



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

⑪ Número de publicación: **2 301 348**

⑫ Número de solicitud: 200600842

⑬ Int. Cl.:

C07D 307/83 (2006.01) **A61K 31/343** (2006.01)

A61K 31/404 (2006.01) **A61K 31/381** (2006.01)

A61Q 19/02 (2006.01) **A61P 17/02** (2006.01)

⑭

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN PREVIO

B2

⑮ Fecha de presentación: **31.03.2006**

⑯ Prioridad: **06.04.2005 FR 05 03409**
12.05.2005 US 11/127,594

⑰ Fecha de publicación de la solicitud: **16.06.2008**

Fecha de la concesión: **02.12.2009**

Fecha de modificación de las reivindicaciones:
22.11.2009

⑲ Fecha de anuncio de la concesión: **22.12.2009**

⑳ Fecha de publicación del folleto de la patente:
22.12.2009

㉑ Titular/es: **Engelhard Lyon, Société Anonyme Française (French Stock Company)**
32 rue St. Jean de Dieu
69007 Lyon, FR
Université Joseph Fourier-Grenoble 1

㉒ Inventor/es: **Okombi, Sabrina;**
Rival, Delphine;
Boumendjel, Ahcène;
Mariotte, Anne Marie y
Perrier, Eric

㉓ Agente: **Ungría López, Javier**

㉔ Título: **Utilización de al menos una aurona o un derivado de aurona o un análogo de aurona.**

㉕ Resumen:

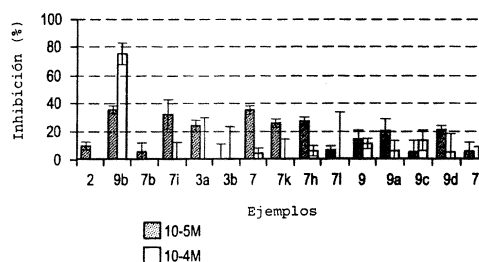
Utilización de al menos una aurona o un derivado de aurona o un análogo de aurona.

La invención se relaciona con la familia de las auronas.

La invención se relaciona con la utilización de al menos una aurona o un derivado de aurona natural o sintético o un análogo de aurona en donde el núcleo de fenilo independiente puede ser substituido por un heterociclo de tipo pirrol, imidazol, triazol, piridina, furano o tiofeno, como agente cosmético o como sustancia activa para la fabricación de una composición cosmética o de una composición farmacéutica, especialmente dermatológica, que tiene una actividad inhibitoria de la melanogénesis o una actividad despigmentante o una actividad antitirosinasa. La invención permite fabricar especialmente composiciones cosméticas con actividad despigmentante.

FIG.1

INHIBICIÓN DE LA TIROSINASA HUMANA EN
MONOCAPA DE LAS AURONAS HIDROXILADAS



Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 40.2.8 LP.

DESCRIPCIÓN

Utilización de al menos una aurona o un derivado de aurona o un análogo de aurona.

5 La presente invención se relaciona esencialmente con la utilización de al menos una aurona, en cosmética o para la fabricación de una composición farmacéutica, especialmente dermatológica, con actividad despigmentante o con efecto inhibidor de la melanogénesis.

10 La invención cubre igualmente composiciones cosméticas o composiciones farmacéuticas, especialmente dermatológicas, con actividad despigmentante o con efecto inhibidor de la melanogénesis así obtenidas.

La invención cubre aún un procedimiento de cuidado cosmético o un procedimiento de tratamiento terapéutico de despigmentación que utiliza las auronas como agentes activos frente a la despigmentación.

15 Para luchar contra los rayos solares, la piel posee células diferenciadas particularmente adaptadas a esta función: los melanocitos. En el curso de un proceso complejo, la melanogénesis, éstos fabrican un pigmento oscuro, la melanina, que tiene como efecto proteger las estructuras cutáneas y aumentar el tiempo necesario para contraer un eritema solar. Sin embargo, no todas las melaninas son protectoras y existe en particular una forma de melanina, llamada feomelanina, que es extremadamente fototóxica. Capaz como todas las melaninas de reaccionar con ciertas formas de radicales libres, provoca la formación de radicales libres aún más tóxicos, susceptibles de causar daños irreversibles sobre el material genético de los queratinocitos. Por otra parte, ciertos desórdenes ligados a una disfunción de la unidad de melanización son susceptibles de provocar una hiperpigmentación a veces particularmente poco estética. Así, la utilización de inhibidores de la síntesis de melanina es particularmente interesante en cosmetología, no sólo para aplicaciones en las que se busca una verdadera despigmentación, como en el caso del blanqueamiento de piel fuertemente pigmentada o la inhibición de la hiperpigmentación en ciertos aspectos poco estéticos, por ejemplo, sino también para aplicaciones que aspiran a aclarar el tinte, a dar luminosidad a la piel y brillo a los tejidos de la superficie. Esta inhibición de la síntesis de melanina puede ser también particularmente interesante en el marco del tratamiento terapéutico para tratar una verdadera patología.

30 Estado de la técnica

Las auronas son moléculas naturales, pertenecientes a la familia de los flavonoides, que son estructuralmente isómeros de flavonas (Boumendjel A., Current Medicinal Chemistry, 2003, 10, 2621-2630).

35 Las auronas están muy extendidas en el reino vegetal, particularmente en los frutos y flores, donde contribuyen a su coloración. La Tabla siguiente contiene una lista no exhaustiva de las auronas naturales encontradas en las plantas:

Nombre de la aurona	Familia	Especie	Parte
Hispidol	Leguminosa	Glycine max, Lygos raetam	Semillas
Sulfuretina	Compuestas	Bidens tripartita, Dahlia variabilis, Cosmos sulfureus	Flores
Sulfureína	Asteráceas	Coreopsis bigelovii, Zinnia linearis	Flores
	Anacardiáceas	Cotinus coggygria	
Palasitrina	Leguminosa	Butea frondosa	
Licoagroaurona	Leguminosa	Glycyrrhiza glabra	Raíz
Leptosidina	Asteráceas	Coreopsis grandiflora	

ES 2 301 348 B2

Leptosina	Asteráceas	Coreopsis lanceolata, Coreopsis tinctoria	Flores
	Ericáceas	Vaccinium oxycoccus	Fruto
	Leguminosa	Flemengia strobilifera	Hoja
4,4',6-Trihidroxiaurona	Liliáceas	Asparagus gonocladus	
	Rutáceas	Limonium sp.	
4,4'-Dihidroxi-6-O-ramnosilaurona	Leguminosa	Pterocarpus marsupium	Flores
Caulesauronésido	Aristolochiáceas	Asarum longerhizomatosum	
Antiarona A	Clusiáceas	Antiaris toxicara	Raíz
Antiarona B	Clusiáceas	Antiaris toxicara	Raíz
Aureusidina	Escrofulariáceas	Antirrhinum majus	Flores
	Rutáceas	Citrus medica	
	Ciperáceas	Cyperus, Eleocharis, Ptilanthellium, Schoenus, Gahnia	
Aureusina	Escrofulariáceas	Antirrhinum majus, Linaria maroccana	Flores
	Rubiáceas	Mussaenda hirsutissima	Flores
Cernuósido	Rubiáceas	Mussaenda hirsutissima	Flores
	Oxalidáceas	Oxalis cernua	
	Rutáceas	Limonium bondue-llii	

5	Aureusidina 4,6-diglucósido	Rubiáceas	Mussaenda hirsutissima	Flores
10	Bracteatina	Asteráceas	Helichrysum bracteatum	Flores
15		Escrofulariáceas	Antirrhinum nuttallianum, Linaria maroccana	Flores
20	Bracteína	Asteráceas	Helichrysum bracteatum	Flores
25	Bracteatina-6-glucósido	Escrofulariáceas	Antirrhinum majus, Linaria sp.	Flores
30	Maritimetina	Compuestas	Coreopsis maritima, C. gigantea, C. tinctoria	Flores
35			Baeria chrysostoma, Bidens bipinnata	Flores
40	Maritimeína	Compuestas	Coreopsis maritima, C. tinctoria, Baeria chrysostoma	Flores
45		Asteráceas	Zinia linearis	Flores
50	Hamiltrona	Anonáceas	Ulvaria hamiltonii	Hojas
	4,6,4'-Trihidroxi-7-metil-4-O-ramnosilaurona	Leguminosa	Pterocarpus marsupium	Flores

55 Mientras que las flavonas, chalconas, flavonoles e isoflavonas son ampliamente estudiadas por sus funciones terapéuticas, la actividad biológica de las auronas sólo comienza a ser investigada. En efecto, siendo las auronas menos abundantes en la naturaleza que las flavonas, estas moléculas naturales han suscitado menos intereses hasta la fecha. Además de su papel de pigmentación de las plantas, las auronas han sido descritas como fitoalexinas, utilizadas por la planta como agente de defensa contra infecciones varias.

60 En términos de actividad biológica, las auronas están descritas en el campo del cáncer por sus diferentes modos de acción:

- las auronas tienen la capacidad de unirse a la glicoproteína P, transportadores de membrana que permiten la mediación de fármacos anticancerosos;
- inhiben las ciclina kinasas;

- interaccionan con los receptores de la adenosina;
- inhiben la telomerasa.

Finalmente, las auronas son utilizadas por sus propiedades antioxidantes (particularmente las auronas glicosiladas) minimizando los daños por radicales que implican al ADN.

Las auronas son también conocidas para tratar las infecciones parasitarias y microbianas. Tienen una actividad antihormonal y han sido utilizadas en ciertos pacientes afectados de diabetes por su capacidad para inhibir la reacción de Maillard.

Las auronas, como los otros flavonoides, derivan de precursores base, que son las chalconas. En este caso, la producción de auronas a partir de chalconas implica una ciclación oxidativa, con la condición de que estas últimas posean un hidroxilo en posición 2' (Nakayama, J. of Bioscience and Bioengineering, 2002, 94(6), 487-491).

Fines de la invención

La invención tiene como fin principal proporcionar una nueva formulación de una composición cosmética y/o farmacéutica, especialmente dermatológica, que tiene una buena actividad despigmentante y/o una buena actividad inhibidora de la melanogénesis.

La invención tiene aún como fin principal proporcionar una nueva formulación de una composición cosmética y/o farmacéutica, especialmente dermatológica, que tiene una buena actividad antitirosinasa.

La invención tiene aún como fin principal proporcionar un procedimiento de cuidado cosmético de despigmentación o un procedimiento de tratamiento terapéutico de la despigmentación.

Finalmente, la invención tiene como fin principal conseguir estos fines de una manera simple, segura y fiable utilizable a escala industrial y cosmética o farmacéutica, especialmente dermatológica.

Resumen de la invención

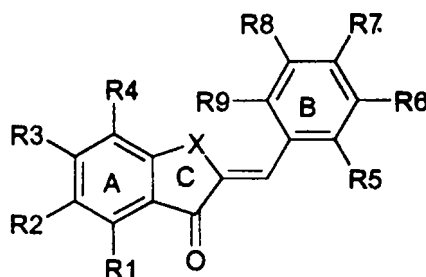
La invención permite alcanzar estos fines enunciados anteriormente para poner en evidencia una nueva actividad biológica de las auronas y derivados, puesto que se demuestra por la presente invención que las auronas tienen una buena actividad despigmentante y/o una buena actividad inhibidora de la melanogénesis; en particular, son potentes inhibidores de la tirosinasa humana, enzima implicada en la melanogénesis.

Esta actividad, particularmente inesperada, no está descrita en la literatura y en las patentes relativas a la utilización de las auronas.

Descripción detallada de la invención

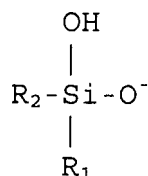
La presente invención se relaciona, según un primer aspecto, con la utilización de al menos una aurona o de un derivado de aurona o de un análogo de aurona que tiene un núcleo de fenilo independiente, en donde el núcleo de fenilo independiente puede estar substituido por un heterociclo de tipo pirrol, imidazol, triazol, piridina, furano o tiofeno, como agente cosmético, o como sustancia activa para la fabricación de una composición cosmética o de una composición farmacéutica, especialmente dermatológica, que tiene una actividad inhibidora de la melanogénesis o una actividad despigmentante o una actividad antitirosinasa.

Según un modo de realización particular de la invención, esta utilización se caracteriza por presentar la aurona la fórmula química general descrita a continuación:



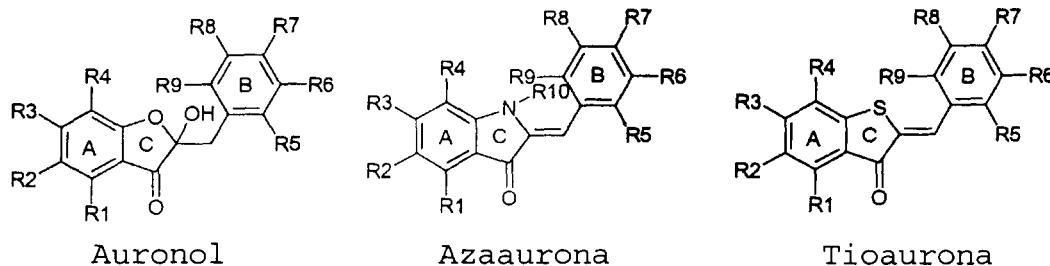
donde X puede representar un átomo de oxígeno (O), un átomo de nitrógeno (N) o un átomo de azufre (S);

donde R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8 y R9 pueden representar independientemente los unos de los otros: H, un halógeno, un hidroxilo (OH), un éster, un ácido C1-12 salificado o no, una amida, una sulfonamida, un nitro, una amina I, II o III en forma básica o salificada, un ciano, un tiol, un azúcar (O-heterósido o C-heterósido), una cadena de alquilo lineal o ramificada C1-12, una cadena de alcoxi lineal o ramificada C1-12, una cadena de alqueno lineal o ramificada C1-12 (por ej.: prenilo), alqueniloxi C1-12, una cadena de tioalquilo, un anillo o un heterociclo de tipo alquilo o aromático, un sulfato salificado o no, un sulfonato salificado o no, un fosfato salificado o no, un fosfato esterificado o no, un fosfonato salificado o no, un grupo silanol de fórmula:



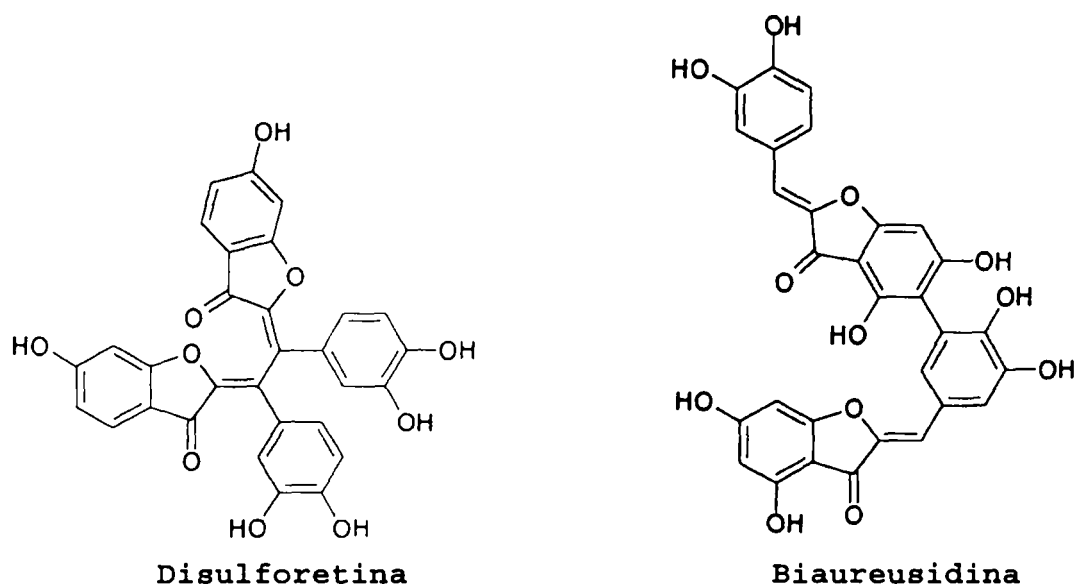
donde R1 y R2 pueden representar independientemente el uno del otro: hidroxilo, metilo, etilo, fenilo, *p*-metilfenilo, *p*-metoxifenilo o butilo terciario.

La presente invención se relaciona también según otro modo de realización con la utilización de un derivado de aurona de tipo auronol, azaaurona o tioaurona de fórmula general:

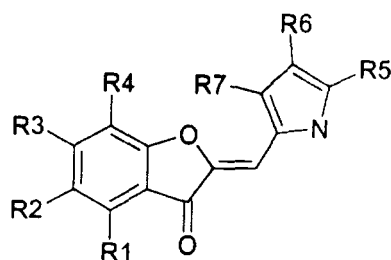


donde R1 a R9 pueden representar independientemente los unos de los otros los grupos antes citados. R10 puede ser una cadena de alquilo o un grupo acilo lineal o ramificado de 1 a 12 átomos de carbono.

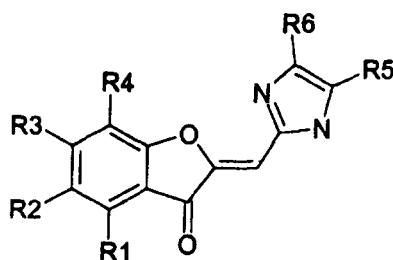
Esta invención se relaciona también según otro modo de realización con la utilización de dímeros de auronas. Ejemplo: disulfuretina y biaureusidina, cuya fórmula general está descrita a continuación.



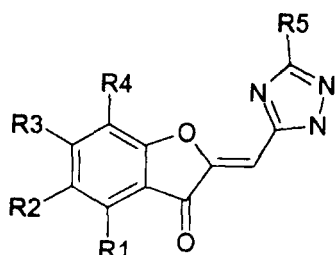
Esta invención se relaciona también según aún otro modo de realización con la utilización de los análogos de auronas en los cuales en núcleo de fenilo B puede estar substituido por un heterociclo de tipo pirrol, imidazol, triazol, piridina, furano o tiofeno.



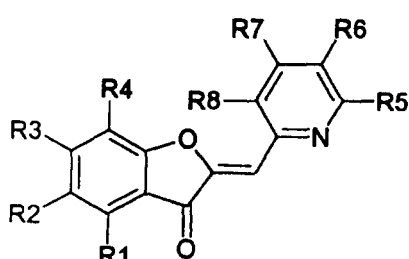
núcleo B: pirrol



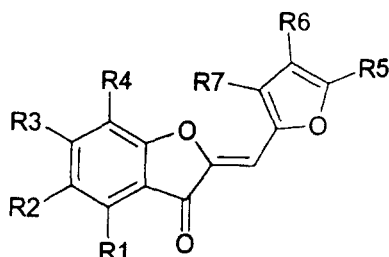
núcleo B: imidazol



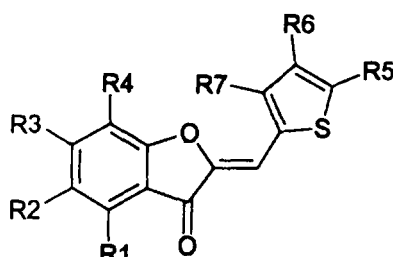
núcleo B: triazol



núcleo B: piridina



núcleo B: furano



núcleo B: tiofeno

La invención se relaciona aún según diversos Ejemplos de realización particulares con la utilización de una auro-na, de su derivado o de su análogo seleccionados entre la 2',4',6'-trihidroxi-2-cloroacetofenona (R1 = OH), la 2',4'-dihidroxi-2-cloroacetofenona (R1 = H), la 4,6-dihidroxibenzofuran-3(2H)ona (R1 = OH), la 6-hidroxibenzofuran-3(2H)ona (R1 = H), la (Z)-2-benciliden-6-hidroxibenzofuran-3(2H)ona, la (Z)-2-(4'-etil)benciliden-6-hidroxibenzofuran-3(2H)ona, la (Z)-2-(2'-etil)benciliden-6-hidroxibenzofuran-3(2H)ona, la (Z)-2-(4'-hidroxi)benciliden-6-hidroxibenzofuran-3(2H)ona, la 4,6-dimetoxibenzofuran-3(2H)ona, la (Z)-2-benciliden-4, 6-dimetoxibenzofuran-3(2H)ona, la (Z)-4,6-dimetoxi-2-(4'-hidroxibenciliden)benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-4,6-dimetoxi-2-(4'-etilbenciliden)benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-6-dimetoxi-2-(4'-metilbenciliden)benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-2-(4'-cianobenciliden)-4,6-dimetoxibenzofuran-3(2H)ona, la (Z)-4,6-dimetoxi-2-(4'-sulfonatobenciliden)benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-4,6-dimetoxi-2-(2',4'-disulfonatobenciliden)benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-4,6-dimetoxi-2-(4'-metilbenciliden)benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-4,6-dimetoxi-2-(4'-isopropilbenciliden)benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-2-(4'-butilbenciliden)-4,6-dimetoxibenzofuran-3(2H)ona, la (Z)-2-benciliden(4,6-dihidroxi)benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-4,6-dihidroxi-2-(4'-etoxibenciliden)benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-4,6-dihidroxi-2-(4'-hidroxibenciliden)benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-4,6-dihidroxi-2-(3-metoxi-4-hidroxibenciliden)benzofuran-3(2H)ona, la 4,6-di-O-MEMBenzofuran-3(2H)ona, la 2,6-diacetoxi- α -bromoacetofenona, la 4-hidroxibenzofuran-3(2H)ona y la (Z)-2-(4'-hidroxibenciliden)-4-hidroxibenzofuran-3(2H)ona.

Según otros Ejemplos de realización ventajosos de la invención, la aurona, su derivado o su análogo son seleccionados entre la (Z)-4,6-dihidroxi-2-(4-metoxibenciliden)benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-4,6-dihidroxi-2-(4'-etoixibenciliden)benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-4,6-dihidroxi-2-(4'-hidroxibenciliden)benzofuran-3(2H)ona y la (Z)-4,6-dihidroxi-2-(3-metoxi-4-hidroxi)benciliden)benzofuran-3(2H)ona.

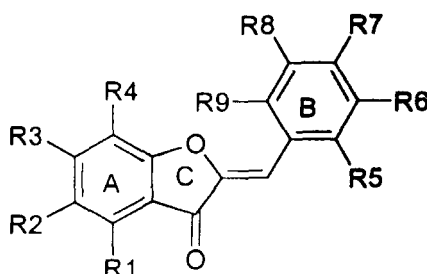
Según aún un modo particular de la invención, se realiza con las auronas, sus derivados y análogos según la invención una utilización tópica sobre la piel, el cabello o las faneras, especialmente para una actividad inhibitoria de la tirosinasa humana.

Según aún otro modo particular de la invención, se realiza con las auronas, sus derivados y análogos según la invención una actividad inhibitoria de la tirosinasa humana procedente de melanocitos humanos normales de donantes de fototipos claros, morenos y negros.

Según una variante de realización ventajosa, la aurona, su derivado o sus análogos es de origen natural o se obtiene por síntesis química, o está presente en un extracto de plantas que contienen de manera natural esta aurona, su derivado o análogo.

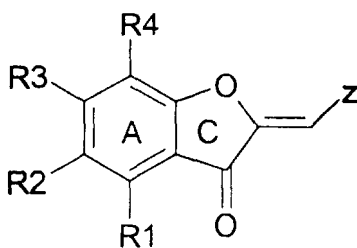
La invención también cubre, según un segundo aspecto, composiciones cosméticas o composiciones farmacéuticas, especialmente dermatológicas, con actividad despigmentante o con efecto inhibidor de la melanogénesis, caracterizadas por contener, como uno de estos agentes con actividad despigmentante o inhibidor de la melanogénesis, al menos una aurona, o uno de sus derivados o análogos, tales como se han definido anteriormente, eventualmente en mezcla con un excipiente, vehículo o soporte cosmética o farmacéuticamente, especialmente dermatológicamente, aceptable.

La invención también cubre, según un tercer aspecto, como producto novedoso, una aurona, o un derivado de una aurona de la fórmula química siguiente:



donde los grupos R1 a R9 son tal como se ha definido anteriormente, con la condición de que al menos un grupo entre R5 a R9 sea seleccionado entre una cadena de alquilo lineal o ramificada C1-12, una cadena de alcoxi lineal o ramificada C1-12, un grupo tioalquilo C1-C12, un grupo sulfonilo o un grupo ciano;

o un análogo de aurona de la fórmula química siguiente:



donde los grupos R1, R2, R3 y R4 son tal como se ha definido anteriormente y Z representa un grupo que contiene un heterociclo de tipo pirrol, piridina, furano o tiofeno no sustituido o sustituido por un grupo R5, R6, R7 y eventualmente R8 tal como se ha definido anteriormente; preferiblemente, al menos un grupo entre R5 a R8 es seleccionado entre una cadena de alquilo lineal o ramificada C1-12, una cadena de alcoxi lineal o ramificada C1-12, un grupo tioalquilo C1-C12, un grupo sulfonilo o un grupo ciano.

La invención cubre aún, según un cuarto aspecto, un procedimiento de cuidado cosmético de despigmentación, caracterizado por consistir en la aplicación tópica sobre al menos una zona de la piel, del cabello o de las faneras, a la que concierne la despigmentación, de una cantidad eficaz para realizar dicha despigmentación de al menos una aurona o uno de sus derivados o análogos tales como los anteriormente definidos, eventualmente en mezcla con un excipiente, vehículo o soporte cosméticamente aceptable.

La invención cubre aún, según un quinto aspecto, un procedimiento de tratamiento terapéutico de despigmentación, caracterizado por consistir en la aplicación tópica sobre al menos una zona de la piel, del cabello o de las faneras, afectada por una patología de pigmentación, de una cantidad eficaz para realizar una despigmentación de dicha zona de al menos una aurona o de uno de sus derivados o análogos tales como los anteriormente definidos, eventualmente en mezcla con un excipiente, vehículo o soporte farmacéuticamente, especialmente dermatológicamente, aceptable.

Por la expresión “patología de pigmentación”, se entiende que la pigmentación de dicha zona de la piel, del cabello o de las faneras es tal que constituye una patología para tratar médicamente. Puede tratarse de una hiperpigmentación, de una queratosis, etc., como es bien sabido por el experto en la técnica.

En el marco de la invención, se ha mostrado de forma totalmente inesperada que estas auronas, sus derivados y análogos eran capaces de inhibir la tirosinasa de hongos y la tirosinasa de melanocitos humanos y de constituir así agentes cosméticos o farmacéuticos, especialmente dermatológicos, de gran valor para realizar una buena actividad despigmentante y/o una buena actividad inhibitoria de la melanogénesis y/o una buena actividad antitirosinasa.

Otros fines, características y ventajas de la invención aparecerán claramente a la luz de la descripción explicativa que se dará a continuación, hecha en relación a varios Ejemplos de realización de la síntesis de las auronas, de sus derivados y de sus análogos, así como de su evaluación biológica, también en relación a las Figuras adjuntas, que representan los resultados en forma de gráficos en columnas.

Descripción de las figuras

La Figura 1 representa el gráfico del porcentaje de inhibición de la actividad de la tirosinasa humana con, en la abscisa, los Ejemplos estudiados a dos concentraciones diferentes, respectivamente 10^{-5} M y 10^{-4} M, objeto de los ensayos del Ejemplo 15, realizado con las auronas hidroxiladas sobre el núcleo A, dados en la Tabla 3.

La Figura 2 representa el gráfico del porcentaje de inhibición de la actividad de la tirosinasa humana, en la ordenada, con los Ejemplos estudiados a dos concentraciones diferentes, respectivamente 10^{-5} M y 10^{-4} M, en la abscisa, objeto de los ensayos del Ejemplo 15, con las auronas metiladas sobre el núcleo A, dados en la Tabla 4.

La Figura 3 representa el gráfico del porcentaje de inhibición de la actividad tirosinasa humana, en la ordenada, con, en la abscisa, los Ejemplos estudiados a dos concentraciones diferentes, respectivamente 10^{-5} M y 10^{-4} M, objeto de los ensayos del Ejemplo 15, con las auronas hidroxiladas y metiladas sobre el núcleo A, dados en la Tabla 5.

La Figura 4 representa el gráfico del porcentaje de inhibición de la actividad de la tirosinasa humana, en la ordenada, con, en abscisa, los resultados obtenidos para cuatro donantes diferentes para el compuesto del Ejemplo 9b estudiado a dos concentraciones diferentes, respectivamente 10^{-5} M y 10^{-4} M, objeto de los ensayos del Ejemplo 16, dándose igualmente estos resultados en la Tabla 6.

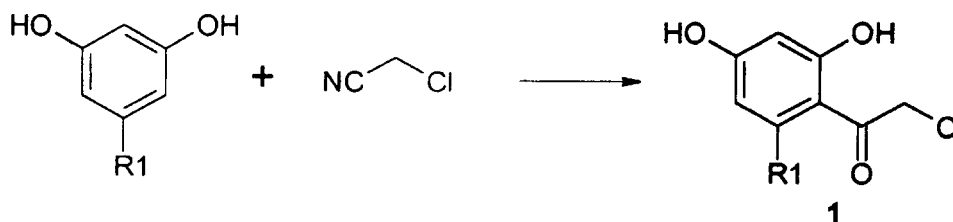
La Figura 5 representa el gráfico del porcentaje de inhibición de la actividad de la tirosinasa humana, en la ordenada, con, en abscisa, los resultados obtenidos para dos donantes de fototipos moreno y negro para el compuesto del Ejemplo 9b estudiado a tres concentraciones diferentes, respectivamente 10^{-5} M, 10^{-4} M y 10^{-3} M, objeto de los ensayos del Ejemplo 17, dándose igualmente estos resultados en las Tablas 7 y 8.

En los Ejemplos de síntesis que se dan a continuación, todos los porcentajes están dados en peso, la presión es la presión atmosférica y la temperatura está en grados Celsius, salvo indicación en contrario.

Síntesis de las auronas y evaluación biológica

Ejemplo 1 de la invención

Síntesis de 2',4',6'-trihidroxi-2-cloroacetofenona ($R_1 = OH$) y de 2',4'-dihidroxi-2-cloroacetofenona ($R_1 = H$)



$R_1 = OH$, Floroglucinol

$R_1 = H$, Resorcinol

$R_1 = OH$, 1a

$R_1 = H$, 1b

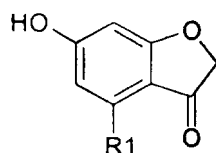
A una solución de floroglucinol (5 g, o sea, 39,6 mmol) o de resorcinol (5 g, o sea, 45,4 mmol) en éter (150 ml), se añaden sucesivamente cloroacetronitrilo (1 eq.) y cloruro de zinc (0,1 eq.). Se enfría el conjunto a $0^{\circ}C$ y se pone a reaccionar con ácido clorhídrico acuoso durante una hora. Se recupera el precipitado formado por filtración y se lava con éter.

Se solubiliza el precipitado en ácido clorhídrico 1N y se lleva la solución obtenida a reflujo durante una hora. Se lleva el medio a temperatura ambiente y se recupera el precipitado naranja formado y se lava con agua.

ES 2 301 348 B2

Ejemplo 2 de la invención

Síntesis de 4,6-dihidroxibenzofuran-3(2H)ona (R1 = OH) y de 6-hidroxibenzofuran-3(2H)ona (R1 = H)

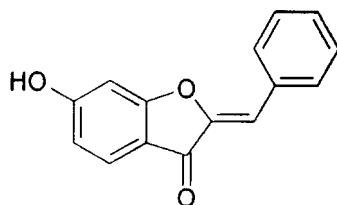


R1 = OH o H

Se suspenden los compuestos del Ejemplo 1 (R1 = OH o H) en metanol (100 ml) y se añade después metilato de sodio (2,5 eq.). Se agita la solución obtenida durante aproximadamente 10 minutos en frío y se lleva luego a reflujo durante 1 h 30 min. Después de regresar a temperatura ambiente, se acidifica el medio con una solución de HCl y se evapora. Se recoge el residuo obtenido con acetato de etilo; se lava la fase orgánica con agua y una solución saturada de cloruro de sodio, se seca sobre sulfato de sodio y se evapora a sequedad, para obtener el producto esperado en forma de polvo naranja.

Ejemplo 3 de la invención

Síntesis de (Z)-2-benciliden-6-hidroxibenzofuran-3(2H)ona



Al compuesto del Ejemplo 2, y donde R1 = H, (1,0 mmol) en metanol se añaden sucesivamente una solución de potasa al 50% (1,5 ml) y benzaldehído (1,5 eq.). Se lleva la solución obtenida a reflujo durante 1 h. Después de regresar a la temperatura ambiente, se evapora el metanol y se recoge el residuo obtenido con agua. Se acidifica la solución obtenida; aparece un precipitado, que se recupera por filtración y se lava con agua. Se obtiene el producto en forma de un polvo amorfo después de cromatografía en columna de gel de sílice.

Se puede aplicar el protocolo antes descrito substituyendo el benzaldehído:

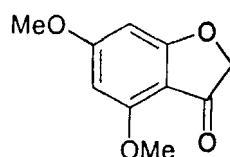
por p-etilbenzaldehído; en este caso, se obtiene la molécula del Ejemplo 3 con un grupo etilo en 4' y se convierte en el Ejemplo 3a;

por 2-etilbenzaldehído; en este caso, se obtiene la molécula del Ejemplo 3 con un grupo etilo en 2' y se convierte en el Ejemplo 3b;

por 4-hidroxilbenzaldehído; en este caso, se obtiene la molécula del Ejemplo 3 con un grupo hidroxilo en 4' y se convierte en el Ejemplo 3c.

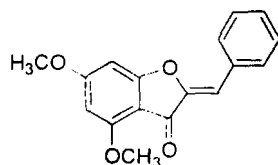
Ejemplo 4 de la invención

Síntesis de 4,6-dimetoxibenzofuran-3(2H)ona



Al compuesto del Ejemplo 2, y donde R1 = OH, solubilizado en DMF, se añade carbonato de potasio (3 eq.) y yoduro de metilo (3 eq.). Se calienta la mezcla obtenida durante 1 h (150°C). Después de volver a la temperatura ambiente, se mezcla el medio con agua y se extrae con acetato de etilo. Se seca la fase orgánica y se evapora a sequedad. Se aísla el producto en forma de un polvo amarillo tras purificación por cromatografía en columna de gel de sílice.

Ejemplo 5 de la invención

Síntesis de (Z)-2-benciliden-4,6-dimetoxibenzofuran-3(2H)ona

A una solución del compuesto del Ejemplo 4 de la invención (0,77 mmol) solubilizado en metanol, se añaden sucesivamente una solución de potasa al 50% (1,5 ml) y benzaldehído (1,5 eq.). Se lleva la solución obtenida a reflujo durante 1 h. Después de regresar a temperatura ambiente, se evapora el metanol y se recoge el residuo obtenido con agua. Se acidifica la solución obtenida y se extrae después 3 veces con acetato de etilo. Se seca la fase orgánica sobre sulfato de sodio y se evapora a vacío.

Se obtiene el producto en forma de un polvo amarillo claro tras cromatografía en columna de gel de sílice.

Se puede aplicar el protocolo antes descrito substituyendo el benzaldehído:

por *p*-hidroxibenzaldehído; en este caso, se obtiene la molécula del Ejemplo 5 con un grupo hidroxilo en 4' (Ejemplo 5a);

por *p*-etilbenzaldehído; en este caso, se obtiene la molécula del Ejemplo 5 con un grupo etilo en 4' (Ejemplo 5b);

por *p*-metiltiobenzaldehído; en este caso, se obtiene la molécula del Ejemplo 5 con un grupo tiometilo en 4' (Ejemplo 5c);

por *p*-cianobenzaldehído; en este caso, se obtiene la molécula del Ejemplo 5 con un grupo ciano en 4' (Ejemplo 5d);

por *p*-sulfonatobenzaldehído; en este caso, se obtiene la molécula del Ejemplo 5 con un grupo sulfonato en 4' (Ejemplo 5e);

por 2,4-disulfonatobenzaldehído; en este caso, se obtiene la molécula del Ejemplo 5 con dos grupos sulfonato en 2' y 4' (Ejemplo 5f);

por *p*-tolualdehído; en este caso, se obtiene la molécula del Ejemplo 5 con un grupo metilo en 4' (Ejemplo 5g);

por *p*-propilbenzaldehído; en este caso, se obtiene la molécula del Ejemplo 5 con un grupo propilo en 4' (Ejemplo 5h);

por *p*-isopropilbenzaldehído; en este caso, se obtiene la molécula del Ejemplo 5 con un grupo isopropilo en 4' (Ejemplo 5i);

por *p*-butilbenzaldehído; en este caso, se obtiene la molécula del Ejemplo 5 con un grupo butilo en 4' (Ejemplo 5j);

por *p*-terc-butilbenzaldehído; en este caso, se obtiene la molécula del Ejemplo 5 con un grupo terc-butilo en 4' (Ejemplo 5k);

por 2'-etilbenzaldehído; en este caso, se obtiene la molécula del Ejemplo 5 con un grupo etilo en 2' (Ejemplo 5l);

por 2-furaldehído; en este caso, se obtiene la molécula del Ejemplo 5 con un núcleo de furano substituyendo al núcleo B (Ejemplo 5m);

por 5-etil-2-furaldehído; en este caso, se obtiene la molécula del Ejemplo 5 con un núcleo de 5-etilfurano substituyendo al núcleo B (Ejemplo 5n),

por 4,5-dimetil-2-furaldehído; en este caso, se obtiene la molécula del Ejemplo 5 con un núcleo de 4,5-dimetilfurano substituyendo al núcleo B (Ejemplo 5o);

por 2-tiofenocarboxaldehído; en este caso, se obtiene la molécula del Ejemplo 5 con un núcleo de tiofeno substituyendo al núcleo B (Ejemplo 5p);

por 5-metil-2-tiofenocarboxaldehído; en este caso, se obtiene la molécula del Ejemplo 5 con un núcleo de 5-metiltiofeno substituyendo al núcleo B (Ejemplo 5q);

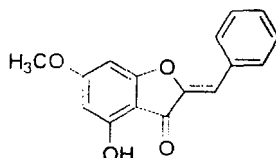
por 5-etil-2-tiofenocarboxaldehído; en este caso, se obtiene la molécula del Ejemplo 5 con un núcleo de 5-etiltiofeno substituyendo al núcleo B (Ejemplo 5r);

5 por pirrol-2-carboxaldehído; en este caso, se obtiene la molécula del Ejemplo 5 con un núcleo de pirrol substituyendo al núcleo B (Ejemplo 5s);

por 3,5-dimetilpirrol-2-carboxaldehído; en este caso, se obtiene la molécula del Ejemplo 5 con un núcleo de 3,5-dimetilpirrol substituyendo al núcleo B (Ejemplo 5t).

10 Ejemplo 6 de la invención

Síntesis de (Z)-2-benciliden-4-hidroxi-6-metoxibenzofuran-3(2H)ona

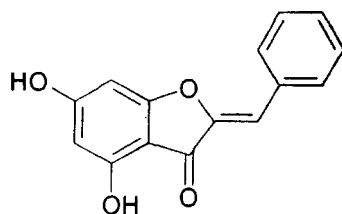


20 Al compuesto del Ejemplo 5 en diclorometano, se añade una solución molar de tribromuro de boro en diclorometano (4 eq.). Se agita la mezcla obtenida durante 20 h a temperatura ambiente. Se vierte entonces en agua helada y se extrae el conjunto con acetato de etilo. Se seca la fase orgánica y se evapora a sequedad. Se obtiene el producto en forma de un polvo amarillo tras purificación por cromatografía en columna de gel de sílice.

25 Se puede aplicar el protocolo antes descrito a las moléculas obtenidas en los Ejemplos 5c (se convierte en 6c) y 5d (se convierte en 6d).

30 Ejemplo 7 de la invención

Síntesis de (Z)-2-benciliden-(4,6-dihidroxi)benzofuran-3(2H)ona

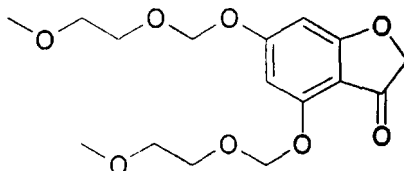


40 Al compuesto del Ejemplo 5 de la invención, solubilizado en diclorometano, se añade tribromuro de boro (BBr₃, en exceso); se agita entonces la mezcla a temperatura ambiente durante 20 h. Se vierte luego agua helada gota a gota en el medio y se extrae la suspensión así formada con acetato de etilo. Se seca la fase orgánica y se evapora a sequedad, para dar el producto esperado en forma de precipitado amorfo.

45 Se puede aplicar el protocolo antes descrito a las moléculas de los Ejemplos 5b, 5e, 5g, 5h, 5i, 5j, 5k, 5l, 5m, 5n, 5o, 5p, 5q, 5r, 5s y 5t, que se convierten, respectivamente, en los Ejemplos 7b, 7e, 7g, 7h, 7i, 7j, 7k, 7l, 7m, 7n, 7o, 7p, 7q, 7r, 7s y 7t.

50 Ejemplo 8 de la invención

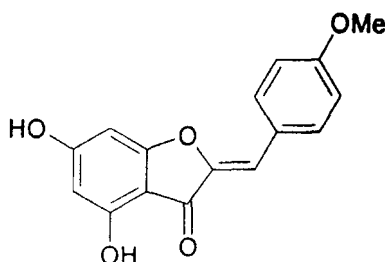
Síntesis de 4,6-di-O-MEMbenzofuran-3(2H)ona



55 Se enfría el compuesto del Ejemplo 2 en el que R1 = OH (36 mmol) y al cual se añade N,N-diisopropiletilamina (2 eq.) en DMF anhidra con ayuda de un baño de hielo. Se añade cloruro de 2-metoxietoximetilo (2 eq.) gota a gota y se agita la solución obtenida durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se vierte entonces el medio en 100 ml de agua y se extrae con acetato de etilo. Se seca la fase orgánica y se evapora a sequedad. Se obtiene el producto en forma de un aceite blanco tras purificación por cromatografía en columna de gel de sílice.

Ejemplo 9 de la invención

Síntesis de (Z)-4,6-dihidroxi-2-(4-metoxibenciliden)benzofuran-3(2H)ona



A una solución del compuesto del Ejemplo 8 (1,02 mmol) en metanol, se añaden sucesivamente una solución de potasa al 50% (3,5 ml) y *p*-anisaldehído (1,5 eq.). Se lleva la solución obtenida a reflujo durante 1 h. Después de retornar a temperatura ambiente, se evapora el metanol y se recoge el residuo obtenido con agua. Se extrae la solución obtenida con acetato de etilo. Se seca la fase orgánica y se evapora a sequedad. Se recoge el producto obtenido con metanol; se añade a la solución obtenida una solución de ácido clorhídrico 1M en éter. Se agita la mezcla a aproximadamente 60°C durante 2 h. Después de retornar a la temperatura ambiente, se mezcla el medio con agua y se extrae con diclorometano. Se lava la fase orgánica sucesivamente con agua y una solución saturada de cloruro de sodio, se seca y se evapora a sequedad. Se obtiene el producto en forma de polvo amarillo tras purificación por cromatografía en columna de gel de sílice.

Se puede aplicar el protocolo antes descrito substituyendo el *p*-anisaldehído por:

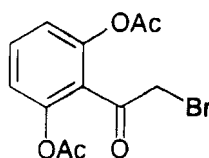
p-etoxibenzaldehído; en este caso, se obtiene un grupo etoxi en 4' (Ejemplo 9a);

p-hidroxibenzaldehído; en este caso, se obtiene un grupo hidroxilo en 4' (9b) o en 2' (9c);

vainillina; en este caso, se obtiene un grupo metoxi en 3' y un grupo hidroxilo en 4' (9d).

Ejemplo 10 de la invención

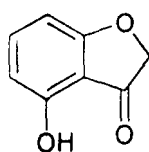
Síntesis de 2,6-diacetoxi- α -bromoacetofenona



Se dispersa la 2,6-dihidroxiacetofenona (3,08 mmol) en anhídrido acético y se lleva el conjunto a reflujo durante 4 horas. Se vierte el medio en agua helada y se extrae con acetato de etilo. Se seca la fase orgánica y se evapora a sequedad, para obtener un aceite, que se recoge con THF anhidro. Se añade lentamente a la solución obtenida bromuro de trimetilfenilamonio (1,2 eq.); se agita la mezcla obtenida durante 6 h a temperatura ambiente. Se añade entonces agua al medio y se agita la solución obtenida varios minutos a temperatura ambiente y se extrae después con acetato de etilo. Se seca la fase orgánica y se evapora a sequedad. Se obtiene el producto bruto en forma de un aceite naranja y se utiliza en las etapas siguientes sin purificación.

Ejemplo 11 de la invención

Síntesis de 4-hidroxibenzofuran-3(2H)ona



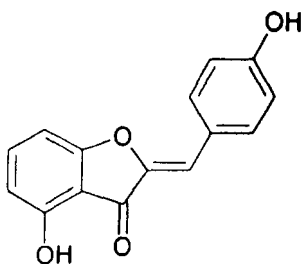
ES 2 301 348 B2

Se añade al compuesto del Ejemplo 10 (380 mg) en metanol una solución acuosa de potasa al 50% (0,5 ml); se lleva el conjunto a reflujo durante aproximadamente 3 h. Después de retornar a la temperatura ambiente, se evapora el metanol a vacío y se recoge el residuo obtenido en agua y se acidifica con una solución de HCl. Se extrae entonces la suspensión obtenida con diclorometano; se seca después la fase orgánica y se evapora a sequedad.

Se obtiene el producto en forma de un precipitado blanco que se vuelve quebradizo tras purificación por cromatografía en columna de gel de sílice.

Ejemplo 12 de la invención

Síntesis de (Z)-2-(4'-hidroxibenciliden)-4-hidroxibenzofuran-3(2H)ona



Se añaden sucesivamente al compuesto del Ejemplo 11 (0,66 mmol) en metanol una solución de potasa al 50% y 4-hidroxibenzaldehído (1,5 eq.). Se lleva la solución obtenida a reflujo durante 3 h. Después de retornar a la temperatura ambiente, se evapora el metanol y se recoge el residuo obtenido con agua. Se acidifica la solución obtenida: aparece un precipitado amarillo, que se recupera por filtración, se lava con un mínimo de agua y se seca a vacío. Se obtiene el producto en forma de un precipitado naranja tras purificación por cromatografía preparatoria.

Evaluación biológica de las Auronas

Ejemplo 13 de la invención

Ensayo in vitro de la inhibición por las auronas de la tirosinasa aislada

La tirosinasa cataliza la formación de L-dopaquinona y luego del dopacromo a partir de L-dopa. Ahora bien, el dopacromo es un compuesto coloreado cuantificable por espectrofotometría visible a 490 nm. La utilización de un agente activo capaz de modificar la actividad enzimática se va a traducir por una variación de la densidad óptica a 490 nm.

La razón de las velocidades de formación del dopacromo permite determinar de forma precisa las activaciones o las inhibiciones obtenidas con las diferentes moléculas estudiadas.

Se incuba la muestra de ensayo en presencia de tirosinasa de hongo (Sigma) durante 5 minutos con agitación. Se incuba la L-DOPA (Sigma), sustrato de la tirosinasa, durante 10 minutos al abrigo de la luz en presencia o no de las moléculas de ensayo. Se realiza el cálculo del porcentaje de inhibición dando la DO del ensayo con respecto a la DO del control negativo sin molécula. El control positivo utilizado es el ácido cójico (Sigma) al 0,01% = 45% $\pm$ 5% de inhibición.

En el marco de este ensayo *in vitro*, se estudiaron los derivados de auronas a concentraciones finales de 10^{-4} M y 10^{-5} M. En la Tabla 1 se describen los resultados.

TABLA 1

Inhibición de la tirosinasa de hongo por diferentes auronas a 490 nm, expresada en porcentaje de inhibición

Auronas	10^{-4}M	10^{-5}M
Hidroxiladas en el núcleo A		
Ejemplo 9b	$23,85 \pm 2,42$	$0 \pm 1,73$
Ejemplo 7b	$54,57 \pm 3,01$	$14,63 \pm 6,73$
Metiladas en el núcleo A		
Ejemplo 5a	$0 \pm 1,33$	$0 \pm 3,90$
Ejemplo 5b	$0 \pm 4,21$	$0 \pm 2,5$
Ejemplo 5c	$0 \pm 1,64$	$1,07 \pm 4,37$
Ejemplo 5	$0 \pm 1,58$	$0 \pm 0,28$
Ejemplo 5d	$0 \pm 2,42$	$0 \pm 5,47$
Hidroxiladas y metiladas en el núcleo A		
Ejemplo 6c	$23,65 \pm 9,36$	$0 \pm 5,84$
Ejemplo 6	$31,22 \pm 3,94$	$0 \pm 2,27$
Ejemplo 6d	$0 \pm 3,51$	$0 \pm 3,94$

Resulta claramente de la Tabla 1 anterior que las auronas inhiben la tirosinasa incluso a concentraciones bajas. La actividad medida depende de la estructura de las auronas, ya que la actividad es superior cuando el núcleo A está preferiblemente hidroxilado.

Ejemplo 14 de la invención

Ensayo in vitro de la inhibición por las auronas de la tirosinasa humana

La tirosinasa humana obtenida a partir de extractos melanocitarios de donantes sanos cataliza la formación de L-dopaquinona a partir de L-dopa. Ahora bien, la L-dopaquinona puede ser cuantificada por espectrofotometría visible a 490 nm gracias a un cromógeno: la 3-metil-2-benzotiazolinonahidrazona (MBTH).

Este reactivo se une a las o-quinonas sintetizadas por la tirosinasa para dar un compuesto MBTH-o-quinona estable y soluble que posee una densidad óptica molar elevada.

Así, la utilización de un agente activo capaz de modificar la actividad enzimática va a traducirse en una variación de la DO a 490 nm en comparación con la obtenida en el control negativo (100% de actividad).

El extracto melanocitario es obtenido por lisis de las membranas celulares de los melanocitos humanos normales realizada por choque térmico. Se recupera el sobrenadante y se incuba después con MBTH (Sigma) y L-dopa (Sigma). Se da la DO a 490 nm medida después de 30 minutos para cada agente activo estudiado con respecto a la obtenida para el control y se calcula el porcentaje de inhibición dando la DO del ensayo (molécula estudiada) con respecto a la DO del control negativo (sin molécula). El control positivo utilizado es el ácido cójico al 0,1% (60% $\pm$ 5% de inhibición).

En la Tabla 2 se dan los resultados obtenidos.

ES 2 301 348 B2

TABLA 2

Inhibición de la tirosinasa humana por una aurona a 490 nm, resultados expresados en porcentaje de inhibición

Auronas hidrolizadas en el núcleo A	10^{-4}M	10^{-5}M
Ejemplo 9b	$17,99 \pm 1,6$	$5,62 \pm 2,73$

Se ve por la Tabla 2 anterior que la actividad inhibitoria de las auronas está presente, pero es modesta, en este modelo particular de tirosinasa humana aislada.

Ejemplo 15 de la invención

Ensayo de inhibición de la tirosinasa humana estudiada en monocapa tras aplicación de los agentes activos a estudiar en melanocitos humanos normales

Se siembran melanocitos humanos normales (procedentes de plastia abdominal) en placa de 24 pocillos a razón de 80.000 células por pocillo. Se cultivan hasta la confluencia y se aplican los agentes activos durante 24 horas en los medios de cultivo. Después de 24 horas, se eliminan los medios y se desprenden los melanocitos por acción mecánica. Se realiza una extracción por choque térmico, se recuperan después los sobrenadantes y se incuban luego con MBTH (Sigma) y L-dopa (Sigma). Se mide la DO a 490 nm después de 30 minutos y se calcula la inhibición de la tirosinasa dando la DO a 490 nm en relación a la tasa de proteína (medida en cada pocillo de cultivo) del ensayo con respecto a la proporción DO 490 nm/concentración de proteína del control negativo (control no tratado). Se calcula así el porcentaje de actividad antitirosinasa con respecto al control no tratado.

El control negativo del experimento es el ácido cójico aplicado al 0,1% sobre los melanocitos (para una inhibición medida del $20\% \pm 5\%$) y se estudiaron los derivados de auronas a concentraciones de 10^{-4}M y 10^{-5}M . A continuación, se describen los resultados obtenidos:

TABLA 3

Inhibición de la tirosinasa humana después de aplicar las auronas hidroxiladas a melanocitos humanos normales, resultados expresados en porcentaje de inhibición (nd: no determinado)

Auronas hidro- xiladas en el núcleo A	10^{-5}M	10^{-4}M	SD a 10^{-5}M	SD a 10^{-4}M
Ejemplo 2	9,69	Nd	1,47	Nd
Ejemplo 9b	35,23	75,31	2,34	8,51
Ejemplo 7b	4,52	Nd	6,97	Nd
Ejemplo 7i	31,86	0	10,43	11,43
Ejemplo 3a	23,9	0	4,02	29,28
Ejemplo 3b	0	0	10,25	22,85
Ejemplo 7	34,85	3,37	3,04	4,8
Ejemplo 7k	25,1	0	3,98	14,08
Ejemplo 7h	26,88	5,43	2,93	3,43
Ejemplo 7l	6,1	0	2,79	33,92
Ejemplo 9	14,05	10,68	6,06	3,89
Ejemplo 9a	19,94	5,25	8,58	8,21
Ejemplo 9c	4,32	12,85	8,92	7,52
Ejemplo 9d	20,22	3,92	3,79	13,72
Ejemplo 7e	4,83	0	6,61	8,38

Resulta claramente de la Tabla 3 y de la Figura 1 que los resultados obtenidos traducen una eficacia real de las auronas hidroxiladas sobre la inhibición de la melanogénesis humana en el modelo evaluado. Los porcentajes de inhibición observados son muy netamente superiores a los obtenidos en un modelo más alejado del viviente, a saber, la tirosinasa de hongo y por contacto directo con una tirosinasa extraída de melanocitos humanos normales.

Las auronas hidroxiladas presentan, pues, una actividad particularmente inesperada para el experto en la técnica y muy significativa. Preferiblemente, la aurona hidroxilada sobre el núcleo A y que tiene un hidroxilo en la posición 4' (Ejemplo 9b) es particularmente activa.

TABLA 4

Inhibición de la tirosinasa humana tras aplicación de las auronas metiladas a melanocitos humanos normales, resultados expresados en porcentaje de inhibición

Auronas metiladas en el núcleo A	10^{-5}M	10^{-4}M	SD a 10^{-5}M	SD a 10^{-4}M
Ejemplo 4	0	0	5,66	8,76
Ejemplo 5	0	0	2,85	19,18
Ejemplo 5a	27,38	14,44	0,28	6,64
Ejemplo 5b	19,38	Nd	2,66	Nd
Ejemplo 5c	4,27	0	5,33	12,41
Ejemplo 5d	0	0	6,53	12,77
Ejemplo 5e	1,44	0	4,03	0,58
Ejemplo 5f	2,88	9,36	6,11	10,04

Resulta de la Tabla 4 y de la Figura 2 que las auronas metiladas inhiben la tirosinasa humana cuando se aplican a melanocitos humanos normales, en un grado menor que las auronas hidroxiladas.

TABLA 5

Inhibición de la tirosinasa humana tras aplicación de las auronas hidroxiladas y metiladas a melanocitos humanos normales, resultados expresados en porcentaje de inhibición

Auronas hidroxiladas y metiladas en el núcleo A	10^{-5}M	10^{-4}M	SD a 10^{-5}M	SD a 10^{-4}M
Ejemplo 6	0	Nd	18,39	Nd
Ejemplo 6c	14,19	Nd	1,59	Nd
Ejemplo 6d	0	2,31	11,93	5,02

Resulta de forma igualmente clara de la Tabla 5 y de la Figura 3 que, del mismo modo que las auronas metiladas, las auronas hidroxiladas y metiladas inhiben de forma menos significativa la tirosinasa humana.

ES 2 301 348 B2

TABLA 6

Inhibición de la tirosinasa humana tras aplicación de los análogos de auronas a melanocitos humanos normales, resultados expresados en porcentaje de inhibición

Ejemplo	Nombre	$10^{-4}M$	$10^{-5}M$	SD $10^{-4}M$	SD $10^{-5}M$
5m	(Z)-4,6-Dimetoxi-2-[(furan)metilen]benzofuran-3(2H)ona	19,5	6,4	2,3	5,1
5n	(Z)-4,6-Dimetoxi-2-[(5-etilfuran)metilen]benzofuran-3(2H)ona	7,8	0	5,2	3,3
5o	(Z)-4,6-Dimetoxi-2-[(4,5-dimetilfuran)metilen]benzofuran-3(2H)ona	23,2	12,1	0,4	3,4
5p	(Z)-4,6-Dimetoxi-2-[(tiofen)metilen]benzofuran-3(2H)ona	31,3	6,4	0,3	3,2
5q	(Z)-4,6-Dimetoxi-2-[(5-metiltiofen)metilen]benzofuran-3(2H)ona	4,8	0	5,3	3,3
5r	(Z)-4,6-Dimetoxi-2-[(5-etiltiofen)metilen]benzofuran-3(2H)ona	11,9	2,1	3,5	2,3
5s	(Z)-4,6-Dimetoxi-2-[(pirrol)metilen]benzofuran-3(2H)ona	13,7	0	3,2	3,2

5t	(Z)-4,6-Dimetoxi-2-[(3,5-dimetilpirrol)metilen]benzofuran-3(2H)ona	5,1	0	2,1	3,1
7m	(Z)-4,6-Dihidroxi-2-[(furan)metilen]benzofuran-3(2H)ona	23,6	6,4	0,5	4,1
7n	(Z)-4,6-Dihidroxi-2-[(5-etilfuran)metilen]benzofuran-3(2H)ona	28,5	13,4	1,2	3,4
7o	(Z)-4,6-Dihidroxi-2-[(4,5-dimetilfuran)metilen]benzofuran-3(2H)ona	13,6	4,5	3,4	8
7p	(Z)-4,6-Dihidroxi-2-[(tiofen)metilen]benzofuran-3(2H)ona	35,2	15,3	0,13	2,1
7q	(Z)-4,6-Dihidroxi-2-[(5-metiltiofen)metilen]benzofuran-3(2H)ona	16,4	7	1,3	4
7r	(Z)-4,6-Dihidroxi-2-[(5-etiltiofen)metilen]benzofuran-3(2H)ona	13,8	0	3	2,2
7s	(Z)-4,6-Dihidroxi-2-[(pirrol)metilen]benzofuran-3(2H)ona	22,8	9,1	2,4	3
7t	(Z)-4,6-Dihidroxi-2-[(3,5-dimetilpirrol)metilen]benzofuran-3(2H)ona	26,4	0	2,4	3,1

Resulta igualmente claro por la Tabla 6 que la mayor parte de los análogos inhiben de forma significativa la tirosinasa humana e impiden, por consiguiente, la formación de melanina y la pigmentación cutánea que es su consecuencia directa.

Ejemplo 16 de la invención

Ensayo de inhibición de la tirosinasa humana tras aplicación del compuesto del Ejemplo 9b a melanocitos humanos normales procedentes de diferentes donantes

Se estudió el compuesto del Ejemplo 9b en melanocitos procedentes de donantes diferentes, pero de fototipos claros, según el protocolo descrito en el Ejemplo 15. Los donantes estudiados son los siguientes:

- Donante S (donante estudiado en el Ejemplo 15): 46 años
- Donante 1: 40 años

ES 2 301 348 B2

- Donante 2: 47 años

- Donante 3: 33 años

Los resultados obtenidos están descritos en la siguiente Tabla 6 y en la Figura 4.

TABLA 6

Inhibición de la tirosinasa por el compuesto 9b en 4 donantes diferentes

Aurona del Ejemplo 9b	10^{-4} M	10^{-5} M	SD a 10^{-4} M	SD a 10^{-5} M
Donante S	75,31	35,23	8,51	1,47
Donante 1	37,76	-9,77	10,78	15,34
Donante 2	43,03	-7,56	2,71	13,07
Donante 3	63,39	24,68	2,1	13,36

Los resultados obtenidos muestran una gran eficacia del compuesto 9b en 4 donantes diferentes.

Ejemplo 17 de la invención

Ensayo de inhibición de la tirosinasa humana tras aplicación del compuesto del Ejemplo 9b a melanocitos humanos normales procedentes de diferentes donantes de fototipos morenos y negros

Se estudia el compuesto del Ejemplo 9b en cultivos de melanocitos procedentes de 2 donantes de fototipos morenos y de un donante de fototipo negroide. El protocolo aplicado es el descrito en el Ejemplo 15.

Los resultados obtenidos en los 2 donantes de fototipo moreno están descritos en la Tabla 7 y en la Figura 5.

TABLA 7

Inhibiciones de la tirosinasa obtenidas con el compuesto procedente del ejemplo 9b en 2 donantes de fototipo moreno

	Donante A	Donante B	SD donante A	SD donante B
10^{-3} M	97,51	91,8	0,74	1,89
10^{-4} M	44,96	66,96	3,76	1,51
10^{-5} M	25,41	31,8	3,76	1,16

Los resultados obtenidos en los fototipos morenos muestran que la actividad antitirosinasa es dosis-dependiente y fuerte. Los resultados obtenidos con el donante de fototipo negro (31 años de edad) están descritos en la Tabla 8

TABLA 8

Inhibición obtenida para el compuesto del ejemplo 9b en un donante de fototipo negro

	Donante negro	SD
10^{-4} M	65,83	3,22
10^{-5} M	39,51	4,97

La actividad inhibitoria de la tirosinasa procedente de fototipo negro es dosis-dependiente y confirma los resultados obtenidos por una parte en donantes de fototipos claros y por otra en donantes de fototipos negros.

ES 2 301 348 B2

Ejemplo 18 de la invención

Estudio de la citotoxicidad de las auronas

Se estudia la citotoxicidad de los agentes activos sobre melanocitos humanos normales en placa de 24 pocillos, mediante una dosificación de PNPP (fosfato de p-nitrofenilo), sustancia transformada en p-nitrofenol por las fosfatasas ácidas intracelulares de las células viables.

La absorbancia del p-nitrofenol a 405 nm es directamente proporcional al número de células viables.

Se estudian los agentes activos a 2 concentraciones diferentes (10^{-4} M y 10^{-5} M) y se añaden al medio de cultivo y se incuban a 37°C durante 24 horas. Se realiza la dosificación del PNPP sobre el tapiz celular y se expresan los resultados en porcentaje de viabilidad con respecto al control negativo (pocillos no tratados).

En la siguiente Tabla 9 se dan los resultados:

TABLA 9

Porcentajes de viabilidad obtenidos para los diferentes derivados de auronas sobre melanocitos humanos normales (las moléculas fueron estudiadas a 2 concentraciones, 10^{-4} y 10^{-5} M)

Ejemplos	10^{-4} M	10^{-5} M
5	83,1	98,55
5d	98,93	96,51
6	56,41	121,56
6d	86,65	119,36
2	103,84	126,09
4	106,77	85,33
5a	104,53	90,87
5b	13,63	99,62
5c	80,08	136,13
6c	20,87	116,24
9b	90,31	128,39
7b	63,52	143,15

Las moléculas estudiadas no son citotóxicas cuando se estudian a una concentración molar de 10^{-4} y 10^{-5} M, ya que los porcentajes de viabilidad obtenidos son superiores al 76% de viabilidad (umbral tolerado). Sólo 3 moléculas presentan un umbral inferior al 75% cuando se estudian a 10^{-4} M, a saber, las moléculas de los ejemplos 6, 5b y 6c. Para ser evaluadas, estas moléculas deberán, pues, ser estudiadas en monocapa a concentraciones inferiores a 10^{-4} M (10^{-5} M, por ejemplo).

Ejemplo 19 de la invención

Estudio de la especificidad de las auronas

Se realiza un estudio con moléculas conocidas en la literatura por su actividad despigmentante; estas moléculas son aplicadas al modelo descrito en el Ejemplo 15 para comparar su eficacia con respecto a las auronas descritas anteriormente.

La vitamina C estabilizada por un grupo fosfato de magnesio o VitC PMg, así como el ácido cójico, pudieron ser evaluados en nuestro modelo.

ES 2 301 348 B2

En la Tabla 10 se describen los resultados obtenidos.

TABLA 10

Inhibición de la tirosinasa obtenida para controles de la literatura

Molécula y concentración estudiada	Inhibición (%)	SD	Citotoxicidad
VitC 3%	97,77	1,15	Muerte celular
VitC 0,3%	49,28	4,86	Muerte celular
VitC 0,03%	-5,68	7,3	No
VitC PMG 3%	-3,49	1,65	No
VitC PMG 0,3%	1,55	3,28	No
VitC PMG 0,03%	2,93	2,79	No
Ácido cójico 0,5%	25,09	3,2	Muerte celular
Ácido cójico 0,05%	14,26	4,37	No
Ácido cójico 0,005%	6,84	4,32	No

Las moléculas estudiadas han mostrado ser ineficaces en el modelo del Ejemplo 15. En efecto, ninguna molécula permitió inhibir la tirosinasa humana a un umbral comparable al de las auronas y más particularmente a la molécula del Ejemplo 9b.

La vitamina C estudiada al 3% y al 0,3% presenta razones de inhibición importantes en la medida en que esta molécula tiene una acción citotóxica sobre los melanocitos y no específica.

Por consiguiente, esta molécula no puede ser considerada como activa en nuestro modelo.

Las auronas muestran ser moléculas muy eficaces sobre la tirosinasa humana normal.

Siendo las auronas estructuralmente próximas a las flavonas, se realizó un estudio consistente en estudiar flavonas en comparación con las auronas preferiblemente del Ejemplo 9b y 7. Se estudió la apigenina (estructuralmente próxima al derivado del Ejemplo 9b) a 10^{-4} M y 10^{-5} M. Se estudió la crisina (estructuralmente próxima al derivado del Ejemplo 7) a una concentración de 10^{-5} M. En la siguiente Tabla 11 se dan los resultados obtenidos:

TABLA 11

Comparación con las flavonas

	10^{-4} M	10^{-5} M
Ejemplo 9b	75,31 $\pm$ 8,51	35,23 $\pm$ 2,34
Apigenina	-59,06 $\pm$ 23,02	-40,83 $\pm$ 7,68
Ejemplo 7	3,37 $\pm$ 4,8	34,85 $\pm$ 3,04
Crisina	nd	-6,10 $\pm$ 22,87

Resultado de la Tabla 11 que los derivados de auronas inhiben de manera específica la tirosinasa humana; en efecto, la apigenina y la crisina, estudiadas a concentraciones molares idénticas, no inhiben la tirosinasa, siendo la razón DO/proteína obtenida superior a la razón DO/proteína del control no tratado.

La presencia de un núcleo de pentano en C en lugar de un hexano (en el caso de las flavonas) parece ser indispensable para inhibir la tirosinasa humana. Esto permite demostrar la especificidad de las auronas para la actividad despigmentante buscada.

ES 2 301 348 B2

Ejemplo 20 de la invención

Ejemplo de formulación que contiene las auronas o derivados de auronas

- 5 Utilización de los productos de la invención en formulaciones cosméticas o farmacéuticas de tipo emulsión de aceite en agua.

Formulación 20a

10	A	Agua	csp 100
		Butilenglicol	2
		Glicerina	3
15		Dihidroxietilfosfato de sodio,	2
		isopropil hidroxietil éter	
20	B	Estearato de glicol SE	14
		Triisononaoína	5
		Cocoato de octilo	6
25	C	Butilenglicol	2
		Metilparabén, etilparabén,	
30		propilparabén	
		pH ajustado a 5,5	
35	D	Productos de la invención	0,01-10%

Formulación 20b

40	A	Agua	csp 100
		Butilenglicol	2
		Glicerina	3
45		Poliacrilamida, isoparafina,	2,8
		Laureth-7	
50	B	Butilenglicol	2
		Metilparabén, etilparabén,	
		Propilparabén	2
55		Fenoxietanol, metilparabén,	
		propilparabén, butilparabén,	
60		etilparabén	0,5
		Butilenglicol	
65	D	Productos de la invención	0,01-10%

ES 2 301 348 B2

Formulación 20c

5	A	Carbómero	0,50
		Propilenglicol	3
		Glicerol	5
		Agua	csp 100
10	B	Cocoato de octilo	5
		Bisabolol	0,30
		Dimeticona	0,30
15	C	Hidróxido de sodio	1,60
		Fenoxietanol,	0,50
20	D	Metilparabén, propilparabén,	
		butilparabén, etilparabén	
25	E	Perfume	0,30
		F	Productos de la invención
			0,01-10%

Ejemplo 21 de la invención

Utilización de los productos de la invención en una formulación de tipo agua en aceite

35	A	PEG 30	3
		Dipolihiidroxiestearato	
		Triglicéridos cápricos	3
		Octanoato de cetearilo	4
40		Adipato de dibutilo	3
		Aceite de pepita de uva	1,5
		Aceite de jojoba	1,5
45		Fenoxietanol,	0,5
		Metilparabén, propilparabén,	
		etilparabén	
50	B	Glicerina	3
		Butilenglicol	3
		Sulfato de magnesio	0,5
		EDTA	0,05
		Agua	csp 100
60	C	Ciclometicona	1
		Dimeticona	1
65	D	Perfume	0,3
		E	Productos de la invención
			0,01-10%

ES 2 301 348 B2

Ejemplo 22 de la invención

Utilización de los productos de la invención es una formulación de tipo champú o gel de ducha

5	A	Goma de xantano	0,8
		Agua	csp 100
10	B	Butilenglicol	0,5
		Metilparabén, etilparabén,	
15		propilparabén	
		Fenoxietanol	0,5
		Metilparabén, propilparabén,	
20		butilparabén, etilparabén	
	C	Ácido cítrico	0,8
25	D	Laureth-sulfato de sodio	40,0
30	E	Producto de la invención	0,01-10%

Ejemplo 23 de la invención

35 *Utilización de los productos de la invención en una formulación de geles acuosos (contornos de ojos, adelgazantes, etc.)*

40	A	Agua	csp 100
		Carbómero	0,5
		Butilenglicol	15
45		Fenoxietanol, metilparabén,	0,5
		propilparabén, butilparabén,	
		etilparabén	
50	B	Productos de la invención	0,01-10%

Ejemplo 24 de la invención

55 *Estudios toxicológicos de los productos de la invención*

Evaluación de la aceptación cosmética de una preparación que contiene el objeto de la invención

60 Los ensayos de toxicología fueron realizados sobre el compuesto obtenido según el Ejemplo 9 incorporado al 10% en un gel de xantano al 0,5%, mediante una evaluación ocular en conejo, mediante un estudio de la ausencia de toxicidad anormal, mediante una administración oral única en rata y mediante el estudio del poder sensibilizante en cobaya.

Evaluación de la irritación primaria cutánea en el conejo

65 Se aplican las preparaciones antes descritas sin dilución a la dosis de 0,5 ml sobre la piel de 3 conejos según el método preconizado en la directiva OCDE, concerniente al estudio de "el efecto irritante/corrosivo agudo sobre la piel".

ES 2 301 348 B2

Los productos son clasificados según los criterios definidos por la resolución del 1/2/1982 publicada en JORF de 21/02/82.

Evaluación de la irritación ocular en el conejo

5

Se instilaron las preparaciones antes descritas puras una sola vez a razón de 0,1 ml en el ojo de 3 conejos según el método preconizado por la directiva de la OCDE N° 405 del 24 de febrero de 1987, concerniente al estudio de “el efecto irritante/corrosivo agudo sobre los ojos”.

10 Los resultados de esta prueba permiten concluir que las preparaciones pueden ser consideradas como no irritantes para los ojos, en el sentido de la directiva 91/326 CEE utilizadas puras o sin dilución.

Ensayo sobre la ausencia de toxicidad anormal por administración oral única en la rata

15 Las preparaciones descritas fueron administradas una vez por vía oral a la dosis de 5 g/kg de peso corporal a 5 ratas machos y 5 ratas hembras según un protocolo inspirado en la directiva de la OCDE N° 401 del 24 de febrero de 1987 y adaptada a los productos cosméticos.

20 La DL_0 y la DL_{50} resultan ser superiores a 5.000 mg/kg. Las preparaciones estudiadas no son, pues, clasificadas entre las preparaciones peligrosas por ingestión.

Evaluación del potencial de sensibilización cutánea en cobaya

25 Las preparaciones descritas son sometidas a la prueba de maximización descrita por Magnusson y Kligmann, protocolo de acuerdo con la línea directriz N° 406 de la OCDE.

Las preparaciones son clasificadas como no sensibilizantes por contacto con la piel.

30

35

40

45

50

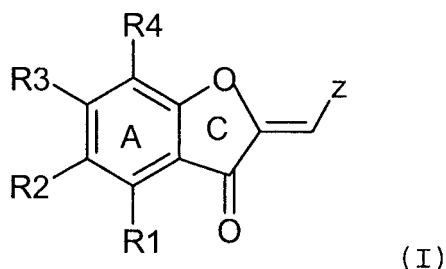
55

60

65

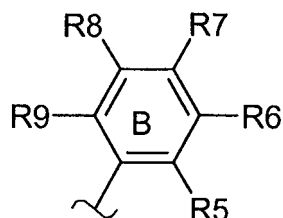
REIVINDICACIONES

1. Utilización de al menos una aurona o un análogo de aurona de fórmula (I):

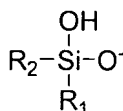


donde:

a) Z es un anillo de fenilo B



donde R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8 y R9 representan, independientemente los unos de los otros: H, un halógeno, un grupo hidroxilo (OH), un éster, un ácido C1-12 salificado o no salificado, una amida, una sulfonamida, un nitro, una amina I, II o III básica o salificada, un ciano, un tiol, un azúcar (O-heterósido o C-heterósido), una cadena de alquilo C1-12 lineal o ramificada, una cadena de alcoxi C1-12 lineal o ramificada, una cadena de alqueno C1-12 lineal o ramificada (v.g. prenilo), alquenoiloxi C1-12, una cadena de tioalquilo, un anillo o heterociclo de tipo alquilo o aromático, un sulfato salificado o no salificado, un sulfonato salificado o no salificado, un fosfato salificado o no salificado, un fosfato esterificado o no esterificado, un fosfonato salificado o no salificado, un grupo silanol de fórmula:

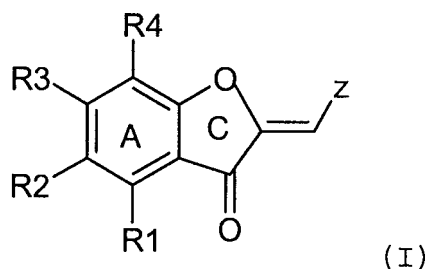


donde R1 y R2 pueden representar, independientemente el uno del otro, un grupo hidroxilo, metilo, etilo, fenilo, *p*-metilfenilo, *p*-metoxifenilo o terc-butilo; o

b) Z es un heterociclo seleccionado entre un pirrol, un imidazol, un triazol, una piridina, un furano y un tiofeno, estando Z sin substituir o substituido con un grupo R5, R6, R7 y eventualmente un grupo R8 como se ha definido anteriormente,

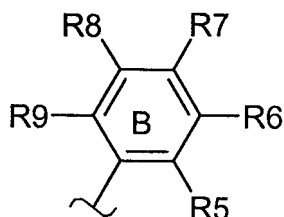
para fabricar una composición farmacéutica para el tratamiento de una patología de la pigmentación.

2. Utilización de al menos una aurona o un análogo de aurona como agente despigmentante en una composición cosmética, donde dicha aurona o análogo de aurona tiene la siguiente fórmula (I):

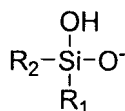


donde:

a) Z es un anillo de fenilo B



donde R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8 y R9 representan, independientemente los unos de los otros: H, un halógeno, un hidroxilo (OH), un éster, un ácido C1-12 salificado o no salificado, una amida, una sulfonamida, un nitro, una amina I, II o III básica o salificada, un ciano, un tiol, un azúcar (O-heterósido o C-heterósido), una cadena de alquilo C1-12 lineal o ramificada, una cadena de alcoxi C1-12 lineal o ramificada, una cadena de alqueno C1-12 lineal o ramificada (v.g. prenilo), alqueno C1-12, una cadena de tioalquilo, un anillo o heterociclo de tipo alquilo o aromático, un sulfato salificado o no salificado, un sulfonato salificado o no salificado, un fosfato salificado o no salificado, un fosfato esterificado o no esterificado, un fosfonato salificado o no salificado o un grupo silanol de fórmula:



donde R1 y R2 pueden representar, independientemente el uno del otro, un grupo hidroxilo, metilo, etilo, fenilo, *p*-metilfenilo, *p*-metoxifenilo o *tert*-butilo; o

b) Z es un heterociclo seleccionado entre un pirrol, un imidazol, un triazol, una piridina, un furano y un tiofeno, estando Z sin substituir o substituido con un grupo R5, R6 o R7 y eventualmente R8 según se ha definido anteriormente.

3. Utilización según una de las reivindicaciones 1 ó 2, donde dicho anillo A de dicha aurona contiene un grupo hidroxilo.

4. Utilización según una de las reivindicaciones 1 a 3, donde dicha aurona está en forma de dímero.

5. Utilización según una de las reivindicaciones 1 a 4 para uso tópico sobre la piel o el cabello.

6. Utilización según una de las reivindicaciones 1 a 4 para una actividad inhibitoria de la tirosinasa humana procedente de melanocitos humanos normales de donantes de fenotipos claros, morenos y negros.

7. Utilización según una de las reivindicaciones 1 a 6, **caracterizada** por seleccionar la aurona o análogo de fórmula (I) entre la (Z)-2-benciliden-6-hidroxibenzofuran-3(2H)ona, la (Z)-2-(4'-etil)benciliden-6-hidroxibenzofuran-3(2H)ona, la (Z)-2-(2'-etil)benciliden-6-hidroxibenzofuran-3(2H)ona, la (Z)-2-(4'-hidroxi)-benciliden-6-hidroxibenzofuran-3(2H)ona, la (Z)-2-benciliden-4,6-dimetoxibenzofuran-3(2H)ona, la (Z)-4,6-dimetoxi-2-(4'-hidroxibenciliden)benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-4,6-dimetoxi-2-(4'-etilbenciliden)benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-4,6-dimetoxi-2-(4'-metiltiobenciliden)benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-2-(4'-cianobenciliden)-4,6-dimetoxibenzofuran-3(2H)ona, la (Z)-4,6-dimetoxi-2-(4'-sulfonatobenciliden)benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-4,6-dimetoxi-2-(2',4'-disulfonatobenciliden)benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-4,6-dimetoxi-2-(4'-metilbenciliden)benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-4,6-dimetoxi-2-(4'-propilbenciliden)benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-4,6-dimetoxi-2-(4'-isopropilbenciliden)benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-2-(4'-butilbenciliden)-4,6-dimetoxibenzofuran-3(2H)ona, la (Z)-2-(4'-terc-butil-benciliden)-4,6-dimetoxibenzofuran-3(2H)ona, la (Z)-2-(2'-etilbenciliden)-4,6-dimetoxibenzofuran-3(2H)ona, la (Z)-4,6-dimetoxi-2-[(furan)metilen]benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-4,6-dimetoxi-2-[(5-etilfuran)metilen]benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-4,6-dimetoxi-2-[(4,5-dimetilfuran)metilen]benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-4,6-dimetoxi-2-[(tiofeno)metilen]benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-4,6-dimetoxi-2-[(5-metiltiofeno)metilen]benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-4,6-dimetoxi-2-[(5-etiltiofeno)metilen]benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-4,6-dimetoxi-2-[(pirrol)metilen]benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-4,6-dimetoxi-2-[(3,5-dimetilpirrol)metilen]benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-2-benciliden-4-hidroxi-6-metoxibenzofuran-3(2H)ona, la (Z)-2-(4'-metiltiobenciliden)-4-hidroxi-6-metoxibenzofuran-3(2H)ona, la (Z)-2-(4'-cianometilbenciliden)-4-hidroxi-6-metoxibenzofuran-3(2H)ona, la (Z)-2-benciliden-(4,6-dihidroxi)benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-2-(4'-etilbenciliden)-(4,6-dihidroxi)benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-2-(4'-sulfonatobenciliden)-(4,6-dihidroxi)benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-2-(4'-metilbenciliden)-(4,6-dihidroxi)benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-2-(4'-propilbenciliden)-(4,6-dihidroxi)benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-2-(4'-isopropilbenciliden)-(4,6-dihidroxi)benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-2-(4'-butilbenciliden)-(4,6-dihidroxi)-benzofuran-3

(2H)ona, la (Z)-2-(4'-terc-butilbenciliden)-(4,6-dihidroxi)benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-2-(2'-etilbenciliden)-(4,6-dihidroxi)benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-4,6-dihidroxi-2-[(furan)metilen]benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-4,6-dihidroxi-2-[(5-etilfuran)metilen]benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-4,6-dihidroxi-2-[4,5-(dimetilfuran)metilen]benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-4,6-dihidroxi-2-[(tiofeno)metilen]benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-4,6-dihidroxi-2-[(5-metiltiofeno)metilen]benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-4,6-dihidroxi-2-[(5-etiltiofeno)metilen]benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-4,6-dihidroxi-2-[(pirrol)metilen]benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-4,6-dihidroxi-2-[(3,5-dimetilpirrol)metilen]benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-4,6-dihidroxi-2-(4'-etoxibenciliden)benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-4,6-dihidroxi-2-(4'-hidroxibenciliden)benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-4,6-dihidroxi-2-(3-metoxi-4-hidroxibenciliden)benzofuran-3(2H)ona y la (Z)-2-(4'-hidroxibenciliden)-4-hidroxibenzofuran-3(2H)ona.

8. Utilización según una de las reivindicaciones 1 a 7, **caracterizada** por el hecho de que la aurona, su derivado o su análogo es la (Z)-4,6-dihidroxi-2-(4-metoxibenciliden)benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-4,6-dihidroxi-2-(4'-etoxibenciliden)benzofuran-3(2H)ona, la (Z)-4,6-dihidroxi-2-(4'-hidroxibenciliden)benzofuran-3(2H)ona o la (Z)-4,6-dihidroxi-2-(3-metoxi-4-hidroxibenciliden)benzofuran-3(2H)ona.

9. Utilización según una de las reivindicaciones 1 a 8, **caracterizada** por ser la aurona o análogos de fórmula (I) de origen natural o por ser obtenidos por síntesis química, o por estar presentes en un extracto de plantas que contiene de forma natural esta aurona o análogo de aurona de fórmula (I).

10. Una aurona, donde dicha aurona es seleccionada entre el grupo consistente en:

(Z)-(2'-etilbenciliden)-6-hidroxibenzofuran-3(2H)ona,
 (Z)-4,6-dimetoxi-2-(4'-etilbenciliden)benzofuran-3(2H)ona,
 (Z)-4,6-dihidroxi-(4'-etilbenciliden)benzofuran-3(2H)ona,
 (Z)-4,6-dimetoxi-(4'-metiltiobenciliden)benzofuran-3(2H)ona,
 (Z)-4-hidroxi-6-metoxi-(4'-metiltiobenciliden)benzofuran-3(2H)ona,
 (Z)-4,6-dimetoxi-2-(4'-sulfonilatobenciliden)benzofuran-3(2H)ona,
 (Z)-4,6-dimetoxi-(4'-metilbenciliden)benzofuran-3(2H)ona,
 (Z)-4,6-dimetoxi-(4'-isopropilbenciliden)benzofuran-3(2H)ona,
 (Z)-4,6-dihidroxi-(4'-isopropilbenciliden)benzofuran-3(2H)ona,
 (Z)-4,6-dihidroxi-(4'-propilbenciliden)benzofuran-3(2H)ona,
 (Z)-4,6-dimetoxi-(4-terc-butilbenciliden)benzofuran-3(2H)ona,
 (Z)-(4'-butilbenciliden)-4,6-dimetoxibenzofuran-3(2H)ona,
 (Z)-4,6-dimetoxi-(2'-etilbenciliden)benzofuran-3(2H)ona,
 (Z)-4,6-dimetoxi-(2',4'-disulfonilatobenciliden)benzofuran-3(2H)ona,
 (Z)-4,6-dihidroxi-2-(4'-sulfonilatobenciliden)benzofuran-3(2H)ona,
 (Z)-4,6-dihidroxi-(2'-etilbenciliden)benzofuran-3(2H)ona,
 (Z)-4,6-dihidroxi-(4-etoxibenciliden)benzofuran-3(2H)ona,
 (Z)-4,6-dihidroxi-(2'-hidroxibenciliden)benzofuran-3(2H)ona

y cualquier mezcla de éstas.

11. Una composición cosmética o composición farmacéutica, **caracterizada** por contener, como uno de sus agentes con actividad despigmentante o actividad inhibidora de la melanogénesis, al menos una aurona de la reivindicación 10, eventualmente en mezcla con un excipiente, vehículo o soporte cosmética o farmacéuticamente aceptable.

12. Un método de cuidado cosmético de despigmentación cosmética, **caracterizado** por consistir en la aplicación tópica sobre al menos una zona de la piel o del cabello a la que concierne la despigmentación de una cantidad efectiva para realizar dicha despigmentación de al menos una aurona o análogos de aurona tal como se ha definido anteriormente en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, eventualmente en mezcla con un excipiente, vehículo o soporte cosméticamente aceptable.

FIG.1

INHIBICIÓN DE LA TIROSINASA HUMANA EN
MONOCAPA DE LAS AURONAS HIDROXILADAS

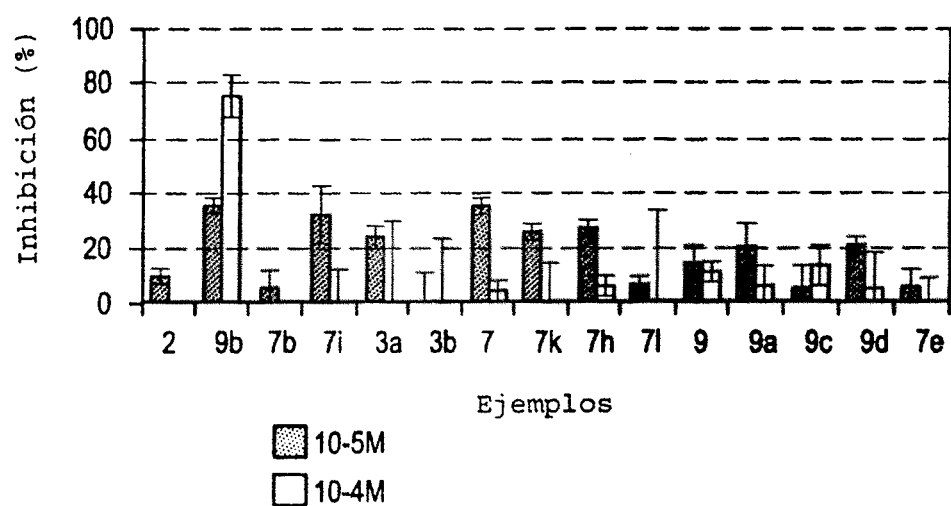


FIG.2

INHIBICIÓN DE LA TIROSINASA HUMANA EN
MONOCAPA DE LAS AURONAS METILADAS

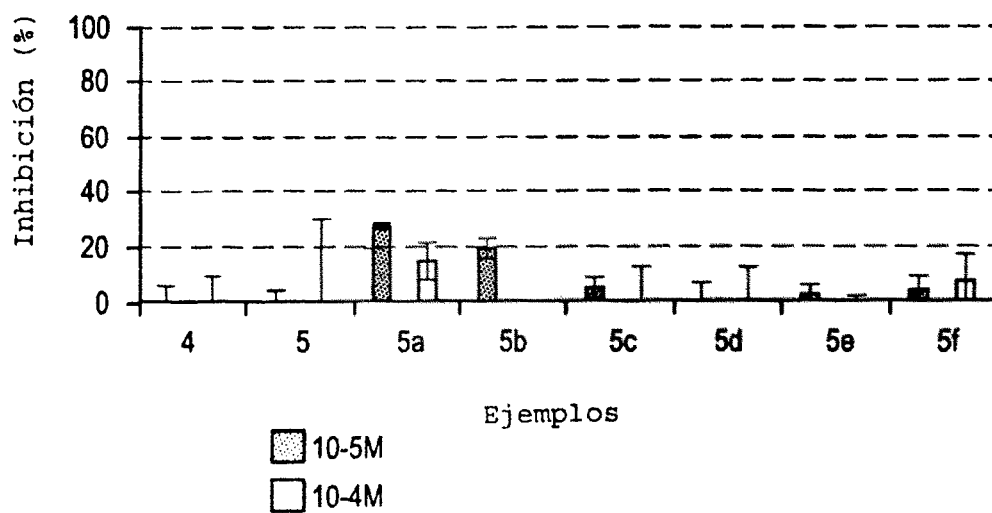


FIG.3

INHIBICIÓN DE LA TIROSINASA HUMANA EN MONOCAPA DE LAS AURONAS HIDROXILADAS Y METILADAS SOBRE EL NÚCLEO A

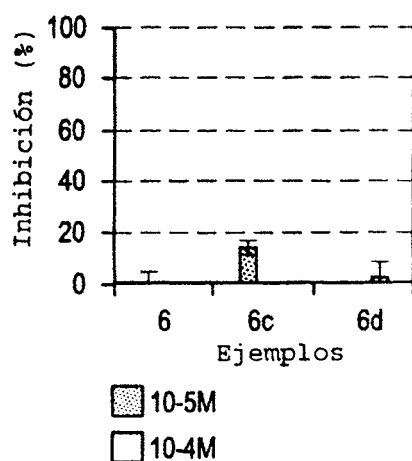


FIG.5

INHIBICIÓN DE LA TIROSINASA OBTENIDA CON EL COMPUESTO DEL EJEMPLO 9b SOBRE DOS DONANTES DE FOTOTIPOS MORENOS

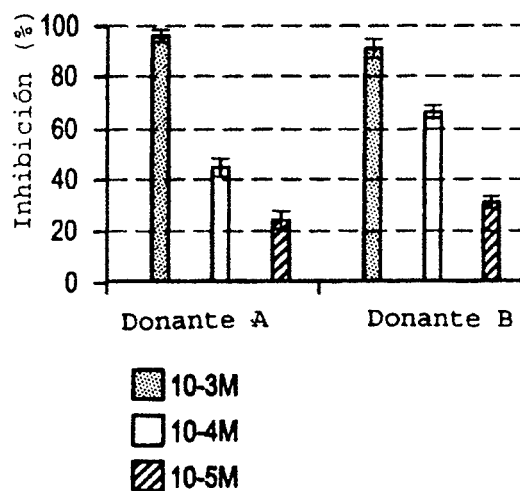
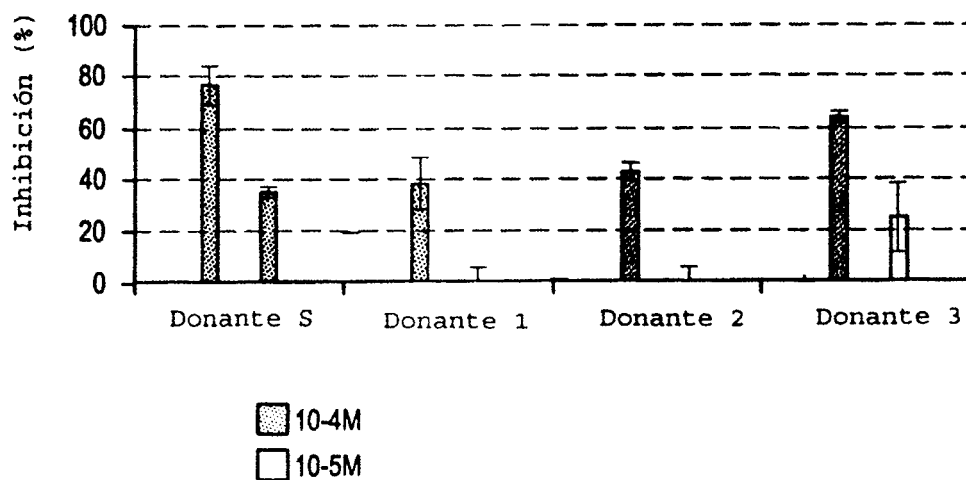


FIG.4

INHIBICIÓN DE LA TIROSINASA HUMANA POR EL COMPUESTO DEL EJEMPLO 9b





OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

⑪ ES 2 301 348

⑫ Nº de solicitud: 200600842

⑬ Fecha de presentación de la solicitud: 31.03.2006

⑭ Fecha de prioridad: 06.04.2005
12.05.2005

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑮ Int. Cl.: Ver hoja adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑯ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	US 2003060426 A (PFLÜCKER F. y col.) 27.03.2003, página 2, párrafos [0015]-[0021]; página 3, párrafos [0028]-[0031].	11-13
X	WO 9117749 A1 (BAYLOR COLLEGE MEDICINE) 28.11.1991, página 20, compuestos MV-19,MV-20,MV-21; página 6, línea 15 - página 7, línea 13.	11,13
X	WO 97268873 A1 (MCALPINE J. y col.) 31.07.1997, página 3, línea 1 - página 5, línea 24.	11,13
X	US 6307070 A (WAI-LAM ALEX CHU) 23.10.2001, columna 1, línea 48 - columna 3, línea 30; compuestos esquema P-1, columnas 68,69,70.	11,13
X	Base de datos BEILSTEIN. BEILSTEIN INSTITUTE FOR ORGANIC CHEMISTRY. Nº de acceso BRN 29818. 30.06.1988 Compuesto con RN 32396-79-5.	13
X	Base de datos BEILSTEIN. BEILSTEIN INSTITUTE FOR ORGANIC CHEMISTRY. Nº de acceso BRN 20390. 30.06.1988.	13
X	Base de datos BEILSTEIN. BEILSTEIN INSTITUTE FOR ORGANIC CHEMISTRY. Nº de acceso BRN 249836. 17.04.2003.	13
X	Base de datos BEILSTEIN. BEILSTEIN INSTITUTE FOR ORGANIC CHEMISTRY. Nº de acceso BRN 5030145. 29.04.1993.	13
X	Base de datos BEILSTEIN. BEILSTEIN INSTITUTE FOR ORGANIC CHEMISTRY. Nº de acceso BRN 1577317. 25.02.1992.	13

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones

☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe

09.05.2008

Examinador

E. Albarrán Gómez

Página

1/2

CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

C07D 307/83 (2006.01)

A61K 31/343 (2006.01)

A61K 31/404 (2006.01)

A61K 31/381 (2006.01)

A61Q 19/02 (2006.01)

A61P 17/02 (2006.01)