

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11) Número de publicación: **2 593 057**

21) Número de solicitud: 201530608

51) Int. Cl.:

**C07D 491/052** (2006.01)

**A61K 31/4162** (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION

B1

22) Fecha de presentación:

**05.05.2015**

43) Fecha de publicación de la solicitud:

**05.12.2016**

Fecha de concesión:

**05.09.2017**

45) Fecha de publicación de la concesión:

**12.09.2017**

56) Se remite a la solicitud internacional:

**PCT/ES2016/070314**

73) Titular/es:

**CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES  
CIENTIFICAS (50.0%)**

**C/ SERRANO 117**

**28006 MADRID (Madrid) ES y**

**THE GOVERNING COUNCIL OF THE UNIVERSITY  
OF TORONTO (50.0%)**

72) Inventor/es:

**JAGEROVIC, Nadine;**

**MORALES LAZARO, Paula;**

**ROSS, Ruth y**

**WHYTE, Lauren**

74) Agente/Representante:

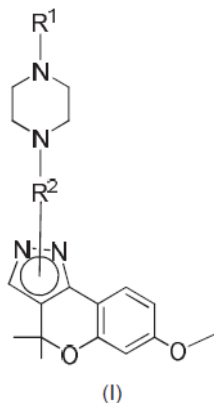
**PONS ARIÑO, Ángel**

54) Título: **Moduladores selectivos de la actividad del receptor GPR55: derivados de cromenopirazol**

57) Resumen:

Moduladores selectivos de la actividad del receptor GPR55: derivados de cromenonirazol.

La presente invención se refiere a una familia de compuestos derivados de cromenopirazol de fórmula (I):



que presentan la capacidad de modular el receptor de la familia de los cannabinoides GPR55, por lo que la invención también se refiere al uso de estos compuestos para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades en las que el receptor GPR55 tiene un papel fisiológico, tales como, diabetes, enfermedad de Parkinson, esclerosis múltiple, dolor neuropático, osteoporosis y cánceres como el colangiocarcinoma, el cáncer de mama, el cáncer de ovario y de próstata, el glioblastoma y el carcinoma cutáneo.

ES 2 593 057 B1

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP 11/1986.

**Moduladores selectivos de la actividad del receptor GPR55: derivados de  
cromenopirazol**

**DESCRIPCIÓN**

5

**SECTOR DE LA TECNICA**

La presente invención se engloba en el campo de la farmacología. Específicamente, la presente invención se refiere a piperazinas derivadas de 7-metoxi-4,4-dimetil-1,4-dihidrocromeno[4,3-c]pirazol y 7-metoxi-4,4-dimetil-2,4-dihidrocromeno[4,3-c]pirazol, su uso para la fabricación de un medicamento, el uso de este medicamento para el tratamiento y/o la prevención de un trastorno asociado al receptor GPR55 y el uso de estos compuestos para ensayos farmacológicos relacionados con GPR55.

15 **ESTADO DE LA TECNICA ANTERIOR**

El receptor GPR55 se clonó e identificó por primera vez en 1999. Es un receptor transmembrana asociado a proteína G. Aunque comparte solamente 14% de homología con los receptores cannabinoides CB1 y CB2, se propuso como nuevo miembro del sistema endocannabinoide. Efectivamente, se descubrieron que ligandos de receptores cannabinoides eran capaces de activar el receptor GPR55 (GlaxoSmithKline WO0186305; AstraZeneca WO2004074844). Actualmente, existe controversia en torno a la farmacología de GPR55. Hoy en día, GPR55 sigue considerado un receptor huérfano. Sin embargo, se ha descrito que los derivados endógenos lisofosfatidilinositol (LPI) eran capaces de estimular el receptor GPR55 por fosforilación de ERK1/2 en células HEK293 que sobreexpresan hGPR55. Hasta la fecha, existen muy pocos agonistas y/o antagonistas específicos del receptor GPR55. Algunos derivados de benzoilpiperazina fueron identificados como agonistas de GPR55 sin acción sobre los receptores cannabinoides CB1 y CB2. Mediante una evaluación farmacológica de alto cribado utilizando ensayos de  $\beta$ -arrestina en células hGPR55-U2OS se descubrieron varias familias de agonistas de GPR55 y antagonistas selectivos de GPR55 que dieron lugar a estudios de modelización molecular.

Se ha mostrado que el receptor GPR55 está implicado en los procesos de dolor inflamatorio, dolor neuropático, trastorno metabólico, desarrollo del hueso, y procesos de proliferación de células tumorales. Por lo tanto, GPR55 se considera una diana biológica para el tratamiento de enfermedades relacionadas con GPR55 como, por

ejemplo, la diabetes, la enfermedad de Parkinson, la esclerosis múltiple, el dolor neuropático, la osteoporosis, el colangiocarcinoma, el cáncer de mama, el cáncer de ovario y de próstata, el glioblastoma y el carcinoma cutáneo.

5 Los compuestos reivindicados en la presente invención presentan como esqueleto base el cromenopirazol. En WO2010109050, se describe cromenopirazoles como cannabinoides con actividad analgésica. Más recientemente, en WO2014013117 y P201430372 se describen cromenopirazoles como antitumorales relacionados con actividad cannabinoide.

10

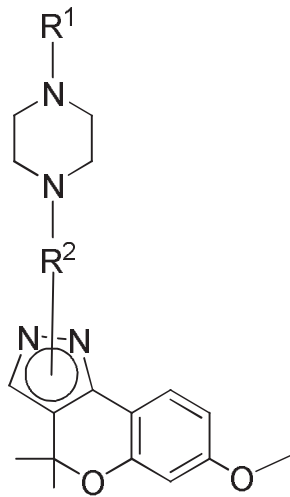
### **DESCRIPCION DE LA INVENCION**

La presente invención se enfrenta al problema de proporcionar nuevos compuestos útiles como herramienta farmacológica para la validación del receptor GPR55 y como  
15 agentes terapéuticos relacionados con GPR55. Los nuevos compuestos de la presente invención actúan sobre los receptores GPR55. Por lo tanto, son útiles para tratar enfermedades y trastornos relacionados con el receptor GPR55, como por ejemplo, la diabetes, la enfermedad de Parkinson, la esclerosis múltiple, el dolor neuropático, la osteoporosis, el colangiocarcinoma, el cáncer de mama, el cáncer de ovario y de  
20 próstata, el glioblastoma y el carcinoma cutáneo.

Los autores de la presente invención han encontrado que los compuestos de fórmula (I) actúan sobre el receptor huérfano GPR55 de manera selectiva y por tanto son útiles para modular procesos en los que está implicado dicho receptor.

25

En un primer aspecto, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula general (I)



Fórmula (I)

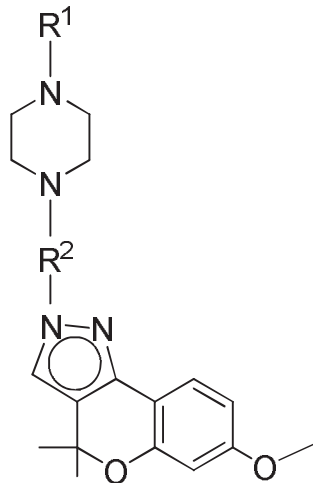
o un tautómero, una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo;

donde:

- 5
- R<sup>1</sup> se selecciona entre arilo opcionalmente sustituido o un grupo -C(O)R<sup>3</sup>; R<sup>3</sup> se selecciona de entre arilo, heterociclo, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> o un grupo -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-O-arilo, siendo n un valor seleccionado entre 1, 2, 3 ó 4.
  - R<sup>2</sup> se selecciona de entre alquilenos C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> o un grupo -R<sup>4</sup>-C(O)-NH-R<sup>5</sup>-, siendo R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> alquilenos C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> iguales o diferentes

10

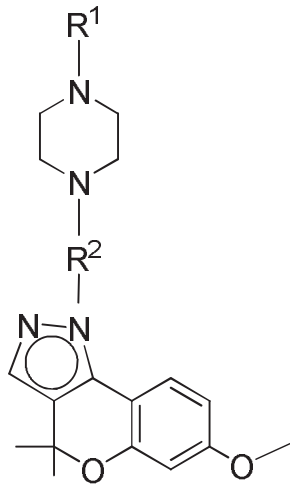
Otro aspecto de la invención se refiere a un compuesto de fórmula general (II)



Fórmula (II)

- 15
- o un tautómero, una sal farmacéuticamente aceptable, o solvato del mismo;  
donde R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se definen como anteriormente.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula general (III)



5

Fórmula (III)

o un tautómero, una sal farmacéuticamente aceptable, o solvato del mismo; donde R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se definen como anteriormente.

10 En una realización preferida, R<sup>1</sup> es un grupo -C(O)R<sup>3</sup> en donde R<sup>3</sup> es cualquiera de las posibilidades anteriormente mencionadas, aunque preferiblemente R<sup>3</sup> es arilo y más preferiblemente fenilo.

15 En otra realización preferida, R<sup>3</sup> es heterociclo y más preferiblemente R<sup>3</sup> se selecciona de entre furano, tiofeno o tetrahidrofurano.

En otra realización preferida, R<sup>3</sup> es ciclohexilo.

20 En otra realización preferida, R<sup>3</sup> es alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>.

En otra realización preferida, R<sup>2</sup> es alquileo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, y más preferiblemente etileno.

De acuerdo con una realización preferida, el compuesto de fórmula (I) se selecciona entre el grupo que consiste en:

25

- 1-(2-(4-(2-furoil)piperazinil)etil)-1,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol

- 2-(2-(4-furoil-piperazinil)etil)-2,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol
- 1-(2-(4-benzoil-piperazinil)etil)-1,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol
- 5 - 2-(2-(4-benzoil-piperazinil)etil)-2,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol
- 1-(2-(4-(2-tienoil)piperazinil)etil)-1,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol
- 2-(2-(4-(2-tienoil)piperazinil)etil)-2,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol
- 10 - 2-(2-(4-fenoxiacetil-piperazinil)etil)-2,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol
- 2-(2-(4-(2-tetrahidrofuroil)piperazinil)etil)-2,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol
- 15 - 2-(2-(4-ciclohexilcarbonil-piperazinil)etil)-2,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol
- 2-(2-(4-pivaloil-piperazinil)etil)-2,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol

20 En otra realización preferida, R<sup>1</sup> es un fenilo opcionalmente sustituido. En una realización más preferida, el R<sup>1</sup> es un fenilo sustituido por un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> o un alquiloxi C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> y más preferiblemente, por un metilo o un metoxi.

25 En otra realización preferida R<sup>2</sup> es un grupo -R<sup>4</sup>-C(O)-NH-R<sup>5</sup>-, siendo R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> alquilenos C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> iguales o diferentes. En una realización más preferida, R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> son metileno.

De acuerdo con una realización preferida, el compuesto de fórmula (II) se selecciona entre el grupo que consiste en:

- 30 - 1-(2-(4-fenilpiperazinil)acetamidometil)-1,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol
- 2-(2-(4-fenilpiperazinil)acetamidometil)-2,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol
- 35 - 1-(2-(4-(2-metoxifenil)piperazinil)acetamidometil)-1,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol

- 2-(2-(4-(2-metoxifenil)piperazinil)acetamidometil)-2,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol
- 1-(2-(4-(2,3-dimetilfenil)piperazinil)acetamidometil)-1,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol
- 5 - 2-(2-(4-(2,3-dimetilfenil)piperazinil)acetamidometil)-2,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol
- 1-(2-(4-(4-metoxifenil)piperazinil)acetamidometil)-1,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol.

10 El término "alquilo" se refiere, en la presente invención, a cadenas alifáticas, lineales, cicladas o ramificadas, saturadas o insaturadas, que tienen de 1 a 6 átomos de carbon. Por ejemplo, pero sin limitarse a, el grupo alquilo puede ser metilo, etilo, ciclohexano etc. Los grupos alquilo pueden estar opcionalmente sustituidos por uno o más sustituyentes tales como halógeno, hidroxilo o ácido carboxílico.

15

El término "arilo" se refiere, en la presente invención, a anillos aromáticos sencillos o múltiples, que tienen de entre 5 a 18 eslabones en los que se ha eliminado un protón del anillo. Los grupos arilo son por ejemplo, pero sin limitarse a, fenilo, naftilo, difenilo, indenilo, fenantrilo o antracilo. Preferiblemente el grupo arilo tiene de 5 a 7 átomos de carbono y más preferiblemente el grupo arilo es un fenilo. Los radicales arilo pueden estar opcionalmente sustituidos por uno o más sustituyentes tales como alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), alcoxilo, halógeno, hidroxilo o ácido carboxílico y más preferiblemente el grupo arilo esta sustituido por uno o dos metoxilos.

20

25 El término "cicloalquilo" se refiere, en la presente invención, a radicales de cadenas hidrocarbonadas cíclicas, preferiblemente de 3 a 6 átomos de carbono y más preferiblemente de 6, que está saturado o parcialmente saturado, y que sólo consiste en átomos de carbono e hidrógeno, tal como ciclopropilo, ciclopentilo o ciclohexilo y que puede estar opcionalmente sustituido por uno o más grupos tales como alquilo, halógenos, hidroxilo, aminas, amidas, ciano etc.

30

El término "heterociclo" se refiere, en la presente invención, a una estructura cíclica que contiene de entre 1 a 4 heteroatomos seleccionados entre nitrógeno, oxígeno y azufre. La estructura puede ser aromática o hidrogenada. Preferiblemente, el heterociclo puede seleccionarse entre tienilo, furilo, tetrahidrofurilo, piridilo, imidazolilo, pirazolilo, morfolino pero sin limitarse a ellos. Los radicales heterocíclicos pueden estar

35

opcionalmente sustituidos por uno o más sustituyentes tales como alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), alcoxilo, halógeno, hidroxilo o ácido carboxílico.

5 A menos que se indique lo contrario, los compuestos de la invención también se refieren a que incluyen compuestos que difieren sólo en la presencia de uno o más átomos isotópicamente enriquecidos. Por ejemplo, los compuestos que tienen las presentes estructuras, a excepción de la sustitución de un hidrógeno por un deuterio o por tritio, o la sustitución de un carbono por un carbono enriquecido en <sup>13</sup>C o <sup>14</sup>C o un nitrógeno enriquecido en <sup>15</sup>N, están dentro del alcance de esta invención.

10

El término "tautómero" o "forma tautomérica", tal y como se usa en la presente invención, se refiere a isómeros estructurales de diferentes energías que son interconvertibles vía una barrera de baja energía. Por ejemplo, tautómeros protónicos (también conocidos como tautómeros prototrópicos) que incluyen interconversiones  
15 mediante la migración de un protón, como por ejemplo isomerizaciones ceto-enólicas o imina-enamina. Los tautómeros de valencia incluyen interconversiones por reorganización de algunos electrones de enlace.

El término "sales o solvatos farmacéuticamente aceptables" se refiere a cualquier sal,  
20 éster, solvato farmacéuticamente aceptable, o cualquier otro compuesto que, cuando se administra a un receptor es capaz de proporcionar (directamente o indirectamente) un compuesto según se describe en el presente documento. Sin embargo, se apreciará que las sales farmacéuticamente no aceptables también están dentro del alcance de la invención ya que éstas pueden ser útiles en la preparación de sales  
25 farmacéuticamente aceptables. La preparación de sales y derivados puede llevarse a cabo mediante métodos conocidos en la técnica.

Por ejemplo, sales farmacéuticamente aceptables de compuestos previstos en el presente documento, se sintetizan mediante métodos químicos convencionales a partir  
30 de un compuesto original que contiene un resto básico ó ácido. Generalmente, tales sales se preparan, por ejemplo, haciendo reaccionar las formas de ácido o base libre de los compuestos con una cantidad estequiométrica de la base o ácido apropiado en agua o en un disolvente orgánico o en una mezcla de los dos. Generalmente, se prefieren medios no acuosos como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol o  
35 acetonitrilo. Ejemplos de sales de adición de ácidos incluyen sales de adición de ácido mineral tales como, por ejemplo, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, sulfato, nitrato, fosfato y sales de adición de ácido orgánico tales como, por ejemplo, acetato, maleato,



fumarato, citrato, oxalato, succinato, tartrato, malato, mandelato, metanosulfonato y p-toluenosulfonato. Ejemplos de sales de adición de bases incluyen sales inorgánicas tales como, por ejemplo, sales de sodio, potasio, calcio, amonio, magnesio, aluminio y litio, y sales de bases orgánicas tales como, por ejemplo, etilendiamina, etanolamina, N,N-dialquilenetanolamina, ttrretanolamina, glucamina y sales de aminoácidos básicos

Los derivados particularmente favoritos son aquellos que aumentan la biodisponibilidad de los compuestos de esta invención cuando se administran tales compuestos a un paciente (por ejemplo, haciendo que un compuesto administrado por vía oral se absorba más fácilmente por la sangre), o que potencia la liberación del compuesto original en un compartimento biológico (por ejemplo, el cerebro o el sistema linfático) con relación a la especie original.

Los compuestos de fórmula (I), (II) o (III) pueden estar en forma cristalina como compuestos libres o como solvatos y se pretende que ambas formas están dentro del alcance de la presente invención. Los métodos de solvatación se conocen generalmente dentro de la técnica. Los solvatos adecuados son solvatos farmacéuticamente aceptables. En una realización particular, el solvato es un hidrato.

Los compuestos de fórmula (I), de fórmula (II) y de fórmula (III) o sus sales o solvatos están preferiblemente en una forma farmacéuticamente aceptable o sustancialmente pura. Por forma farmacéuticamente aceptable se entiende, entre otros, que tienen un nivel de pureza farmacéuticamente aceptable excluyendo los aditivos farmacéuticos normales tales como diluyentes y portadores, y no incluyendo material considerado tóxico a niveles de dosificación normales. Los niveles de pureza para el principio activo son preferiblemente superiores al 50%, más preferiblemente, superiores al 70%, más preferiblemente, superiores al 90%. En una realización preferida, son superiores al 95% del compuesto de fórmula (I), o de sus sales o.

Los compuestos de fórmula (I), de fórmula (II) y de fórmula (III) definidos anteriormente pueden obtenerse mediante una combinación de reacciones sintéticas conocidas en el estado del arte tales como las mencionadas en el artículo Press J.B., J. Heterocyclic Chem., 1985, 22, 561-564.

En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula (I), de fórmula (II) o de fórmula (III) para la fabricación de un medicamento.

En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso un compuesto de fórmula (I), de fórmula (II) o de fórmula (III) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o la prevención de un trastorno asociado a los receptores GPR55.

- 5 De acuerdo con una realización preferida, el trastorno asociado a receptores GPR55 se selecciona entre diabetes, enfermedad de Parkinson, esclerosis múltiple, dolor neuropático, osteoporosis, el colangiocarcinoma, el cáncer de mama, el cáncer de ovario y de próstata, el glioblastoma y el carcinoma cutáneo.
- 10 En otro aspecto, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (I) o de fórmula (II) o de fórmula (III) para su uso en el tratamiento de y/o la prevención de un trastorno asociado a los receptores de cannabinoides.

15 El término "trastorno" tal y como se usa en la presente invención, se refiere a la presencia de un comportamiento o de un grupo de síntomas identificables en la práctica clínica, que en la mayoría de los casos se acompañan de malestar o interfieren con la actividad habitual del individuo.

20 Los compuestos de fórmula (I), de fórmula (II) o de fórmula (III), sus sales farmacéuticamente aceptables o solvatos del mismo, pueden ser utilizados, por tanto, en la prevención y/o el tratamiento de un trastorno que requiera modulación de los receptores GPR55. Las composiciones farmacéuticas que contienen una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o de fórmula (II), sus sales farmacéuticamente aceptables o solvatos del mismo, junto con los excipientes  
25 farmacéuticamente aceptables, constituyen un aspecto adicional de la presente invención.

30 La cantidad de compuesto de fórmula (I), de fórmula (II) o de fórmula (III), sus sales farmacéuticamente aceptables o solvatos del mismo, terapéuticamente eficaz que debe administrarse así como su dosificación para tratar un estado patológico con dichos compuestos dependerá de numerosos factores, entre los que se encuentra la edad, el estado del paciente, la severidad de la enfermedad, la ruta y frecuencia de administración, el compuesto modulador a utilizar, etc.

35 En otro aspecto, la presente invención también se refiere a las composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un compuesto de la invención, o un tautómero, una sal farmacéuticamente aceptable, un solvato o un profármaco del

mismo, junto con un transportador o carrier farmacéuticamente aceptable, un excipiente o un vehículo, para la administración a un paciente.

5 En una realización preferida, la composición farmacéutica comprende además otro principio activo.

Algunos ejemplos de las composiciones farmacéuticas son sólidos (tabletas, píldoras, cápsulas, sólido granulado, etc.) o líquidos (disoluciones, suspensiones o emulsiones) preparados para la administración oral, nasal, tópica o parenteral.

10

En una realización preferida de la presente invención, las composiciones farmacéuticas son adecuadas para la administración oral, en forma sólida o líquida. Las posibles formas para la administración oral son tabletas, cápsulas, siropes o soluciones y pueden contener excipientes convencionales conocidos en el ámbito farmacéutico, como agentes agregantes (p.e. sirope, acacia, gelatina, sorbitol, tragacanto o polivinil pirrolidona), rellenos (p.e. lactosa, azúcar, almidón de maíz, fosfato de calcio, sorbitol o glicina), disgregantes (p.e. almidón, polivinil pirrolidona o celulosa microcristalina) o un surfactante farmacéuticamente aceptable como el lauril sulfato de sodio.

20

Las composiciones para administración oral pueden ser preparadas por los métodos convencionales de Farmacia Galénica, como mezcla y dispersión. Las tabletas se pueden recubrir siguiendo métodos conocidos en la industria farmacéutica.

25 Las composiciones farmacéuticas se pueden adaptar para la administración parenteral, como soluciones estériles, suspensiones, o liofilizados de los productos de la invención, empleando la dosis adecuada. Se pueden emplear excipientes adecuados, como agentes tamponadores del pH o surfactantes.

30 La administración de los compuestos o composiciones de la presente invención puede ser realizada mediante cualquier método adecuado, como la infusión intravenosa y las vías oral, intraperitoneal o intravenosa. La administración oral es la preferida por la conveniencia de los pacientes y por el carácter crónico de las enfermedades a tratar.

35 La cantidad administrada de un compuesto de la presente invención dependerá de la eficacia relativa del compuesto elegido, la severidad de la enfermedad a tratar y el peso del paciente. Sin embargo, los compuestos de esta invención serán

administrados una o más veces al día, por ejemplo 1, 2, 3 ó 4 veces diarias, con una dosis total entre 0.1 y 1000 mg/Kg/día. Es importante tener en cuenta que puede ser necesario introducir variaciones en la dosis, dependiendo de la edad y de la condición del paciente, así como modificaciones en la vía de administración.

5

Los compuestos y composiciones de esta invención pueden ser empleados solos o junto con otros fármacos para proporcionar una terapia combinada. Los otros fármacos pueden formar parte de la misma composición, o ser proporcionados como una composición separada, para su administración al mismo tiempo o en un momento

10

diferente. Una terapia combinada puede ser especialmente interesante por el tipo de patologías a ser tratadas con estos compuestos tal y como se definen en la presente invención, estas patologías son especialmente complejas, ya que los pacientes en general

15

presentan una combinación de síntomas así como una variedad de daños o alteraciones. Por lo tanto, puede ser interesante combinar varios fármacos, cada uno dirigido a prevenir, aliviar o curar específicamente un síntoma, daño o alteración concretos, o también a varios de ellos, resultando en una terapia combinada dirigida a la enfermedad o condición de una forma global, teniendo en cuenta muchos, la

20

mayoría, o todos los aspectos implicados en la misma. Los fármacos a ser combinados con los compuestos de la presente invención pueden ser fármacos aprobados para el tratamiento de alguna de las enfermedades, o ser de nuevo desarrollo.

25

En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula (I), de fórmula (II) o de fórmula (III) para la fabricación de un reactivo en ensayos biológicos relacionados con receptores GPR55.

30

En la presente invención, el término “reactivo” se refiere a una sustancia de prueba que se añade a un sistema para dar lugar a una reacción o comprobar si una reacción ocurre.

35

En la presente invención, el término “ensayo biológico” se refiere a un procedimiento para medir una sustancia, ya sea cuantitativa o cualitativamente, en un organismo vivo o in vitro. Los ensayos cualitativos se usan para determinar los efectos físicos de una sustancia en dicho organismo. Los ensayos cuantitativos se usan para la estimación

de la concentración o potencia de una sustancia mediante medición de la respuesta biológica que produce dicha sustancia.

5 A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos y figuras se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

10

## FIGURAS

**Figura 1.** Curvas concentración-respuesta de LPI y de los ejemplos 2, 6 y 8 en células *hGPR55*-HEK293 y HEK293. Los valores representan la media  $\pm$  SEM procedentes de 4 experimentos independientes realizados por duplicado. Los valores corresponden a un porcentaje de la estimulación máxima producido por LPI.

**Figura 2.** Curva concentración-respuesta en presencia o en ausencia de LPI del ejemplo 10 en células *hGPR55*-HEK293. Los valores representan la media  $\pm$  SEM procedentes de 4 experimentos independientes realizados por duplicado. Los valores corresponden a un porcentaje de la estimulación máxima producido por LPI.

## EJEMPLOS

25 A continuación se ilustrará la invención mediante unos ensayos realizados por los inventores, que pone de manifiesto la efectividad del producto de la invención.

### *Métodos generales*

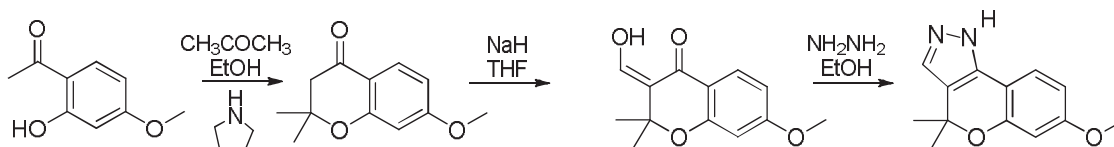
30 La purificación de los productos de reacción se realizó por cromatografía en columna utilizando como soporte gel de sílice 60 Merck 230-400 mesh. La separación por cromatografía líquida de alta resolución semipreparativa se realizó en un cromatógrafo Waters integrado por un módulo inyector/colector 2767 Sample Manager, por un módulo de separación System Fluidic Organizer, un detector Photodiode Array 2998  
35 (UV-visible) y un espectrofotómetro de masas 3100 Mass Detector. Para la separación se utiliza una columna de fase reversa SunFire™ C18 (19 mm x 150 mm). Las fases móviles empleadas son: A (MeCN + 0,1% ácido fórmico) y B (H<sub>2</sub>O + 0,1% ácido

fórmico). El gradiente se realizó empleando un flujo de 24 mL/min en 70 minutos monitorizando a  $\lambda = 254$  nm. Los espectros de masa exacta se registraron en un espectrómetro Agilent Technologies 6520 Accurate-Mass QTOF LC/MS con una fuente de electrospray positivo. Los análisis de RMN se realizaron en el disolvente deuterado indicado en cada caso. Los espectros de  $^1\text{H}$ -RMN, de  $^{13}\text{C}$ -RMN, de correlación heteronuclear HMBC y HSQC fueron registrados en un espectrómetro Mercury 400 (400 y 101 MHz) o en un Varian 500 (500 y 126 MHz) a 25 °C. Los puntos de fusión se midieron en un aparato MP 70 Mettler Toledo.

10 El producto de partida para la obtención de los compuestos de fórmula (I) de la presente invención es el 7-metoxi-4,4-dimetil-1,4-dihidrocromeno[4,3-c]pirazol.

Para preparar el 7-metoxi-4,4-dimetil-1,4-dihidrocromeno[4,3-c]pirazol se cicló la 2-hidroxi-4-metoxiacetofenona con acetona. La  $\alpha$ -Formilación de la 7-metoxi-2,2-dimetil-2,3-dihidrocromen-4-ona con irradiación de microondas condujo a la 3-hidroxi-2,2-dimetil-2,3-dihidrocromen-4-ona. Finalmente, condensación con hidracina anhidra dio lugar a la obtención del 7-metoxi-4,4-dimetil-1,4-dihidrocromeno[4,3-c]pirazol.

El procedimiento de preparación del 7-metoxi-4,4-dimetil-1,4-dihidrocromeno[4,3-c]pirazol se resume en el siguiente esquema (I):



Esquema (I)

25 *Preparación y obtención del 7-metoxi-4,4-dimetil-1,4-dihidrocromeno[4,3-c]pirazol.*

Se agita durante 2 h a 60°C una solución de 3-(hidroximetil)-7-metoxi-2,2-dimetilcromen-4-ona (1,46 g, 6,27 mmol) e hidracina anhidra (0,58 mL, 18,83 mmol) en EtOH. Después de evaporar el disolvente bajo vacío, el crudo se purificó mediante cromatografía sobre gel de sílice a media presión (hexano/AcOEt, 1:1). Se obtuvo el 7-metoxi-4,4-dimetil-1,4-dihidrocromeno[4,3-c]pirazol (0,99 g, 69%) como un sólido blanco. pf: 158-160°C. MS (ES+,  $m/z$ ) 231 [M + H]<sup>+</sup>.

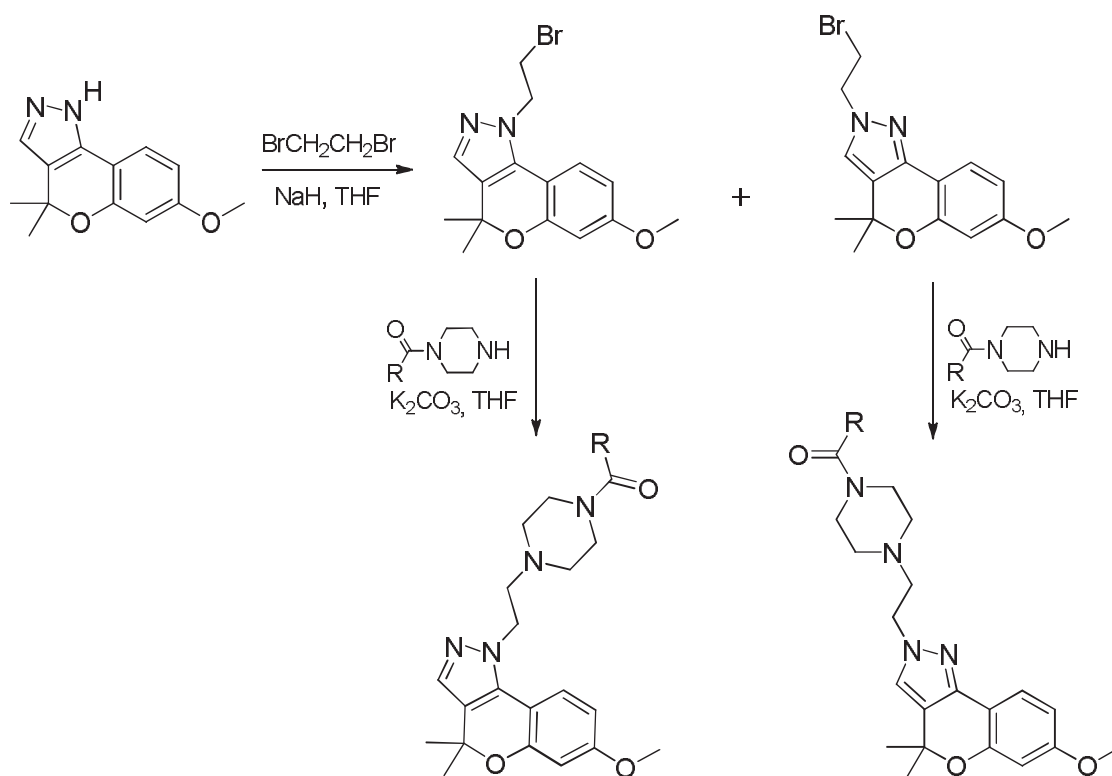
**A. Preparación y obtención de los 1-(2-(4-(2-cetona)piperazinil)etil)-1,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazoles de fórmula (III) y de los 2-(2-(4-(2-cetona)piperazinil)etil)-1,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol de fórmula (I) donde R<sup>1</sup> es un grupo -C(O)-R<sup>3</sup>.**

5

Para la síntesis de los 1-(2-(4-(2-cetona)piperazinil)etil)-1,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazoles de fórmula (III) y de los 1-(2-(4-(2-cetona)piperazinil)etil)-1,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazoles de fórmula (IV) de la presente invención se alquiló el 7-metoxi-4,4-dimetil-1,4-dihidrocromeno[4,3-c]pirazol con 1,2-dibromoetano. Los 2 regioisomeros obtenidos, el 1-(2-bromoetil)-7-metoxi-4,4-dimetil-1,4-dihidrocromeno[4,3-c]pirazol y el 2-(2-bromoetil)-7-metoxi-4,4-dimetil-1,4-dihidrocromeno[4,3-c]pirazol, fueron aislados por cromatografía. Finalmente, reacción con las acilpiperazinas condujo a los compuestos ejemplos de fórmula (III) y a los compuestos ejemplos de fórmula (IV).

15

Este procedimiento se resume en el siguiente esquema (II):



20

Esquema (II)

*Preparación y obtención del 1-(2-bromoetil)-7-metoxi-4,4-dimetil-1,4-dihidrocromeno[4,3-c]pirazol y del 2-(2-bromoetil)-7-metoxi-4,4-dimetil-1,4-dihidrocromeno[4,3-c]pirazol*

- 5 Una suspensión de NaH (28 mg, 1,19 mmol) en THF secó se añadió a una solución de 7-metoxi-4,4-dimetil-1,4-dihidrocromeno[4,3-c]pirazol (0,23 g, 0,99 mmol) en THF. La mezcla se calentó a reflujo durante 4 h. Se eliminó el disolvente bajo vacío. El crudo disuelto en AcOEt se lavó con agua, se secó con MgSO<sub>4</sub> y el disolvente fue evaporado bajo vacío. La cromatografía sobre gel de sílica (hexano/AcOEt, 1:1) condujo a la
- 10 separación de los 2 isómeros, 1-(2-bromoetil)-7-metoxi-4,4-dimetil-1,4-dihidrocromeno[4,3-c]pirazol y 2-(2-bromoetil)-7-metoxi-4,4-dimetil-1,4-dihidrocromeno[4,3-c]pirazol.

1-(2-Bromoetil)-7-metoxi-4,4-dimetil-1,4-dihidrocromeno[4,3-c]pirazol (75 mg, 20%); <sup>1</sup>H

15 RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.34 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.22 (s, 1H), 6.50 (dd, *J* = 7.9, 2.4 Hz, 1H), 6.43 (d, *J* = 2.4 Hz), 4.61 (t, *J* = 6.6 Hz), 4.09 (t, *J* = 6.6 Hz), 3.92 (s, 3H), 1.45 (s, 6H) ppm; <sup>13</sup>C-RMN (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 161.7, 155.3, 144.7, 133.4, 123.9, 121.9, 108.5, 103.4, 101.8, 76.7, 59.3, 55.8, 29.6, 28.5 ppm; MS (ES+, *m/z*) 337 [M + H]<sup>+</sup>; HRMS C<sub>15</sub>H<sub>17</sub>BrN<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: teor. 336.0473, exp. 336.0478.

20 2-(2-Bromoetil)-7-metoxi-4,4-dimetil-1,4-dihidrocromeno[4,3-c]pirazol (0,19 g, 51%); <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.68 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.32 (s, 1H), 6.63 (dd, *J* = 8.4, 2.5 Hz, 1H), 6.58 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 4.54 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.80 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 1.66 (s, 6H) ppm; <sup>13</sup>C-RMN (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 161.1, 154.7, 143.8, 124.6, 123.2, 120.9, 110.9, 108.1, 103.2, 76.6, 55.5, 53.8, 30.7, 29.4 ppm; MS (ES+,

25 *m/z*) 337 [M + H]<sup>+</sup>; HRMS C<sub>15</sub>H<sub>17</sub>BrN<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: teor. 336.0473, exp. 336.0470.

**Ejemplo 1- Preparación y obtención del 1-(2-(4-(2-furoil)piperazinil)etil)- 1,4-dihidro -7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol**

1-(2-Furoil)piperazina (12 mg, 0,06 mmol) y K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (27 mg, 0,19 mmol) disuelto en THF

30 se agitó a temperatura ambiente durante 10 min. Se añadió una solución de 1-(2-bromoetil)-7-metoxi-4,4-dimetil-1,4-dihidrocromeno[4,3-c]pirazol (22 mg, 0,06 mmol) en THF a la mezcla de reacción y se calentó a reflujo por una noche. Se evaporó el disolvente bajo vacío. El crudo disuelto en EtOAc se lavó con agua, se secó con MgSO<sub>4</sub>, y después de filtración se evaporó el disolvente. Se aisló el 1-(2-(4-(2-

35 Furoil)piperazinil)etil)- 1,4-dihidro -7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol mediante cromatografía de media presión (7 mg, 25%); <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.57 (d, *J* = 8.5 Hz), 7.33-7.28 (m, 1H), 7.11 (s, 1H), 6.96-6.92 (m, 1H), 6.60 (dd, *J* = 8.5, 2.5 Hz, 1H), 6.53



(d,  $J = 2.5$  Hz, 1H), 6.39-6.36 (m, 1H), 4.22 (t,  $J = 6.6$  Hz, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.39-3.21 (m, 4H), 2.83 (t,  $J = 6.6$  Hz, 2H), 2.72-2.64 (m, 4H), 1.52 (s, 6H) ppm;  $^{13}\text{C}$ -RMN (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 162.0, 155.6, 153.1, 145.3, 142.6, 141.8, 124.1, 123.2, 121.3, 117.0, 112.2, 109.2, 108.4, 103.2, 76.1, 57.5, 55.1, 54.1, 50.7, 49.5, 28.9 ppm; MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ) 437  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; HRMS  $\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_4$ : teor. 436.2110, exp. 436.2107.

**Ejemplo 2- Preparación y obtención del 2-(2-(4-(2-furoil)piperazinil)etil)-2,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol**

Se preparó el compuesto deseado según el modo de realización descrito para el Ejemplo 1, utilizando 2-(2-bromoetil)-7-metoxi-4,4-dimetil-1,4-dihidrocromeno[4,3-c]pirazol (20 mg, 0,06 mmol) y 1-(2-furoil)piperazine (11 mg, 0,06 mmol). Aceite amarillo (6 mg, 24 %);  $^1\text{H}$ -RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.61 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 7.48-7.45 (m, 1H), 7.18 (s, 1H), 7.00-6.94 (m, 1H), 6.54 (dd,  $J = 8.4, 2.5$  Hz, 1H), 6.50 (d,  $J = 2.5$  Hz, 1H), 6.46-6.44 (m, 1H), 4.23 (t,  $J = 6.5$  Hz, 2H), 3.76-3.62 (br s, 7H), 2.86 (t,  $J = 6.5$  Hz, 2H), 2.70-2.66 (m, 4H), 1.58 (s, 6H) ppm;  $^{13}\text{C}$ -RMN (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 160.9, 159.3, 154.5, 148.0, 143.9, 142.9, 124.2, 123.1, 121.0, 116.7, 111.5, 111.2, 108.0, 103.2, 76.7, 58.0, 55.5, 53.6, 51.3, 50.4, 29.5 ppm; MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ) 437  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; HRMS  $\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_4$ : teor. 436.2110, exp. 436.2121.

**Ejemplo 3- Preparación y obtención del 1-(2-(4-benzoil-piperazinil)etil)-1,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol**

Se preparó el compuesto deseado según el modo de realización descrito para el Ejemplo 1, utilizando 1-(2-bromoetil)-7-metoxi-4,4-dimetil-1,4-dihidrocromeno[4,3-c]pirazol (20 mg, 0,06 mmol) y benzoilpiperazine (11 mg, 0,06 mmol). Sólido amorfo amarillo (8 mg, 30 %);  $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.55 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 7.38-7.29 (m, 5H), 7.13 (s, 1H), 6.49 (dd,  $J = 8.4, 2.5$  Hz, 1H), 6.44 (d,  $J = 2.5$  Hz, 1H), 4.41 (t,  $J = 6.7$  Hz, 2H), 3.73 (s, 3H), 3.41-3.26 (m, 4H), 2.81 (t,  $J = 6.7$  Hz, 2H), 2.59-2.37 (m, 4H), 1.52 ppm (s, 6H);  $^{13}\text{C}$ -RMN (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 170.3, 165.1, 160.7, 154.3, 130.2, 129.7, 128.5, 127.1, 124.4, 123.9, 122.8, 107.9, 107.6, 103.0, 76.4, 57.8, 55.4, 55.3, 53.6, 50.1, 29.2 ppm; MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ) 447  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; HRMS  $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_3$ : teor. 446.2317, exp. 446.2324.

**Ejemplo 4- Preparación y obtención del 2-(2-(4-benzoil-piperazinil)etil)- 2,4-dihidro -7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol**

Se preparó el compuesto deseado según el modo de realización descrito para el Ejemplo 1, utilizando 2-(2-bromoetil)-7-metoxi-4,4-dimetil-1,4-dihidrocromeno[4,3-c]pirazol (28 mg, 0,08 mmol) y benzoilpiperazina (16 mg, 0,08 mmol). Aceite amarillo

(30 mg, 81 %);  $^1\text{H}$ -RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.62 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 7.46-7.32 (m, 5H), 7.17 (s, 1H), 6.55 (dd,  $J = 8.4, 2.5$  Hz, 1H), 6.50 (d,  $J = 2.5$  Hz, 1H), 4.23 (t,  $J = 6.6$  Hz, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.41-3.20 (m, 4H), 2.87 (t,  $J = 6.6$  Hz, 2H), 2.73-2.60 (m, 4H), 1.58 ppm (s, 6H,  $\text{OC}(\text{CH}_3)_2$ );  $^{13}\text{C}$ -RMN (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 170.4 (CO), 160.8, 154.5, 142.9, 135.8, 129.9, 128.6, 127.1, 124.1, 123.0, 120.9, 111.1, 107.9, 103.1, 76.6, 57.9, 55.4, 53.7, 50.2, 47.9, 29.4 ppm; MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ) 447  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; HRMS  $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_3$ : teor. 446.2317, exp. 446.2311.

**Ejemplo 5- Preparación y obtención del 1-(2-(4-(2-tienoil)piperazinil)etil)-1,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol**

Se preparó el compuesto deseado según el modo de realización descrito para el Ejemplo 1, utilizando 1-(2-bromoetil)-7-metoxi-4,4-dimetil-1,4-dihidrocromeno[4,3-c]pirazol (20 mg, 0,06 mmol) y trifluoroacetato de 1-(2-tienoil)piperazina (18 mg, 0,06 mmol). Sólido amorfo amarillo (6 mg, 23 %);  $^1\text{H}$ -RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.49 (d,  $J = 8.8$  Hz, 1H), 7.44 (dd,  $J = 5.0, 1.2$  Hz, 1H), 7.28 (s, 1H), 7.23-7.21 (m, 1H), 7.03 (dd,  $J = 5.0, 3.6$  Hz, 1H), 6.61-6.58 (m, 1H), 6.57 (d,  $J = 2.6$  Hz, 1H), 4.54 (t,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.77-3.64 (m, 4H), 2.93-2.87 (m, 2H), 2.67-2.43 (m, 4H), 1.58 ppm (s, 6H);  $^{13}\text{C}$ -RMN (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 163.7, 161.0, 154.6, 150.3, 137.1, 132.8, 129.1, 128.9, 126.9, 122.7, 121.4, 109.1, 107.9, 104.1, 76.4, 57.4, 55.6, 53.6, 51.3, 49.5, 28.6 ppm; MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ) 453  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; HRMS  $\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$ : teor. 452.1882, exp. 452.1891.

**Ejemplo 6- Preparación y obtención del 2-(2-(4-(2-tienoil)piperazinil)etil)-2,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol**

Se preparó el compuesto deseado según el modo de realización descrito para el Ejemplo 1, utilizando 2-(2-bromoetil)-7-metoxi-4,4-dimetil-1,4-dihidrocromeno[4,3-c]pirazol (30 mg, 0,09 mmol) y trifluoroacetato de 1-(2-tienoil)piperazina (28 mg, 0,09 mmol). Sólido amarillo (22 mg, 55 %); pf: 163-165 °C;  $^1\text{H}$ -RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.62 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 7.44 (dd,  $J = 5.0, 1.2$  Hz, 1H), 7.25-7.23 (m, 1H), 7.20 (s, 1H), 7.03 (dd,  $J = 5.0, 3.6$  Hz, 1H), 6.55 (dd,  $J = 8.4, 2.5$  Hz, 1H), 6.51 (d,  $J = 2.5$  Hz, 1H), 4.27 (t,  $J = 6.5$  Hz, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.78-3.72 (m, 4H), 3.01-2.91 (m, 2H), 2.63-2.43 (m, 4H), 1.59 ppm (s, 6H);  $^{13}\text{C}$ -RMN (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 163.8, 161.0, 154.6, 143.1, 137.0, 129.1, 128.9, 126.9, 124.3, 123.1, 121.0, 111.1, 108.0, 103.2, 76.7, 57.9, 55.5, 53.5, 50.2, 46.1, 29.5 ppm; MS ( $\text{ES}^+$ ,  $m/z$ ) 453  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; HRMS  $\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$ : teor. 452.1882, exp. 452.1889.

**Ejemplo 7- Preparación y obtención del 2-(2-(4-fenoxiacetil-piperazinil)etil)-2,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol**

Se preparó el compuesto deseado según el modo de realización descrito para el Ejemplo 1, utilizando 2-(2-bromoetil)-7-metoxi-4,4-dimetil-1,4-dihidrocromeno[4,3-c]pirazol (30 mg, 0,09 mmol) y fenoxiacetil piperazine (20 mg, 0,09 mmol). Sólido naranja (16 mg, 38 %); pf: 177-179 °C; <sup>1</sup>H-RMN (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 7.56 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.52 (s, 1H), 7.31-7.21 (m, 2H), 7.00-6.90 (m, 3H), 6.56 (dd, *J* = 8.5, 2.5 Hz, 1H), 6.48 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 4.76 (s, 2H), 4.26 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.63-3.50 (m, 4H), 2.84 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 2.56-2.46 (m, 4H), 1.56 ppm (s, 6H); <sup>13</sup>C-RMN (126 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 167.4, 161.1, 158.0, 154.5, 142.5, 129.1, 125.4, 122.3, 121.1, 120.5, 114.3, 110.4, 107.2, 102.8, 76.2, 66.1, 57.2, 54.3, 52.8, 52.3, 49.1, 44.7, 43.7, 28.0 ppm; MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*) 477 [M+H]<sup>+</sup>; HRMS C<sub>27</sub>H<sub>32</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>: teor. 476.2423, exp. 476.2427.

**Ejemplo 8- Preparación y obtención del 2-(2-(4-(2-tetrahydrofuroil)piperazinil)etil)-2,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol**

Se preparó el compuesto deseado según el modo de realización descrito para el Ejemplo 1, utilizando 2-(2-bromoetil)-7-metoxi-4,4-dimetil-1,4-dihidrocromeno[4,3-c]pirazol (30 mg, 0,09 mmol) y tetrahydrofuroil)piperazina (16 mg, 0,09 mmol). Sólido amarillo (14 mg, 36 %); pf: 158-160 °C; <sup>1</sup>H-RMN (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 7.46 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.43 (s, 1H), 6.46 (dd, *J* = 8.5, 2.5 Hz, 1H), 6.38 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 4.67- 4.54 (m, 1H), 4.17 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 3.83-3.81 (m, 1H), 3.76-3.70 (m, 1H), 3.68 (s, 3H), 3.55-3.39 (m, 4H), 2.76 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 2.46-2.33 (m, 4H), 2.12-1.99 (m, 1H), 1.95-1.86 (m, 1H), 1.85-1.75 (m, 2H), 1.47 ppm (s, 6H); <sup>13</sup>C-RMN (126 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 171.3, 161.1, 154.5, 142.5, 125.4, 122.3, 120.5, 110.4, 107.2, 102.8, 76.2, 75.2, 68.7, 57.2, 54.3, 52.9, 52.3, 47.5, 44.9, 43.7, 28.8, 28.0, 25.1 ppm; MS (ES<sup>+</sup>, *m/z*) 441 [M+H]<sup>+</sup>; HRMS C<sub>24</sub>H<sub>32</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>: teor. 440.2423, exp. 440.2436.

**Ejemplo 9- Preparación y obtención del 2-(2-(4-ciclohexilcarbonil-piperazinil)etil)-2,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol**

Se preparó el compuesto deseado según el modo de realización descrito para el Ejemplo 1, utilizando 2-(2-bromoetil)-7-metoxi-4,4-dimetil-1,4-dihidrocromeno[4,3-c]pirazol (30 mg, 0,09 mmol) y tetrahydrofuroil)piperazina (17 mg, 0,09 mmol). Sólido amarillo (25 mg, 62 %); pf: 151-152 °C; <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.63 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.18 (s, 1H), 6.56 (dd, *J* = 8.5, 2.5 Hz, 1H), 6.51 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 4.23 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.66-3.39 (m, 4H), 2.85 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 2.54-2.35 (m, 4H), 1.82-1.75 (m, 1H), 1.73-1.61 (m, 4H), 1.59 (s, 6H), 1.57-1.42 ppm (m, 6H); <sup>13</sup>C-RMN (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 174.8, 160.9, 154.6, 143.0, 124.2, 123.1, 121.0, 111.2,

108.0, 103.2, 76.7, 58.0, 55.5, 53.2, 50.3, 45.6, 41.7, 30.6, 29.6, 26.1 ppm; MS (ES<sup>+</sup>, m/z) 453 [M+H]<sup>+</sup>; HRMS C<sub>26</sub>H<sub>36</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>: teor. 452.2787, exp. 452.2773.

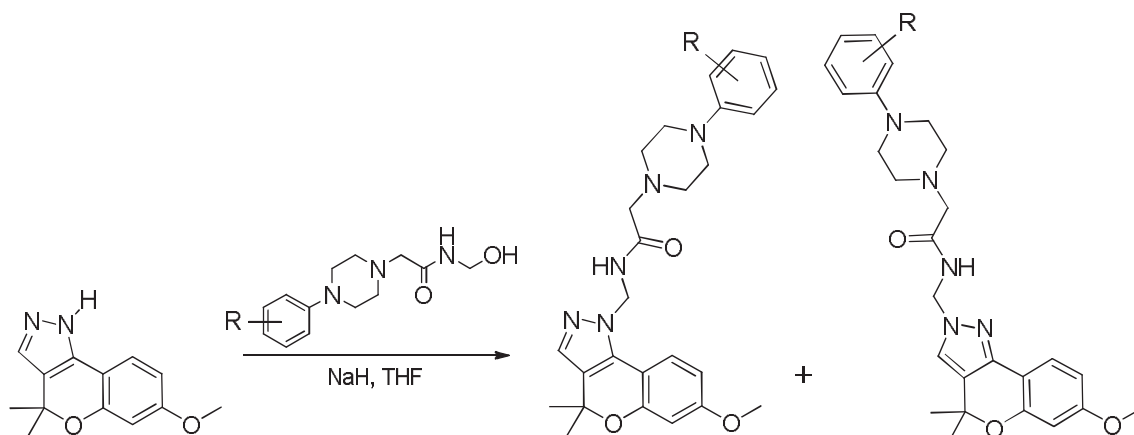
**Ejemplo 10- Preparación y obtención del 2-(2-(4-pivaloil-piperazinil)etil)- 2,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol**

Se preparó el compuesto deseado según el modo de realización descrito para el Ejemplo 1, utilizando 2-(2-bromoetil)-7-metoxi-4,4-dimetil-1,4-dihidrocromeno[4,3-c]pirazol (20 mg, 0,06 mmol) y pivaloil piperazina (10 mg, 0,09 mmol). Sólido amorfo amarillo (8 mg, 32 %); <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.62 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.18 (s, 1H), 6.55 (dd, J = 8.4, 2.5 Hz, 1H), 6.51 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 4.23 (t, J = 6.6 Hz, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.63 (t, J = 5.0 Hz, 4H), 2.84 (t, J = 6.6 Hz, 2H), 2.46 (t, J = 5.0 Hz, 4H), 1.59 (s, 6H), 1.26 (s, 9H); <sup>13</sup>C-RMN (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 176.5, 160.9, 154.6, 142.9, 124.2, 123.1, 121.0, 111.2, 108.0, 103.2, 76.7, 58.0, 55.5, 53.6, 50.2, 45.3, 38.8, 29.5, 28.6 ppm; MS (ES<sup>+</sup>, m/z) 427 [M+H]<sup>+</sup>; HRMS C<sub>24</sub>H<sub>34</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>: teor. 426.2630, exp. 426.2618.

**B. Preparación y obtención de los 1-(2-(4-arilpiperazinil)acetamidometil)-1,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazoles de fórmula (V) y de los 2-(2-(4-arilpiperazinil)acetamidometil)-2,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazoles de fórmula (I) en los que R<sup>1</sup> es un arilo.**

Para la síntesis de los 1-(2-(4-arilpiperazinil)acetamidometil)-1,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazoles y de los 2-(2-(4-arilpiperazinil)acetamidometil)-2,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazoles de fórmula (I) en los que R<sup>1</sup> es un arilo se alquiló el 7-metoxi-4,4-dimetil-1,4-dihidrocromeno[4,3-c]pirazol con la N-(hidroximetil)-2-(4-fenilpiperazinil)acetamida correspondiente.

Este procedimiento se resume en el siguiente esquema (III):



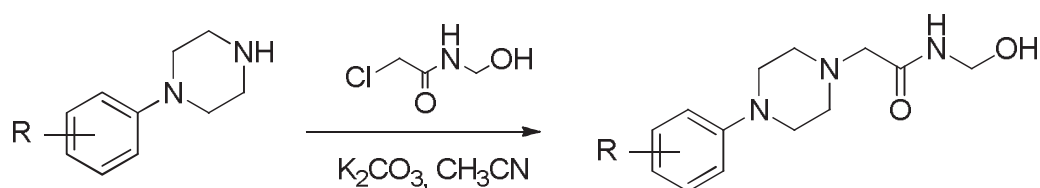
Esquema (III)

5

Las *N*-(hidroximetil)-2-(4-fenilpiperazinil)acetamidas se prepararon por *N*-alquilación de la fenilpiperazina con la 2-cloro-*N*-hidroximetilacetamida correspondiente.

Este procedimiento se resume en el siguiente esquema (IV):

10



Esquema (IV)

#### *Preparación y obtención de las N-(hidroximetil)-2-(4-fenilpiperazinil)acetamidas*

15

Se añade una solución de 2-cloro-*N*-hidroximetilacetamida (2eq) en acetonitrilo a una mezcla de la correspondiente fenilpiperazina (1eq) con  $K_2CO_3$  (1,5 eq) en acetonitrilo. Se calienta a reflujo durante 2-5 h. El disolvente se evaporó bajo vacío. El crudo disuelto en AcOEt se lavó con agua, se secó con  $MgSO_4$  y el disolvente fue evaporado bajo vacío. La cromatografía a media presión sobre gel de sílice (AcOEt) condujo a la *N*-(hidroximetil)-2-(4-fenilpiperazinil)acetamida correspondiente.

20

*N*-(Hidroximetil)-2-(4-fenilpiperazinil)acetamida (41%). pf: 112-114 °C;  $^1H$ -RMN (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 8.10-8.02 (br s, 1H), 7.39-7.22 (m, 2H), 7.06-6.85 (m, 3H), 4.82 (s, 2H), 3.28-3.19 (m, 4H), 3.13 (s, 2H), 2.90-2.57 ppm (m, 4H);  $^{13}C$ -RMN (101 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 173.6, 151.5, 129.8, 129.7, 120.5, 119.3, 116.7, 73.1, 62.0, 54.1, 53.7, 50.9, 49.8 ppm;

25

MS (ES<sup>+</sup>, m/z) 250 [M+H]<sup>+</sup>; Anal. C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>: teor. C 62.63%, H 7.68%, exp. C 62.41%, H 7.83%.

5 *N*-(Hidroximetil)-2-(4-(2-metoxifenil)piperazinil)acetamida (63%). pf: 134-136 °C; <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 8.14-8.11 (br s, 1H), 7.03-6.96 (m, 2H), 6.89- 6.78 (m, 2H), 4.79 (s, 2H), 3.94-3.64 (m, 5H), 3.17-2.89 (m, 4H), 2.84-2.66 ppm (m, 4H); <sup>13</sup>C-RMN (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 171.4, 151.7, 140.4, 122.6, 120.5, 117.6 and 110.8, 63.0, 61.0, 54.8, 53.6, 53.2, 51.0, 50.1 ppm; MS (ES<sup>+</sup>, m/z) 280 [M+H]<sup>+</sup>; Anal. C<sub>14</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>: teor. C 60.20%, H 7.58%, exp.: C 60.31%, H 7.72%.

10

*N*-(Hidroximetil)-2-(4-(2,3-dimetilfenil)piperazinil)acetamida (25%). pf: 126-127 °C; <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 8.19-8.14 (br s, 1H), 7.07 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 6.98-6.90 (m, 2H), 5.59-5.57 (br s, 1H), 4.82 (s, 2H), 3.14 (s, 2H), 2.94-2.92 (m, 4H), 2.77-2.73 (m, 4H), 2.27 (s, 3H), 2.21 ppm (s, 3H); <sup>13</sup>C-RMN (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 173.8, 172.0, 151.2,  
15 138.0, 131.3, 125.8, 125.1, 74.6, 67.3, 63.7, 61.5, 54.1, 52.2, 20.6, 13.9 ppm; MS (ES<sup>+</sup>, m/z) 278 [M+H]<sup>+</sup>; Anal. C<sub>15</sub>H<sub>23</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>: teor. C 64.96%, H 8.36%, exp.: C 65.09%, H 8.03%.

*N*-(Hidroximetil)-2-(4-(4-metoxifenil)piperazinil)acetamida (24%). pf: 140-143 °C; <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.09-6.95 (m, 2H), 6.71-6.54 (m, 2H), 4.83 (s, 2H), 3.78-3.60 (m, 5H), 3.14-3.05 (m, 4H), 2.77-2.71 ppm (m, 4H); <sup>13</sup>C-RMN (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 173.0, 152.4, 143.6, 123.4, 122.1, 118.6, 112.3, 65.7, 63.2, 55.1, 54.3, 53.8, 51.8, 51.2 ppm; MS (ES<sup>+</sup>, m/z) 280 [M+H]<sup>+</sup>; Anal. C<sub>14</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>: teor. C 60.20%, H 7.58%, exp. C 60.56%, H 7.25%.

25

*Método general de obtención de los 1-(2-(4-arilpiperazinil)acetamidometil)-1,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazoles de fórmula (V) y de los 2-(2-(4-arilpiperazinil)acetamidometil)-2,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazoles de fórmula (VI)*

30

Se añadió lentamente una solución de 7-metoxi-4,4-dimetil-1,4-dihidrocromeno[4,3-c]pirazol (1eq) en THF anhidro a una suspensión de NaH (3 eq) en THF anhidro a 0 °C bajo atmósfera de nitrógeno. Después de 10 min. de agitación a temperatura ambiente se añadió la *N*-(hidroximetil)-2-(4-fenilpiperazinil)acetamida correspondiente (2 eq). La  
35 mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 12-72 h. El disolvente se evaporó bajo vacío. El crudo disuelto en AcOEt se lavó con agua, se secó con MgSO<sub>4</sub> y el disolvente fue evaporado bajo vacío. La cromatografía semipreparativa sobre sílice

C18 (CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O) condujo a la separación del 1-(2-(4-arilpiperazinil)acetamidometil)-1,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol y del 2-(2-(4-arilpiperazinil)acetamidometil)-2,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol correspondientes.

5

**Ejemplo 11- Preparación y obtención del 1-(2-(4-fenilpiperazinil)acetamidometil)-1,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol**

Se preparó el compuesto deseado según el modo general de obtención descrito arriba. Sólido blanco (13%). fp: 196-198 °C; <sup>1</sup>H-RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 8.02-7.97 (br t, *J* = 6.3 Hz, 1H), 7.76 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.26 (s, 1H), 6.85-6.74 (m, 2H), 6.55 (dd, *J* = 8.6, 2.6 Hz, 2H), 6.53-6.46 (m, 2H), 6.45 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 5.73 (d, *J* = 6.3 Hz, 2H), 3.71 (s, 3H), 3.13-3.07 (m, 4H), 3.03 (s, 2H), 2.57-2.48 (m, 4H), 1.52 (s, 6H); <sup>13</sup>C-RMN (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 170.2, 165.1, 161.0, 154.3, 149.2, 133.8, 132.5, 129.1, 123.3, 121.4, 120.0, 116.2, 107.8, 103.85, 76.73, 61.3, 55.3, 54.32, 53.4, 49.1, 28.24 ppm; MS (ES<sup>+</sup>, m/z) 462 [M+H]<sup>+</sup>; HRMS C<sub>26</sub>H<sub>31</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>: teor. 461.2426, exp. 461.2433.

15

**Ejemplo 12- Preparación y obtención del 2-(2-(4-fenilpiperazinil)acetamidometil)-2,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol**

Se preparó el compuesto deseado según el modo general de obtención descrito arriba. Sólido amorfo (5%); <sup>1</sup>H-RMN (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 8.44-8.40 (br s, 1H), 7.51 (d, *J* = 8.5, 1H), 7.44 (s, 1H), 7.15 – 7.04 (m, 2H), 6.82 (dd, *J* = 7.4, 1.0 Hz, 2H), 6.72 (tt, *J* = 7.4, 1.0 Hz, 1H), 6.47 (dd, *J* = 8.5, 2.4 Hz, 1H), 6.39 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 5.40 (s, 2H), 3.69 (s, 3H), 3.10-3.07 (m, 4H), 3.02 (s, 2H), 2.55-2.49 (m, 4H), 1.46 ppm (s, 6H); <sup>13</sup>C-RMN (126 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 173.7, 162.7, 156.1, 152.7, 144.6, 130.0, 126.6, 123.9, 122.4, 121.1, 117.5, 111.5, 108.8, 104.2, 77.6, 62.1, 55.8, 55.4, 54.3, 54.2, 50.5, 50.4, 29.3 ppm; MS (ES<sup>+</sup>, m/z) 462 [M+H]<sup>+</sup>; HRMS C<sub>26</sub>H<sub>31</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>: teor. 461.2426, exp. 461.2421.

25

**Ejemplo 13- Preparación y obtención del 1-(2-(4-(2-metoxifenil)piperazinil)acetamidometil)-1,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol**

Se preparó el compuesto deseado según el modo general de obtención descrito arriba. Sólido amorfo blanco (3%); <sup>1</sup>H-RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.35 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.16 (s, 1H), 6.71-6.59 (m, 4H), 6.42 (dd, *J* = 8.1, 2.4 Hz, 1H), 6.38 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 5.27 (s, 2H), 3.59 (s, 3H), 3.54 (s, 3H), 3.29 (s, 2H), 3.10-3.03 (m, 4H), 2.98-2.86 (m, 4H), 1.69 ppm (s, 6H); <sup>13</sup>C-RMN (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 175.0, 160.4, 155.6, 155.1, 149.5, 147.1, 130.2, 127.5, 124.9, 118.7, 116.9, 116.3, 113.3, 111.4, 106.8, 104.2, 75.8, 61.4,

35

55.9, 55.1, 54.0, 53.7, 51.3, 25.9 ppm; MS (ES<sup>+</sup>, m/z) 492 [M+H]<sup>+</sup>; HRMS C<sub>27</sub>H<sub>33</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>: teor. 491.2532, exp. 491.2528.

**Ejemplo 14- Preparación y obtención del 2-(2-(4-(2-metoxifenil)piperazinil)acetamidometil)-2,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol**

Se preparó el compuesto deseado según el modo general de obtención descrito arriba. Aceite amarillo (8 %); <sup>1</sup>H-RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.04 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 6.91 (s, 1H), 6.69-6.51 (m, 5H), 6.42 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 5.51 (s, 2H), 3.64 (s, 3H), 3.59 (s, 3H), 3.16 (s, 2H), 2.92-2.89 (m, 4H), 2.76-2.70 (m, 4H), 1.54 ppm (s, 6H); <sup>13</sup>C-RMN (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 173.2, 163.1, 156.7, 153.1, 148.1, 144.9, 132.6, 126.1, 125.6, 120.9, 118.2, 117.5, 114.0, 110.6, 109.4, 106.0, 75.3, 60.2, 56.8, 56.1, 54.6, 52.5, 50.7, 26.4 ppm; MS (ES<sup>+</sup>, m/z) 492 [M+H]<sup>+</sup>; HRMS C<sub>27</sub>H<sub>33</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>: teor. 491.2532, exp. 491.2540.

**Ejemplo 15- Preparación y obtención del 1-(2-(4-(2,3-dimetilfenil)piperazinil)acetamidometil)-1,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol**

Se preparó el compuesto deseado según el modo general de obtención descrito arriba. Aceite amarilla (2 %); <sup>1</sup>H-RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 8.08-8.02 (bt, *J* = 6.4 Hz, 1H), 7.76 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.50 (s, 1H), 6.94 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 6.85 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 6.80 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 6.61 (dd, *J* = 8.1, 2.6 Hz, 1H), 6.48 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 5.61 (d, *J* = 6.4 Hz, 2H), 3.84 (s, 3H), 3.08 (s, 2H), 2.77-2.69 (m, 4H), 2.64-2.59 (m, 4H), 2.31 (s, 3H), 2.27 (s, 3H), 1.48 ppm (s, 6H); <sup>13</sup>C-RMN (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 169.8, 162.4, 156.0, 151.3, 144.2, 140.3, 132.5, 126.1, 125.0, 123.9, 123.1, 121.8, 117.2, 109.8, 108.4, 104.9, 75.7, 61.3, 56.0, 54.7, 53.3, 51.9, 28.8, 19.7, 14.1 ppm; MS (ES<sup>+</sup>, m/z) 490 [M+H]<sup>+</sup>; HRMS C<sub>28</sub>H<sub>35</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>: teor. 489.2739, exp. 489.2746.

**Ejemplo 16- Preparación y obtención del 2-(2-(4-(2,3-dimetilfenil)piperazinil)acetamidometil)-2,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol**

Se preparó el compuesto deseado según el modo general de obtención descrito arriba. Sólido blanco (4 %); pf: 199-201 °C; <sup>1</sup>H-RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 8.22-8.17 (br t, *J* = 6.9 Hz, 1H), 7.62 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.42 (s, 1H), 7.08 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 6.91 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 6.87 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 6.57 (dd, *J* = 8.5, 2.5 Hz, 1H), 6.51 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 5.54 (d, *J* = 6.9 Hz, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.11 (s, 2H), 2.87 (t, *J* = 4.8 Hz, 4H), 2.63 (t, *J* = 4.8 Hz, 4H), 2.25 (s, 3H), 2.18 (s, 3H), 1.58 ppm (s, 6H); <sup>13</sup>C-RMN (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 171.5, 161.0, 154.6, 151.1, 143.5, 138.0, 131.2, 125.8, 125.2, 124.7, 122.8,



121.5, 116.6, 110.4, 108.0, 103.0, 76.5, 61.4, 55.3, 54.2, 53.9, 52.0, 29.1, 20.6, 13.8 ppm; MS (ES<sup>+</sup>, m/z) 490 [M+H]<sup>+</sup>; HRMS C<sub>28</sub>H<sub>35</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>: teor. 489.2739, exp. 489.2750.

**Ejemplo 17- Preparación y obtención del 1-(2-(4-(4-metoxifenil)piperazinil)acetamidometil)-1,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol**

Se preparó el compuesto deseado según el modo general de obtención descrito arriba. Aceite amarillo (14 %); <sup>1</sup>H-RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.50-7.48 (br t, J = 5.1 Hz, 1H), 6.81-6.76 (m, 4H), 6.76-6.68 (m, 2H), 6.47 (dd, J = 8.5, 2.5 Hz, 1H), 6.39 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 5.39 (d, J = 5.1 Hz, 2H), 3.68 (s, 3H), 3.63 (s, 3H), 3.01 (s, 2H), 2.97-2.94 (m, 4H), 2.55-2.47 (m, 4H), 1.46 ppm (s, 6H); <sup>13</sup>C-RMN (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 172.2, 161.2, 154.6, 154.2, 145.2, 143.2, 125.1, 122.4, 120.9, 118.7, 113.8, 110.0, 107.3, 102.7, 76.1, 60.6, 54.4, 54.3, 53.9, 52.9, 50.4, 27.8 ppm; MS (ES<sup>+</sup>, m/z) 492 [M+H]<sup>+</sup>; HRMS C<sub>27</sub>H<sub>33</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>: teor. 491.2532, exp. 491.2524.

15

**C. Ensayos biológicos**

En la presente invención se valoró la actividad sobre el receptor GPR55 de los compuestos de la invención llevando a cabo ensayos *in vitro* de medidas de impedancia celular en tiempo real (experimentos xCELLigence). Se realizaron estos ensayos sobre una línea celular de riñón de embrión humano HEK293 que sobreexpresan el receptor GPR55 recombinante en forma estable (*hGPR55*-HEK293). Las células se sembraron un día antes de llevar a cabo la estimulación con los compuestos ejemplos de la presente invención.

25

*Actividad agonista GPR55.* La activación del receptor GPR55 por un compuesto agonista provoca una impedancia celular que detecta el sistema y que se compara con la actividad de un ligando de GPR55 de referencia, el lisofosfatidilinositol (LPI). El efecto del LPI medido a una concentración de 1μM se fijó a 100%. La máxima respuesta se observó a los 5 minutos después de la adición del compuesto ejemplo de la invención. Por lo tanto, se determinaron las curvas dosis-respuesta a este tiempo. Los valores de impedancia celular fueron normalizados para cada pocillo justo antes de la adición del compuesto ejemplo de la invención a evaluar. A continuación y a modo de ilustración se proporcionan los valores de concentración efectiva EC<sub>50</sub> (nM) de algunos compuestos ejemplos de la presente invención y el porcentaje del efecto máximo E<sub>max</sub> (%) relativo a la actividad de LPI:

35

**Tabla 1.** Acción agonista de compuestos ejemplos de la patente sobre GPR55 medida por el sistema xCELLigence.

		<b>GPR55</b>	
5	<b>Ejemplos</b>	<b>EC<sub>50</sub> (nM)</b>	<b>E<sub>max</sub> (%)</b>
	<b>2</b>	0,88 (0,05-14,56)	43 (31-54)
	<b>4</b>	0,60 (0,12-3,03)	51 (42-60)
10	<b>6</b>	0,51 (0,06-4,22)	45 (36-54)
	<b>7</b>	1,28 (0,20-9,46)	52 (41-63)
	<b>8</b>	0,40 (0,03-4,61)	51 (40-62)
	<b>9</b>	8,67 (1,18-63,45)	47 (36-58)
15	<b>10</b>	0,69 (0,06-7,63)	49 (37-62)
	<b>14</b>	6,36 (0,98-41,52)	51 (36-67)
	<b>LPI</b>	2,82 (0,64-12,30)	100 (81-118)

20 Estos valores representan la media con un intervalo de confianza del 95% calculado con 4 experimentos independientes realizados en duplicado.

Los compuestos de los ejemplos 2, 4, 6–10, y 14 son agonistas parciales del receptor GPR55.

25

*Actividad antagonista GPR55.* Ha sido evaluada la capacidad de los compuestos ejemplos de la patente para inhibir la estimulación del receptor GPR55 mediada por LPI. A continuación y a modo de ilustración se proporcionan los valores de concentración efectiva EC<sub>50</sub> (nM) de LPI en presencia de algunos compuestos ejemplos de la presente invención a una concentración 1 μM y el porcentaje del efecto máximo E<sub>max</sub> (%) relativo a la actividad de LPI:

30

**Tabla 2.** Acción antagonista de compuestos ejemplos de la patente sobre el efecto producido por LPI a través de GPR55 y medida por el sistema xCELLigence.

35

**GPR55**

	<b>Ejemplos</b>	<b>EC<sub>50</sub> (nM)</b>	<b>E<sub>max</sub> (%)</b>
5	<b>LPI+7</b>	18,2 (4,6-71,1)	100 (91-115)
	<b>LPI+8</b>	24,6 (7,9-66,8)	102 (91-106)
10	<b>LPI+9</b>	25,4 (6,6-96,7)	99 (90-113)
	<b>LPI+10</b>	21,9 (5,5-87,6)	100 (86-114)
	<b>LPI</b>	1,6 (0,6-4,2)	99 (90-108)

15

Los valores representan la media con un intervalo de confianza del 95% calculado con 4 experimentos independientes realizados en duplicado. Se consideran las diferencias significativas respecto a los valores de LPI debido a la falta de solapamiento de los intervalos de confianza.

20

Los compuestos de los ejemplos 7–10 son antagonistas del efecto agonista GPR55 producido por LPI.

25

Como experimento control, se comprobó que los compuestos ejemplos de la presente invención no tienen acción sobre las células HEK293 que no sobreexpresan el receptor GPR55. Ninguno de los compuestos mostró impedancia celular.

30

Respecto a la actividad cannabinoide, ningún compuesto ejemplo de la presente invención se une al receptor cannabinoide CB1. Respecto a la unión con el receptor CB2, de todos los compuestos ejemplos solamente 3 presentan una constante de afinidad inferior a micromolar: ejemplo 2 ( $698 \pm 107$  nM), ejemplo 6 ( $15,4 \pm 7,8$  nM), ejemplo 9 ( $523 \pm 144$  nM).

**D. Propiedades farmacocinéticas: predicciones *in silico***

35

El perfil farmacocinético de los compuestos ejemplos de la invención fue determinado mediante predicción de parámetros fisicoquímicos *in silico* empleando el programa QikProp implementado en Maestro (Schrödinger, LLC, New York, USA). Los valores mostrados en la tabla por los compuestos ejemplo de la patente cumplen las reglas de

Lipinski, por lo tanto, se estima que son candidatos aceptables para formar parte de una composición farmacéutica.

**Tabla 3.** Descriptores fisicoquímicos calculados por QikProp 3.5 integrado en Maestro 5 (Schrödinger, LLC, New York, USA) [rango de 95% de fármacos].

Comp.	QPlogS <sup>a</sup>	QlogBB <sup>b</sup>	QPlogHERG <sup>c</sup>	QPPCaco <sup>d</sup>	% Absorción humana en GI <sup>e</sup>	oral
1	-4,1	-0,05	-6,779	559	100	
2	-4,1	0,08	-7,051	774	100	
3	-4,7	0,01	-7,076	641	100	
4	-5,2	0,08	-7,524	796	100	
5	-4,8	0,12	-6,755	642	100	
6	-4,9	0,25	-7,085	880	100	
7	-4,4	0,03	-6,334	589	100	
8	-2,9	0,13	-5,028	512	89	
9	-4,6	0,30	-5,133	832	100	
10	-3,9	0,27	-5,041	750	100	
11	-4,8	0,11	-5,803	529	100	
12	-4,7	0,10	-6,064	504	100	
13	-4,8	0,05	-5,588	529	100	
14	-4,7	0,04	-5,842	504	100	
15	-5,5	0,10	-5,543	529	100	
16	-5,5	0,09	-5,789	504	100	
17	-4,5	0,06	-5,395	529	100	
LPI	-3,4	-4,84	-4,139	5	11	

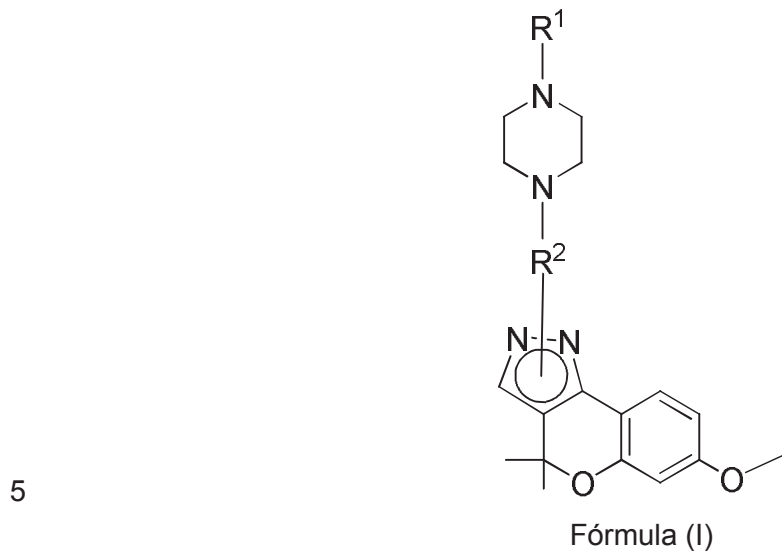
<sup>a</sup>Predicción de solubilidad en agua [-6,5/0,5]; <sup>b</sup>Predicción de paso de barrera hematoencefálica [-3,0/1,2]; <sup>c</sup>Bloqueo del canal HERG K<sup>+</sup> (log IC<sub>50</sub>) [>-5];

<sup>d</sup>Permeabilidad aparente en nm/s en células Caco-2 [<25 bajo, >500 excelente];

10 <sup>e</sup>Absorción oral humana en tracto gastrointestinal (GI) [<25% bajo].

**REIVINDICACIONES**

## 1. Compuesto de fórmula (I)

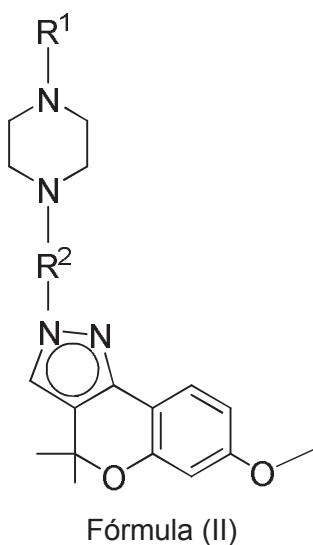


o un tautómero, una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo;  
donde:

- 10
- R<sup>1</sup> se selecciona entre arilo opcionalmente sustituido o un grupo -C(O)R<sup>3</sup>; R<sup>3</sup> se selecciona de entre arilo, heterociclo, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> o un grupo -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-O-arilo, siendo n un valor seleccionado entre 1, 2, 3 ó 4,
  - R<sup>2</sup> se selecciona de entre alquilenos C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> o un grupo -R<sup>4</sup>-C(O)-NH-R<sup>5</sup>-, siendo R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> alquilenos C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> iguales o diferentes.

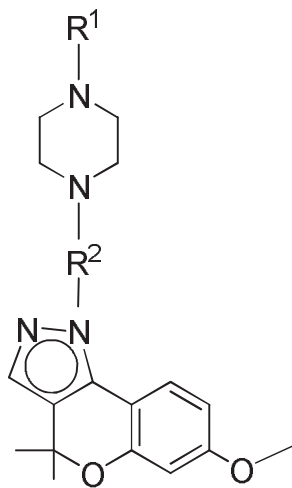
15

## 2. Compuesto de fórmula (II)



o un tautómero, una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, donde R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se definen como en la reivindicación 1.

5 3. Compuesto de fórmula (III)



Fórmula (III)

10 o un tautómero, una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, donde R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se definen como en la reivindicación 1.

4. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones anteriores donde R<sup>1</sup> es un grupo -C(O)R<sup>3</sup>.

15 5. Compuesto según la reivindicación anterior donde R<sup>3</sup> es arilo.

6. Compuesto según la reivindicación anterior donde R<sup>3</sup> es fenilo.

7. Compuesto según la reivindicación 4 donde R<sup>3</sup> es heterociclo.

20

8. Compuesto según la reivindicación anterior donde R<sup>3</sup> se selecciona entre furano, tiofeno o tetrahidrofurano.

9. Compuesto según la reivindicación 4 donde R<sup>3</sup> es ciclohexilo.

25

10. Compuesto según la reivindicación 4 donde R<sup>3</sup> es alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>.

11. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 donde R<sup>2</sup> es alquileo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>.

12. Compuesto según la reivindicación anterior donde R<sup>2</sup> es etileno.

5

13. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 seleccionado del grupo que consiste en:

- 1-(2-(4-(2-furoil)piperazinil)etil)-1,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol
- 10 - 2-(2-(4-(2-furoil)piperazinil)etil)-2,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol
- 1-(2-(4-benzoil-piperazinil)etil)-1,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol
- 2-(2-(4-benzoil-piperazinil)etil)-2,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol
- 15 - 1-(2-(4-(2-tienoil)piperazinil)etil)-1,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol
- 2-(2-(4-(2-tienoil)piperazinil)etil)-2,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol
- 20 - 2-(2-(4-fenoxiacetil-piperazinil)etil)-2,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol
- 2-(2-(4-(2-tetrahidrofuroil)piperazinil)etil)-2,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol
- 2-(2-(4-ciclohexilcarbonil-piperazinil)etil)-2,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol
- 25 - 2-(2-(4-pivaloil-piperazinil)etil)-2,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol.

14. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 donde R<sup>1</sup> es un fenilo opcionalmente sustituido.

30

15. Compuesto según la reivindicación anterior donde R<sup>1</sup> es un fenilo sustituido por un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> o un alquiloxi C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>.

16. Compuesto según la reivindicación anterior donde R<sup>1</sup> es un fenilo sustituido por al menos un metilo o un metoxi.

35

17. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 14 a 16 donde R<sup>2</sup> es un grupo -R<sup>4</sup>-C(O)-NH-R<sup>5</sup>-, siendo R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> alquilenos C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> iguales o diferentes.

5 18. Compuesto según la reivindicación anterior donde R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> son metileno.

19. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 14 a 18 seleccionado del grupo que consiste en:

- 1-(2-(4-fenilpiperazinil)acetamidometil)-1,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol
- 10 - 1-(2-(4-(2-metoxifenil)piperazinil)acetamidometil)-1,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol
- 1-(2-(4-(2,3-dimetilfenil)piperazinil)acetamidometil)-1,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol
- 1-(2-(4-(4-metoxifenil)piperazinil)acetamidometil)-1,4-dihidro-7-metoxi-4,4-
- 15 dimetilcromeno[4,3-c]pirazol
- 2-(2-(4-fenilpiperazinil)acetamidometil)-2,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol
- 2-(2-(4-(2-metoxifenil)piperazinil)acetamidometil)-2,4-dihidro-7-metoxi-4,4-
- 20 dimetilcromeno[4,3-c]pirazol
- 2-(2-(4-(2,3-dimetilfenil)piperazinil)acetamidometil)-2,4-dihidro-7-metoxi-4,4-dimetilcromeno[4,3-c]pirazol.

20. Composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19.

25

21. Composición farmacéutica según la reivindicación 20 que además comprende otro principio activo.

22. Uso de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19 para la

30

fabricación de un medicamento.

23. Uso de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o la prevención de un trastorno asociado al receptor GPR55.

35



24. Uso según la reivindicación 23 donde el trastorno se selecciona entre diabetes, enfermedad de Parkinson, esclerosis múltiple, dolor neuropático, osteoporosis, colangiocarcinoma, cáncer de mama, cáncer de ovario y de próstata, glioblastoma y carcinoma cutáneo.

5

25. Uso de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19 para la fabricación de un reactivo en ensayos biológicos relacionados con el receptor GPR55.

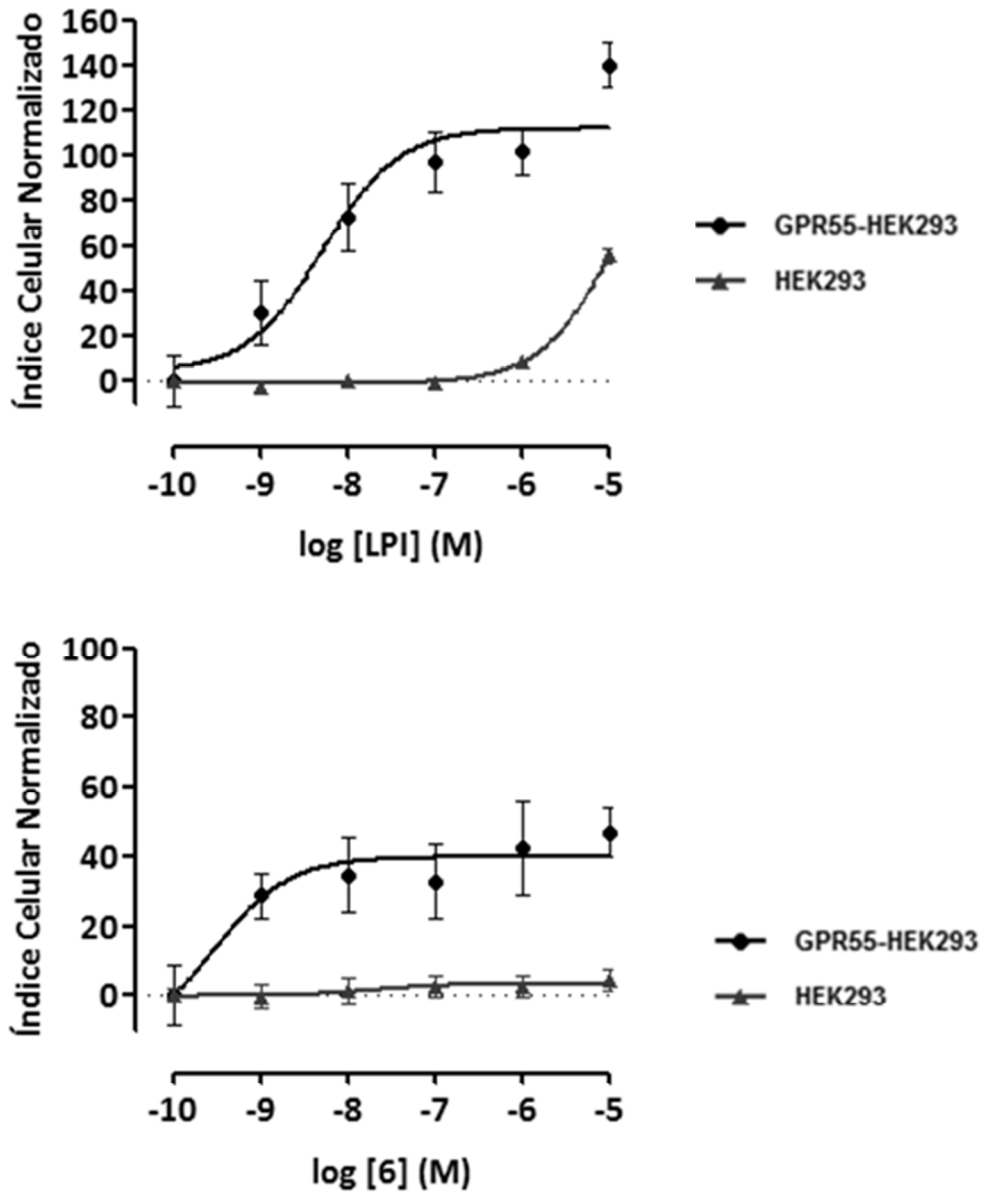


FIG. 1

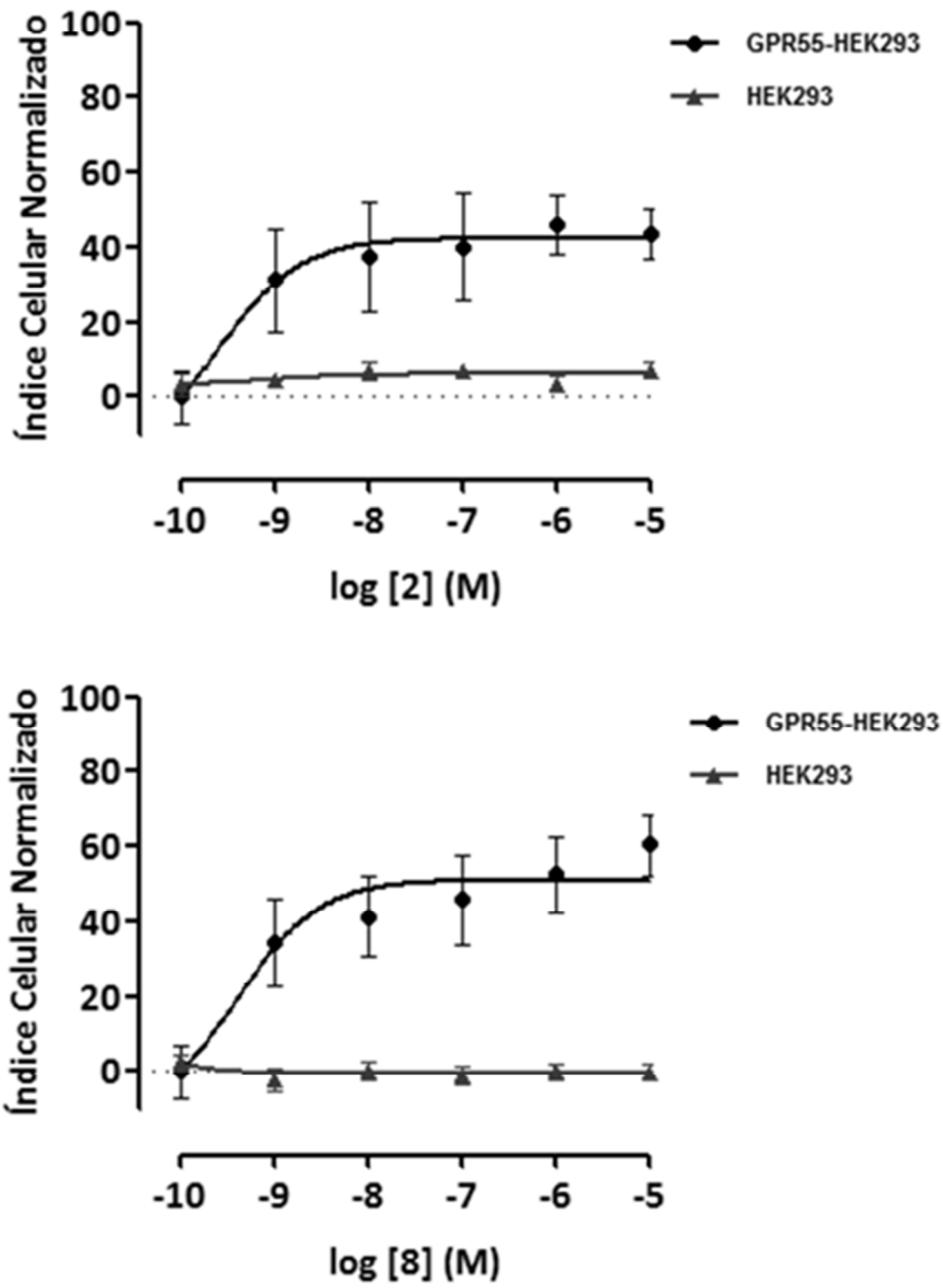


FIG. 1 cont.

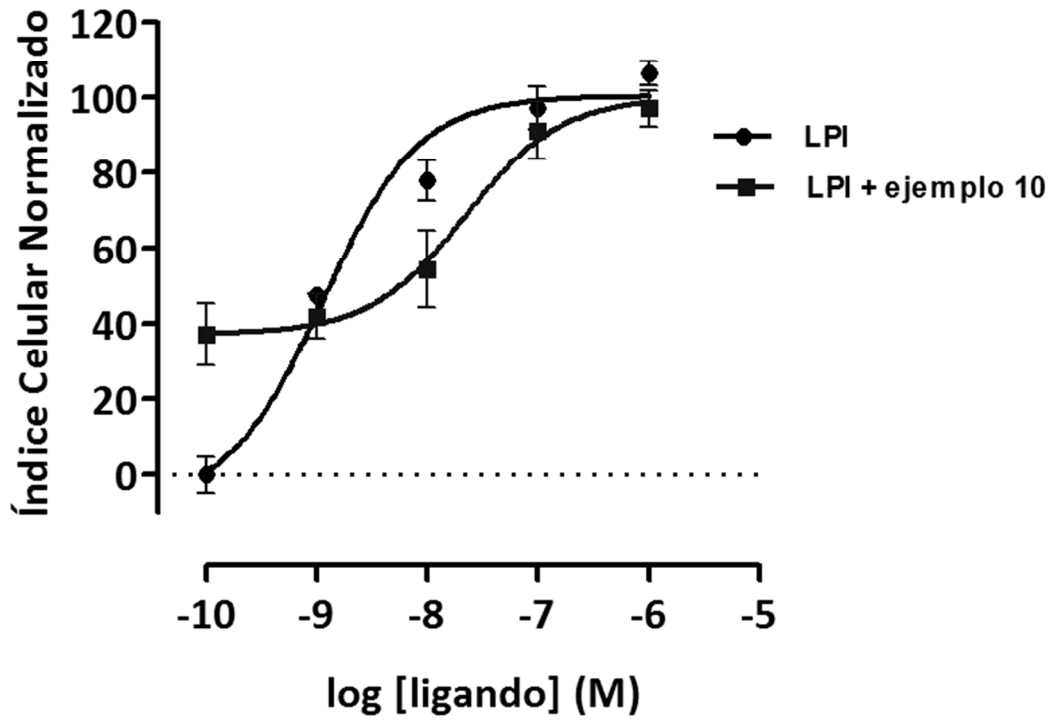


FIG. 2