han indicado que es posible modular la expresión de los CB1R en unos explantes de hígado puestos en cultivo en presencia de agonistas o de antagonistas (Jourdan *et al.* 2012). Así, la expresión de los CB1R en unos explantes de hígado se reduce tras un tratamiento con el SR141716 (es decir, Rimonabant). Por consiguiente, este modelo *in vitro* se utilizó en este caso para preseleccionar las moléculas candidatas en base a su capacidad para modificar la expresión del CB1R.

En base a estos resultados anteriores obtenidos con el SR141716 (es decir, Rimonabant), se probó la capacidad de cada uno de los compuestos para disminuir la expresión de los CB1R en el mismo modelo de explantes de hígado.

Solo las moléculas JM-02.003, JM-01.006 y JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) provocaron una disminución significativa de la expresión de los CB1R hepáticos, es decir un efecto comparable al observado en el estudio anterior con el SR141716 (es decir, Rimonabant) (figura 1). Las moléculas JM-00.246 y JM-00.242 no se consideraron para la continuación del estudio.

2.1.2. Efectos de las moléculas preseleccionadas JM-02.003, JM-01.1006 y JM-00.266 sobre la actividad del receptor CB1

Las capacidades de JM-02.003, JM-01.006 y JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) para antagonizar los CB1R se probaron en un modelo de células transfectadas con el CB1R midiendo las variaciones de AMPc (GloSensor cAMP assay).

En un primer momento, se verificó, usando este modelo *in vitro*, que la activación de los receptores por un agonista, en este caso el AEA, conduce a una disminución de la concentración intracelular de AMPc (datos no presentados). Los resultados indican que las concentraciones de AMPc aumentan en ausencia de agonista (AEA) en las células tratadas con JM-02.003 y JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) mientras que JM-01.006 no tiene ningún efecto (figura 2). Estos datos confirman que solo las moléculas JM-02.003 y JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) son unos ligandos de los CB1R y ejercen un efecto agonista inverso sobre el receptor. Por lo tanto, la molécula JM-01.1006 no fue considerada para la continuación del estudio.

2.1.3. Efectos de un tratamiento intenso con las moléculas JM-02.003 y JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) sobre la tolerancia a la glucosa del ratón C57BL/6J salvaje.

Con el fin de evaluar los efectos *in vivo* de las moléculas consideradas, los inventores han intentado determinar si una sola inyección i.p. podía modular el metabolismo glucídico del ratón. En efecto, unos trabajos recientes han demostrado que la activación de CB1R en respuesta a una sola inyección i.p. de AEA (agonista CB1R) altera la tolerancia a la glucosa y la resistencia a la insulina (Liu *et al.*, 2012).

Para ello, unos ratones C57BL/6J salvajes recibieron una inyección i.p. de antagonista JM-02.003 o JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) a 10 mg/kg 10 min antes de una carga oral de glucosa a 2 g/kg. Los presentes resultados muestran que la inyección i.p. de estas 2 moléculas mejora la tolerancia a la glucosa con respecto a los ratones que recibieron el vehículo (figura 3A y B).

Cuando estos experimentos se repiten en los ratones CB1R KO, se observa que la mejora de la tolerancia a la glucosa se anula en los ratones tratados con JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) mientras que persiste con JM-02.003 (figura 3C y D). Esto confirma que solo la molécula JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) ejerce un efecto agonista inverso CB1R específico. Por lo tanto, la molécula JM-02.003 no fue considerada para la continuación del estudio.

2.1.4. Efectos de un tratamiento intenso con JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) sobre la sensibilidad y la producción de insulina del ratón C57BL/6J salvaje

Con el fin de saber si la mejora del control glucémico observada en respuesta a la inyección i.p. de JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) se debe potencialmente a un aumento de la secreción de insulina y/o a una mejor sensibilidad a la insulina, se realizó una dosificación de insulina plasmática tras la administración oral del bolo de glucosa, así como una prueba de tolerancia a la insulina (ITT).

Los resultados muestran que la producción de insulina inducida por la administración de glucosa no es estimulada por JM-00.266 (figura 4A). Por el contrario, la insulinemia en $t = 30$ min es menor en el ratón tratado con el JM-00.266 (es decir, el compuesto IA), lo cual sugiere una mejora de las capacidades de utilización de la glucosa. El "ITT" revela asimismo que la insulina ejerce un efecto más poderoso sobre el aclaramiento de la glucosa plasmática en los animales tratados previamente con JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) con respecto a los animales de control (figura 4B).

Estos datos sugieren que la molécula JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) mejora la tolerancia a la glucosa aumentando la sensibilidad a la insulina.

2.1.5. Efectos de un tratamiento intenso con JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) sobre el tránsito gastrointestinal del ratón C57BL/6J salvaje

Se ha demostrado claramente en la bibliografía que la activación de los CB1R inhibe poderosamente la motilidad gastrointestinal (Di Marzo *et al.*, 2008). Sobre esta base, los inventores han intentado saber si la molécula JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) era capaz de mejorar la gastroparesia inducida por un agonista CB1R (AEA) midiendo la progresión *in vivo* de un bolo de carbón no absorbible administrado por cebado a lo largo del tracto digestivo. En el modelo experimental probado, el tránsito está, como se esperaba, muy inhibido por el AEA. De manera interesante, la inyección previa de JM-00.266 (es decir, el compuesto IA), anula totalmente el efecto del agonista y normaliza el tránsito gastrointestinal (figura 5). Estos datos indican por un lado, que el tracto digestivo es una diana de JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) y por otro lado, que esta molécula es capaz de anular los efectos de un agonista sobre los CB1R, es decir, de ejercer un efecto antagonista sobre el receptor.

2.2. Experimentos *in vivo* a largo plazo (inyecciones crónicas) en el ratón obeso con el compuesto JM-00.266

Con el fin de determinar los efectos a largo plazo del compuesto JM-00.266 (es decir, el compuesto IA), unos ratones C57BL/6 se volvieron obesos con una dieta rica en azúcar y grasa administrada durante 20 semanas. Estos ratones recibieron a continuación diariamente una inyección i.p de SR141716 (es decir, Rimonabant) (10 mg/kg), de JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) (10 mg/kg) o de vehículo durante un tiempo de 30 días.

2.2.1. Efectos del tratamiento crónico con el compuesto JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) sobre los marcadores de sufrimiento hepático

Las enzimas hepáticas, alanina aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST), fosfatasa alcalina, intestinal (ALPI), las gamma GT y la bilirrubina total son unos marcadores de sufrimiento celular. Estos marcadores se midieron en el plasma con el fin de detectar una eventual toxicidad hepática del compuesto JM-00.266 (es decir, el compuesto IA).

Tabla 1. Concentración plasmática en marcadores hepáticos tras un tratamiento crónico de 30 días con el SR141716 (Rimonabant) o el compuesto JM-00.266 (compuesto IA, denominado asimismo M6) en comparación con el vehículo (Control). ALT: alanina aminotransferasa; AST: aspartato aminotransferasa, ALPI: fosfatasa

alcalina, intestinal.

	Control	SR141716	JM-00.266
Gamma GT (u/l)	<3	<3	<3
ALT (u/l)	62,0 ± 24,9	21,6 ± 2,3*	34,3 ± 10,5
AST (u/l)	131,2 ± 47,0	46,4 ± 3,1*	60,8 ± 13,4
ALPI	52,7 ± 7,8	37,4 ± 2,4	47,3 ± 3,6
Bilirrubina total (μmol/l)	<2	<2	<2

Los resultados presentados en la Tabla 1 muestran que un tratamiento crónico de 30 días con el SR141716 (es decir, Rimonabant) o el JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) no induce ningún aumento de los marcadores de sufrimiento hepáticos con respecto al control. Por el contrario, las concentraciones de ALT y de AST detectadas en el plasma de los ratones obesos han disminuido significativamente con el SR141716 (es decir, Rimonabant) mientras que se observa la misma tendencia con JM-00.266 (es decir, el compuesto IA).

En conclusión, los resultados sugieren no solamente que la administración crónica del compuesto JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) no induce ninguna toxicidad hepática sino que también mejoraría el sufrimiento celular inducido por la obesidad.

2.2.2. Efectos del tratamiento crónico con el compuesto JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) sobre ciertos parámetros comportamentales relacionados con la activación de los CB1R centrales

La prueba de campo abierto (open field) consiste en medir, mediante un sistema de haces infrarrojos, los desplazamientos del animal en un recinto iluminado que representa un ambiente estresante. Las variables medidas en el open field son la actividad ambulatoria total, el número de entradas y el tiempo que pasa en el área central. Esta prueba permite, además de medir la actividad locomotora, informar sobre el estado de ansiedad del animal.

Los resultados de la prueba indican en primer lugar que ni la administración de SR141716 (es decir, Rimonabant) ni la de JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) tiene un efecto significativo sobre el tiempo que pasa en el centro de la arena (la zona más ansiógena), lo cual sugiere que el estado de ansiedad de los ratones obesos no se ha modificado al final de los 30 días de tratamiento (figura 6). Por el contrario, se debe observar que el SR141716 (es decir, Rimonabant) aumenta la actividad motora mientras que el compuesto JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) no tiene ningún efecto sobre este parámetro, lo cual sugiere que JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) no ejerce ninguna acción central.

2.2.3. Efectos del tratamiento crónico con el compuesto JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) sobre la ingesta de alimentos, el peso y la composición corporal

Durante toda la duración del tratamiento, la ingesta de alimentos y el peso corporal se midieron cada dos días. La figura 7A muestra que la ingesta de alimentos de los animales tratados no se ha alterado por el tratamiento JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) con respecto a la de los ratones de control que han recibido el vehículo. Solo los ratones que recibieron el SR141716 (es decir, Rimonabant) han disminuido transitoriamente su ingesta de alimentos.

Paralelamente a la ingesta de alimentos, se vigiló cada dos días la evolución del peso corporal en respuesta al tratamiento (figura 7B). Los resultados muestran que los ratones tratados con el SR141716 (es decir, Rimonabant) perdieron peso, lo cual está de acuerdo con la disminución de la ingesta de alimentos observada. El peso corporal de los animales tratados con JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) no ha disminuido con respecto a los ratones de control.

Al final del tratamiento, la composición corporal (masa grasa, masa magra) de los ratones se analizó por RMN. La figura 7C muestra que solo los ratones tratados con el SR141716 (es decir, Rimonabant) presentan una masa grasa inferior y una masa magra superior a las de los ratones de control.

El efecto del SR141716 (es decir, Rimonabant) observado en este estudio ya se ha descrito en la bibliografía y se explica por la acción central del SR141716 sobre los CB1R que conduce a una disminución rápida (pero transitoria) de la ingesta de alimentos seguida de una pérdida de masa corporal (Ravinet Trillou *et al.*, 2003). El hecho de que el compuesto JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) no tenga ningún efecto sobre la ingesta de alimentos o sobre el peso, en la escala de tiempo probada, confirma que la acción del compuesto está limitada sin duda a los receptores periféricos CB1.

2.2.4. Efectos del tratamiento crónico con el compuesto JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) sobre la glucemia y la tolerancia a la glucosa

Para evaluar los efectos a largo plazo del compuesto JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) sobre el metabolismo

glucídico, se realizaron unas pruebas de tolerancia a la glucosa (OGTT 2 g/kg) antes y al final de los tratamientos. Los resultados indican una mejora significativa de la glucemia basal (figura 8A) y de la tolerancia a la glucosa en los ratones obesos tras 30 días de tratamiento con el JM-00.266 y el SR141716 (es decir, Rimonabant) (figura 8B).

5 2.2.5. Efectos del tratamiento crónico con el compuesto JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) sobre la insulinemia y la sensibilidad a la insulina.

10 Con el fin de saber si la mejora del control glucémico inducida por la administración crónica del compuesto JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) puede ser asociada a una mejora de la resistencia a la insulina, se midió
asimismo el efecto del tratamiento sobre la sensibilidad a la insulina, realizando unas ITT. Esta prueba demuestra que la resistencia a la insulina de los ratones obesos detectada antes del inicio del tratamiento mejora tras la administración de SR141716 (es decir, Rimonabant) y JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) durante 30 días (figura 9). Se debe observar que la disminución de la glucemia inducida por la inyección de insulina es más marcada en los ratones tratados con JM-00.266 (es decir, el compuesto IA) que en los tratados con SR141716 (es decir, Rimonabant).

2.3. Efecto *in vivo* de la administración a largo plazo del compuesto IA (denominado asimismo M6 o JM-00.266) en asociación con una disminución de la aportación de energía sobre el ratón obeso

20 2.3.1. Efecto sobre la masa corporal

Como muestran los resultados presentados en el gráfico de la figura 10:

- 25 - cuando los ratones obesos ($46,21 \pm 1,18$ g) son mantenidos con dieta hiperlipídica (30% de tocino, 33,5% de glúcidos) (VEH+HF), su masa corporal permanece estable;
- cuando los ratones obesos ($46,01 \pm 0,84$ g) son alimentados con una dieta normolipídica (5% de lípidos) (VEH+LF) en lugar de una dieta hiperlipídica con 30% de tocino, pierden peso;
- 30 - cuando los ratones obesos ($45,83 \pm 0,82$ g) son alimentados con una dieta normolipídica que contiene 5% de lípidos y reciben el compuesto M6 (M6+LF), su masa disminuye significativamente más.

Por consiguiente, se ha observado que la administración del compuesto M6 como complemento de una dieta normolipídica refuerza la pérdida de peso inducida por una restricción calórica en unos ratones que previamente se han vuelto obesos mediante una dieta hiperlipídica.

2.3.2. Efecto sobre la tolerancia a la glucosa

40 Como lo muestran los resultados presentados en el gráfico de la figura 11: tras 43 días de tratamiento con el compuesto M6 (JM-00.266) administrado por vía oral (10 mg/kg) 1 vez al día o con el vehículo, los ratones sometidos a la dieta normolipídica (M6 + LF) presentan una mejor tolerancia a la glucosa con respecto a los controles respectivos vehículo y dieta normolipídica (VEH + LF) y vehículo y dieta hiperlipídica (VEH + HF).

45 2.4. Efecto *in vivo* de la administración a largo plazo del compuesto IA (denominado asimismo M6 o JM-00.266) simultáneamente con una ingesta de alimentos en un ratón obeso

2.4.1 Efecto sobre la masa corporal

50 Como lo muestran los resultados presentados en el gráfico de la figura 12: cuando los ratones obesos ($46,81 \pm 3,02$ g) sometidos a una dieta hiperlipídica (35% de tocino) son tratados con el compuesto M6 a razón de una administración diaria durante la comida (M6), pierden más peso que los ratones tratados con el vehículo (VEH).

Por consiguiente, la administración del compuesto M6 durante la comida favorece la pérdida de peso de ratones que se han vuelto obesos por una dieta hiperlipídica y sometidos a esta misma dieta durante el tratamiento. Se esperan unos resultados similares con una administración del compuesto M6 justo antes de la comida, teniendo en cuenta los efectos del compuesto M6 observados sobre el control glucémico cuando es administrado intensivamente 10 minutos antes de una administración de glucosa (véase el párrafo 2.1.3 anterior).

2.4.2 Efecto sobre la tolerancia a la glucosa

60 Como muestran los resultados presentados en el gráfico de la figura 13: tras 28 días de tratamiento con el compuesto M6, administrado al mismo tiempo que la comida, los ratones presentan una mejor tolerancia a la glucosa que los ratones tratados con una administración de vehículo al mismo tiempo que la comida.

2.4.3 Efecto sobre la expresión génica de marcadores

El tratamiento con M6 conduce a una disminución de la expresión de la NAPE-PLD en los tejidos probados, lo cual sugiere una disminución del tono endocannabinoide.

La expresión de CB1R y de la enzima de degradación de los endocannabinoides (Fatty acid amide hydrolase, FAAH) no se modifica por el tratamiento en ninguno de los tejidos probados. La expresión de los CB2R es menor asimismo en los tejidos de los animales tratados con M6. Como los CB2R se expresan principalmente en las células inmunitarias, es posible que este resultado traduzca una menor infiltración macrófaga.

La Fatty acid synthase (FAS), la esteroil-CoA desaturasa 1 (SCD-1) y la glicerol-fosfato acil-transferasa (GPAT2) son unas enzimas cuyas variaciones de expresión traducen la actividad lipogénica. Así, la disminución de la expresión de SCD-1 y GPAT en el hígado y FAS en el tejido adiposo de los animales tratados con M6 sugiere una menor síntesis de lípidos en estos tejidos.

La glucosa-6-fosfatasa (G6P) y los transportadores de glucosa GLUT2 y GLUT4 en el hígado se utilizan en este caso como marcadores de la neoglucogénesis. Los resultados sugieren que el tratamiento M6 podría estar asociado a una menor producción de glucosa por el hígado.

La disminución de la expresión de G6P y GLUT4 en el tejido adiposo de los ratones tratados con M6 podría reflejar una reducción de la utilización de la glucosa implicada en la vía de la lipogénesis.

El F4/80 es un marcador de los macrófagos maduros. La expresión de F4/80 parece claramente disminuida en el hígado y los tejidos adiposos, lo cual sugiere una menor infiltración macrófaga.

El Tumour necrosis factor-alpha (TNF- α) es una citocina proinflamatoria que interviene en la regulación de numerosos procesos biológicos como las funciones inmunitarias, la diferenciación celular o el metabolismo energético. Se admite que los macrófagos que han infiltrado el tejido adiposo de ratones obesos son responsables de una elevación de la producción de TNF- α . En el presente estudio, se observa una tendencia a la disminución de la expresión de TNF- α en el tejido adiposo, en asociación con la disminución de la expresión de F4/80 por M6. Estos resultados parecen estar de acuerdo con la disminución de la expresión del CB2R que está localizado esencialmente sobre las células inmunes.

III. Conclusión

La obesidad está asociada a una hiperactivación del sistema endocannabinoide (SEC) dependiente de los receptores de los endocannabinoides 1 (CB1R). La inactivación de los CB1R constituye así una estrategia de tratamiento para luchar contra los trastornos metabólicos relacionados con la obesidad. El SR141716 (Rimonabant), agonista inverso de los CB1R, fue el primer agente antiobesidad comercializado, pero sin embargo, fue retirado rápidamente del mercado debido a los efectos secundarios de orden neuropsiquiátrico tras el bloqueo de los CB1R centrales. Sin embargo, una acción dirigida de los CB1R periféricos podría constituir una solución terapéutica de pleno derecho para tratar la obesidad y ciertas patologías que le están asociadas. En efecto, incluso si la reducción de la ingesta de alimentos parece ser la principal causa de la pérdida de peso y de la mejora de los parámetros metabólicos, varios estudios en animales y en el ser humano indican que los CB1R periféricos podrían estar implicados asimismo en la regulación del metabolismo glucídico-lipídico (Nogueiras *et al.*, 2008; Osei-Hyiaman *et al.*, 2008). Por consiguiente, se ha propuesto que los efectos beneficiosos a largo plazo de la inactivación del sistema endocannabinoide se deben al mismo tiempo a los efectos centrales sobre la ingesta de alimentos y a los efectos periféricos que conciernen el tejido adiposo, el hígado, el músculo esquelético y el páncreas. El papel de los CB1R periféricos ha sido demostrado claramente por los trabajos de Tam *et al.* en 2010 que indican que el bloqueo de estos receptores por un antagonista periférico disminuye el riesgo cardiometabólico en el ratón obeso. Dos estudios recientes están de acuerdo asimismo con esta idea. El primero sugiere que una reducción de la actividad del sistema endocannabinoide en el tejido adiposo visceral está asociado a una normalización del metabolismo adipocitario favorable a la reversión de la esteatosis hepática observada en el ratón obeso (Jourdan *et al.*, 2010). El segundo demuestra mediante un enfoque *in vitro* que la inactivación de los CB1R hepáticos conduce a una estimulación de la beta-oxidación de los ácidos grasos (Jourdan *et al.*, 2012). La utilización de compuestos que actúan como antagonistas de los receptores endocannabinoides de tipo CB1 (CB1R) presenta por lo tanto un claro interés en el control de la regulación de la ingesta de alimentos y de los metabolismos glucídico y lipídico en unas patologías como el síndrome metabólico cuyo impacto es importante en términos de salud pública. Por otro lado, el desarrollo de compuestos que conservan una actividad sobre los CB1R periféricos, pero que no franquean la barrera hematoencefálica, permitiría esquivar las dificultades de la utilización clínica de las moléculas de la generación del Rimonabant.

Los presentes resultados, basados en tres enfoques "*in vitro*", "*in vivo* a corto plazo" e "*in vivo* a largo plazo", demuestran que, entre cinco nuevas moléculas probadas, solo el compuesto JM-00.266 presenta:

- (1) unas propiedades agonistas inversas con respecto a los receptores CB1,

(2) una acción limitada a la periferia y no es susceptible por lo tanto de ejercer efectos secundarios psicotrópicos deletéreos como ha sido el caso con unos compuestos que anteriormente han constituido el objeto de intentos de desarrollo,

(3) unos efectos beneficiosos sobre el metabolismo glúcido-lipídico, en el marco de la obesidad, mejorando en particular la tolerancia a la glucosa y la sensibilidad a la insulina, y disminuyendo la trigliceridemia, y

(4) una capacidad para impedir la acción inhibitoria de la anandamida (agonista natural del CB1R) sobre la motilidad gastrointestinal, lo cual demuestra un efecto antagonista poderoso del compuesto *in vivo*, así como su utilidad en el tratamiento de la gastroparesia.

El efecto del compuesto JM-00.266 *in vivo* sobre la masa corporal y algunos parámetros biológicos en el ratón obeso en función del modo de administración ha permitido resaltar asimismo los elementos siguientes:

- este compuesto, administrado como complemento de una dieta normolipídica, refuerza la pérdida de peso inducida por una restricción calórica en unos ratones que previamente se han vuelto obesos por una dieta hiperlipídica y mejora la tolerancia a la glucosa. Estos resultados permiten prever unos tratamientos que combinan este tipo de compuesto con unas dietas alimenticias normocalóricas y/o con unos compuestos conocidos por regular negativamente la ingesta de alimentos;

- este compuesto, administrado durante la comida, favorece la pérdida de peso de los ratones que previamente se han vuelto obesos por una dieta hiperlipídica y son sometidos a esta misma dieta durante el tratamiento, y mejora la tolerancia a la glucosa. Estos resultados permiten prever unos protocolos de administración del compuesto de interés preferentemente justo antes y/o durante la o las comidas;

- el efecto *in vivo* de este compuesto sobre diferentes marcadores de la actividad del sistema endocannabinoide, de la actividad lipogénica, y de la infiltración macrofágica, sugiere en particular una disminución del tono endocannabinoide, una menor síntesis de los lípidos en los tejidos, una reducción de la utilización de la glucosa implicada en la vía de la lipogénesis y una menor infiltración macrofágica.

Por otro lado, la estructura de este nuevo compuesto y las posibilidades de farmacomodulación de éste ofrecen así la posibilidad de acceder a unas moléculas que se difunden poco o nada en el sistema nervioso central, que están representadas por los compuestos de fórmula (I) descritos anteriormente.

Teniendo en cuenta las propiedades observadas en el marco de estos trabajos, el compuesto de fórmula (I) según la invención presenta indudablemente un interés terapéutico no solamente con respecto a las patologías relacionadas con la obesidad, sino también para las patologías para las cuales se ha puesto en evidencia la implicación de los CB1R en diferentes tejidos periféricos. La inactivación de los CB1R periféricos mediante el compuesto según la invención puede permitir así tratar la resistencia a la insulina (Song *et al.*, 2011; Eckardt *et al.*, 2009), la diabetes tipo II (Matias *et al.* 2006; Jensen, 2006), la esteatosis hepática no alcohólica (Osei-Hyamann *et al.*, 2005; Osei-Hyiaman *et al.* 2008; Jeong *et al.* 2008), la fibrosis hepática (Teixeira-Clerc *et al.* 2006), la nefropatía (Jourdan *et al.*, 2012), la fibrosis renal (Lecru *et al.*, 2015), las cardiomiopatías (Montecucco y Di Marzo, 2012; Rajesh *et al.*, 2012; Slavic *et al.*, 2013; Schaich y al., 2014; Pacher y Kunos, 2013), la gastroparesia (Izzo y Sharkey, 2010), el crecimiento óseo y el desarrollo del cartilago (Tam *et al.*, 2008; Wasserman *et al.*, 2015), el desarrollo muscular (Iannotti *et al.*, 2014), la fertilidad, en particular la motilidad y viabilidad de los espermatozoides en el ser humano (Amoako *et al.*, 2014) y la nidación del ovocito en la mujer (Wang *et al.*, 2006).

Referencias bibliográficas

- Amoako AA *et al.* (2014). *Fertil. Steril.*; 102:1260-1267.
 Beaumont H, Jensen J *et al.* (2009). *Br J Pharmacol*; 156(1):153-62.
 Blüher M, Engeli *et al.* (2006). *Diabetes*;55(11):3053-60.
 Buckley NE, Hansson S *et al.* (1998). *Neuroscience*; 82(4):1131-1149.
 Cota D, Marsicano G *et al.* (2003). *J clin Invest*; 112(3):423-431.
 Côté M, Matias I, *et al.* (2007). *Int J Obes (Lond)*; 31(4):692-9.
 Das SK, Paria BC *et al.* (1995). *Proc Natl Acad Sci USA*; 92(10):4332-4336.
 Despres JP et Lemieux I (2006). *Nature*; 444(7121):881-887.
 Di Carlo G et Izzo AA (2003). *Expert Opin Investig Drugs*; 12(1):39-49.
 Di Marzo V et Matias I (2005). *Nat Neurosci*; 8(5):585-9.
 Di Marzo V (2008). *Nature Reviews Drug Discovery*; 7:438-455.
 Di Marzo V *et al.* (2008). *British Journal of Pharmacology*; 153:1272-1280.
 Eckardt K *et al.* (2009). *Diabetologia*; 52:664-674.
 Gye MC, Kim C *et al.* (2001). *Arch Androl*; 46(1): 51-55.
 Hoehe MR, Carnazzo L *et al.* (2001). *New biol*; 3(9): 880-885.
 Iannotti FA *et al.* (2014). *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*; 117:2472-2481.

- Izzo AA, Mascolo N *et al.* (1999). Arch Pharmacol.; 360(2):221-3.
 Izzo AA, Fezza F *et al.* (2001). Br J Pharmacol; 134(3):563-70.
 Izzo AA et Sharkey KA (2010). Pharmacol Ther; 126(1):21-38.
 Jensen M. (2006). The American Journal of Medicine (2007); Vol 120 (9A), S25-S32.
 5 Jeong WI *et al.* (2008). Cell Metab.; 7:227-235.
 Jourdan T. *et al.* (2010). Diabetes; 59:926-934.
 Jourdan T. *et al.* (2012). Hepatology; 55:790-799.
 Jourdan T, Szanda G *et al.* (2014). Proc Natl Acad Sci USA; 111(50):E5420-E5428.
 Lehmann A, Blackshaw LA *et al.* (2002). Gastroenterology; 123(4):1129-34.
 10 Lecru L. *et al.* (2015). Kidney Int.; 88(1):72-84
 Liu J, Batkai S *et al.* (2003). J Biol Chem; 278(45):45034-45039.
 Liu J. *et al.* (2012). Gastroenterology; 142(5):1218-1228.
 Matias I *et al.* (2006). J. Clin. Endocrinol. Metab; 91:3171-3180.
 Maccarrone M, Bab I *et al.* (2015). Trends Pharmacol Sci.;36(5):277-296.
 15 Massa F, Marsicano G *et al.* (2004). J Clin Invest; 113(8):1202-9.
 Nogueiras R *et al.* (2008). Diabetes; 57, 2977-2991.
 Osei-Hyiaman D *et al.* (2005). J. Clin. Invest; 115(5): 1298-1305.
 Osei-Hyiaman D *et al.* (2008). J. Clin. Invest; 118:3160-3169.
 Pacher P et Kunos G (2013). FEBSJ; 280(9):1918-43.
 20 Pertwee RG (2001). Prog. Neurobiol; 63(5):569-611.
 Rajesh M *et al.* (2012). Diabetes; 61:716-727.
 Rinaldi-Carmona M *et al.* (1996). J Pharmacol Exp Ther; 278(2):871-8.
 Ravinet Trillou C *et al.* (2003). Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol; 284(2): R345-R353.
 Schaich CL *et al.* (2014). Physiol. Rep; 2(8):e12108.
 25 Tam J *et al.* (2008). FASEB J.; 22:285-294.
 Tam J, Vemuri VK *et al.* (2010). J Clin Invest; 120(8):2953-66.
 Tam J, Cinar R *et al.* (2012). Cell Metab; 16(2):167-79.
 Teixeira-Clerc F *et al.* (2006). Nature Medicine; 12(6):671-676.
 Slavic S. *et al.* (2013). J. Mol. Med.; 91:811-823.
 30 Song D. *et al.* (2011). Diabetologia; 54:1181-1189.
 Wang H. *et al.* (2006). Endocr. Rev. 27:427-448

Listado de secuencias

- 35 <110> UNIVERSIDAD DE NANTES
 UNIVERSIDAD DE BORGOÑA
 INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET DE LA RECHERCHE MEDICALE (INSERM)
 <120> 1,4-DI-(4-METILTIOFENIL)-3-FTALOILAZETIDIN-2-ONA Y SUS DERIVADOS
 40 <130> B371132D34726
 <150> FR1559067
 <151> 2015-09-25
 45 <160> 26
 <170> PatentIn versión 3.5
 50 <210> 1
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> artificial
 55 <220>
 <223> Cebador sentido de la proteína de unión a TATABox
 <400> 1
 60 acggcacagg acttactcca 20
 <210> 2
 <211> 22
 <212> ADN
 65 <213> artificial

<220>
 <223> Cebador antisentido de la proteína de unión a TATABox

<400> 2

5 gctgtctttg ttgctctcc aa 22

<210> 3
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> artificial

10

<220>
 <223> Cebador sentido de CB1R

15 <400> 3

ccgcaaagat agtcccaatg 20

20 <210> 4
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> artificial

25 <220>
 <223> Cebador antisentido de CB1R

<400> 4

30 aaccccaccc agtttgaac 19

<210> 5
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> artificial

35

<220>
 <223> Cebador sentido de CB2R

40 <400> 5

caaaggagga agtgcttgg 20

<210> 6
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> artificial

45

<220>
 <223> Cebador antisentido de CB2R

<400> 6

50

55 tggagagatc ggcttatgtt g 21

<210> 7
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> artificial

60

<220>
 <223> Cebador sentido de F4/80

<400> 7

65 tgacaaccag acggcttg 20

<210> 8
 <211> 22
 <212> ADN
 5 <213> artificial

 <220>
 <223> Cebador antisentido de F4/80

 10 <400> 8

 gcaggcgagg aaaagatagt gt 22

 <210> 9
 15 <211> 19
 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 20 <223> Cebador sentido de FAAH

 <400> 9

 ggaccttgct ccccttct 19
 25
 <210> 10
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> artificial
 30
 <220>
 <223> Cebador antisentido de FAAH

 <400> 10
 35
 cctgctgggc tgcacata 19

 <210> 11
 <211> 20
 40 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 <223> Cebador sentido de FAS
 45
 <400> 11

 ggctgcagtg aatgaattg 20

 50 <210> 12
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> artificial

 55 <220>
 <223> Cebador antisentido de FAS

 <400> 12

 60 ttctgtacctc cttggcaaac 20

 <210> 13
 <211> 20
 <212> ADN
 65 <213> artificial

<220>
 <223> Cebador sentido de G6P
 <400> 13
 5 tggcctggct tattgtacct 20
 <210> 14
 <211> 20
 10 <212> ADN
 <213> artificial
 <220>
 <223> Cebador antisentido de G6P
 15 <400> 14
 gtgctaagag gaagaccga 20
 20 <210> 15
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> artificial
 25 <220>
 <223> Cebador sentido de GLUT2
 <400> 15
 30 ctcttcacca actggccct 19
 <210> 16
 <211> 21
 <212> ADN
 35 <213> artificial
 <220>
 <223> Cebador antisentido de GLUT2
 40 <400> 16
 cagcagatag gccaagtagg a 21
 <210> 17
 45 <211> 21
 <212> ADN
 <213> artificial
 <220>
 50 <223> Cebador sentido de GLUT4
 <400> 17
 gatgccgtcg gggttcagc a 21
 55 <210> 18
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> artificial
 60 <220>
 <223> Cebador antisentido de GLUT4
 <400> 18
 65 tgttcagtc actcgctgcc g 21

5	<210> 19	
	<211> 22	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
10	<220>	
	<223> Cebador sentido de DGAT2	
	<400> 19	
	agccctccaa gacatcttct ct	22
15	<210> 20	
	<211> 19	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
20	<220>	
	<223> Cebador antisentido de DGAT2	
	<400> 20	
	tgcagctgtt ttccacct	19
25	<210> 21	
	<211> 20	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
30	<220>	
	<223> Cebador sentido de NAPE-PLD	
	<400> 21	
	ctcgatatct gcgtggaaca	20
35	<210> 22	
	<211> 20	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
40	<220>	
	<223> Cebador antisentido de NAPE-PLD	
	<400> 22	
	ctgaattctg gcgctttctc	20
45	<210> 23	
	<211> 20	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
50	<220>	
	<223> Cebador sentido de SCD1	
	<400> 23	
	ccggagaccc ctagatcga	20
55	<210> 24	
	<211> 26	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
60	<220>	
	<223> Cebador antisentido de SCD1	
	<400> 24	
	ccggagaccc ctagatcga	20
65	<210> 25	
	<211> 27	
	<212> ADN	
	<213> artificial	

<220>
 <223> Cebador antisentido de SCD1

 <400> 24
 5 tagcctgtaa aagatttctg caaacc 26

 <210> 25
 <211> 21
 10 <212> ADN
 <213> artificial

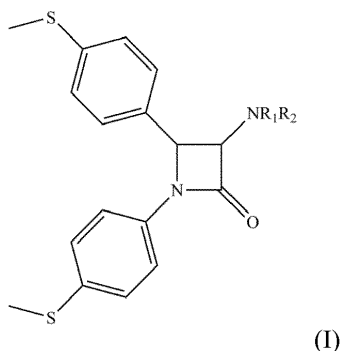
 <220>
 <223> Cebador sentido de TNF-a
 15 <400> 25

 cggggatgac ggtccccaaa g 21
 20 <210> 26
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> artificial
 25 <220>
 <223> Cebador antisentido de TNF-a

 <400> 26
 30 tggtttgcta cgacgtgggc t 21

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula (I) siguiente:

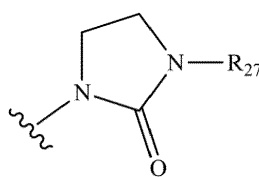
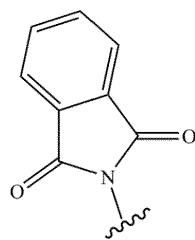


en la que:

- R_1 y R_2 , idénticos o diferentes, representan un átomo de hidrógeno o un grupo COR_3 , SO_2R_4 o $CONR_5R_6$; o forman juntos con el átomo de nitrógeno que los lleva un heterociclo de 5 o 6 eslabones que comprende por lo menos un heteroátomo suplementario, grupo $C=O$, o grupo arilo;
- R_3 , R_4 , R_5 y R_6 representan, independientemente unos de los otros, un átomo de hidrógeno, o un grupo arilo, estando dicho grupo opcionalmente sustituido por uno o varios grupos seleccionados de entre un átomo de halógeno, OR_7 , NR_8R_9 , SR_{10} , $S(O)R_{11}$, SO_2R_{12} , $SO_2NR_{13}R_{14}$, $OCOR_{15}$, $NR_{16}COR_{17}$, $NR_{18}C(O)OR_{19}$, CO_2R_{20} , $CONR_{21}R_{22}$, OCO_2R_{23} , $OCONR_{24}R_{25}$, COR_{26} , nitro (NO_2), ciano (CN), oxo ($=O$) y CF_3 ; y
- R_7 a R_{26} representan, independientemente unos de los otros, un átomo de hidrógeno o un grupo (C_1-C_6) alquilo, arilo o aril- (C_1-C_6) alquilo,

o una sal y/o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. Compuesto según la reivindicación 1, caracterizado por que R_1 y R_2 forman junto con el átomo de nitrógeno que los lleva un heterociclo de fórmulas (II) o (III) siguientes:

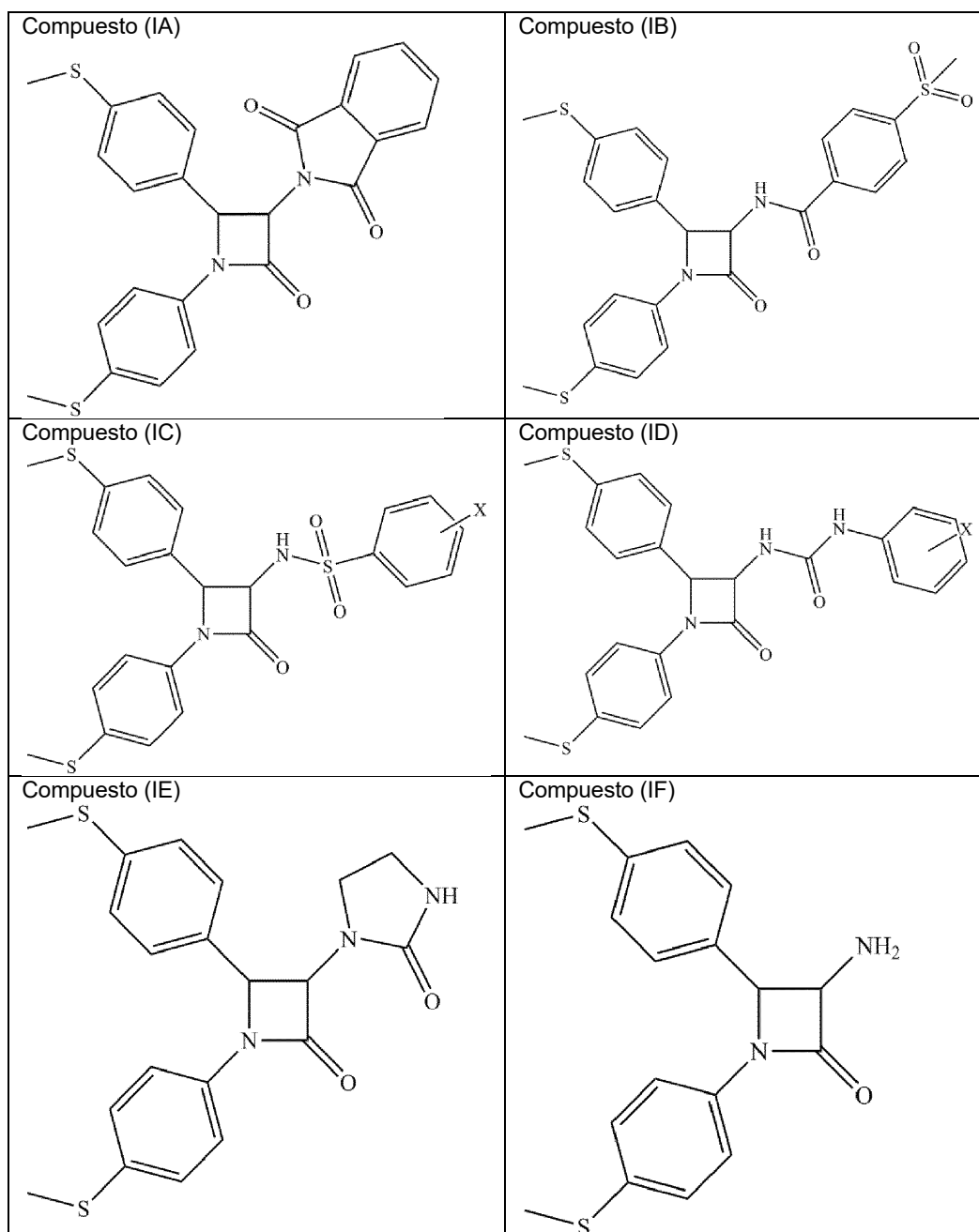


en las que R_{27} representa un átomo de hidrógeno o un grupo COR_3 o SO_2R_4 , siendo R_3 y R_4 tales como los definidos en la reivindicación 1, en particular R_{27} representa un átomo de hidrógeno.

3. Compuesto según la reivindicación 1, caracterizado por que:

- R_1 y R_2 , idénticos o diferentes, representan un átomo de hidrógeno o un grupo COR_3 , SO_2R_4 o $CONR_5R_6$; preferentemente, R_1 es un átomo de hidrógeno y R_2 representa un grupo COR_3 , SO_2R_4 o $CONR_5R_6$,
- R_3 , R_4 y R_5 representan, independientemente unos de los otros, un grupo arilo, preferentemente un fenilo, opcionalmente sustituido por un grupo seleccionado de entre un átomo halógeno, preferentemente Cl o F, CF_3 y SO_2R_{12} , representando R_{12} un grupo (C_1-C_6) alquilo, preferentemente un metilo; y
- R_6 representa un átomo de hidrógeno.

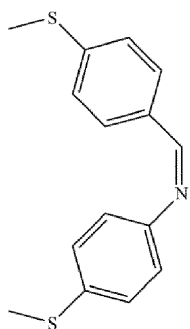
estando dicho compuesto seleccionado ventajosamente de entre los compuestos siguientes:



o una sal y/o un solvato farmacéuticamente aceptable de los mismos, en los que X representa un átomo de hidrógeno, un halógeno o CF₃.

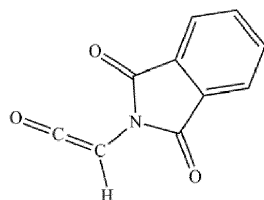
5 4. Procedimiento de preparación de un compuesto de fórmula (I) tal como el definido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende las etapas siguientes:

(i) condensación del 4-metilbencaldehído con la 4-metilbencilamina para obtener el compuesto de fórmula (IV) siguiente:



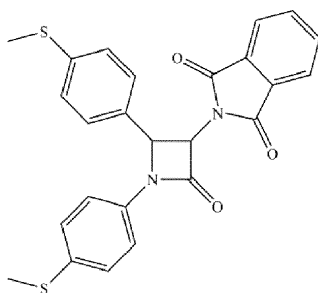
(IV) ;

(ii) cicloadición de Staudinger entre el compuesto de fórmula (IV) obtenido y un ceteno de fórmula (V) siguiente:



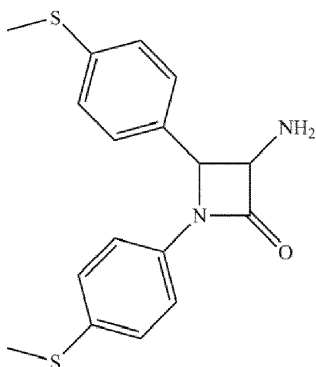
(V)

para obtener el compuesto de fórmula (IA) siguiente:



(IA) ;

(iii) opcionalmente, desprotección de la función amina ftaloilada del compuesto de fórmula (IA), preferentemente por la acción de la metilhidrazina, para obtener el compuesto de fórmula (IF) siguiente:



(IF),

y después, opcionalmente, acoplamiento del compuesto de fórmula (IF) así obtenido con un compuesto de fórmula R_1-X y/o R_2-X' , en la que R_1-X y R_2-X' son unas formas activadas, tales como unos cloruros de acilos, cloruros de sulfonilos e isocianatos de arilos, unos grupos R_1 y R_2 tales como los definidos en la reivindicación 1; y

(iv) recuperación del compuesto obtenido en la etapa (ii) o en la etapa (iii).

5. Utilización *in vitro* de por lo menos un compuesto de fórmula (I) tal como el definido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, como agonista inverso de los receptores endocannabinoides CB1 periféricos.

6. Composición farmacéutica que comprende como principio activo por lo menos un compuesto de fórmula (I) tal como el definido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, y por lo menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 5 7. Composición no terapéutica, que comprende por lo menos un compuesto de fórmula (I) tal como el definido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, y por lo menos un excipiente aceptable.
8. Compuesto tal como el definido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, o composición farmacéutica tal como la definida según la reivindicación 6, para su utilización como medicamento.
- 10 9. Compuesto tal como el definido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, o composición farmacéutica tal como la definida según la reivindicación 6, para su utilización en la prevención o el tratamiento de patologías asociadas a una hiperactividad del sistema endocannabinoide, estando dichas patologías seleccionadas de entre la obesidad y los trastornos metabólicos que están asociados a la misma, la resistencia a la insulina, la diabetes y las complicaciones asociadas, la esteatosis hepática, la fibrosis hepática, la cirrosis, la fibrosis renal, la nefropatía, las cardiomiopatías, la gastroparesia, la pérdida de hueso y/o de cartílago, la pérdida de músculo y los trastornos de la fertilidad.
- 15 10. Compuesto o composición farmacéutica para su utilización según la reivindicación 9, caracterizado por que se administra dicho compuesto o dicha composición a un sujeto sometido a una dieta alimenticia normocalórica equilibrada.
- 20 11. Compuesto o composición farmacéutica para su utilización según la reivindicación 9 o 10, caracterizado por que se administra dicho compuesto o dicha composición a dicho sujeto antes y/o durante la o las comidas del sujeto.
- 25 12. Compuesto de fórmula (I) tal como el definido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, y agente terapéutico destinado a prevenir o tratar una patología asociada a una hiperactividad del sistema endocannabinoide, como preparación combinada para una administración simultánea, separada o espaciada en el tiempo.
- 30 13. Procedimiento no terapéutico para favorecer y/o acelerar el aumento de peso o para ralentizar y/o atenuar el aumento de peso en un sujeto, que comprende la administración de una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I) tal como el definido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, o de una composición tal como la definida según la reivindicación 7, estando dicho sujeto sometido preferentemente a una dieta alimenticia normocalórica equilibrada.
- 35 14. Procedimiento no terapéutico según la reivindicación 15, en el que se administra dicho compuesto o dicha composición a dicho sujeto antes y/o durante la o las comidas del sujeto.
- 40

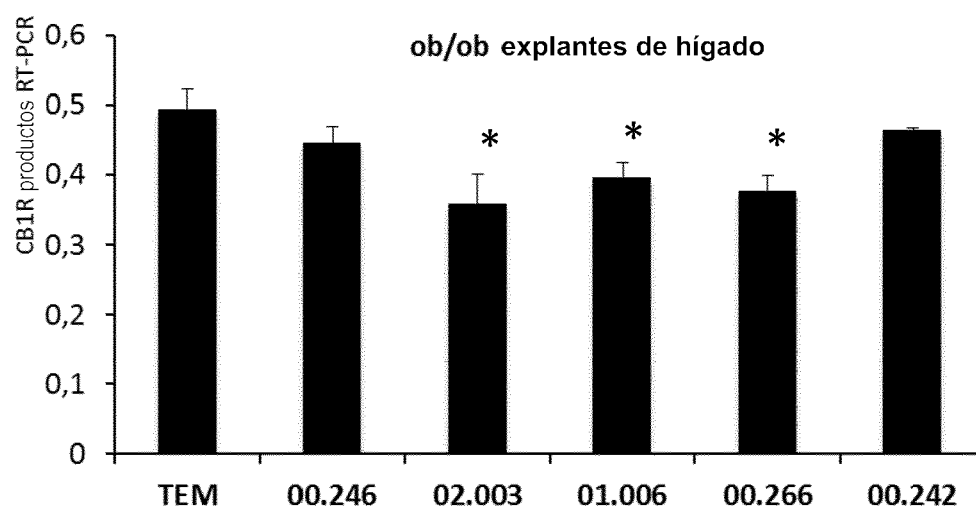
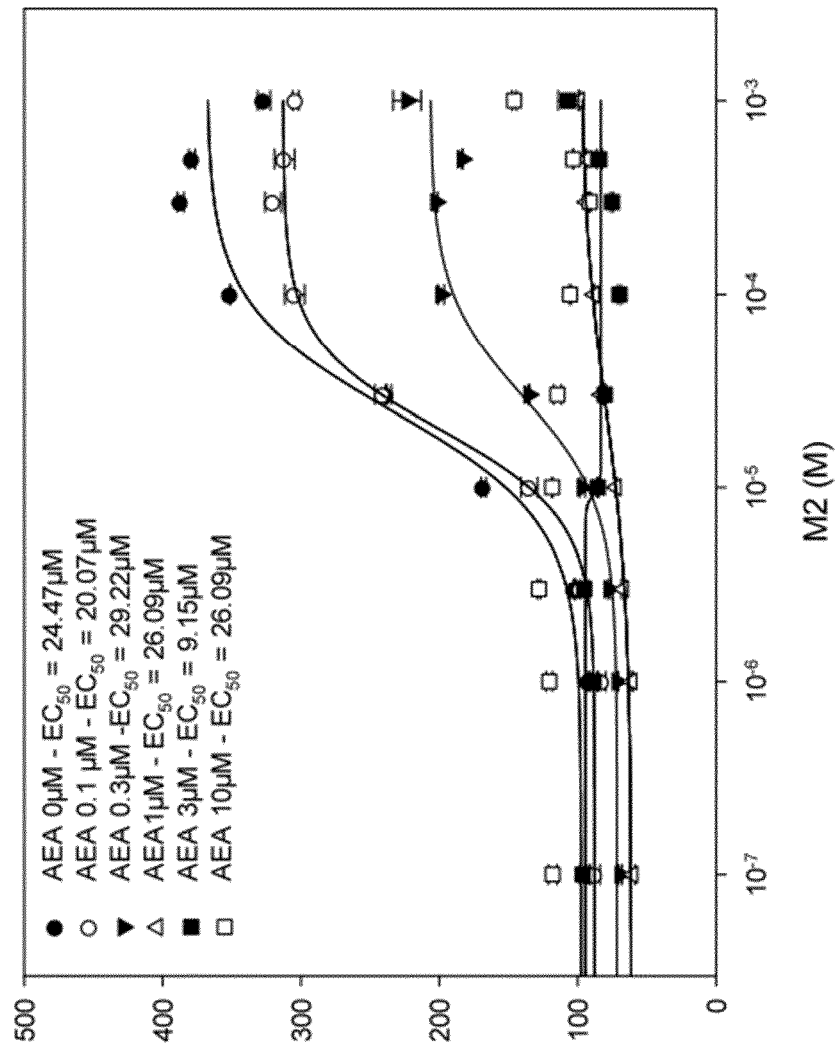


Figura 1



JM-02.003

Figura 2A

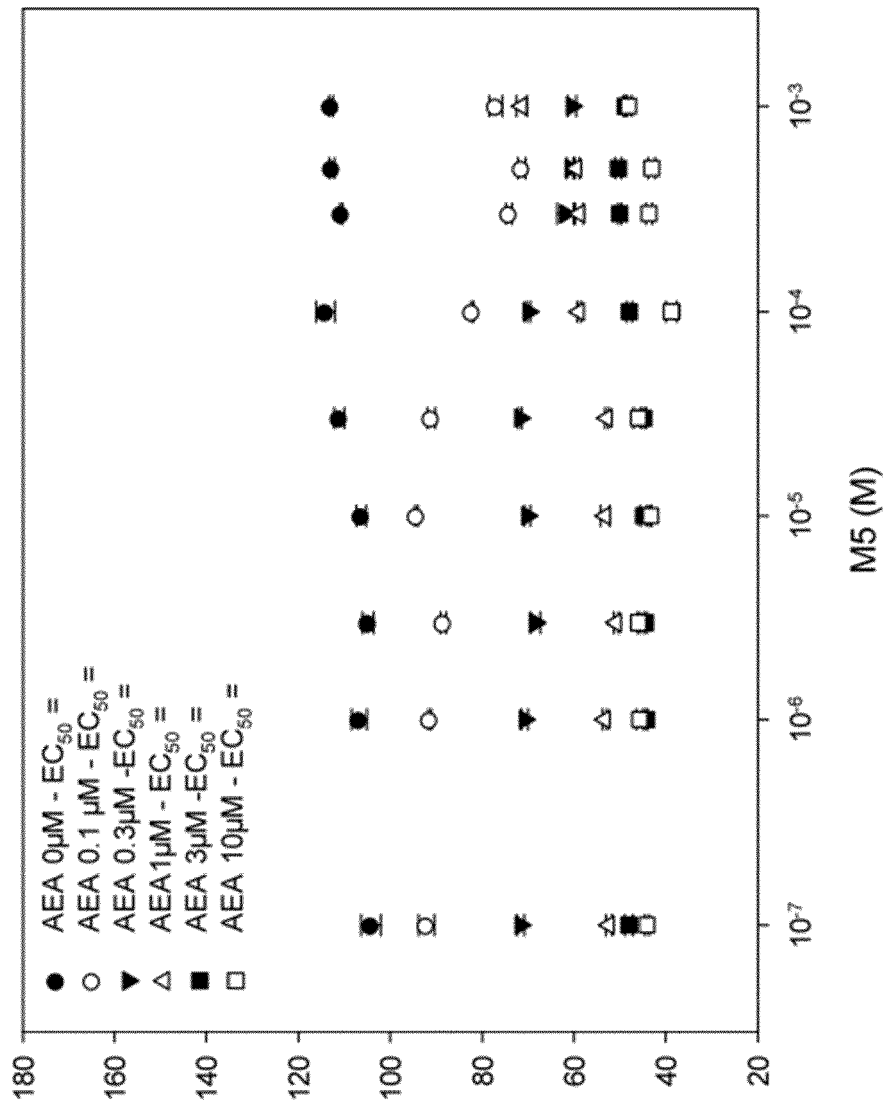
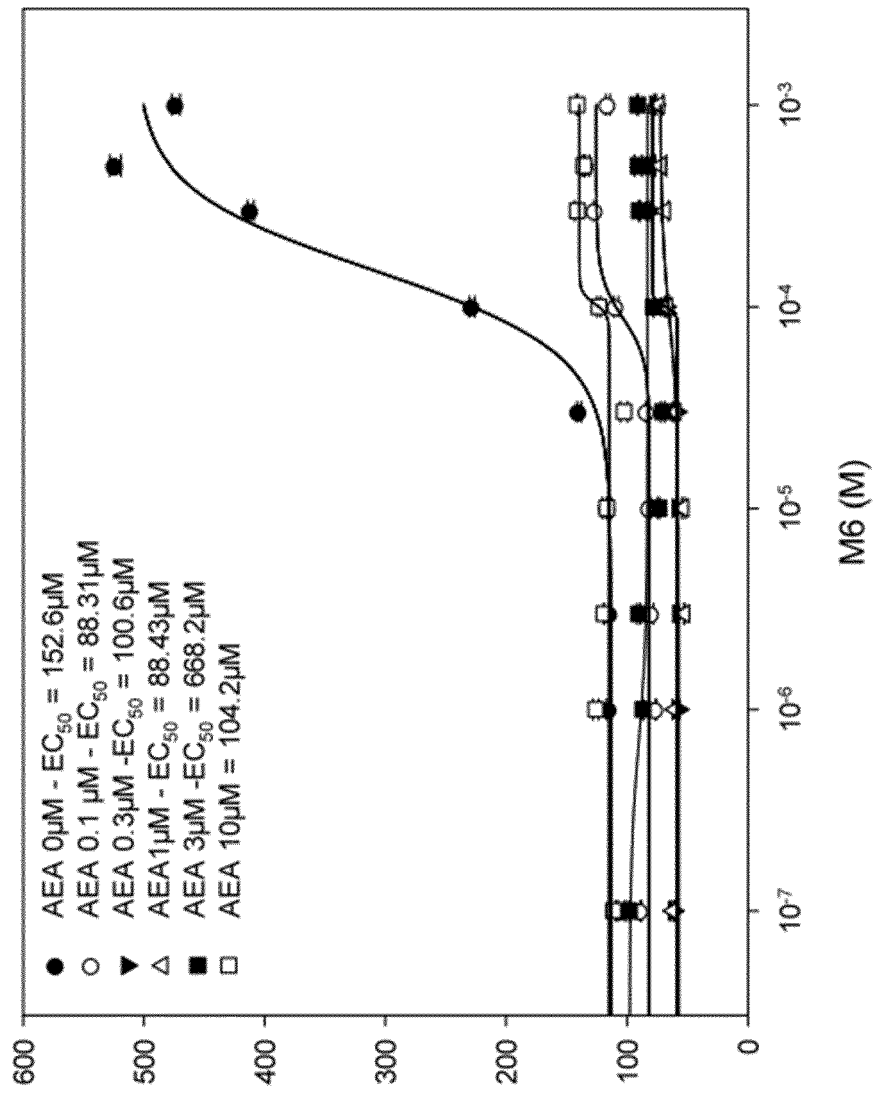


Figura 2B

JM-01.1006



JM-00.266

Figura 2C

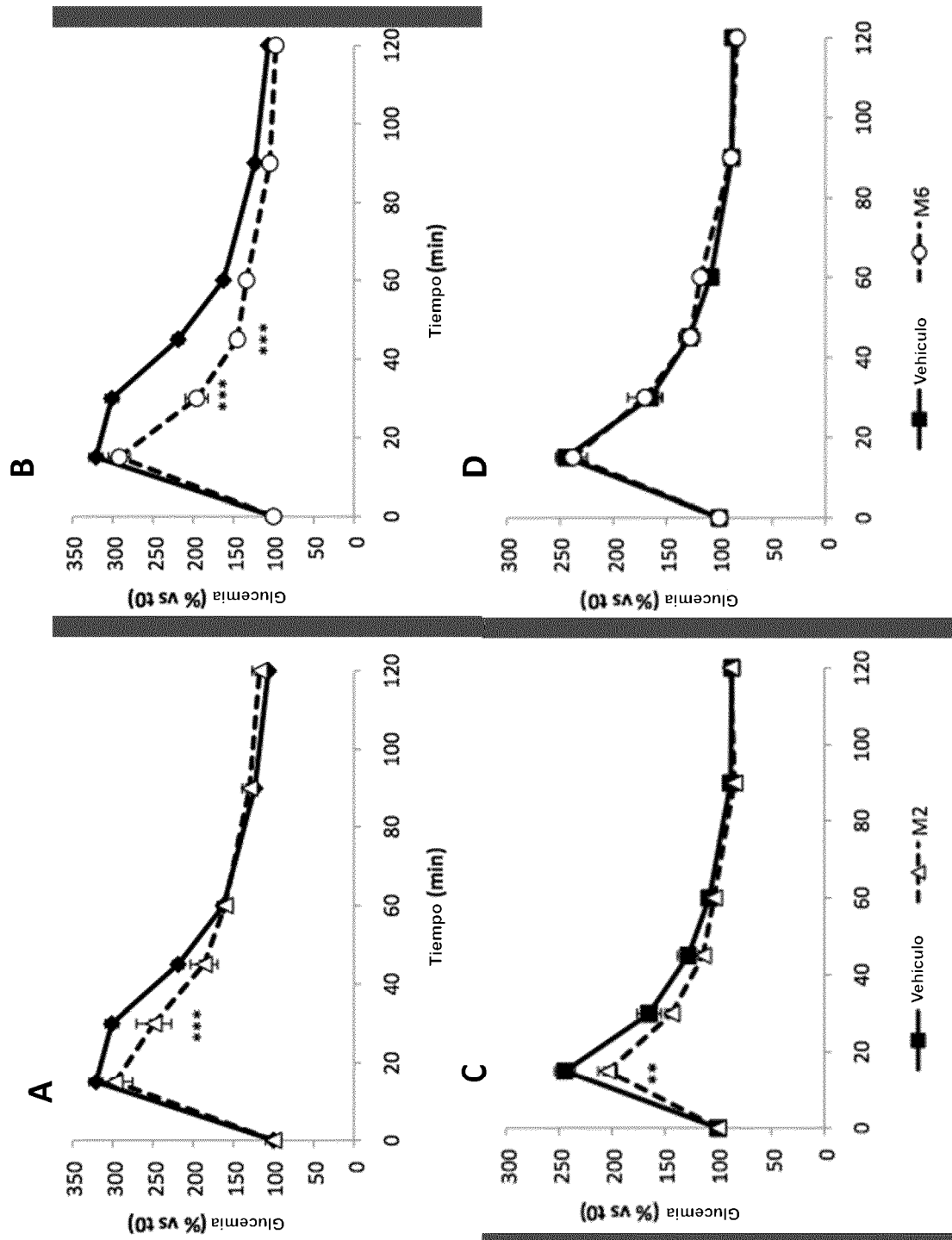


Figura 3

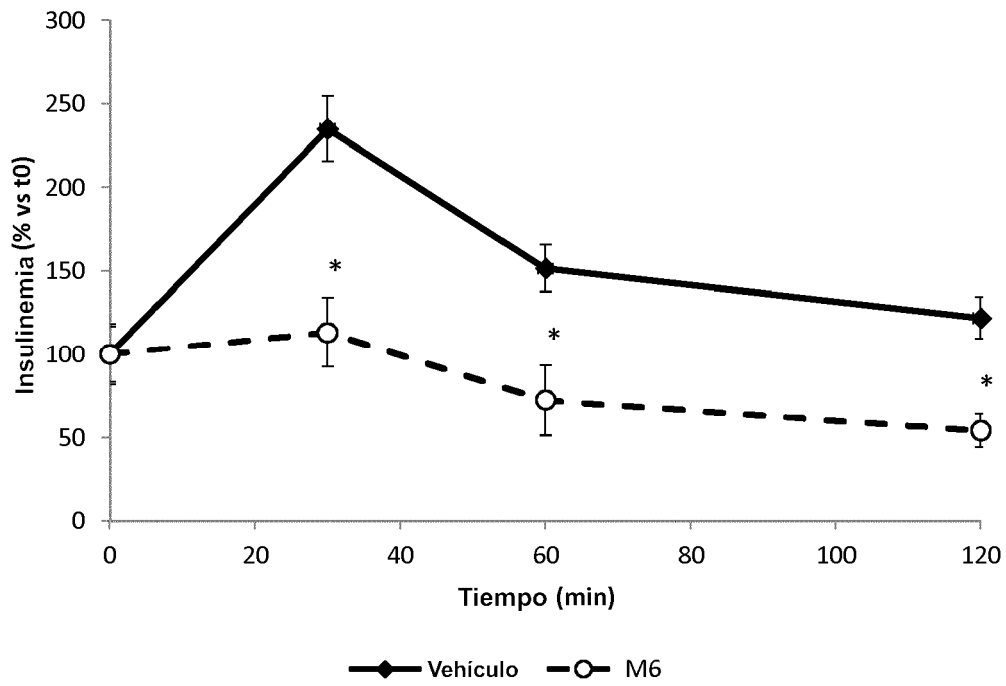


Figura 4A

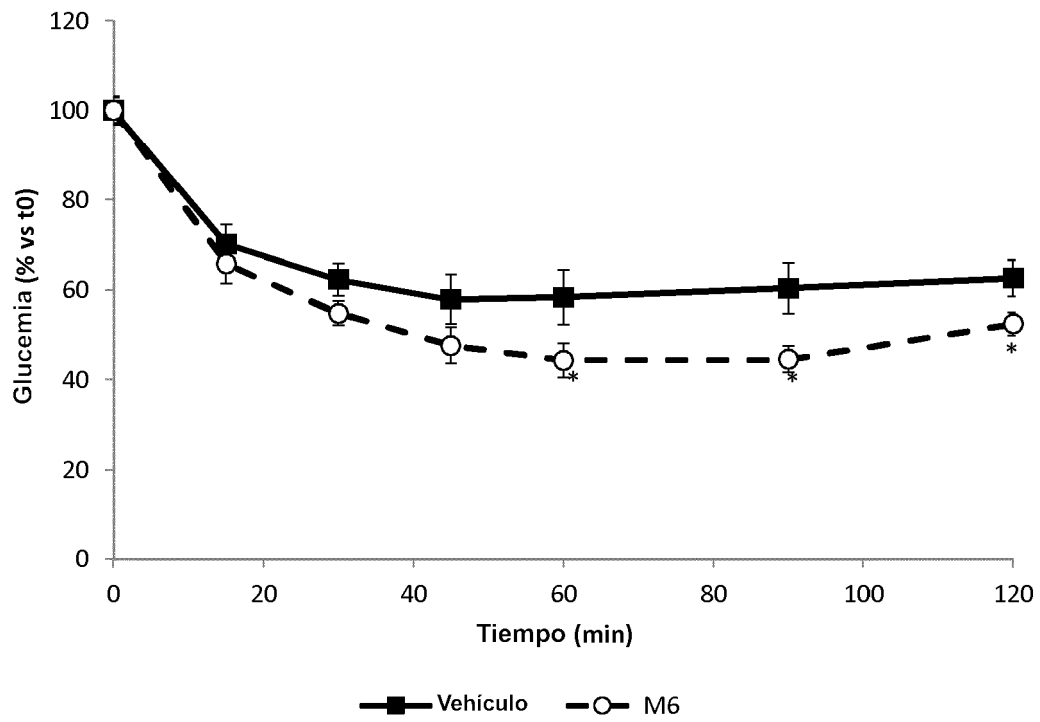


Figura 4B

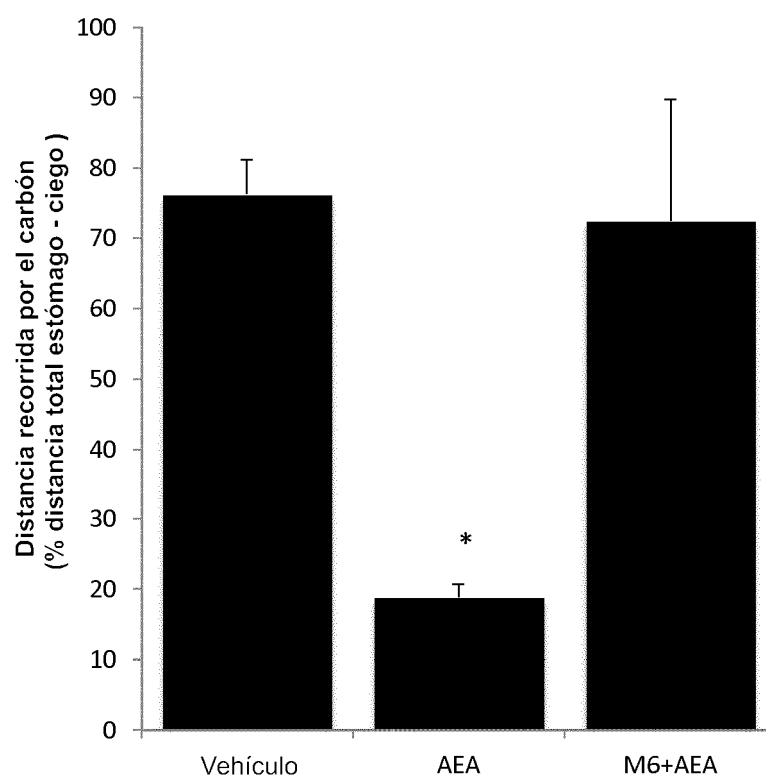


Figura 5

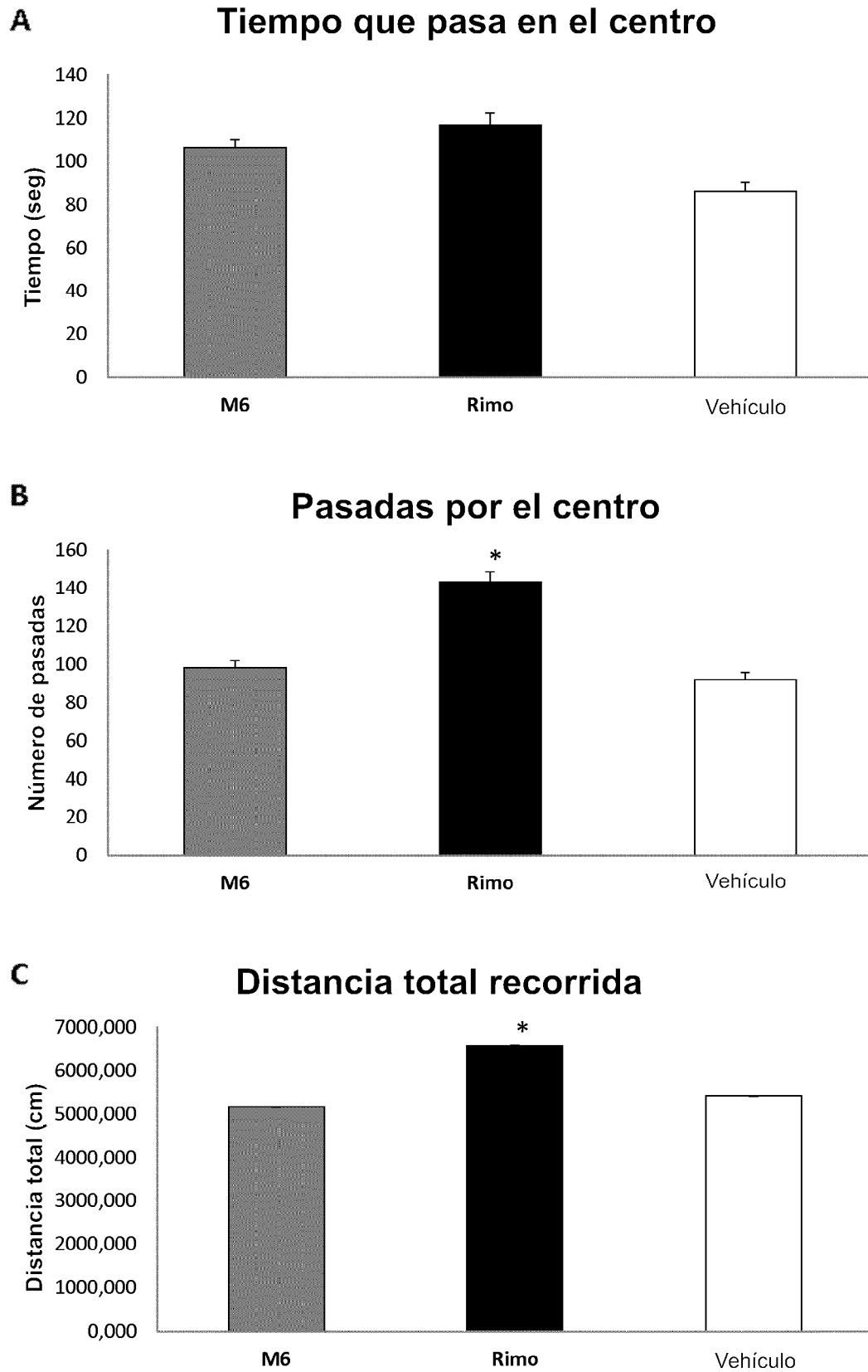


Figura 6

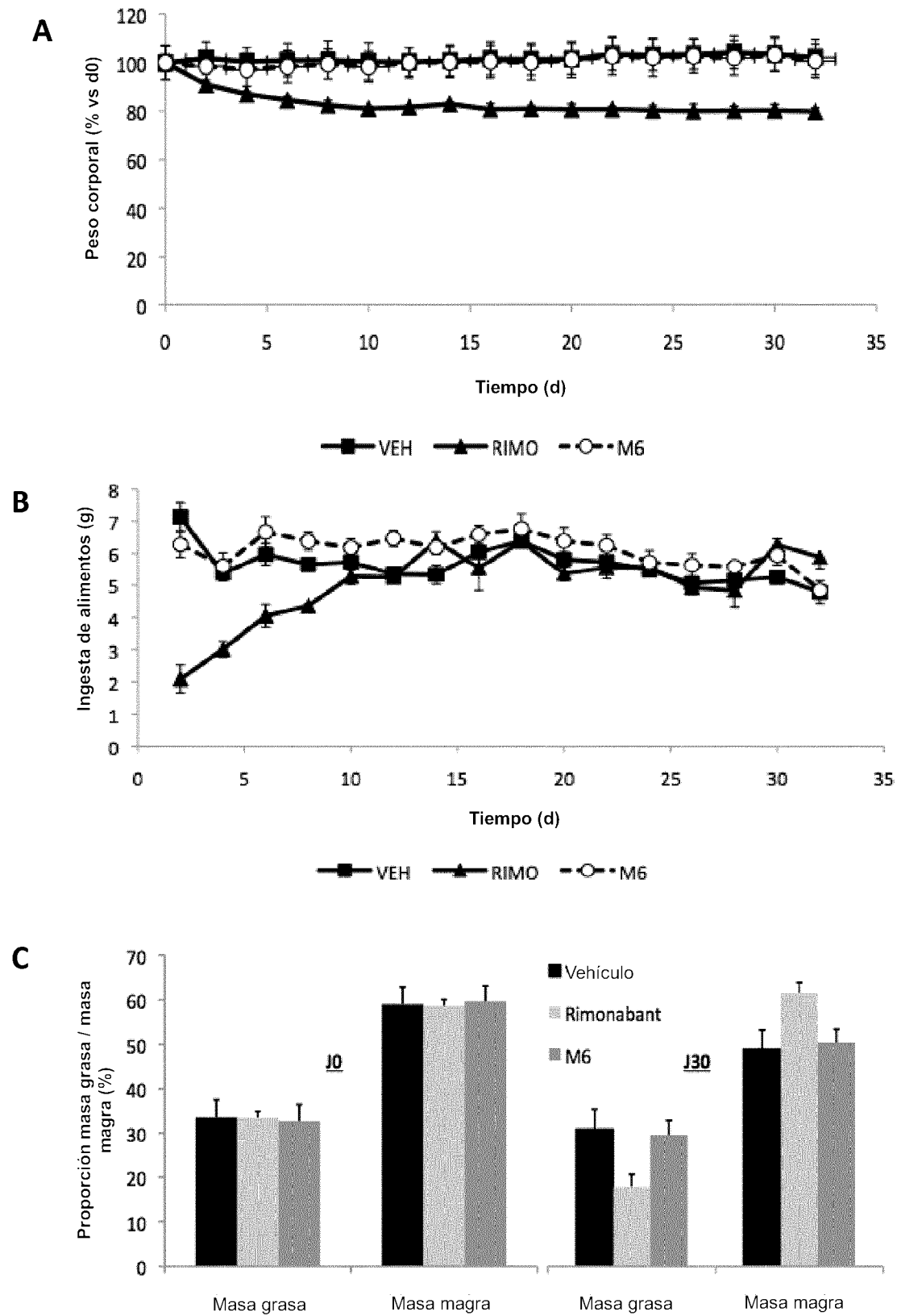


Figura 7

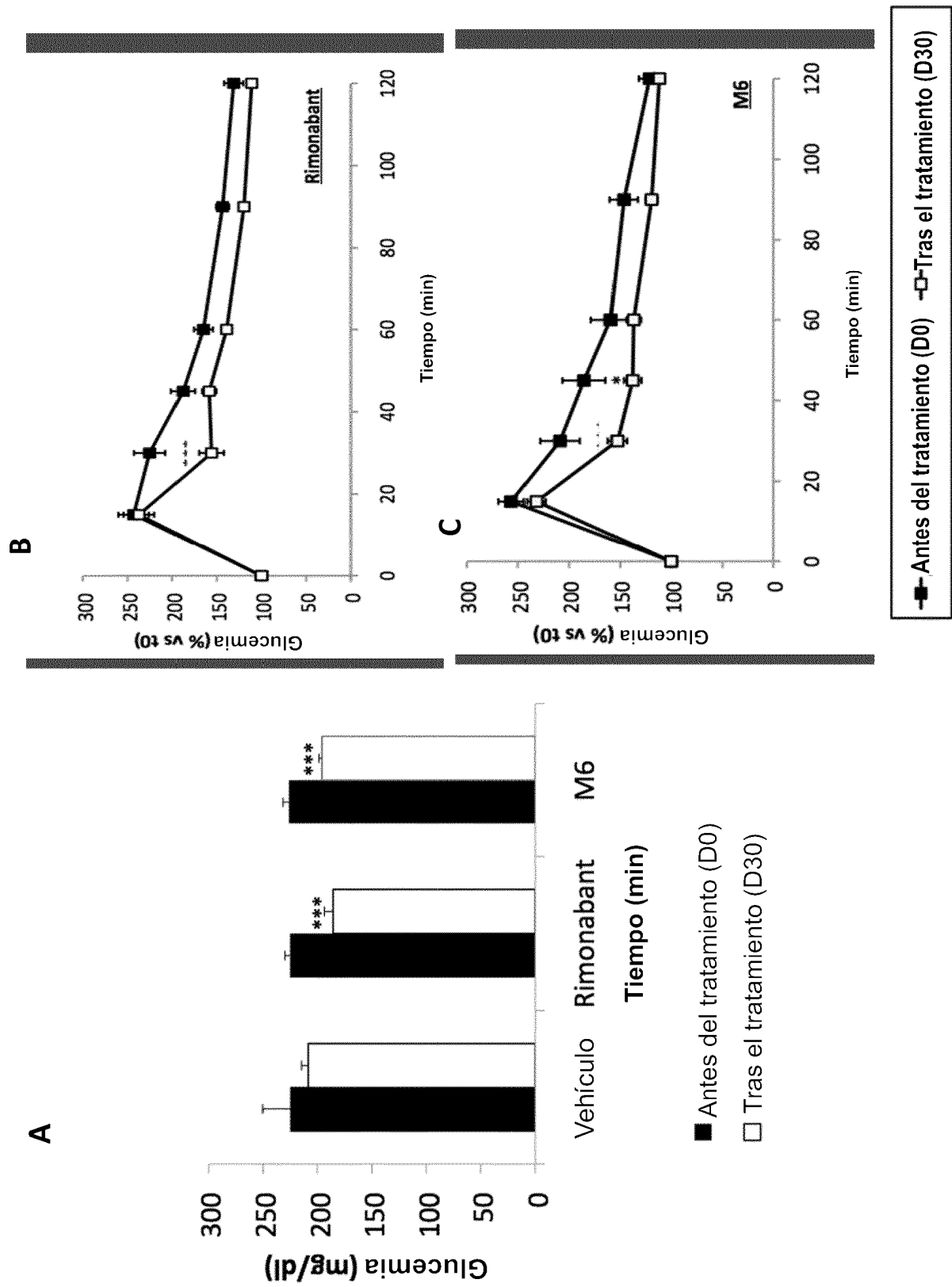
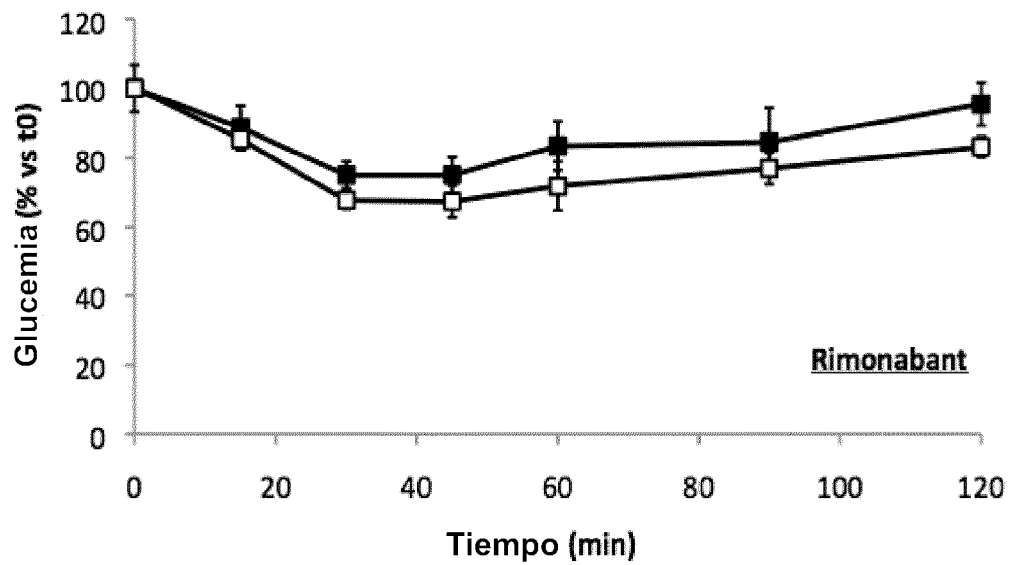
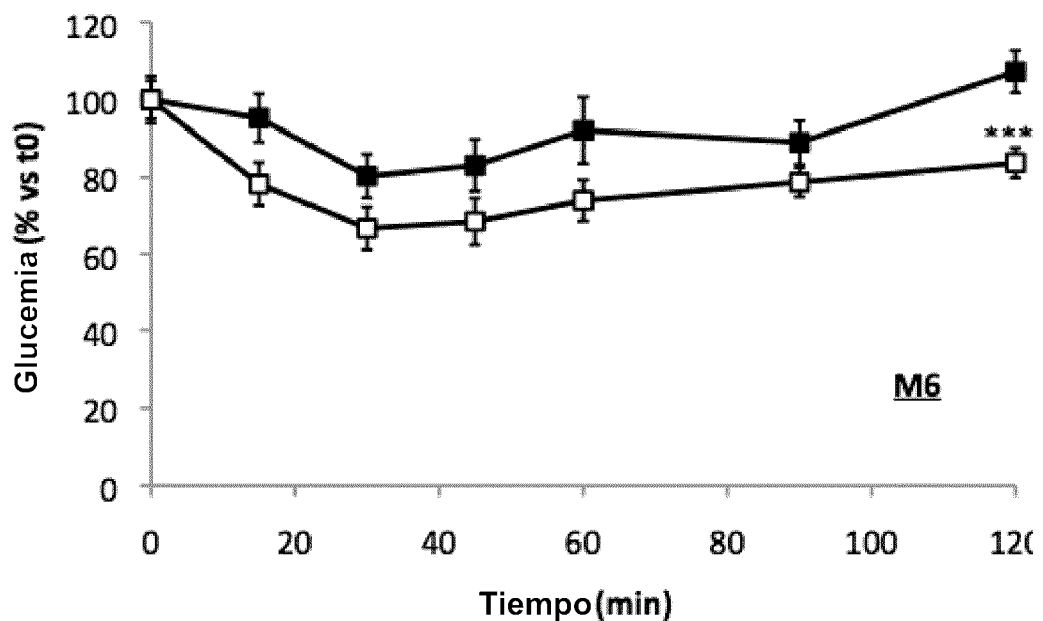


Figura 8

A



B



■ Antes del tratamiento (D0) □ Tras el tratamiento (D30)

Figura 9

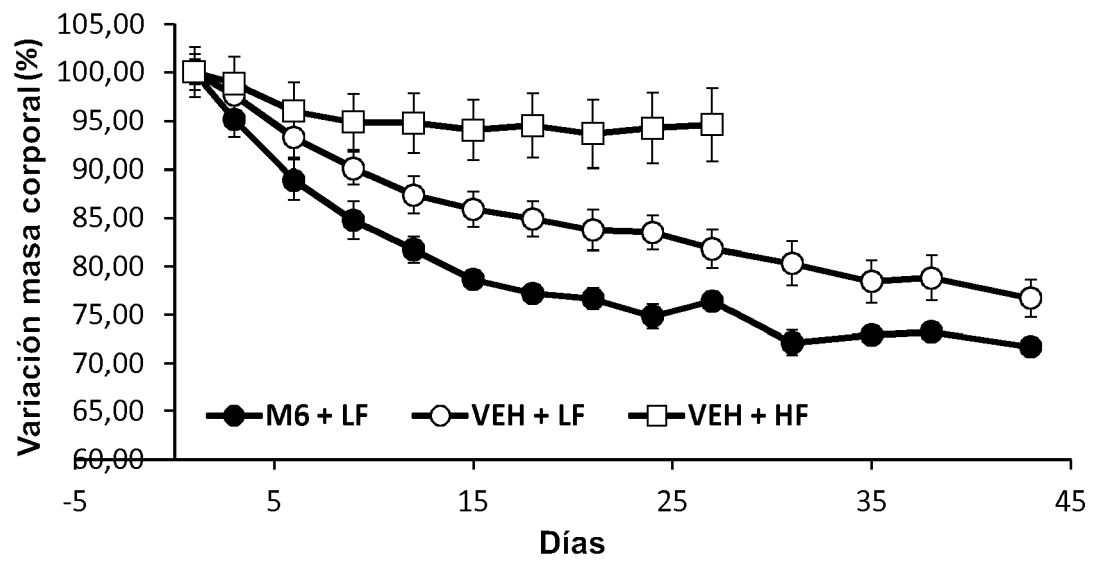


Figura 10

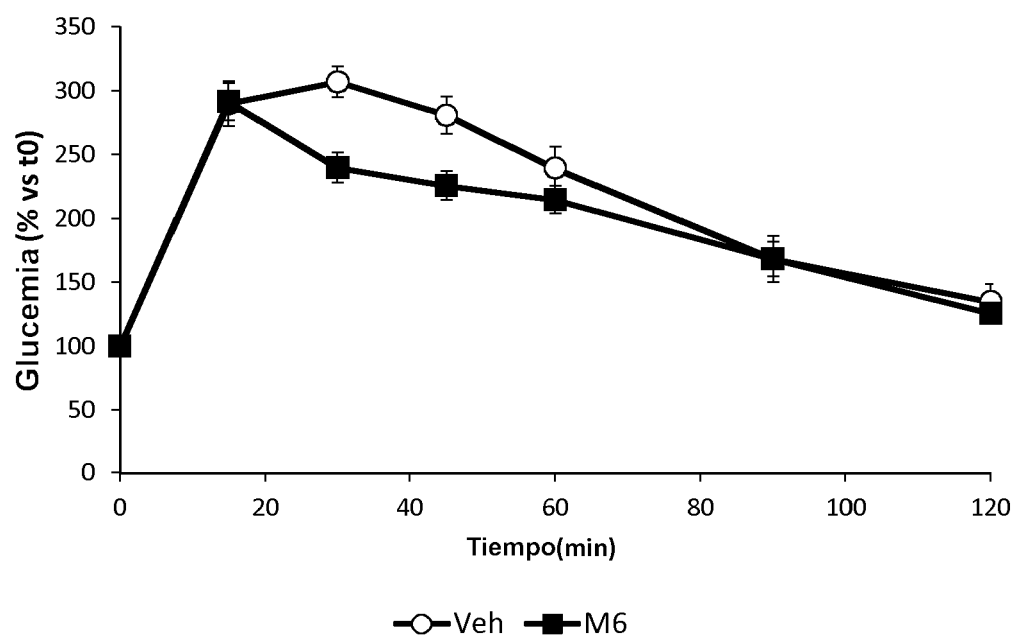


Figura 11

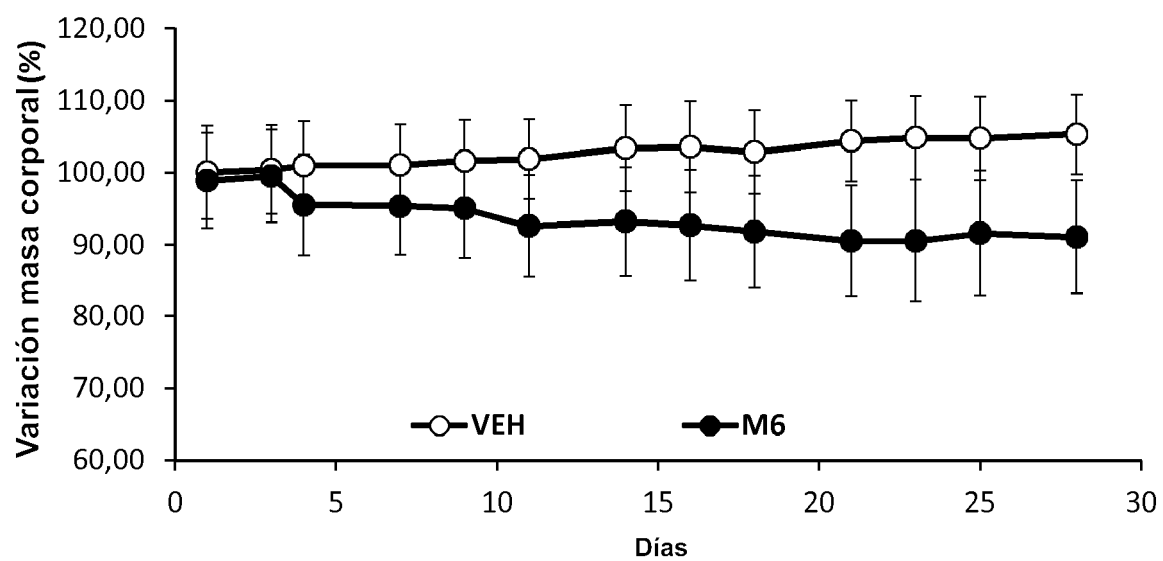


Figura 12

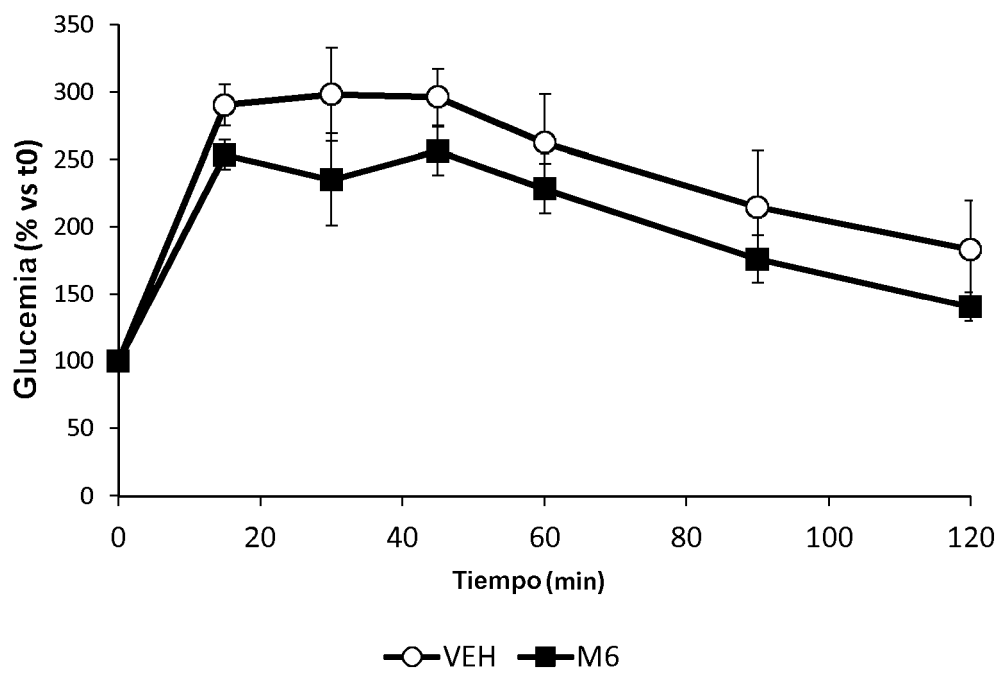


Figura 13

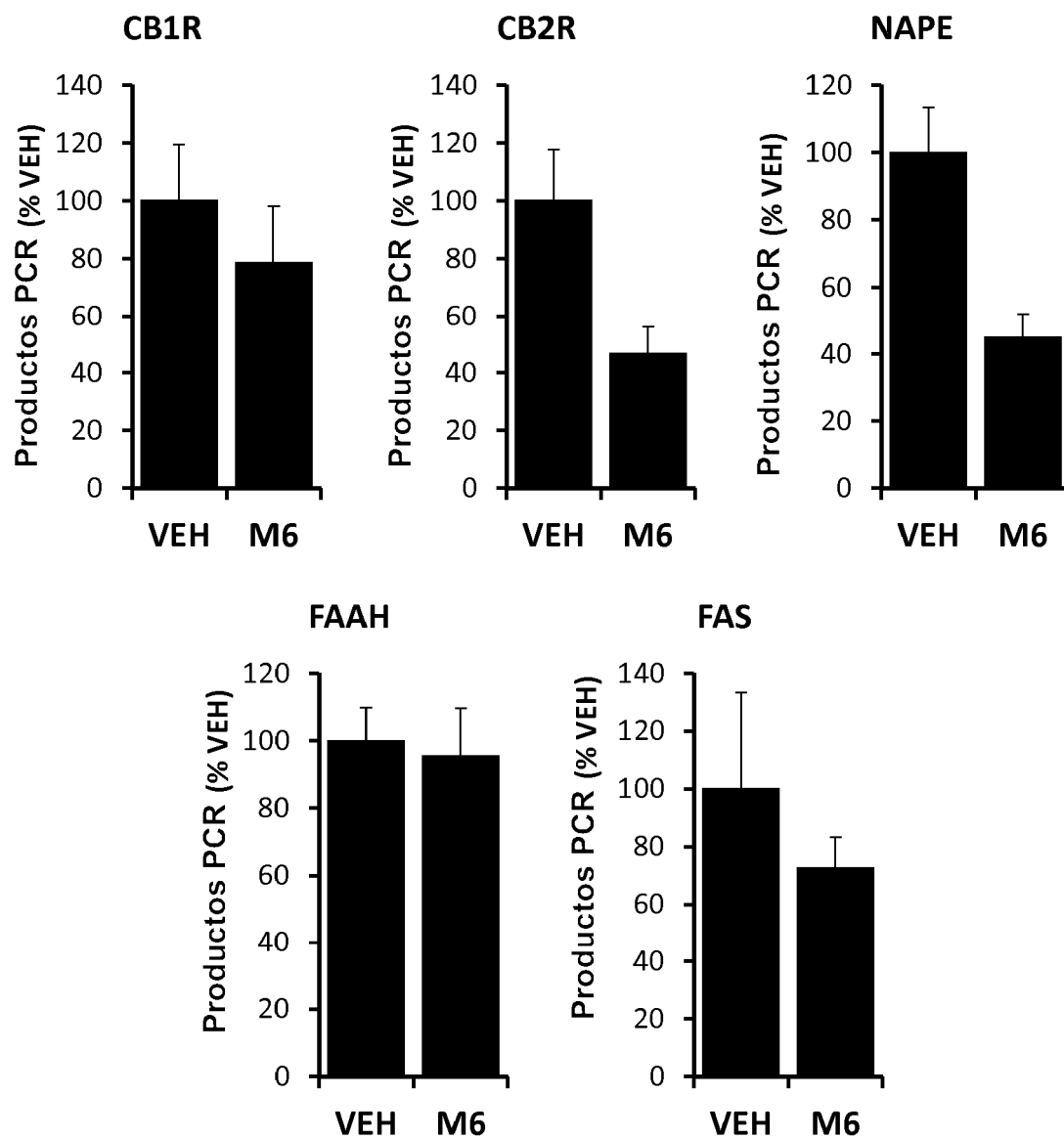


Figura 14

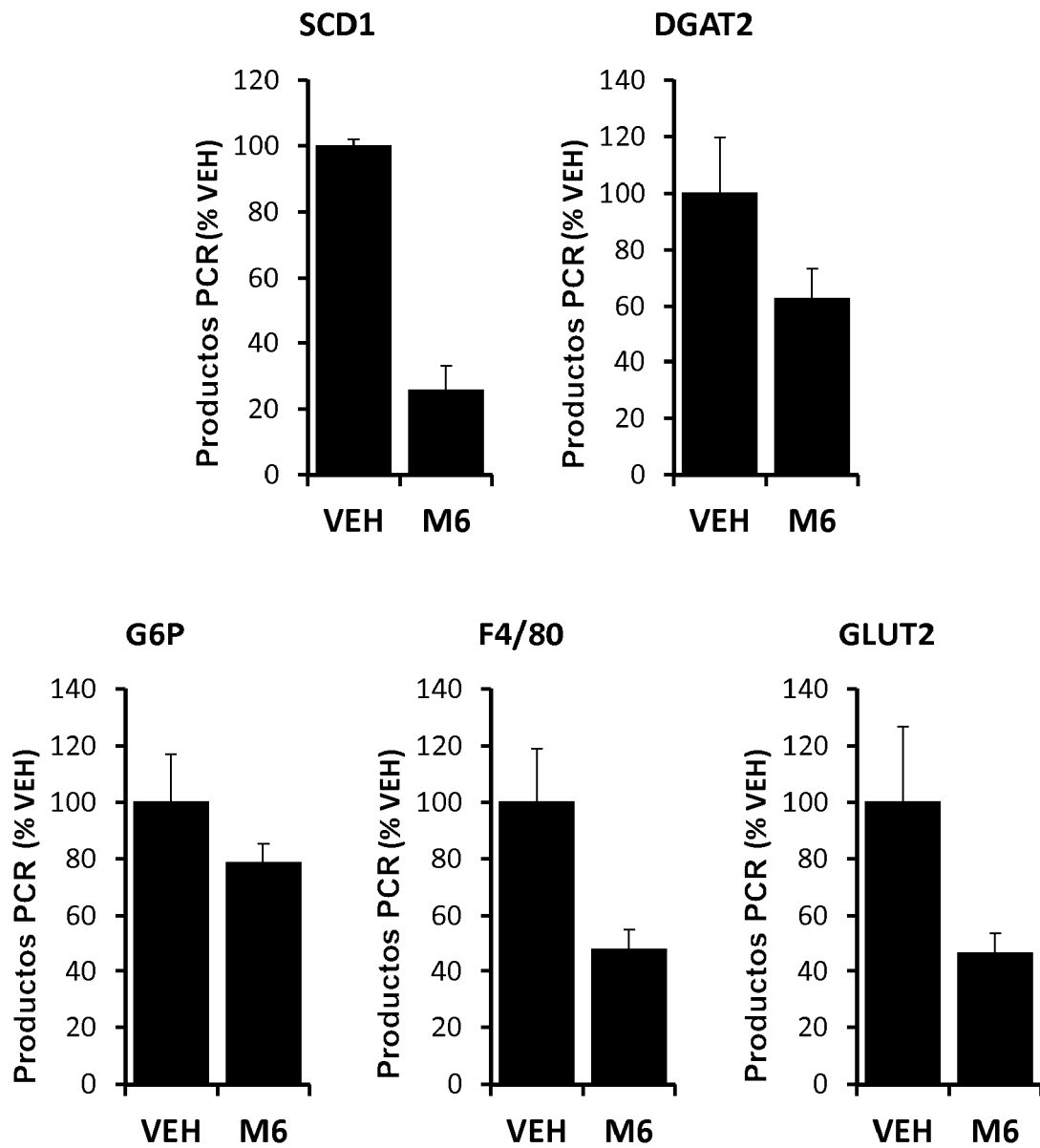


Figura 15

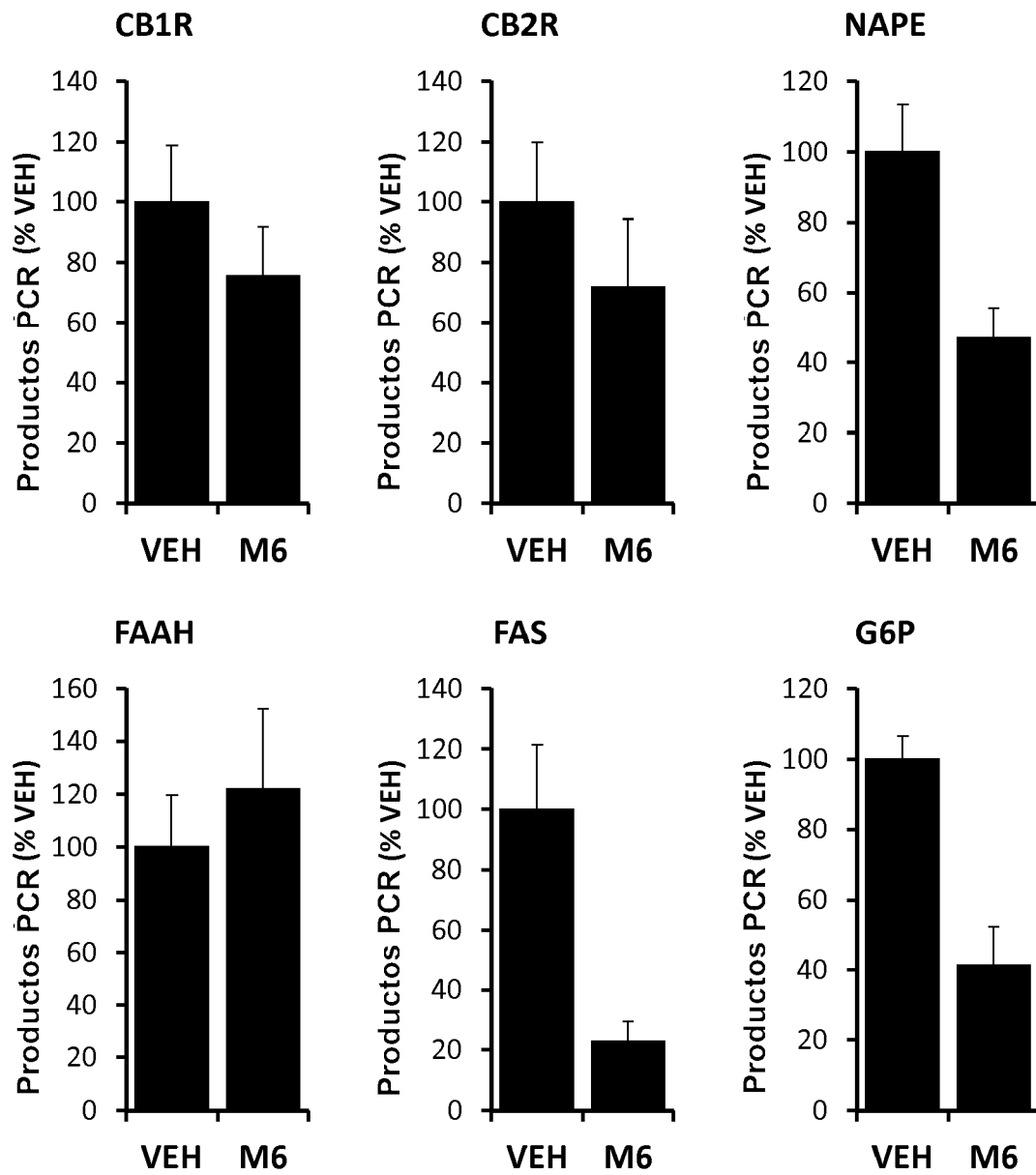


Figura 16

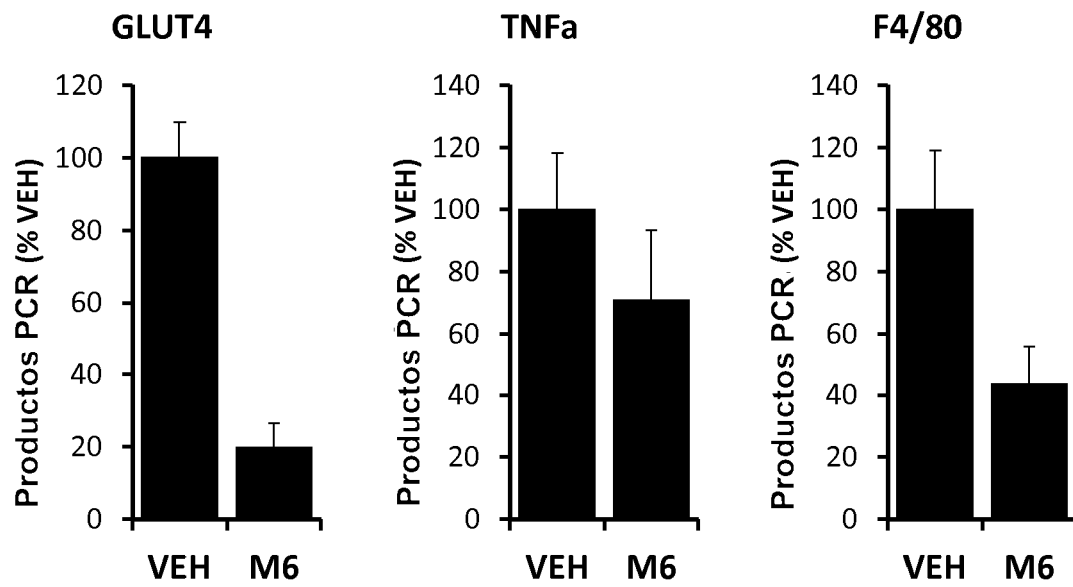


Figura 17

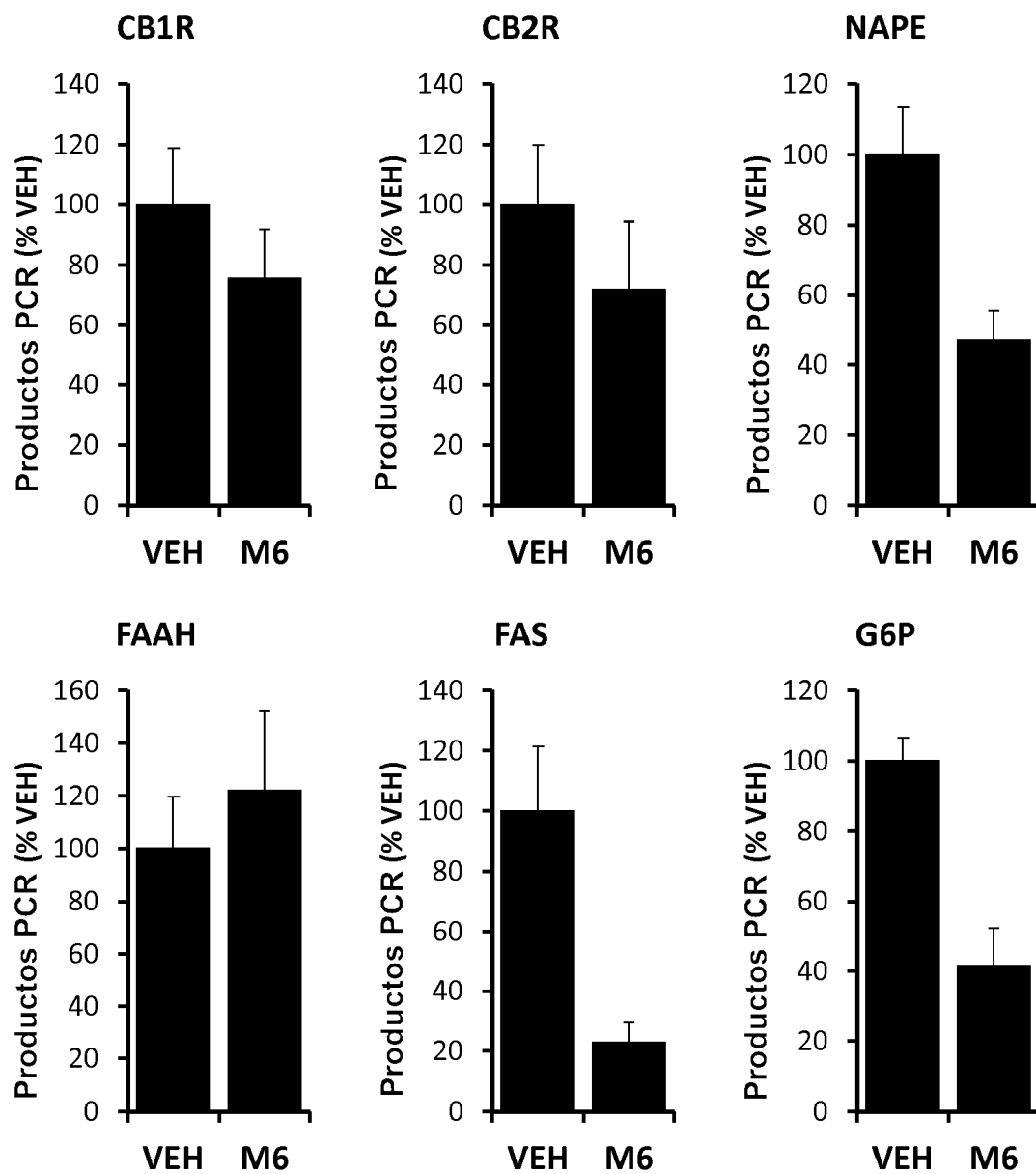


Figura 18

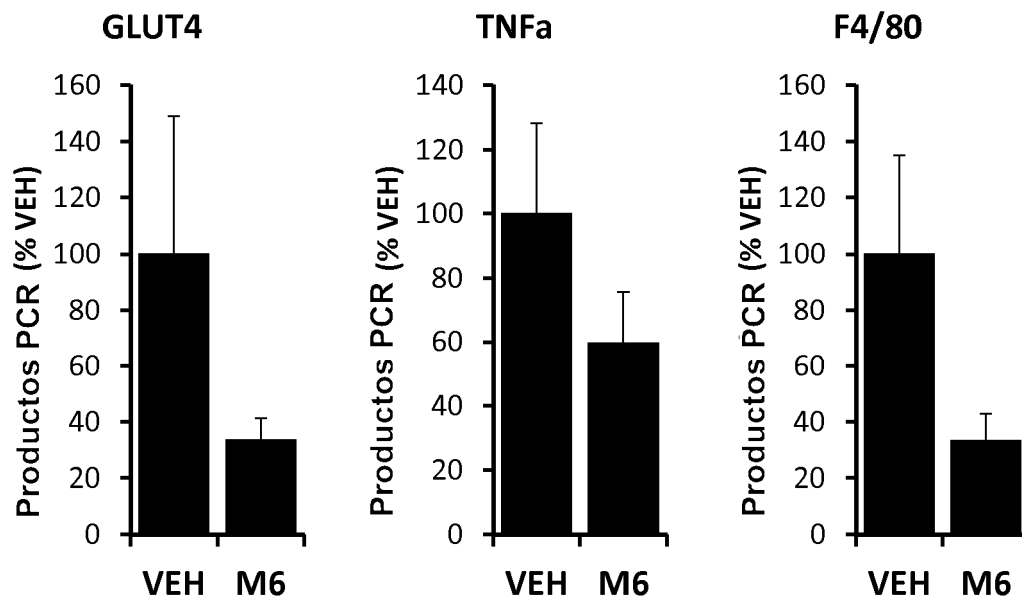


Figura 19